

ISSN 0917-0707

d161e

# 富山県衛生研究所年報

(平成7年度)

第19号

ANNUAL REPORT  
OF  
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH  
(APRIL 1995 ~ MARCH 1996)  
NO. 19

1996



富山県衛生研究所

# 富山県衛生研究所年報

(平成7年度)

第19号

富山県衛生研究所

## は　　じ　　め　　に

平成7年度の年報をお送りいたします。人事の面では、本年度内に化学部と環境保健部に専任部長を得て、活動が安定し、所長の部長兼任はがん研究部のみとなりました。ここにもよい人材を得るべく努力をしておりますが、各部の職員の努力で、調査・研究業務、検査業務が共に、例年通り高いレベルで遂行出来た事を感謝しております。

胃がん発生要因の研究は、昨年度までの疫学的研究から、個々の要因の実験的研究に進みました。これと並行して、先天性代謝異常、染色体異常の研究も着実に成果をあげております。節足動物媒介疾患、不快害虫駆除等本県固有の衛生害虫の研究も幾つかの部の職員の協力で進んでおります。環境保健の分野では、カドミウムによる環境汚染に関する住民の健康調査を引続き担当すると共に、骨代謝指数による骨粗鬆症発生の予知と、これの予防対策の導入を、閉経前のみならず、思春期から行うべきである事を示す成果が得られております。恙虫病患者は、本県でも引続き発生しておりますが、抗体検査の他にリケッチア遺伝子の検出で検出感度を上げ、早期の確定診断が可能になりました。本県固有ではないが、他県に比べて発生率が高く、疫学像も独特のスギ花粉症は、県計画課の支援で県林業試験場との共同研究が引続き行われ、流行前期の微量の花粉の分布、年齢群別の発症時期の違い等の独自性の高い成果が得られています。細菌疾患では、パルスフィールド電気泳動を用いた分子疫学的解析で、食中毒サルモネラ、毒素非産生性コレラ菌等の同定と分布の解析から、多くの新しい知見が得られています。衛生化学関係では、検査対象と検査項目の多数化、多様化に対処すべく、多成分一斉分析法の開発に努力して成果を上げると共に、次年度より発足する「深層海水の非水産的利用」プロジェクトの基本として、深層海水の微量成分分析の基本技術と体制の準備に本年度から取り組んでおります。

調査研究業務のより一層の活性化と、検査結果、疫学所見の情報と効果的活用について、全所をあげて、より以上の改善と取組みを進めて行きたいと存じております。

平成8年6月

富山県衛生研究所長

北　村　　敬

# 目 次

## 1. 運 営

(1) 沿革および組織機構	1
(2) 施設の概要	2
(3) 職員数	2
(4) 職員一覧	3
(5) 予算概要	5
(6) 各部の業務概要	13
(7) 検査状況	22
(8) 講師派遣	26
(9) 研修指導	29
(10) 研修受講	30
(11) 客員研究員等招へい	31
(12) セミナー開催	32

## 2. 調査研究報告

・先天性代謝異常等マススクリーニングの成果について（平成7年度の検査成績）	33
高橋雅子，米田 豊，北村 敬，高柳礼子	
・蛍光検出高速液体クロマトグラフィーによる $17\alpha$ -Hydroxyprogesterone (17-OHP) の分析	44
米田 豊，高橋雅子	
・神経芽細胞腫関連カテコールアミン代謝物の蛍光 HPLC 分析条件の検討	48
米田 豊，高橋雅子	
・ヒト染色体に関する調査研究—血液，骨髓液—	55
林 美貴子，本田幸子，北村 敬	
・ヒト染色体に関する調査研究—羊水・流産胎児—	63
本田幸子，林 美貴子，北村 敬	
・日本脳炎流行予測調査	71
渡辺 護，長谷川澄代，森田修行，上村 清，小泉泰久，川尻千賀子，遠藤京子，寺崎さちこ， 草山真由美，広明秀一	
・ポリオ流行予測調査	84
中山 喬，松浦久美子，森田修行，南部厚子	



・ インフルエンザ流行予測調査 .....	86
松浦久美子, 中山 喬, 森田修行, 川越久美子, 寺崎さち子, 小池美奈子, 尾崎博子, 川尻千賀子	
・ RT-PCR 法による下水中のエンテロウイルスとレオウイルスの検出に関する検討 .....	93
松浦久美子, 石倉康宏, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行	
・ C型肝炎ウイルスの母子間感染に関する研究 .....	97
森田修行, 中山 喬, 佐竹伸一郎, 伊藤達也, 佐伯吉則, 家城匡純, 中曾根敬一, 大志摩敦朗	
・ 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 .....	102
田中大祐, 細呂木志保, 刑部陽宅, 香取幸治, 赤間美徳, 柏木義勝	
・ パルスフィールド電気泳動による劇症型A群レンサ球菌感染症由来菌株の型別 .....	107
田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英, 五十嵐英夫	
・ 都市河川水のサルモネラ定点観測 .....	111
磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 井山洋子	
・ <i>Salmonella</i> Enteritidis の疫学へのパルスフィールド電気泳動の利用 .....	117
刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 平田清久	
・ パルスフィールド電気泳動による大腸菌食中毒の疫学的解析 .....	125
刑部陽宅, アナ・クラウディア・F・フェリスベルト, 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保	
・ <i>Vibrio cholerae</i> O1 CT 陽性株と陰性株の数種の性質の比較 .....	132
刑部陽宅, 細呂木志保, 北村 敬	
・ 健常女性における踵骨超音波計測値と腰椎骨密度ならびに骨代謝指標との関係 .....	138
西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 熊西忠郎, 伊木雅之, 梶田悦子, 土肥祥子, 日下幸則, 鏡森定信	
・ 骨密度検診受診者の踵骨骨密度と尿中ハイドロキシプロリンーライフスタイルとの関連 .....	148
中崎美峰子, 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 熊西忠郎, 吉田志富, 宇枝靖子, 垣内孝子, 加藤一之	
・ 高齢女性における骨代謝指標および腰椎骨密度と活動度との関連 .....	154
田中朋子, 西野治身, 堀井裕子, 熊西忠郎, 鏡森定信	
・ 思春期における運動と骨代謝指標との関連 .....	158
堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 熊西忠郎, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信	
・ 成人男性における尿中過酸化脂質排泄量 (TBARS 排泄量) と飲酒・喫煙習慣 .....	164
新村哲夫, 中崎美峰子, 西野治身, 熊西忠郎, 中川秀昭, 成瀬優知, 鏡森定信	

### 3. 資 料

・富山県におけるクレチン症マスキリングの状況—過去5年間の成績—	169
高橋雅子, 北村 敬	
・生がきが原因食である小型球形ウイルス (SRV) による急性胃腸炎の集団発生	174
長谷川澄代, 森田修行, 三井 博, 今井隆治	
・富山県における恙虫病患者発生状況 (1995年)	178
森田修行, 石倉康宏, 松原勝博, 遠藤京子, 尾崎博子	
・富山県におけるウイルス検査状況	183
森田修行, 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 川越久美子, 寺崎久美子, 小泉泰久, 小池美奈子	
・衛生研究所における梅毒蛍光抗体法検査結果 (昭和57年度~平成7年度)	187
細呂木志保, 刑部陽宅, 安井伊津子, 清原美千代	
・富山県における1995年の病原微生物検出情報	190
細呂木志保, 刑部陽宅	
・オンカラム誘導体化グラジェント溶出 HPLC による食品中ポリアミン類の一斉分析	194
山本 敦, 松永明信	
・農産物中のミクロブタニル, フェナモル, ピリダベン及びレナシルの分析	197
齊藤行雄, 大浦 敏, 山本 敦, 松永明信	
・ポストカラム反応—HPLC による県内農産物中の N-メチルカーバメート系農薬の分析	202
大浦 敏, 齊藤行雄, 松永明信	
・農産物中の残留農薬調査	204
齊藤行雄, 大浦 敏, 山本 敦, 松永明信	
・富山県内水道水中のハロ酢酸含有量	211
大戸幹也, 健名智子, 大浦 敏, 松永明信	
・イオンクロマトグラフィーによる温泉水中陰イオンの分析	214
高柳信孝, 健名智子, 山本 敦, 松永明信	
・キャピラリー電気泳動法による温泉水中陰イオンの分析	217
小玉修嗣, 高柳信孝, 山本 敦, 松永明信	
・女子大生における踵骨骨密度および骨代謝指標について—骨代謝に関連する諸要因との関連—	220
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 熊西忠郎, 小嶋康夫, 桑守豊美	
・工場労働者の血清および尿中アルミニウム濃度の測定	224
新村哲夫, 中崎美峰子, 西野治身, 熊西忠郎, 中川秀昭, 成瀬優知, 鏡森定信	

#### 4. 業 績

(1) 受 賞	227
(2) 誌上発表	228
(3) 特別講演等	248
(4) 学会発表等	249

# T i t l e s

## Report

- A Survey Report on Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture (April 1995~March 1996) ..... 33  
Masako Takahashi, Yutaka Yoneda, Takashi Kitamura, Reiko Takayanagi
- Fluorometric High Performance Liquid Chromatography of  $17\alpha$ -Hydroxyprogesterone ..... 44  
Yutaka Yoneda, Masako Takahashi
- Chromatography of Catecholamine Metabolites related with Neuroblastoma ..... 48  
Yutaka Yoneda, Masako Takahashi
- Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells ..... 55  
Mikiko Hayashi, Sachiko Honda, Takashi Kitamura
- Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal Cells ..... 63  
Sachiko Honda, Mikiko Hayashi, Takashi Kitamura
- Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 1995 ..... 71  
Mamoru Watanabe, Sumiyo Hasegawa, Osayuki Morita, Kiyoshi Kamimura, Yasuhisa Koizumi, Chikako Kawajiri, Kyoko Endo, Sachiko Terasaki, Mayumi Kusayama, Shuichi Hiroaki
- Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture ..... 84  
Takashi Nakayama, Kumiko Matsuura, Osayuki Morita, Atsuko Nambu
- Epidemiological Surveillance for Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture ..... 86  
Kumiko Matsuura, Takashi Nakayama, Osayuki Morita, Kumiko Kawakoshi, Satiko Terasaki, Minako Koike, Hiroko Ozaki, Tikako Kawajiri
- Study on Detection of Enteroviruses and Reoviruses in Sewage by RT-PCR ..... 93  
Kumiko Matsuura, Yasuhiro Ishikura, Takashi Nakayama, Sumiyo Hasegawa, Osayuki Morita
- Studies on Mother-to-Infant Transmission of Hepatitis C Virus ..... 97  
Osayuki Morita, Takashi Nakayama, Sinichiro Satake, Tatsuya Ito, Yoshinori Saeki, Masazumi Ieki, Keiichi Nakasone, Atsuro Ohshima

· Serotype Distribution and Drug Sensitivity among Hemolytic <i>Streptococcus</i> Isolates in Toyama Prefecture .....	102
Daisuke Tanaka, Shiho Hosorogi, Yotaku Gyobu, Koji Katori, Yoshinori Akama, Yoshikatsu Kashiwagi	
· Typing of Group A Streptococci Causing Toxic Shock-like Syndrome by Pulsed-field Gel Electrophoresis .....	107
Daisuke Tanaka, Yotaku Gyobu, Hirohide Kodama, Hideo Igarashi	
· <i>Salmonella</i> Surveillance on River Water in an Urban Area .....	111
Junko Isobe, Daisuke Tanaka, Shiho Hosorogi, Yoko Iyama	
· Use of Pulsed-field Gel Electrophoresis for Epidemiology of <i>Salmonella</i> Enteritidis Food poisoning .....	117
Yotaku Gyobu, Shiho Hosorogi, Junko Isobe, Daisuke Tanaka, Kiyohisa Hirata	
· Epidemiological Analysis of <i>Escherichia coli</i> Food Poisoning by Pulsed-field Gel Electrophoresis .....	125
Yotaku Gyobu, Ana Claudia Fortunato Felisberto, Junko Isobe, Daisuke Tanaka	
· Comparison of Several Characteristics between CT-Positive and CT-Negative <i>Vibrio cholerae</i> O1 .....	132
Yotaku Gyobu, Shiho Hosorogi, Takashi Kitamura	
· Relation between Parameters of Bone Mass by Ultra Sound System and Bone Mineral Density of Lumbar Spine or Each Biochemical Marker of Bone Metabolism .....	138
Harumi Nishino, Tomoko Tanaka, Yuko Horii, Tadaro Kumanishi, Masayuki Iki, Etsuko Kajita, Yoshiko Dohi, Yukinori Kusaka, Sadanobu Kagamimori	
· Stiffness of the Calcaneus and Urinary Hydroxyproline in the Participants of Collective Medical Examination –in Relationship to Life Style– .....	148
Mineko Nakazaki, Harumi Nishino, Tomoko Tanaka, Yuko Horii, Tadaro Kumanishi, Shitomi Yoshida, Yasuko Ueda, Takako Kakiuchi, Kazuyuki Kato	
· The Relationship between the Biochemical Markers of Bone Metabolism or Bone Mineral Density and Physical Activity in the Elderly Women .....	154
Tomoko Tanaka, Harumi Nishino, Yuko Horii, Tadaro Kumanishi, Sadanobu Kagamimori	
· Correlation between Exercise and Biochemical Markers of Bone Metabolism in Adolescence .....	158
Yuko Horii, Tomoko Tanaka, Harumi Nishino, Tadaro Kumanishi, Takashi Yamagami Yuchi Naruse, Sadanobu Kagamimori	

• Urinary Excretion of Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) in Male Adults in Relation to Drinking and Smoking Habits .....	164
Tetsuo Shimmura, Mineko Nakazaki, Harumi Nishino, Tadaro Kumanishi, Hideaki Nakagawa, Yuchi Naruse, Sadanobu Kagamimori	

## Notes

• Studies on Neonatal Mass-Screening for Congenital Hypothyroidism in Toyama Prefecture (April 1990~March 1995) .....	169
Masako Takahashi, Takashi Kitamura	
• An Outbreak of Gastroenteritis caused by Oysters with Small Round Structured Virus .....	174
Sumiyo Hasegawa, Osayuki Morita, Hiroshi Mitsui, Takaharu Imai	
• Incidence of Tsutsugamushi Disease in Toyama Prefecture in 1995 .....	178
Osayuki Morita, Mitsuhiro Ishikura, Katsuhiro Matsubara, Kyoko Endo, Hiroko Ozaki	
• Virological Examination in Infectious Diseases in Toyama Prefecture .....	183
Osayuki Morita, Sumiyo Hasegawa, Kumiko Matsuura, Takashi Nakayama, Kumiko Kawagoshi, Sachiko Terasaki, Yasuhisa Koizumi, Minako Koike	
• Results of the Absorbed Fluorescent Treponemal Antibody Test in Toyama Institute of Health (1982-1995) .....	187
Shiho Hosorogi, Yotaku Gyobu, Itsuko Yasui, Michiyo Kiyohara	
• Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1995 .....	190
Shiho Hosorogi, Yotaku Gyobu	
• Simultaneous Determination of Polyamines in Foodstuffs by High-performance Liquid Chromatography with On-column Derivatization and Gradient Elution .....	194
Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga	
• Analysis of Myclobutanil, Fenarimol, Pyridaben and Lenaci in Agricultural Commodities .....	197
Yukio Saito, Takashi Ohura, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga	
• Determination of N-methylcarbamate Pesticides in Agricultural Commodities in Toyama Prefecture by HPLC with Post-column Reaction System .....	202
Takashi Ohura, Yukio Saito, Akinobu Matsunaga	
• Pesticide Residues in Agricultural Commodities .....	204
Yukio Saito, Takashi Ohura, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga	

· Haloacetic Acids Contents in Tap Water in Toyama Prefecture .....	211
Mikiya Ohto, Tomoko Kemmei, Takashi Ohura, Akinobu Matsunaga	
· Analysis of Inorganic Anions in Mineral Spring Water by Ion Chromatography ----	214
Nobutaka Takayanagi, Tomoko Kemmei, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga	
· Analysis of Inorganic Anions in Mineral Spring Water by Capillary	
Electrophoresis .....	217
Shuji Kodama, Nobutaka Takayanagi, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga	
· Bone Mineral Density of the Calcaneus and Biochemical Markers of Bone Metabolism	
in Students of Women's College -The Relation with Various Factors Affecting	
Bone Metabolism- .....	220
Yuko Horii, Mineko Nakazaki, Tomoko Tanaka, Harumi Nishino, Tadaro Kumanishi,	
Yasuo Kojima, Toyomi Kuwamori	
· Measurement of Alminum Concentrations in Serum and Urine in Workers	
at A Factory .....	224
Tetsuo Simmura, Mineko Nakazaki, Harumi Nishino, Tadaro Kumanishi, Hideaki	
Nakagawa, Yuchi Naruse, Sadanobu Kagamimori	

# 1. 運 営



# 1. 運 営

## (1) 沿革および組織機構

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

## (2) 施設 の 概 要

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

## (3) 職 員 数

（平成8年5月1日現在）

区 分	所・次長 部・課長	技 術 員 技 吏	主 幹 員 主 研 究 員	副 主 幹 員 副 研 究 員	主 任	主 任 員 主 研 究 員	主 事	研 究 員	業 務 員 業 務 師	嘱 託	計
所 長	1										1
次 長	1										1
総 務 課	1	1(1)			1		1		1	1	6(1)
がん研究部	所 長 事務取扱			3		3					6
ウイルス部	次 長 事務取扱			4		1					5
細 菌 部	1					2		2			5
化 学 部	1			3		4					8
環境保健部	1		1			2		2			6
合 計	6	1(1)	1	10	1	12	1	4	1	1	38(1)

注 ( ) は兼務職員で内数である

## (4) 職 員 一 覧

(平成8年5月1日現在)

職 名	氏 名	当 所 勤 続 年 数	主 な 担 当 事 務
所 長	北 村 敬	2.2	所内事務総括
次 長	森 田 修 行	20.11	所長補佐
技 術 吏 員	加 藤 一 之	2.2	
総 務 課 長 (出納員)	平 野 正 道	0.2	人事, 予算, 出納員業務及び課内事務総括
主 任 (会計員)	長 谷 玲 子	2.2	物品購入, 予算経理, 決算及び会計員業務並びに財産 管理事務
主 事 (会計員)	中 島 和 美	0.2	給与, 旅費, 賃金の支給, 収入事務及び会計員業務
業 務 技 師	谷 井 富 造	3.2	実験動物の飼育管理, 滅菌洗浄室の管理
嘱 託	井 澤 徳 久	0.2	公用車の操車, 整備保全業務
がん研究部長	所 長		部内事務総括
副主幹研究員	事 務 取 扱 渡 辺 護	27.4	衛生動物の検査及び防除対策に関する調査研究
〃	本 田 幸 子	25.8	染色体異常(羊水)の検査及び環境変異原物質の影響調査研究
〃	林 美 貴 子	25.7	染色体異常(血液)の検査及び先天異常の成因に関する調査研究
主任研究員	米 田 豊	2.2	先天性代謝異常マススクリーニングの検査及び調査研究
〃	品 川 保 弘	7.1	がん発生要因の実験的調査研究
〃	高 橋 雅 子	12.10	先天性代謝病の検査及び調査研究
ウイルス部長	次 長		部内事務総括及びウイルス感染症の調査研究
副主幹研究員	事 務 取 扱 石 倉 康 宏	32.2	リケッチア感染症及び免疫学的調査研究
〃	松 浦 久 美 子	31.2	ウイルス疾患の病因究明及び予防のための調査研究
〃	中 山 喬	26.2	ウイルス疫学に関する調査研究
〃	長 谷 川 澄 代	24.6	ウイルス感染症の検査及び検査法開発の研究
主任研究員	庄 司 俊 雄	18.10	ウイルス感染症の血清学的検査及び花粉症の疫学的調 査研究
細菌部長	刑 部 陽 宅	33.2	部内事務総括及び病原細菌の調査研究
主任研究員	磯 部 順 子	5.2	細菌に起因する食中毒の原因究明及び食品の細菌学的 検査研究
〃	平 田 清 久	0.2	血清学的試験検査及び人獣共通伝染病の調査研究
研 究 員	田 中 大 祐	3.2	呼吸気系病原細菌の調査研究及び病原細菌検出情報の 収集, 還元
〃	細 呂 木 志 保	4.1	水, 医薬品及び環境細菌の検査研究及び細菌のDNAの 研究

職 名	氏 名	当 所 勤 続 年 数	主 な 担 当 事 務
化学部長	松 永 明 信	22.1	部内事務総括及び食品，環境中の汚染物質の調査研究
副主幹研究員	大 浦 徹	1.2	化学物質による食中毒の検査及び食品中の有害物質の調査研究
〃	齋 藤 行 雄	18.2	食品中の添加物及び残留農薬等の調査研究
〃	高 柳 信 孝	14.2	温泉中の成分分析及び水道水中の消毒副生成物の調査研究
主任研究員	山 本 敦	17.2	食品中の成分及び家庭用品に関する調査研究
〃	小 玉 修 嗣	2.4	飲料水中の残留農薬等の調査研究
〃	健 名 智 子	12.2	飲料水の揮発性有機化合物等の調査研究
〃	大 戸 幹 也	10.8	食品中の重金属及び器具，容器，包装等の調査研究
環境保健部長	熊 西 忠 郎	1.2	部内事務総括及び環境化学物質の汚染に関する調査研究
主幹研究員	西 野 治 身	31.2	環境変化に基づく生体影響の生化学的調査及び成人病予防に関する疫学的調査研究
主任研究員	新 村 哲 夫	24.1	環境汚染にかかわる生体中重金属及び労働衛生に伴う重金属代謝の調査研究
〃	田 中 朋 子	18.5	成人病及び各種疾病の診断に必要な生化学的検査研究
研 究 員	中 崎 美 峰 子	11.1	生体中有害物質の検査研究
〃	堀 井 裕 子	9.1	環境汚染にかかわる健康調査の生化学的検査研究

## (5) 予 算 概 要

### 総 務 課 平成7年度 予算概要

事業名	予算額	財 源 内 訳		事 業 内 容
		使, 手数料	一般財源	
衛生研究所費	千円 75,948	千円 2,600	千円 73,348	衛生研究所の運営, 維持管理, 試験検査等
試験研究費	15,413		15,413	調査研究(16項目) 1. 染色体に関する研究 2. 突然変異原性に関する研究 3. 疾病媒介ダニ, 昆虫類等の調査研究 4. ウイルス感染症の疫学的研究 5. ウイルスウォッチプログラム 6. リケッチアの感染免疫に関する研究 7. 溶血レンサ球菌の生態に関する研究 8. 河川水の微生物学的定点観測 9. 病原性海水ビブリオに関する研究 10. 細菌の病原遺伝子に関する研究 11. 飲料水及び温泉に関する調査研究 12. 食品中の成分及び添加物に関する調査研究 13. 食品中の残留農薬及びその他の有害物質に関する調査研究 14. 環境汚染物質の生態影響に関する調査研究 15. 微生物感染症の疫学に関する基礎研究 16. 成人病予防に関する疫学的研究
設備充実費	10,579		10,579	試験研究及び検査用機械器具の更新等
感染症対策特別研究費	2,850		2,850	
がん等特別研究費	15,238		15,238	調査研究(4項目) 1. がん発生の要因の実験的研究 2. DNA又はRNAを指標とした病原微生物の迅速, 敏感な同定法の開発 3. 水質基準成分及び食品規格成分の多成分一斉分析法の開発 4. 骨粗しょう症の骨代謝指標による効率的な予防法の確立に関する研究
合 計	120,028	2,600	117,428	

平成7年度 歳入決算

款 項 目 節	決 算 額	備 考
	円	
使用料及び手数料	29,817,580	
手 数 料	29,817,580	
衛 生 手 数 料	29,817,580	
衛 生 研 究 所	3,013,900	{ 収入証紙 2,372,040 納入通知 641,860
環 境 衛 生 検 査	26,803,680	{ 収入証紙 984,960 納入通知 25,818,720
諸 収 入	28,000	
雑 収 入	28,000	
雑 収 入	28,000	
合 計	29,845,580	

平成7年度 歳出決算

款	項	目	節	決算額	摘要			
総務費	総務管理費	人事管理費		円				
				4,468,910				
				1,841,480				
				447,480				
			旅費	447,480				
			財産管理費	949,000				
			需用費	949,000				
			管理諸費	445,000				
			報償費	50,000				
			旅費	85,000				
	需用費	300,000						
	役務費	6,000						
	使用料及び賃借料	4,000						
	企画費	計画調査費		2,627,430				
				2,627,430				
			賃金	184,450				
			報償費	280,000				
			旅費	595,980				
			需用費	833,000				
			備品購入費	694,000				
負担金補助及び			40,000					
交付金								
民生費			児童福祉費	児童福祉対策費		6,081,431		
		6,081,431						
		6,081,431						
	賃金	2,059,466						
	旅費	182,965						
	需用費	3,759,000						
	役務費	80,000						
	衛生費	公衆衛生費			予防費		147,143,667	
							133,333,922	
							4,379,452	
賃金			305,660					
旅費			322,825					
需用費			2,199,000					
役務費			142,000					
備品購入費			1,409,967					

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
		母子保健費		50,000	
			需用費	50,000	
		環境保健対策費		15,224,551	
			賃金	1,347,910	
			旅費	1,038,970	
			需用費	7,487,671	
			諸費	20,000	
			役務費	309,000	
			使用料及び賃借料	5,021,000	
		衛生研究所費		113,679,919	
			賃金	5,072,714	
			報償費	135,000	
			旅費	5,407,993	
			需用費	72,503,000	
			諸費	250,995	
			役務費	1,847,000	
			委託料	15,024,881	
			使用料及び賃借料	850,510	
			備品購入費	12,472,826	
			負担金補助及び交付金	115,000	
	環境衛生費			13,247,450	
		環境衛生総務費		8,521,038	
			賃金	584,538	
			旅費	70,000	
			需用費	7,380,000	
			役務費	23,000	
			委託料	463,500	
		食品衛生指導費		2,779,307	
			賃金	105,280	
			旅費	48,545	
			需用費	2,622,482	
			役務費	3,000	
		環境衛生指導費		1,420,105	
			旅費	238,765	
			需用費	586,000	
			備品購入費	595,340	



款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
		水道指導費		527,000	
			需用費	519,000	
	医 務 費		役務費	8,000	
				56,295	
		保健婦等指導管理費		56,295	
			旅 費	56,295	
	公 害 防 止 費			506,000	
		公害防止対策費		466,000	
			需用費	466,000	
		環境保全推進費		40,000	
			旅 費	40,000	
	合		計	157,694,008	

## 重要備品一覧

(購入価格100万円以上)

品名	購入年月日	数量	型式
ガスクロマトグラフ	48. 2. 23	1	島津 GC-5APEE型
二波長分光光度計	49. 3. 30	1	日立 デジタル 156型
等電点分画装置	49. 9. 4	1	KLB 8100
水銀分析計	50. 3. 31	1	島津 UV-201型
倒立型顕微鏡	50. 10. 30	1	日本光学 MD型
真空凍結乾燥機	50. 10. 31	1	アトモパック 卓上型NO2003型
ガスクロマトグラフ	52. 12. 15	1	日立 163型
超低温槽	52. 12. 20	1	レブコ ULT-1275型
クリオスタット	53. 1. 10	1	アメリカンオブチカル「ADクリオカット」840C型
赤外線分光光度計	54. 1. 26	1	日立 260-0613型
原子吸光炎光分光光度計	54. 9. 19	1	島津 AA-640-12型
高速冷却遠心分離機	54. 11. 26	1	久保田
自動連続比色装置	55. 12. 15	1	パーキンエルマーモデル55E
ガスクロマトグラフ	57. 1. 8	1	島津 GC-7APrFFT型
ガンマーカウンター	57. 9. 30	1	アロカ ARC-305
全自動コロニーカウンター	57. 9. 30	1	東海医理化 COP-1000
高速冷却遠心分離機	57. 9. 30	1	久保田 KR-20000T
フレームレスアトマイザー	57. 9. 30	1	島津 GFA-4
超低温槽	57. 9. 30	1	フォーマ 8107型
〃	57. 9. 30	1	〃 8200型
〃	57. 9. 30	1	〃 8255型
炭酸ガス培養装置	57. 9. 30	1	〃 3158型
〃	57. 9. 30	1	ナプコ 5200型
超音波洗浄機	57. 9. 30	1	トキワ
高速液体クロマトグラフ	57. 10. 12	1	島津 LC-4A
原子吸光分析装置	57. 10. 5	1	日本ジャーレル, アッシュ AA-860型
赤外線放射温度計	57. 10. 20	1	三栄測器 6T53
ガスクロマトグラフ	57. 10. 12	1	島津 GC-7APrFFT型
液体シンチレーションカウンタ	57. 10. 14	1	アロカ SC-703
低バックグラウンド液体シンチレーションカウンター	57. 10. 14	1	アロカ LSC-LB1
超遠心機	57. 10. 15	1	日立 SCP-70H

品名	購入年月日	数量	型式
ウサギ, マウス感染動物飼育装置	57. 10. 15	2	東洋理工 TAR-23改良型
データ処理装置	57. 10. 30	1	横河, ヒューレット, パッカード
ウサギ自動洗浄飼育機	57. 11. 12	1	日本ケージ, BAW309改良型
アミノ酸分析計	57. 11. 30	1	日本分光 SR-1
紫外線吸収計	57. 12. 2	1	日科機 イスコUA-5-6型
フラクションコレクター	57. 12. 21	1	ファルマシア・ジャパン FRARC
超低温槽	58. 3. 24	1	フォーマ 810型
〃	58. 3. 24	1	〃 8138型
高速液体クロマトグラフ	58. 3. 30	1	島津 LC-5Aシステム
炭酸ガス培養装置	58. 3. 16	1	フォーマ 3158型
酸素免疫システム	58. 3. 31	1	三光純薬 MR580 ミニウオッシャー2-315
炭酸ガス培養装置	59. 1. 10	1	フォーマ 3158型
超低温槽	59. 7. 16	1	〃 8319型
高速冷却遠心機	59. 9. 20	1	久保田 KP-20000T
ガスクロマトグラフ	59. 9. 28	1	島津 GC-7APFE
電子顕微鏡	60. 2. 28	1	日立 H-600A
超低温槽	60. 8. 30	1	レブコ ULT-1490型
ガスクロマトグラフ	61. 9. 6	1	島津 GC-15APEF
分光光度計	61. 9. 6	1	島津 UV-160
パンチ&インデクサー	62. 8. 31	1	米国ファンダメンタルプロダクツ社製 MODEL VIA
分光光度計	62. 9. 10	1	日立 U-2000
原子吸光分光光度計	62. 9. 30	1	日立偏光ゼーマン Z-8000
デンストメーター	63. 7. 20	1	島津 二波フライングスポットスキャナーCS-9000
電気泳動装置	63. 10. 11	1	ファルマシア社ファーストシステム
高速液体クロマトグラフ	63. 10. 21	1	東ソー, CCP-8000
落射蛍光顕微鏡装置	1. 8. 11	1	オリンパス BHT-RFK-A2型
蛍光測定システム	1. 9. 8	1	島津 デンストメータ (CS-9000)用
フォトダイオードアレイ検出器	1. 9. 14	1	島津 SPD-M6A
遠心分離機用ローター	1. 11. 19	1	日立工機 スイングローターRPS50-2
純水製造装置	1. 12. 19	1	ミリポア ミリー-QSP
ガスクロマトグラフ	2. 3. 31	1	島津 GC-14APSC, タンデムGC システム

品名	購入年月日	数量	型式
分光光度計酵素反応システム	2. 9. 20	1	島津 UV-2200
高速液体クロマトグラフクラジェント装置	2. 9. 20	1	島津 LC-9A
ガスクロマトグラフ質量分析計	2. 11. 5	1	島津 GCMS-QP2000GF
超低温槽	2. 11. 6	1	レブコ ULT-2050
炭酸ガスインキュベーター	3. 2. 8	1	サンヨーフォーマMIP-3193
スローモーション解析装置付ビデオ撮影記録	3. 9. 30	1	ソニー
パルスフィールド電気泳動装置	3. 9. 30	1	バイオラッド CHEF-DR II
分光蛍光光度計	3. 11. 30	1	日本分光 FP-777
高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器	4. 3. 6	1	島津 RF-550
パラフィンブロック作製装置	4. 3. 12	1	サクラ精機 ティッシュ・エンベンディング・コンソール #4596
クリーンベンチ	4. 3. 31	1	日立冷熱 CCV-1301EC 型
万能顕微鏡	4. 9. 30	1	オリンパス
ガスクロマトグラフ	4. 11. 30	1	島津 GC-14B
DNA 合成装置	4. 11. 30	1	ファルマシアLKB ジーンアッセンブラースペシャル
マイクロプレートウオッシャー	5. 3. 10	1	米国ダイナテック ウルトラウオッシャ II
紫外可視分光光度計	5. 3. 25	1	島津 UV-160A
濃縮導入装置	5. 3. 25	1	テクマー社 LSC-2000
パージ&トラップ濃縮装置用自動試料注入装置	5. 11. 10	1	テクマー社 AQUA Tek 50
ガスクロマトグラフ質量分析計	5. 11. 30	1	島津 GC/MS QP-1100WA
高速液体クロマトグラフ	5. 12. 24	1	日立製作所 L-6300
デンストグラフ	6. 1. 20	1	アトー (株) プリントグラフ AE-6910型
超低温フリーザー	6. 2. 28	1	三洋電機 MDF -382AT
高速冷却遠心機	6. 2. 28	1	久保田 MODEL 6800型
炭酸ガス培養装置	6. 8. 10	1	フォーマ MIP-3139型
花粉用画像解析及び計測システム	7. 1. 31	1	入力基盤 英国John Blishen Image Grabber24 SIMモジュール アドテック ADM-64M72F
高速液体クロマトグラフ用旋光度検出器	7. 3. 1	1	日本分光 (株) OR-990型
高速冷却遠心分離機	7. 3. 7	1	久保田 MODEL 6800型
遺伝子導入装置及び解析装置	7. 3. 22	1	バイオラッド社
有機溶媒漏出防止装置	7. 4. 28	1	東京理化 CA-1100
液体クロマトグラフ用屈折率検出器	7. 5. 16	1	Shodex RI-71, OVEN AO-30C
落射蛍光顕微鏡	7. 6. 7	1	オリンパス光学工業 BX50-34-FLA型

品名	購入年月日	数量	型式
超低温フリーザー	7. 6. 15	1	サンヨー MDF-493型
キャピラリー電気泳動システム	7. 9. 30	1	ヒューレットパッカー製
減圧遠心濃縮機	7. 10. 2	1	東京理化製
高速液体クロマトグラフ装置	7. 10. 13	1	ウォーターズ製
超低温フリーザー	7. 10. 13	1	サンヨー MDF-592型
感染症サーベイランスオンラインシステム	8. 3. 29	1	NEC PC-9821XT 16/R16
洗浄器	5. 7. 28 (8. 3. 29)	1	三光純薬製
オートダイリ्यूター	5. 7. 27 (8. 3. 29)	1	三光純薬製 SGR250

注 ( ) は管理換年月日

(平成8年3月31日現在)

## (6) 各部の業務概要

### がん研究部

#### 〔行政および依頼検査〕

**先天性代謝異常等マススクリーニング**：今年度の検体総数は、11,502件で、県内67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107.8%（里帰り分娩を含む）であり、前年度同様な高い受検率であった。検査項目は、フェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、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6疾患である。その結果、要精密検査児として60名（フェニールケトン尿症疑い1名、メイプルシロップ尿症疑い1名、ガラクトース血症疑い1名、クレチン症疑い37名、先天性副腎過形成症疑い20名）がスクリーニングされ、このうち患児はクレチン症3名で、その他については一過性が31名、正常が20名、他の疾患1名、経過観察中が5名であった。

**染色体検査**：検査実施件数は、血液76件、骨髄液2件、羊水70件、流産胎児12件の計160件で、うち染色体異常を示したものは、血液2件（均衡転座保因者1名、過剰染色体保有1名）、羊水4件（ダウン症候群3件、18トリソミー症候群1件）、胎児4件（ダウン症候群2件、18トリソミー症候群1件、16トリソミー症候群1件）の計10件であった。検査受付時の主訴は、血液では反復流産、低身長、先天異常児の家族等が多く、羊水では高齢妊娠、前子が染色体異常、胎児異常の疑い等であった。

**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7年度は前年に比べ発生数は減少した。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昨年に引き続き解析中である。ライム病の富山県における侵淫状況を調べるため、前年に引き続き、福光町医王山、立山町立山美女平・大観峰、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。さらに、つつがむし病患者の発生地における媒介ツツガムシの検索を行った。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106件と、行政機関および各種事業所からの分類同定分を含め、合計5,080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28件行った。

#### 〔調査研究〕

**がん発生要因の実験的研究**：がん発生要因の実験的研究：抗腫瘍性合成ホルモン剤ジエチルstilbestrolの、哺乳動物培養細胞への毒性および細胞増殖抑制効果を継続して検討しているが、チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞の中でも、V79細胞とCHL細胞とでは、抑制効果発現濃度が異なることが示された。また、マウス胎児から調製した培養可能期間の短い初代培養線維芽細胞は、長期間の継代が可能となり株化された種々の培養細胞に比べて、薬剤に対する感受性が高いことが明らかとなった。

**先天性代謝異常症等患児の実態に関する研究**：新生児マススクリーニングで発見された患児について引き続き追跡調査を実施している。平成元年度から平成6年度までの、6年間に発見されたクレチン症の患者24人のうち、非典型的と思われる症例が8例あった。すなわち、TSHが比較的低値（8～10 $\mu$ U/ml）で発見された患者が7人（うち病型確定は3人）、低体重児で初回検査では正常であったが、1ヵ月後の再検査で発見された患者が1人であった。

また、先天性副腎過形成症のスクリーニング法の短時間法について検討を行った。その結果、緊急検査時、連休前などには、短時間法により対応出来ることを確認した。

**姉妹染色分体交換法に関する研究**：ヒトリンパ球を用い、培養中の酸素濃度がDNA損傷の鋭敏な指標とされている姉妹染色分体交換（SCE）におよぼす影響を検討しているが、反復流産夫婦では対照に比し、有意にSCE発生頻度が高い結果を得た。また、酸素感受性における男女差も観察され、引き続き調査中である。

**環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究**：骨髓、末梢血を用いた小核試験法により、環境中の突然変異原物質をスクリーニングし、化学物質の複合効果、抑制作用など検討している。さらに、この方法によりマウスの自然発生の小核出現を追跡し、加齢による影響なども検討した。

**衛生動物に関する研究**：家屋侵入性カメムシの研究では、家屋の立地条件により侵入数が異なるので、大山町立山山麓家族旅行村で、ロッジなどへの侵入数と地形や植林の関係に付き検討した。その結果、風の通り道が重要な要因であることを明らかにした。

各種の事業所において、品質管理上の問題として侵入昆虫の駆除が重要な課題になっている。印刷関連事業所において侵入昆虫類の実態調査を昨年引き続き行うと同時に、侵入阻止法として、窓に対する網戸を殺虫剤展着網の“外掛け方式”にすることと、炭酸ガスとフェノトリンの混合ガスの、間欠自動噴霧による殺虫実験を行い良好な成績を得た。利賀村の国際キャンプ場を主体に、炭酸ガス誘引による、オロロの誘殺実験を行ったところ、新しく開発した、テントトラップや網テントトラップよりも、従来からの三角錐トラップの“新型”が最も良くオロロを誘引した。

## ウ イ ル ス 部

### 〔行政および依頼検査〕

富山県結核・感染症サーベイランス事業など保健所からの行政依頼および病院小児科などからの一般依頼によるウイルス学的検査を行った。232名の患者について検査を行い、103名の検体からウイルスが検出された。急性胃腸炎では、小児における定点観測で多数の1型ロタウイルスが検出され、1月に発生した食中毒様の患者は小型球形ウイルスの感染であることが確認された。エンテロウイルス感染では、6～8月にエコーウイルス16型による無菌性髄膜炎および発疹性疾患が発生した。5月から9月にかけて手足口病が多発したが、検査を行った県南西部の患者からコクサッキーウイルスA16型が分離された。

恙虫病患者は、4月に1名、5月に3名、10月に2名の合計6名発生した。地区別では、氷見市1名、朝日町2名、入善町1名、黒部市1名の他に、八尾町では初めての患者が5月に発生した。これら患者の職業は、公務員1名、農業1名、会社員1名の他に、無職3名であり、従来同様に感染の機会、場所を特定することが困難であった。検査は、昨年度から血清抗体価測定に加え、PCRによって血液から恙虫病リケッチア（Ot）遺伝子の検出を行った。全例において、特異的抗体が上昇する以前にOt遺伝子が検出され、発病早期に確定診断し得た。

### 〔流行予測調査〕

**日本脳炎**：6月から9月まで県内8定点で、保健所と共同してコガタアカイエカの発生状況を調査した。蚊の発生数は前年度に比べて、富山市月岡と富山市萩原ではほぼ同数であったが、他の定点ではかなり減少していた。一方、7月中旬から週1回県内産の豚から採血して、日本脳炎ウイルスに対する血球凝集抑制（HI）抗体を測定し、ウイルスの県内侵入を監視した。前年度に比べて陽性率は非常に低く、抗体価10～20倍の陽性豚が3.7%（9/240）認められたのみであった。

**ポリオ**：今年度の調査は感染源調査のみを行った。魚津市の健康な乳幼児67名を対象に野生型ポリオウイルスの有無につき、糞便を採取してウイルス検索を行った。9月末から10月はじめにかけて調査が

実施され、ポリオウイルスの分離はなかったが、他のエンテロウイルスが4株分離された。コクサッキーウイルスB3型2株、エコーウイルス22型1株、レオウイルス2型1株であった。

**インフルエンザ**：今年度から4医療機関で定点観測を行うことになった。平成7年12月19日に発病した患者から今シーズン初めてのウイルスが分離され、A(H1)型と同定された。平成8年1月16日には富山市立豊田小学校で「集団かぜ」の初発があった。その後2月22日までの間に幼稚園1、小学校17の合計18施設で措置が行われ、1,784名の患者発生があった。措置の行われた学校では、第1学年の学級閉鎖が非常に多く、例年の流行では見られない特異な現象であった。定点観測および集団発生について行った検査で、分離されたウイルスの大部分はA(H1)型であった。3月上旬になって福光町の患者からA(H3)型ウイルスが1株分離されたが、その後大きな流行を起こすことはなかった。分離ウイルスの抗原性をワクチンウイルス株と比較して、A(H1)型ウイルスはほとんど変化なかったが、A(H3)型ウイルスには変異が認められた。

### 〔調査研究〕

**紅斑熱群リケッチアに関する研究**：県内に紅斑熱患者の発生は認められていないが、マダニ類における紅斑熱群リケッチア保有状況を検索し、患者発生の危険性について調査を行っている。リケッチア属に共通の抗原蛋白を支配する遺伝子の塩基配列から、PCR (polymerase chain reaction) 用のプライマーを設計して、マダニなど県内で捕集したダニ類からリケッチア遺伝子の検出を試みた。その結果、マダニ属、チマダニ属ともに高率にリケッチア遺伝子を保有していることが明らかになった。さらに、これらPCR産物を制限酵素で切断し、その電気泳動パターンを各種リケッチア標準株のそれと比較検討した。ダニ類から検出されたリケッチアDNAの制限酵素切断パターンは、紅斑熱群リケッチア標準株と類似のものであった。しかし、*R. rickettsii*の19KD表面抗原の遺伝子から設計したプライマーを用いたPCRでは、県内のダニに陽性例はみられなかった。

**河川水のウイルス汚染調査**：平成5年10月から2か年計画で高岡市を中心に本調査を実施してきた。小矢部川流域下水（富山県下水道公社：高岡市二上）と高岡市内の千保川（地子木橋）、小矢部川（米島大橋）および富山市内いたち川（四ツ屋橋）から採水して、ウイルス分離のために、フィルター吸着法によって半精製濃縮した。これら材料からのウイルス分離はこれからの作業であるが、ウイルス分離とともに、材料から直接RT-PCRによるウイルス遺伝子の検出を行なった。これまでに得られた成績では、下水にウイルスが多いのは当然として、河川水のウイルスは予想に反して少ない結果であった。10余年前に富山市内の河川で行った同様の調査結果と比較して、いたち川でのウイルス検出率はかなり低下していた。これは、富山市街の中心部でようやく下水道が整備されたことによる影響と考えられる。

**C型肝炎ウイルスの母子間感染に関する調査**：産婦人科の医療機関で、C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) 感染の検査結果が陽性となった妊婦について、第2世代PHAを用いてHCV抗体を測定するとともにRT-PCRによるHCV・RNAの検出を検討したところ、高い抗体価の血清にRNAが検出された。RNAが検出された12名の妊婦について、新生児の出生時におけるHCV感染の有無を検査した。新生児の抗体価は母親と同等またはそれ以上であったが、ウイルスRNAが検出された例はなかった。今後、子供の追跡調査を続ける予定である。

**スギ花粉症に関する疫学的研究**：林業試験場との共同研究として平成6年度から3か年計画で実施している「スギ雄花の生理的特性と花粉飛散動態及びスギ花粉症患者への影響に関する総合的研究」では、患者発生に関する情報の収集を担当している。花粉症研究会の医療機関から得られた情報から、患者は3月に多発するが、スギ花粉がほとんど飛散しない2月前半に患者発生の小ピークが認められる。アレルギー検査からこれら患者はスギ花粉によるアレルギーである。患者の年齢構成は、40歳代が最も多いが、50歳代以上の患者は11～12月に発症する例が多い傾向にある、などの興味ある知見が得られた。



## 細 菌 部

### 〔行政および依頼検査〕

細菌による伝染病の集団発生はなかった。散发例もなかった。赤痢、チフスは昭和30～40年代に激減し昭和50年代以降、海外からの持ち込みが多くなっていったが、平成7年度のように赤痢、チフス、コレラの発生数、合計0ははじめてでないかと思われる。

一方、細菌性食中毒は、件数で見ると、腸炎ビブリオ10、黄色ブドウ球菌1、植物性自然毒1、不明1の計13件、患者数で見ると、腸炎ビブリオ135名、黄色ブドウ球菌3名、その他28名の計166名であった。前年度に多かったサルモネラ食中毒はなかった。腸炎ビブリオ食中毒の多くは8月に発生したので、同月下旬に富山湾沿岸海水における本菌分布調査を実施した。菌数はやや多い傾向であった。

### 〔その他の行政および依頼検査〕

**行政検査：**食品については、7～10月に清涼飲料水の成分規格調査、6～10月に富山湾産魚介類の腸炎ビブリオ検査を行った。清涼飲料水36件はすべて適であったが、魚からは例年のごとく夏季に多く腸炎ビブリオが検出された。

水質関係では県生活環境部の依頼で海水浴場（8定点、延べ74検体）の糞便性大腸菌群数の測定を行った。その結果、いずれも「適」で、そのうち、約70%は水質が特に良好な「AA」ランクであった。また公共用水域（海域水、湖沼）176検体について細菌検査を行った結果、特に汚染の進行は認められなかった。

梅毒については、保健所でガラス板あるいはTPHAで陽性であった検体を蛍光抗体法で調べたところ、28件中5件が陽性であった。

**依頼検査：**民間企業あるいは公営企業体より依頼されて検査した食品、医薬品、水の検体数はそれぞれ67、36、316で、全体として、前年比14%減であった。

### 〔流行予測、感染症サーベイランスと病原細菌検出情報〕

**流行予測事業：**県単独事業である溶血連鎖球菌感染源濃度調査を東西2カ所の保育園児89名を対象に実施したところ、咽頭からの菌陽性数は2（内B群1、C群1）であった。一方、病院で分離された多くの溶連菌を型別すると、咽頭からA群、尿からB群が多く検出され、A群ではT3とT4、B群ではNT-6とJM-9が優勢であった。

**感染症サーベイランスと病原細菌検出情報：**感染症サーベイランスによれば、前年に比べて、百日咳様疾患は27%減、溶連菌感染症は9%減、異型肺炎は24%増であった。

一方、糞便からの病原細菌検出情報によれば、腸炎ビブリオ、カンピロバクターが前年比120～150%の増加、サルモネラ、大腸菌が前年比30～50%の減少であった。この結果は食中毒発生数の多少を反映している。

### 〔調査研究〕

サルモネラについては、1979年以来実施している都市河川水から分離される菌株とヒトから分離される菌株の血清型の比較、サルモネラ食中毒多発前と多発後（1989年以降）のS. Enteritidisの病原性の比較、パルスフィールド電気泳動によるS. Enteritidisの型別法の検討と、これを用いたS. Enteritidis食中毒の疫学解析を実施した。その結果、ヒトからはS. EnteritidisとS. Typhimurium、環境からはS. TyphimuriumとS. Enteritidisが多く分離されること、S. Enteritidis食中毒多発後の菌株のマウ

スに対する病原性は多発前の菌株のそれに比しやや強いかもしれないが、HEp2 細胞侵入性では、両者に差がないこと、S. Enteritidis の疫学的追求手段として、Bln I を使用したパルスフィールド電気泳動は利用価値が高いこと等を明らかにした。

溶連菌については、1992年以降、劇症溶連菌感染症が国内でみられるようになったので、その原因菌の特徴を知るため、劇症例由来株と通常の咽頭炎由来株について、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の比較を行った。現在の所、両者に差は認められていない。

コレラ菌については、国内の環境からしばしば分離されるコレラ毒素非産生性のコレラ菌が東南アジア旅行後のコレラ患者由来のコレラ菌と祖先が同じかどうかを、染色体 DNA 分析等によって検討中である。これまでの成績は両者の祖先は異なることを示唆している。

大腸菌については、富山県内で集団食中毒事例あるいは海外旅行者下痢症から分離された血清型 O6, O18, O148 の菌株について、各種の条件でパルスフィールド電気泳動を行った。その結果、O18とO148の菌については、Sfi I 処理後のパルスフィールド電気泳動が疫学調査に適していることを明らかにした。

環境細菌については、小杉町の新築マンションで、浴室、洗面所等の水回りに淡紅色スライムが発生し、調査依頼を受けた。発生ヶ所のふき取り、受水槽、水道水から原因菌の一つとして Methylobacterium 属菌を分離、同定した。本菌は土壌、水、空気など環境に広く生息しているが、塩素抵抗性が強いいため、水道水や受水槽などで、他の菌に優先して増殖したものと推定した。

## 【研修指導】

民間の試験機関の職員 1 名に対して 1 ヶ月間、腸炎ビブリオの検査法の指導を行い、ミネラルウォーター製造会社職員 1 名に対して 1 カ月間、水の細菌検査法の指導を行った。また、ブラジル国からの研修生 1 名に対して、約 9 ヶ月間食中毒起病菌の検査法と DNA 分析法の指導を行った。

# 化 学 部

## 【行政および依頼検査】

### 1. 食品等の検査

#### (1) 食品成分、添加物等の検査および規格試験

煮干し等魚介乾製品 10 検体について酸化防止剤 (BHA, BHT) 2 成分の検査を行ったところ、1 検体から BHA が 0.13 g/kg (基準値 0.2 g/kg 以下) 検出されたが、9 検体はいずれも不検出であった。生めん類など 9 検体については、品質保持剤 (プロピレングリコール) の含有量は不検出 ~ 1.63% であり、すべて使用基準 (2% 以下) を満たしていた。ミネラルウォーター 37 検体について成分規格試験 (混濁、沈殿物、ヒ素、鉛、カドミウムおよびスズ) を行ったところ、すべての検体が基準に適合していた。

#### (2) 食品中の残留農薬の検査

県内産主要農産物 6 種 12 検体について、18 農薬 (有機リン系 9 種、ピレスロイド系 3 種、含窒素系 6 種) を検査した。含窒素系のカルバリルについては、日本なし 2 検体から 0.14ppm, 0.22ppm (残留基準 1.0ppm), りんご 2 検体から 0.12ppm, 0.16ppm (残留基準 1.0ppm) 検出したが、他の農薬はいずれの検体からも検出されなかった。

#### (3) 食品中の有害物質等の検査

富山湾産魚介類 (あじ、ハマチ等) 9 種 12 検体について、総水銀を測定したところ 0.02 ~ 0.05ppm

(暫定規制値 0.4ppm)であった。またぶり等11種13検体について、トリブチルスズオキシド(規制値なし)を測定したところ、さば1検体から0.02ppm、あおりいか1検体から0.06ppm、かつお2検体から0.05ppmおよび0.18ppm検出した。厚生省はトリブチルスズオキシドの1日許容摂取量を1.6 $\mu$ g/kg(体重50kgの成人では毎日80 $\mu$ gまでを摂取可能)と定めており、これらの値は食品衛生学的には問題ない。

県内産魚介乾製品(あじの塩干物等)20検体について、6種類の不揮発性腐敗アミン類の検査を行った。プトレシンは3検体から10~840mg/kg、カダベリンは7検体から10~330mg/kg、ヒスタミンは4検体から10~840mg/kg、チラミンは2検体から10~50mg/kg、アグマチンは4検体から10~290mg/kg、スペルミジンは12検体から20~930mg/kg検出されたが、7検体からはいずれのアミンも検出されなかった(10mg/kg未満)。アレルギー様食中毒を引き起こす含有量ではないが、ヒスタミン含有量の多い製品もあり、今後も製造、流通および保存の各過程での品質管理をより一層厳格に行うことが求められる。

## 2. 家庭用品検査

除菌消臭スプレーや繊維保護用スプレーなどの家庭用エアゾル製品10検体について、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレンあるいはメタノールの規格試験を、また羊毛製品(衣類)5検体についてディルドリンの試験を行ったところ、いずれの製品からも検出されず、規格基準に適合していた。

## 3. 水質検査

### (1) 水道水の水質基準項目検査

水質基準項目のうち、トリハロメタン等の揮発性有機化合物およびシマジン等の農薬を合せた19項目等について、194件(原水42,浄水152)の検査(延項目数3,656)を行った。検出された成分はトリハロメタンだけであり、いずれも基準に適合していた。なお、前年度に比較して、検出値および検出率とも低い傾向にあった。他の揮発性有機化合物および農薬はすべて不検出であった。

### (2) 水道水の監視項目検査

水源別に、表流水3件および地下水14件について、ホルムアルデヒド等22項目の検査を行ったところ、トリクロロ酢酸およびジクロロ酢酸が、それぞれ指針値の1/100および1/10程度検出されるものがあったが、他の項目はいずれも不検出であり、監視項目検査に関しては、現在のところ汚染の危惧はないと推定される。

### (3) 井戸水のゴルフ場使用農薬検査

県内ゴルフ場周辺の井戸水22件について、平成7年9月および平成8年3月にゴルフ場使用農薬(シマジン等23成分)の検査を2回行った。前年度と同様に、いずれの井戸水からも農薬は検出されなかった。

## 4. 温泉分析

中分析19件を行ったところ、温泉法2条に適合するものは17件であり、そのうち16件は療養泉であった。主な泉質は、ナトリウム-塩化物泉、アルカリ性単純泉、ナトリウム・カルシウム-塩化物泉などであった。小分析3件を行ったところ、いずれも温泉法に適合していた。また、温泉資源の保護を目的として、特定地域に密集している15温泉について、本年度から主要成分の経年的な変化の調査を始めた。

## [調査研究]

### 1. 食品中の成分および添加物に関する調査研究

#### (1) イオン電極による野菜中の硝酸塩の定量

硝酸イオン電極 (ISE) による野菜中の硝酸塩の分析法を確立した。野菜は硫酸銀溶液で浸出し、陰イオン交換樹脂カートリッジで処理して得られた溶液を試験に供した。また、浸出液を用いてイオンクロマトグラフィー (IC) による分析も行った。多くの野菜において、ISE 法と IC 法による測定値はよく一致した。ISE 法は IC 法に比べて、分析時間が短く、同一種の検体を数多く測定するのに適した方法と考えられる。

#### (2) 偏光吸光度検出法を利用した光学異性体の分析法の開発

偏光吸光度検出器は、高速液体クロマトグラフ用の吸光度検出器の試料側と対照側に同量流すプリットタイプのセルを試作し、試料側と対照側に偏光板を装着して、溶出成分自身の吸光度を相殺させ、旋光度に基づく吸光度変化を増幅する装置を開発した。この装置を用いて、アミノ酸やオリゴ糖類に適用できる簡便な分析法を確立した。

#### (3) オンカラム誘導体化高速液体クロマトグラフ法によるポリアミン類の一斉分析法

食品中のヒスタミンなどのアミン類は、抽出、アミノ酸などの除去後、ポストカラム反応 HPLC で分析されてきた。近年、反応系のない単純な装置で分析できるオンカラム反応 HPLC 法が報告されたが、移動相の濃度グラジエント溶出は困難であり、アミノ酸除去などの精製操作は必要である。そこで、濃度グラジエント溶出が可能なオンカラム反応 HPLC の条件検討を行い、アミノ酸除去操作を必要としない、簡便・迅速なアミン類の一斉分析法を開発中である。

### 2. 食品中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

#### (1) 農産物中の残留農薬調査

平成5年度に提示したガスクロマトグラフを用いた多成分系統的分析法に、4種農薬（ミクロブタニル、フェナリモル、ピリダベン、レシナル）およびポストカラム反応-蛍光検出高速液体クロマトグラフ法（アルジカルブ、オキサミル、カルバリルなど7農薬）を追加した方法を確立した。この多成分系統的分析法を用いて、富山県内で生産された農産物6種12試料について、76種類農薬（85成分）の残留実態調査を実施した。有機塩素系、有機リン系およびピレスロイド系農薬はいずれの検体からも検出されなかった。含窒素農薬については、りんごと日本なしからカルバリルだけ検出されたが、その残留量は基準値の1/10程度であった。

### 3. 飲料水および温泉に関する調査研究

#### (1) 水道水中のハロ酢酸類の一斉分析

飲料水中の不揮発性消毒副生成物の生成機構の解明を目的として、7種のハロ酢酸の一斉分析法を確立し、県内水道水の実態を詳細に把握するために含有量調査を行った。総ハロ酢酸量は総トリハロメタン量と同レベルであり、また監視項目に設定されているトリクロロ酢酸とジクロロ酢酸が総量に対して大きな割合を占めることを明らかにした。

#### (2) イオンクロマトグラフによる温泉水中の陰イオンの分析

温泉水中の陰イオンについて、イオンクロマトグラフ法 (IC法) により、多成分を一斉分析する方法を検討した。塩濃度が特に高い場合には、検水の希釈に注意を払う必要があるものの、IC法による測定値（フッ素、塩素、臭素および硫酸イオン）は、鉍泉試験法（比色法、滴定法等）による値とよく一致することを明らかにした。

#### 4. 日常の検査業務に適する簡単、迅速な多成分一斉分析法の開発

##### (1) フタル酸エステル類の全自動 HPLC 分析法

水道水の監視項目にフタル酸ジエチルヘキシル（指針値：60  $\mu\text{g/l}$ ）が設定されている。また、酒類にフタル酸ジブチルが3 mg/l 以上含有すると食品衛生法第4条違反との厚生省見解が示されている。従来、フタル酸エステルは液-液抽出あるいは固相抽出した後、GCで分析されてきた。しかしながら、抽出・濃縮操作中の実験器具などからの汚染に細心の注意を払うなど、熟練が求められる。前年度は、水道法の水質基準に設定されている3農薬について、大容量自動試料注入装置付 HPLC を用いて、オンラインで濃縮カラムに固相抽出し、引き続いてカラムスイッチングを行って分離・定量する全自動一斉分析システムを構築した。本年度は、この全自動分析システムを用いて、前記2種フタル酸エステルについて、前処理を行うことなく、多数の検体を連続して測定できる全自動分析の条件を検討し、水道水および液体食品に適用できる方法を確立した。

##### (2) 微分スペクトルクロマトグラム法による高選択的 HPLC 分析法

前年度は、フォトダイオードアレイ検出器を用い、微分スペクトルクロマトグラム法を利用すれば、分離不十分なピークでも、妨害成分の影響を除いて、目的成分に選択的なクロマトグラムを作成し、目的成分の定量が可能なることを示唆した。本年度は、農業用水中の水田除草剤（ダイムロン、メフェナセット）について、それぞれの農薬が完全に分離されない場合でも、微分スペクトルクロマトグラム法により分別定量できることを明らかにし、本法が選択的な検出法であることを示した。

##### (3) キャピラリー電気泳動法による温泉水中の陰イオンの一斉分

キャピラリー電気泳動法は新しい分析手段であり、広範な専門領域で利用され始めた。その特徴は、高分解能、分離モードの多様性、測定の迅速性、有害試薬を使用せずクリーンなことなどである。衛生化学領域への利用の可能性を検討すべく、本年度は温泉水中の陰イオンの一斉分析を試みた。各イオン濃度が極端に異なる場合に検討の余地は残るものの、測定の迅速性と定量精度の観点から、イオンクロマトグラフ法に比較して勝るとも劣らぬ方法であると考えられる。

## 環 境 保 健 部

### [行政検査]

#### 1. カドミウム環境汚染に関わる地域住民の健康調査として、次の検査を行なった。

##### (1) 神通川流域住民健康調査（希望者検診）

昭和54～59年に実施された検診で「異常なし」であった受診者の追跡調査と、未受診者のうちで希望者を対象に健康調査を実施した。

対象者1,078名中941名が受診した。その後1次B検診に183名、2次検診に53名が受診し、延べ1,177名の検査を実施した。

##### (2) イタイイタイ病要観察者を対象とした管理検診を2名に実施した。

### [調査研究]

#### 1. イタイイタイ病に関する研究

イタイイタイ病要観察者について骨吸収の特異的指標とされる血清中の酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ（Tr-AcP）活性を測定した。

その結果、同年齢の非汚染地域住民に比べて Tr-AcP 活性に上昇は認められなかった。このことは、

骨吸収を主体とした骨萎縮は要観察者で亢進していない可能性を示す。さらに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との関係を検討中である。

## 2. 骨粗鬆症の骨代謝指標による効率的な予防法の確立に関する研究（がん等特別研究費）

60歳以上の高齢者について、寝たきり、介助歩行、歩行の各々の活動度別に骨代謝の生化学的指標を比較検討した。骨吸収の指標は、寝たきり状態にある高齢者では歩行可能者に比べて著しく高値を示し、寝たきりでは骨萎縮の亢進が見られたが、介助歩行者では骨吸収の指標に有意差は認められなかった。従って、高齢者において「立つ・歩く」などの軽微な運動が骨萎縮の抑制に効果があるものと考えられた。

## 3. 成人病予防に関する疫学的研究

思春期の骨代謝に影響する要因を解析するため、高校生についてスポーツテストの成績と骨代謝指標との関連を検討した。スポーツテストの得点が高い生徒ほど骨吸収は抑制され、女子ではさらに骨形成の促進が推測される結果を得た。高校時代の運動が最大骨量の増大と関係し、将来の骨粗鬆症の予防に有効と思われた。

## 4. 環境汚染物質の生体影響に関する研究

農薬散布作業者の散布直後の暴露量を評価するために、バックグラウンドとして非散布時期における尿中農薬代謝物を追跡調査中である。

## (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	先天性代謝異常検査	11,502 (69,012)	
	染色体検査	98 ( 98)	62 ( 62)
	衛生動物等検査	1,193 ( 5,080)	28 ( 28)
	小 計	12,793 (74,190)	90 ( 90)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	673 ( 673)	
	血清学的検査	533 ( 622)	
	病原微生物の動物試験	120 ( 120)	
	小 計	1,326 ( 1,415)	
細 菌 部	伝染病にかかわる検査	314 ( 319)	
	食中毒にかかわる検査	168 ( 287)	
	血清学的検査	28 ( 28)	
	食品検査	64 ( 65)	67 ( 138)
	医薬品検査		36 ( 144)
	水質検査	358 ( 424)	316 ( 592)
	その他の検査		115 ( 228)
	小 計	932 ( 1,123)	534 ( 1,102)
化 学 部	食品にかかわる検査	187 ( 1,612)	
	家庭用品検査	15 ( 20)	
	水質検査	39 ( 714)	216 ( 3,996)
	温泉分析	15 ( 150)	22 ( 621)
	小 計	256 ( 2,496)	238 ( 4,617)
環 境 保 健 部	カドミウム住民健康調査	1,986 ( 7,666)	
	小 計	1,986 ( 7,666)	
合 計		17,293 (86,890)	862 ( 5,809)

## 検査内容

( ) 内項目数

### がん研究部

#### [行政検査]

1. 先天性代謝異常検査	11,502	(69,012)
2. 染色体検査		
(1) 血液	70	(70)
(2) 羊水	18	(18)
(3) 胎児	8	(8)
(4) 骨髄液	2	(2)
3. 衛生動物等検査		
(1) 衛生・不快動物	1,175	(5,060)
(2) 食品混入異物	18	(20)

#### [一般依頼検査]

1. 染色体検査		
(1) 血液	6	(6)
(2) 羊水	52	(52)
(3) 胎児	4	(4)
2. 衛生動物等検査		
(1) 衛生・不快動物	24	(24)
(2) 食品混入異物	4	(4)

### ウイルス部

#### [行政検査]

1. 感染源検査		
(1) インフルエンザ	100	(100)
(2) ポリオ	67	(67)
(3) その他のウイルス	487	(487)
(4) リケッチア	19	(19)
2. 血清学的検査		
(1) インフルエンザ	15	(70)
(2) 日本脳炎(ブタ)	240	(240)
(3) その他のウイルス	239	(239)
(4) リケッチア	39	(98)
3. 病原微生物の動物試験	120	(120)

#### [一般依頼検査]



( ) 内項目数

## 細菌部

### [行政検査]

### [一般依頼検査]

#### 1. 伝染病にかかわる検査

1. 食品検査 67 ( 138)

(1) 溶連菌 306 ( 306)

2. 医薬品等検査 36 ( 144)

(2) コレラ菌・NAG 2 ( 2)

#### 3. 水質検査

(3) 赤痢菌 1 ( 1)

(1) 海水 40 ( 40)

(4) チフス・パラチフスA 3 ( 6)

(2) 飲料水 228 ( 456)

(5) 結核菌 2 ( 4)

(3) 河川水 48 ( 96)

#### 2. 食中毒にかかわる検査

#### 4. その他の検査

(1) サルモネラ 119 ( 237)

(1) 空調ダクト内菌数 113 ( 226)

(2) 腸炎ビブリオ 12 ( 12)

(2) 抗菌試験 2 ( 2)

(3) 病原大腸菌 12 ( 12)

(4) カンピロバクター 1 ( 1)

(5) セレウス菌 1 ( 1)

(6) 黄色ブドウ球菌 20 ( 20)

(7) その他 3 ( 4)

#### 3. 血清学的検査

(1) 梅毒蛍光抗体法 28 ( 28)

#### 4. 食品検査

(1) 収去食品 39 ( 40)

(2) 魚介類 25 ( 25)

#### 5. 水質検査

(1) 海域水 272 ( 272)

(2) 河川水 66 ( 132)

(3) 湖水 20 ( 20)

## 化 学 部

### [行政検査]

1. 食品にかかわる検査		
(1) 食品成分および添加物	85	( 471)
(2) 食品中の残留農薬	28	( 938)
(3) 食品中の重金属類	29	( 33)
(4) 食品中の有害物質等	45	( 170)
2. 家庭用品検査		
(1) メチルアルコール	5	( 5)
(2) テトラクロロエチレン およびトリクロロエチレン	5	( 10)
(3) デイルドリン	5	( 5)
3. 水質検査		
(1) 監視項目	17	( 374)
(2) ゴルフ場使用農薬	22	( 340)
4. 温泉分析		
	15	( 150)

### [一般依頼検査]

1. 水質検査		
(1) 水質基準項目	194	( 3,656)
(2) ゴルフ場使用農薬	22	( 340)
2. 温泉分析		
(1) 中分析	19	( 570)
(2) 小分析	3	( 51)

## 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	608	( 1,216)
1次検診B 尿検査	75	( 225)
2次検診		
尿, 血液, 腎機能検査	83	( 2,133)
短期入院検査		
尿, 血液検査	41	( 246)
(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	2	( 39)
(3) 希望者検診		
1次検診A 尿検査	941	( 1,880)
1次検診B 尿検査	183	( 549)
2次検診		
尿, 血液, 腎機能検査	53	( 1,378)

## (8) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
微 生 物 学	中 山 喬	富山市医師会看護 専門学校准看護学科	平7. 4～8 週1回	富山市医師会 看護専門学校
微 生 物 学	石 倉 康 宏	総 合 衛 生 学 院 第 1 看 護 学 科	平7. 4～7 週1回	総合衛生学院
微 生 物 学	品 川 保 弘	厚生連高岡看護専門学校	平7. 4～9 週1回	厚生連高岡 看護専門学校
統 計 学	松 浦 久美子	総 合 衛 生 学 院 第 2 看 護 学 科	平7. 5～9 週1回	総合衛生学院
発 育 発 達 論	庄 司 俊 雄	富山健康科学専門学校	平7. 5～7 隔週1回	富山健康科学 専 門 学 校
健康の生化学指標	西 野 治 身	富山医科薬科大学医学部	平7. 6. 16	富山医科薬科 大 学
ウイルス学総論	北 村 敬	帝京大学医学部	平7.6.17～18	帝京大学
臨床遺伝学 染色体異常と遺伝病	本 田 幸 子	富山医科薬科大学医学部	平7. 6. 19	富山医科薬科 大 学
臨床遺伝学 遺伝子スクリーニング	林 美貴子	富山医科薬科大学医学部	平7. 6. 26	富山医科薬科 大 学
ウイルス学各論	北 村 敬	帝京大学医学部	平7.6.25～26	帝京大学
カメムシとアブの駆除法	渡 辺 護	防疫殺虫剤協会 技術部会研修会	平7. 7. 20	芦原温泉
衛生昆虫を見比べてみよう	渡 辺 護	子 供 科 学 教 室	平7. 7. 27	衛生研究所

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
微 生 物 学	石 倉 康 宏	高 岡 市 立 看 護 専 門 学 校	平 7 . 9 ~ 平 8 . 3 週 1 回	高 岡 市 立 看 護 専 門 学 校
ヘクサンボの侵入阻止法 ( 現 地 指 導 )	渡 辺 護	平 村 へ っ さ ん ぼ 駆 除 研 修 会	平 7 . 9 . 21	相 倉 地 区 上 梨 地 区
ダニの採集法 ダニの種類と駆除法	渡 辺 護	高 岡 保 健 所 ア ト ピ ー 教 室	平 7 . 9 . 22 平 7 . 10 . 3	高 岡 保 健 所
ヘクサンボの侵入阻止法 ( 現 地 指 導 )	渡 辺 護	利 賀 村 へ っ さ ん ぼ 駆 除 研 修 会	平 7 . 9 . 30	坂 上 保 育 所
生 化 学	品 川 保 弘	高 岡 市 立 看 護 専 門 学 校	平 7 . 9 ~ 平 8 . 2 週 1 回	高 岡 市 立 看 護 専 門 学 校
公 衆 衛 生 学	庄 司 俊 雄	富 山 健 康 科 学 専 門 学 校	平 7 . 10 ~ 12 週 1 回	富 山 健 康 科 学 専 門 学 校
ウイルス学特別講義	北 村 敬	金 沢 医 科 大 学	平 7 . 10 . 15	金 沢 医 科 大 学
衛 生 動 物 学	渡 辺 護	富 山 医 科 薬 科 大 学 医 学 部	平 7 . 10 . 25	富 山 医 科 薬 科 大 学
害虫・獣に対する 富 山 県 の 取 り 組	渡 辺 護	全 国 環 境 衛 生 大 会 研 究 集 会 第 一 分 科 会	平 7 . 11 . 9	金 沢 市 文 化 ホ ー ル
カメムシの侵入阻止法 ( 現 地 指 導 )	渡 辺 護	養 命 酒 工 場	平 7 . 12 . 5	長 野 県 駒 ヶ 根 市
ウイルス感染症としてのエイズ	北 村 敬	富 山 県 エ イ ズ 予 防 シ ン ポ ジ ウ ム	平 7 . 12 . 6	北 日 本 ホ ー ル
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 8 . 1 . 9	富 山 医 科 薬 科 大 学

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
ウイルス学特別講義	北 村 敬	富山医科薬科大学	平8. 1. 16	富山医薬大
HIV/AIDS epidemiology	北 村 敬	JICA国際研修コース(AIDS)	平8. 1. 24	国立予防衛生研究所
エイズの介護とカウンセリング	北 村 敬	富山ターミナルケア懇話会	平8. 3. 25	県民会館

## (9) 研 修 指 導

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
徳永食品(株) 巽 み き	平7. 4. 10~28	食品の細菌検査	細菌部
食品研究所 中川義久	平7. 5. 23~26	食品中のフィチン酸の分析	化学部
県立大学短期学部 林 節 男	平7. 6. 15	農薬分析	化学部
食品研究所 竹島文雄	平7. 6. 21~28	食品中の不揮発性腐敗アミン類の分析	化学部
保健所保健予防課 防疫・検査担当者	平7. 6. 22	日本脳炎媒介蚊分類研修	がん研究部
ADOLFO LUTZ 研究所(ブラジル) アナ・クラウディア・F・ フェリスベルト	平7. 7. 11~ 平8. 3. 22	食中毒菌の検査と細菌のDNA分析	細菌部
安全性研究センター(株) 山本美佐子	平7. 7. 17~ 8. 11	腸炎ビブリオの検査	〃
富山保健所 林 知 子	平7. 7. 31~ 8. 2 平7. 12. 5	高速液体クロマトグラフによる食品 添加物の分析	化学部
高岡保健所 笹島厚美	平7. 10. 12 平7. 10. 27	ガスクロマトグラフ・質量分析計および高速 液体クロマトグラフによる食品添加物の分析	化学部
食肉検査所 酒井規子	平7. 10. 16~18 平7. 10. 23~25 平8. 1. 17~25	食品中の農薬の分析	化学部
北陸銘水(株) 山本愛弓	平7. 11. 13~ 12. 12	ミネラルウォーターの細菌検査	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
山本 敦	平7. 7. 16 ~23	誘導結合プラズマ発 光分析装置に関する 技術習得	農林水産省 食品総合研究所	分析評価部 分析研究室長 安井明美先生
高橋 雅子	平7. 8. 2 ~9	・先天性代謝異常症 検査技術者研修 ・HPLCによるアミ ノ酸分析	杏林大学 東京総合医学 研究所・代謝 異常研究施設	杏林大学医学部 小児科客員教授 代謝異常研究施設長 成瀬 浩先生
林 美貴子	平7. 11. 19 ~26	ヒト染色体異常の成 因に関する研究	大阪大学 医学部	大阪大学医学部 森本兼曩先生 竹下達也先生 小倉裕子先生

## (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
中澤 裕之	星薬科大学 薬品分析化学教室 教授	平7. 10. 19 ~10. 20	衛生化学分析の現状と将来展望及 び試験検査の精度管理について
神谷 茂	杏林大学 医学部 教授	平7. 11. 30 ~12. 1	ヘリコバクターピロリ菌検査法
松岡 厚子	国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 変異遺伝部 主任研究官	平7. 12. 12 ~12. 15	染色体ペインティング法の 基礎と応用
宮村 達男	国立予防衛生研究所 ウイルス第2部部長	平8. 1. 18 ~1. 19	肝炎ウイルスの検査法と その解釈について
伊木 雅之	福井医科大学 環境保健学教室 講師	平8. 3. 14 ~3. 15	骨粗鬆症のハイリスクグループ の生化学的診断法

## (12) セミナーの開催

衛生研究所，薬事研究所，環境科学センター 3 研究機関合同セミナー

演 題	講師氏名	所属職名	年 月 日
衛生化学分析の現状と将来展望	中澤裕之	星薬科大学 薬品分析化学教室教授	平成7年10月19日
ヘリコバクターピロリの病原性－ 胃十二指腸疾患発生との関連	神谷 茂	杏林大学 医学部 教 授	平成7年11月30日
染色体ペインティング法とその 応用－X線治療患者リンパ球の 染色体異常解析	松岡厚子	国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 変異遺伝部主任研究官	平成7年12月13日
C型肝炎ウイルスの生態について	宮村達男	国立予防衛生研究所 ウイルス第2部 部長	平成8年1月18日
地域における骨粗しょう症予防 対策はどうあるべきか －現状と課題	伊木雅之	福井医科大学 環境保健学教室 講師	平成8年3月14日



## 2. 調查研究報告

# 先天性代謝異常等マススクリーニングの 成果について (平成7年度の検査成績)

高橋雅子 米田 豊 北村 敬 高柳礼子<sup>1</sup>

A Survey Report on Neonatal Mass Screening  
for Inborn Errors of Metabolism,  
Congenital Hypothyroidism and  
Congenital Adrenal Hyperplasia  
in Toyama Prefecture  
(April 1995 ~ March 1996)

Masako TAKAHASHI, Yutaka YONEDA,  
Takashi KITAMURA and Reiko TAKAYANAGI<sup>1</sup>

**要 旨** 平成7年度の検体総数は11,502件で、スクリーニングの結果、クレチン症3名の患者が発見された。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19年間で44名、クレチン症が16年間で52名、副腎過形成症が7年間で7名となり、クレチン症は全国に比べその発生率が高い。

先天性代謝異常マススクリーニングは代謝異常症を早期に発見し、早期に治療することにより、心身の障害を未然に防止するという目的で全国的に実施されている。富山県においては、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常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疾病についてマススクリーニングを開始した。昭和55年4月には先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)、平成元年4月には先天性副腎過形成症の検査が追加された。ヒスチジン血症については、厚生省の通達[1]を受けて、平成6年度からスクリーニングを取り止めており、現在は6疾病についてマススクリーニングを実施している。

## 実 施 方 法

1. 対象疾病  
フェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)、先天性副腎過形成症の6疾病を対象とした。
2. 対象者  
県内で出生した新生児のうち、保護者がこの検査を希望した者を対象とした。
3. 検査期間  
本報では、平成7年4月より、平成8年3月ま

1. 富山県健康課

での検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血されたろ紙血液を用いた。

(2) 検査方法

① アミノ酸代謝異常症

フェニルケトン尿症等の3疾病については、枯草菌を用いる Guthrie法 (Bacterial inhibition assay-BIA法) で行った [2]。検査条件を表1に示す。

＜消泡剤の添加＞フェニルケトン尿症、メイプルシロップ尿症の検査に使用している寒天「代謝異常スクリーニングアガーAタイプ」は、寒天平板培地作成時に発泡が見られるため、寒天融解前にシリコン系消泡剤を添加し、培地調製を容易にした [3]。すなわち、アンチホームAFエマルジョン (ナカライテスク製) を5 mg/mlの濃度となるよう水に分散させた溶液を、寒天融解前に1.5ml添加 (最終濃度50ppm) した。これにより、ほぼ完全に消泡が可能となった。また、菌の発育に対する悪影響は認められず、メイプルシロップ尿症の検査用寒天平板培地では発育円境界の明瞭度が改善された。

② ガラクトース血症

Beutler法と Paigen・Phage (吉田)法を併用した [4, 5]。

＜アルカリフォスファターゼの添加＞ 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5 mg/ml原溶液で1.5 μl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 [6]。

③ 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、FT<sub>4</sub> (遊離 Thyroxine) の測定を (財)神奈川県予防医学協会に依頼した。

④ 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。

⑤ ヌケ検体の処理

抗生物質の使用等で細菌の発育が阻害されるヌケ現象を示し、判定が不能となったいわゆるヌケ検体については、ペニシリナーゼ処理後確認検査を行った。すなわち、フェニルケトン尿症とメイプルシロップ尿症の検査のヌケ検体はろ紙血液3 mmディスクをメタノール・アセトン (1:1) 固定液50 μlで血色素固定後、その他の検査でのヌケ検体はろ紙血液3 mmディスクに直接、ペニシリナーゼ溶液 (1000U/ml) 5 μlを滴下し、自然乾燥後、寒天平板培地に置き、確認検査を行った。スタンダードも同様の処理を行った。なお、ペニシリナーゼ溶液は、

表1. 検査条件

対象疾病	寒天	培地	芽胞懸濁液 <sup>1)</sup>	阻害剤 <sup>2)</sup>
フェニルケトン尿症	伊那食品工業 (株) 代謝異常スクリーニングアガー Aタイプ 1.5g	栄研化学 (株) ディメイン修正培地 15ml	栄研化学 (株) 枯草菌6633 1×10 <sup>9</sup>	シグマ社 5mM β-2-TA 0.13ml
ホモシスチン尿症	清水食品 (株) Taiyo-Agar 1.4g			シグマ社 1/3mM MSO 0.11ml
メイプルシロップ尿症	伊那食品工業 (株) 代謝異常スクリーニングアガー Aタイプ 2.0g			ナカライテスク社 10mM 4-AL 0.44ml

1) 使用量は試薬ロット、温度、湿度等により変動する。

2) 使用量は試薬ロット、温度、湿度等により変動する。

β-2-TA : β-2-Thienyl-DL-alanine、MSO : L-Methionine-DL-Sulfoximine、4-AL : 4-Aza-DL-leucine

表2. 判定基準

対象疾病	測定物質	疑陽性	緊急に精密検査を要する
フェニールケトン尿症	Phenylalanine	2mg/dl 以上	
ホモシスチン尿症	Methionine	1mg/dl 以上	
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)	8 $\mu$ U/ml以上	30 $\mu$ U/ml以上
先天性副腎過形成症	17- $\alpha$ -hydroxy progesterone (17- $\alpha$ -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

SIGMA 社製ペニシリナーゼ (1,000U) を蒸留水 1ml で溶解した。

### (3) 判定基準

カットオフ値を表2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で受診するよう主治医に報告した。

### (4) 集計処理

検査検体の受付事務処理、検査結果の集計およびデータ管理は、当所で開発した先天性代謝異常等検査のデータ管理システム [7] を用いた。

## 結果及び考察

### 1. 検査実施状況

今年度の受付総数は、11,502件で、県内67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3および表4に年度別、月別検査実施状況を示した。

今年度の出生数は9,945人であり、受検率は107.8%となった。100%を越えているのは、里帰り分娩が増加したためで、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

また、再採血検体数は784件で、受付検査総数の6.8%にあたり、そのうち476件（60.7%）が疑陽性になったための再採血検体であった。

一方、再採血を依頼したのは678件で、そのうち、疑陽性の理由は480件（70.8%）であった。これらのうち、回収できなかったのは、10件（死亡1件、病院で再検・追跡9件）で、回収率は97.9%であった。疑陽性の理由以外で再採血を依頼した分については、検体不良のためが44件（6.5%）であった。44件の内訳は、採血が4日以内が18件、採血後日数が経ちすぎているものが16件、血液が十分しみ込んでいないものが7件、汚染が2件、保存状態不良が1件であった。これらは、直ちに再採血を依頼した。また哺乳状態のよくないものが45件（6.6%）、抗生物質の使用等で枯草菌の発育が阻害され判定不能となったヌケ検体が2件（0.3%）あった。ヌケ検体のための再採血依頼が昨年度は4.8%であったのに対し、今年度は0.3%と非常に少なくなったのは、ペニシリナーゼ処理を行ったためである。これらについては期間において（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。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

表3. 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	ルルヲ 症	副 腎 過形成症	代 謝 異常症	ルルヲ 症	副 腎 過形成症
52年10月 ～55年 3月	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6(4)	—	—
55年 4月 ～ 1年 3月	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75(32)	130(25)	—
1年 4月 ～ 2年 3月	11,633	10,859	10,802	100.5	228	129	84	12(4)	29(2)	14(1)
2年 4月 ～ 3年 3月	11,356	10,594	10,122	104.7	187	190	71	5(1)	35(4)	16(1)
3年 4月 ～ 4年 3月	11,546	10,780	10,613	101.6	172	219	58	14(3)	26(4)	20(3)
4年 4月 ～ 5年 3月	11,311	10,577	9,840	107.5	183	141	80	7(0)	26(6)	22(1)
5年 4月 ～ 6年 3月	11,194	10,485	9,723	107.8	142	124	68	6(0)	28(6)	14(0)
6年 4月 ～ 7年 3月	11,916	11,103	10,373	107.0	218	155	79	9(0)	30(2)	21(1)
7年 4月 ～ 8年 3月	11,502	10,718	9,945	107.8	171	218	95	3(0)	37(3)	20(0)
計	232,528	219,001	228,062	—	3,374	2,017	535	137(44)	341(52)	127(7)

( ) は 患者数

表4. 月別検査実施状況

年 月	平 成 7 年									平 成 8 年			計		
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受付検体総数 (件)	865	1,004	1,003	971	1,120	926	987	924	761	1,066	924	951	11,502		
内 訳	初回検査数 (件)	789	958	937	915	1,041	856	904	858	704	1,013	862	881	10,718	
	再採血総数 (件)	76	46	66	56	79	70	83	66	57	53	62	70	784	
	再採血内訳	2 回 目	69	44	64	51	77	61	77	61	53	50	57	66	730
		3 回 目	7	2	2	4	2	7	6	5	4	3	5	4	51
4 回 以 上		0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	3	
出生数 (人)	770	888	876	915	863	858	807	783	776	836	771	802	9,945		

か1か月時のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼し、2度検査を行っている。今年度は161人(1.5%)に再採血を依頼したが、そのうち27人は哺乳不良であった。

以上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6件(うち死亡1件)で、97.0%の回収率となった。

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19件(0.2%)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、8件(0.07%)が8日以上かかっていた。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  
に行い、採血後は直ちに確実に郵送してもらうよ  
う更に徹底する必要が認められた。

2. 検査結果

検査成績について、表3には年度別、表5には  
月別の疑陽性および要精密検査数を示した。本年  
度の疑陽性人数は、代謝異常症が171人(1.6%)  
、クレチン症が218人(2.0%)、先天性副腎過形  
成症が95人(0.9%)であり、そのうち、それぞれ  
3人、37人、20人に精密検査の必要が認められた。

表6には、要精密検査者の検査状況と結果をま  
とめて示した。

症例3は、ガラクトース高値のため要精密検査  
となった例で、血中ガラクトース高値が約2か月  
間続いたためラクトレスミルクによる治療が開始  
された。この間、臨床症状は認められず、体重増  
加も良好であった。GOT、GPT、T-Bil 高値が認  
められたが、肝脾腫、肝血管腫は認められなかつ  
た。肝機能障害は、生後3か月ごろより徐々に改  
善し、生後6か月時にラクトレスミルクを中止し  
て普通食に切り替えられた。生後7か月時の検査  
ではガラクトースの上昇は認められず、一過性と  
診断された。

症例4～40は、いずれもクレチン症の検査で  
TSH 高値のため、要精密検査となったものであ  
る。クレチン症と診断されたのは、症例13、14、  
19であった。症例14は生後6日目の初回検査で

TSH が30μU/ml 以上であったため即精検となつ  
たが、その後病院で検査した結果生後11日目で  
TSH 9.0μU/ml、FT<sub>4</sub> 1.3μg/dl となり、クレ  
チン症の心配はないと思われた。しかし、その後  
も定期的に経過を観察していたところ、生後24日  
目で TSH 72.9μU/ml、FT<sub>4</sub> 2.3μg/dl、生後  
35日目で TSH 180μU/ml、FT<sub>4</sub> 0.8μg/dl と  
甲状腺機能低下症状を示し、クレチン症と診断さ  
れ、甲状腺ホルモン補充療法が開始された。症例  
19は、生後6日目の検査ですでに TSH 異常高値  
で即精検となり、生後22日目より、甲状腺ホルモ  
ン補充療法が開始された。なお症例36は、チアノー  
ゼ性心疾患を有しており、このため TSH 高値を  
呈したとのことであった。

症例41～60は、副腎過形成症の疑いで精密検査  
を要した例である。今年度は、患者は発見されな  
かった。精検となった20人のうち、2,000g 以下  
の低出生体重児は14人(70.0%)であった。

なお、症例43、47、56、60は双生児、症例46は  
4つ児であった。

全国および富山県の患者発見状況は表7に示し  
た。

富山県における現在までの患者発見率は、代謝  
異常症が1/5,000、クレチン症が1/3,700、副  
腎過形成症が1/10,700である。全国の患者発見  
率と比較すると、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(クレチン症; P <  
0.01)。

表5. 月別疑陽性件数および要精密検査数

対象疾病	年 月	平成7年										平成8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(1)	2		2	2	10(1)	
ホモシスチン尿症		1	1	1		1		2	1		2			9	
メイプルシロップ尿症		1	5	8	9	6	13	13	2	1	7(1)	3	1	69(1)	
ガラクトース血症		3	6	12	6	15	12(1)	6	7	3	2	7	4	83(1)	
クレチン症		30(5)	16(3)	12	13(1)	21	24(2)	16(7)	16(3)	17(3)	21(6)	17(2)	15(5)	218(37)	
副腎過形成症		5(1)	2	9	2(1)	11	11(5)	7(2)	9(2)	9(5)	10(1)	8(2)	12(1)	95(20)	
計		40(6)	31(3)	42	31(2)	54	60(8)	44(9)	37(6)	32(8)	42(8)	37(4)	34(6)	484(60)	

( ) は 要精密検査数

表6. 要精密検査者の検査状況と結果

対象疾病	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	* ;患者	
							精	検 結 果
フェニルケトン尿症	1	男	7.11.11	7.11.16 11.27	5 16	Phe 2 mg/dl Phe 2 mg/dl	正	常
メイプルシロップ尿症	2	女	8.1.3	8.1.8 1.16	5 13	Leu 2 mg/dl Leu 2~4 mg/dl	正	常
ガラクトース血症	3	女	7.8.22	7.8.28 9.12 9.25	6 21 34	Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常	一過性	高ガラクトース血症
クレチン症	4	男	7.3.21	7.3.27 4.3	6 13	TSH 11.8 μU/ml 10.2 μU/ml TSH 11.5 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.8 ng/dl	一過性	高TSH血症
	5	女	7.3.23	7.3.30 4.10 4.18	7 18 26	TSH 0.6 μU/ml TSH 12.1 μU/ml 10.6 μU/ml TSH 11.5 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.4 ng/dl	一過性	高TSH血症
	6	男	7.4.6	7.4.12 4.18	6 12	TSH 15.2 μU/ml 21.0 μU/ml TSH 10.6 μU/ml FT <sub>4</sub> 2.0 ng/dl	一過性	高TSH血症
	7	女	7.4.3	7.4.8 4.18	5 15	TSH 13.0 μU/ml 13.1 μU/ml TSH 23.7 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.5 ng/dl	一過性	高TSH血症
	8	女	7.3.23	7.3.30 4.18 4.27	7 26 35	TSH 3.9 μU/ml TSH 13.3 μU/ml 12.9 μU/ml TSH 14.5 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.2 ng/dl	一過性	高TSH血症
	9	男	7.3.21	7.4.21 4.28	31 38	TSH 24.2 μU/ml 23.8 μU/ml TSH 13.3 μU/ml FT <sub>4</sub> 0.7 ng/dl	一過性	高TSH血症
	10	女	7.4.14	7.4.19 5.7	5 23	TSH 7.5 μU/ml 8.3 μU/ml TSH 12.9 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.3 ng/dl	一過性	高TSH血症
	11	女	7.5.7	7.5.12 5.20	5 13	TSH 10.3 μU/ml 9.7 μU/ml TSH 13.6 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.8 ng/dl	一過性	高TSH血症
	12	女	7.7.2	7.7.8	6	TSH 8.7 μU/ml 11.4 μU/ml TSH 10.7 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.9 ng/dl	一過性	高TSH血症
	13*	男	7.8.31	7.9.20	20	TSH 49.5 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.0 ng/dl		クレチン症
14*	男	7.9.19	7.9.25	6	TSH 38.8 μU/ml 34.3 μU/ml FT <sub>4</sub> 1.6 ng/dl		クレチン症	

表6. つづき

対象疾病	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
	15	男	7. 9.20	7. 9.25 10. 2	5 12	TSH 18.7 $\mu$ U/ml 18.2 $\mu$ U/ml TSH 13.2 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.2 ng/dl	一過性 高TSH血症
	16	女	7. 9.20	7. 9.25 10. 2	5 12	TSH 10.9 $\mu$ U/ml 12.0 $\mu$ U/ml TSH 9.0 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	17	男	7. 9.16	7. 9.25 10. 2	9 16	TSH 11.4 $\mu$ U/ml 7.3 $\mu$ U/ml TSH 10.9 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	18	男	7. 9.22	7. 9.27 10. 4	5 12	TSH 21.8 $\mu$ U/ml 27.4 $\mu$ U/ml TSH 17.9 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.7 ng/dl	経過観察中
	19*	女	7. 9.27	7.10. 3	6	TSH 95.4 $\mu$ U/ml 以上 FT <sub>4</sub> 1.0 ng/dl	クレチン症 (低形成か無形成)
	20	女	7.10. 7	7.10.12 10.19	5 12	TSH 27.1 $\mu$ U/ml 24.3 $\mu$ U/ml TSH 24.2 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.6 ng/dl	一過性 高TSH血症
	21	男	7. 9.28	7.10. 3 10. 9 10.18	5 11 20	TSH 7.3 $\mu$ U/ml 7.9 $\mu$ U/ml TSH 11.3 $\mu$ U/ml 8.9 $\mu$ U/ml TSH 8.4 $\mu$ U/ml 8.8 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.8 ng/dl	一過性 高TSH血症
	22	女	7.10.19	7.10.25 11. 1	6 13	TSH 9.0 $\mu$ U/ml 9.9 $\mu$ U/ml TSH 35.1 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.2 ng/dl	一過性 高TSH血症
	23	男	7.10.23	7.10.29 11. 8	6 16	TSH 8.0 $\mu$ U/ml 10.6 $\mu$ U/ml TSH 9.8 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	24	男	7.11. 8	7.11.13 11.16	5 8	TSH 10.1 $\mu$ U/ml 12.8 $\mu$ U/ml TSH 8.9 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	25	男	7.11.24	7.11.29 12. 6	5 12	TSH 19.8 $\mu$ U/ml 24.7 $\mu$ U/ml TSH 35.2 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.3 ng/dl	一過性 高TSH血症
	26	男	7.11.28	7.12. 4 12.12	6 14	TSH 9.3 $\mu$ U/ml 11.5 $\mu$ U/ml TSH 20.6 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	27	男	7.11.28	7.12. 4 12.12	6 14	TSH 10.2 $\mu$ U/ml 11.8 $\mu$ U/ml TSH 9.6 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.5 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い



表6. つづき

対象疾病	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
	28	男	7.12.10	7.12.16 8.1.8	6 29	TSH 18.1 $\mu$ U/ml 16.3 $\mu$ U/ml TSH 12.1 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.9 ng/dl	一過性 高TSH血症
	29	女	7.12.18	7.12.24 8.1.10	6 23	TSH 11.1 $\mu$ U/ml 11.0 $\mu$ U/ml TSH 9.5 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.9 ng/dl	一過性 高TSH血症
	30	男	8.1.4	8.1.9 1.17	5 13	TSH 14.8 $\mu$ U/ml 15.1 $\mu$ U/ml TSH 8.9 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.7 ng/dl	一過性 甲状腺機能低下症の 疑い
	31	男	7.12.23	8.1.4 1.5	12 11	TSH 8.9 $\mu$ U/ml 10.4 $\mu$ U/ml TSH 8.9 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	32	男	8.1.15	8.1.21 1.29	6 14	TSH 13.2 $\mu$ U/ml 13.0 $\mu$ U/ml TSH 11.5 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.0 ng/dl	一過性 高TSH血症
	33	男	8.1.10	8.1.17 1.29	7 19	TSH 8.4 $\mu$ U/ml 9.2 $\mu$ U/ml TSH 9.5 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	34	男	8.1.17	8.1.23 2.5	6 19	TSH 8.8 $\mu$ U/ml 10.9 $\mu$ U/ml TSH 12.8 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.0 ng/dl	一過性 高TSH血症
	35	男	8.2.6	8.2.11 2.16	5 10	TSH 10.9 $\mu$ U/ml 11.9 $\mu$ U/ml TSH 23.9 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.9 ng/dl	一過性 高TSH血症
	36	女	8.2.16	8.2.21 3.4	5 17	TSH 13.6 $\mu$ U/ml 13.0 $\mu$ U/ml TSH 15.8 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.2 ng/dl	先天性心疾患
	37	男	8.2.18	8.2.24 3.4	6 15	TSH 8.0 $\mu$ U/ml 8.1 $\mu$ U/ml TSH 8.5 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.8 ng/dl	一過性 高TSH血症
	38	女	8.2.23	8.2.29 3.8	5 13	TSH 15.1 $\mu$ U/ml 15.6 $\mu$ U/ml TSH 19.9 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 2.0 ng/dl	一過性 高TSH血症
	39	女	8.3.5	8.3.11 3.15	6 10	TSH 8.8 $\mu$ U/ml 6.2 $\mu$ U/ml TSH 10.4 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.9 ng/dl	一過性 高TSH血症
	40	男	8.2.28	8.3.6 3.20	7 21	TSH 9.1 $\mu$ U/ml 9.7 $\mu$ U/ml TSH 11.1 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.7 ng/dl	経過観察中

表6. つづき

対象疾病	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
副腎過形成症	41	男	7. 4. 5	7. 4. 10 4. 17	5 12	17- OHP (直接法) 30.7 ng/ml 26.1 ng/ml (抽出法) 7.4 ng/ml 17- OHP (直接法) 23.0 ng/ml 23.3 ng/ml (抽出法) 7.3 ng/ml	正 常 在胎週数 33週 生下時体重 1970g
	42	男	7. 7. 10	7. 7. 17	7	17- OHP (直接法) 35.2 ng/ml 32.7 ng/ml (抽出法) 10.5 ng/ml	正 常 在胎週数 37週 生下時体重 2990g
	43	女	7. 8. 26	7. 8. 31	5	17- OHP (直接法) 23.3 ng/ml 24.9 ng/ml (抽出法) 12.2 ng/ml	正 常 在胎週数 33週 生下時体重 2066g
	44	男	7. 8. 26	7. 9. 6	11	17- OHP (直接法) 29.6 ng/ml 24.1 ng/ml (抽出法) 10.2 ng/ml	正 常 在胎週数 32週 生下時体重 1650g
	45	男	7. 9. 3	7. 9. 12	9	17- OHP (直接法) 81.7 ng/ml以上 (抽出法) 40.7 ng/ml	正 常 在胎週数 27週 生下時体重 1036g
	46	女	7. 9. 11	7. 9. 25	14	17- OHP (直接法) 81.7 ng/ml以上 (抽出法) 31.8 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 1366g
	47	男	7. 9. 21	7. 9. 26	5	17- OHP (直接法) 30.1 ng/ml 33.1 ng/ml (抽出法) 13.0 ng/ml	正 常 在胎週数 28週 生下時体重 1294g
	48	女	7. 9. 25	7. 10. 1	6	17- OHP (直接法) 44.9 ng/ml (抽出法) 11.5 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 1898g
	49	女	7. 9. 24	7. 10. 4	10	17- OHP (直接法) 39.9 ng/ml 53.2 ng/ml (抽出法) 19.0 ng/ml	正 常 在胎週数 24週 生下時体重 644g
	50	女	7. 10. 23	7. 10. 30	7	17- OHP (直接法) 38.7 ng/ml 31.2 ng/ml (抽出法) 11.2 ng/ml	正 常 在胎週数 32週 生下時体重 2132g
	51	女	7. 11. 4	7. 11. 9	5	17- OHP (直接法) 17.8 ng/ml 22.6 ng/ml (抽出法) 11.7 ng/ml	一過性 副腎皮質機能不全 在胎週数 36週 生下時体重 2908g
	52	男	7. 11. 10	7. 11. 16 11. 29	6 19	17- OHP (直接法) 16.7 ng/ml 17- OHP (直接法) 42.8 ng/ml 41.7 ng/ml (抽出法) 15.7 ng/ml	正 常 在胎週数 25週 生下時体重 908g

表6. つづき

対象疾病	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
	53	女	7.11.17	7.11.27 11.30 12.4	10 13 17	17- OHP (直接法) 40.2 ng/ml 40.8 ng/ml (抽出法) 5.5 ng/ml 17- OHP (直接法) 27.3 ng/ml 27.3 ng/ml (抽出法) 4.5 ng/ml 17- OHP (直接法) 43.9 ng/ml 43.5 ng/ml (抽出法) 10.0 ng/ml	正 常 在胎週数 38週 生下時体重 2026g
	54	男	7.11.17	7.11.27 12.7 12.25	10 20 38	17- OHP (直接法) 59.5 ng/ml 68.6 ng/ml (抽出法) 9.8 ng/ml 17- OHP (直接法) 24.6 ng/ml 28.2 ng/ml (抽出法) 6.9 ng/ml 17- OHP (直接法) 35.3 ng/ml (抽出法) 12.0 ng/ml	正 常 在胎週数 29週 生下時体重 1756g
	55	男	7.12.10	7.12.18 12.25	8 15	17- OHP (直接法) 39.0 ng/ml 38.2 ng/ml (抽出法) 9.1 ng/ml 17- OHP (直接法) 64.9 ng/ml (抽出法) 32.7 ng/ml	正 常 在胎週数 26週 生下時体重 944g
	56	男	7.12.20	7.12.25	5	17- OHP (直接法) 81.7 ng/ml以上 (抽出法) 23.2 ng/ml	正 常 在胎週数 29週 生下時体重 1179g
	57	女	7.12.19	8.1.29	41	17- OHP (直接法) 37.5 ng/ml 44.0 ng/ml (抽出法) 11.3 ng/ml	正 常 在胎週数 29週 生下時体重 1094g
	58	男	8.1.19	8.2.15	27	17- OHP (直接法) 69.3 ng/ml 58.1 ng/ml (抽出法) 20.2 ng/ml	正 常 在胎週数 29週 生下時体重 1382g
	59	男	8.2.4	8.2.11 2.21	7 17	17- OHP (直接法) 19.4 ng/ml 28.2 ng/ml (抽出法) 9.4 ng/ml 17- OHP (直接法) 28.2 ng/ml 33.6 ng/ml (抽出法) 8.3 ng/ml	経過観察中 在胎週数 35週 生下時体重 2502g
	60	女	8.3.11	8.3.21	10	17- OHP (直接法) 40.9 ng/ml 40.4 ng/ml (抽出法) 18.5 ng/ml	正 常 在胎週数 32週 生下時体重 1976g

表7. マスクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区分	全 国		富 山 県					
	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率
実施人数 (期間)	23,579,309人 (S52.4~H7.3)		208,283人 (S52.10~H7.3)		10,718人 (H7.4~H8.3)		219,001人 (S52.10~H8.3)	
疾病名	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
フェニールケトン尿症	291	1 / 81,000	4	1 / 52,100	0		4	1 / 54,800
ホモシスチン尿症	134	1 / 176,000	0		0		0	
ヒスチジン血症	2,200*	1 / 10,700	33*	1 / 6,300	0		33*	1 / 6,600
メイプルシロップ尿症	50	1 / 471,600	1	1 / 208,300	0		1	1 / 219,000
ガラクトース血症	588	1 / 40,100	0		0		0	
その他	287	1 / 82,200	6	1 / 34,700	0		6	1 / 36,500
計	3,550	1 / 6,600	44	1 / 4,700	0		44	1 / 5,000
実施人数 (期間)	20,247,609人 (S54.4~H7.3)		179,833人 (S55.4~H7.3)		10,718人 (H7.4~H8.3)		190,551人 (S55.4~H8.3)	
クレチン症	3,789	1 / 5,300	49	1 / 3,700	3	1 / 3,600	52	1 / 3,700
実施人数 (期間)	8,698,547人 (S63.4~H7.3)		64,398人 (H1.4~H7.3)		10,718人 (H7.4~H8.3)		75,116人 (H1.4~H8.3)	
先天性副腎過形成症	493	1 / 17,600	7	1 / 9,200	0		7	1 / 10,700

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

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%であった。TSHについては、異常検体は全てカットオフ値以上で拾い上げられており、見逃しはなかった。また、事務処理上の記入もれ、記入間違いもなかった。来年度からは、簡便迅速なスクリーニング法であるマイクロプレートを用いた酵素法が導入されることになり、これにより、患児の早期発見、早期治療による心身障害発生の予防対策は一層充実すると思われる。

## 文 献

1. 厚生省児童家庭局長(1992). 児発第764号.
2. 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.
3. Blenkharn, J. I. et al. (1987). J. Appl. Bacteriol., 63, 465-468.
4. 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.
5. 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.
6. 先天性代謝異常検査技術者研修会研修テキスト(1986). p65-74, 総合母子保健センター編.
7. 米田 豊, 高橋雅子(1995). 富山衛研年報, 平成6年度, 58-65.

# 蛍光検出高速液体クロマトグラフィーによる 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone (17-OHP) の分析

米田 豊 高橋 雅子

Fluorometric High Performance Liquid  
Chromatography of 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone

Yutaka YONEDA and Masako TAKAHASHI

**要 旨** 17-OHP のカルボニル基をダンシルヒドラジンで蛍光ラベル化し HPLC で分析する方法について検討を行った。17-OHP はプロゲステロンの分析条件 [5] とほぼ同様の条件で分析可能であり、プロゲステロン同様、17-OHP においてもクロマトグラム上で2つのピークが認められた。なお、本法による17-OHP の検出限界は0.5ngであった。

現在、先天性副腎過形成症 (CAH) のマススクリーニングの指標物質として 17-OHP が用いられ、一般に酵素免疫測定キットによる分析が行われている。また、多種類のステロイドホルモンの同時分析を目的に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析 [1, 2, 3, 4] も試みられている。しかし、これらの HPLC における検出は紫外外部吸収測定で行われており、検出感度の面で難点がある。

一方、近年プロゲステロン (P) をダンシルヒドラジン (DnsH) を用いて蛍光ラベル化を行い、蛍光検出 HPLC を行うことにより、紫外外部吸収検出に比較し、概ね10倍の感度上昇が認められたと報告 [5] されている。そこで、今回 17-OHP を DnsH で蛍光ラベル化後、HPLC で分析する方法について検討を行った。

## 実 験 方 法

### 1. 試薬

17-OHP, P 及び DnsH はシグマ社製, トリク

ロロ酢酸 (TCA) 及びベンゼンは和光純薬製特級品, アセトニトリルは同社製高速液体クロマトグラフィー用を用いた。DnsH 及び TCA はそれぞれベンゼンに溶解し, 各々0.2%溶液を調製した。

### 2. 標準溶液の調製

17-OHP 及び P を各々ベンゼンに溶解し, 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の標準原液を調製した。これらをベンゼンで希釈して 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の 17-OHP 及び P の混合標準液 (混合標準液) を調製し, これを必要に応じ更にベンゼンで希釈して使用した。

### 3. 分析方法

#### 1) 蛍光ラベル化方法

17-OHP を含むベンゼン溶液 100  $\mu\text{l}$  に 0.2% TCA 100  $\mu\text{l}$  及び 0.2% DnsH 50  $\mu\text{l}$  を添加し, 40  $^{\circ}\text{C}$  で 20 分間反応を行い HPLC 用試験溶液を調製した。

#### 2) HPLC 条件

ポンプ: LC-6A, 島津

カラム: Shimpack-CLC ODS (6.0mm  $\phi$   $\times$  15

cm)  
ガードカラム : LiChrospher100 RP-18 (メルク  
No1.50962)  
移動相 : アセトニトリル-水 (80 : 20) および  
(75 : 25)  
流速 : 1.0ml/min.  
カラム温度 : 40°C (CTO-2A, 島津)  
検出波長 : 励起波長 340nm, 蛍光波長 520nm  
(RF-530, 島津)  
注入量 : 10  $\mu$ l  
インテグレータ : クロマトパック C-R1B, 島津

### 実験結果

#### 1. 反応時間の検討

5  $\mu$ g/ml の混合標準液100  $\mu$ l に0.2% TCA を200  $\mu$ l 及び0.2%DnsH を50  $\mu$ l 添加し, 反応温度は40°C, 反応時間をそれぞれ1, 5, 10, 20及び30分間に設定し比較した。その結果は Fig. 1 に示すように 17-OHP 及び P 共10分間でほぼ安

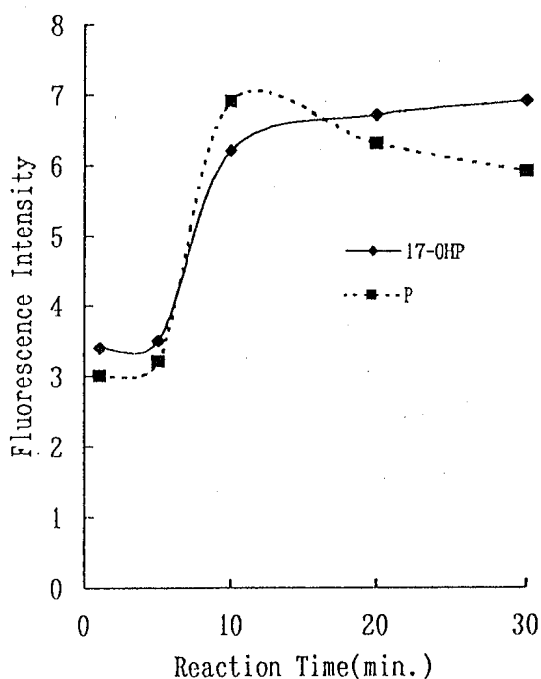


Fig. 1. Effect of Reaction Time in Dansylation on Fluorescence Intensity

定し, 10分以降 17-OHP のピーク高は増加傾向, P は減少傾向を示した。以下の実験では反応時間は20分に設定した。

#### 2. DnsH 量の検討

5  $\mu$ g/ml の混合標準液100  $\mu$ l に, 0.2% TCA 100  $\mu$ l 及び0.2%DnsH を添加し, 40°C で20分反応させる実験を0.2%DnsH量 5, 10, 25, 50及び100  $\mu$ l について行った。その結果, Fig. 2 に示すように0.2%DnsH を25  $\mu$ l 以上添加した場合, ほぼ一定のピーク高が得られた。以下0.2%DnsH は50  $\mu$ l に設定した。

#### 3. TCA 量の検討

5  $\mu$ g/ml の混合標準液100  $\mu$ l に, 0.2% TCA 及び0.2%DnsH を50  $\mu$ l 添加し, 40°C で20分反応させる実験を0.2%TCA 量 0, 10, 50, 100, 200及び400  $\mu$ l について行った。その結果, Fig. 3 に示すように 17-OHP 及び P 共, 0.2%TCA 量が50 または100  $\mu$ l の場合, 最高ピークを示し, それ

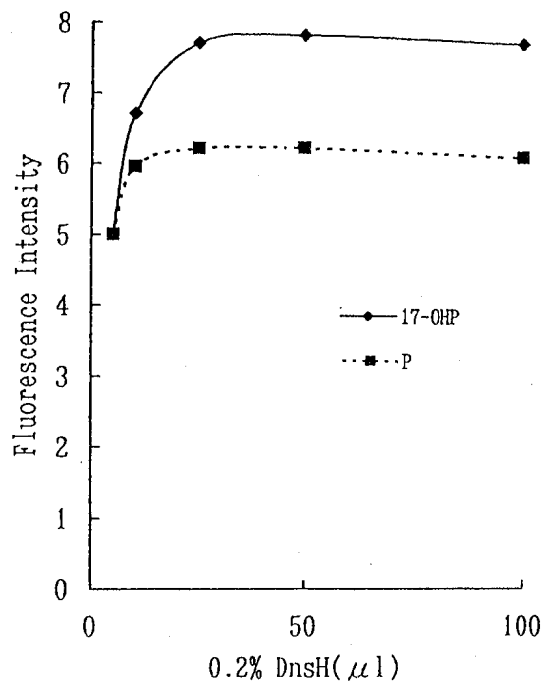


Fig. 2. Effect of 0.2% DnsH Solution Amount in Dansylation on Fluorescence Intensity

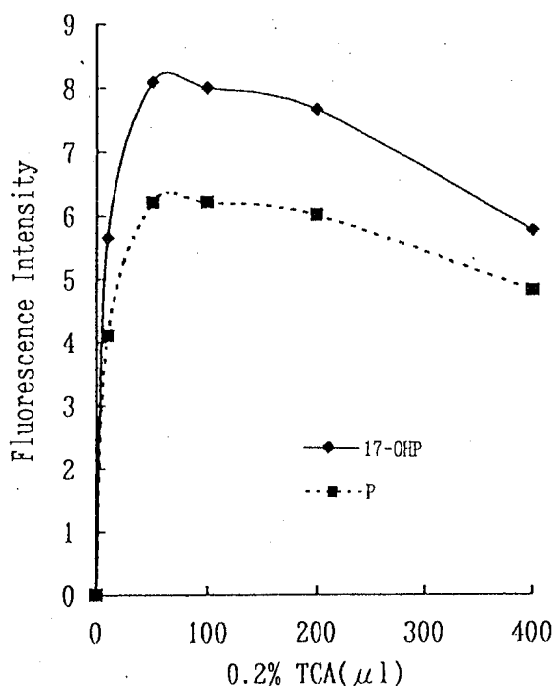


Fig. 3. Effect of 0.2% TCA Solution Amounts in Dansylation on Fluorescence Intensity

以上の TCA 量ではピーク高は低下した。従って、0.2% TCA 量は 100 μl とすることとした。

4. 検量線

HPLC の移動相にアセトニトリル-水 (80 : 20) を用い、17-OHP 及び P 共、0.1, 0.5, 1, 2, 5 及び 10ng を注入し、各々の物質由来の 2 ピークのうちピークが高く、溶出の遅いピークのピーク高に基づいて検量線を作成した。その結果 Fig. 4 に示すように 17-OHP 及び P 共、良好な直線が得られ検出限界は、それぞれ 0.5 及び 0.1ng であった。なお、アセトニトリル-水 (80 : 20) を移動相とした場合、約 18 分で溶出を終えるが 17-OHP 誘導体の 2 ピークは僅かに重なり、アセトニトリル-水 (75 : 25) を移動相とすることで両ピークを分離できた。この条件で 17-OHP 及び P 各々 10ng を HPLC に供したクロマトグラム (A) とブランクのクロマトグラム (B) を Fig. 5 に示した。

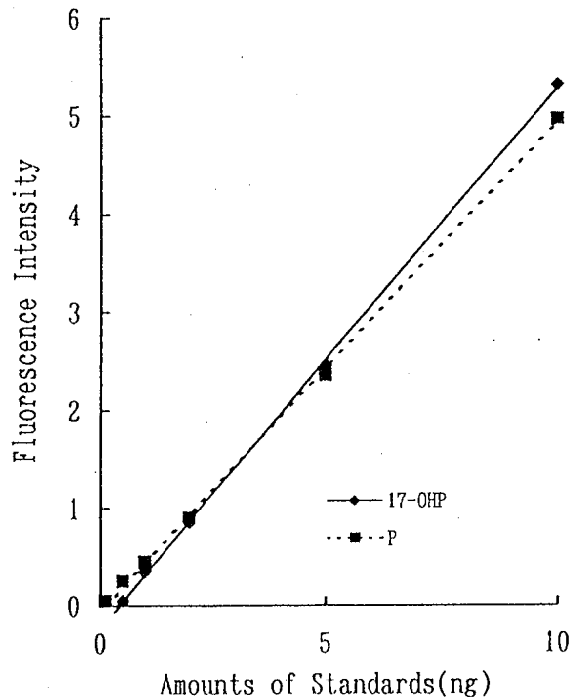


Fig. 4. Calibration Curves of 17-OHP and P

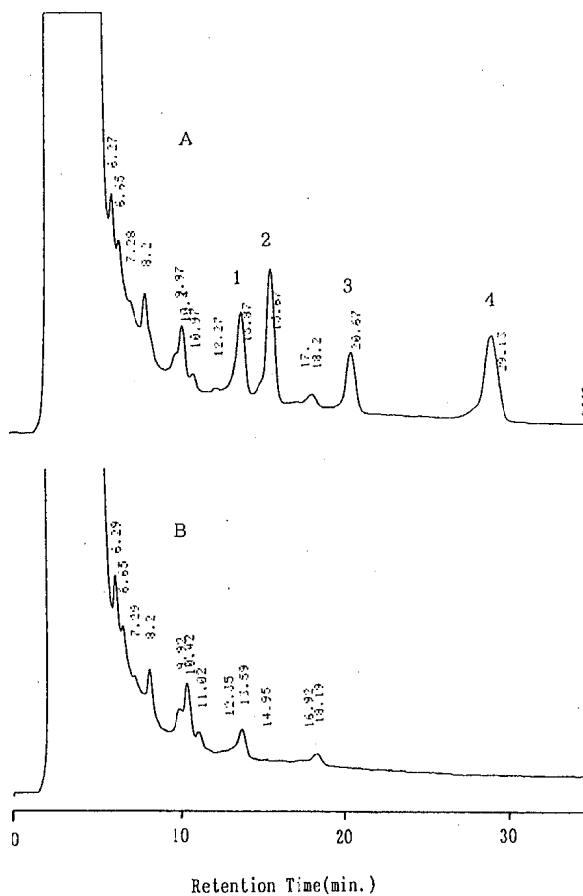


Fig. 5. Chromatograms of Standard Solution (A) and Blank Solution (B)  
1 and 2: 17-OHP Derivatives, 3 and 4 : P Derivatives

## 考 察

Kawasakiら [6] は胆汁酸の3位の水酸基を3 $\alpha$ -Hydroxysteroid dehydrogenaseで3-オキソ体とした後、ダンシルヒドラジンをを用い、蛍光ラベル化し、胆汁酸をHPLCで分析を行っている。この方法を橋本 [5] はPの分析に応用し、今回我々は17-OHPの分析への応用を試みた。17-OHPはPとほぼ同様の条件でラベル化が可能であり、また、生成する蛍光誘導体はHPLCクロマトグラム上でP同様、2つのピークを示した。17-OHPの検出限界は0.5ngであることから、新生児マススクリーニングに用いる血液ろ紙からの抽出を考えた場合、1cm径の血液ろ紙（血液約30 $\mu$ l）を用い100%の回収率が得られたとしても、血液中の検出下限は約17ng/mlとなる。CAHのカットオフ値である7ng/mlの検出を行うためには約71 $\mu$ l以上の血液を要することとなる。従って、スクリーニング検査で17-OHPが高値と判定された検体の確認検査には応用できる可能性があるが、スクリーニング検査を目的とする場合には更に高感度の検出が必要である。

Koziolら [7] は血清中のFluorocortizon butyl (FCB)の分析にFBCをダンシルヒドラ

ジンでラベル化後、シュウ酸エステル-過酸化水素の系を用いる化学発光HPLCにより7.5pgまでの検出が可能であったと報告しており、今後、17-OHPの化学発光検出についても検討する必要がある。

## 文 献

1. 税所純敬, 下澤和彦, 矢田純一 (1986). 日内分泌会誌, 62, 1326-1335.
2. 水嶋好清, 福士勝, 荒井修, 高杉信男, 藤枝憲二, 松浦信夫, 藤本征一郎 (1987). 日内分泌会誌, 63, 102-112.
3. 新生児マススクリーニングハンドブック (1989) P284-286, 南江堂.
4. 藤高道子 (1993). 広島大学医学雑誌, 41, 305-318.
5. 橋本常生 (1991). 日食衛会60回学講要 p46.
6. Kawasaki, T. et al (1983). J. Chromatogr., 27, 261-268.
7. Koziol, T. et al (1984). J. Chromatogr., 317, 355-366.



# 神経芽細胞腫関連カテコールアミン代謝物の 蛍光HPLC分析条件の検討

米田 豊 高橋 雅子

Fluorometric High Performance Liquid  
Chromatography of Catecholamine Metabolites  
related with Neuroblastoma

Yutaka YONEDA and Masako TAKAHASHI

**要 旨** 神経芽細胞腫マススクリーニングに関連する7種類のカテコールアミン代謝物質の高速液体クロマトグラフィーによる分析条件の検討を行った。一般に用いられる酸性の移動相に代え、中性の移動相を用いてイオンペアード法を行うことにより、蛍光検出でHVAは13.8倍、VMAは3.9倍及びVLAは2.6倍の感度上昇が認められた。また、移動相に添加する有機溶媒はアセトニトリル及びメタノールを用いる場合より、THFを用いる方が良好な分離が得られ、カラムにShimpack-CLC ODS、移動相に5mMTBA含有20mMリン酸緩衝液(pH7.0)-THF(97.8:2.2)を用いた場合、約13分で7物質の分離が可能であった。

本県では昭和60年4月から全県下の乳児を対象に、尿による神経芽細胞腫マススクリーニングが開始され、当所は三次検査機関としてHPLCによる確認検査を行っていた[1]が、昭和63年度以降は検査業務はほぼ全面外部委託している。しかし、昭和63年に制定された神経芽細胞腫検査精度管理実施要綱により精度管理に関わる検査は当所が担当することになっている。近年、神経芽細胞腫指標化合物のHPLC分析は専用機や、電気化学検出器を装備した汎用HPLC装置で分析されることが多いが、今なお、蛍光検出器で検出が行われたり、電気化学検出器と蛍光検出器が併用される場合もある。そこで今回、蛍光検出HPLCの分析条件について見直しを行った。

従来、ODSカラムを用いる神経芽細胞腫指標化合物のHPLC条件としては、酒石酸またはリン酸塩でpHを2.5-4.3に調整した酸性移動相が主に用いられている。またVMA、ドーパミンある

いはクレアチニンの保持力を高める目的で、テトラブチルアンモニウムやn-オクタンスルホン酸をカウンターイオンとして移動相に添加するイオンペアード法[2]も報告されているが、この場合も酸性条件で分離が行われている。

今回、7種の神経芽細胞腫関連カテコールアミン代謝物のHPLC分離条件について検討を行い、pH7.0の中性移動相により、良好な分離を得ることができた。またMHPGを除き、これらの化合物は酸性下より中性領域で蛍光強度が著しく増大することから、蛍光検出法においては一般に行われている酸性下の検出よりも、感度面で有利な分離条件が得られたので報告する。

## 実 験 方 法

### 1. 試薬

標準物質として3-Methoxy-4-hydroxy phenyl glycol (MHPG), 4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl mandelic acid (VMA), 4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl acetic acid (HVA), 5-Hydroxy indole-3-acetic acid (5-HIAA) 及び  $\beta$ -(4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl lactic acid) (VLA) はシグマ社製, 4-Hydroxy-3-methoxy benzoic acid (VA) 及び3,4-Dihydroxy phenyl acetic acid (DOPAC) は東京化成製を用いた。なお、これらの分子構造を Fig. 1 に示した。

カウンタートイオン用試薬として Tetra-n-butylammonium Hydrogensulfate (TBA) は和光純薬製, Tetra-n-butylammonium Bromide (TBA-Br) 及び Tetra-n-amylammonium Bromide (TAA-Br) は東京化成製を用いた。

また、アセトニトリル, メタノール及びテトラヒドロフラン (THF) は和光純薬製の HPLC 用を用いた。

尿コントロールはバイオラド社の Lyphochek ノーマル (1) を用い、ろ紙はアドバンテック社の VMA327 (25×50mm) を用いた。

## 2. 標準溶液の調製

MHPG, VMA, VA, HVA, 5-HIAA, VLA 及び DOPAC を各々精製水で希釈し、それぞれ 100  $\mu$ g/ml の標準原液を調製し、これらを更に移動相で希釈し、各々 2  $\mu$ g/ml の単品及び混合標準液を調製した。

## 3. 分析条件

ポンプ: LC-6A, 島津

カラム: Shimpack-CLC ODS (6.0mm  $\phi$  × 15 cm)

ガードカラム: LiChrospher100 RP-18 (メルク No1.50962)

移動相: 5mMTBA 含有20mMリン酸緩衝液 (pH 7.0)-THF (97.8 : 2.2)

流速: 1.2ml/min.

カラム温度: 40°C (CTO-2A, 島津)

検出波長: 励起波長285nm, 蛍光波長320nm (RF-530, 島津)

注入量: 10  $\mu$ l

インテグレータ: クロマトパック C-R1B, 島津

## 実験結果

### 1. 基礎条件の設定

当所では従来、VMA と HVA の分析にカラムは Shimpack-CLC ODS, 移動相は0.01Mリン酸緩衝液 (pH3.3): アセトニトリル (100 : 5) を用いて分析を行っている。しかし、この条件では多種の神経芽細胞腫関連カテコールアミン代謝物の分離は困難である。そこで、若干の予備試験を行ったところ、同カラムを用い移動相に 5mM TBA 含有0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.5)-アセトニトリル (95 : 5) を用いた場合、5-HIAA と VLA は分離できなかったものの比較的良好な分離を示した。そこで、当該条件を基礎に至適条件を検討することにした。

### 2. 移動相中のリン酸濃度の検討

5mMTBA 含有リン酸緩衝液 (pH7.5)-アセト

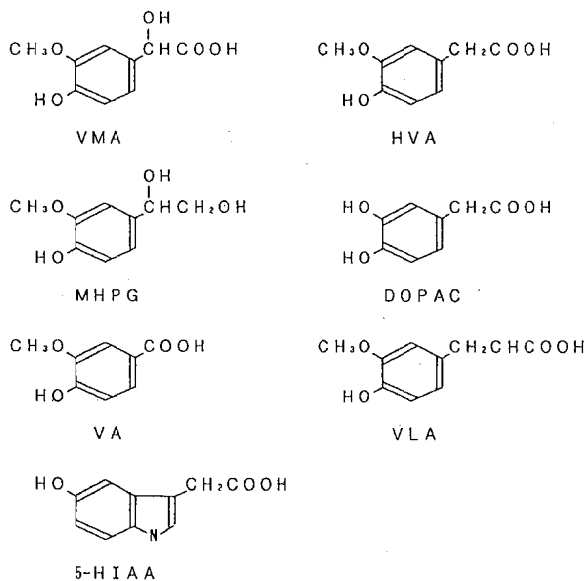


Fig. 1. Molecular Formula of Catecholamine Metabolites.

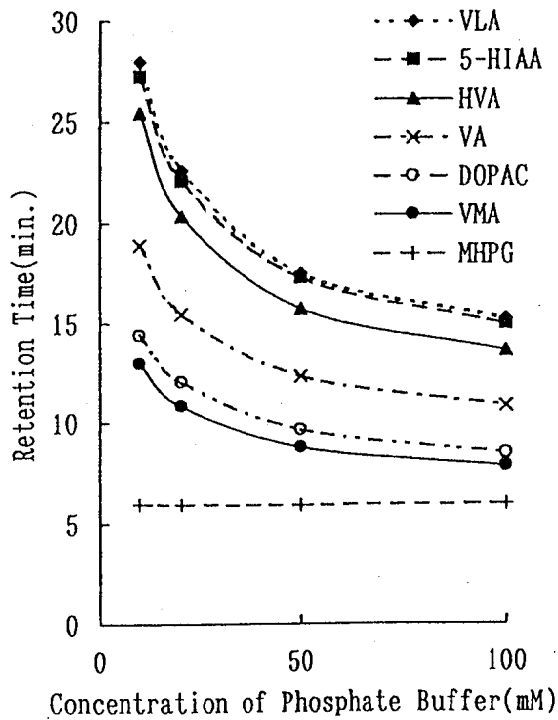


Fig. 2. Effect of Phosphate Buffer Concentration on Retention Time of Neuroblastoma Marker Compounds

ニトリル (95 : 5) を移動相とし、リン酸濃度を 10, 20, 50 及び 100mM の条件で分離を行い、リン酸濃度の影響を調べた。その結果、Fig. 2 に示すように、カルボン酸基を有しない MHPG を除き、リン酸濃度が低下するにつれ保持時間が増加する傾向がみられた。分離度及びリン酸濃度の変動に伴う保持時間の影響を考慮して、リン酸濃度は 50mM に設定することにした。

### 3. 移動相の pH と分離度並びに感度との関係

移動相としてリン酸緩衝液の pH を 3.5, 4.5, 5, 5.5, 5.8, 6, 6.5, 7 及び 7.5 になるよう調製した 5mMTBA 含有 0.1M リン酸緩衝液-アセトニトリル (95 : 5) を用い、各標準物質の保持時間の変動を調べた。

その結果、Fig. 3 に示すように pH 5.8 以下と 6.5 以上で異なった分離パターンを示した。また、pH を 3.5, 4.5, 5.5, 5.8, 6.5, 7.0 及び 7.5 の条件で感度変化を調べた。Fig. 4 に pH 3.5 における

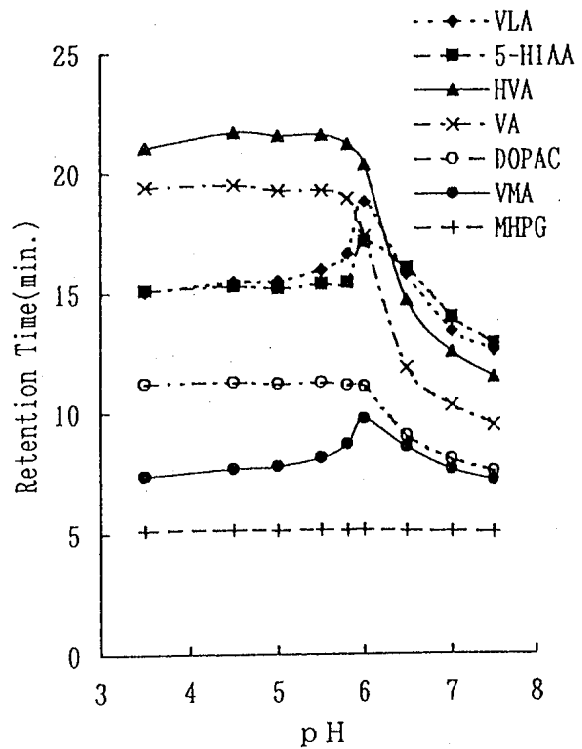


Fig. 3. Effect of Mobile Phase pH on Retention Time of Neuroblastoma Marker Compounds.

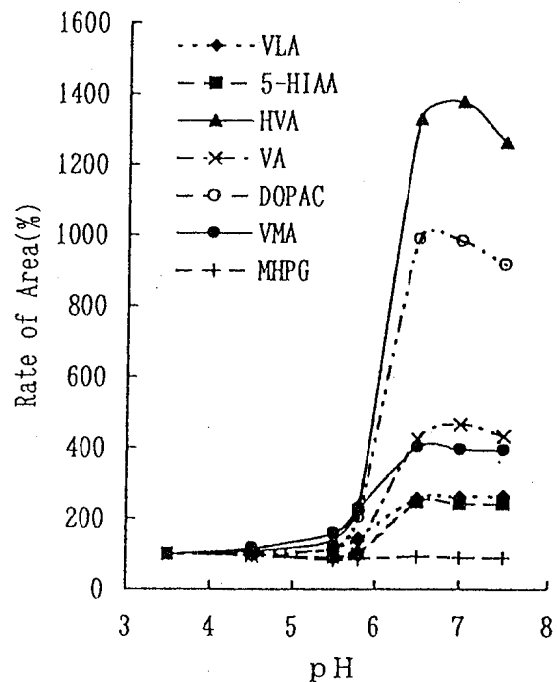


Fig. 4. Relationship between pH and Intensity of Fluorescence.

ピーク面積を100とした場合の各 pH での相対感度を示した。MHPG を除き pH 6.5 以上ではいずれも感度上昇がみられ、分析条件としては VMA が最も高感度の pH 7.0 を採用することとした。ちなみに pH 3.5 に対する pH 7.0 の感度上昇は HVA で 13.8 倍、以下 DOPAC, VA, VMA, VLA, 5-HIAA 順に 9.8, 4.6, 3.9, 2.6 及び 2.4 倍であった。なお、TBA 添加後の pH はそれぞれ 2.9, 3.1, 3.3, 3.6, 6.2, 6.8 及び 7.2 であり 0.2 から 1.4 の pH 低下がみられた。

#### 4. 移動相中のアセトニトリル濃度の影響

Fig. 5 に移動相中のアセトニトリル濃度と保持時間の関係を示した。5mMTBA 含有 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0)-アセトニトリルの条件でアセトニトリル濃度を 0, 3, 5, 7 及び 10% に変化させ保持時間の変動を調べた。分離はアセトニトリル濃度が 0% の場合優れているが、溶出に 1 時間を要するため、一応、保持時間の変動の少ない 7% の条件で以下の実験を行うこととした。

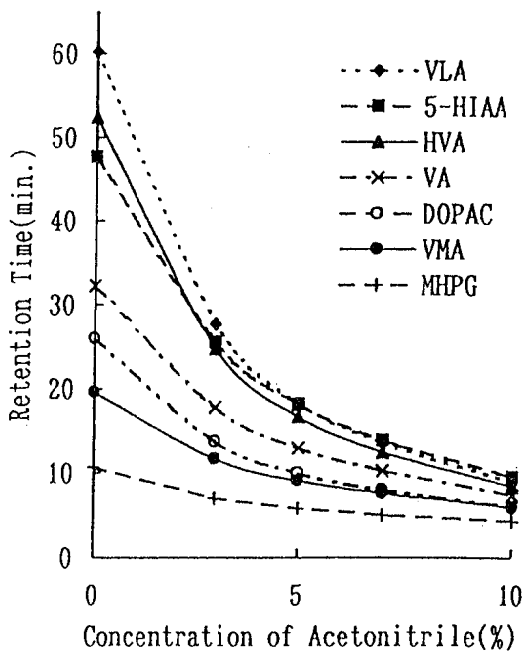


Fig. 5. Effect of Concentration of Acetonitrile in Mobile Phase on Retention Time of Neuroblastoma Marker Compounds.

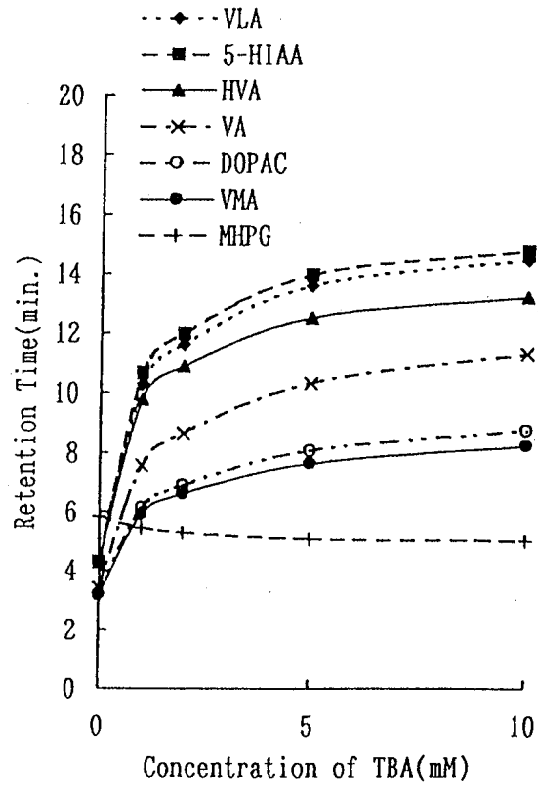


Fig. 6. Effect of Concentration of TBA in Mobile Phase on Retention Time of Neuroblastoma Marker Compounds.

#### 5. TBA 濃度の影響

移動相中の TBA 濃度を 0, 1, 2, 5 及び 10 mM の条件で TBA 濃度が保持時間に及ぼす影響を調べた。

他の条件は 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0)-アセトニトリル (93:7) とした。Fig. 6 に示すように、この場合も、カルボン酸基を有しない MHPG は TBA 濃度の影響を受けにくく、保持時間の変動は少ないが、その他の標準物質は TBA 濃度の増加に伴い、保持時間の増加が認められた。分離度及び溶出時間を考慮し TBA 濃度は 5mM を採用することとした。

#### 6. カウンターイオンの種類の影響

カウンターイオンとして TBA の他、TBA-Br 及び TAA-Br を用い保持時間の変化を調べた結果を Fig. 7 に示した。同一の陽イオンを有する TBA と TBA-Br では差が認められず、TAA-Br

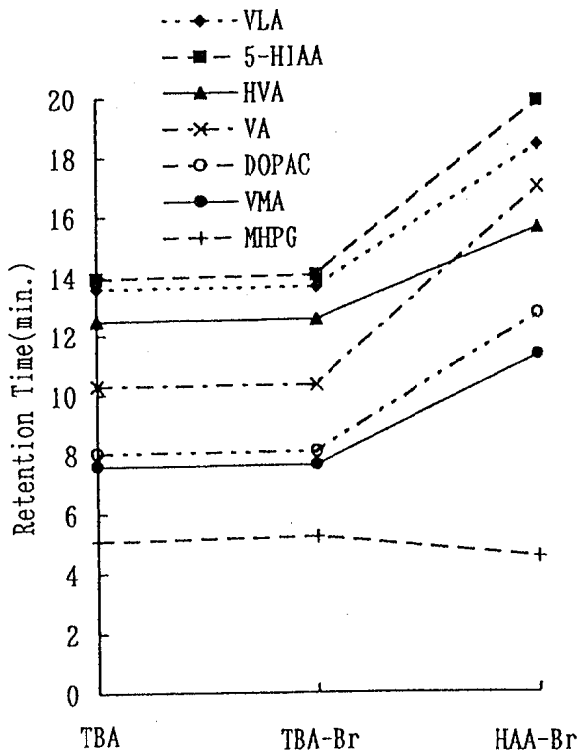


Fig. 7. Effect of kind of counter ion in Mobile Phase on Retention Time of Neuroblastoma Marker Compounds.

では MHPG を除いて、保持時間の増加が認められたが、分離の改善は特に認められなかったため、カウンターイオンは TBA を用いることとした。

#### 7. 移動相の調製に用いる有機溶媒の検討

移動相中の溶媒をアセトニトリルからメタノールに変え 4 項と同様の実験を行った。ただし、メタノール濃度は 3, 5, 7, 10, 12 および 15% とした。これらの条件での溶出パターンは Fig. 8 に示すとおりであり、Fig. 5 のアセトニトリルを用いる場合に比較し、より良好な分離が得られた。しかし、VMA と HVA を分析主体とみなした場合、HVA 前後の VLA と 5-HIAA を HVA から良好に分離する必要がある。次に溶媒を THF に変えて同様の実験を行った。その結果は Fig. 9 に示すとおりであり、メタノールを用いる場合よりも更に良好な分離が得られた。至適条件として THF 濃度 2.2% を採用することとした。この場合、すべての標準物質が溶出するのに必要な溶

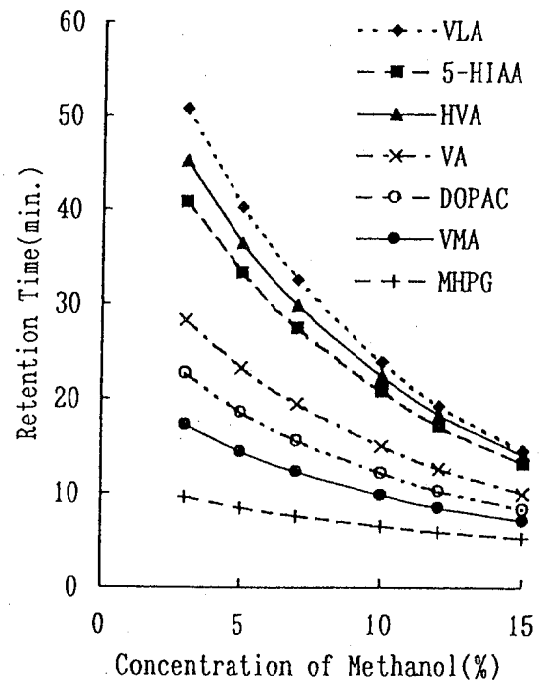


Fig. 8. Effect of Concentration of Methanol in Mobile Phase on Retention Time of Neuroblastoma Marker Compounds.

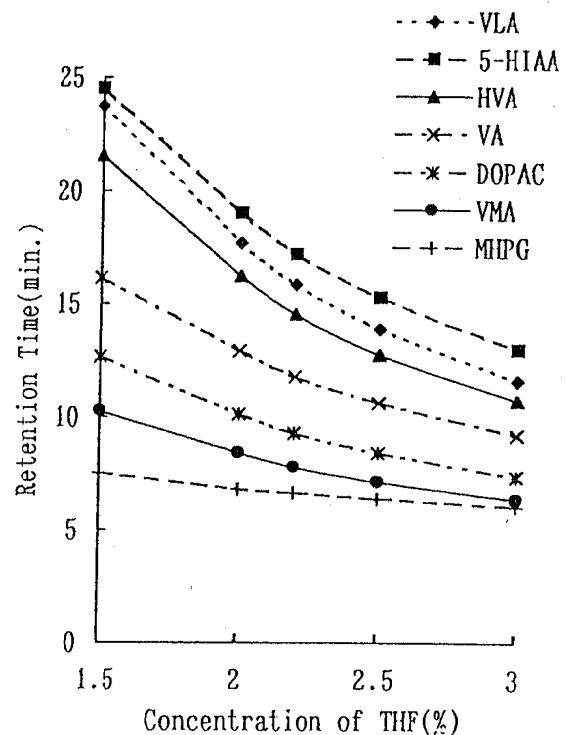


Fig. 9. Effect of Concentration of THF in Mobile Phase on Retention Time of Neuroblastoma Marker Compounds.

考 察

出時間は約18分であるが、更に分析時間を短縮する目的で流速を1.0から1.2ml/minに高めた。このことにより約13分での分析が可能となった。こうして得られたクロマトグラムを Fig.10に示した。Fig.10の上のクロマトグラムは標準溶液についてのものであり、下はコントロール尿をろ紙に浸みこませ、乾燥後、酢酸エチルで抽出した抽出液を濃縮乾固し、その残渣を移動相に溶解して得た溶液のクロマトグラムである。

神経芽細胞腫は交感神経節細胞へ分化していく細胞から発生する腫瘍であるため、腫瘍が大きくなるにつれカテコールアミンの産生が増大し、尿中のカテコールアミン代謝物の排泄量が増加することになる [3]。カテコールアミンの最終代謝物のうち尿中VMAはジアゾカップリング反応で容易に検出が可能のため、神経芽細胞腫の腫瘍マーカーとしてスポットテストやディップテストにより検査されてきた。しかし、神経芽細胞腫には non-VMA 型が知られており、HPLCの普及と相まって、現在はVMAに加えHVA及びVLAも腫瘍マーカーとして用いられている。一方、HPLCの分析条件としては厚生省心身障害研究マス・スクリーニング研究班により検討 [4] され、更にMHPG, DOPAC, 5-HIAA及びVAを含めた7物質が分離可能な条件下での測定が求められている。この条件を満たす分析条件としてポラスポリマー系カラムを用いた報告 [5] はあるが、汎用されるODSカラムによる分析例は見あたらず、必ずしも上記7物質を分離できるHPLC条件では分析されていないものと考えられる。

そこで、今回 ODS カラムを用いる分析条件について検討を行い、ODSカラムでもこれら7物質の分離が可能であることを示した。また、得られたHPLC条件では移動相のpHは中性であり、一般に用いられる酸性の移動相と比較し、測定物質の蛍光強度が増大するため、蛍光検出に対しては有利な条件であった。しかし、蛍光検出による測定では尿から目的物質をあらかじめ酢酸エチル等で抽出するクリーンアップ操作が必要であり、電気化学検出器による測定では尿を希釈するだけでHPLC分析を行える点で優っており、蛍光検出が用いられる機会は少なくなっている。今回得られた条件ではポラスポリマー系カラムとは異なる分離パターンが得られたことから、確認用の分析条件としても有用と考えられる。今後、更に本分析条件を電気化学検出器とを組み合わせた検討も必要である。

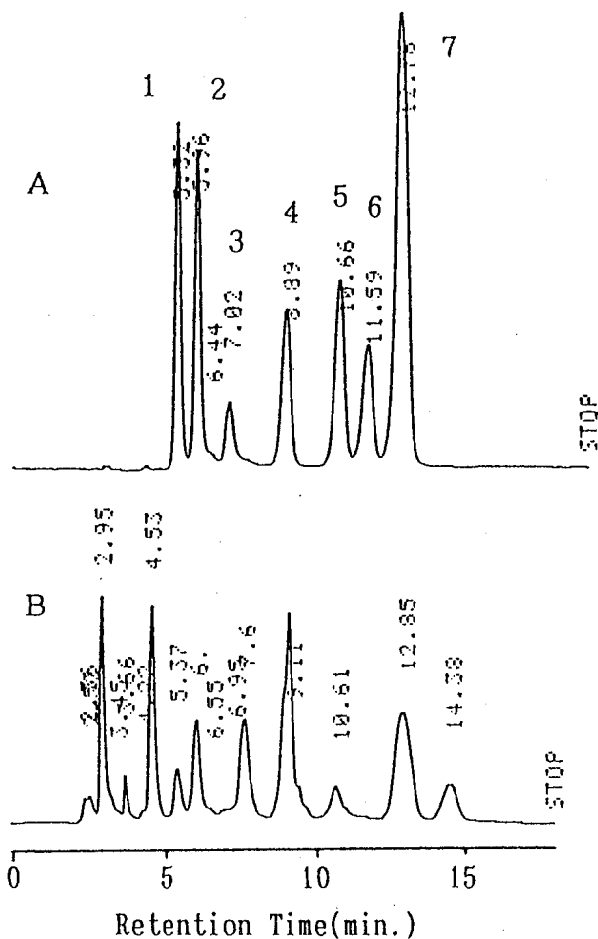


Fig. 10. Chromatograms of Standard solution(A) and solution prepared from Control Urine(B).

1:MHPG, 2:VMA, 3:DOPAC, 4:VA,  
5:HVA, 6:VLA, 7:5-HIAA

文 献

1. 本田幸子, 高橋雅子, 林 美貴子, 吉川俊夫, 吉田 豊, 松原勝博, 新畑マサ子 (1987). 富山衛研年報, 10, 37-41.
2. 恩賜財団母子愛育会編 (1994). 神経芽細胞腫スクリーニング精度管理講習会テキスト, P82-122.
3. 恩賜財団母子愛育会編 (1984). 神経芽細胞腫スクリーニング講習会テキスト, P29-32.
4. 沢田 淳 (1988). 日本医事新報, 3350, 29-31.
5. 恩賜財団母子愛育会編 (1984). 神経芽細胞腫スクリーニング講習会テキスト, P109-123.

## ヒト染色体に関する調査研究—血液、骨髄液—

林 美貴子 本田 幸子 北村 敬

### Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA  
and Takashi KITAMURA

**要 旨** 平成7年度の染色体検査受付件数は血液76人と骨髄液2人の計78人であり、うち血液の2人に染色体異常が見られた。検査受付時の依頼理由（主訴）は反復流産または習慣性流産が64人と最も多く、続いて低身長、先天異常児の家族等であった。発見された染色体異常の内訳は、均衡転座型染色体保因者1人と由来不明部分過剰染色体保有者1人の2人でいずれも反復流産を主訴として染色体検査をうけていた。また、昭和48年度から平成7年度までに検査を行った1,215件（実人数1,196人）中1,184件（同1,174人）が検査可能であり、そのうち193人に染色体異常がみられたため、異常率は16.4%になった（実人数）。異常の内訳は常染色体異常165人、性染色体異常28人で、その主なものはダウン症候群（21トリソミー）97人、次いで、均衡転座型染色体保因者25人、ターナー症候群18人等であった。

一般に、出生児の約0.6%が何らかの染色体異常を有することが報告されている [1, 2]。これを富山県の場合に単純に当てはめると、最近の年間出生数は約1万人であることから、約60人の染色体異常児が毎年生まれ、生存可能な場合は年々加算されていくことになる。このことは、出生率の低下が問題になってきている少産時代の現在では、母子衛生上、かなり大きな比重を占めると考えられる。しかし、ターナー症候群等の性染色体異常では新生児期に症状が出現しないことがあり、同様に均衡転座型染色体保因者では反復流産等の症状があってはじめて異常の疑いが持たれ、さらに、白血病等の診断検査を含めると染色体検査に関する潜在的需要はかなり多いと思われる。

最近の染色体分析の精度に関する技術はクロモゾームペインティング法の開発 [3] や、DNA診断技術の応用もあり著しく向上してきている。そ

のため、ヒトの染色体分析は先天異常児や流早産を繰り返す夫婦の血液、白血病患者の血液と骨髄液、悪性腫瘍組織細胞、ハイリスク妊婦の羊水細胞や流産組織（胎児）等で行われている現状である。

当所では、富山県総合母子保健対策の一環として先天異常児の発生を予防する目的で、染色体異常の有無を検査し適正な指導を行うため、昭和48年度より染色体検査を行ってきた。ここに、平成7年度の血液と骨髄液の染色体検査の内容とともに、過去23年間に検査を行った1,215件の検査内容についても報告する。

### 実 施 方 法

平成7年度の染色体依頼検査件数は血液76件



## 結 果

表1. 検査依頼病院内訳 (昭和48~平成7年度)

県別	病院名	年 度	
		H.7	S.48~H.7
県内	県立中央病院	60	633 (5)
	富山赤十字病院	9 (2)	209 (37)
	高志学園		87
	富山市民病院		75
	富山医科薬科大学	1	54
	厚生連高岡病院		17
	富山保健所		17
	砺波総合病院		11
	富山逡信病院	1	9
	済生会富山病院		6
	国立富山病院		6
	社会保険高岡病院		2
	黒部市民病院		2
	済生会高岡病院		2
	富山労災病院		2
	厚生連滑川病院	2	2
	氷見市民病院	2	2
	小杉保健所		1
	他		24
	小計 (件)		75 (2)
県外	国立金沢病院		42
	福井愛育病院	2	9
	珠洲市立総合病院	1	1
	他		2
小計 (件)		3	54
計 (件)		78 (2)	1,215 (42)

( ) : 骨髄液

(人), 骨髄液2件(人)の計78件(人)であった。殆ど県内の病院よりの依頼で, その病院別内訳については表1に示したとおりである。

検査方法は通常の方法にしたがったが, その詳細については既報のとおりである[4]。姉妹染色体交換法については既報のとおりである[5]。

昭和48年度から平成7年度までの血液, 骨髄液の染色体検査受付状況について表2に示した。

平成7年度は血液76件(人), 骨髄液2件(人)の計78件(人)であった。また, 昭和48年度からの合計件数は血液1,173件, 骨髄液42件の計1,215件になったが, 白血病等の血液疾患による重複分19件を除くと, 実人数は血液1,159人, 骨髄液37人の計1,196人であった。

平成7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に示したが, 依頼理由の主なものは, 血液では, 反復流産が64人と最も多く, 次いで低身長6人等であった。そのうち, 染色体異常が発見されたのは均衡転座型染色体保因者1人と由来不明部分過剰染色体保有者1人の計2人であった(表4)。

依頼理由のうち最も多かった, 反復流産または習慣性流産の原因検索を主訴として検査を行った64人(32組夫婦)中2人に染色体異常が発見された。うち, 1人は均衡転座型染色体保因者で, その核型は46, XX, t(8;15)(q11.2;q26.1)であり, 自然流産2回と妊娠10か月での死産1回の経歴があった(表4中の症例1, 図1)。残る1人は47, XX, +marの核型を示し(表4中の症例2, 図2), 自然流産2回の経歴があった。しかし, 症例2にはこの小型の由来不明(mar)染色体の過剰による臨床所見はなんら観察されなかった。このmar染色体は非常に小型であり, C-バンド分染により, 殆どがヘテロクロマチン部分より構成されると推定されたが, 由来は不明であった。また, 2例の家系調査はいずれも行われなかった。低身長を主訴とした6人は4~12歳の男児1人と女児5人で, 身長は-2.5SDから-1.9SDの範囲であった。うち3人に小奇形, けいれん発作等がみられたが, いずれにも染色体異常は認められなかった。

その他, 家族にダウン症候群がいるため, 羊水による染色体検査を行うにあたっての夫婦の染色体異常の有無の確認2人, 原発性無月経1人(21歳), 重症型再生不良性貧血1人(2歳), 脱毛・

表2. 検査受付状況(昭和48~平成7年度)

年 度	血 液			骨髄液			合 計		
	受付数	不能数* <sup>1</sup>	異常数* <sup>2</sup>	受付数	不能数* <sup>1</sup>	異常数* <sup>2</sup>	受付数	不能数* <sup>1</sup>	異常数* <sup>2</sup>
昭和48~昭和52	199	5	48	1		1	200	5	49
昭和53~昭和57	261	9	51	1	1		262	10	51
昭和58~昭和62	188	5	40	4	1	2	192	6	42
昭和63~平成 4	297	4	33	32	5	5	329	9	38
平成 5	89	1	9	1			90	1	9
平成 6	63		6	1			64		5
平成 7	76		2	2			78		2
計 (件)	1,173	24	189	42	7	8	1,215	31	196

\*<sup>1</sup> 染色体分析不能数\*<sup>2</sup> 染色体異常有数

表3. 染色体検査内容(平成7年度)

依頼理由	検査数	判定数	異常数
血液	76	76	2
-----			
内訳			
反復流産	64	64	2
低身長	6	6	0
先天異常児の家族	2	2	0
原発性無月経	1	1	0
再生不良性貧血	1	1	0
角膜混濁等	1	1	0
念のため	1	1	0
骨髄液	2	2	0
-----			
内訳			
慢性骨髄増殖症候群	1	1	0
好酸球増多症	1	1	0
計 (件)	78	78	2

角膜混濁1人(0歳)および念のため1人(0歳)には、いずれも染色体異常は認められなかった。

重症型再生不良性貧血でファンコニー貧血の疑いを除くため染色体検査を行った2歳女児例は、染色体の脆弱性をみるため、普通培養に加え、マイトマイシンC(MMC)添加処理( $3 \times 10^{-7}M$ ,  $6 \times 10^{-8}M$ )による染色体異常誘発頻度の差およびMMC添加処理( $2 \times 10^{-8}M$ , BrdU  $20 \mu g/ml$ )による姉妹染色分体交換の発生頻度の差を検討した。その結果、染色体異常頻度は観察各100細胞中、無処理で症例・対照ともに4%, MMC添加処理( $6 \times 10^{-8}M$ )で症例19%・対照12%, MMC添加処理( $3 \times 10^{-7}M$ )で症例83%・対照81%, 姉妹染色分体交換の発生頻度は観察各30細胞中、普通培養で症例 $6.3 \pm 2.8$ (2~13) SCEs/cell・対照 $4.9 \pm 1.2$ (3~6) SCEs/cell, MMC添加処理で症例 $7.6 \pm 3.0$ (3~15) SCEs/cell・対照 $6.4 \pm 2.6$ (3~13) SCEs/cellであった。いずれも症例と対照間に差は見られず、臨床症状と併せ、ファンコニー貧血は否定された。骨髄液は慢性骨髄増殖症候群, 好酸球増多症各1人であり, PHA無添加培養にて染色体異常は観察

表4. 染色体異常の内訳 (平成7年度)

症例	疾患名	核型	主要症状等
血液			
No. 1	均衡転座保因者	46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)	自然流産2回+死産1回
2	過剰染色体保有者	47,XX,+mar	自然流産2回

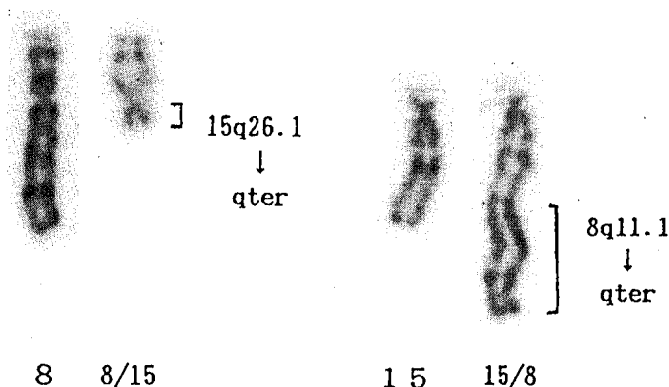


図1. 症例1の部分核型  
46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)

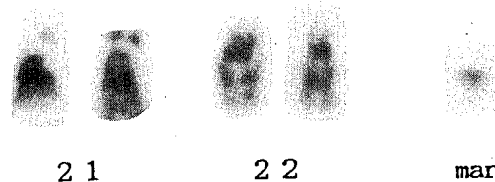


図2. 症例2の部分核型  
47,XX,+mar

されなかった。

表5に昭和48年度から平成7年度までに検査を行った1,196人(実人数)の依頼理由と染色体異常の有無等についてまとめて示した。検査可能であった1,174人中193人に染色体異常がみられた(異常率16.4%)。依頼理由のなかで最も多かったのは反復流産(1~6回を含む)の345人であり、次いで染色体異常が確認された者の家族、ダウン症候群の疑い、先天奇形などであった。また、染色体異常率の高い順に主なものをあげると13トリソミー症候群の疑い100%、18トリソミー症候群の疑い91.7%、クラインフェルター症候群の疑い83.3%、ダウン症候群の疑い79.5%、ターナー症候群の疑い63.6%などであった。

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14.1%)、および表7に性染色体異常の内訳(異常率2.4%)を示した。

常染色体異常のなかではダウン症候群が最も多く、約59%をしめ、以下、均衡転座保因者が約15%、白血病等約9%、18トリソミー症候群約7%等であった。

一方、性染色体異常のなかではターナー症候群が約64%、クラインフェルター症候群が約21%をしめた。

### 考 察

今年度受付けた78人のうち2人が染色体異常であり、単純に異常率を計算すると2.6%であったが、当所において過去23年間に検査を行った1,196人(実人数)中、検査が可能であったのは1,174人で、うち193人に染色体異常が認められ、異常率は16.4%であった。これは検査対象者の約6人

表5. 染色体検査結果一覧(実人数\*)(昭和48~平成7年度)

依頼理由	検査数	判定数	異常有数	その他*
<b>血液</b>				
反復流産	345	344	18	5
家族(染色体異常有)	143	143	7	
ダウン(21トリソミー)症候群の疑い	124	122	97	
先天奇形	95	90	8	
家族(染色体異常無)	85	85	0	
発育不良、発育遅延	44	44	1	2
白血病	38	33	5	
無月経	29	29	2	
ターナー症候群の疑い	22	22	14	5
低身長	20	20	0	
半陰陽	13	11	3	
18トリソミー症候群の疑い	12	12	11	
胎児血液	10	10	0	
心臓病	9	9	1	
腔欠損・鎖腔	7	7	0	
性染色体異常の疑い	6	6	0	
クラインフェルター症候群の疑い	6	6	5	
猫なき症候群(5p部分モノソミー)の疑い	6	6	1	
13(D)トリソミー症候群の疑い	4	4	4	
脆弱X染色体症候群の疑い	4	4	0	
副腎性器症候群の疑い	4	4	1	
不妊・卵巣機能不全	4	4	0	1
生理不順	3	3	1	
ブラダー・ウイリー症候群の疑い	3	3	1	
ファンコニー貧血	1	1	1	1
色素性乾皮症	1	1	1	
その他	121	118	2	
小計	1,159	1,141	184	14
<b>骨髄液</b>				
白血病等	37	33	9	
計(人)	1,196	1,174	193	14

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

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。これは新生児集団中の染色体異常率0.6%に比較すると、非常に高率になるが、染色体検査は臨床像、家族歴等から異常の疑いの高い例を

検査対象としているためである。

最近の依頼理由の傾向として最も多いのは反復流産を理由としたものであり、近年増加傾向にある。過去に当所で、妊娠初期に自然流産を繰り返

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	97	
(トリソミー型 92)		47,XY,+21    47,XX,+21
(モザイク型 3)		46,XY/47,XY,+21
(転座型 3)		46,XX,-13,+t(13;21)    46,XX,-21,+t(21;21)
18トリソミー症候群	11	
(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)
(モザイク型 1)		46,XX/46,XX,-18,+dic(18)
13トリソミー症候群等	4	
(トリソミー型 2)		47,XY,+13    47,XX,+D
(モザイク型 1)		46,XX/47,XX,+D
(転座型 2)		47,XY,-13,+t(13;13)
13リング症候群等	2	46,XX,r(13)    46,XX,r(D)
9pトリソミー症候群	2	46,XX,t(9;21)    46,XY,-9,-12,+iso(9p),+der(12)
2pトリソミー	1	46,XY,t(2;17)
猫なき症候群(5p部分モノソミー)	1	46,XX,del(5)(qter→p14:)
ブラダー・ウイリー症候群	1	46,XX,del(15)(q11.1q12)
由来不明部分過剰	5	47,XY,+mar    46,XX,t(9;?)    47,XX,+mar
均衡転座保因者	25	45,XX,t(14;21)    45,XX,t(13;15)    45,XX,t(13;21) 46,XY,t(1;7)    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	14	46,XY,t(9;22)(q34;q11)    46,XX/46,XX,Ph <sup>+</sup> 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)	165	

(165人/1,174人 異常率14.1%)

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	18	
(モノソミー型 5)		45,X
(モザイク型 13)		45,X/46,XX    45,X/47,XXX    45,X/46,X,r(X)    45,X/46,X,del(X)
トリプルX(超女性)	1	47,XXX
半陰陽	3	45,X/46,XY
計 (人)	28	

(28人/1,174人 異常率2.4%)

す理由で検査を行ったのは345人(判定344人)になり、そのうち18人に染色体異常が発見され、異常率は5.2%になった。さらに夫婦単位別にみると166組の夫婦中17組に染色体異常が発見され、夫婦単位の染色体異常率は10.2%つまり約10組の夫婦に対して1組の割合で染色体異常が発見されたことになった(表5)。表8にその18人の染色体核型を表したが、トリプルX1人と由来不明部分過剰染色体保有者1人を除いて、他は均衡転座型染色体保因者であった。染色体異常は夫8人、妻10人のほぼ男女同数であり、従来いわれているような習慣性流産の場合には男性よりも女性の方に染色体均衡転座保因者が多い[5]ということは認められなかった。そのため、反復流産の原因検索のため染色体検査を受ける場合夫婦ともに行うことが望ましいと考えられた。

また、流産を繰り返す夫婦のなかには観察細胞中1~2%にde novoの染色体異常(多くは過

剰染色体の存在)の出現が観察される場合があった。その原因について、我々は姉妹染色分体交換の発生頻度が反復流産を経験した夫婦では対照に比し、高かった結果を得ていることから[6]、反復流産経験夫婦においては染色体不分離を起し易い可能性も窺われた。

次世代の出生前診断などの遺伝相談を行う際、均衡転座型染色体保因者の家系において、発端者以外の染色体検査が重要と思われるにも関わらず、実際にはプライバシー保護などの面から行われていないことが多い現状である。このように、染色体検査結果の報告は、患者とその家族に大きな影響をあたえると考えられるため、検査自体の正確さとともに、患者に関する秘密保持に十分な配慮の必要性がある。

また、末梢血液を用いた通常の染色体検査では一部のリンパ球の染色体構成を観察しているにすぎないため、モザイクの一部を見逃している可能

表8. 染色体異常のあった習慣性流産患者18例の核型と既応歴

	核 型	既 応 歴
夫	① 45,XY,t(13q14q)	2 回流産
	② 46,XY,t(1;4)(q11;p15.2)	2 回流産
	③ 46,XY,t(1;7)(q45;q11)	3 回流産
	④ 46,XY,t(1;12)(q425;p13)	3 回流産
	⑤ 46,XY,inv(9)(p11q13),t(4;10)(q31;q25)	3 回流産
	⑥ 46,XY,t(5;16)(p13;p13)	3 回流産, 2 回生産
	⑦ 46,XY,t(8;14)(p11;q32)	4 回流産
	⑧ 46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)	4 回流産
妻	① 45,XX,t(13q14q)	3 回流産
	② 45,XX,t(13q21q)	2 回流産
	③ 46,XX,t(1;15)(q42;q26)	2 回流産
	④ 46,XX,t(3;4)(p13;p16)	3 回流産
	⑤ 46,XX,t(3;10)(q29;q22)	3 回流産
	⑥ 46,XX,t(7;20)(p23.1;q11.2)	3 回流産
	⑦ 46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)	2 回流産, 1 回死産
	⑧ 46,XX,t(10;18)(q23;q11.2)	3 回流産
	⑨ 47,XXX	2 回流産, 1 回胎児死亡
	⑩ 47,XX,+mar	2 回流産

性を否定できないことや、顕微鏡で観察しているための検出限界もある。そのため、臨床診断と検査結果が一致しない場合は観察細胞数の増加、他組織細胞の検査や再検査を実施するとともに、DNA診断技術など、新技術の導入と検討が必要であり、今後、一層の臨床側と検査側との関係プレーが大切であると考えられる。

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

## 文 献

1. 前田徹 (1988). 慶応医学, 65(5), 649-655.
2. 美甘和哉 (1978). 染色体異常, 外村晶編, 196-197, 朝倉書店, 東京.
3. Matsuoka, A., Tucker, J. D., Hayashi, M., Yamazaki, N. and Sofuni, T. (1993). *Mutagenesis*, 9, 151-155.
4. 林美貴子, 本田幸子, 柏樹久雄 (1993). 富山衛研年報, 16, 44-55.
5. Bourrouillou, G., Colombies, P. and Dastugue, N. (1986). *Hum. Genet.*, 74, 399-401.
6. 林美貴子, 本田幸子, 大中正光, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信 (1995). 北陸公衛誌, 22(1), 35-41.

# 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 北村 敬

## Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal Cells

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI  
and Takashi KITAMURA

**要 旨** 平成7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70件、流産胎児12件で、昭和49年度から併せると、羊水746件、流産胎児81件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が羊水中に4件みられ、その核型は、47,XX,+21(2件)、47,XY,+21/46,XY, 47,XY,+18であった。羊水では、全年度で29件の異常がみられ、流産胎児では24件異常がみられている。染色体検査依頼の理由(主訴)は、羊水では高齢妊娠、染色体異常児出産既往(ダウン症候群等)が多かった。

羊水中に浮遊している胎児由来の細胞から、染色体異常や先天性代謝異常等の遺伝性疾患の出生前診断が可能となり、最近では、染色体検査技術の進歩や超音波診断法の発達により、安全で精度の高い検査法が確立された。さらに、近年の女性の高学歴、社会進出による晩婚化、少産傾向、高齢妊娠の増加等により、羊水中の染色体検査等の出生前診断の需要はますます増加している。

しかしその反面、一部を除き、ほとんどが治療困難であり、また診断結果の信頼性や、社会的、倫理的な問題も残されている。

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

ここに平成7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8年3月(平成7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、分裂中期の細胞が多いことを確認してコルセミド処理を行った。トリプシン液で細胞を遊離後、遠心分離し、細胞を集め、低張処理を行っ



た。固定液は2回交換し、パスツールピペットでスライド上に滴下し、蒸気乾燥した。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。

表1. 検体区分 (昭和49~平成7年度)

県	病 院	羊 水		流産胎児	
		平 7	昭49~平7	平 7	昭49~平7
富山県	県立中央病院	7	90	6	18
	富山医科大学	8	79	2	28
	富山県立産婦人科病院	16	30	1	3
	厚生連高岡病院	3	28		6
	富山市民病院	4	20		
	黒部市民病院	5	13	2	3
	あわの産婦人科病院	4	11		
	富山通信病院	1	9		1
	細川産婦人科クリニック	1	8		
	社会保険高岡病院	2	6		1
	細野産婦人科病院	2	3		
	済生会高岡病院	1	1		1
	井本産婦人科病院	1	1		1
	厚生連滑川病院		2	1	1
	その他		103		10
	小 計 (件)	55	404	12	73
石川県	珠洲総合病院	5	20		
	宇出津総合病院	2	5		
	その他		266		4
	小 計 (件)	7	291		4
福井県	福井愛育病院	7	28		
	その他		12		4
	小 計 (件)	7	40		4
新潟県	糸魚川病院	1	11		
	小 計 (件)	1	11		
	計 (件)	70	746	12	81

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°C 5% CO <sub>2</sub> 培養
細胞遊離	0.025 % トリプシン・EDTA 37°C 5分
遠心	1,000 rpm 5分
低張処理	0.075 M 塩化カリウム 3 : 0.9 % クエン酸ナトリウム 1
ゴルセミド処理	最終濃度 0.1 γ/ml 37°C 4時間
固定	カルノア液 (メタノール 3 : 酢酸 1)
蒸気乾燥	細胞浮遊液をパスツールピペットでスライドガラス上に落とし、恒温水槽 (60°C) の蒸気上で乾燥し、その後自然乾燥

2. 自然流産胎児

昭和50年度より平成7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。

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

結果および考察

1. 羊水

今年度依頼された検体は、ほとんどが富山県の医療施設の産婦人科からで、そのほか石川県、福井県、新潟県からとなっている (表1)。受付件数は70件 (受付総件数: 746件) で、そのうち69件の染色体分析が可能であった。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。分析不能の1件は、羊水の状態が悪く、生細胞の不足によるものであった。以前には、検体採取の注射器のガス滅菌等による細胞の死滅等の原因が多かったが、最近は少なくなっている。平成7年度および検査開始時から平成7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4件 (症例1~4) がみられた。

症例1: 検査依頼の理由は、超音波診断において胎児に Cystic hygroma が認められ、ターナー症候群を疑ったためである。母親の年齢は29歳、前回の妊娠6週目に自然流産をしている。今回は

表3. 検査状況 (昭和49~平成7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
5	46	9	0	2	46	7	1	4
6	61	7	2	3	59	4	6	
7	70	12	1	2	69	10	4	4
計 (件)	746	81	45	22	701	59	29 (4)	24

( ) モザイク等

2回目の妊娠である。羊水の採取時は妊娠16週であった。核型分析の結果、47,XX,+21のダウン症候群の核型が得られた。

その後、胎児の状態が悪くなり、人工妊娠中絶された。

症例2：検査依頼の理由は、高齢妊娠で、今回が3回目の妊娠であった。男児1人、女児1人があり、過去には流産歴がない。母親の年齢は39歳、父親は42歳で、羊水の採取時は妊娠17週であった。核型分析の結果、47,XY,+21/46,XYのモザイクのダウン症候群であることが判明した。その割合は47:46=13:6であった。

胎児は妊娠22週で人工流産をし、その胎児の皮ふの染色体検査を行った結果、羊水と同様、47,XY,+21/46,XYの核型が得られた。その割合は47:46=10:3であった。

症例3：検査依頼の理由は羊水過多で、超音波診断において胎児胸水が認められ、ダウン症候群を疑ったためである。母親の年齢は27歳、父親は28歳で、羊水の採取時は妊娠29週であった。核型分析の結果、47,XY,+21の核型が得られ、やはりダウン症候群と判明した。

症例4：検査依頼の理由は、胎児水腫が見られたため、今回が3回目の妊娠であった。男児1人、女児1人があり、過去には流産歴がない。母親の年齢は47歳、羊水の採取時は妊娠12週であった。核型分析（Gバンド）の結果、47,XY,+18であった。流産胎児の分析の結果も同様であった。

49年度からの異常症例の詳細は、既報[1-9]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37件あり、受付件数の53%にあたる。その年齢は35歳から47歳で、49年度からの年齢分布では、36歳から39歳が一番多くなっている。母親の加齢と共に異常の出生率が高くなることはよく知られているとおりで、今年度はこのうち1件（症例1）に異常

が見られた。

今年度までに当所においてみられた染色体異常29件のうち、高齢妊娠を主訴とした異常件数は4件であるが、他の主訴による染色体異常8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[10]。当所においても、37歳以上の異常はすべて、トリソミー等の数的異常となっている。

厚生省の人口動態統計などから、高齢出産は増加する一方で、今後は、全国的にますます検査希望が増加すると言われている。

依頼理由で次に多いのは、以前に染色体異常児（両親由来ではない染色体異常）を出産した経験者で10件検査依頼があった。前児の染色体異常の内訳はダウン症（21トリソミー）6件、18トリソミー3件、+マーカーが1件であった。今年度、このうち異常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[10]の1%、藤田[11]の2%等と比較して、3/117で3%と比較的高い率を維持しており、羊水診断の必要性が認められた。

次に多いのは、親類にダウン症や障害児がいるという理由で6件の依頼があった。

胎児に奇形等の異常が疑われるという理由で5件依頼があり、4件が分析可能であり、その内2件に異常が見られた。この異常のうち1件は、胎児にcystic hygromaが見られたための依頼で、ターナー症候群を疑った症例で、結果はダウン症候群であった。1件は胎児水腫であったため、結果は18トリソミーとなった。最近では、超音波撮影装置等の発達が進み、その診断の正確性は高くなっている。

そのほか、不安等で本人の強い希望が4件、前子が染色体異常ではないが、奇形等の異常があるための依頼が3件であった。

羊水過多で1件依頼があり、ダウン症候群となった。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24件中、5件に染色体異常がみられている。

羊水等の染色体検査には、母体細胞混入の危険

表4. 羊水検査の依頼理由とその結果(昭和49~平成7年度)

理由(主訴)	昭和49~平成7年度		平成7年度		染色体異常の核型		
	受付数	分析数	異常数	分析数		異常数	
高齢妊娠	383	368	4(3*)	37	37	1	47, XX, +18, 47, XX, +13/46, XX, (46, XX/46, XY):2件 (46, XX, inv(9)/46, XY), 46, XX, -18p, 47, XY, +21/46, XY
羊水過多症	27	24	5	1	1	1	47, XY, +E, 47, XX, +D, 46, XX, iso psu dic(18) 47, XY, +21:2件 (46, XX/47, XX, +2) 69, XXX, 46, XX, t(5;6)(q31p23)
親類にダウン症や障害児がいる	25	24	(1*)	6	6		
流産、死産歴がある	16	14	2	1	1		
近親婚歴がある	7	7		4	4		
近親婚歴のある疑い	4	3					
近親婚歴のある疑いの疑い	4	4					
近親婚歴のある疑いの疑いの疑い	4	4					
近親婚歴のある疑いの疑いの疑いの疑い	2	2		1	1		
近親婚歴のある疑いの疑いの疑いの疑いの疑い	2	2		1	1		
近親婚歴のある疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑い	2	2		1	1		
近親婚歴のある疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑い	1	1					
近親婚歴のある疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑い	1	1					
近親婚歴のある疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑い	8	5		1	1		
近親婚歴のある疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑いの疑い	13	9		1	1		
不明							
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)
D/G	3	3	2				45, XX, t(13q15q) 2件
D/D	2	1	1				46, XX, inv(3)
inv 3	1	1					
3/4	1	1					
7/14	1	1					
2/17	1	1					
父 1/12, 母 13/14	1	1	1				46, XX, t(2;17)(p23;q25)
父親に 9p- の疑い	1	1	1				46, XX, t(1;12)(q42;p13)
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)	118	113	3	6	6		47, XX, +G : 2件, 47, XY, +E
(転座型)	1	1					
18トリソミー	12	12		3	3		
13トリソミー	3	3					
その他	12	12		1	1		
胎児異常の疑い							
水腫	10	9	2	2	2		45, X, 47, XY, +18
胎児リンパ管腫、嚢胞症	7	7	4	1	1		47, XX, +21 : 2件, 45, X, 47, XX, +M
胎児無脳症	4	4					
胎児血友病	4	3					
胎児血友病その他(奇形等)	26	23	1	2	1		47, XY, +18
前子染色体異常を除く)							
染色体異常	6	5	1	2	2		47, XX, +21
知的障害	4	2					
先天性異常	31	29		1	1		
その他(奇形等)							
計 (件)	746	701	29(4*)	70	69		4

(\*) : モザイク等、

表5. 胎児検査の依頼理由および分析結果 (昭和50~平成7年度)

理由 (主訴)	昭和50~平成7年度			平成7年度			染色体異常の核型
	受付数	分析数	異常数	受付数	分析数	異常数	
過去にも流早産をした	30	22	10	7	6	2	45,X, 46,XY, del(1)(pter →q42:) 46,XX, del(5)(p13), 47,XX,+21(2件) 47,XX,+B, 47,XX,+E(2件)、 47,XX,+16(2件)、69,XXX(2件)、 47,XY,+F, 47,XY,+G 47,XX,+D, 47,XY,+E, 47,XY,+18 69,XXY, 45,X, 47,XX,+18 46,XX,t(15/D)
初めての流早産 (原因不明)	20	13	7				
流産胎児に奇形等があった	12	11	3	1	1	1	
子宮内胎児死亡	5	3	1	2	1		
胞状奇胎	5	5					
羊水検査で染色体異常があった	3	2	2	1	1	1	47,XX,+13/46,XX, 47,XY,+21/46,XY
親が染色体異常	2	1					
前子が染色体異常	1	1	1				48,XX,+15,+16
前子が多発奇形	1	1		1	1		
妊娠中に風疹に罹った	1						
理由不明	1						
計 (件)	81	59	24	12	10	4	

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、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

今年度、受付件数は12件であった(表1)。そのうち分析可能であったのは10件で、その割合は83%である。分析不能の原因は細菌混入による培養不能であった。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[12]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。当所における分析は73%(59/81)が成功しており、不成功の原因の主なもの、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。

平成7年度および検査開始時からの検査依頼の理由および受付件数、検査結果等は表3および表5に示した。

検査開始依頼、検査理由で一番多かったのは、過去にも流産をしたことがあるためと、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、81件中30件、20件あり、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22件で、その10件に異常があり、このうち8件はトリソミー型、モノ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2件はNo.5の部分欠失の猫泣き症候群とNo.1部分欠失で、両者とも父親が転座染色体保因者と判明した。初めての流産の分析は13件で、7件に異常がみられた。これはすべて、トリソミー型と3倍体の異常であった。

次に多い理由は、流産した胎児に奇形等があったための12件で、そのうち3件に数的異常がみら

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考えられる。羊水検査で染色体異常があり、流産した胎児の確認検査が3件あり、分析可能な2件はいずれも羊水の結果と一致していた。

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[12]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、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. 本田幸子, 林 美貴子, 柏樹久雄, (1993). 富山  
衛研年報. 16, 56-61.
8. 本田幸子, 林 美貴子, 柏樹久雄, (1994). 富山  
衛研年報. 17, 56-62.
9. 本田幸子, 林 美貴子, 北村 敬, (1995). 富山  
衛研年報. 18, 76-86.
10. Tonomura, A., Aoki, H. and Kisii, K (1975).  
Jap. J. Hum. Genet., 20, 73.
11. 藤田弘子 (1977) . 人遺誌. 23, 257.
12. 牧野佐二郎 (1979). 染色体, 人類の細胞遺伝,  
医学書院, 東京.

## 日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川澄代 森田修行 上村 清<sup>1</sup>  
小泉泰久<sup>2</sup> 川尻千賀子<sup>3</sup> 遠藤京子<sup>4</sup>  
寺崎さちこ<sup>5</sup> 草山真由美<sup>6</sup> 広明秀一<sup>7</sup>

Epidemiological Surveillance of Japanese  
Encephalitis in Toyama Prefecture in 1995

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Osayuki  
MORITA, Kiyoshi KAMIMURA<sup>1</sup>, Yasuhisa KOIZUMI<sup>2</sup>  
Chikako KAWAJIRI<sup>3</sup>, Kyoko ENDO<sup>4</sup>, Sachiko  
TERASAKI<sup>5</sup>, Mayumi KUSAYAMA<sup>6</sup>, and Shuichi  
HIROAKI<sup>7</sup>

**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、食肉総合センターに搬入される豚のHI抗体保有調査を行った。蚊の捕集数は6定点で、昨年よりも明瞭に減少した。発生消長は各定点で異なっていたが、7月下旬に捕集数が最高になった定点は、福野1カ所のみで、他の7定点は8月下旬に最高捕集数を示した。このことが今年度の蚊の発生数が少ない理由と考えられた。

豚血清の日本脳炎ウイルスHI抗体調査では、調査開始日の7月12日から9月26日の調査終了時まで、抗体保有はわずかに9頭（3.7%）であった。その9頭のうち、最も抗体価が高いものでも20倍であり、2ME感受性は認められなかった。

本年度も富山県では日本脳炎患者の発生はみられなかった。

富山県における近年の日本脳炎真性患者の発生は、1982年の1例のみであり、その1982年には、コガタアカイエカに非常に強度な殺虫剤抵抗性の発現が認められた[1, 2]。それが主因で、近年はコガタアカイエカ発生量も多い傾向にある[3~6]。そして、コガタアカイエカの発生量が7月から多くなる年には、日本脳炎ウイルスの侵入の時期が早く、しかも拡大も早いことが明らかに

なった[5]。このことは1960年代のように、ウイルスの侵入が7月中旬に始まり、コガタアカイエカ⇔豚によって一気に拡大が引き起こされると、日本脳炎の流行が起こる可能性が示唆される。そこで、それらの危険を未然に防ぐ目的で、1994年に引き続き日本脳炎を媒介するコガタアカイエカ、および日本脳炎ウイルスの動態を、6月から9月まで監視してきたので報告する。

---

1. 富山医薬大 2. 黒部保健所 3. 上市保健所 4. 氷見保健所 5. 福野保健所  
6. 小矢部保健所 7. 県健康課



## I. 蚊の発生調査

## 1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通り前年と同一である。調査期間、調査方法ともに前年までと同じで、富山月岡、富山萩原、婦中友坂の3定点は連日捕集を、他の5定点は週1回のライトトラップ（東京エース社製）による捕集調査を行った〔3, 4〕。

## 2. 調査結果と考察

表2に各調査定点別の毎週水曜日に行った捕集成績（水曜日が休日の場合はその前後日）を、図1に定点別年間捕集数の過去27年間の変動を示した。各定点とも調査開始の6月中旬から前年に比べ、発生数は少なく7月はさらに顕著になった。

その結果、年間捕集数は富山萩原を除いた7定点で前年よりも少なくなった。とくに、富山月岡、富山萩原を除く6定点では前年に比べ明瞭に少なく、前年の51%から11%になった。ただ、富山県全体をまとめてみると、6～7月は少なく推移し、8月下旬には前年よりも多くなるが、9月には再び少なくなる消長を示した。結局、1994年よりは明確に少なく、1992, 93年よりは多い結果になった（図2）。

以下、各定点別に捕集結果を述べる。

〔富山月岡〕表3に連日捕集成績を示した。調査開始の6月上旬から捕集数は前年よりも少なく、7月に顕著になったが、8月には前年並みになった。年間捕集数は前年の99%であった（表4）。日最高捕集数は7月24日の6,435個体であり、前

表1. トラップを設置した調査地点およびその概要

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	上市町湯上野、稲葉新三所有。乳・肉牛12頭。 丘陵部畑作地帯。近くに上市高校の畜舎あり、牛、鶏飼養。 畜舎裏手は雑木・杉林。前面は100m程離れて水田あり。
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に浜岸、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、裏手は丘陵で雑木・杉林。

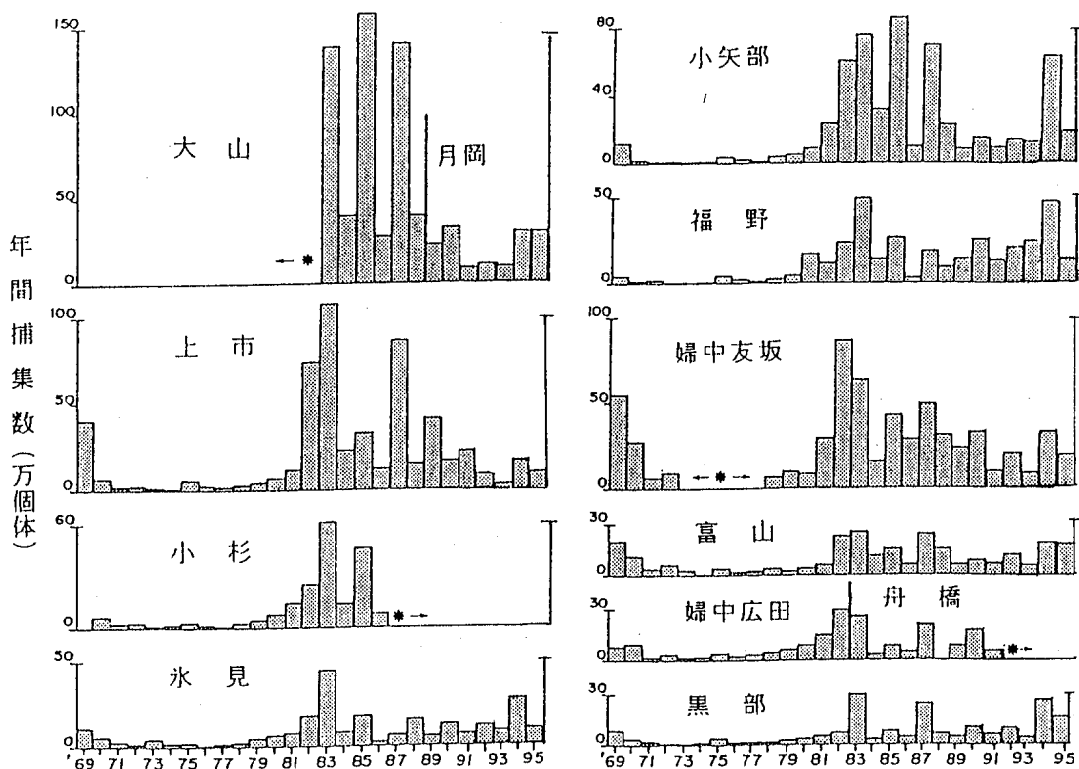


図1. 富山県の各調査定点におけるコガタアカイエカ捕集数の年変動

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

年(7月2日; 10,280)に比べ3週間遅れた。

〔富山萩原〕この定点は捕集数は前年とほぼ同じであったが, 消長は7月に少なく, 8月に多かった。日最高捕集数は7月25日の5,821個体で, 前年(7月12日; 6,820)よりも2週間も遅れた(表3)。

〔婦中友坂〕この定点も6月上旬から前年よりも少なく, 年間捕集数は前年度の48%になった(表4)。日最高捕集数は前年度の10,056個体(7月28日)に対し, 今年度は82%の8,205個体(8月29日)であった(表3)。

〔黒部植木〕前年度の年間捕集数は, 13,655個体と近年の中では最も多かったが, 今年度は少なくなり6,398個体(47%)に低下した(表4)。発生消長は前年度は盛夏発生型であったが, 今年度は晩夏発生型の消長を示した(表2-2)。

〔上市背井出新〕前年度は8月3日に主ピーク(560個体), 7月13日に副ピーク(544個体)を持つ年2峰性を示した。今年度は8月31日に大きなピーク(480個体), 7月27日(160個体), 9月21日(210個体)に小さなピークを形成する不規則な消長を示した。年間捕集数は1,790個体で前年度の51%であり, 8定点の中で最も少なかった。

〔福野二日〕年間捕集数は前年度の11%と大幅に減少した。日最高捕集数は前年度の18,691個体(7月27日)に対し, 1,780個体(7月20日)になった(表2-2)。発生消長は7月下旬に主ピーク, 8月下旬に副ピークを示す年2峰性であった。

〔小矢部金屋〕この定点は, 例年福野と発生消長, 捕集傾向もほぼ酷似しており, 今年度もほぼ同様な消長を示した。ただ, 主ピークと副ピークが入れ替わっている。すなわち, 小矢部の日最高捕集

表2-1. 8定点における蚊雌成虫の捕集成績, 1995-1

(毎週水曜日ライトトラップ一晩捕集)

定点 種類 調査日	① 富山月岡牛舎					② 富山萩原牛舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 22	0	178	17	0	195	0	133	0	0	133
29	0	1,632	87	0	1,719	0	1,211	0	0	1,211
7. 6	1	1,509	215	0	1,724	0	1,290	2	0	1,292
13	1	884	779	0	1,663	0	748	1	0	749
20	0	205	452	0	657	0	188	1	0	189
27	0	4,542	447	0	4,989	0	4,245	3	0	4,248
8. 3	0	2,538	277	0	2,815	0	1,588	2	0	1,590
10	0	3,375	181	0	3,556	0	3,036	3	0	3,039
17	0	812	94	1	907	0	806	7	0	813
24	0	3,822	75	1	3,898	0	2,628	5	0	2,633
31	3	5,118	15	0	5,136	0	4,659	24	0	4,683
9. 7	0	485	6	0	491	0	458	10	0	468
14	0	753	38	0	791	0	1,236	35	0	1,271
21	0	332	2	0	334	0	327	3	0	330
28	0	62	1	0	63	0	72	0	0	72
計	5	26,247	2,686	2	28,938	0	22,625	96	0	22,721

定点 種類 調査日	③ 嫌中友坂					④ 上市背井出新				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 22	0	39	0	0	39	0	13	0	0	13
29	0	188	0	0	188	0	3	0	0	3
7. 6	0	295	1	0	296	0	64	0	0	64
13	0	289	0	0	289	0	50	0	0	50
20	0	827	0	0	827	0	90	0	0	90
27	0	1,371	0	0	1,371	0	160	0	0	160
8. 3	0	1,748	0	0	1,748	0	20	0	0	20
10	0	668	0	0	668	0	80	0	0	80
17	0	1,105	0	0	1,105	0	280	0	0	280
24	0	1,261	0	0	1,261	0	160	0	0	160
31	0	2,262	0	0	2,262	4	480	0	0	484
9. 7	0	1,959	0	0	1,959	0	80	0	1	81
14	0	435	0	0	435	0	60	0	0	60
21	0	193	0	0	193	0	210	2	0	212
28	0	57	0	0	57	0	40	0	0	40
計	0	12,697	1	0	12,698	4	1,790	2	1	1,797

注1. As = *Anopheles sinensis* シナハマダラカ, Ct = *Culex tritaeniorhynchus* コガタアカイエカ, Cp = *Culex pipiens* アカイエカ表わし, 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。

表2-2. 8定点における蚊雌成虫の捕集成績, 1995-2

(毎週水曜日ライトトラップ一晩捕集)

定点 種類 調査日	㊤ 福野二日					㊤ 小矢部金屋本江				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 22	0	63	0	0	63	0	109	3	0	112
29	0	246	13	1	260	0	828	12	0	840
7. 6	0	245	11	0	256	0	584	18	1	603
13	0	305	2	0	307	0	827	16	0	843
20	0	1,780	25	0	1,805	0	4,088	197	0	4,285
27	0	972	2	0	974	0	1,492	5	0	1,497
8. 3	0	788	1	0	789	0	971	33	0	1,004
10	0	733	1	0	734	0	775	9	2	786
17	0	264	1	0	265	0	300	0	0	300
24	0	912	3	0	915	0	814	0	0	814
31	0	1,670	3	0	1,673	0	4,203	0	0	4,203
9. 7	0	1,035	1	0	1,036	0	1,345	0	0	1,345
14	0	628	8	0	636	0	4,105	0	0	4,105
21	0	402	2	0	404	0	685	0	0	685
28	0	95	1	0	96	0	625	0	0	625
計	0	10,138	74	1	10,213	0	21,751	293	3	22,047

定点 種類 調査日	㊤ 黒部植木					㊤ 氷見加納				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 22	0	22	0	0	22	12	84	5	印0 1	102
29	0	42	0	0	42	54	288	1	印0 2	345
7. 6	0	41	1	0	42	117	188	12	印0 2	319
13	0	88	1	0	89	92	139	5	印0 1	237
20	0	521	2	0	523	188	558	3	0	749
27	0	151	0	0	151	420	726	8	0	1,154
8. 3	0	126	0	0	126	202	272	4	0	478
10	0	683	0	0	683	609	631	0	0	1,240
17	0	978	0	0	978	74	432	3	0	509
24	0	636	0	0	636	56	289	0	0	345
31	0	2,545	0	0	2,545	101	1,251	8	0	1,360
9. 7	0	128	0	0	128	15	659	2	0	676
14	0	425	0	0	425	87	1,362	4	印0 1	1,454
21	0	8	0	0	8	5	147	1	0	153
28	0	4	0	0	4	1	168	7	印0 1	177
計	0	6,398	4	0	6,402	2,033	7,194	63	8	9,298

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

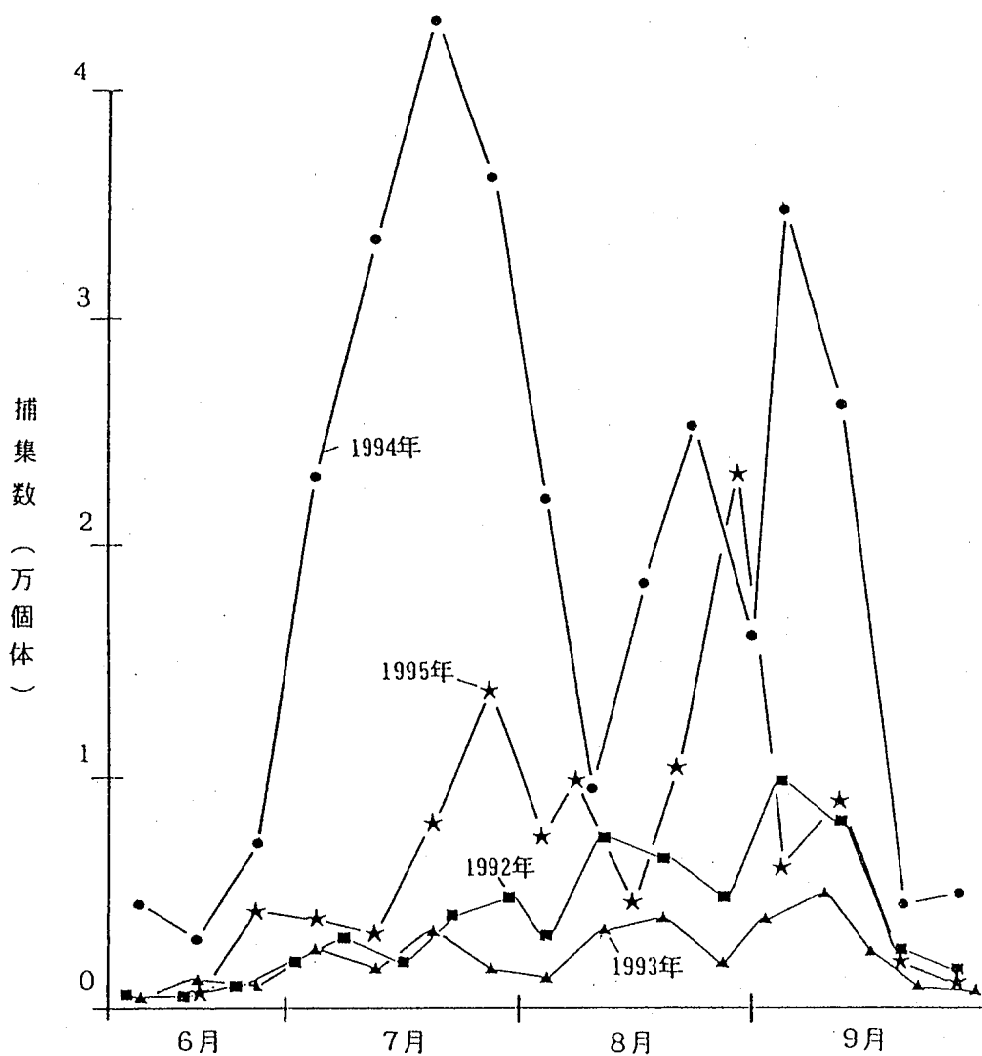


図2. 富山県におけるコガタアカイエカ捕集数の季節変動  
(1992年から1995年の比較)

日は8月31日の4,203個体に対し、福野は7月20日の1,780個体で、副ピークは小矢部が7月20日の4,088個体に対し、福野が8月31日の1,670個体であった(表2-2)。年間捕集数は昨年度に比べ、23%と大幅に減少した。

〔氷見加納〕捕集数は前年度の22%に減少した。日最高捕集数は9月14日の1,362個体で、前年度の7,230個体(9月13日)の19%に減少した。また、例年通りにシナハマダラカが8定点の中で最も多かった(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2峰型の発生

消長を示す場合が多い傾向にあり[4]、今年度もその傾向が見られ、前年度の7月下旬に多数のコガタアカイエカが捕集されたのとは異なった。富山では5~6月に気温が高く推移すると、コガタアカイエカの発生が活発になることが知られ、前年度はさらに7月も高く推移したために、7月下旬に多数のコガタアカイエカが捕集され、結果的に年間捕集数が大幅に増加した。今年度の年間捕集数が前々年並みに低下したのは、昨年暑い夏に比べ、今年度は5~7月が明瞭に気温が低く、日照時間が少ないのが影響したと考えられる(図3)。今後は、さらに気象状況と発生源の水田、

表3-1. 3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集成績、1995-1

定点 種別 捕集日	富山月岡牛舎				富山萩原牛舎				婦中友坂豚舎						
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	22	0	0	000
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	35	0	0	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	25	0	0	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	13	0	0	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	11	0	0	
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	24	0	0	
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	35	0	0	
8	0	112	17	0	129	0	75	1	0	76	0	34	0	0	
9	0	114	13	0	127	0	70	0	0	70	0	23	0	0	
10	0	89	29	0	118	-	-	-	-	-	0	25	0	19	
11	0	97	10	0	107	0	115*	2*	0	117*	0	29	0	0	
12	0	51	6	0	57	0	44	0	0	44	0	22	0	0	
13	0	82	14	0	96	0	61	0	0	61	0	11	0	0	
14	0	108	29	0	137	0	88	0	0	88	0	18	0	0	
15	0	45	13	0	58	0	37	0	0	37	0	10	0	0	
16	0	65	12	0	77	-	-	-	-	-	0	10	0	0	
17	0	117	27	0	144	-	-	-	-	-	0	26	0	0	
18	0	88	12	0	100	0	125 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	0	129 <sup>b</sup>	0	31	0	0	
19	0	253	30	0	283	0	202	0	0	202	0	52	0	0	
20	0	164	60	0	224	0	213	1	0	214	0	37	0	0	
21	0	146	29	0	175	0	109	0	0	109	0	45	2	0	
22	0	179	17	0	196	0	133	0	0	133	0	39	0	0	
23	0	587	43	0	630	0	-	-	-	-	0	14	0	0	
24	0	564	41	0	605	0	-	-	-	-	0	122	1	0	
25	0	1,107	53	0	1,160	0	1,187 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	0	1,189 <sup>b</sup>	0	111	0	0	
26	0	620	21	0	641	0	446	0	0	446	0	132	1	0	
27	0	1,292	69	0	1,361	0	858	0	0	858	0	132	1	0	
28	1	719	51	0	771	0	591	0	0	591	0	235	0	1	
29	0	1,832	87	0	1,919	0	1,211	0	0	1,211	0	188	0	0	
30	0	1,833	97	0	1,930	0	-	-	-	-	0	293	1	0	
計	1	10,064	780	0	10,845	0	5,565	10	0	5,575	0				

注. 1. As = Anopheles sinensis シナハマダカ, Ct = Culex tritaeniorhynchus コガタアカイエカ, Cp = Culex pipiens アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。  
 2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。  
 3. \*の数值は前日との2日分、<sup>b</sup>の数值は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

表3-2. 3 定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集成績、1995-2

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎				富山萩原牛舎				端中友坂豚舎						
	AS	Ct	CP	その他	計	AS	Ct	CP	その他	計	AS	Ct	CP	その他	計
7. 1	0	1,352	89	0	1,481	-	3,291 <sup>a</sup>	-	-	-	0	168	0	1	000
2	0	1,626	63	0	1,689	0	3,291 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	0	3,294 <sup>a</sup>	0	231	1	0	
3	0	642	58	0	700	0	1,239	1	0	1,240	0	201	0	0	
4	0	1,278	74	0	1,352	0	1,028	1	0	1,029	0	184	0	0	
5	0	2,446	256	0	2,702	0	1,855	2	0	1,857	0	252	0	1	
6	1	1,509	215	0	1,725	0	1,290	2	0	1,292	0	295	1	1	
7	1	2,328	234	0	2,563	-	-	-	-	-	0	376	0	0	
8	0	3,046	318	0	3,364	-	-	-	-	-	0	349	0	0	
9	0	1,434	114	0	1,548	0	5,322 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	0	5,327 <sup>b</sup>	0	242	0	0	
10	0	3,006	103	0	3,109	0	2,560	2	0	2,562	0	414	0	0	
11	0	4,547	639	0	5,186	0	3,974	3	0	3,977	0	200	0	0	
12	0	2,373	367	0	2,740	0	1,877	2	0	1,879	0	546	0	0	
13	1	884	779	0	1,664	0	748	1	0	749	0	289	0	0	
14	0	892	1,809	0	2,701	0	-	-	-	-	0	632	0	0	
15	0	282	573	0	855	-	-	-	-	-	0	272	0	0	
16	0	314	533	0	847	0	653 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	0	656 <sup>b</sup>	0	402	0	0	
17	0	338	381	0	719	0	314	1	0	315	0	338	0	0	
18	0	118	225	0	343	0	97	1	0	98	0	126	0	0	
19	0	643	891	0	1,534	0	534	2	0	536	0	403	0	0	
20	0	205	452	0	657	0	188	1	0	189	0	827	0	0	
21	0	1,239	1,679	0	2,918	-	-	-	-	-	0	679	0	0	
22	0	385	394	0	779	-	-	-	-	-	0	613	0	0	
23	0	1,183	368	0	1,551	0	1,195 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	0	1,197 <sup>b</sup>	0	601	0	0	
24	0	6,435	3,369	1	9,805	0	3,556	3	0	3,559	0	1,231	0	0	
25	0	3,963	1,584	0	5,547	0	5,821	3	0	5,824	0	1,099	0	0	
26	0	3,686	582	0	4,268	0	3,447	4	0	3,451	0	1,202	0	0	
27	0	4,542	447	0	4,989	0	4,245	3	0	4,248	0	1,371	0	0	
28	0	5,973	81	0	6,054	0	-	-	-	-	0	1,471	0	0	
29	0	4,152	339	1	4,492	0	-	-	-	-	0	3,095	0	0	
30	0	2,406	639	0	3,045	0	11,604 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	0	11,608 <sup>b</sup>	0	1,789	0	0	
31	0	885	495	1	1,381	0	5,764	2	0	5,766	0	2,694	0	0	
計	3	64,152	16,250	3	82,408	0	60,602	51	0	60,653	0	60,653			

注. 1. AS = Anopheles sinensis シナハマダガ, Ct = Culex tritaeniorhynchus コガタアカイエカ, CP = Culex pipiens アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクワヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。  
 2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。  
 3. \* の数値は前日との2日分、<sup>a</sup> の数値は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

表3-3. 3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集成績、1995-3

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎				富山萩原牛舎				婦中友坂豚舎						
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8. 1	0	3,096	516	0	3,612	0	2,659	1	0	2,660	0	2,058	0	0	2,058
2	0	2,538	277	0	2,815	0	2,253	3	0	2,256	0	1,960	0	0	1,960
3	0	1,887	312	0	2,199	0	1,588	2	0	1,590	0	1,748	0	0	1,748
4	0	596	57	0	653	-	-	-	-	-	0	1,758	0	0	1,758
5	0	1,185	117	0	1,302	-	-	-	-	-	0	2,199	0	0	2,199
6	0	702	40	0	742	0	1,989 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	0	1,974 <sup>b</sup>	0	908	0	0	908
7	0	845	47	0	892	0	854	1	0	855	0	402	0	0	402
8	0	596	10	0	606	0	695	0	0	695	0	359	0	0	359
9	0	1,315	61	0	1,376	0	1,227	0	0	1,227	0	614	0	0	614
10	0	3,375	181	0	3,556	0	3,036	3	0	3,039	0	658	0	0	658
11	0	4,905	297	0	5,202	-	-	-	-	-	0	2,192	0	0	2,192
12	0	134	4	0	138	-	-	-	-	-	0	1,215	0	0	1,215
13	0	163	3	0	166	0	4,811 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	0	4,818 <sup>b</sup>	0	488	0	0	488
14	0	20	0	0	20	0	1,025	2	0	1,027	0	1,420	0	0	1,420
15	0	348	35	0	383	0	425	3	0	428	0	1,741	0	0	1,741
16	0	1,887	87	0	1,974	0	1,652	1	0	1,653	0	2,156	0	0	2,156
17	0	812	94	1	907	0	806	7	0	813	0	1,105	0	0	1,105
18	0	593	43	0	636	-	-	-	-	-	0	1,401	0	0	1,401
19	0	1,572	48	0	1,620	-	-	-	-	-	0	2,491	0	0	2,491
20	0	4,728	66	0	4,795	0	5,927 <sup>b</sup>	41 <sup>b</sup>	0	5,968 <sup>b</sup>	0	1,484	0	0	1,484
21	0	3,228	168	0	3,396	0	3,853	11	0	3,864	0	2,312	0	0	2,312
22	0	4,101	498	0	4,599	0	4,594	21	0	4,615	0	1,733	0	0	1,733
23	0	4,950	183	0	5,133	0	3,621	13	0	3,634	0	727	0	0	727
24	0	3,822	75	1	3,898	0	2,628	5	0	2,633	0	1,261	0	0	1,261
25	0	2,882	84	0	2,966	-	-	-	-	-	0	2,298	0	0	2,298
26	0	4,011	117	0	4,128	-	-	-	-	-	0	3,203	0	0	3,203
27	0	3,618	105	0	3,723	0	8,512 <sup>b</sup>	36 <sup>b</sup>	0	8,548 <sup>b</sup>	0	140	0	0	140
28	0	1,546	46	0	1,592	0	1,357	32	0	1,389	0	7,586	0	0	7,586
29	0	4,485	96	0	4,581	0	4,254	21	0	4,275	0	8,205	0	0	8,205
30	0	4,125	81	0	4,206	0	3,912	11	0	3,923	0	6,366	0	0	6,366
31	3	5,118	15	0	5,133	0	4,659	24	0	4,683	0	2,262	0	0	2,262
計	3	72,964	3,763	2	76,752	0	66,317	250	0	66,567	0	66,567	0	0	66,567

注. 1. As = Anopheles sinensis シナハマダカ, Ct = Culex tritaeniorhynchus コガタアカイエカ, Cp = Culex pipiens アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブガ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。  
 2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。  
 3. 〃の数值は前日との2日分、〃の数值は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。



表3-4. 3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集成績、1995-4

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎			富山萩原牛舎			婦中友坂豚舎			計	
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他		計
9. 1	0	1,012	64	0	1,076	-	-	-	-	1,538	0
2	0	675	18	0	693	-	-	-	-	1,867	0
3	0	2,014	32	0	2,046	0	1,563 <sup>b</sup>	40 <sup>b</sup>	0	2,761	0
4	0	644	40	0	684	0	598	30	0	2,059	0
5	0	577	16	0	593	0	572	13	0	579	0
6	0	539	13	0	552	0	459	11	0	642	0
7	0	485	6	0	491	0	458	10	0	1,959	0
8	0	418	15	0	433	-	-	-	-	911	0
9	0	723	30	0	753	-	-	-	-	1,050	0
10	0	1,221	48	0	1,269	0	1,856 <sup>b</sup>	41 <sup>b</sup>	0	2,68	0
11	0	336	46	0	382	0	361	30	0	273	0
12	0	315	62	0	377	0	286	27	0	203	0
13	0	1,326	44	0	1,370	0	1,236	35	0	669	0
14	0	753	38	0	791	-	-	-	-	435	0
15	0	-	-	0	-	-	-	-	-	499	0
16	0	482	2	0	484	0	1,359 <sup>b</sup>	64 <sup>b</sup>	0	179	0
17	0	179	1	0	180	-	-	-	-	92	0
18	0	116	4	0	120	0	218 <sup>a</sup>	37 <sup>a</sup>	0	184	0
19	0	285	1	0	286	0	266	11	0	195	0
20	0	287	5	0	292	0	273	2	0	110	0
21	0	332	2	0	334	0	327	3	0	193	0
22	0	177	3	0	180	-	-	-	-	238	0
23	0	304	1	0	305	-	-	-	-	118	0
24	0	253	0	0	253	0	657 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	0	144	0
25	0	166	0	0	166	0	144	2	0	185	0
26	0	228	1	0	229	0	199	0	0	99	0
27	0	136	3	0	139	0	125	3	0	12	0
28	0	62	1	0	63	0	72	0	0	57	0
29	0	89	0	0	89	-	-	-	-	42	0
30	0	57	1	0	58	-	-	-	-	52	0
計	0	14,191	497	0	14,688	0	11,029	369	0	11,398	0

注. 1. As = Anopheles sinensis シナハマダカ, Ct = Culex tritaeniorhynchus コガタアカイエカ, Cp = Culex pipiens アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。  
 2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。  
 3. \* の数値は前日との2日分、<sup>b</sup> の数値は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

表4. コガタアカイエカ雌成虫捕集数の8定点における季節的推移の比較(1995年)  
(毎週水曜日ライトトラップー晩捕集)

調査日	定 点								
	月岡	萩原	友坂	上市	福野	小矢部	黒部	氷見	計
6. 22	178	133	39	13	63	109	22	84	641
29	1,632	1,211	188	3	246	828	42	288	4,438
7. 6	1,509	1,290	295	64	245	584	41	188	4,216
13	884	748	289	50	305	827	88	139	3,330
20	205	188	827	90	<u>1,780</u>	4,088	521	558	8,257
27	4,542	4,245	1,371	160	972	1,492	151	726	13,659
8. 3	2,538	1,588	1,748	20	788	971	126	272	8,051
10	3,375	3,038	668	80	733	775	883	631	9,981
17	812	806	1,105	280	264	300	978	432	4,977
24	3,822	2,628	1,261	160	912	814	636	289	10,522
31	<u>5,118</u>	<u>4,659</u>	<u>2,262</u>	<u>480</u>	1,670	<u>4,203</u>	<u>2,545</u>	1,251	<u>22,188</u>
9. 7	485	458	1,959	80	1,035	1,345	128	659	6,149
14	753	1,236	435	60	628	4,105	425	<u>1,362</u>	9,004
21	332	327	193	210	402	685	8	147	2,304
28	62	72	57	40	95	625	4	168	1,123
計	26,247	22,625	12,697	1,790	10,138	21,751	6,398	7,194	108,840
平成6年度	26,275	22,033	26,188	3,527	95,954	94,055	13,655	32,116	313,803
捕集比	0.99倍	1.02倍	0.48倍	0.51倍	0.11倍	0.23倍	0.47倍	0.22倍	0.35倍

注. 数字に下線が引いてあるのは最大捕集数を示す。  
捕集比 = 平成7年度の捕集数 / 平成6年度の捕集数

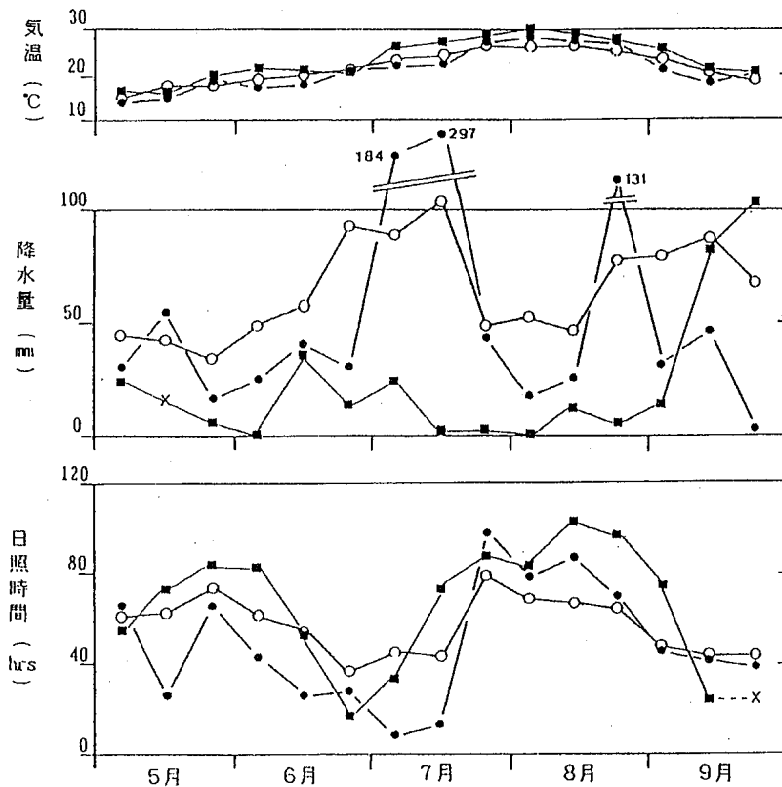


図3. 富山県の旬別気象要因の比較 ●1995年, ■1994年, ○平均値  
データは日本気象協会富山支部発行の富山県気象月報から富山用台分を引用した(xは欠測を示す)。

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）を詳細に調べ、発生数を予測する方法を確立したい。

## II. 豚血清の日本脳炎HI抗体保有調査

### 1. 調査対象と検査方法

7月11日から9月26日まで、毎週火曜日に富山食肉総合センターに搬入される、生後6か月の県内産（主として小矢部市と氷見市）の豚を対象として、毎回20頭から血液を採取して、日本脳炎抗体の保有状況を調査した。抗体価の測定は、例年の如く伝染病流行予測検査術式〔7〕に従った。

被検血清は2回アセトン処理を行って、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。

### 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。調査開始の7月11日から8月1日まで、全く抗体を保有する豚が認められず、8月8日になって2個体、10%の豚に初めて抗体が認められた。それ以後は8月29日15%、9月5日15%、9月26日5%に認められたが、40倍以上の抗体価を示す豚は

表5. 1995年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. 11	20 (100)								
18	20 (100)								
25	20 (100)								
8. 1	20 (100)								
8	18 (90)	2 (10)							
17	20 (100)								
22	20 (100)								
29	17 (85)	3 (15)							
9. 5	17 (85)	3 (15)							
12	20 (100)								
19	20 (100)								
26	19 (95)		1 (5)						
計	231 (96.3)	8 (3.3)	1 (0.4)						0 (0.0)

- 注. 1. 抗体価10倍以上を陽性とみなし、さらに40倍以上を示した血清について2-メルカプトエタノール（2-ME）処理を行ない、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8年10月1日

認められなかった。従って、2ME感受性の豚も認められず、日本脳炎ウイルスの侵入・拡大も不明瞭であった。

以上のコガタアカイエカの捕集数と、豚の抗体保有を総合的に考察すると、蚊の発生数が、とくに7月下旬まで顕著に少ない状況が(図2)、日本脳炎ウイルスが豚の間で拡大しなかった原因と思われ、患者の発生もなかったと推定される。

なお、1995年の全国での日本脳炎患者発生数は真性2名であった。

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

## 文 献

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

# ポリオ流行予測調査

中山 喬 松浦久美子 森田修行 南部厚子<sup>1</sup>

## Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture

Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Osayuki  
MORITA, Atsuko NAMBU<sup>1</sup>

**要 旨** 平成7年度は国の方針により、感染源調査のみを実施した。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取した糞便67検体についてウイルス分離検査を行った。その結果、コクサッキーウイルスB3型 (Cox.B3) が2株、エコーウイルス22型 (Echo22) が1株、レオウイルス2型 (Reo2) が1株分離されたが、ポリオウイルスは分離されなかった。

ポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために国が実施している厚生省流行予測事業の一つで、国からの依頼を受け、毎年実施している調査である。平成7年度は国の方針によりウイルス分離による感染源調査のみを実施した。

(デンカ生研 K.K), シュミットプール血清 (国立予防衛生研究所) およびコクサッキーウイルスB群型特異抗血清 (日本ポリオ研究所) を用いた中和反応によりウイルスの型を同定した。また、レオウイルスについては自家製の型特異抗血清およびヒトO型赤血球を用いた血球凝集抑制反応により同定した。

### 調査および検査方法

調査地区は、県東部の魚津保健所管内を選定した。調査時期は春期生ワクチン投与後2か月以上経過した時点とし、6歳以下の乳幼児から糞便を採取した。採取した糞便を、Eagle-MEM培養液で約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た。培養細胞はVero細胞およびMA-104細胞を用い、細胞変性効果 (CPE) を指標としてウイルス分離検査を実施した。ウイルス分離陽性の場合、エンテロウイルス混合血清

### 結果および考察

魚津保健所管内の男子33名、女子34名の乳幼児合計67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、ポリオウイルスは分離できなかったが4株の腸管系ウイルスが分離され、分離率は6.0%であった (Table 1)。分離されたウイルスの型を同定したところ、コクサッキーウイルスB3型 (Cox.B3) が2株、エコーウイルス22型 (Echo22) が1株、レオウイルス2型

1. 魚津保健所

Table 1. Virus Isolation from Feces of Children

Area	Age (year)	No. of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates		
			No.	Rate(%)	Cox.B 3	Echo 22	Reo 2
Uozu	0	1	0	0			
	1	18	2	11.1	1	1	
	2	9	0	0			
	3	15	0	0			
	4	24	2	8.3	1		1
	5	0					
	6	0					
Total		67	4	6.0	2	1	1

Date of survey : Aug. 29~Sep.4, 1995

(Reo2) が1株であった。これらのウイルスのうち Cox.B3 は、4歳男子と1歳女子からそれぞれ1株分離され、Echo22 は1歳女子から、Reo2 は4歳男子から分離された。

病原微生物検出情報・月報 [1] によれば、1995年1月~12月までに分離報告された Cox.B3 は、全国で399株で、そのうち7月の111株をピークとする6月から10月までに353株が分離されている。このウイルスは髄膜炎、上気道炎、発熱などの患者から、主に夏期を中心に分離されるウイルスで、本県においても、富山県結核・感染症サーベイランス事業および依頼検査で、7月に無菌性髄膜炎の患者から1株分離されている。一方 Echo22は全国で8株、Reo2 は1株の分離が報告されているのみであり、医師の診察を必要とする程の臨床症状を示さずに乳幼児の間に浸淫していることが推察された。このことは、ポリオも含

め感染症の流行予測および予防対策には、患者からのウイルス分離による感染症の監視ばかりでなく、健常者の間に不顕性感染しているウイルスの監視も必要であることを示しているものと考えられた。

以上の結果から、本年度もポリオウイルスの浸淫は認められなかった。しかし、海外からのポリオウイルス移入の可能性は否定できず、今後も十分に監視を続ける必要があると考えられた。

## 文 献

1. 国立予防衛生研究所，厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室編（1996）．病原微生物検出情報月報，17，4，21-28．

## インフルエンザ流行予測調査

松浦久美子 中山 喬 森田 修行 川越久美子<sup>1</sup>  
 寺崎さち子<sup>2</sup> 小池美奈子<sup>3</sup> 尾崎 博子<sup>4</sup> 川尻千賀子<sup>5</sup>

Epidemiological Surveillance for Influenza  
 Virus Infection in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Takasi NAKAYAMA, Osayuki  
 MORITA, Kumiko KAWAKOSI<sup>1</sup>, Sachiko TERASAKI<sup>2</sup>,  
 Minako KOIKE<sup>3</sup>, Hiroko OZAKI<sup>4</sup>, Chikako KAWAZIRI<sup>5</sup>

要 旨 1995年11月から1996年3月にかけてのインフルエンザ様患者100名について、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、12月から3月までにA(H1)型ウイルスの罹患者が45名、3月にA(H3)型ウイルスの罹患者が1名認められた。流行状況は、12月中旬にA(H1)型ウイルスによるインフルエンザ患者(散発例)が確認され、1月中旬から2月下旬にかけて集団風邪が18施設で発生した。累積患者数は1,784人であった。これらの18施設のうち17施設は小学校で、患者は低学年の児童に多く発生した。A(H1)型ウイルスは39株、A(H3)型ウイルスは1株分離され、このウイルスの分離状況から、今冬のインフルエンザ流行はA(H1)型ウイルスによるものが主で、A(H3)型ウイルスによるインフルエンザは3月に散発的に発生していたと推測される。A(H1)型分離株に対する抗A/山形/32/89血清のHI価は1024~2048倍(ホモ:2048倍)、A(H3)型分離株に対する抗A/北九州/159/93血清のHI価は256倍(ホモ:2048倍)、また抗A/秋田/1/94血清のHI価は256倍(ホモ:4096倍)であった。

本調査は、インフルエンザ様疾患の患者について調査することによりインフルエンザの発生および流行状況を把握し、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。インフルエンザ様疾患の患者の咽頭拭い液からインフルエンザウイルス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

1995年11月~1996年3月

## 2. 調査対象

定点観測として館小児科医院(高岡市)、正木医院(福光町)、小児科諸橋医院(富山市)および二本垣医院(黒部市)を訪れたインフルエンザ様患者から咽頭拭い液、また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。

## 3. 検査方法

1) インフルエンザウイルスの分離および遺伝子検出: ウイルスの分離は咽頭拭い液をMDCK細胞に接種して行い、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/北九州/159/93 (H3N2) 血清, 抗A/秋田/1/94 (H3N2) 血清および抗B/三重/1/93血清を用いて行った。インフルエンザウイルスの遺伝子検出は前年報 [1] で述べたRT-PCR法を用いて行った。

2) インフルエンザウイルスHI抗体: 急性期血清と回復期血清について, インフルエンザHI抗体価を測定した。HI抗体価測定用の抗原は, デンカ生研より市販されている今シーズンのワクチン株のA/山形/32/89 (H1N1) 株, A/北九州/159/93 (H3N2) 株およびB/三重/1/93株を用いた。

## 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, 1995年11月より散発的に発生していたが, 12月19日に発病した患者(定点観測) からA (H1) 型ウイルスが分離され, この患者が今冬の富山県内で確認した最初のインフルエンザ患者であった。1月に入り集団風邪が, Fig. 1に示すように, 1月16日にT小学校で発生し, 3月末までに18施設(幼稚園1, 小

学校17) で発生した。累積患者数は1,784人であった。小学校における学級閉鎖等の措置をした状況は1年生が15施設, 2年生が1施設, 3年生が1施設であり, 低学年に多数の患者が認められた。

### 2. インフルエンザウイルスの分離と遺伝子検出

1995年11月から1996年3月までに採取した散発例の78検体(定点観測), 集団発生例(3集団)の14検体についてインフルエンザウイルスの分離と遺伝子検出を試みた成績をTable 1, 2に示す。散発例では12月19日に採取した検体よりA (H1) 型ウイルスが分離され, 3月上旬までに36株が分離された。そして3月6日に採取した検体よりA (H3) 型ウイルスが1株分離された。集団風邪では3集団についてウイルスの分離とRT-PCR法による遺伝子検出で調べた結果, 3検体よりA (H1) 型ウイルスが分離され, 4検体よりA (H1) 型ウイルスの遺伝子が検出された。これより3集団はA (H1) 型ウイルスによるインフルエンザであると判断された。分離株はニワトリ赤血球をほとんど凝集せず, ヒトO型赤血球をよく凝集した為, ウイルス同定にはヒトO型赤血球を用いて行った。分離株に対するインフルエンザ抗血清のHI価はTable 3-1, 3-2に示すようであった。A (H1) 型の39株に対する抗A/山形/32

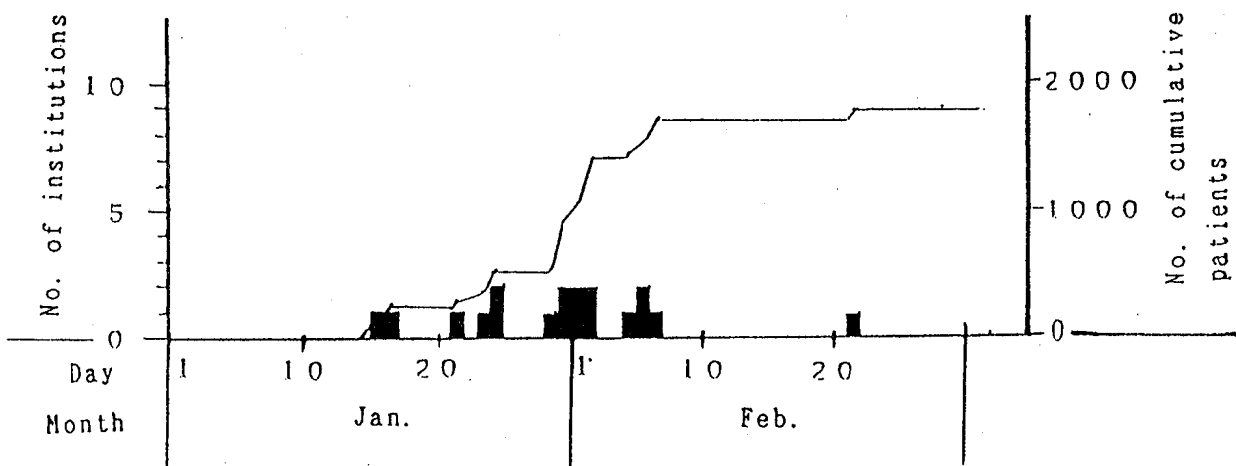


Fig. 1. Outbreaks of Influenza-like Disease in Institutions from Jan. to Mar. 1995.

■ : Number of institutions (Total number of institutions, 18)  
 - : Number of cumulative patients (1,784 patients)



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

Sampling station	Virus isolation			Type
	Throat swab		No. of isolates	
	Date of sampling	No. of samples		
Morohashi pediatric clinic(Toyama)	Dec. 6, 1995 ~Mar. 13, 1996	26	12	A(H1)
Masaki internal clinic(Fukumitsu)	Nov. 4, 1995 ~Mar. 8, 1996	26	11 1	A(H1) A(H3)
Tachi pediatric clinic(Takaoka)	Dec. 16, 1995 ~Mar. 6, 1996	18	2	A(H1)
Nihongaki clinic (Kurobe)	Jan. 15, 1996 ~Feb. 7, 1996	16	11	A(H1)
Total		86	36 1	A(H1) A(H3)

／89血清のHI価は1024~2048倍(ホモ:2048倍)であり、A(H3)型の1株に対する抗A／北九州／159／93血清のHI価は256倍(ホモ:2048倍)、抗A／秋田／1／94血清のHI価は256倍(ホモ:4096倍)であった。B型の抗B／三重／1／93血清のHI価は、全分離株に対して32倍未満であった。

### 3. 患者の血清HI抗体価

集団発生例における血清検体15件についてHI抗体価を測定した。ペアで揃った7名において、ワクチン株のA／山形／32／89(H1N1)抗原に対して急性期から回復期にかけて有意上昇(4倍以上)したのが6名(Table 2)で、その急性期の抗体価は全員が16倍未満であった(Fig. 2)。

以上の調査結果より、散發例のインフルエンザ

様患者(定点観測)86名中36名はA(H1)型、そして1名がA(H3)型インフルエンザウイルスの罹患者、集団発生例の患者14名中9名がA(H1)型の罹患者と判断された。

### 考 察

インフルエンザ様患者(100名)について調査した結果、39株のA(H1)型ウイルスと1株のA(H3)型ウイルスが分離されたことより、富山県の今冬のインフルエンザはA(H1)型ウイルスによるものが主で、A(H3)型ウイルスによるものは3月に散發で発生していたと推測される。WHOインフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センターで集計した全国のインフルエンザウイル

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

Sampling station	Virus detection			HI antibody examination			No. of influenza patients	Type					
	Throat swab	No. of isolates	PCR	Type	No. of sera	No. of significant increase <sup>1)</sup>							
	Date of sampling	No. of samples	(+)		Acute	Conva-lescent							
Toyota primary school (Toyama)	Jan. 17, 1996	5	1	1	A(H1)	5	4	3	0	0	0	4	A(H1)
Miyagawa primary school (kamiichi)	Jan. 18, 1996	4	2	2	A(H1)	3	3	3	0	0	0	4	A(H1)
Kurobethuo primary school (Kurobe)	Feb. 1, 1996	5	0	1	A(H1)							1	A(H1)
Total		14	3	4	A(H1)	8	7	6	0	0	0	9	A(H1)

1) Antigen, A(H1N1): A/Yamagata/32/89, A(H3N2): A/Kitakyushu/159/93, B: B/Mie/1/93

Table 3-1. HI Titers of Reference Antiserum against Isolated Virus Strains

Antigen <sup>1)</sup>	HI titer <sup>2)</sup> of Anti-A/Yamagata /32/89(H1N1)	Antigen	HI titer of Anti-A/Yamagata /32/89(H1N1)
A/Yamagata/32/89	2048	A/Toyama/21/96	1024
A/Toyama/83/95	2048	A/Toyama/22/96	1024
A/Toyama/84/95	2048	A/Toyama/23/96	1024
A/Toyama/1/96	2048	A/Toyama/24/96	2048
A/Toyama/2/96	2048	A/Toyama/25/96	2048
A/Toyama/3/96	2048	A/Toyama/26/96	2048
A/Toyama/4/96	1024	A/Toyama/27/96	2048
A/Toyama/5/96	1024	A/Toyama/28/96	1024
A/Toyama/6/96	2048	A/Toyama/29/96	1024
A/Toyama/7/96	2048	A/Toyama/30/96	2048
A/Toyama/8/96	2048	A/Toyama/31/96	2048
A/Toyama/9/96	2048	A/Toyama/32/96	1024
A/Toyama/10/96	2048	A/Toyama/33/96	1024
A/Toyama/11/96	2048	A/Toyama/34/96	1024
A/Toyama/12/96	2048	A/Toyama/35/96	1024
A/Toyama/13/96	2048	A/Toyama/36/96	1024
A/Toyama/14/96	2048	A/Toyama/38/96	2048
A/Toyama/15/96	2048		
A/Toyama/16/96	1024		
A/Toyama/17/96	1024		
A/Toyama/18/96	2048		
A/Toyama/19/96	1024		
A/Toyama/20/96	1024		

- 1) A/Yamagata/32/89 antigen was supplied from Japan Influenza Center. A/Toyama/83/95 ~ A/Toyama/38/96 antigens were isolated from throat swabs of patients with influenza-like disease in Toyama Prefecture from December 1995 to March 1996.
- 2) HI titers of antiserum were examined with human type O erythrocytes. Antiserum was supplied from Japan Influenza Center.

Table 3-2. HI Titers of Reference Antisera against Isolated Virus Strain

Antigen <sup>1)</sup>	HI titer <sup>2)</sup> of	
	Anti-A/Kitakyushyu /159/93(H3N2)	Anti-A/Akita /1/94(H3N2)
A/KitaKyushyu/159/93	2048	256
A/Akita/1/94	256	4096
A/Toyama/37/96	256	256

- 1) A/Kitakyushyu/159/93(H3N2) and A/Akita/1/94(H3N2) antigens were supplied from Japan Influenza Center. A/Toyama/37/96 antigen was isolated from throat swab of a patient with influenza-like disease in Toyama Prefecture in March 1996.
- 2) HI titers of antisera were examined with human type 0 erythrocytes. Antisera was supplied from Japan Influenza Center.

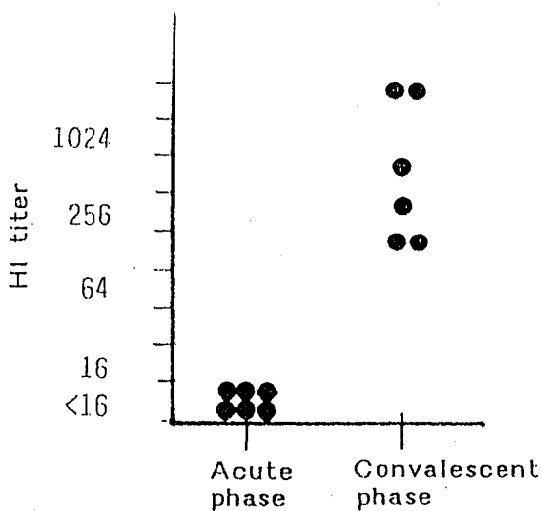


Fig. 2. Distribution of HI Antibody Titers against A/Yamagata/32/(H1N1) among Influenza Type A(H1N1) Patients.

ス分離状況 [ 2 ] でも A (H1) 型が3,589株, A (H3) 型が284株, B型が4株で, A (H1) 型が主流であった。

今シーズン, 富山県の集団風邪は小学校の低学

年に患者が多く発生し, 調査した2集団の患者(7歳, 6名)の急性期血清のHI抗体価はA/山形/32/89抗原に対して16倍未満を示し, A (H1) 型に初感染だったと推定される。このことは, 本県ではA (H1) 型は4年ぶりの出現, そして近年ワクチン接種者がほとんどいない状況の為に, 高学年に比べて低学年層では抗体保有者がかなり少なく, 低学年層に多くの感染者が発生したのであろう。昨シーズンまでの流行では, このように低学年層にかたよる傾向は見られなかった。集団風邪の累積患者数は1,784人で昨年の患者数(10,332人)に比べて約1/5の発生数であり, 中規模の流行であった。

A (H1) 型分離株の39株に対する抗A/山形/32/89 (ワクチン株) 血清のHI価は1024~2048倍 (ホモ: 2048倍) であり, 流行株はワクチン株と抗原性はほぼ同じと見られる。一方, 1株のA (H3) 型分離株に対する抗A/北九州/159/93 (ワクチン株) 血清のHI価が256倍 (ホモ: 2048倍), また抗A/秋田/1/94血清のHI価が256倍 (ホモ: 4096倍) を示し, この分離株は北九州株や秋

田株とは抗原性が変異している株と考えられる。WHOインフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センターで調べた今シーズンの分離株の抗原分析も同様の成績が得られている。富山県では3月でインフルエンザは終息したが、他県では4月、5月にもウイルスが分離され、その分離株はA(H1)型よりA(H3)型が多い。今後、このA(H3)型株の動向が注目される。

謝辞：検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力頂いた小児科諸橋医院、正木医院、館小児科医

院および二本垣医院の関係各位に深謝いたします。

## 文 献

1. 松浦久美子, 中山喬, 長谷川澄代, 森田修行, 吉田慶子, 水木路男, 布野純子, 南部厚子, 大垣由香里, 遠藤京子, 田中桂子 (1993). 富山衛研年報, 16, 106-114.
2. WHOインフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センター (1996). インフルエンザ流行情報 (8).

## RT-PCR法による下水中のエンテロウイルスと レオウイルスの検出に関する検討

松浦久美子 石倉康宏 中山 喬 長谷川澄代  
森田修行

Study on Detection of Enteroviruses and  
Reoviruses in Sewage by RT-PCR

Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi  
NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA

**要 旨** Reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR) による下水中のエンテロウイルス群とレオウイルス群の検出について検討した。RT-PCR における酵素反応の阻害物質が下水中に含まれているので、下水試料を Sephadex G-200 と Chelex-100 カラムによるクロマトグラフィーを行なって阻害物質を除去した後、RNA を抽出し、RT-PCR を行なった結果、エンテロウイルスが検出された。しかし、その検出頻度は培養細胞によるウイルス分離頻度より低かった。レオウイルスは検出できなかった。次に、下水試料中のウイルスを MA104 細胞に感染させ、37℃ で 48 時間培養後、その細胞より RNA を抽出し、RT-PCR を行なった結果、エンテロウイルス、レオウイルスとも検出できた。この下水中のウイルスを感染させた細胞の短期間培養と RT-PCR を組み合わせたウイルス検出方法は、従来のウイルス分離方法よりかなり迅速で、簡便である。特に、ウイルス分離に長時間かかるレオウイルス群の検出には有用な方法と考えられる。

富山県における住民の腸管系ウイルス感染状況を把握するために、感染症サーベイランス事業におけるいろんな疾病の患者からのウイルス検出や下水処理場の未処理下水からのウイルス検出を実施している。ウイルスの検出方法は、ロタウイルスや小型球形ウイルスを除いて、主に試料を培養細胞に接種し、細胞変性効果 (CPE) やヒト O 型血球との凝集を指標にしてのウイルス分離による。しかしながら、ウイルス分離には長時間を必要とし、住民におけるウイルスの浸淫状況、また患者の疾病の原因などを早く把握できない。

近年、PCR 法を用いてウイルス遺伝子の増幅が可能となり、短時間でウイルス検出が出来るようになった。RT-PCR 法を用いて糞便、下水、

環境水からのエンテロウイルスの検出に関する報告がなされている。しかし、これらの試料中には RT-PCR における酵素反応を阻害する物質が存在する可能性がある。それを除去する方法が検討されているが [1-6]、試料によって様々であり、一様には除去できない。

今回、著者らが採取した下水において、RT-PCR 法を導入してエンテロウイルス群とレオウイルス群の検出を試みたので報告する。

### 試料と方法

1. 試料：富山県の西部に流れる「小矢部川」

の下流付近に存在する下水処理場における未処理水1,000mlを採取し、前報 [7] で述べた方法で濃縮試料を作製した。

2. ウイルス RNA の抽出：濃縮試料中の RT-PCR 阻害物質が除去されたウイルス RNA 試料を得るために、2方法でウイルス RNA の抽出を行った。

(1) 濃縮試料に 8% ポリエチレングリコール 6,000 (和光) と 2.2% NaCl を加え、攪拌しながら 4℃ に 1 晩置き、そして 10,000rpm 30分遠心してウイルスを沈殿させた。上清を捨てた後、沈渣に 1 ml の滅菌蒸留水を加えてウイルスを再浮遊させる。次に、Sephadex G-200カラムと Chelex-100カラムによるクロマトグラフィーを用いてウイルス浮遊液中の阻害物質を除去、そして RNAzol™ B (Biotex)、クロロホルム処理し、イソプロパノールで RNA を沈殿させた。Sephadex G-200 (Pharmacia) と Chelex-100 (BIO-RAD) カラムの調整方法は Straub ら [2] の方法に従い、RNAzol™ B 処理は前報 [7] のとおりである。

(2) 24穴 (1穴の直径16mm) のマイクロトレー (Iwaki Glass) に培養した MA104細胞に濃縮試料 0.1ml ずつ接種して、試料中のウイルスを細胞に吸着させる。37℃ で 24時間、48時間、および 96時間培養後、それぞれ培養液を取り除き、細胞を PBS(-) 液で 2 回洗う。次に、RNAzol™ B (1穴につき 0.3ml) を加えて細胞を溶解、この液を 1.5ml のチューブに移し、クロロホルム処理、イソプロパノールで RNA を沈殿させた。沈殿 RNA を 0.1ml の滅菌蒸留水に溶解し、2.5倍量のエタノールで再度 RNA を沈殿させた。なお、3穴の細胞をまとめて 1 試料として処理し、48時間および 96時間培養では 24時間培養後に新しい培養液に交換した。

(1), (2) の方法で沈殿した RNA を少量の滅菌蒸留水で溶かして RT-PCR 用の試料とした。

3. エンテロウイルス群とレオウイルス群のプライマー、RT-PCR 法および増幅された DNA の検出方法は前報 [7] のとおりである。

## 結 果

1. クロマトグラフィーを用いて下水試料中の阻害物質を除去した試料の場合：エンテロウイルス群のプライマーを用いて RT-PCR を行なった結果、2nd PCR でエンテロウイルスが検出された。Fig. 1 にエンテロウイルスから増幅した DNA の電気泳動像を示す。同じ下水試料を細胞に接種して分離された株についても同時に RT-PCR を行ったが、両方とも 154bp の DNA が検出された。しかし、細胞培養でウイルス分離陽性の試料でも、RT-PCR ではウイルス検出できなかった例があった。また、レオウイルスの検出も試みたが検出できなかった。

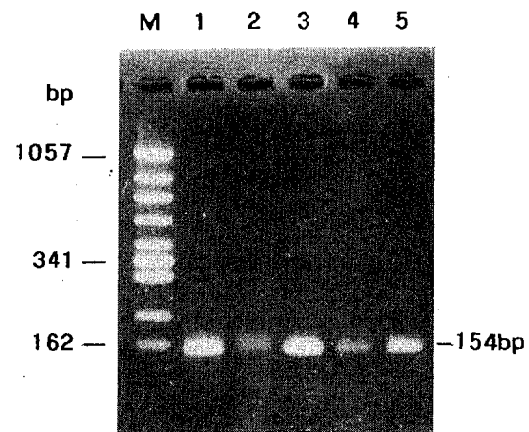


Fig. 1. Detection of Enterovirus in Sewage Samples by RT-PCR. Sewage samples were treated by chromatography through Sephadex G-200 and Chelex-100 columns. RNAs in the samples were then extracted by RNAzol™ B, chloroform and isopropanol treatment. Lane M, DNA size marker ( $\phi$ X174/Hinc II digest); lane 1, polio 2; lanes 2 and 4, sewage samples; lanes 3 and 5, strains isolated from the same sample with lanes 2 and 4, respectively, by cell culture.

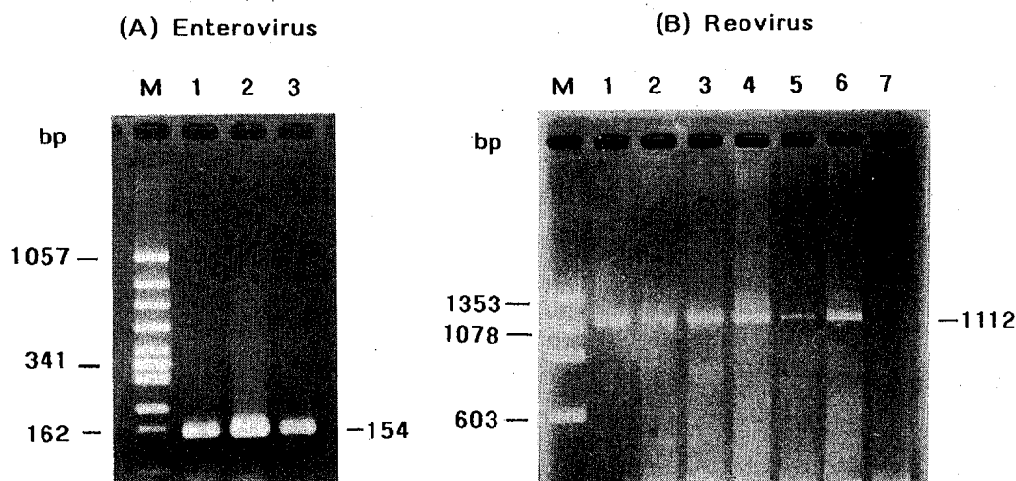


Fig. 2. Detection of Enterovirus and Reovirus in Sewage Samples by RT-PCR. Sewage samples or strains isolated from sewage samples were inoculated into MA104 cells, and incubated at 37°C for 48hrs. The MA104 cells were then lysised with RNAzol™B, and RNAs were extracted by chloroform and isopropanol treatment. (A) Lane M, DNA size marker ( $\phi$  X 174 Hinc II digest); lane 1, sewage sample; lanes 2 and 3, polio 3 and coxsackie B5 strains isolated from sewage samples by cell culture. (B) Lane M, DNA size marker ( $\phi$  X174/Hae III digest); lane 1, reo 2 (Amy strain); lane 2, reo 1 (Lang strain); lanes 3 and 5, sewage samples; lanes 4 and 6, reo 2 strains isolated from the same sample with lanes 3 and 5, respectively, by cell culture; lane 7, MA104 cells (no virus added).

2. 下水試料中のウイルスを細胞に感染させ、短期間培養後、細胞内のウイルス RNA を抽出した場合：24時間、48時間および96時間培養後、それぞれについてエンテロウイルス群とレオウイルス群の RT-PCR を行った結果、24時間培養では検出できない例もあり、48時間と96時間培養ではエンテロウイルスからの154bp DNA、レオウイルスからの1112bp DNA が検出された。48時間培養におけるエンテロウイルス、レオウイルスから増幅した DNA の電気泳動像をFig. 2 に示す。

## 考 察

下水からのウイルス検出は、細胞培養法でのウイルス分離によって行っているが、下水中には多種類のウイルスが含まれている。エンテロウイル

ス群は増殖が早く、ウイルス分離の指標としている CPE が比較的短期間で出現してくる。一方、レオウイルス群は増殖が遅く、CPE は早くても2週間、遅い場合は細胞継代を行って1～2か月後に CPE が出現する。そのため、増殖の早いウイルスのみが分離される傾向がある。そこで、著者らは両ウイルス群とも検出が可能で、もっと迅速にウイルスを検出するために、RT-PCR によるウイルス検出の導入を試みた。

採取した下水中には、ヒトや動物の糞便、生活排水および工場からの排水などが含まれており、RT-PCR における逆転写酵素や Taq ポリメラーゼの酵素反応を阻害する物質が存在した。この酵素反応の阻害物質に関して、糞便中には多糖類等の阻害物質が存在し [4, 5]、環境水中にある腐植物質 (フミン酸等) が阻害する [1, 2, 3] ことが報告されている。これらの阻害物質が除去



されたウイルス RNA 試料を抽出する方法としては、Sephadex G-200 カラムによるゲルクロマトグラフィーと Chelex-100 カラムによるイオン交換クロマトグラフィーを用いた方法 [1, 2], Cellulose fiber powder (CF powder) にウイルス RNA を吸着させる方法 [4], 陽イオン界面活性剤のセチルトリメチルアンモニウムブロマイドや Catrimox-14™ (TaKaRa) と RNA との複合体を形成させて抽出する方法 [5, 6] 等が報告されている。著者等が採取した下水を CF powder や Catrimox-14™ で処理した場合、ウイルスを検出することは出来なかった。Sephadex G-200 と Chelex-100 を用いた場合、2nd PCR でエンテロウイルスが検出された。しかし、培養細胞でウイルスが分離された試料でも PCR では検出されないことがあり、ウイルス分離法と PCR 法とで一致せず、RT-PCR による検出頻度はウイルス分離頻度より低かった。また、レオウイルスを検出することが出来なかった。これらの処理法で、完全に阻害物質が除去出来なかった可能性があるが、処理過程でウイルス量が減少または消失してしまった可能性もある。

そこで、下水中のウイルスを細胞に感染させ、CPE がまだ出現しない短期間培養を行い、その細胞内のウイルス RNA を抽出することにより、阻害物質が含まれないウイルス RNA 試料を得ることを試みた。24時間培養後に得た RNA 試料を用いて RT-PCR を行なった結果、エンテロウイルス、レオウイルスが検出できる場合と出来ない場合があった。48時間培養や96時間培養では PCR で両ウイルスが検出できた。従って、この方法を用いてエンテロウイルス群、レオウイルス群を 3～4日間で検出でき、従来の培養細胞を用いたウ

イルス分離法よりかなり迅速であり、操作も簡単である。特に、レオウイルス群の検出には有用な方法と考えられる。また、1試料中から多種類のウイルス検出も可能であり、疫学的調査にも応用できると推察される。

RT-PCR で増幅した DNA を用いたエンテロウイルス群、レオウイルス群の型鑑別については、まだ検討していないが、石田ら [8] が報告したストリンジェント・リバー固相ハイブリダイゼーションによって型鑑別も出来ると考えられる。

## 文 献

1. Abbaszadegan, M., Huber, M. S., Gerba, C. P. and Pepper, I. L. (1993). *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1318-1324.
2. Straub, T. M., Pepper, I. L., Abbaszadegan, M. and Gerba, C. P. (1994). *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 1014-1017.
3. Schwab, K. J., Leon, R. D. and Sobsey, M. D. (1995). *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 531-537.
4. Wilde, J., Eiden, J. and Yolken, R. (1990). *J. Clin. Microbiol.* 28, 1300-1307.
5. Wang, X. J., Graham, D. Y. and Estes, M. K. (1992). *J. Clin. Microbiol.* 30, 2529-2534.
6. BIO VIEW, (1995). 14, 15-16.
7. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山 喬, 森田修行 (1994). 富山衛研年報, 17, 108-113.
8. 石古博昭, 成沢 忠, 北村明子, 柴 賢司, 石原佑式, 飯塚節子, 甲木和子, 松本一郎, 武田直和, 宮村紀久子, 井上 栄, 山崎修道 (1994). *臨床とウイルス*, 22, 199-207.

## C型肝炎ウイルスの母子間感染に関する研究

森田 修行 中山 喬 佐竹伸一郎<sup>1</sup>  
伊藤 達哉<sup>2</sup> 佐伯吉則<sup>3</sup> 家城匡純<sup>4</sup>  
中曽根敬一<sup>5</sup> 大志摩敦朗<sup>6</sup>

Studies on Mother-to-Infant Transmission  
of Hepatitis C Virus

Osayuki MORITA, Takashi NAKAYAMA,  
Shinichiro SATAKE<sup>1</sup>, Tatsuya ITO<sup>2</sup>,  
Yoshinori SAEKI<sup>3</sup>, Masazumi IEKI<sup>4</sup>,  
Keiichi NAKASONE<sup>5</sup>, Atsuro OHSHIMA<sup>6</sup>

**要旨** 産婦人科の外来を受診した健康な妊婦を対象に、民間検査機関の検査でC型肝炎ウイルス（HCV）抗体陽性と判定された場合、新たに採血した血清で、受身赤血球凝集反応（PHA）を用いた第2世代のHCV診断キットを使用して抗体価を測定した。35例中13例はPHA陰性であったが、22例の抗体価は $2^{2.0} \sim 2^{14.0}$ であった。これら35例の血清について、Reverse transcription and polymerase chain reaction（RT-PCR）によるHCV RNAの検索を行い、抗体価との相関を検討した。抗体価 $2^{5.5}$ 以下ではRNAが検出されず、抗体価 $2^{9.5}$ 以上では89%の血清にウイルス遺伝子の存在が認められた。HCV RNA陽性の16例の中12例について、その新生児へのHCV感染を検討した。その結果、すべての新生児の血清にHCV RNAは検出されず、その後追跡し得た3例の乳児でもHCV感染を確認することはできなかった。

B型肝炎ウイルス（HBV）の垂直感染を抑制するための検査および治療の体制が確立された後、C型肝炎ウイルス（HCV）による肝炎の予防対策は最も重要な課題の一つである。HCV抗体を測定することが可能になったこと〔1〕で、輸血後に発症する非A非B型肝炎の大部分がHCV感染であることが判明し、輸血用血液のHCVスクリーニングが実施されたので、輸血後肝炎の発生は激減した。しかし、健康な献血者の中に1%近

い陽性率でHCV抗体が検出されることは、HBV同様に、HCVの健康キャリアが存在することを示している。HCV感染の血清疫学的調査が進められる中で、輸血や麻薬常習などの経歴がないにもかかわらず、HCV抗体を保有する健康な住民がいることが明らかとなった。HCVの感染は、抗HCV抗体が産生された後も肝細胞障害を引き起こすとは限らない点で、HBV感染とは異なっている。健康キャリアが発症するメカニズムの一

1. 富山県立中央病院 2. 厚生連高岡病院 3. 氷見市民病院 4. 家城産婦人科医院  
5. 中曽根産婦人科医院 6. 大志摩産婦人科医院

つとして、Fas 抗原の発現によって、HCV 感染肝細胞のアポトーシスが起ることを示唆する報告 [2] がある。C 型肝炎は、慢性肝炎に移行し易く、肝癌の重要な原因の一つでもある。しかし、HCV の感染源および輸血以外の感染経路についてはほとんど解明されていない。

最近、非 A 非 B 型の慢性肝炎患者のプラズマから Reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR) により合成した cDNA のクローニングによって HCV 遺伝子の全塩基配列が解析された [3]。さらに、多くの患者からクローン化された HCV 遺伝子の解析から、少なくとも 4 種類の遺伝子型に分けられることが示された [4]。RT-PCR によって HCV RNA の検出が可能となり、感染源検索の手段として HCV 抗体検査よりも RNA 検出が多く用いられるようになった。少数例ではあるが、HCV RNA 陽性の母親から出生した子供のなかに HCV 感染例があるとの報告 [5] がみられ、母子間感染の可能性が示唆されている。われわれは、健康な妊婦を対象に、HCV RNA 陽性例について、新生児の HCV 感染を検討した。

## 材 料 と 方 法

### 1. 対象

産婦人科の 6 医療機関を受診した全ての妊婦を対象とし、平成 6 年 7 月から調査を開始した。民間検査機関での HCV 抗体スクリーニングで陽性を示した妊婦から再び採血し、抗体価測定とウイルス RNA を検索し、RNA 陽性の場合には新生児の HCV 感染について追跡調査を行っている。

### 2. 抗体価測定

採血後、数時間以内に血清を分離し、分注して、速やかに  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。HCV 抗体価測定は、受身赤血球凝集反応 (PHA) を用いた第 2 世代抗体測定用キットである HCV・PHA「ダイナボット」(ダイナボット社) を使用して行なった。キットの添付説明書では、被験血清を 32 倍に希釈した後、感作血球を加え、血球凝集が認めら

れたものを抗体陽性と判定し、必要の場合は定量試験を行うことになっている。われわれはすべての血清について、2 倍から 2 倍階段希釈した後、感作血球を加え、血球凝集を示す最高希釈倍数の逆数をもって抗体価とし、 $2^n$  で表示することとした。血球凝集陽性の場合、HCV・PHA「ダイナボット」阻止試薬 (ダイナボット社) を用いて、特異的凝集であることを確認した。

### 3. RT-PCR

妊婦の血清について、抗体の有無にかかわらず、RT-PCR により HCV RNA を検索して、RNA 陽性の場合に新生児から採血し、HCV 感染について検討した。RT-PCR に必要な特異的プライマーは Okamoto らの報告 [4] に準じて設計し、DNA 合成装置 (Gene Assembler Special, ファルマシア, スウェーデン) で作成した。血清からの RNA 抽出は以下のように行なった。被験血清  $150\mu\text{l}$  にグアニジンチオシアン酸溶液 [6] を加えて混合し、蛋白を十分に変性した後、脱イオン水で飽和したフェノールを加えて混合し、さらにクロロホルムを加えて RNA を抽出した。高速遠心した上層を新たなマイクロチューブに移し、等量のイソプロピルアルコールを加え、 $-20^{\circ}\text{C}$ 、一晚静置して RNA の沈殿を得た。沈殿を 75% エタノールで洗浄した後乾燥した。RNase 阻害剤を含む 1 mM DTT で乾燥 RNA を溶解し、テンプレートとして実験に供した。この RNA にプライマー No.186 (5'ATGTACCCCATGAGGTTCGGC3'; antisense) を加えて、 $97^{\circ}\text{C}$  5 分加熱処理、急冷した後、プライマーとテンプレート RNA のアニリングに  $65^{\circ}\text{C}$  5 分の加熱を行なった。全量  $20\mu\text{l}$  の逆転写酵素反応液 [5mM  $\text{MgCl}_2$ , 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 各  $750\mu\text{M}$  4dNTP, 7.0 単位 AMV 逆転写酵素 (Life Sciences Inc., USA)] の中で、 $42^{\circ}\text{C}$ 、120 分の反応を行い、cDNA を合成した。cDNA は、続いて下記の反応液の中で PCR により 1 回目の増幅を行なった。全量  $50\mu\text{l}$  の PCR 反応液 [2mM  $\text{MgCl}_2$ , 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 各  $300\mu\text{M}$  4dNTP, 2.5 単位 Taq-DNA polymerase (Perkin-Elmer, USA)] にプライマー No.256 (5'CGCG

CGACTAGGAAGACTTC3';sense) と cDNA を加えて反応を行なった。反応はサーマルサイクラーで行ない、94℃ 2分, 55℃ 2分, 72℃ 2分のサイクルを1回行なった後, 94℃ 1分, 55℃ 2分, 72℃ 2分のサイクルを28回, 94℃ 1分, 55℃ 2分, 72℃ 7分のサイクルを1回行なった。続いて, 1回目 PCR 産物の一部を新たなマイクロチューブに移し, Nested PCR を行なって, HCV の遺伝子型を決定した。反応液の組成は、混合液 [10 mM Tris-HCl, pH8.3, 50mM KCl, 2mM MgCl<sub>2</sub>, 各300 μM 4dNTP, 2.5単位 Taq-polymerase (Perkin-Elmer, USA)] に共通プライマー-No.104 (5'AGGAAGACTTCCGAGCGGT C3') および4種類の型特異プライマー-No.132 (5'TGCCTTGGGGATAGGCTGAC3';type I), No.133 (5'GAGCCATCCTGCCCCACCCA3'; type II), No.134 (5'CCAAGAGGGACGGGA ACCTC3';type III), No.135 (5'ACCCTCGTTT CCGTACAGAG3';type IV) と1回目 PCR 産物を加え, 全量50 μlとして反応を行なった。反応条件は, 94℃ 1分, 60℃ 1分, 72℃ 1分30秒のサイクルを30回行なった。このようにして増幅された DNA の産物は, TBE (Tris-HCl, Borate, EDTA) 緩衝液を用いた3%NuSieve 3:1 agarose (FMC Bio Products, USA) で電気泳動し, 1 μg/mlのエチジウム・ブロマイドで染色した後, 紫外線を照射して検出した。

## 結 果 と 考 察

### 1. 妊婦の HCV 抗体価と HCV RNA 検出

民間検査機関で HCV 抗体陽性と判定された妊婦について, 再度採血し, 第2世代の HCV 抗体測定キットを用いて抗体価を測定した。その結果は, Table 1 に示すように, 血清2倍希釈でも血球凝集のみられない例(抗体価<2<sup>1</sup>)がかなりみられた。民間検査機関では, PHA より感度の高い検査法で抗体を検出しているものと考えられる。そこで, これら凝集反応がみられない血清について, HCV RNA の検出を検討したが, 全例

Table 1. HCV Antibody Titers and Detection of HCV RNA in the Sera of Pregnant Women

No. of pregnant women	HCV antibody titer (2 <sup>n</sup> ) by PHA	HCV RNA detection by RT-PCR
13	<1	-
1	2.0	-
1	3.0	-
2	5.5	-
1	9.5	+
3	10.0	+
1	10.5	-
3	10.5	+
2	11.0	+
1	11.5	+
3	12.0	+
1	12.5	-
1	13.0	+
1	13.5	+
1	14.0	+

陰性であった。抗体価が2<sup>2</sup>~2<sup>5.5</sup>の血清でもウイルス RNA は検出されなかった。抗体価が2<sup>6.5</sup>を超えると RNA が検出されるようになり, 抗体とウイルスが共存していた。しかし, 抗体価2<sup>10.5</sup>と2<sup>12.5</sup>にウイルス RNA の共存を確認できない血清がそれぞれ1例みられた。われわれは以前に行なった一般住民の調査で, 抗体価2<sup>5</sup>以下の血清ではウイルス RNA は検出されず, 抗体価2<sup>5</sup>~2<sup>9</sup>の血清ではウイルス RNA の検出は一定しなかった。抗体価2<sup>10</sup>以上の血清はすべてウイルス RNA も陽性を示した(未発表データ)。町田ら[7]は, 遺伝子工学的に作成したウイルス抗原を感作したゼラチン粒子を用いて抗体価を測定する診断キット「HCV・PA」(オーソ社)を使用して, 日本赤十字血液センターに保存されている献血血液における HCV の抗体価測定とウイルス RNA 検出を行なっている。その結果は, 抗体価2<sup>7</sup>以下の血清すべてにおいてウイルス RNA が検出されず, 抗体価2<sup>8</sup>~2<sup>11</sup>の血清ではウイルス RNA の検出率は14%~71%, 抗体価2<sup>12</sup>以上の場合100%ウイルス遺伝子が検出され

たと述べている。これらのことから、HCV が量的に多く存在する場合は高い抗体価が維持されるが、ウイルスが減少するにつれて抗体価も低下するものと考えられる。柏木ら [8] は、HCV RNA が検出される血清では、ウイルスの非構造領域および core 領域の抗原に対する抗体が含まれているが、HCV RNA 陰性例では、ウイルスの core 抗原に対する抗体のみ陽性で、非構造領域の抗原に対する抗体を含まない血清が認められることを報告している。このことは、低抗体価の血清では HCV の産生が不完全であることを示唆している。しかし、柏木らも指摘しているように、高い抗体価であるにもかかわらず、ウイルス RNA が検出されない例が存在する。ウイルスが量的に検出レベル以下に減少したか、あるいは遺伝子に変異が起こったと考えられる。これらの例では年月の経過とともに抗体価が低下するかどうか興味ある事例である。一方、抗体価  $2^{9.5}$  でウイルス RNA が検出された例で、6 か月経過後の検査で抗体価  $2^{12.5}$  への上昇を認めたことがある。この例の場合、抗体価と HCV 産生が増加過程にあったことを示唆している。

## 2. 新生児の HCV 抗体価とウイルス RNA

妊婦の血清に HCV RNA が検出された場合、その新生児の胎内における HCV 感染について検討した。母親の妊娠時血清と新生児の血清が揃った 12 組の検査結果を Table 2 に示す。母親の抗体価は  $2^{9.5} \sim 2^{14.0}$  の範囲内に分布し、新生児も母親と同等又はやや高い抗体価を保有していた。母親が感染している HCV の遺伝子型は、II 型が 8 例、III 型が 4 例であった。しかし、新生児血清にウイルス RNA が検出された例はみられなかった。これら新生児の 1 か月、6 か月後に追跡し得た 3 例では、いずれも抗体価が低下傾向であり、ウイルス RNA は検出されず、HCV 感染は確認されなかった。

母親の妊娠時血清とその新生児の血清について、RT-PCR による HCV 遺伝子検出の電気泳動結果の一部を Fig. 1 に示す。母親の血清から増幅された PCR 産物を確認することができる。しかし、その新生児血清には PCR 産物は認められな

Table 2. HCV Antibody Titers and Results of RT-PCR for HCV in the Infants of HCV RNA-Positive Mothers

Mother-infant pair, age of infant (months)	HCV antibody titer ( $2^n$ ) by PHA	HCV RNA detection by RT-PCR (genotype)
Mother 1	11.0	+(II)
Infant:birth	11.0	-
Mother 2	10.0	+(II)
Infant:birth	11.5	-
Mother 3	11.5	+(II)
Infant:birth	12.5	-
Mother 4	10.0	+(II)
infant:birth	10.0	-
6 mo	4.5	-
Mother 5	14.0	+(II)
Infant:birth	14.0	-
1 mo	11.5	-
Mother 6	10.5	+(III)
Infant:birth	9.0	-
Mother 7	12.0	+(III)
Infant:birth	11.0	-
Mother 8	10.0	+(II)
Infant:birth	11.0	-
Mother 9	11.0	+(III)
Infant:birth	10.5	-
Mother 10	10.5	+(II)
Infant:birth	14.0	-
Mother 11	9.5	+(II)
Infant:birth	10.0	-
6 mo	6.0	-
Mother 12	12.0	+(III)
Infant:birth	12.5	-

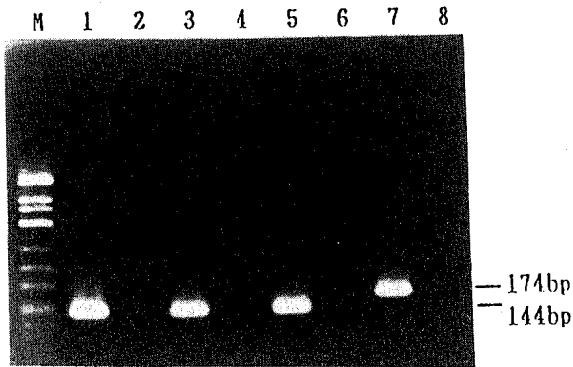


Fig. 1. Results of RT-PCR for detection of HCV genomes in the sera of 4 pairs of mother and her infant. Amplified DNA segments with the size of 144 bp and 174 bp indicate HCV genotypes II and III, respectively. Lanes 1 and 2, 3 and 4, 5 and 6, 7 and 8 show each pair of mother and infant. M, Hinf I-digested  $\phi \times 174$  DNA size marker.

かった。

HCVの母子間感染に関する調査では、新生児のHCV感染を確認した報告は少ないが、出生時の採血でウイルスRNAが検出された例が知られている[5, 9]。また、2世代にわたって家系内にウイルスが受継がれた調査報告[10]があり、母親から子へのHCV感染が起こり得ることを示唆している。これらの報告では、感染の機会が胎内、産道、または出生後のいずれなのか明らかではない。われわれの調査では、12組の母子間に胎内でのウイルスの垂直感染を証明し得た例は認められなかった。HCV感染後のウイルス増殖、さらに肝炎発症までのSilent periodが解明されなければならない。他方、HCV感染者の母乳、唾液、涙などにRT-PCRでウイルス遺伝子が検出されることを確認した報告があるので、出生後の感染の追跡調査が必要である。

謝辞：調査の実施に当たり、新生児の採血および追跡調査にご協力を頂きました県立中央病院小

児科森尻悠一郎先生、氷見市民病院小児科上原貴博先生、厚生連高岡病院(富山医科薬科大学)小児科二谷武先生および関係各位に深謝致します。

## 文 献

1. Choo, Q. L., Kuo, G., Weiner, A. J., Overby, L., Bradley, D. W., and Houghton, M. (1989). *Science*, 244, 359-362.
2. Hiramatsu, N., Hayashi, N., Katayama, K., Mochizuki, K., Kawanishi, Y., Kasahara, A., Fusamoto, H., and Kamada, T. (1994). *Hepatology*, 19, 1354-1359.
3. Kato, N., Hijikata, M., Ootsuyama, Y., Nakagawa, M., Ohkoshi, S., Sugimura, T., and Shimotohno, K. (1990). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 9524-9528.
4. Okamoto, H., Sugiyama, Y., Okada, S., Kurai, K., Akahane, Y., Sugai, Y., Tanaka, T., Sato, K., Tsuda, F., Miyakawa, Y., and Mayumi M. (1992). *J. Gen. Virol.*, 73, 673-679.
5. Thaler, M. M., Park, C. K., Landers, D. V., Wara, D. W., Houghton, M., Veereman-Wauters, G., Sweet, R. L., and Han, J. H. (1991). *Lancet*, 338, 17-18.
6. Chomczynski, P., and Sacchi, N. (1987). *Analytical Biochemistry*, 162, 156-159.
7. 町田篤彦, 小澤 茂, 渡辺由香里, 鈴木典子, 伊藤直文, 赤羽賢浩(1994). *山梨衛公研年報*, 38, 62-64.
8. 柏木征三郎, 中島孝哉, 吉村英理子, 池松秀之, 林 純(1995). *感染症学雑誌*, 69, 254-261.
9. Novati, R., Thiers, V., Monforte, A. A., Maisonneuve, P., Principi, N., Conti, M., Lazzarin, A., and Brechot, C. (1992). *J. Infect. Dis.*, 165, 720-723.
10. Inoue, Y., Takeuchi, K., Chou, W. H., Unayama, T., Takahashi, K., Saito, I., and Miyamura, T. (1992). *J. Infect. Dis.*, 166, 1425-1428.

## 富山県における溶血レンサ球菌分離株の 菌型と薬剤感受性

田中大祐 細呂木志保 刑部陽宅 香取幸治<sup>1</sup>  
赤間美德<sup>2</sup> 柏木義勝<sup>3</sup>

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

Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI,  
Yotaku GYOBU, Koji KATORI<sup>1</sup>,  
Yoshinori AKAMA<sup>2</sup> and Yoshikatsu KASHIWAGI<sup>3</sup>

**要旨** 富山県で1982～1995年の間に分離された臨床材料由来溶血レンサ球菌（溶レン菌）について、分離材料、患者の平均年齢と分離株の群の関係、A、B両群の型別分布および分離株の薬剤感受性を調べた。結果は次のようであった。

1. 分離株の群別分布では、各年次においてB群、次いでA群が優勢で、両者が全体の80%以上を占めた。G群は全体の11～16%であり、C群は極めて少なく約1%であった。主としてA群は小児の咽頭から、B群と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T型別分布の変遷を見ると、T4型とT12型が長期間流行しているが、1995年はT4型が最も多く、次いでT3型、T12型の順に多く分離された。一方、B群では、1995年にはJM-9型、NT-6型の順に多く分離された。

3. 薬剤感受性に関して、1994年はA群、B群、G群ではTCに対してのみ一部の菌株が耐性であった。A群T4型は依然全株がTC耐性菌であり、A群のTC耐性菌のすべてがT4型であった。

A群溶レン菌による咽頭炎や扁桃炎の発生は現在でも高頻度である。富山県では、1993年の5月に黒部市の知能に障害のある児童の施設でA群T3/M3型による溶連菌感染症の小流行が起きている[1]。最近では、重篤な劇症型A群レンサ球菌感染症が、国内でも相次いで報告され、注目されている[2]。一方、B群溶レン菌は新生児の敗血症や髄膜炎、高齢者の日和見感染の原因

として知られている。

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、健康者や患者から分離される本菌の疫学像を把握しておくことは必要である。ここでは、富山県下で臨床材料から分離された溶レン菌について、1995年に得られた成績を中心に、1982年以来の流行菌型の変遷や分離株の薬剤感受性を報告する。

1. 富山県立中央病院 2. 富山市民病院 3. 東京都立衛生研究所

## 材料と方法

病原微生物検出情報収集定点である県内12か所の公立病院の内の2病院の細菌検査室で分離された溶レン菌を用いた。群別はストレプトL A「生研」(デンカ生研)を用いた感作ラテックス凝集反応によって実施し、A群T型別およびB群型別はそれぞれの型別用血清(デンカ生研)を用いて行った。薬剤感受性試験は、アンピシリン(ABPC)、セファレキシン(CEX)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、エリスロマイシン(EM)、オレアンドマイシン(OL)、リンコマイシン(LCM)の7剤を使用し、東京都立衛生研究所で行った。

## 結果と考察

1995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。B群、次いでA群が優勢で、両者が全体の80%以上を占め、G群は全体の11~16%であり、C群は極めて少なく約1%であった。A群が咽頭から分離される場合は圧倒的に小児が多かった。他のB、C、G群が咽頭から分離される場合も、患者の平均年齢は比較的lowかった。それに対して、喀痰からはB群やG群が高頻度に分離され、その場合は患者の平均年齢は極めて高かった。化膿巣、分泌物などからはA、B、G群が分離されるが、A群の場合は、B、G群に比べて患者の平均年齢が比較的lowいのが特徴であった。尿からの分離菌は殆どが尿路感染症の原因となるB群であるが、この

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

Year	Specimen	Serogroup of Streptococci				Total
		A	B	C	G	
1991	Throat swab	102*(12)**	6(19)	2(23)	11(25)	121
	Sputum	7(44)	51(65)	1(62)	17(62)	76
	Pus, exudate etc.	26(19)	33(47)		15(48)	74
	Urine etc.		69(62)		3(57)	71
	Blood, cerebrospinal fluid		4(46)			4
	Total	135:38.9%	163:46.9%	3:0.9%	46:13.2%	347
1992	Throat swab	67(13)	11(16)	2(6)	11(26)	91
	Sputum	3(53)	38(75)	1(78)	10(50)	52
	Pus, exudate etc.	23(22)	30(47)		9(48)	62
	Urine etc.	1(72)	37(63)			37
	Blood, cerebrospinal fluid	1(40)	1(69)		1(?)	3
	Total	95:38.8%	117:47.8%	3:1.2%	30:12.2%	245
1993	Throat swab	70(9)	13(47)		5(25)	88
	Sputum	6(46)	38(64)	2(70)	19(63)	65
	Pus, exudate etc.	20(20)	51(46)	1(37)	13(55)	85
	Urine etc.		43(63)		5(79)	48
	Blood, cerebrospinal fluid	1(63)	1(78)			2
	Total	97:33.7%	146:50.7%	3:1.0%	42:14.6%	288
1994	Throat swab	80(8)	11(35)	2(13)	4(24)	97
	Sputum	3(36)	27(67)		13(60)	43
	Pus, exudate etc.	14(39)	48(52)		18(45)	80
	Urine etc.		33(65)		5(83)	38
	Blood, cerebrospinal fluid		3(51)		1(73)	4
	Total	97:37.0%	122:46.6%	2:0.8%	41:15.6%	262
1995	Throat swab	46(8)	8(43)		2(23)	56
	Sputum	4(45)	24(68)		6(71)	34
	Pus, exudate etc.	10(28)	52(52)		10(66)	81
	Urine etc.		18(65)	1(76)	1(75)	20
	Blood, cerebrospinal fluid	1(5)	3(51)		2(64)	6
	Total	61:32.4%	105:55.9%	1:0.5%	21:11.2%	188

\*: Number of isolates, ( )\*\*: Mean age of host



場合も平均年齢は喀痰同様極めて高かった。血液、髄液からは分離株数が少ないが患者の平均年齢は比較的高かった。これらのことは毎年極めて類似していた。

1995年のA群分離株のT型別分布を Table 2 に示す。表中の最下段の数字は定点12か所の医療機関からの上気道及び下気道からのA群菌の毎月の報告数である。型別結果をみると、T 4型が最も多く分離され、次いでT 3型、T 12型の順に多く分離された。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も行っている。福井県の一医療機関の臨床材料由来株の結果は表に示していないが

1995年はT 1型が多かった。

1995年のB群分離株の月別の型分布を Table 3 に示す。近年分離率が非常に高いJM-9型、NT-6型が多く分離され、この二つの血清型の菌株が過半数を占めた。次いで多いのはI b型とV型であった。型別不能株の比率は7.6%であった。

1982年以來のA群のT型別分布を Table 4 にまとめた。全体をみると、T 4型とT 12型のみが長期間流行している様相がうかがえる。1992年から流行しているT 3型は劇症型A群レンサ球菌感染症で最も多く検出されている [1] ので、監視が必要である。14年間に型別に供した1969株の中では、①T 12型 493株、②T 4型 403株、③T 1型

Table 2. Monthly Distribution of T Types of Group A Streptococci in 1995

T type	Month												Total
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
1		1	1	3		1					1	1	8
2										1			1
3	2		2	4	1				1		2		12
4		1	6	4		2			1	1	2	2	19
12			1	3	1	2			1	1			9
28				1		1		1	1	1			5
B3264		1			1			1					3
UT	1								1	1	1		4
Total	3	3	10	15	3	6	0	2	5	5	6	3	61
Reported number of strains from 12 Hospitals	34	54	70	54	56	31	26	17	20	37	52	59	510

Table 3. Monthly Distribution of Types of Group B Streptococci in 1995

Type	Month												Total
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
I a	2	1		1	1						1	1	7
I b		1				1		2			1	4	9
II	1			2		2							5
III		1	1								2		4
IV	1												1
V			1		2	3	1	1		1			9
NT-6	2		3	5	1	1		4	3	4	2	2	27
WHO-7271													0
JM-9	2	5	2	3	2	2	4	3	3	3	5	1	35
UT	3					2	1			1		1	8
Total	11	8	7	11	6	11	6	10	6	9	11	9	105

平成8年10月1日

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

Year	T type																Total		
	1	2	3	4	5	6	8	9	11	12	13	18	22	28	B3264	Imp. 19		14/49	UT
1982	20 <sup>2*</sup> (26.3)**			2						27 <sup>1</sup> (35.5)	4		3	2	3	6 <sup>3</sup> (7.9)		9	76
1983	2			69 <sup>1</sup> (42.6)						41 <sup>2</sup> (25.3)	22 <sup>3</sup> (13.6)		1	11	6			10	162
1984	6		8	30 <sup>2</sup> (24.0)	1		1		2	42 <sup>1</sup> (33.6)	9		1	10 <sup>3</sup> (8.0)	3	1		11	125
1985	3		55 <sup>1</sup> (38.5)	26 <sup>3</sup> (18.2)			1		3	31 <sup>2</sup> (21.7)	8	1	1	7	2			5	143
1986	1		64 <sup>2</sup> (23.1)	27 <sup>3</sup> (9.7)	1	1	6		11	125 <sup>1</sup> (45.1)	8	8	1	15				9	277
1987	29 <sup>3</sup> (11.9)		13	44 <sup>2</sup> (18.0)	1	17	1		5	69 <sup>1</sup> (28.3)	4	22		22	2			15	244
1988	66 <sup>1</sup> (36.9)		2	43 <sup>2</sup> (24.0)		15 <sup>3</sup> (8.4)	1		1	14		7		6				24	179
1989	11			46 <sup>1</sup> (30.2)		29 <sup>2</sup> (19.3)			4	8	2	2		18 <sup>3</sup> (12.0)	8			22	150
1990	14		1	26 <sup>1</sup> (22.0)		8		1	3	22 <sup>2</sup> (18.6)		1		16 <sup>3</sup> (13.6)	3			23	118
1991	20 <sup>2</sup> (14.5)			20 <sup>2</sup> (14.5)			1	3	4	51 <sup>1</sup> (36.9)	1			12	15		2	9	138
1992	21 <sup>1</sup> (20.6)		14	19 <sup>2</sup> (18.6)			1		2	6	3	4		4	15 <sup>3</sup> (14.7)			13	102
1993	18 <sup>2</sup> (18.6)		21 <sup>1</sup> (21.6)	18 <sup>2</sup> (18.6)			2	1	2	14				6	6			9	97
1994	12			17 <sup>2</sup> (17.5)		14 <sup>3</sup> (14.4)		1	1	34 <sup>1</sup> (35.1)		2		7	3			6	97
1995	8	1		12 <sup>2</sup> (19.7)		19 <sup>1</sup> (31.1)				9 <sup>3</sup> (14.8)				5	3			4	61
Total	231	1	207	403	3	71	14	5	38	493	61	47	7	141	69	7	2	169	1969

\*: Order of prevalence. \*\*: Percentage occupied by the corresponding type

Table 5. Antibiotic Susceptibility of Hemolytic Streptococci in 1994

Group	Antibiotics	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														
		0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	$\geq 200$
A	ABPC	23														
	CEX	23														
	TC				3		15						4		1	
	CP								2		21					
	EM				16		6						1			
	OL								14		8				1	
	LCM						12		11							
B	ABPC	23														
	CEX															
	TC								14		4		6		17	
	CP												23			
	EM				23											
	OL								23							
	LCM				10		12		1							
C	ABPC	1														
	CEX															
	TC								1						1	
	CP										1					
	EM				1											
	OL								1							
	LCM						1									
G	ABPC	3														
	CEX															
	TC								1		2		1			
	CP												3		1	
	EM				2		1									
	OL								1		2					
	LCM						1		2							

231株, ④T 3型 207株, ⑤T28型 141株, ⑥T 6型 71株, ⑦TB3264型 69株, ⑧T13型 61株, ⑨T18型 47株, ⑩T11型 38株の順に多かった。UT (型別不能株) は9.6%であった。

1994年に分離したA群 23株, B群 23株, C群 1株, G群 3株, 計50株の薬剤感受性試験の結果を Table 5 に示した。MIC 値が $25\mu\text{g/ml}$ 以上である耐性菌は, A群ではT 4型の5株すべてが耐性であった。B群およびG群でもTCに対してのみ一部の菌株が耐性であった。ABPC に対しては, すべての菌株が高い感受性を示した。

謝辞: 溶レン菌分離株に関して配慮を戴いた富山市民病院と県立中央病院の検査担当各位に深謝いたします。

## 文 献

1. 国立予防衛生研究所編 (1994). 病原微生物検出情報月報, 15巻4号, 3~4.
2. 富山県厚生部編 (1994). 伝染病流行予測調査報告書, 12~15.

## パルスフィールド電気泳動による劇症型A群 レンサ球菌感染症由来菌株の型別

田中大祐 刑部陽宅 児玉博英<sup>1</sup> 五十嵐英夫<sup>2</sup>

### Typing of Group A Streptococci Causing Toxic Shock-like Syndrome by Pulsed-field Gel Electrophoresis

Daisuke TANAKA, Yotaku GYOBU,  
Hirohide KODAMA<sup>1</sup> and Hideo IGARASHI<sup>2</sup>

**要 旨** 1992～1995年の間に病院で分離されたA群溶血レンサ球菌のうち、劇症型A群レンサ球菌感染症 (Toxic shock-like syndrome: TSLS) 由来菌株とそれ以外の疾患由来菌株について染色体 DNA 制限酵素切断パターンをパルスフィールド電気泳動 (PFGE) を用いて調べた。結果は次のようであった。

1. 制限酵素に *Sma* I を用いた場合、T 1 型菌48株は3つの泳動パターン (仮に PFGE 型 T 1-2, T 1-5, T 1-6), T 3 型菌 117株は4つの泳動パターン (仮に PFGE 型 T 3-2, T 3-3, T 3-4, T 3-5) のいずれかに分けられた。T 1 型菌では、TSLS 由来で5株中4株 (80%), 非 TSLS 由来で43株中41株 (95%) が T 1-5 型であった。T 3 型菌では、TSLS 由来で32株中29株 (91%), 非 TSLS 由来で85株中74株 (87%) が T 3-2 型であった。

2. T 3 型菌に多い PFGE での T 3-2 型の菌株について、TSLS 由来株と非 TSLS 由来株の中から無作為にそれぞれ2株ずつ選び、*Sma* I と異なる9種類の制限酵素処理後 PFGE を行ったところ、菌株の由来による差異は認められなかった。

3. 薬剤感受性、生物型でも菌株の由来 (TSLS と非 TSLS) による差異は見出されなかった。

劇症型A群レンサ球菌感染症 (Toxic shock-like syndrome: TSLS) は、A群溶血レンサ球菌 (以下A群溶レン菌) を原因として、突発的な発病後、急速に全身状態が悪化、多臓器不全を起こし高い死亡率を示す疾患として知られている [1]。富山県ではまだ報告されていないが、国内では1992年の清水らの報告 [2] 以来症例は100

例程度であり、分離菌の血清型別ではM1/T1型とM3/T3型が多いと報告されている。

このような TSLS の発症機序についてはほとんど不明であり、その解明が期待されている。本研究は、TSLS 由来A群溶レン菌とそれ以外の疾患由来A群溶レン菌との間の相違点を明らかにする目的で、パルスフィールド電気泳動 (PFGE)

1. 富山女子短期大学 2. 東京都立衛生研究所

を用いた染色体 DNA 制限酵素切断パターンの比較を行った。

材料と方法

1. 菌株

1992~1995年の間に病院で分離されたA群溶レン菌のうち、TSLS 由来37株と非 TSLS 由来128株の計165株を用いた。

2. 血清学的群・型別

前報によった [3]。

3. PFGE

前報によった [3]。

4. 薬剤感受性試験

米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) の規格に準拠し、センシディスク (BBL) を用いて行った。使用薬剤は、NA (ナリジクス酸), GM (ゲンタマイシン), KM (カナマイシン), CP (クロラムフェニコール), ABPC (アミノベンジルペニシリン), TC (テトラサイクリン), MINO (ミノマイシン), EM (エリスロマイシン), CET (セファロチン), SM (ストレプトマイシン), CL (コリスチン) の11種類である。

5. 生物型別

Bouvetら [4] によった。

結 果

1. TSLS 由来株と非 TSLS 由来株の PFGE 型分布

A群T1型菌 48株とT3型菌 117株について、制限酵素に *Sma* I を用いて PFGE を行ったところ、Fig. 1 に示すように、T1型は3つの泳動パターン、T3型は4つの泳動パターンのいずれかに分けられた。それぞれのパターンに仮の記号(血清型-パターン番号)を文献 [5] を参考に付け、PFGE 型とした。Table 1 に示すように、T1型菌の場合、TSLS 由来5株中4株 (80%)、非 TSLS 由来43株中41株 (95%) がT1-5型

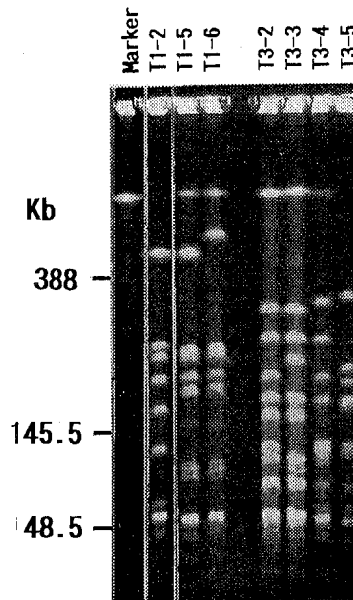


Fig. 1. PFGE Patterns of Genomic DNA of Group A Streptococci T type 1 and 3 after Treatment with *Sma* I T1-2~T3-5; Provisional PFGE Types

Table 1. PFGE Types of Isolates from TSLS and Non-TSLS Patients

PFGE type	Disease	
	TSLS	Non-TSLS
T1-2		2
T1-5	4	41
T1-6	1	
T3-2	29	74
T3-3	1	11
T3-4	1	
T3-5	1	

であった。一方、T3型菌の場合、TSLS 由来32株中29株 (91%)、非 TSLS 由来85株中74株 (87%) がT3-2型であった。TSLS 由来と非 TSLS 由来では PFGE 型分布に関して差は認められなかった。

2. 各種制限酵素を用いた場合の TSLS 由来株と非 TSLS 由来株の PFGE 像の比較

A 群 T 3 型の菌株に多い T 3-2 型の菌株の中から無作為に TSLS 由来 2 株と非 TSLS 由来 2 株を選び、*Sma* I と異なる 9 種類の制限酵素を用いて DNA を処理後 PFGE を行ったところ、Fig. 2 に示すように、菌株の由来による差異は認められなかった。表示しなかったが、T 1 型菌に多い T 1-5 型の菌についても TSLS 由来 2 株

と非 TSLS 由来 2 株を選び、同様に PFGE を行ったが差異は認められなかった。

3. TSLS 由来株と非 TSLS 由来株の薬剤感受性と生物型の比較

PFGE での T 1-5 型と T 3-2 型の菌株の一部 23 株について、11 種類の薬剤に対する感受性、Bouvet らの生物型を調べたところ、Table 2 に示すように、TSLS 由来株と非 TSLS 由来株で差は見出されなかった。

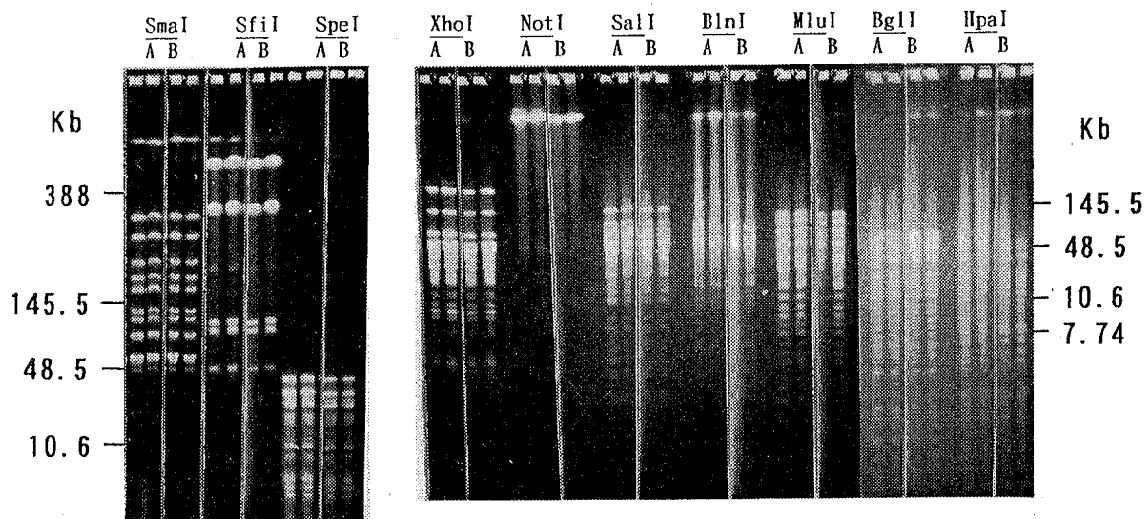


Fig. 2. PFGE Patterns of Genomic DNA of Group A Streptococci T type 3 after Treatment with Restriction Enzymes  
A; TSLS, B; Non-TSLS

Table 2. Antibiotic Susceptibility and Biotypes of Isolates from TSLS and Non-TSLS Patients

PFGE type and source of isolates examined	No. of isolates examined	Antibiotics											Biotype		
		NA	GM	KM	CP	ABPC	TC	MINO	EM	CET	SM	CL			
T1-5	TSLS	4	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	1
	Non-TSLS	6	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	1
T3-2	TSLS	8	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3
	Non-TSLS	5	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3

S; susceptible, I; intermediate, R; resistant

## 考 察

1992～1995年に分離された TSLs 由来 A 群溶  
レン菌とその他の疾患由来 A 群溶レン菌を比較し  
たとき、同一 T 型であれば、PFGE を用いた染  
色体 DNA 制限酵素切断パターン、薬剤感受性、  
生物型にほとんど差がなかった。中島ら [6] も、  
制限酵素に *Sma* I を用いて PFGE を行ったとこ  
ろ、M1 型や M3 型では TSLs と非 TSLs 由来  
の菌株の多くが同じゲノタイプを示し、両者の間  
に明確な違いが認められなかったと述べている。  
これらの結果は、TSLs 由来 A 群溶レン菌は特に  
変わったクローンの菌株ではないことを示唆する  
ように思われる。ところで、室野ら [7] は、更  
に分離年の古い菌株について PFGE を実施した  
ところ、T1 型菌は 1990～1991 年あたりを境にそ  
のゲノムが大きく変化していることから、この時  
期にわが国で TSLs が増加してきたことと関係  
しているのではないかと述べている。同様の結果  
を著者ら [5] も得ている。TSLs がほとんどな  
かった時代の非 TSLs 由来株と今回の TSLs 由

来株を各種の観点より比較したいと考えている。

## 文 献

1. Stevens, D. L. (1992). Clin. Infect. Dis., 14, 2-11.
2. 清水可方, 大山晃弘, 笠間和典, 宮崎増美, 大江健二, 大河内康実 (1993). 感染症誌, 67, 236-239.
3. 田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英 (1995). 感染症誌, 69, 455-460.
4. Bouvet, A., Geslin, P., Kriz-Kuzemenska, P., Blanc, V., Devine, C., Grimont, F. (1994). J. Clin. Microbiol., 32, 1312-1317.
5. 田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英 (1996). 感染症誌, 70, 283-286.
6. 中島一光, 一山智, 飯沼由嗣, 川端厚, 千田一嘉, 下方薫, 太田美智男, 高木規夫, 五十嵐英夫, 村井貞子, 清水可方 (1995). 感染症誌, 69, 155.
7. 室野晃一, 西條政幸, Zhang Jiwei, 藤田晃三, 村井貞子, 五十嵐英夫 (1996). 感染症誌, 70, 78.

## 都市河川水のサルモネラ定点観測

磯部 順子    田中大祐    細呂木志保    井山洋子

### *Salmonella* Surveillance on River Water in an Urban Area

Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI  
and Yōko IYAMA

**要 旨** 1979年から1995年間までの17年間、富山市内の4河川に11定点を定め、定期的に採水してサルモネラの分布状況を調べた。合わせてヒトから分離された菌との比較を行い、次のような成績を得た。

1. 1995年に河川から分離されたサルモネラは、16血清型、32株であった。これは河川Dからの取水が始まった1986年以降の9年間の平均分離数30株とほぼ同じであった。分離されたサルモネラは血清型、*Salmonella* Mbandaka 5株、*S. Typhimurium* 5株、*S. Enteritidis* 4株の順に多かった。*S. Stroubridge* および *S. Champaign* が河川から初めて分離された。

2. 1995年にヒトから分離されたサルモネラは22血清型62株で、その内 *S. Enteritidis* が20株と最も多かった。この傾向は1991年から5年間続いている。次いで *S. Typhimurium* 10株、*S. Infantis* 6株の順に多かった。

3. 過去17年間に河川およびヒトから分離されたサルモネラの主な血清型を比較すると、河川では *S. Paratyphi B* (115株, 11.7%), *S. Typhimurium* (68株, 6.9%), *S. Infantis* (56株, 5.7%) の順に多く、ヒトからは *S. Enteritidis* (323株, 24.5%), *S. Typhimurium* (167株, 12.7%), *S. Paratyphi B* (127株, 9.6%) の順に多かった。

4. 分離された主な血清型のサルモネラの薬剤耐性を調べると、耐性株頻度は *S. Enteritidis* で198/362 (54.7%), *S. Litchfield* で42/104 (40.4%), *S. Typhimurium* で31/242 (38.7%) であり、耐性菌の耐性パターンではストレプトマイシン (S) 単独耐性が最も多く、次いでテトラサイクリン (TC) 単独耐性、TC, S2 剤耐性他の順に多かった。

サルモネラは動物や自然界に広く分布しており、ヒトに急性胃腸炎をひき起こす。国内では、1992、1993年は食中毒原因菌の第1位はサルモネラであった。1994年も発生件数は200件を越え、その患者数は細菌性食中毒患者の約4割を占めるに至っている [1, 2]。最近の海外旅行者、輸入飼料および輸入畜肉等の増加が、サルモネラ汚染、サルモ

ネラ感染症の増加の一因になっていると思われる。われわれは、環境のサルモネラ汚染の実態と、ヒトにおけるサルモネラの流行状況を把握する目的で、都市河川水の定点観測を1979年より実施してきた。本報告では、1995年を中心に1994年までのサルモネラの分離状況および分離株の血清型、薬剤耐性について述べる。



調査定点及び方法

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、1983年からは土川(D)の1定点を追加し11定点とした。採水は、1979年6月から1981年5月までは毎月1回、その後は隔月に行った。

検査方法は既報[3]のとおりであるが、増菌培地はセレナイト及び変法セレナイトに代えて、ラパポート培地(栄研化学)を使用した。また、薬剤感受性については、米国臨床検査標準委員会(NCCLS)の規格に準拠しセンシディスク(BBL)を用いて行った。使用薬剤は、CP(クロラムフェニコール)、SM(ストレプトマイシン)、TC(テトラサイクリン)、KM(カナマイシン)、GM

(ゲンタマイシン)、CL(コリスチン)、CET(セファロチン)、NA(ナリジクス酸)、ABPC(アミノベンジルペニシリン)の9種類である。

ヒト由来サルモネラは、県内の公立病院および保健所で患者および保菌者から分離され、同定のため当所に送付された1319株について調べた。

結果および考察

月別のサルモネラ分離状況を表1に示した。本年は全定点からサルモネラが分離されたが、分離株数は、浄化目的のために土川から本格的に取水の始まった1986年から1994年までの9年間の平均、30株とほぼ同じ32株であった。これらは16の血清型に分けられ、S. Typhimurium 5株、S. M-

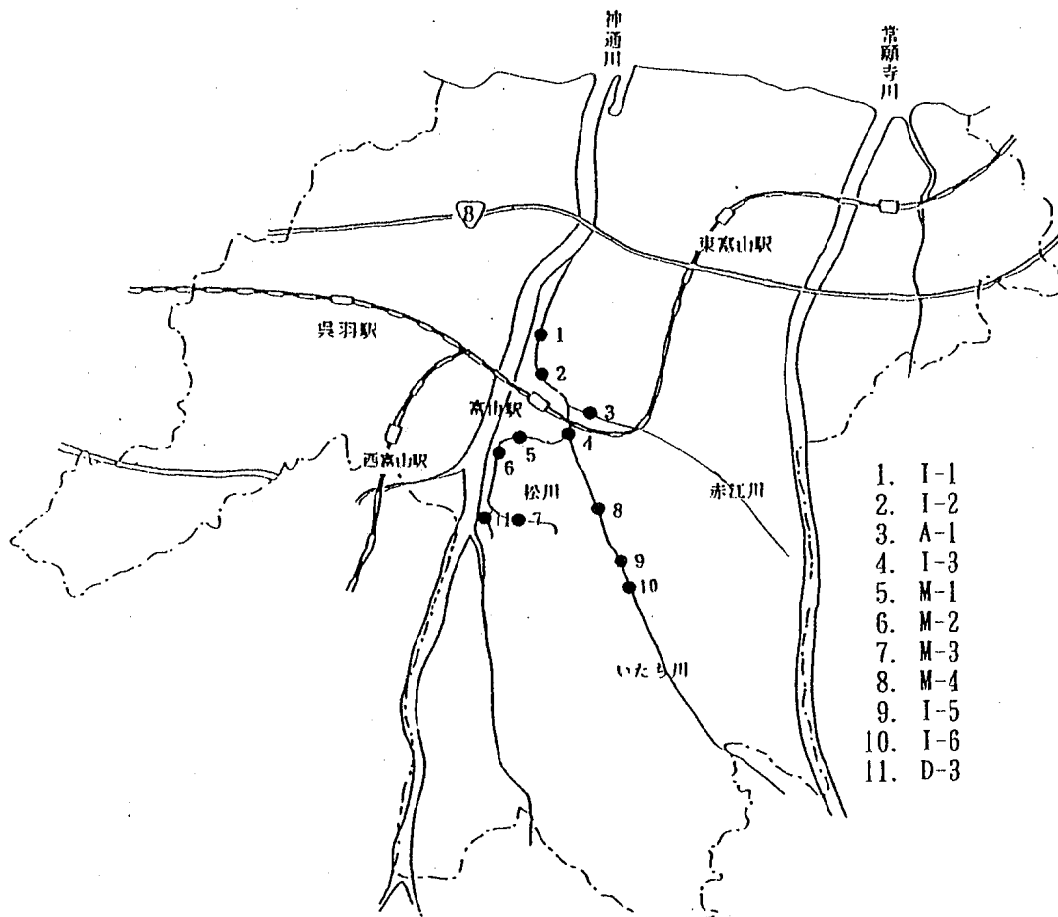


図1. 採水地点

表1. サルモネラ定点観測成績 (1995年)

	1月	3月	5月	7月	9月	11月	
I-1	Enteritidis	07:H不明			Enteritidis Litchfield		3(4)/6**
I-2	Enteritidis			41:1v:1,5	Typhimurium Paratyphi B		3(4)/6
I-3		Mbandaka		Tennessee	Champaign Singapore	Typhimurium	4(5)/6
I-4				Typhimurium	Champaign		2(2)/6
I-5		Emek		Typhimurium* 7:z10:z53		Schwarzen- grund	3(4)/6
I-6		Mbandaka	Typhimurium	Tennessee			3(3)/6
M-1	Muenster	Mbandaka					2(2)/6
M-2	Stourbridge	Mbandaka					2(2)/6
M-3		Mbandaka		41:1v:1,5			2(2)/6
A-1	Enteritidis	Emek					2(2)/6
D				Virchow	Paratyphi B		2(2)/6
	5/11	8/11	1/11	7/11	5/11	2/11	28(32)/66

\* 検出サルモネラの血清型、抗原構造  
\*\* サルモネラ陽性数(分離株数)/検査数

bandaka 5株, S. Enteritidis 4株の順に多かった。S. Stroubridge (M-2, 1月)とS. Champaign (I-3, 4, 9月)は河川から初めて分離された血清型であった。定点別にみると, I-3では4回, 5血清型と最も多く分離されたが, これ以外の定点では2~3回, 2~5の血清型の分離であった。I水系からはS. Typhimuriumの分離が多く, M水系からはS. Mbandakaの分離が多かった。月別にみると, 分離株数は3月に8定点から3血清型8株と最も多かったが, 1月にも5定点3血清型5株と冬期にも少なくなかった。また, 1月にはS. Enteritidis, 3月にはS. Mbandaka, 5月から11月にはS. Typhimuriumが多く分離された。

表2, 3は, 過去17年間に河川あるいはヒトから分離された主な血清型のサルモネラの年次別分

布を示す。表2の河川についてみると, S. Paratyphi B 115株 (11.7%), S. Typhimurium 68株 (6.9%), S. Infantis 56株 (5.7%)の順に多く分離され, S. Typhiは1989年に3株分離されてから1995年までの6年間全く分離されなかった。年間分離株数は, 1982年頃から減少しはじめ, 1986~1987年と1991~1993年には12~27株と少なかった。最も少なかったのは1993年の12株であるが, これは最も多く分離された1980年の156株のわずか7.7%にしかない。このことは, 既報[4]にもあるとおり, 松川への取水が始まった時期と一致しているため, 原因として取水による流水量の増加が関係していると考えられる。しかし, この取水に影響されないいたち川においても同様の傾向がみられるので, 富山市の下水道普及率や家畜・鶏の飼育数の減少なども関係している

表2. 河川からのサルモネラの年次別分離状況

血清型	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	計
Paratyphi B	5	20	8	15	20	16	19	3	1		3				3		2	115
Typhimurium	13	11	9	1	4	8	2		6		2	2	2		2	1	5	68
Infantis	4	20	14		1	1	6	3	2	1	2	1	1					56
Enteritidis	2	3	9	6	3	2					4	3			2	1	4	39
Typhi		1	10	5	1	1	2	4	5		3							32
Agona	1	2	1	8	2	3	5			5		2		2			1	32
Litchfield	1	5	11	1	1	3	2	4	2									31
Tennessee		3	1				1			1	3	5	2	4		9	2	31
Thompson	4	1	7	2	1		2		1	1		2		3		5		29
Braenderup	1	11	1		2		4										2	21
その他	97	79	37	27	40	23	37	25	9	19	28	23	16	12	5	30	18	525
分離菌株数	128	156	108	65	75	57	80	39	26	27	45	38	21	21	12	49	32	979
血清型数	38	37	22	16	19	14	20	11	10	14	18	14	7	9	6	18	16	

表3. ヒトからのサルモネラの年次別分離状況

血清型	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	計
Enteritidis	1	4	39	1	4	1	1	3	1	7	26	4	16	20	40	134	20	323
Typhimurium	1	21	12	4	6	8	12	6	9	5	10	7	2	13	7	18	10	167
Paratyphi B	11	11	7	12	15	11	14	5	5	22	6	2	5	12	1	2	2	127
Typhi	12	7	16	9	5	9	2	3	3	1	3	5	5		3			83
Litchfield	1	5	5	3	4	9	13	6	5	5	2	3	2	2	4	3	1	73
Montevideo					30	18	3			1	2	2	2	1	3	5	2	69
Infantis	3	12	3	1	1	7	7	2	3			7	2	2		4	6	60
Braenderup		4	1		4	1	5	3	3			1	3	11	2	4	1	43
Havana									35						1			36
Hadar								2	1	4	7	4	2	1			1	21
その他	10	17	17	28	16	20	13	19	15	15	16	20	24	16	11	40	19	317
分離菌株数	46	81	111	46	89	77	76	45	80	61	76	59	55	74	71	210	62	1319
血清型数	20	20	18	16	14	15	20	21	20	18	24	25	16	16	17	18	30	

ものと思われる。また、この傾向は検査法に原因するとは思われない。一方、ヒトから分離されるサルモネラ(表3)についてみると、S. Enteritidisが323株(24.4%)と圧倒的に多く、以下S. Typhimurium 167株(12.7%)、S. Paratyphi B 127株(9.6%)と続く。これら3血清型は毎年分離されているが、特に分離数の多い1980年のS. Typhimurium 21株、1988年のS. Paratyphi B 22株、1994年のS. Enteritidis 134株はいずれも集団発生を反映している。なお、S. Typhiは1991年までは毎年分離されていたが、1994~1995年は1株も分離されなかった。

この17年間に分離されたサルモネラの薬剤感受性を調べた。その内のおもな10血清型の薬剤耐性を表4に示した。結果を由来別に比較すると、河川由来菌の中で9種類の薬剤のいずれかに耐性

表4. 分離されたサルモネラにおける薬剤耐性株頻度

血清型	由来	
	ヒト (%)	河川 (%)
Paratyphi B	23/127*(18.1)	8/115 (7.0)
Typhimurium	70/167 (41.9)	21/68 (30.9)
Enteritidis	195/323 (60.4)	3/39 (7.7)
Infantis	4/60 (6.7)	8/56 (14.3)
Litchfield	34/73 (46.6)	8/31 (25.8)
Typhi	6/83 (7.2)	1/32 (3.1)
Tennessee	1/12 (8.3)	3/31 (9.7)
Agona	1/13 (7.7)	3/32 (9.4)
Thompson	2/18 (11.1)	0/29 (0)
Braenderup	5/43 (11.6)	0/21 (0)
合計	341/919 (37.1)	55/454 (12.1)

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

を示したのは454株中55株(12.1%)であるのに対し、ヒト由来菌では919株中341株(37.1%)と多かった。ただし、S. Infantisについては河川由来菌の方が耐性を示す株が多く、その割合は河川で56株中8株(14.3%)、ヒトでは60株中4株(6.7%)であった。この耐性率の相違については、原因は明らかではない。表5には、それら耐性株の耐性パターンを示した。これら10血清型のサルモネラにおける最も多い耐性パターンは、SM単独耐性で全体の49.4%を占め、以下TC単独耐性8.6%、TC、SM2剤耐性7.1%であった。これは、S. EnteritidisにSM単独耐性株(89.8%)が多

かったことに原因していると考えられる。表示しなかったが、ヒト由来のS. Enteritidisに注目すると、1989年からSM耐性菌が出現しはじめ、全国的に本菌食中毒の最も多かった1993~1994年には8割以上がSM単独耐性であった。一方、S. Typhimuriumでは24の耐性パターンが認められた。この血清型では3~7剤の多剤耐性株が多く、なかでもSM、TC、CP、KM、ABPCの5剤耐性が多かった。

既に述べたように、近年、富山市内の河川からのサルモネラ分離率は非常に低下した。これは浄化を目的としたより清浄な水の導入や、富山市内

表5. 主な血清型のサルモネラの薬剤耐性パターン

血清型	耐性パターン	河川	ヒト	合計	血清型	耐性パターン	河川	ヒト	合計
Paratyphi B	SM	1	1	2	Infantis	SM		1	1
	SM, TC	1	3	4		SM, TC		1	1
	SM, TC, CP		2	2		SM, TC, KM		1	1
	SM, TC, NA		1	1		SM, TC, ABPC		1	1
	SM, TC, CP, KM, CET	1		1		SM, TC, CP, ABPC	1		1
	TC	3	10	13		SM, TC, CP, KM, ABPC	2		2
	TC, CP		3	3		SM, TC, CP, KM, CL	1		1
	TC, CP, KM	1		1		TC	1		1
	KM	1		1		TC, ABPC	1		1
	ABPC		1	1		ABPC	1		1
	NA		1	1		TC, CP, KM, ABPC	1		1
	ND		1	1		計	11	8	4
計	12	8	23	31	Litchfield	SM		1	1
Typhimurium	SM	1	1	2		SM, TC	1	1	2
	SM, TC	1	3	4		SM, TC, CP		2	2
	SM, TC, KM		4	4		SM, TC, ABPC		2	2
	SM, TC, CP		3	3		SM, TC, CP, NA		1	1
	SM, TC, CP, KM	2	1	3		SM, TC, KM, ABPC		1	1
	SM, TC, CP, ABPC		5	5		SM, ABPC	1	1	2
	SM, TC, CP, KM, ABPC	1	20	21		TC	1	10	11
	SM, TC, CP, KM, CL	3		3		TC, ABPC	1	1	2
	SM, TC, CP, KM, ABPC, CL		1	1		TC, CP	3	13	16
	SM, TC, ABPC	7	2	9		CP	1		1
	SM, TC, KM, ABPC		2	2		ABPC		1	1
	SM, TC, KM, ABPC, GM		5	5		計	13	8	34
	SM, TC, KM, ABPC, NA		1	1	Typhi	SM		3	3
	SM, KM, CF		1	1		SM, TC, ABPC		2	2
	SM, CP, KM, ABPC		1	1		KM, ABPC	1		1
	SM, TC, CP, KM, ABPC, CL, ND		1	1		ABPC		1	1
	TC	1	6	7	計	4	1	6	7
TC, CP	1	3	4	Tennessee	SM	3	1	4	
TC, KM		1	1		計	1	3	1	4
TC, CP, ABPC		2	2	Agona	SM, TC, KM	1		1	
TC, CP, KM, ABPC	4	4	8		TC	1		1	
KM		1	1		KM, ABPC	1		1	
ABPC		2	2		TC, CP		1	1	
計	24	21	70	91	計	3	3	1	4
Enteritidis	SM	1	177	178	Thompson	SM		1	1
	SM, ABPC		1	1		TC, ABPC		1	1
	SM, TC	1	15	16	計	2	0	2	2
	SM, TC, CP	1		1	Braenderup	SM		1	1
	SM, CP, ABPC, CF		1	1		SM, TC, KM, AM		1	1
TC		1	1	SM, KM			1	1	
計	6	3	195	198		CM		1	1
				KM			1	1	
				計	5	0	5	5	

の下水道普及などの環境整備，家畜の飼育数の減少などによるものと考えられる。その一方で，ヒトから分離された病原菌では，相変わらずサルモネラが多く，ヒトからのサルモネラ分離率に減少傾向は認められない。このサルモネラ感染症を予防するために今後も環境や食品中のサルモネラの動向を把握したい。

## 文 献

1. 国立予防衛生研究所編，病原微生物検出情報 (1995). 1, 1 - 4.
2. 厚生省保健医療局食品保健課，食品衛生研究 (1995). 45, 77-114.
3. 山崎茂一，園家俊雄，畑 祥子 (1981). 富山県衛研年報, 4, 221-226.
4. 磯部順子，安井伊津子，児玉博英，山崎茂一 (1991). 富山県衛研年報, 14, 142-149.

## *Salmonella* Enteritidis の疫学への パルスフィールド電気泳動の利用

刑部陽宅 細呂木志保 磯部順子  
田中大祐 平田清久<sup>1</sup>

Use of Pulsed-field Gel Electrophoresis  
for Epidemiology of *Salmonella* Enteritidis  
Food Poisoning

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE,  
Daisuke TANAKA and Kiyohisa HIRATA

**要旨** *Salmonella* Enteritidis (S. E) 食中毒の疫学的解析へのパルスフィールド電気泳動 (PFGE) の利用について検討し、以下の成績を得た。

1. S. E 染色体を *Ssp* I, *Sma* I, *Spe* I, *Sal* I, *Bgl* I, *Mlu* I, *Nhe* I, *Sfi* I, *Xba* I, *Not* I, *Bln* I あるいは *Xho* I で切断後、PFGE を Bio-Rad 社の CHEF-DR II を用い、電圧: 150V, パルスタイム: 4 から 50 秒, 温度: 14°C, 泳動時間: 24 時間の条件で実施すると、食中毒事例毎の菌株の PFGE パターンの差は *Bln* I 処理の場合に認められ、その他の制限酵素処理の場合に全く或いはあまり認められなかった。また、S. E の *Bln* I 処理後の PFGE パターンは菌株保存中に一部変化することが認められた。

2. S. E 食中毒多発前 (1988 年以前) と多発後 (1989 年以降) の菌株の *Bln* I 処理後の PFGE パターンを比較すると、両者のパターンは大きな DNA 断片の生じ方で著しく異なり、更に、多発後の菌株は多発前の菌株に比し、多くのパターンに分けられた。

3. 富山県内で発生した S. E 食中毒 6 事例について PFGE パターンを調べた結果、2 事例では、相互に因果関係があることが明らかになった。

以上の結果、*Bln* I を使用した PFGE は S. E 食中毒の疫学解析に有効であると考えられる。

我が国におけるサルモネラ食中毒は 1989 年より増加し、1992 年には、件数、患者数ともに食中毒原因の第 1 位となっている。このような現象は全国的に卵を原因とする *S. Enteritidis* 食中毒が多発したために起こっているといわれている [1]。富山県でも、*S. Enteritidis* 食中毒は 1978~1988

年までの 10 年間は、発生数、わずかに 2 件であるが、1994 年のわずか 1 年間に 6 件も発生している。このため原因究明のための疫学調査が全国的に多くなっている。

本菌の疫学的調査手段としては、分離菌についてのファージ型別、プラスミドプロファイル、薬

剤感受性等がある。しかし、近年、多くの細菌感染症にパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) を用いた染色体 DNA 制限酵素切断パターンが利用されるようになり、著者らも先に、*S. Paratyphi B* 等の血清型のサルモネラについて、その術式を検討し報告した〔2〕。

今回は *S. Enteritidis* を対象としたとき、どのような実験条件で PFGE を実施すればよいかについて、また、検討した PFGE によって *S. Enteritidis* 食中毒の疫学解析がどの程度まで行うことができるかについて検討した。

## 材 料 と 方 法

### 1. 菌株

*S. Enteritidis* 散発事例由来菌は富山県内の病院で1964～1994年の間に分離された40Mdプラスミドを保有する60株を用いた。一方、食中毒由来菌は1992年から1995年までの間に主に富山県内で発生した6事例由来の24株を用いた。

### 2. PFGE

前報〔2〕によったが、電気泳動条件は、電圧：150V、パルスタイム：4から50秒、泳動時間：24時間とした。また、泳動像の比較は50Kb以上のDNA断片について行った。

### 3. プラスミドプロファイル

前報〔3〕によって調べた。

## 結 果

### 1. 制限酵素の検討

食中毒6事例、それぞれより代表1株を選び、染色体DNAを各種の制限酵素で処理後、PFGEを実施した。結果はFig. 1～3に示した。*Sma* I, *Spe* I, *Sal* I, *Bgl* I, *Mlu* I, *Nhe* I, *Sfi* I, *Xba* I, *Not* I および *Xho* I 処理の場合には、菌株による差はほとんどなかった。しかし、*Bln* I 処理の場合には、菌株毎に泳動パターンが異なった。この結果から、以後の実験では *Bln* I を使用した。

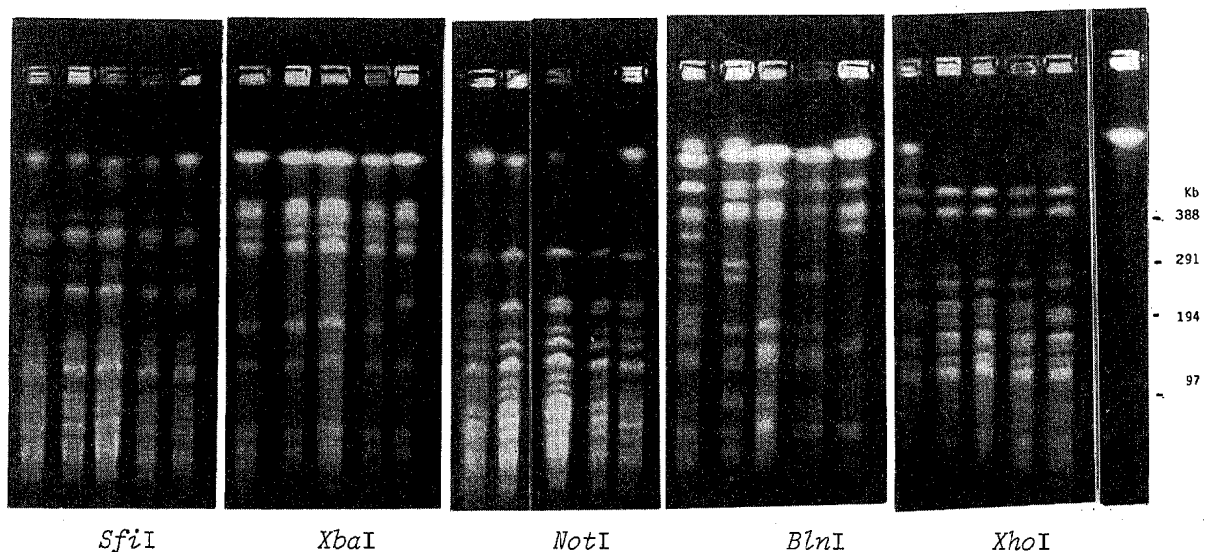


Fig.1. Pulsed-field Gel Electrophoresis of Restriction-enzyme-cleaved Genomic DNAs of *S. Enteritidis* from Food Poisoning Cases

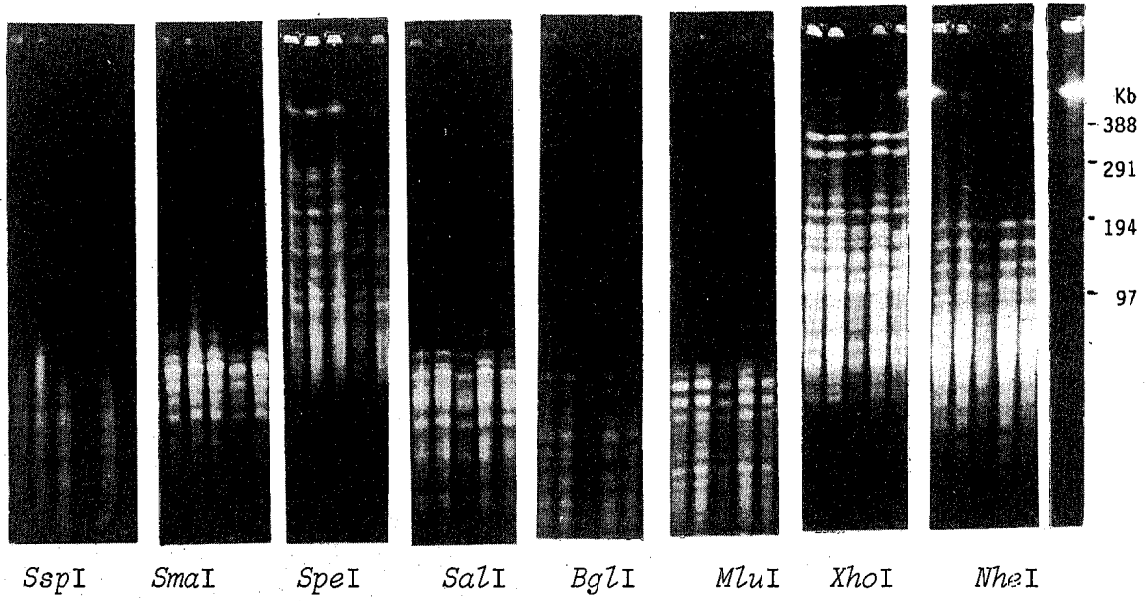


Fig.2. Pulsed-field Gel Electrophoresis of Restriction-enzyme-cleaved Genomic DNAs of *S. Enteritidis* from Food Poisoning Cases

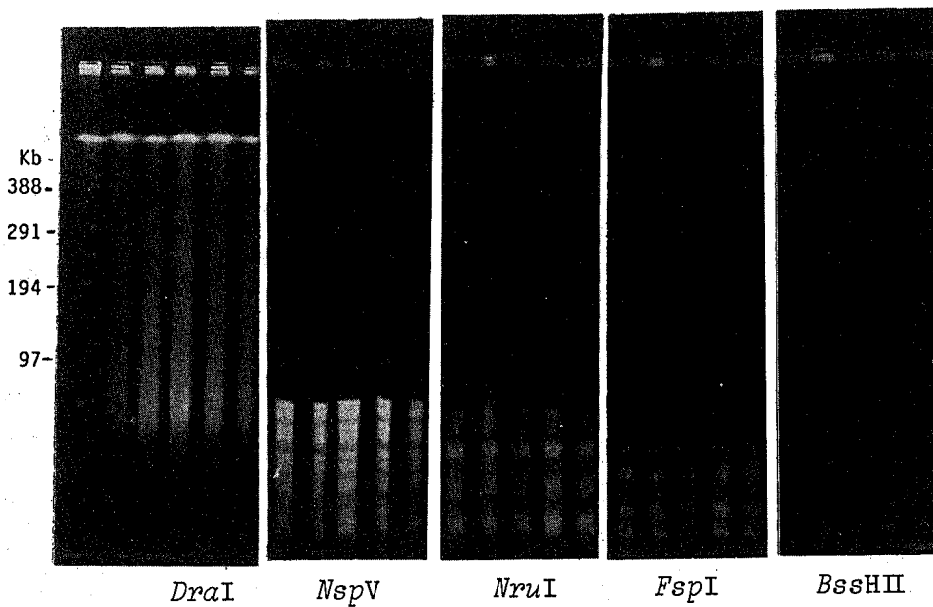


Fig.3. Pulsed-field Gel Electrophoresis of Restriction-enzyme-cleaved Genomic DNAs of *S. Enteritidis* from Food Poisoning Cases



2. 食中毒由来株の PFGE パターン

食中毒例における菌株の均一性を見るために、1 食中毒事例当り 4～5 株を選び PFGE を実施した。菌はクックドミート培地に室温で 1～4 年間保存されていたものを使用した。結果は Fig. 4 に示した。事例 1 では 4 株中 4 株、事例 2 では 5 株中 3 株、事例 3 では 5 株中 4 株、事例 4 では 5 株中 3 株、事例 6 では 5 株中 5 株で同じ泳動パターンであった。なお、同一食中毒事例内の菌株間にみられるパターンの差は、異なった食中毒事例の菌株間にみられるパターンの差程大きくなかった。

3. 保存による PFGE パターンの変化

食中毒事例の 4 および 5 分離菌はクックドミート培地で 20ヶ月保存すると、Fig. 4 に示すように、そのパターンは必ずしも均一ではない。しかし、著者らが菌分離 3ヶ月後に調べた成績をみると、14株中11株までが同じ PFGE パターンとなっている。そこで、保存中の変化をより明確にするため、クックドミート培地に 19～21ヶ月間保存された事例 3 由来の 1 株 (T. S 251-94) をマッコスキー平板上に再分離し、14 株のコロニーを釣菌し、その PFGE パターンを調べた。結果は Fig. 5 -

1 と 5 - 2 に示した。通常の泳動では出現する DNA 断片のサイズの差により 3 種のパターンが

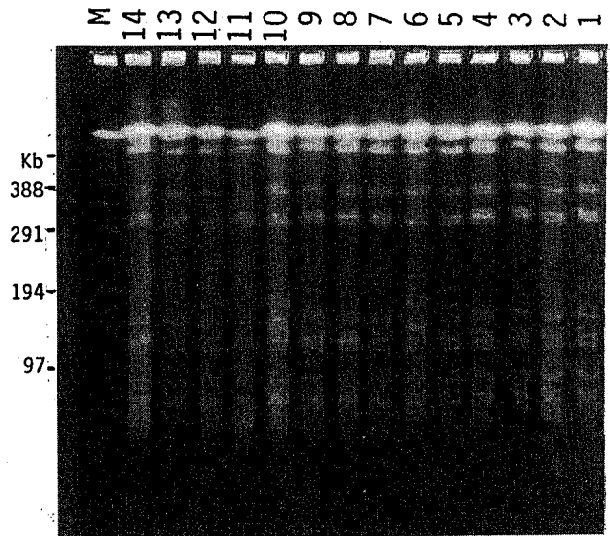


Fig.5-1. Pulsed-field Gel Electrophoresis of *S. Enteritidis* Strain 251-94 Stored for 22 Months.

Lane 1 through 14 represent colony number.

M: Size marker (Lambda ladder).

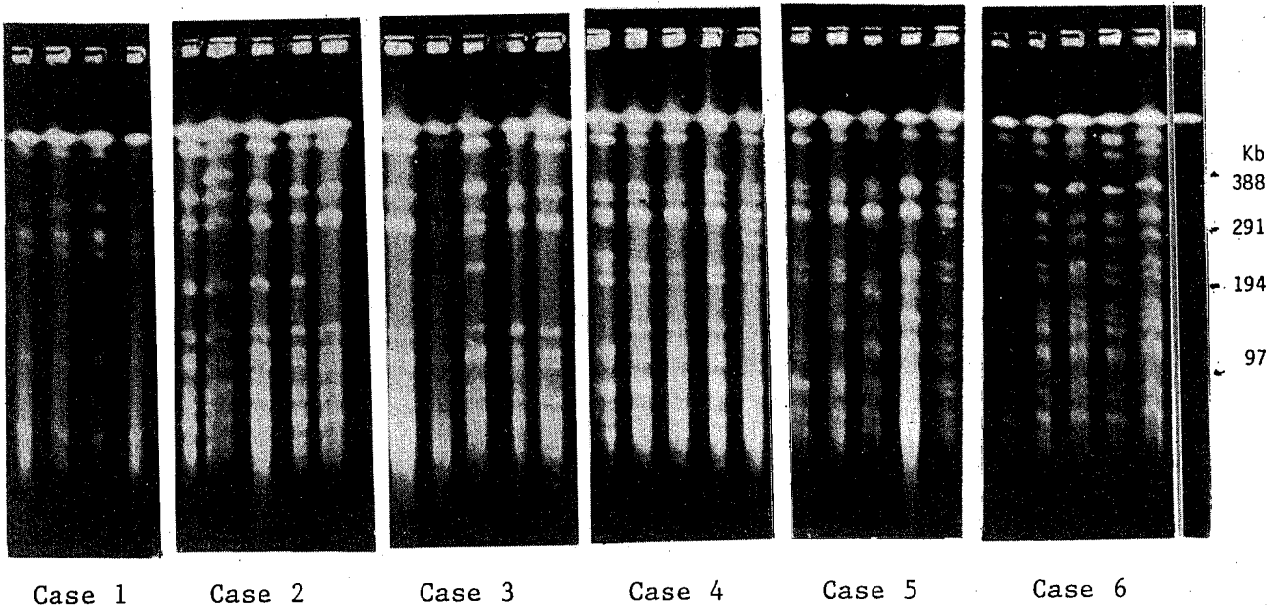


Fig.4. Pulsed-field Gel Electrophoresis of *Bln* I-cleaved Genomic DNAs of *S. Enteritidis* from Food Poisoning Cases

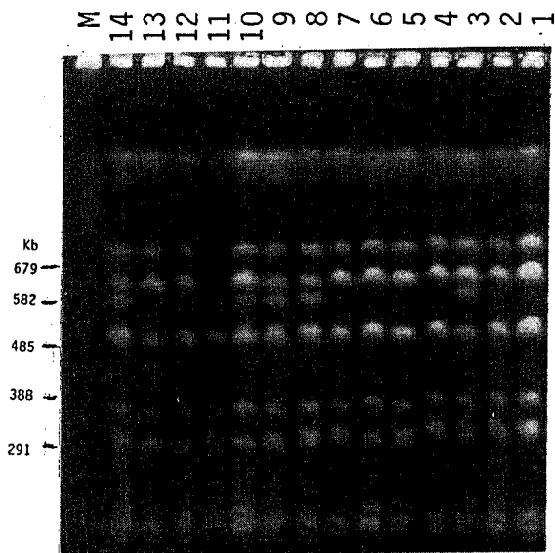


Fig.5-2. Pulsed-field Gel Electrophoresis of *S. Enteritidis* Strain 251-94 Stored for 22 Months.

Lane 1 through 14 represent colony number.  
M: Size marker (Lambda ladder).

認められ、14コロニー中10コロニーのみが同じパターンを示した。より大きなDNA断片でも差が生ずるかどうかを見るために、泳動条件を電圧200V、パルスタイム20から80秒に変更したところ、Fig. 5-2にみられるごとく、大きなDNA断片

のサイズの差により3種のパターンが認められ、同じパターンは14コロニー中8コロニーであった。

4. 食中毒事例分離株のファージ型、プラスミドプロファイルおよび薬剤感受性

Table 1にみられるように、事例1, 2, 3, 6由来株はすべて40Mdのプラスミドのみを保有し、事例4, 5由来菌はすべて2.2, 2.6, 4.7および40Mdのプラスミドを保有していた。また、ストレプトマイシン感受性では感受性株と耐性株が認められ、ファージ型では、1, 4, 5型が認められたが、いずれも、同一食中毒事例分離株は同じファージ型、薬剤感受性であった。

5. 散発例由来株のPFGEパターン

著者らは前報〔3〕で、散発例由来 *S. Enteritidis* の多くは40Mdのプラスミドのみを保有していることを述べた。今回、このような菌60株について、PFGEパターンを調べると、Fig. 6に示す計27種のPFGEパターンが認められ、1988年以前分離株と以後分離株は、約400KbのDNA断片の有無で著しく異なった。それぞれのパターンに番号をつけ、仮にPFGE型とすると、Table 2に示すように、1988年以前分離株のほとんどは1型で、食中毒の多発が始まった1989年以降の菌株の型は極めて多様であった。なお、Fig. 6に示す菌株の中から、1988年以前分離菌3株、1989年以降分離菌7株を選び、*Spe I*, *Not I*, *Xba I*あるいは*Sfi I*処理後PFGEを実施したところ、

Table 1. Phage Type, Plasmid Profile, Streptomycin Sensitivity of *S. Enteritidis* from Food Poisoning Cases

Case No (Year)	Number of strains examined	Phage type			Plasmid profile		Streptomycin sensitivity	
		1	4	5	A (40Md *)	B (2.2, 2.6, 4.7, 40Md)	Sensitive	Resistant
1 (1992)	5		5		5		5***	
2 (1993)	5		N.E**		5			5
3 (1994)	5	5			5			5
4 (1994)	5	5				5		5
5 (1994)	5	5				5		5
6 (1995)	5			5	5		5	

\* Size of plasmid detected. \*\* Not examined. \*\*\* No. of strains.

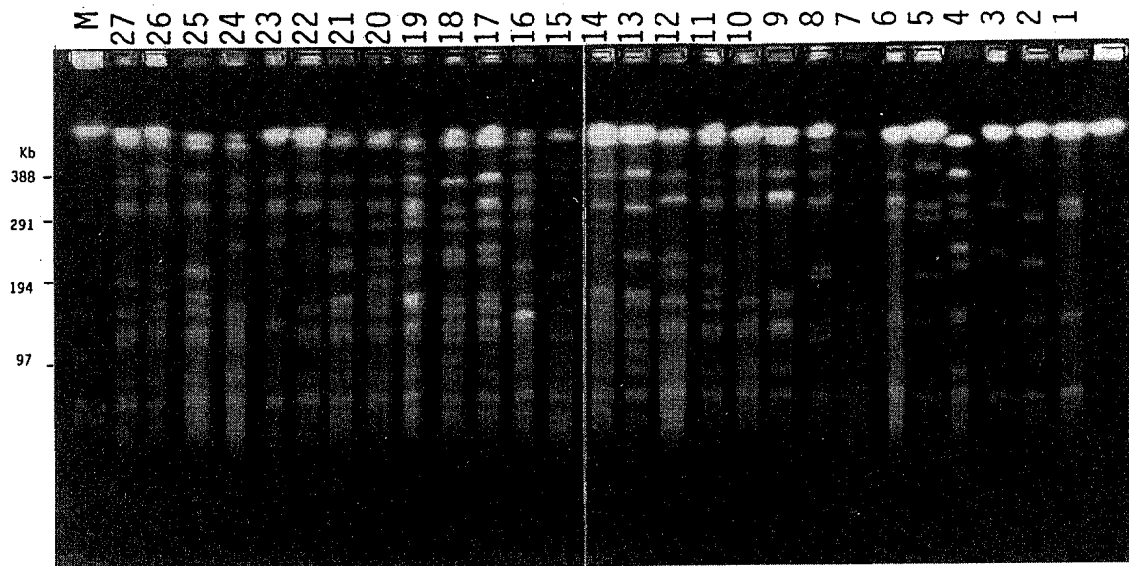


Fig.6. Pulsed-field Gel Electrophoresis of *Bln* I-cleaved Genomic DNAs of *S. Enteritidis* from Sporadic Cases. Lane 1 through 27 represent PFGE patterns. Lane M: Size marker (Lambda ladder).

Table 2. Distribution of PFGE Types of *S. Enteritidis* Isolated from Sporadic Cases

Provisional PFGE Types	1964	74	81	83	84	86	89	90	91	92	93	94	Total
1	1*	1	9	1	1	1							14
2			1										1
3							1						1
4							1						1
5									1				1
6									3	2	1	2	8
7							2	1					3
8							1						1
9									1	2		1	4
10										1			1
11										1		1	2
12										1			1
13										1			1
14										1			1
15											1		1
16											4	1	5
17											1		1
18											1		1
19											1		1
20											2		2
21										1	1		2
22											1	1	2
23											1		1
24												1	1
25												1	1
26												1	1
27												1	1

\* No. of isolates

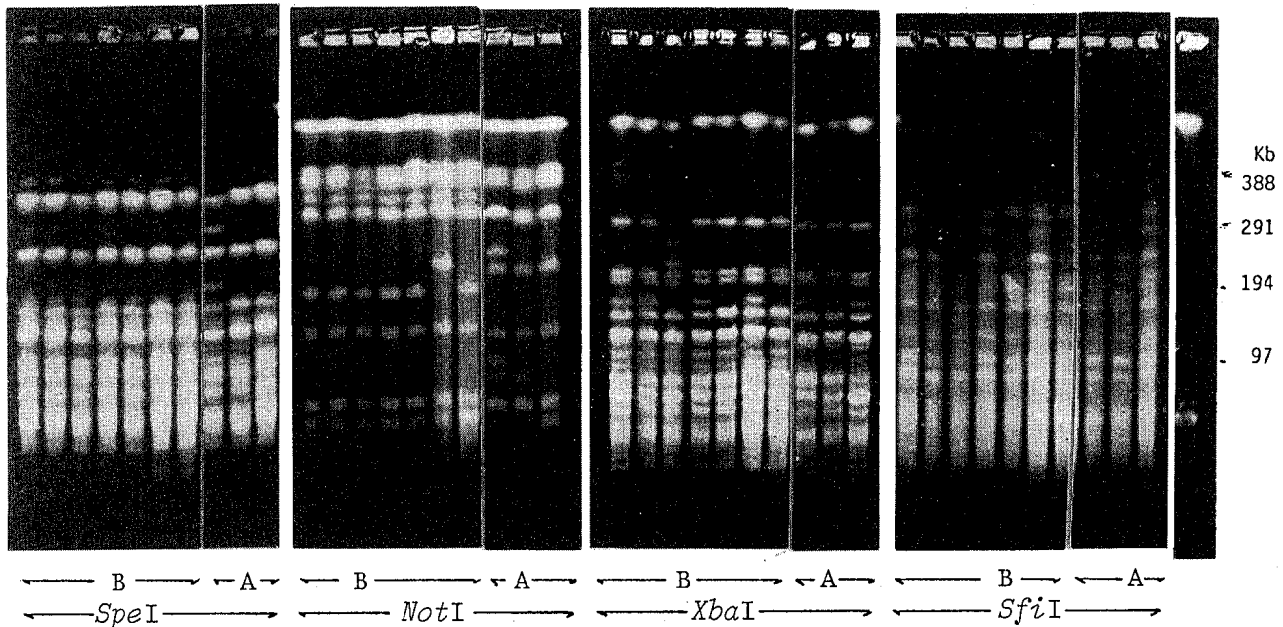


Fig.7. PFGE Pattern of *S. Enteritidis* Isolated from Sporadic Cases between 1964 and 1994.  
A: Isolates between 1964 and 1981. B: Isolates between 1989 and 1994.

Fig. 7 に示すように、1988 年以前分離株と 1989 年以後分離株のパターンの差は *Not I* と *Xba I* で認められ、他の 2 種の酵素処理で認められなかった。

### 考 察

著者らは、*S. paratyphi B*, *S. Infantis*, *S. Litchfield* 食中毒の疫学解析を PFGE を用いた染色体 DNA 制限酵素切断パターンで行う場合、使用制限酵素は *Spe I* が適しているとした。本実験では、この *Spe I* を含む 18 種の制限酵素による DNA 切断パターンで、近年の *S. E* 分離株をうまく型別することは出来なかった。しかし、*Bln I* を使用すると良く型別することが出来た。

既に、中村ら〔4〕は *S. Enteritidis* 食中毒の疫学解析のため、*Bln I* を使用し、PFGE を実施している。しかし、食中毒例分離株の一致性をこの *Bln I* 処理後の PFGE パターンでみると、Fig. 4 にみられるように、必ずしも 100% の一致率ではなかった。特に、食中毒事例 4, 5 分離菌、計

14 株の一致率は菌分離 3 ヶ月では 86% と高いが、20 ヶ月保存後は 50% 以下と高くなかった。この不一致は、*S. Enteritidis* 251-94 を 20 ヶ月保存し再検査したとき、14 コロニー中 6 コロニーまで、PFGE パターンが異なっていたという事実 (Fig. 5-1, 5-2) から、保存中に生じたものと考えられる。

*Bln I* 処理後実施する PFGE は *S. Enteritidis* の疫学調査に利用出来るが、保存中の菌のわずかな変異まで認知するので、その利用に当たっては新鮮分離株を使用するよう留意する必要がある。より安定した疫学に利用できる PFGE 型別法を得るためには、他の酵素の採用や、*Bln I* 処理後の泳動条件の変更 (本文で示した電圧 200V, パルスタイム 40 秒から 100 秒他) 等、なお手技に改良を加える余地があるように思われる。

散发例由来の PFGE パターン (Fig. 6, 7) を観察すると、*Not I* 使用の場合も、*Bln I* 使用の場合も、食中毒多発前の菌株と多発後の菌株は比較的サイズの大きい DNA 断片の生じ方で異なっている。この結果は、食中毒多発前と多発後で菌のクローンが大きく 2 つに分けられることを示す

が、PFGE パターン数の差から、多発後の菌株のクローンは、多発前のそれより、より多様であるように思われる。中村ら〔5〕は我が国で分離される菌株のファージ型別を行い、多発前は8型が多く、多発後は34, 4あるいは1型が多いと述べていることと矛盾しない。

食中毒事例5と6について、その発生記録をみると、事例5の患者は1994年7月31日、京都市内の自宅で弁当を作って、JRで北陸に向かい、途中でその弁当を同僚と共に食べ、某キャンプ場へ到着後、発病した。患者はキャンプ場で脱糞したが、その便は小川の水に混入し、下流へ流れた。

一方、事例6の患者は、事例5の患者が排出した便が混入した水を、数時間後に飲用に供した。事例5発生、約24~70時間後に、事例6の患者10名が発病し、その便および飲み水から *S. Enteritidis* が検出された。

本実験では、事例5分離株（患者および、弁当を作った家庭の冷蔵庫分離株）と事例6分離株（患者および飲み水分離株）は、分離3ヶ月後の

段階で、ほとんどが同じPFGEパターンであり、更に、そのプラスミドプロファイル、薬剤感受性も同じであることが証明された。このことから、事例6の患者は事例5の患者が排出した菌が原因で発病したと結論づけられる。

## 文 献

1. 小沼博隆, 品川邦汎, 熊谷 進 (1995). モダンメディア, 41, 230-235.
2. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 井山洋子 (1995). 富山衛研年報, 18, 139-142.
3. 細呂木志保, 磯部順子, 刑部陽宅 (1995). 富山衛研年報, 18, 221-223.
4. 中村明子, 寺島 淳, 田村和満 (1995). 感染症学雑誌, 69, 104.
5. 国立予防衛生研究所編 (1995). 病原微生物検出情報, 16, 1-2.

## パルスフィールド電気泳動による 大腸菌食中毒の疫学的解析

刑部陽宅 アナ・クラウディア・F・フェリスベルト<sup>1</sup>  
磯部順子 田中大祐 細呂木志保

Epidemiological Analysis of *Escherichia Coli*  
Food Poisoning by Pulsed-field Gel  
Electrophoresis

Yotaku GYOBU, ANA CLAUDIA FORTUNATO FELISBERTO<sup>1</sup>,  
Junko ISOBE, Daisuke TANAKA  
and Shiho HOSOROGI

**要旨** パルスフィールド電気泳動 (PFGE) によって病原性大腸菌を型別する実験条件について検討した後、富山県内で発生した本菌食中毒の疫学的解析を行った。結果は次のようであった。

1) PFGEはCHEF DR II (BioRad社) を用いて実施した。使用する制限酵素としては、*Sfi* I, *Xba* I, *Not* I が適当であったが、本実験では *Sfi* I を使用した。一方、泳動条件としては電圧: 150V, 緩衝液: 1/2 TBE, パルスタイム: 3から40秒, 温度: 14°C, 泳動時間: 24時間が適当であった。

2) 1980~1995年の間に富山県で集団食中毒例あるいは散发下痢症から分離された血清型 O18, O148の大腸菌について PFGE を実施すると、食中毒事例では、分離菌の PFGE 像は事例毎に均一であった。しかし、散发例では分離菌の PFGE 像は患者毎に異なっていた。

3) 血清型 O148による食中毒2事例では、ST陽性株と陰性株が認められた。この ST 陽性株と陰性株は PFGE 型で異なるだけでなく、プラスミドプロファイル、ストレプトマイシンあるいはミノサイクリン感受性でも異なる傾向であった。

以上の結果から PFGE は大腸菌食中毒の疫学的研究に利用できると考えられる。

1994年の我が国の食中毒統計をみると、大腸菌食中毒は発生件数、年間33件で、ブドウ球菌について、第4位となっている [1]。富山県においても、平成元年から平成7年までの7年間で5件発生し、平成5年には、富山県における食中毒統計が明確な昭和42年以来、最大規模の本菌食中毒

が発生している。一般的に、食中毒発生では、再発防止のため、発生原因の追求が行われるが、近年、この目的のため、サルモネラ等の細菌では、染色体 DNA 制限酵素切断パターンをパルスフィールド電気泳動で調べる方法が、導入されるようになった [2]。本研究は大腸菌の場合にも、同様

1. INSTITUTO ADOLFO LUTZ (ブラジル)

の手技が利用できるのではないかと考え、先ず、大腸菌食中毒の疫学へ本法を適用するための実験条件について検討し、次に検討した方法により過去に富山県内で発生した本菌食中毒の疫学的解析をおこなった。

## 実験材料

### 1. 菌株

散発例由来菌は富山県内の病院および当研究所で、1980～1995年の間に、散発下痢症あるいは海外旅行者下痢症から分離された血清型O6, 10株, O18, 21株, O148, 9株, 計40株を用いた。一方、食中毒由来菌は1983年に富山市内の飲食店で井戸水を原因として発生したO6による事例〔事例1〕分離菌4株, 1992年同市で飲食店を原因施設として発生したO18による事例〔事例2〕分離菌4株, 1993年、新湊市他で集団給食を原因として発生したO148による事例〔事例3〕分離菌15株, 1994年、高岡市で井戸水を原因として発生したO148による事例〔事例4〕分離菌11株, 計34株を使用した。これらはいずれも当研究所でNutrient Brothを基礎とした半流動培地に保存されていた。なお、事例3の発生概要は前報〔4〕で述べた。

### 2. PFGE

原則として、前報〔2〕の手技によって実施したが、泳動条件は電圧：150V, パルスタイム：4から50秒, 泳動時間：24時間とした。

### 3. プラスミドプロファイル

前報〔3〕で述べた方法で調べた。

### 4. 薬剤感受性

BBL社製のセンシディスクと感受性測定培地を用いて調べた。薬剤は、ミノサイクリン (Mi), ストレプトマイシン (S), クロラムフェニコール (C), ナリジクス酸 (NA), ゲンタマイシン (GM), アミノベンジルペニシリン (AM), カナマイシン (K), コリスチン (CL), テトラサイクリン (Te) の9剤を用いた。判定は説明書に従ったが、結果の集計では、中等度感受性の菌

は感受性として処理した。

## 結 果

### 1. 制限酵素の検討

海外旅行者下痢症から分離されたO6の菌を任意に2株選び、染色体DNAを9種の制限酵素で処理し、PFGEを実施した。結果はFig. 1に示した。供試2株の泳動パターンはいずれの酵素を使用した場合にも異なったが、その差は*Sal*I, *Spe*I, *Nhe*I, *Sma*I, *Xho*Iあるいは*Bln*Iを使用した場合より、*Not*I, *Xba*Iあるいは*Sfi*Iを使用した時に判定が容易で、*Not*I, *Xba*I, *Sfi*Iを比較すると、*Sfi*Iで菌株間の差はより大きい傾向であった。このことより、以後の実験では*Sfi*Iを使用した。

### 2. 食中毒由来菌のPFGE

PFGEが大腸菌食中毒の疫学に利用できるかどうかを確かめるために、食中毒3事例について1事例当たり4株を任意に選び、PFGEを実施した。その結果、事例3では、すべての株の泳動パターンが完全に一致し、事例2でも、供試株のパターンが極めてよく似ていた。しかし、事例1では、供試4株のパターンは少しずつ異なっていた (Fig. 2)。これらの菌株については、*Xba*Iあるいは*Not*I処理後、PFGEを実施したが、Fig. 3に示すようにいずれの制限酵素を使用した場合にも、供試4株の泳動パターンは一致しなかった。

### 3. 血清型O148のPFGE型分布

散発例由来9株, 食中毒由来26株, 計35株はPFGEでFig. 4に示す15の泳動パターンのいずれかに分けられた。それぞれのパターンに番号を付して、大腸菌O148における仮のPFGE型とした。Table 1は供試菌のPFGE型を示す。散発例由来菌では、9株すべて、型が異なっていた。一方、食中毒由来菌では、事例3の場合、供試15株はST産生と非産生に分けられるが、ST産生性の大部分 (9/10) は10型で、非産生性の大部分は12型であった。また、事例4の場合、供試11株の内ST産生性の8株は15型で、非産生性の3株は14

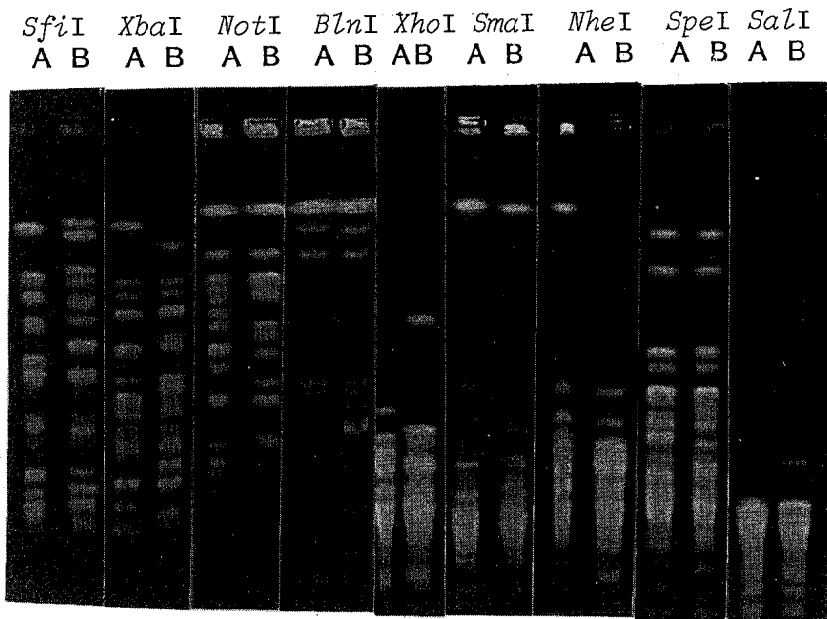


Fig.1. Pulsed-field Gel Electrophoresis of Restriction-enzyme-cleaved Genomic DNA of *E. coli* O6.  
A and B represent strain No.

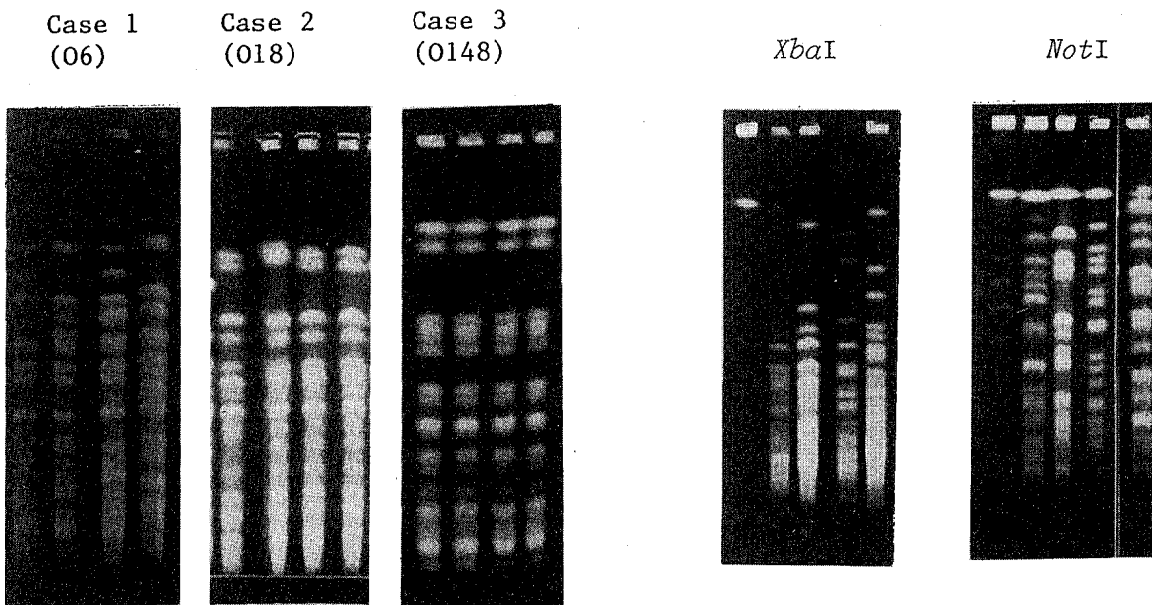


Fig.2. Pulsed-field Gel Electrophoresis of Restriction-enzyme-cleaved Genomic DNA of *E. coli* Isolated from Food Poisoning Case

Fig.3. Pulsed-field Gel Electrophoresis of *Xba* I or *Not* I -cleaved Genomic DNA of *E. coli* Isolated from Food Poisoning Case 1.



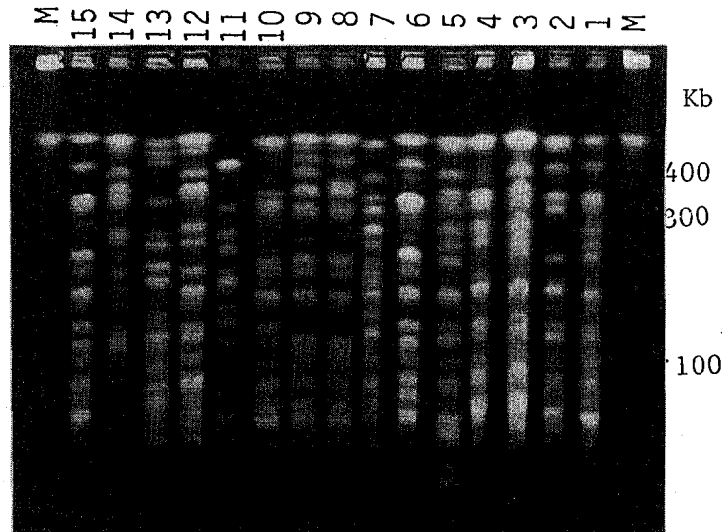


Fig.4. PFGE Patterns of Chromosomal DNAs of *E. coli* O148 after Treatment with *Sfi* I. No.1~15 represent provisional PFGE types.

Table 1. Distribution of PFGE Types of *E. coli* O148 from Overseas Travellers and Food Poisoning Cases

Source of strains	ST production	No. of isolates examined	Provisional PFGE Type														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5
Overseas travellers	+	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	*			
Case 3 Patients	+	10										9	1				
Food poisoning	-	3										3					
Workers (Cooks)	-	2										1		1			
Case 4 Patients	+	5													5		
	-	3													3		
Well water	+	3													3		

\* No. of isolates.

型であった。

4. 食中毒由来, 血清型O148のプラスミドプロファイルと薬剤感受性

食中毒事例3, 4分離菌では, ST 産生と非産生株でPFGE型が異なっていた。そこで他の形質でも異なるかどうかを調べた。任意に選んだ事例3由来13株, 事例4由来8株のプラスミドプロ

ファイルを図5に示した。事例3, 4とも, 図中太い矢印で示したDNA断片はST非産生株に認められ, 産生株に認められなかった。また, 細い矢印で示した全体を通じ3番目にサイズの大きいDNAバンドはST産生株に認められ, 非産生株に認められなかった。なお事例4由来のST産生株のプラスミドプロファイルはかなり均

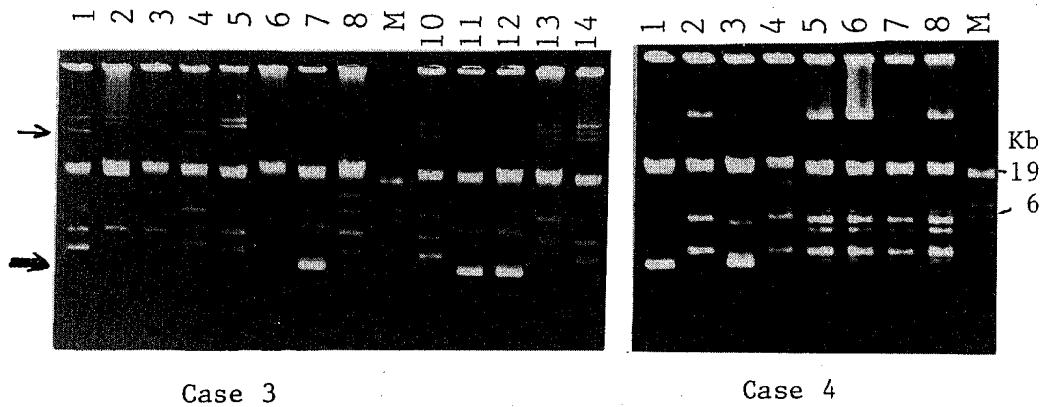


Fig.5. Plasmid Profiles of *E. coli* Isolated from Food Poisoning Cases. No.1-13 and M represent strain No. and molecular marker ( $\lambda$  Sty I), respectively.

Table 2. Antibiotic Susceptibility of *E. coli* O148 Isolates from Food Poisoning Cases

Food poisoning case	Source of strain	ST production	No. of isolates examined	No. of resistant isolates			
				Mi*	S	NA,GM,AM,K, C and CL	Te
3	Patients	+	10	0	10	0	10
		-	3	3	0	0	3
	Workers (Cooks)	-	2	1	0	0	1
4	Patients	+	5	0	4	0	5
		-	3	2	0	0	2
	Well water	+	3	0	3	0	3

\* See the text.

一であったが、事例 3 由来 ST 産生株のそれは必ずしも均一でなかった。

Table 2 は薬剤感受性を示す。事例 3 と 4 をまとめると、ストレプトマイシンに対し、ST 産生株の大部分 (17/18 株) は耐性、非産生株のすべて (8/8 株) は感受性であり、ミノサイクリンに対し、ST 非産生株の大部分 (6/8 株) は耐性、産生株のすべて (18/18 株) が感受性であった。

#### 5. 散発例由来血清型 O18 の PFGE

散発下痢症患者 20 名から分離された 21 株について PFGE を実施すると、Fig. 6 に示す 19 のパターンが認められた。中に含まれていた同一人からの 2 株は同一パターンであった。

#### 6. 散発例由来血清型 O6 の PFGE

主に海外旅行者下痢症由来の 10 株について PFGE を実施した。結果は示さなかったが、泳動パターンはすべての菌株で異なっていた。

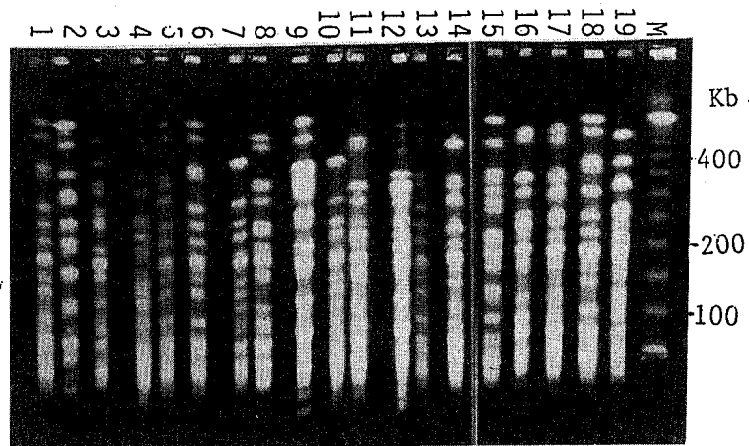


Fig.6. PFGE Patterns of Chromosomal DNAs of *E. coli* O18 after Treatment with *Sfi* I. No.1~19 represent provisional PFGE types.

## 考 察

PFGEを用いた染色体DNA制限酵素切断パターンの分析は多くの細菌による疾病の疫学的追及手段として有効であるとされている。我々もこれまで、コレラ、溶血レンサ球菌感染症、サルモネラ食中毒など多くの細菌感染症の疫学追及に本法を利用してきた[2, 5, 6]。その過程で、本法を疫学調査に利用するには、集団発生由来菌では同一パターンが認められ、散发例で様々なパターンが認められることが理想であり、そのためには制限酵素と泳動条件の選択が重要であることを経験した。今回の実験からPFGEを大腸菌下痢症の疫学へ利用するときの条件についてみると、制限酵素は泳動像の判別のし易さからみて、*Not* I, *Xba* I, *Sfi* Iの内のいずれかがよく、その内*Sfi* Iは菌株差が大きく現れるので最も良いように思われる。

*Sfi* Iを用いていくつかの血清型の菌についてPFGEを実施すると、血清型O18あるいはO148の場合には、食中毒由来でパターンの均一性が認められ、散发例由来で、パターンは極めて多様であった。このことはO18, O148による食中毒では、*Sfi* Iを用いたPFGEが疫学的追及手段として、極めて有効であることを示すものであろう。一方、血清型O6の場合には、食中毒事例由来株

のパターンが均一でないという結果が得られたが、この事例由来菌の保存期間は12年と長いので、PFGEパターンは保存中に变化した可能性が考えられる。その理由として、当初同じPFGE型のコレラ菌24株を室温で22ヶ月保存したとき、2株にパターンの変化が認められたという著者らの経験が挙げられる。今後、新鮮分離株を得て再検討する必要がある。

食中毒事例3が発生したとき、調理者57名中12名の便から大腸菌O148:H18を検出したが、調理者が汚染源になったかどうか明らかでなかった。保存されていた調理者分離菌はわずか2株であったが、この2株はST非産生性で、PFGE型、薬剤感受性で、患者由来ST産生株と異なることが判明した。この2株を排菌した調理者が本食中毒の原因になったとは思われない。食中毒事例3, 4いずれでもST産生株と非産生株はプラスミドプロファイルで異なっていた。両者は、またミノサイクリンとストレプトマイシン感受性でも大きく異なっていた。ST産生能はプラスミドにある遺伝子の支配を受けている事が知られているので、ST産生性とストレプトマイシンあるいはミノサイクリン感受性との間にプラスミドを介して何らかの関係があるのかもしれない。今後、この点についても検討する必要がある。

平成8年10月1日

## 文 献

1. 厚生省生活衛生局食品保健課 (1995). 食品衛生研究, 45, 78-104.
2. 刑部陽宅, 磯部順子, 田中大祐 (1994). 富山衛研年報, 17, 129-132.
3. 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.
4. 磯部順子, 刑部陽宅, 細呂木志保, 田中大祐, 井山洋子, 川越久美子, 西部健治, 西川不二夫, 溝口豊明 (1994). 富山衛研年報, 17, 215-218.
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 児玉博英, 島田俊雄 (1994). 富山衛研年報, 17, 125-128.
6. 田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英 (1996). 感染症学雑誌, 70, 283-286.

## *Vibrio cholerae* O1 CT陽性株と陰性株の数種の 性質の比較

刑部陽宅 細呂木志保 北村 敬

Comparison of Several Characteristics  
between CT-Positive and CT-Negative *Vibrio*  
*cholerae* O1

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI  
and Takashi KITAMURA

**要旨** コレラ患者から分離されるコレラ毒素 (CT) 産生性の *Vibrio cholerae* O1と自然環境から分離される CT非産生性の *V. cholerae* O1の性質の差を明らかにする目的で、両者の海水中における生存性、抗生物質および界面活性剤感受性などを比較し、次の結果を得た。

1) CT産生株と非産生株は海水、河川水中での生存性、10~15℃における増殖性、フェノールおよび Sodium deoxycholate 感受性、Penicillin および Chloramphenicol 感受性に関して差は認められなかった。

2) CT産生株は非産生株に比して、Novobiocinにより耐性、Sodium dodecyl sulfateにより感受性の傾向であった。

以上の結果から *V. cholerae* O1、ヒト由来 CT陽性株と環境由来 CT陰性株は CT以外の性状でも異なることが推定される。

わが国における近年のコレラ患者数は、年間数十から数百名の範囲にある。患者の多くは海外、特に東南アジア旅行によって感染しているが、輸入冷凍食品が原因と考えられる海外旅行歴のないコレラ患者もみられる [1]。原因菌はいずれもコレラ毒素 (CT) 産生性の *V. cholerae* O1 El Tor型とされている。

一方、わが国の河川や海水を調査すると多数の *V. cholerae* non-O1が検出されるが、稀に *V. cholerae* O1も検出される [2]。検出される *V. cholerae* O1の大部分はコレラ毒素 (CT) 非産生性であり、コレラ流行の原因になったという記載は見当たらない。また、コレラ患者が排出した

CT産生性の *V. cholerae* O1が、国内の自然環境に長期にわたり定着したという報告は見当たらない。

自然界に分布する CT非産生株とヒト由来 CT産生株では、自然界における生存性等の性質が異なるのではないかと考えられる。このことより、本研究は CT陽性株と陰性株の間にある差を明確にすることを目的とし、両者の河川水や海水における生存性、抗生物質感受性、更には界面活性剤等に対する感受性の差を比較した。

## 材 料 と 方 法

### 1) 菌株

*Vibrio cholerae* O1: ヒト由来 CT 陽性菌はコレラ患者から分離された4株 (NIH43, NIH2212-80, NIH91-1, NIH126-90) を用い、環境由来 CT 陰性菌は国内の河川あるいは海水から分離された4株 (NIH742-87, 507-85, 1097-81, 760-80) を用いた。これらはいずれも国立予防衛生研究所, 島田博士から分与を受けた。

*V. cholerae* non-O1: 食中毒3事例 (長野県, 高知県, 大阪府での発生3事例) 由来の3株と海水由来の1株 (TNV13) を用いた。

### 2) 生存試験

試験に使用した海水と海砂は富山県新湊市堀岡地内の海岸で、河川水と河川底泥は富山市内を流れる松川で採集した。採集後、24×3 cmの試験管に水30ml, 砂 (または泥) 20gの割合で入れ、高圧滅菌し、これにトリプティケース・ソイ・ブロス (TSB) 寒天培地, 37°C, 7時間培養菌の生理食塩水浮遊液0.5mlを接種した。その後は25°Cにおき、経過日数毎に菌数を測定した。菌数は1% NaCl 含 TSB 寒天培地を用いた混釈法で測定し、発育コロニーはPMT寒天培地発育性と血清反応で、接種菌であることを確認した。

### 3) 薬剤感受性

Penicillin G (PCG), Ampicillin (ABPC), Colistin (CL), Novobiocin (NB), Polymyxin B (PB) および Chloramphenicol (CM) を2倍段階希釈し、それぞれ0.15~80 μg/mlの濃度に含む TSB 寒天平板を作成し、これにTSB, 37°C, 1夜培養菌, 1白金耳を塗抹した。1夜後、発育の有無を観察し、最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。

### 4) 界面活性剤感受性

Sodium dodecyl sulfate (SDS), Triton X-100, Sodium deoxycholate を2倍段階希釈し、それぞれが、0.07~5%の割合に含まれる4.5mlの1%NaCl加TSBを作製した。この培地にTSB, 37°C, 1夜菌0.05mlを接種し、37°C1夜後、発育を観察しMICを求めた。発育に及ぼす食塩の影

響やフェノールの影響も同様の方法で調べた。

## 結 果

### 1) 海水または河川水における生存性

供試した *V. cholerae* O1, 4株 (CT 陰性の2株とCT陽性の2株) は、すべて滅菌河川水中では、菌接種8日後に、死滅した。しかし、海水中では、24時間でやや増殖、その後の8日間は、ほとんど死滅しなかった (Fig. 1)。

### 2) 砂添加海水における生存性

*V. cholerae* O1, CT 陽性, 陰性, 各3株, 計6株の大部分は菌接種後3日までの間に、やや増殖した。しかし、その後は徐々に死滅した。その死滅速度は、CT 陽性菌と陰性菌で似ていた (Fig. 2)。

### 3) 泥添加河川水における生存性

*V. cholerae* O1, ヒト由来 CT 陽性3株を初期菌数が約 $10^{6-7}$ /gになるよう接種すると、3日経過で $10^{7-8}$ /gまで増殖した。しかし、その後は徐々に死滅し、60日後には、 $10^{6-7}$ /gまで減少した。

環境由来 CT 陰性菌も、CT 陽性菌の場合と同様、菌接種後1~3日までに増殖し、以後、ゆるやかな速度で死滅した (Fig. 3)。

### 4) 低温における発育性

*V. cholerae* O1, CT 陽性, 陰性各4株, 計8株をTSBに接種し、10および12°Cで培養したところ、CT 陽性, 陰性に関係なく、すべてが10°Cで発育せず、12°Cで発育した。

### 5) 発育におよぼす食塩の影響

*V. cholerae* O1, CT 陽性, 陰性各4株, 計8株のすべてが0~5%にNaClを加えたTSBで発育し、7% NaClを加えたTSBで発育しなかった。

### 6) 発育におよぼすフェノールの影響

*V. cholerae* O1, CT 陽性3株, 陰性3株, 計6株のすべてがフェノール濃度, 0.1%のTSB培地で発育し、0.2%の同培地で発育しなかった。

### 7) 界面活性剤感受性

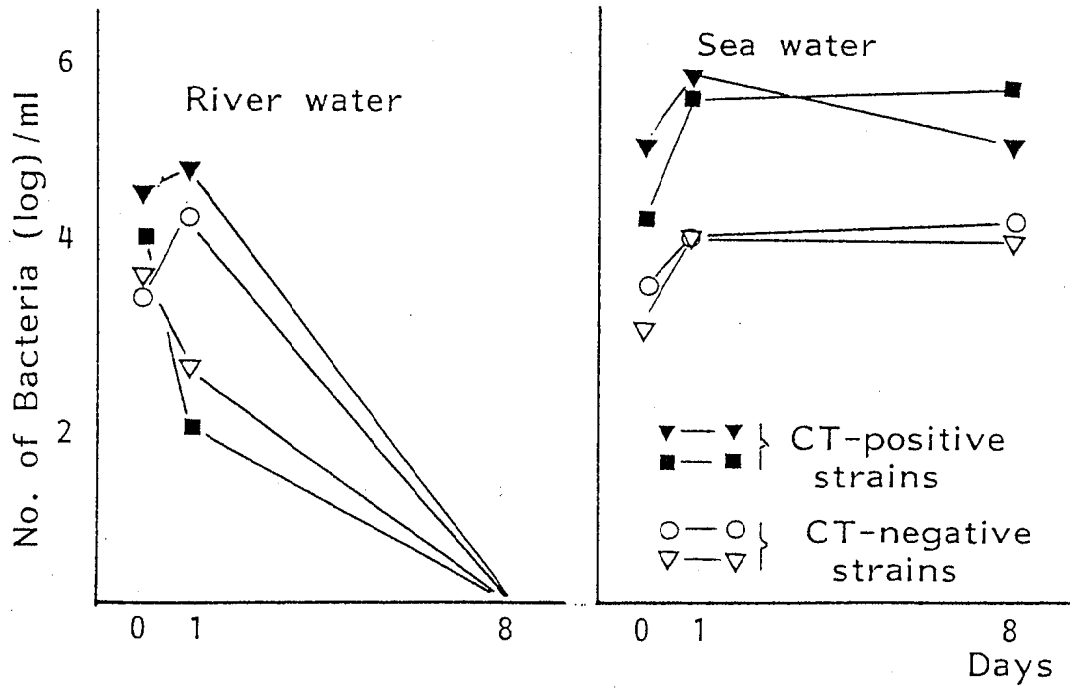


Fig.1. Survival of *V. cholerae* O1 in Water at 25 C

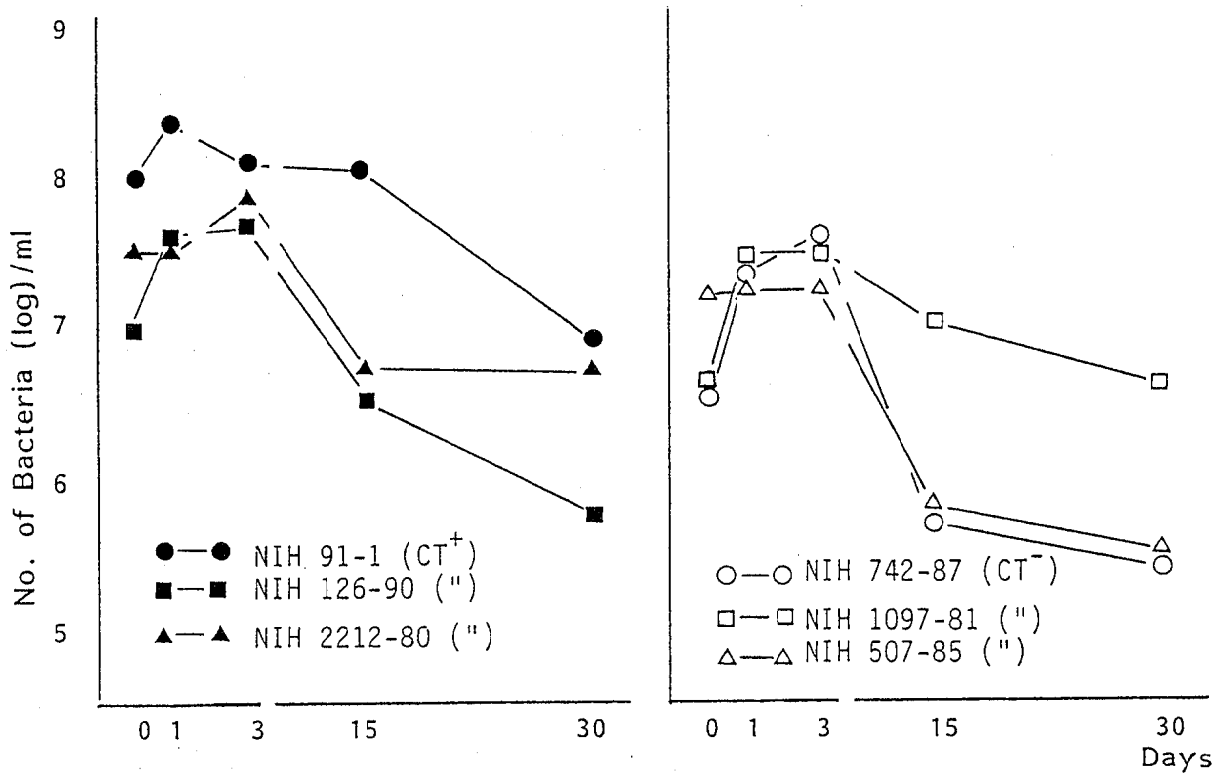


Fig.2. Survival of *V. cholerae* O1 in Sterile Sand and Sea Water at 25 C.

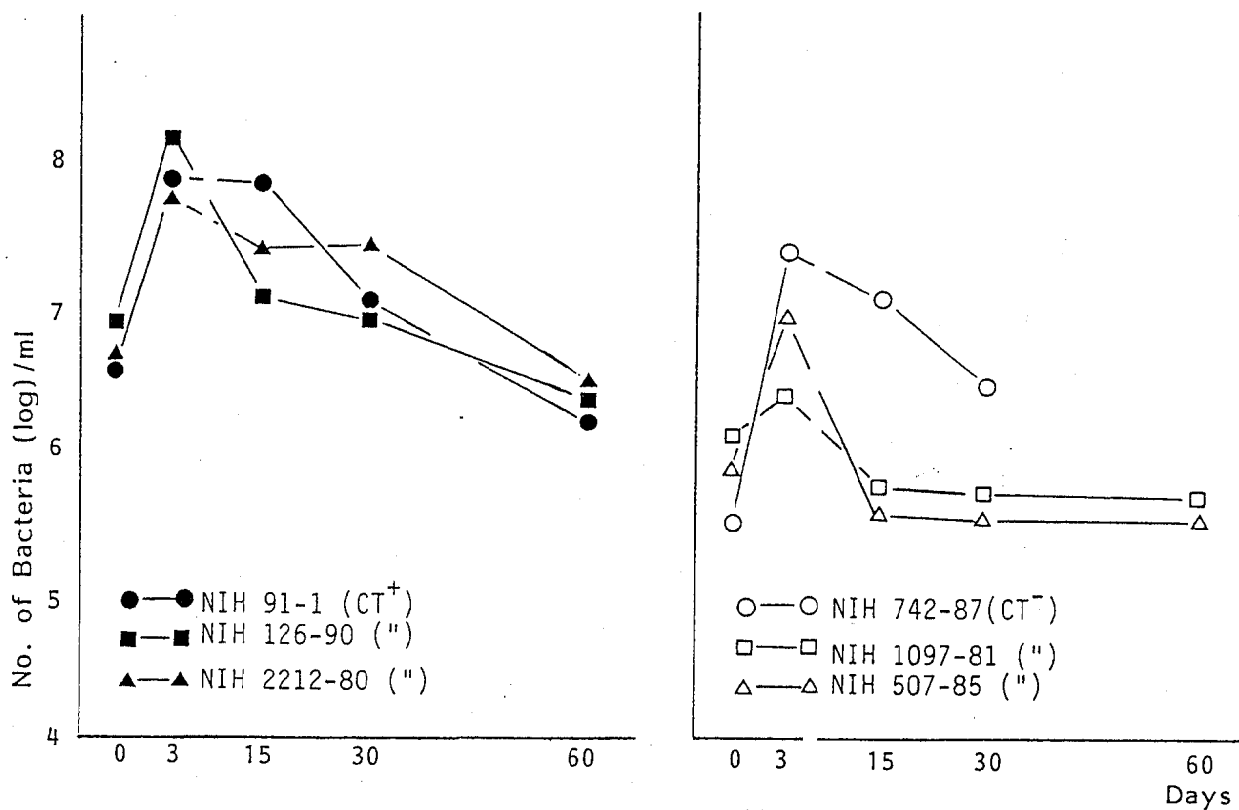


Fig.3. Survival of *V. cholerae* O1 in Sterile Sediment and River Water at 25 C.

Table 1. MICs of Various Detergents for *V. cholerae*

Organisms	Strain No.	CT gene	Detergents		
			Sodium dodecyl sulfate	Triton X-100	Sodium deoxycholate
<i>V. cholerae</i> O1	NIH2212-80	+	0.62*	>2.5	>2.5
	NIH1-91	+	0.31	>2.5	>2.5
	NIH126-90	+	N.T**	>2.5	>2.5
	NIH43	+	0.31	>2.5	>2.5
	NIH507-85	-	1.25	>2.5	>2.5
	NIH742-87	-	2.50	>2.5	>2.5
	NIH1097-81	-	1.25	>2.5	>2.5
	NIH924-79	-	0.31	>2.5	>2.5
<i>V. cholerae</i> non-O1	Sakai225	-	2.50	>2.5	>2.5
	Kochi28	-	1.25	>2.5	>2.5
	Nagano3	-	1.25	>2.5	>2.5
	NTV13	-	1.25	>2.5	>2.5

※ MIC

※※ Not tested



Table 2. MICs of Various Antibiotics for *V. cholerae*

Organisms	Strain No.	CT gene	Antibiotics					
			CM	PB	NB	CL	PCG	ABPC
<i>V. cholerae</i> O1	NIH2212-80	+	0.62	>80	2.5	>80	2.5	5.0*
	NIH1-91	+	0.62	>80	10	>80	5.0	5.0
	NIH126-90	+	0.31	>80	2.5	>80	2.5	N.T***
	NIH43	+	0.31	>80	40	>80	2.5	2.5
	NIH507-85	-	0.31	>80	0.6	>80	2.5	1.25
	NIH742-87	-	0.31	>80	5.0	>80	2.5	5.0
	NIH1097-81	-	0.15	>80	<0.15	>80	0.62	2.5
	NIH924-79	-	N.T	>80	0.6	>80	N.T	5.0
<i>V. cholerae</i> non-O1	Sakai225	-	0.31	>80	0.31	>80	<0.15	2.5
	Kochi28	-	0.15	>80	<0.15	>80	1.25	2.5
	Nagano3	-	0.31	>80	<0.15	>80	1.25	2.5
	NTV13	-	N.T	>80	0.6	>80	1.25	2.5

※ MIC

※※ Not tested

*V. cholerae* O1, CT 陽性 4 株, 陰性 4 株, Non-O1 *V. cholerae* 4 株, 計12株を2.5%に, Triton X-100あるいは Sodium deoxycholate を含有する培地に接種すると, すべてが発育した。

しかし, Sodium dodecyl sulfate を含む TSB 培地に接種すると, CT 陰性の *V. cholerae* O1 と *V. cholerae* non-O1 では, 8 株中7株で MIC 値が1.25~2.5%であるのに対して, CT 陽性の *V. cholerae* O1 では, 3 株すべてで MIC 値0.31~0.62%であった。CT 陽性株は陰性株より SDS 感受性が高かった (Table 1)。

#### 8) 抗生物質感受性

供試した *V. cholerae* O1 と non-O1 は CT 陽性, 陰性に関係なく12株すべてが PB と CL 耐性, CM, PCG および ABPC 感受性であった。しかし, NB 感受性をみると, CT 陰性の non-O1 および O1 *V. cholerae* では, 8 株中7株で MIC 値が, <0.15~0.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であるのに対して, CT 陽性 *V. cholerae* O1 では, 4 株すべての MIC 値が, 2.5~40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。CT 陽性株は陰性株に比し, NB により耐性であった (Table 2)。

#### 考 察

NB の細菌増殖阻止作用機作は  $\text{Mg}^{2+}$  イオンとの高い結合能からくる, 主に細菌細胞壁における Mg 依存性各種プロセスの妨害にあるとされている [3]。また, SDS は界面活性剤であり, 細菌細胞壁タンパクを変成させることが知られている。本実験では, CT 陽性株は CT 陰性株に比して NB に対する感受性が低く, SDS に対する感受性が高かった。

この結果は, *V. cholerae* O1, CT 陽性株と陰性株で, 細胞壁合成過程がやや異なること, CT 陰性株は陽性株に比して, より強固な細胞壁を有していることを示唆するものであろう。結果は示さなかったが, 著者らは Choudhuri ら [4] と同様の手技で CT 陽性株と陰性株について細胞壁成分を抽出し, ポリアクリルアミド電気泳動を実施すると, 両者の泳動パターンがやや異なるという成績 (未発表) を得ている。

国内の環境について, *V. cholerae* の分布調査を実施すると, 多くの *V. cholerae* non-O1 が検出されるが, 同時に少数の *V. cholerae* O1 が検出される。この *V. cholerae* O1 はコレラ患者

平成8年10月1日

が排出する *V. cholerae* O1 と異なり CT 非産生性である。NB 感受性と SDS 耐性に関する結果をみると、環境に分布する CT 陰性 *V. cholerae* O1 はヒト由来 CT 陽性 *V. cholerae* O1 より、環境由来 CT 陰性 *V. cholerae* non-O1 に近い。本実験では、CT 陰性株は CT 陽性株より自然界でよく生存するのではないかと考え、河川および海水中における生存性を調べた。しかし、両者の細胞壁がやや異なるという結果が得られたにもかかわらず、Hood ら [5]、沖津ら [6] と同様、CT 陽性株と陰性株は、滅菌海水や河川水での生存性で差があるという結果は得られなかった。

患者から排出される CT 陽性 *V. cholerae* が環境から分離される CT 陰性 *V. cholerae* に比し国内の環境に定着し難いかどうかを明らかにするには、他の細菌共存下における生存性の比較や今回実施しなかった各種の条件下での検討等、さらに多くの実験が必要であろう。

## 文 献

1. 国立予防衛生研究所編 (1991). 病原微生物検出情報, 134, 1-24.
2. 島田俊雄, 坂崎利一, 小迫芳正 (1982). 感染症誌, 56, 1017-1024.
3. Gallien, R. (1971). *Antibiot. Chemother*, 17: 137.
4. Chaudhuri, K. Bhadra, P. K. and Das, J. (1992). *Appl. Environ. Microbiol*, 58, 3567-3573.
5. Hood, M. A. and Ness, G. E. (1982). *Ibid*, 43, 578-584.
6. 沖津忠行, 諸角浩利, 村瀬敏之, 鈴木理恵子, 松島章喜, 山井志朗 (1994). 感染症誌, 68, 744-749.

## 健常女性における踵骨超音波計測値と腰椎骨密度 ならびに骨代謝指標との関係

西野 治 身      田 中 朋 子      堀 井 裕 子  
熊 西 忠 郎      伊 木 雅 之<sup>1</sup>      梶 田 悦 子<sup>2</sup>  
土 肥 祥 子<sup>3</sup>      日 下 幸 則<sup>1</sup>      鏡 森 定 信<sup>4</sup>

Relation between Parameters of Bone Mass by  
Ultra Sound System and Bone Mineral Density  
of Lumbar Spine or Each Biochemical Marker  
of Bone Metabolism

Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA, Yuko HORII,  
Tadaro KUMANISHI, Masayuki IKI<sup>1</sup>, Etsuko  
KAJITA<sup>2</sup>, Yoshiko DOHI<sup>3</sup> Yukinori KUSAKA<sup>1</sup>  
and Sadanobu KAGAMIMORI<sup>4</sup>

**要 旨** 健常な中高年女性を対象として、超音波骨量測定装置により超音波伝播速度 (SOS)、減衰係数 (BUA) および Stiffness を測定し、年齢や体格による影響ならびに DXA 法による腰椎骨密度 (L-BMD) または骨代謝指標との関連を検討したところ以下の結果を得た。

1. 超音波法 (US 法) による骨量は加齢とともに減少し、L-BMD より早期に減少する傾向がみられた。
2. L-BMD との間には、加齢変化を考慮しても有意な正の相関関係があり、2つの方法による測定値は互いに関連していた。
3. 身体状況との関係は、BUA が身長、体重、BMI と有意な正相関を示し、Stiffness も一部有意となった。従って、BUA と Stiffness は、骨量に加えて体格の大きさをも反映している可能性が示唆された。
4. 骨代謝指標との関係では、年齢を調整すると SOS が骨型 AIP と負の相関を示した。

超音波による骨量測定法 (Ultra Sound System; US 法) は放射線の被爆がないこと、装置が小型かつ軽量で運搬が容易なことから、地域住民の骨粗鬆症検診において広く利用されている。

しかし、US 法による測定部位は、骨粗鬆症の骨折部位 (胸腰椎や大腿骨頸部) ではなく踵骨であること、表示される数値は骨密度ではなく超音波の伝播速度 (SOS: Speed of sound, m/sec)

1. 福井医科大学環境保健学      2. 富山医薬大老年地域看護学      3. 奈良医大公衆衛生学  
4. 富山医薬大保健医学

と減衰係数 (BUA: Broad-band ultrasound attenuation, dB/MHz) であることのため、測定値の意義が不明瞭な部分が多い。しかも、多くの診断には SOS と BUA から計算により算出された Stiffness を利用しがちである。

そこで今回、これら複数の指標の評価の意義を明らかにするため、健康な中高年女性を対象として、US法による測定値とDXA法による腰椎骨密度との関連性を明らかにするとともに、年齢や体格、月経の状況によって測定値がどのように影響を受けるか、さらに、骨代謝の生化学指標との関係についても検討したので報告する。

### 対象および方法

調査対象者は福井県の1市1町に住む健康な34歳から80歳までの女性200人である。そのうち、アンケートによる月経状況の調査で閉経時期の確定ができないものが3名あり、閉経者については閉経後年数が不明のものが26名存在した。

骨量の測定には、LUNAR社製 Achilles (米国) を用い、踵骨の超音波伝導速度 (SOS) および超音波減衰係数 (BUA) を測定後、Stiffness を算出した。同時に同じ対象者について DXA 法 (Hologic QDR1000W) により第2~第4腰椎骨密度 (以下L-BMD) および骨代謝の生化学指標を測定した。骨代謝指標としては、血清中の骨型 Alkaline phosphatase (以下B-AIP)、骨 Gla

protein (以下BGP)、早朝第一尿中の Hydroxyproline creatinine 比 (Hyp/Cr) および Calcium creatinine 比 (Ca/Cr) の4種を用いた。各測定方法はすでに述べた通り [1] である。全員に対し身長、体重等の身体計測や問診表による月経の状況などの調査も行なった。

骨代謝指標は対数正規分布を示したので、以下の検討には対数変換値を用いた。

統計学的計算は HALBAU を用い、有意水準を5%とした。

### 結 果

Table 1 は対象者の基本的特性を示したものである。対象者の年齢は34~80歳で、平均年齢60.3±9.7歳であった。そのうち有経者は33人 (16.8%)、閉経者は164人 (83.2%) で平均年齢は各々43.4歳 (34~52歳) と63.9歳 (48~80歳) であった。有経者と閉経者の体格を比べると、BMI に差はみられないが、身長および体重は閉経者の方が有意に低値 (各々 p<0.001, p<0.05) を示した。

#### 1. 踵骨超音波計測値の年齢による変化

年齢階級別の超音波計測値を平均値と標準偏差で Table 2 に示した。比較のため、L-BMD の値も表示した。US法による各測定値は、いずれも加齢に伴い低下の傾向を示した。隣り合わせの年齢階級間では、30歳代と40歳代の間で Stiffness

Table 1. Basic Characteristics of the Subjects Examined.

Physical characteristics	All subjects [N=200]	Premenopausal women [N=33]	Postmenopausal women [N=164]
Age (years old)	60.3±9.7	43.4±4.1	63.9±6.3
Height (cm)	149.8±6.3	153.9±6.0	148.8±6.0***
Body weight (kg)	52.5±8.0	55.2±8.5	51.8±7.7*
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.4±3.0	23.3±3.5	23.4±2.9

\* p<0.05, \*\*\* p<0.001 ; Significantly different from premenopausal women

Table 2. The Value of Stiffness, SOS, BUA by Ultra Sound System and Bone Mineral Density of Lumbar Spine by DXA in Each Age-group.

Age group	N	Stiffness	SOS [m/sec]	BUA [dB/MHz]	L-BMD [g/cm <sup>2</sup> ]
30-39	8	100.1 ± 11.0	1552 ± 19	129 ± 11	0.989 ± 0.053
40-49	24	83.7 ± 10.6	1522 ± 18	116 ± 10	1.026 ± 0.139
50-59	44	79.5 ± 13.3	1513 ± 29	114 ± 10	0.877 ± 0.166
60-69	94	70.0 ± 9.5	1493 ± 18	108 ± 9	0.787 ± 0.127
70-80	30	61.8 ± 10.9	1480 ± 22	101 ± 9	0.728 ± 0.144
All subject	200	73.7 ± 13.9	1501 ± 27	110 ± 11	0.835 ± 0.166

\*: p&lt;0.05, \*\*: p&lt;0.01

と SOS が有意差を生じ40歳代で有意に低下していた。BUA も有意ではないが同様の傾向にあった。その後40歳代と50歳代の間にはいずれも差はなかったが、50歳以降の高年齢層では再び各年齢階級間に差が生じた。

L-BMD は、すでに報告したように [1], 今回も40歳代と50歳代に有意差があり、50歳代と60歳代の間でも差は有意であった (各 p<0.01)。しかし、30歳代と40歳代、および60歳代と70歳代の間では有意差を認めなかった。

骨代謝指標の年齢との関係は (Table 3), 骨形成および骨吸収の各指標が加齢に伴い上昇傾向にあったが、隣り合わせの年齢層間の比較では40歳代と50歳代の間にも有意差を認め、これまでの報告 [2] と同一の結果が得られた。

## 2. 踵骨超音波計測値と腰椎骨密度との関連

Fig. 1 に、US 法による踵骨計測値と L-BMD との相関図を示した。いずれも L-BMD とは正の相関を示し (p<0.001), 年齢を考慮しても有意な関係を維持していた (偏相関係数, Stiffness ; 0.364, SOS ; 0.356, BUA ; 0.289, 各々 p<0.001)。

## 3. 踵骨超音波計測値と身体状況との関係

踵骨計測値と身長、体重および体格指数 (BMI) との関係調べたところ (Table 4), SOS は身長との間に、Stiffness, BUA は身長に加えて体重とも有意な正相関を持った。しかし、踵骨各計測値および身長、体重はいずれも年齢と関連 (身長 ; -0.446, p<0.001, 体重 ; -0.202, p<0.01) を示したので、年齢の影響を除いた偏相関を求めたところ、SOS の身長との関連は消失し替わって BUA が BMI と新たに関連を生じた。Stiffness には関連性の変化はみられなかった。

## 4. 踵骨超音波計測値と骨代謝指標との関係

踵骨各計測値と生化学指標との関係についてみると (Table 5), SOS は4種全ての骨代謝指標と有意な負の相関を示し、BUA は BGP を除く3種の指標と弱いながら関連を認めた。Stiffness は BUA と類似した関連を呈したが、相関係数は BUA より大であった。生化学指標は年齢と正の相関関係を示すため [1], 年齢を考慮した偏相関係数を求めたところ、SOS だけが B-AIP と有意な関連 (p<0.01) として残った。

## 5. 月経状況別にみた踵骨超音波計測値と身体状

Table 3. The Biochemical Markers of Bone Formation and Bone Resorption of All Subjects by Age-group.

Age group	Bone formation			Bone resorption	
	N	BGP[ng/ml]	B-ALP[BLU]	Hyp/Cr[mg/gCr]	Ca/Cr[mg/gCr]
30-39	8	6.6 (1.21)	1.0 (1.29)	21.4 (1.35)	134 (1.38)
40-49	24	8.9 (1.66)	1.2 (1.34)	26.1 (1.55)	136 (1.85)
50-59	44	12.0 (1.37)	1.5 (1.37)	36.8 (1.54)	228 (1.75)
60-69	94	11.5 (1.50)	1.5 (1.33)	40.0 (1.49)	224 (1.66)
70-80	30	9.9 (1.59)	1.3 (1.26)	37.1 (1.54)	231 (1.62)
All subject	200	10.8 (1.53)	1.4 (1.35)	36.0 (1.56)	208 (1.75)

Values are expressed as geometric mean and geometric SD in parenthesis  
 +:p<0.1, \*:p<0.05, \*\*:p<0.01

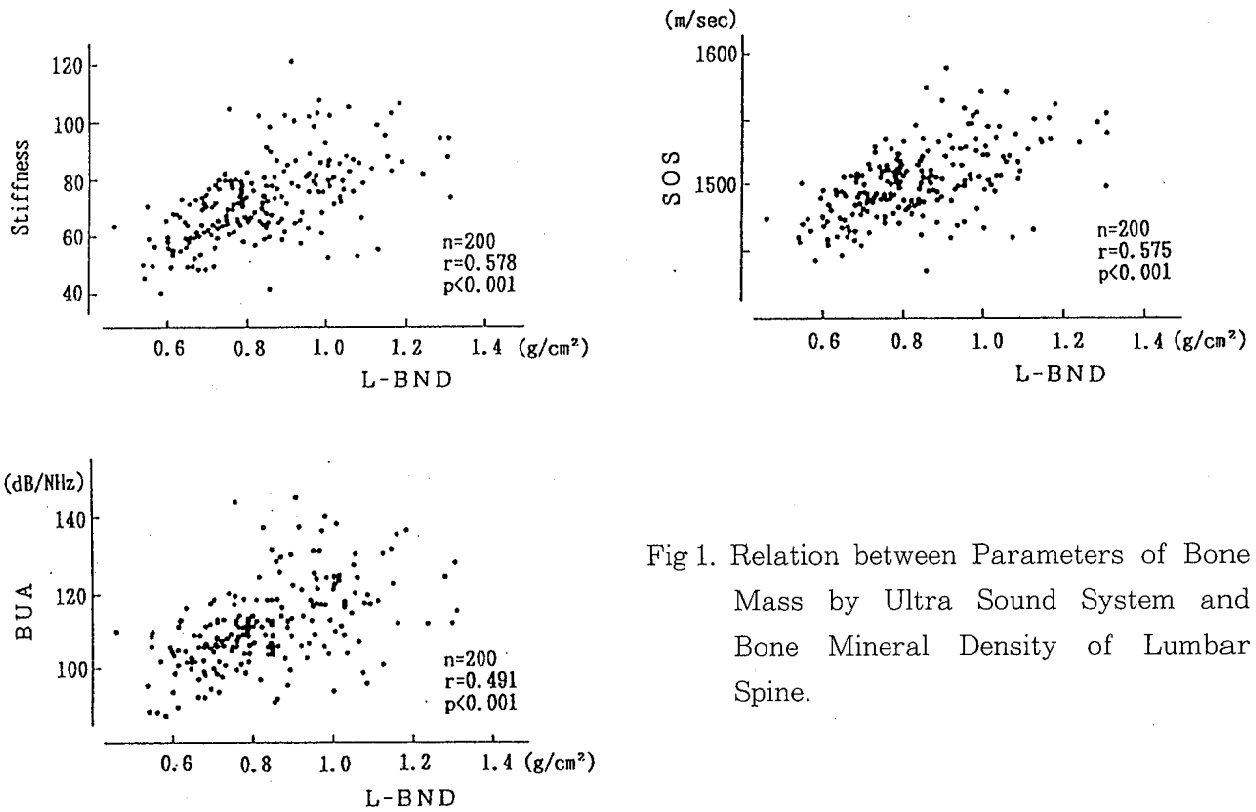


Fig 1. Relation between Parameters of Bone Mass by Ultra Sound System and Bone Mineral Density of Lumbar Spine.

Table 4. Correlation Coefficients between Parameters of Bone Mass by Ultra Sound System and Physical Characteristics in All Subjects.

	Stiffness	SOS	BUA
Simple correlations			
Age	-0.630***	-0.639***	-0.527***
Height	0.408***	0.313***	0.443***
Body weight	0.234***	0.095	0.342***
Body mass index	0.027	-0.078	0.133
-----			
Partial correlations allowing for age			
Age	—	—	—
Height	0.182**	0.041	0.273***
Body weight	0.140*	-0.045	0.283***
Body mass index	0.067	-0.069	0.182*

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

Table 5. Correlation Coefficients between Parameters of Bone Mass by Ultra Sound System and Each Biochemical Marker of Bone Metabolism in All Subjects.

	Stiffness	SOS	BUA
Simple correlations			
BGP	-0.087	-0.164*	0.010
B-AlP	-0.215**	-0.249**	-0.144*
Hyp/Cr	-0.211**	-0.223**	-0.163*
Ca/Cr	-0.259***	-0.284***	-0.187**
-----			
Partial correlations allowing for age			
BGP	0.022	-0.077	0.113
B-AlP	-0.139	-0.183**	-0.063
Hyp/Cr	-0.051	-0.064	-0.022
Ca/Cr	-0.092	-0.123	-0.034

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

況との関係

対象者を現在の月経の状況により有経者と閉経者に区分し、踵骨計測値と体格の大きさとの関係を検討した。

①有経者について (Table 6 (1))

年齢とは、閉経前の若年齢層においても有意な負の相関関係 ( $p < 0.05$ ) にあったが、L-BMD には有意な関係を認めなかったため、若い年齢層では年齢による影響が L-BMD とは異なるものと考えられた。

体格指標との関係は、Stiffness, BUA が身長と正の相関を示し、年齢を調整した偏相関も同様の関連を示した。一方、SOS は体格指標と関係はみられなかった。

L-BMD とは、年齢を調整した後に Stiffness および SOS が正の相関を生じた。

②閉経者について (Table 6 (2))

US 法による測定値は年齢および閉経後年数と

有意な負の相関 (各  $p < 0.001$ ) を示し、Stiffness と BUA には閉経後年数が独立した関連を示した。

体格指標とは、BUA が全ての指標と正相関を有し、年齢を調整した偏相関も BUA のみ有意な関係を維持していた。SOS は身長と正相関を認め、Stiffness は身長、体重と関連があったが、偏相関はいずれも有意ではなかった。

L-BMD との間には、US 法による測定値は年齢を考慮してもなお有意な正の相関を認めた。

6. 月経状況別にみた踵骨超音波計測値と骨代謝指標との関係

Table 7 には、骨代謝指標との関連を、年齢を調整した偏相関で閉経の有無別に表示した (Table 7)。

有経者では、各計測値と骨代謝指標との間に全く関連はみられなかったが、閉経者においては、SOS が B-AIP と負の相関関係 ( $p < 0.01$ ) を示した。さらに閉経後年数別に骨代謝指標との偏相

Table 6. Relation between Parameters of Bone Mass by Ultra Sound System and Physical Characteristics or Bone Mineral Density of Lumbar Spine in the Premenopausal and Postmenopausal Women.

(1) Premenopausal women [N=33]

	Stiffness	SOS	BUA
Simple correlations			
Age	-0.405*	-0.405*	-0.346*
Height	0.401*	0.199	0.502**
Weight	0.153	0.015	0.254
BMI	-0.048	-0.088	0.004
L-BMD	0.254	0.269	0.207
-----			
Partial correlations allowing for age			
Age	—	—	—
Height	0.357*	0.133	0.471**
Weight	0.160	0.009	0.265
BMI	-0.014	-0.057	0.037
L-BMD	0.383*	0.399*	0.308

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

YAMP: Years after menopause



(2) Postmenopausal women [N=164]

	Stiffness	SOS	BUA
Simple correlations			
Age	-0.456***	-0.466***	-0.364***
YAMP	-0.500***	-0.483***	-0.436***
Height	0.283***	0.179*	0.333***
Weight	0.173*	-0.010	0.324***
BMI	0.042	-0.111	0.188*
L-BMD	0.464***	0.437***	0.405***
-----			
Partial correlations allowing for age			
Age	—	—	—
YAMP	-0.206*	-0.157	-0.210*
Height	0.141	0.011	0.231**
Weight	0.134	-0.074	0.303***
BMI	0.088	-0.084	0.234**
L-BMD	0.382***	0.347***	0.329***

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

YAMP:Years after menopause

Table 7. Partial Correlation Coefficients between Each Parameter of Bone Mass by Ultrasound System and Biochemical Markers of Bone Metabolism in the Premenopausal and Postmenopausal Women.

	Stiffness	SOS	BUA
Premenopausal women [N=33]			
BGP	0.061	-0.060	0.144
B-AIP	-0.131	-0.134	-0.110
Hyp/Cr	0.093	-0.098	0.225
Ca/Cr	0.051	-0.036	0.109
-----			
Postmenopausal women [N=164]			
BGP	0.025	-0.074	0.118
B-AIP	-0.150	-0.208**	-0.056
Hyp/Cr	-0.081	-0.064	-0.073
Ca/Cr	-0.127	-0.150	-0.067

\*\* : p < 0.01

Table 8. Partial Correlation Coefficients between Each Parameter of Bone Mass by Ultrasound System and Biochemical Markers of Bone Metabolism in the Subjects Grouped by Years after Menopause.

	Stiffness	SOS	BUA
① YAMP < 10 [N=42]			
BGP	-0.334*	-0.424**	-0.164
B-AIP	-0.341*	-0.369*	-0.230
Hyp/Cr	-0.208	-0.161	-0.208
Ca/Cr	-0.062	-0.137	0.056
② YAMP < 20 [N=66]			
BGP	0.033	-0.029	0.091
B-AIP	-0.249*	-0.255*	-0.204
Hyp/Cr	0.031	0.031	0.025
Ca/Cr	-0.096	-0.142	-0.033
③ YAMP ≥ 20 [N=29]			
BGP	0.443*	0.293	0.496**
B-AIP	0.273	0.156	0.335
Hyp/Cr	0.075	0.121	0.028
Ca/Cr	-0.285	-0.276	-0.238

YAMP: Years after menopause

\*:p&lt;0.05, \*\*:p&lt;0.01, \*\*\*:p&lt;0.001

関をみたところ (Table 8), 閉経後10年未満群では Stiffness, SOS が血清中の B-AIP, BGP と有意な負の相関を呈し, 10年以上20年未満群においても, Stiffness, SOS が B-AIP と有意な負の相関関係を示した。これに対し, 閉経後20年以上群では負の相関関係が消え, Stiffness と BUA では BGP と正の相関関係が生じた。

### 考 察

骨粗鬆症予防施策として盛んに行なわれるようになった骨密度検診には, 種々の骨密度測定装置が用いられているが, その中で, 最近は X線を使用する DXA法と超音波による測定装置が汎用さ

れる傾向にある。特に地域における検診では, 超音波法は放射線管理の必要性がないという理由などから急速に普及しそうな状況にある。ところが, この方法は導入されて間もないこともあって, その測定値の変動や測定値に影響する要因など基礎的な検討が充分ではなく, 骨代謝指標との関連性の検討もほとんど行なわれていない。この測定法では, 踵骨の内側と外側の間を超音波が透過する際の伝導速度および減衰係数を測定する。代表的測定装置である LUNAR 社製 Achilles では, これらの値から Stiffness を,  $Stiffness = (SOS - 1380) \times 0.28 + (BUA - 50) \times 0.67$  により算出し, 20歳の平均 Stiffness に対する%および同年齢の Stiffness に対する%が表示されるため, おおよそその判定やその評価に Stiffness が利用される場

合が多かった。しかし、各々の測定値が持つ意義は必ずしも明らかにされていない。そこで今回、中高年女性について超音波法による各測定値の基礎的検討を行なった。

年齢およびL-BMDとの関係では (Table 2, Table 4), Stiffness, SOS, BUA の各測定値とL-BMDは互いに正の相関関係にあった (Fig. 1)。いずれも加齢に伴い減少傾向を示したので、年齢を調整してみたがなお有意な関連性を保持していた。しかし、詳細に関係を調べると、US法とDXA法測定値には部分的に異なる傾向がみられた。例えばStiffnessとSOSは30歳代から40歳代にかけて有意に減少し、L-BMDは40歳代から50歳代の間で有意に減少していたことから、US法による踵骨骨量の方がDXA法によるL-BMDより若い年齢で減少していると考えられた。竹田ら [3] は、女性のSOS, Stiffnessは40歳代で有意に減少し、腰椎BMDより早期に減少する傾向がみられたと述べており、我々の結果はこれとよく一致していた。一方、閉経期に相当する50歳代では、L-BMDは閉経の影響を大きく受けて50歳代で有意に減少し [1], 骨代謝指標は同年齢層で有意に上昇したが、Stiffness, SOS, BUAは50歳代での有意な変化がみられなかった。それ故、US法とDXA法による測定値では閉経周辺の変化の傾向が異なるのではないかと推測された。さらに60歳以上の高齢者においては、Stiffness, SOS, BUAは有意に減少したが、腰椎BMDは年齢による変化が不明瞭であった。高齢者においては、変形性脊椎症や腹大動脈石灰化など他の加齢変化がL-BMD値に影響を与えたとの報告 [4] もあるので、70歳以上では腰椎以外の部位の測定がより正確に骨変化を反映しているかもしれない。

体格指標との関係についても、年齢を調整して検討した (Table 4)。SOSはどの体格指標との関連もなく、体格の大きさによる影響は少ないと推測されたのに対し、BUAは体格指標との関連がかなり高く、体格の大きさに伴う足面積が測定値に反映されている可能性 [5] が示唆された。計算で求められたStiffnessは、SOSとBUAの

中間的な相関係数を示し、身長および体重と有意な正の関係がみられた。また、有経者より閉経者で高い関連を生じたことから (Table 6), 閉経女性についてStiffnessまたはBUAを骨量の指標とする場合には、体格の大きさを考慮して慎重に検討されるべきであろう。

骨代謝指標との関係については、骨形成および骨吸収の指標がいずれもSOSと有意な負の相関関係を示した (Table 5)。BUAもBGPを除く各指標と負の関連性を有したが、SOSの方が高い相関を認めた。一般に、超音波は密度の高い物質の中を速く伝播するといわれているので、SOSが高値であるほど骨密度は高いと考えられる。BUAは骨りょうの構造を反映するとのこと [6] なので、骨代謝指標は骨りょうの構造よりも骨密度と関わりが大きく、それ故、SOSとより高い関係を示したものと思われた。また、骨代謝指標との有意な関係は有経者で認められなかったが、閉経者に認められた。骨代謝指標の中では、B-AlPのみがSOSと負の相関 ( $p < 0.01$ ) を示し、閉経後の骨密度が低下している人ほど骨形成が活発化している可能性がある。一方、骨吸収の指標にも加齢とともに上昇がみられた (Table 2) ので、US法測定値との有意な関係の出現が予想されたが、骨吸収の指標との関連は認められなかった。その理由として、骨吸収の指標が骨密度や骨形成の指標に先行して上昇し始める可能性があり [2], 各々の変化が時間的に一致していないために、横断研究においては有意な関連が現れなかったのかもしれない。

今後、縦断研究によりこの点を明らかにしていきたい。

## 文 献

1. 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 伊木雅之, 梶田悦子, 土肥祥子, 日下幸則, 鏡森定信 (1995). 富山衛研年報, 18, 167-172.
2. 西野治身, 伊木雅之, 田中朋子, 堀井裕子, 土肥祥子, 梶田悦子, 日下幸則, 鏡森定信 (1995). 北陸

平成8年10月1日

公衆衛生学会誌, 22, 78-85.

3. 武田直人, 三宅真理子, 日隈慎一, 唐井一成, 佐野友子, 高田圭代, 三宅美紀子, 上坂智子, 北昭一, 今井弘子, 友光達志, 福永仁夫, 寄島町町民課, 佐能三保子, 長安つた子 (1994). 第3回日本骨粗鬆症研究会抄録, 71.
4. 鈴木隆雄, 永井晴美, 吉田英世, 楠本彩乃, 天野秀紀, 熊谷修, 渡辺修一郎, 柴田博, 安村誠司, 芳賀博 (1995). 日本公衆衛生雑誌, 42, 385-397.
5. 鈴木隆雄, 楠本彩乃, 吉田英世, 永井晴美, 渡辺修一郎, 熊谷修, 天野秀紀, 柴田博 (1995). 日本公衆衛生雑誌, 42, 10, 857.
6. 島田直樹, 伊東美季, 加部勇, 等々力達也, 高橋謙, 近藤健文 (1996). 日本衛生学雑誌, 51, 499.

# 骨密度検診受診者の踵骨骨密度と 尿中ヒドロキシプロリン —ライフスタイルとの関連—

中崎美峰子      西野治身      田中朋子  
堀井裕子      熊西忠郎      吉田志富<sup>1</sup>  
宇枝靖子<sup>2</sup>      垣内孝子<sup>1</sup>      加藤一之<sup>1</sup>

Stiffness of the Calcaneus and Urinary  
Hydroxyproline in the Participants  
of Collective Medical Examination  
— in Relationship to Life Style —

Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO, Tomoko  
TANAKA, Yuko HORII, Tadaro KUMANISHI,  
Shitomi YOSHIDA<sup>1</sup> Yasuko UEDA<sup>2</sup>,  
Takako KAKIUCHI<sup>1</sup> and Kazuyuki KATO<sup>1</sup>

**要 旨** 中高年女性について踵骨の強度 (Stiffness) を超音波法により測定し、尿中ヒドロキシプロリン (Hyp) とともに年齢、閉経、生活習慣との関連性を検討し、以下の結果を得た。

1. 踵骨の Stiffness は、30歳、40歳代に比べ50歳代以降年齢の上昇にともなって急激に低下した。尿中 Hyp は50歳未満に対して50歳以上で高値を示したが、50歳以降加齢に伴う変化は見られなかった。Stiffness と尿中 Hyp の間には、有意な負の相関がみられた。
2. 閉経期の45～54歳の年齢層について、閉経者では未閉経者に対して Stiffness に有意差はなかったが、Hyp は有意に上昇していた。
3. 食生活との関連では、魚介類や肉加工品の摂取が多い者、野菜、果物の摂取が少ない者で Stiffness が高い傾向がみられた。

近年人口の高齢化にともなって、老人の寝たきりにつながりやすい骨折を予防しようという観点から、骨粗鬆症が社会的に注目され、集団検診方式による骨密度の測定が盛んになってきている。

骨密度の測定方法としては、マイクロデンシトメトリー法や二重エネルギー X線吸収法 (DXA 法) などの X線を使った方法に替わって、被験者の X線被爆がないこと、特別な技術者や管理区域を必

1. 小杉保健所      2. 総合衛生学院

要としないこと、装置を検診車に搭載するなどして移動が容易であることなどから、超音波法が急速に普及している [1]。

そこで今回、骨密度検診を受診した女性を対象に、超音波法による踵骨の骨密度と、骨吸収の指標である尿中のヒドロキシプロリン (Hyp) を測定し、これらとライフスタイルとの関連について検討した。

### 対象および方法

富山県内の2市町に住み、骨密度検診を受診した30才以上の女性178人 (31~72歳) について、骨密度の指標として超音波法による踵骨の骨強度を測定し、骨吸収の指標として尿中の Hyp の測定を合わせておこなった。

踵骨骨強度の測定は Lunar 社製 Achilles を用い、Stiffness 値を骨密度の指標とした。Hyp は、早朝第一尿を用いて、池田らの方法 [2] にしたがって加水分解したのち、Bergman-Loxley 法に準じて測定した。また、クレアチンを Folin-Wu 法により測定し、以下の検討ではクレアチン補正值 (Hyp/Cr) を用いた。

さらに生活習慣、月経の状況、食生活の状況について、聞き取りによるアンケート調査を行なっ

た。

## 結 果

### 年齢との関連

Table 1 に Stiffness 値と尿中 Hyp/Cr を10歳毎の年齢階級別に示した。Hyp/Cr は対数正規型に近い分布を示したので、解析は対数変換した値で行なった。Stiffness は、30歳代と40歳代では差はみられなかったが、40歳代と50歳代、50歳代と60歳代では、となりあった年齢階級間で年齢層が高くなるにつれて、有意に低い値を示した (いずれも  $p < 0.001$ )。一方 Hyp/Cr は、これまでの調査 [3] と同様に30、40歳代に比べて50歳代で高値を示し、以降60、70歳代でも高い値であった。

Stiffness と Hyp/Cr との間には有意な負の相関がみられ ( $r = -0.314$ ,  $p < 0.001$ )、また、Table 2 に示したように両者とも年齢との関連が強かった。さらに、Stiffness は身長、体重とも関連がみられ、身長、体重の大きいものほど Stiffness 値が高い傾向にあった。

### 閉経との関連

Stiffness や Hyp/Cr に変化がみられた50歳前後は、閉経期に相当することから、未閉経者と閉経者が混在する45~54歳の年齢層を抽出し、両者

Table 1. Stiffness of the Calcaneus and Urinary Hydroxyproline by Age Groups

Age group	n	Stiffness A.M. (S.D.)	Hyp/Cr(mg/gCre) G.M. (G. S. D.)
31-39	7	75.1 (5.5)	25.1(1.32)
40-49	33	77.2(11.2)	27.9(1.43)
50-59	66	70.2 (8.3)	42.7(1.54)
60-69	68	61.7 (7.8)	43.0(1.49)
70-72	4	55.5 (6.5)	39.2(1.22)
All subject	178	68.1(10.6)	38.6(1.55)

n; Number, A.M.; Arithmetic mean  
S.D.; Standard deviation, G.M.; Geometric mean  
G.S.D.; Geometric standard deviation  
\*\*\*;  $p < 0.001$

Table 2. Correlation Coefficients between Stiffness or Urinary Hydroxyproline and Physical Characteristics

	Stiffness	Hyp/Cr
Stiffness	—	-0.314***
Hyp/Cr	-0.314***	—
Age	-0.588***	0.377***
Hight	0.249***	-0.158*
Weight	0.227**	-0.075
BMI	0.091	0.005

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

Table 3. Comparison of Stiffness and Urinary Hydroxyproline between the Premenopausal and postmenopausal Groups (Aged 45~54)

	n	Stiffness A.M. (S.D.)	Hyp/Cr(mg/gCre) G.M. (G. S. D.)
Premenopausal	21	75.3 (9.2)	28.8(1.45)
Postmenopausal	30	73.4(11.6)	43.7(1.52)***
Naturally	23	71.4 (7.9)	46.2(1.53)***
Operative	7	79.9(18.8)	36.1(1.41)

n;Number, A.M.;Arithmetic mean  
S.D.;Standard deviation, G.M.;Geometric mean  
G.S.D.;Geometric standard deviation  
\*\*\*;p<0.001 Significantly different from the premenopausal group

の Stiffness と Hyp/Cr を比較した (Table 3)。Stiffness は、自然閉経者でやや低い傾向にあったものの未閉経者と有意な差はなかったが、Hyp/Cr は未閉経者に比べて自然閉経者で有意に高い値を示した (p<0.001)。また、手術等による閉経者群は、Stiffness, Hyp/Cr とも未閉経者と有意な差はなかった。

生活習慣等との関連

日常の活動の程度、運動習慣の有無、過去 (学生時代) の運動習慣の有無によって Stiffness, Hyp/Cr を比較した (Table 4)。日常の活動の程度による比較では、Stiffness は全体でも50歳前後で2群に分けた場合も、「よく体を動かす」

と答えた者と「あまり動かさない」と答えた者とは、ほとんど違いはみられなかった。一方 Hyp/Cr は、全体で「よく体を動かす」と答えた者がやや高い傾向を示したが、これは「よく体を動かす」群では50歳以上の者の割合が多かったためと思われる。また過去の運動歴では、「有り」と答えた者で Hyp/Cr がやや低い傾向がみられたものの、今回は運動の状況の違いによる Stiffness, Hyp/Cr への影響を見いだすことはできなかった。

次に、食生活状況との関連をみるため、食品の摂取量による比較を行なった。Table 5 にその結果を示したが、「牛乳」では摂取量の多少によって Stiffness と Hyp/Cr に差はみられなかった。

Table 4. Stiffness of the Calcaneus (1) and Urinary Hydroxyproline (2)  
by Physical Activity and Habitual Physical Exercise

		(1) Stiffness					
		n	All age A.M. (S.D.)	31-49 Age group n	A.M. (S.D.)	50-72 Age group n	A.M. (S.D.)
Physical activity in daily life	High	115	67.2(10.2)	19	75.1(10.5)	96	65.6 (9.5)
	Low	60	69.9(11.2)	21	78.5(10.7)	39	65.3 (8.5)
Habitual physical exercise	Yes	50	68.1(12.2)	10	76.3(14.6)	40	66.1(10.7)
	No	128	68.1(10.0)	30	77.0 (9.2)	98	65.4 (8.6)
Habitual exercise in past time	Yes	46	70.1(12.2)	19	77.6(11.0)	27	64.9(10.3)
	No	132	67.4(10.0)	21	76.2(10.5)	111	65.7 (9.0)

		(2) Urinary Hyp/Cr					
		n	All age G.M. (G.S.D.)	31-49 Age group n	G.M. (G.S.D.)	50-72 Age group n	G.M. (G.S.D.)
Physical activity in daily life	High	115	40.2 (1.53)	19	27.6 (1.47)	96	43.3 (1.49)
	Low	60	35.2 (1.57)	21	27.2 (1.39)	39	40.6 (1.56)
Habitual physical exercise	Yes	50	40.1 (1.56)	10	27.8 (1.44)	40	43.9 (1.52)
	No	128	38.5 (1.55)	30	29.3 (1.41)	98	41.9 (1.51)
Habitual exercise in past time	Yes	46	35.1 (1.63)	19	27.6 (1.49)	27	41.5 (1.63)
	No	132	40.4 (1.51)	21	29.9 (1.36)	111	42.7 (1.49)

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

これに対し、“魚介類”の摂取量の多い者でStiffnessが高く ( $p<0.05$ ), 50歳未満と50歳以上の年齢層に分けても同様の結果であった。また、50歳未満では“肉加工品”を多く摂取する者でもStiffnessが高い傾向であった。一方“緑黄色野菜”では、摂取量の少ない者の方がStiffnessが高くHyp/Crは低い値を示した ( $p<0.01$ ,  $p<0.05$ )。同様の傾向は“果物”についてもみられた。

#### 考 察

骨密度の測定に関して、超音波法では、DXA法で測定される腰椎や大腿骨の骨密度などとは性質の異なった、いわば骨の強度を測定している。

この骨強度=Stiffnessを骨密度の指標として、尿中Hypとの関連や、これらと様々な変動要因との関連について検討した。

踵骨のStiffnessは、年齢との関連がよく、早い時期から加齢にともなって低下が見られると報告されている[4]。今回の調査では30歳代と40歳代では変化はみられなかったが、50歳以降年齢の上昇にともなって急激に低下することがわかった。しかも50歳代以降は平均値が“要指導”のカットオフ値71[5]を下回っており、最大骨量を高めてそれを維持する努力が大切であることを、早い時期から指導していく必要があると思われる。骨吸収の指標である尿中Hypは、これまでの調査[3]と同様に50歳代で高値となり、以後高い値のまま推移することから、50歳代以降で骨吸収の昂進状態が維持されていると考えられた。



Table 5. Stiffness of the Calcaneus (1) and Urinary Hydroxyproline (2)  
by Daily Food Intake

		(1) Stiffness					
Daily food intake		n	All age A.M. (S.D.)	31-49 Age group n A.M. (S.D.)	50-72 Age group n A.M. (S.D.)		
Milk	200ml<	93	67.2(10.3)	18	76.1(13.3)	75	65.1 (8.2)
	100ml>	85	69.1(11.0)	22	77.5 (8.1)	63	66.1(10.4)
Fish and shellfish	70g<	152	68.9(10.6) □*	35	77.6(10.6)	117	66.2 (9.2) □*
	35g>	26	63.6 (9.8) □*	5	71.4(10.3)	21	61.7 (8.9) □*
Processed meat	20g<	68	68.5(10.9)	16	80.8 (9.9)	52	64.7 (7.9)
	10g>	110	67.9(10.6)	24	74.2(10.4)	86	66.1(10.0)
Green vegetables	100g<	156	67.2 (9.8) □**	29	74.7 (9.2) □*	127	65.5 (9.1)
	50g>	22	74.4(14.2) □**	11	82.6(12.3) □*	11	66.1(11.0)
Fruit	150g<	144	67.5(10.0)	29	74.7 (9.1) □*	115	65.7 (9.4)
	75g>	34	70.7(12.8)	11	82.5(12.7) □*	23	65.1 (8.5)

		(2) Urinary Hyp/Cr					
Daily food intake		n	All age G.M. (G.S.D.)	31-49 Age group n G.M. (G.S.D.)	50-72 Age group n G.M. (G.S.D.)		
Milk	200ml<	93	38.5 (1.60)	18	25.8 (1.43)	75	42.4 (1.56)
	100ml>	85	38.8 (1.50)	22	28.8 (1.42)	63	43.2 (1.45)
Fish and shellfish	70g<	152	38.4 (1.56)	35	27.0 (1.45)	117	42.6 (1.51)
	35g>	26	40.5 (1.51)	5	29.9 (1.22)	21	43.5 (1.52)
Processed meat	20g<	68	40.1 (1.55)	16	28.4 (1.41)	52	44.5 (1.51)
	10g>	110	37.8 (1.55)	24	26.7 (1.44)	86	41.7 (1.51)
Green vegetables	100g<	156	39.9 (1.56) □*	29	28.2 (1.47)	127	43.2 (1.51)
	50g>	22	30.9 (1.04) □*	11	25.2 (1.27)	11	37.8 (1.43)
Fruit	150g<	144	39.5 (1.53)	29	28.2 (1.44)	115	43.0 (1.49)
	75g>	34	35.4 (1.63)	11	25.4 (1.39)	23	41.4 (1.62)

n; Number, A.M.; Arithmetic mean, S.D.; Standard deviation, G.M.; Geometric mean  
G.S.D.; Geometric standard deviation, \*; p<0.05, \*\*; p<0.01

女性の骨量の変動には年齢と閉経が大きな影響を与えることが知られている [6]。今回、同年代の未閉経者と閉経者で比較したところ、Stiffness には差がみられなかったが、Hyp は閉経者が有意に高かった (Table 3)。自然閉経者の平均閉経後年数は  $3.2 \pm 2.1$  年であり、閉経後 5 年までは同年代の未閉経者と Stiffness に差はなかったとの報告 [7] もあることから、Stiffness の変化に先んじて、閉経後の早い時期に骨吸収の昂

進は起きていると考えられる。

骨量の維持を考えるうえで、加齢と閉経は避けることはできないので、骨の健康にとって好ましい生活習慣とはどのようなものかを考えることは重要であり、中でも適度な運動の継続とカルシウムの摂取が、骨に好影響を与える因子として奨励されている。土屋らは、中高年女性について、Stiffness と現在の運動の頻度との間に関連がみられたと報告し [8]、我々も以前の調査で、運

動習慣が尿中Hypの増加を押さえ、骨代謝に好影響を与える可能性を示した[9, 10]。今回、日常の活動の程度、現在と過去(学生時代)の運動習慣の有無による比較を行なったが、StiffnessとHypについて加齢による影響以上の変動は見いだせなかった。カルシウム摂取との関連では、牛乳の摂取量の違いによる差はみられず、表には示していないが乳製品や小魚などについても同様であった。これに対し、魚介類や肉加工品の摂取が多い者でStiffnessが高く、緑黄色野菜や果物では摂取量の少ない者の方がStiffnessが高いという結果が得られた。また、魚介類や肉加工品を多く摂る者では、少ない者に比べて身長、体重が多い傾向にあり、緑黄色野菜や果物では逆に摂取量の少ない者の方がやや身長が高い傾向であったことから、このような食生活習慣の違いによる体格の差が、Stiffnessの差につながっているのかもしれない。一方、尿中のHypについては、食品の摂取量の違いによる差を明らかにすることはできず、食生活習慣による影響はStiffnessとは異なると考えられる。

今回の踵骨Stiffness値の測定結果から、50歳以上では半数以上の者が“要指導”の対象になっており、今後、追跡調査を行なって、生活習慣の変化と骨代謝への影響についてさらに検討していきたい。

## 文 献

1. 福永仁夫, 武田直人(1993). 医学のあゆみ, 165, 625-628.
2. 池田真吾, 大沢誠喜, 鈴木孝人, 加納堯子, 溝口勲(1987). 東京衛研年報, 13, 171-176.
3. 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 伊木雅之, 日下幸則, 梶田悦子, 鏡森定信(1994). 富山衛研年報, 17, 155-160.
4. 島田直樹, 近藤健文, 等々力達也, 高橋 譲(1995). 日衛誌, 50(1), 461.
5. 骨粗しょう症予防対策指導者マニュアル. 富山県厚生部
6. 梶田悦子, 伊木雅之, 西野治身, 土肥祥子, 森山忠重, 飛田芳江, 出口洋二, 日下幸則, 緒方 昭(1994). 日衛誌, 49, 674-683.
7. 長瀬博文, 広川 渉, 岡沢孝雄, 吉田雅美, 段志軍, 中村裕之, 荻野恵規(1995). 日本公衛誌, 42(10), 860.
8. 土屋久幸, 横山英世, 三宅健夫, 野崎貞彦(1995). 日本公衛誌, 42(10), 871.
9. 西野治身, 田中朋子, 梶田悦子, 伊木雅之, 土肥祥子(1993). 日衛誌, 48(1), 237.
10. 堀井裕子, 西野治身, 田中朋子, 林 徹雄, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信(1993). 富山衛研年報, 16, 152-155.

## 高齢女性における骨代謝指標および 腰椎骨密度と活動度との関連

田中 朋子 西野 治身 堀井 裕子  
熊西 忠郎 鏡森 定信<sup>1</sup>

The Relationship between the Biochemical Markers  
of Bone Metabolism or Bone Mineral Density  
and Physical Activity in the Elderly Women

Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO, Yuko HORII,  
Tadaro KUMANISHI and Sadanobu KAGAMIMORI<sup>1</sup>

**要 旨** 整形外科病院に入院している60歳以上の女性を活動度の違いにより自力歩行者、介助歩行者、寝たきり患者に分け、骨形成指標 (B-AIP, BGP)、骨吸収指標 (Hyp/Cr, DPyr/Cr) および腰椎骨密度 (BMD) を測定し、以下の結果を得た。

1. 骨形成指標のうち BGP は寝たきり患者が自力歩行者、介助歩行者に比べ高値を示した。
2. 骨吸収指標は寝たきり患者が自力歩行者、介助歩行者に比し高く骨吸収が亢進していた。
3. BMD は寝たきり患者が自力歩行者に比し低値を示したが、介助歩行者は自力歩行者と同レベルであった。
4. 自力歩行者、介助歩行者の BMD は体重の多いものほど高値を示したが、寝たきり患者では関連は認められなかった。

前報 [1] で、骨粗しょう症患者を活動度の違いにより、寝たきり患者と歩行器等の介助で歩行が可能な介助歩行者に分け、骨代謝の違いを調べたところ、寝たきり患者は尿中ハイドロキシプロリン (以下 Hyp) の排泄が増加しており、骨吸収が亢進していた。しかし、介助歩行者では Hyp の増加が認められず、歩行が骨吸収を抑制していると述べた。

今回は寝たきり患者、介助歩行者の腰椎骨密度 (BMD) を測定し、骨形成、骨吸収指標との関連を解析した。その際、新たに骨形成指標としてオステオカルシン (BGP)、骨吸収指標としてデオ

キシピリジノリン (DPyr/Cr) を加え検討した。

### 対象および方法

対象者は富山市内の整形外科病院に入院している60歳以上の女性21名であり、これらを活動度の違いにより自力歩行が可能な自力歩行群11名、歩行器等の介助により歩行が可能な介助歩行群5名、寝たきり群5名 (寝たきり期間は2ヵ月~106ヵ月) に分けた。

尿は早朝尿を用い、採血は尿採取日の昼食前に

1. 富山医科薬科大学保健医学

行った。

検査した項目は、血液では骨形成指標として骨型アルカリフォスファターゼ (B-AIP), BGP, 尿では骨吸収指標として Hyp, DPyr であり両指標ともクレアチニン (Cr) で補正した。なお, BGP, Hyp/Cr, DPyr/Cr の解析には幾何平均値を用いた。各項目について, B-AIP は窪田の方法 [2], BGP はサンドイッチ EIA 法 (帝人社製キット) により Intact BGP のみを定量, Hyp は池田らの方法 [3], DPyr は HPLC 法, Cr は Folin-Wu 法により測定した。BMD は第2から第4腰椎骨密度を二重エネルギー X線吸収法によって測定し, その平均骨密度とした。

結 果

①活動度別身体状況および骨代謝指標について

各群の年齢, 身体状況, 各生化学指標の平均値を Table 1 に示した。各群の平均年齢に違いはみられなかった。身長, 体重については介助歩行群は自力歩行群と同レベルであったが, 寝たきり群は身長は低い傾向を示し, 体重は両群に比し有意に低かった (p<0.05)。

骨形成指標について, B-AIP は介助歩行群, 寝たきり群が有意差はないが高い傾向を示し, BGP は寝たきり群が自力歩行群, 介助歩行群に比べ, 高値を示した (各々 p<0.05, p<0.01)。

Table 1. Physical Characteristics, Biochemical Markers of Bone Metabolism and Bone Mineral Density in Each Walking Stage

	Walking stage		
	I (n=11)	II (n=5)	III (n=5)
Age (year)	80.8 ± 6.95	77.6 ± 9.18	83.2 ± 8.17
Height (cm)	147.1 ± 5.47	148.2 ± 4.38	137.8 ± 6.87
Weight (kg)	43.9 ± 8.90	45.1 ± 9.36	37.7 ± 10.58
B-AIP (U/l)	1.14 ± 0.49	1.88 ± 0.55	1.82 ± 0.89
BGP# (ng/ml)	5.50 ± 1.49	7.21 ± 1.87	15.38 ± 1.34
HYP/Cr# (ng/gcr)	25.4 ± 1.59	45.1 ± 1.60	76.2 ± 1.66
D-PY/Cr# (nmol/mmolCr)	5.71 ± 1.42	5.82 ± 1.47	10.62 ± 1.47
BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.659 ± 0.107	0.575 ± 0.113	0.505 ± 0.088

I : Able to walk independently  
 II : Able to walk with mechanical aid or with personal help  
 III : Cannot walk either with mechanical aid with personal help  
 \* : p<0.05 , \*\* : p<0.01  
 # : Geometric mean ± geometric standard deviation

骨吸収の指標については、Hyp/Cr は自力歩行群に比べ寝たきり群が高値を示し ( $p < 0.01$ ), DPyr/Cr は寝たきり群が自力歩行群, 介助歩行群に比し有意に高かった (各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ).

BMD は, 寝たきり群は自力歩行群に比し有意に低値を示した ( $p < 0.05$ ).

## ② BMD と身体状況, 骨代謝指標との関連

BMD と年齢, 身長, 体重, 骨代謝指標との相関を Table 2 に示した。全対象者については身長, 体重と正の相関 (各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) がみられ, B-AIP, Hyp/Cr と負の相関が認められた (各々  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )。各群に分けてみると, 自力歩行群では体重と正の相関 ( $p < 0.05$ ), 年齢と負の相関が認められ ( $p < 0.05$ ), 介助歩行群では体重と有意ではないが関連がみられ ( $p < 0.1$ ), B-AIP とは負の相関 ( $p < 0.05$ ) が認められた。しかし, 寝たきり群では各項目との関連は得られなかった。

## 考 察

### ① 活動度別骨代謝指標について

骨形成指標について, B-AIP は介助歩行者, 寝たきり患者が自力歩行者に比べ高い傾向を示した。BGP は寝たきり患者が自力歩行者, 介助歩行者に比し有意に高値を示した。前回の調査では, 寝たきり患者の B-AIP 高値は認められなかった。高齢の骨粗しょう症患者における骨代謝は, 閉経期の骨粗しょう症における骨代謝 (骨吸収の亢進のみならず骨形成も亢進する高回転型) とは異なり骨吸収の亢進はあるが, 骨形成の亢進が起こりにくいのではないかと考察した [1]。しかし, 今回, 寝たきり患者の骨形成指標 (BGP) は高値を示した。BGP は腎機能の低下によっても高値を示すといわれている [4]。そこで, 寝たきり患者の血中クレアチニン, 尿素窒素との関連を調べたが (データなし), 寝たきり患者の両指標は他の2群とほぼ同レベルであり, BGP との相関も認められなかった。このことから, BGP 高値は腎機能の低下によるというより, むしろ, 骨吸収の亢進に対する二次的なものではないかと考えた。いずれにしても, 今回の調査では寝たきり患者の例数が少ないこともあり, 今後さらに例数を増やして検討したいと考えている。

骨吸収指標について, 前回の調査では Hyp/Cr

Table 2. Relationship between Bone Mineral Density and Biochemical Markers of Bone Metabolism in Each Walking Stage

	Walking stage			Total (n=21)
	I (n=11)	II (n=5)	III (n=5)	
Age	-0.642*	0.010	-0.155	-0.390
Hight	0.545	0.582	0.575	0.631**
Weight	0.608*	0.809	0.352	0.658***
B-AIP	0.120	-0.922*	-0.337	-0.500*
BGP#	0.003	-0.421	0.824	-0.379
HYP/Cr#	-0.155	-0.777	0.235	-0.436*
D-PY/Cr#	-0.155	-0.679	-0.277	-0.238

I: Able to walk independently

II: Able to walk with mechanical aid or with personal help

III: Cannot walk either with mechanical aid or with personal help.

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

#: Geometric mean

のみを測定し、寝たきり患者では骨吸収が亢進しているのに対し、介助による歩行をおこなっているものでは骨吸収の亢進が抑えられていることを示した。今回の調査でも Hyp/Cr については、寝たきり患者のみが高値を示し、前回と同じ結果が示された。さらに、新たに加えた DPyr/Cr についても Hyp/Cr と同様の動きを示した。これらの結果から、寝たきりによる骨吸収の亢進と、介助歩行による抑制がより明らかとなった。

BMD について、寝たきり患者の BMD は自力歩行者に比べ低値を示しており、骨吸収亢進の結果として BMD が低下したと考えられた。一方、介助歩行者については、BMD の低下は認められていないが、歩行器等による歩行訓練が骨吸収を抑制し、その結果として BMD の低下を押さえているものと推察された。

#### ②BMDと身体状況との関連

身体状況との関連について、BMD は体重と正の相関を示すことは知られている [5]。今回の調査でも自力歩行者、介助歩行者（有意ではない）では同様の結果が得られたが、寝たきりでは認められなかった。寝たきりという状態になった者にとって、体重という負荷が必ずしも骨密度に反映しないと考えられた。

#### ③BMDと骨代謝指標との関連

次に、骨代謝指標との関連について、自力歩行者では BMD と骨代謝指標の間には骨形成、骨吸収ともに関連は認められなかった。自力歩行者は各骨代謝指標がいずれも低レベルでありバラツキが小さかったため、関連が認められなかったのではないかと推察される。

寝たきり患者については、骨吸収、骨形成がともに亢進しているにも関わらず、BMD と骨代謝指標との関連は認められなかった。このことについては、骨密度は過去から現在に至るまでの骨代謝の結果としてとらえられるのに対し、骨代謝指

標は現在の骨代謝状態を表していると考えており [6]、現在の骨密度を反映するというよりはむしろ将来の低下を予測する指標となる可能性が高いと考えられる。

介助歩行者の BMD は B-AIP と負の相関を示し、他の骨代謝指標も同様の傾向が認められ、介助歩行者の中でも BMD 低値者では骨代謝が活発になっていると考えられた。しかし、寝たきり患者と異なり骨吸収の亢進は認められず、将来、BMD の低下が急激に進むとは考えられなかった。

謝辞：今回の調査に対して、多大なご協力をいただいた西能病院の西能院長、金谷智恵子看護部副部長他関係の方々に深く感謝いたします。

#### 文 献

1. 田中朋子, 堀井裕子, 西野治身, 鏡森定信 (1995). 富山衛研年報, 18, 173-176.
2. 窪田一男 (1989). J. Nara Med. Ass. 40. 202-217.
3. 池田真吾, 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.
4. 清野佳紀, 神崎 晋, 細田健治 (1993). THE BONE. 17. 33-36.
5. 小山英則, 西沢良記 (1993). 医学のあゆみ. 165, 601-605.
6. 西野治身, 伊木雅之, 田中朋子, 土肥祥子, 梶田悦子, 日下幸則, 鏡森定信 (1994). 日衛誌, 49, 807-815.

## 思春期における運動と骨代謝指標との関連

堀井裕子 田中朋子 西野治身 熊西忠郎  
山上孝司<sup>1</sup> 成瀬優知<sup>2</sup> 鏡森定信<sup>1</sup>

Correlation between Exercise and Biochemical  
Markers of Bone Metabolism in Adolescence

Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO,  
Tadaro KUMANISHI, Takashi YAMAGAMI<sup>1</sup>,  
Yuchi NARUSE<sup>1</sup> and Sadanobu KAGAMIMORI<sup>1</sup>

**要旨** 高校3年生198名(男子75名, 女子123名)の血清骨型アルカリフォスファターゼ(B-AIP)活性および尿中ヒドロキシプロリン(Hyp/Cr)濃度と運動クラブ活動の有無およびスポーツテスト成績との関連を検討し, 以下の結果を得た。

1. 運動クラブ活動の有無別では, 男子では血清B-AIPに違いはみられなかったが, 尿中Hyp/Crは運動クラブ活動をしているもので低い傾向を示した。女子では両骨代謝指標共に差は認められなかった。

2. スポーツテストとの関連では得点が高いものは, 男子では尿中Hyp/Crが有意に低値であった。女子では尿中Hyp/Crが低い傾向を示し, さらに血清B-AIPが高値を示した。

我々は前報[1]で, 成長期の高校生では骨形成指標である血清中の骨型アルカリフォスファターゼ(B-AIP)および骨吸収指標とされる尿中ヒドロキシプロリン(Hyp)が共に身長伸びと正相関を示し, 成長と関連していることを報告した。

今回は, 成長期の運動が骨代謝にどのような影響を与えるかを検討するため, 運動実施状況の指標として, 運動クラブ活動の有無およびスポーツテスト成績を用い, それらと骨代謝指標との関連を前報と同一対象者について解析した。

### 対象および方法

対象は前報[1]で述べたように富山県内の高校生男女で, 3年生時に尿, 血液検査のできた男子75名, 女子123名である。

検査した項目は血清中の骨型アルカリフォスファターゼ(B-AIP), 早朝尿中ヒドロキシプロリン(Hyp), クレアチニン(Cr)で, 尿中Hypはクレアチニンで補正し(Hyp/Cr), 以下の解析では幾何平均値を用いた。それぞれの測定方法は既に報告した[1]とおりでである。

運動クラブ活動の有無はアンケートによって調べた。スポーツテスト成績は反復横とび, 垂直とび, 背筋力, 握力, 伏臥上体そらし, 立位体前屈, 踏み台昇降の成績と以上7項目を総合した体力診断テスト合計得点, および, 50m走, 走り幅とび,

1. 富山医科薬科大学保健医学 2. 富山医科薬科大学地域看護学

ハンドボール投げ、懸垂、持久走の成績とそれらの5項目から算出した運動能力テスト合計得点を用いた。

身長、体重は高校2年生時、3年生時の4月の測定値を用い、3年生時の値から2年生時の値を引いたものを各々の変化量とした。

## 結 果

Table 1 に対象者の身体計測値および尿、血清中骨代謝指標値を示した。2年、3年生時の身長、体重および各々の変化量(3-2年生時値)はすべて男子が女子より有意に高値であった( $p < 0.001$ )。骨代謝指標値は血清 B-AIP 活性値、尿中 Hyp/Cr 濃度ともに男子が高値を示した( $p < 0.001$ )。

我々は、すでに成長期の骨代謝指標は血清 B-AIP、尿中 Hyp/Cr 共に身長の伸びと正の相関があることを報告した [1]。今回の対象についての骨代謝指標と身長の変化量との相関係数は、男子では血清 B-AIP は  $r=0.409$  ( $p < 0.001$ )、尿中 Hyp/Cr は  $r=0.251$  ( $p < 0.05$ ) であり共に有意な正相関を示した。一方、女子では身長変化量と

の相関は血清 B-AIP は  $r=0.176$ 、尿中 Hyp/Cr は  $r=0.134$  でいずれも有意な相関は認められなかった。

このように男子では両骨代謝指標は身長の伸びと正相関を示したので、運動と骨代謝指標との関連を検討する際に、男子については身長の伸びの影響を最小限にするため、身長の伸びが平均値(年0.9cm以下)以下を示す比較的少ない者47名を抽出して行なった。

Table 2 に運動クラブ活動の有無別に骨代謝指標値を比較した。男子では血清 B-AIP には運動クラブ活動の有無で違いはなかったが、尿中 Hyp/Cr は運動クラブ活動有りの者が低い傾向を示した( $p < 0.1$ )。女子では両骨代謝指標共に有意差が認められなかった。

次に、スポーツテスト成績との関連を検討した。対象者における各スポーツテスト成績を Table 3 に示した。体力診断テストでは反復横とび、垂直とび、背筋力、握力は男子が女子より優れていたが、柔軟性では、上体そらしは男子と女子は同成績で、立位体前屈は女子が男子より優れていた。運動能力テストでは50m走、走り幅とび、ハンドボール投げの成績は男子が女子より優れていた。

各スポーツテスト成績と骨代謝指標との相関係

Table 1. Physical Characteristics and Biochemical Makers of Bone Metabolism in Subjects

School year		Boys n=75 A. M. ±S. D.	Girls n=127 A. M. ±S. D.
Height	2nd	170.8±5.1	158.1±5.3***
	3rd	171.6±5.2	158.4±5.5***
	3rd-2nd	0.9±0.9	0.4±0.5***
Weight	2nd	60.6±9.2	53.4±6.6***
	3rd	62.2±9.5	53.4±6.3***
	3rd-2nd	1.6±2.2	0.0±2.2***
B-AIP	3rd	2.4±0.9	1.3±0.3***
Hyp/Cr <sup>#</sup>	3rd	65.5(1.4)	48.4(1.4)***

n: Number, A. M.: Arithmetic mean, S. D.: Standard deviation  
#: Geometric mean (Geometric Standard deviation)  
\*\*\* Significantly different from the boys at  $p < 0.001$



Table 2. Levels of Biochemical Markers of Bone Turnover by Sport Club Activities

Sex	Sport club	n	B-AIP	Hyp/Cr
			(BLU) A.M. ± S.D	(mg/gCre) G.M. (G.S.D.)
Boys	Yes	23	2.2±0.7	57.8(1.31)
	No	24	2.2±0.6	66.8(1.26)
Girls	Yes	50	1.3±0.3	49.3(1.51)
	No	70	1.3±0.3	47.5(1.36)

+ p<0.1  
 n: Number, A.M.: Arithmetic mean  
 S.D.: Standard deviation  
 G.M.: Geometric mean  
 G.S.D.: Geometric Standard deviation

数を Table 4 に示した。男子では、血清 B-AIP は上体そらしとの間に負の相関のみ認められたが、尿中 Hyp/Cr は上体そらし、踏み台昇降、体力診断テスト合計得点、運動能力テスト合計得点と

有意な負の相関、50m走と正の相関を示した。女子では血清 B-AIP は反復横とび、垂直とび、背筋力、体力診断テスト合計得点、走り幅とび、ハンドボール投げ、運動能力テスト合計得点と正の相関、50m走、持久走と負の相関がみられた。女子の尿中 Hyp/Cr は背筋力、握力、踏み台昇降、体力診断テスト合計得点と負の、50m走と正の有意な相関が認められた。そこでさらに、体力診断テストおよび運動能力テストの各々合計得点別に骨代謝指標値を比較した (Table 5, 6)。

体力診断テスト合計得点は男子では19~31点、女子では17~32点に分布していた。この得点を、男女別で合計得点の年齢別判定表 (A~Eの5段階判定) に従い、男子では21点以下 (D~E段階)、22~25点 (C)、26点以上 (A~B) に、女子では20点以下 (D~E)、21~24点 (C)、25点以上 (A~B) の各々3群に分け検討した (Table 5)。その結果、男子は血清 B-AIP は3群に違いが認められなかったが、尿中 Hyp/Cr では合計得点が高いほど低く、26点以上、22~25点群は21点以下

Table 3. Mean Values and Standard deviations of Physical Fitness Performance in Subjects

	Boys		Girls	
	n	A.M. ± S.D.	n	A.M. ± S.D.
Side-step(steps)	47	49±4	116	41±4
Vertical jump(cm)	47	66±7	116	47±6
Back strength(Kg)	46	132±17	117	77±17
Grip strength(Kg)	46	42±5	120	27±5
Trunk extention(cm)	47	55±10	115	55±9
Trunk flex.(cm)	47	9±6	116	11±8
Step test(points)	44	75.1±13.8	113	68.4±13.2
P.F.score(points)	43	25±3	107	24±3
50M dash(sec)	47	6.99±0.36	113	8.70±0.64
Run. long jump(cm)	47	440±41	113	314±38
Ball throw(m)	47	29±5	113	15±4
Pull-ups(fre.)	31	8±6	108	32±11
Endurance run(sec)	47	344±40	107	293±26
M.A.score(points)	31	47±17	104	42±15

n: Number, A.M.: Arithmetic mean, S.D.: Standard deviation  
 Trunk flex.: Standing trunk flexion, P.F.score: Physical fitness score,  
 Run. long jump: Running long jump, M.A.score: Motor ability score  
 Endurance run: Boys 1500M run, Girls 1000M run

Table 4. Correlation Coefficients between Biochemical Markers of Bone Metabolism and Physical Fitness Performance

	n	Boys		n	Girls	
		B-AIP	Hyp/Cr		B-AIP	Hyp/Cr
Side-step	47	-0.116	-0.120	116	0.274**	-0.100
Vertical jump	47	-0.050	-0.023	116	0.273**	-0.167
Back strength	46	-0.048	-0.287	117	0.186*	-0.248**
Grip strength	46	-0.000	-0.070	120	0.179	-0.200*
Trunk extention	47	-0.353*	-0.289*	115	-0.056	-0.072
Trunk flex.	47	-0.061	-0.130	116	0.129	-0.119
Step test	44	-0.114	-0.346*	113	0.069	-0.195*
P. F. score	43	-0.212	-0.410**	107	0.237*	-0.311**
50M dash	47	-0.004	0.306*	113	-0.198*	0.251**
Run. long jump	47	-0.095	-0.183	113	0.330***	-0.168
Ball throw	47	0.088	-0.155	113	0.280**	-0.120
Pull-ups	31	-0.043	-0.242	108	0.064	0.101
Endurance run	47	0.264	0.285	107	-0.250**	0.149
M. A. score	31	-0.165	-0.457**	104	0.277**	-0.152

\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001 n: Number

Trunk flex.: Standing trunk flexion, P. F. score: Physical fitness score,

Run. long jump: Running long jump, M. A. score: Motor ability score

Endurance run: Boys 1500M run, Girls 1000M run

Table 5. Levels of Biochemical Markers of Bone Turnover by Physical Fitness Score

	Physical fitness score	n	B-AIP (BLU)		Hyp/Cr (mg/gCre)	
			A. M. ± S. D.	G. M. (G. S. D.)	A. M. ± S. D.	G. M. (G. S. D.)
Boys	~21	4	2.8±0.9	86.3(1.2)	* **	
	22~25	24	2.1±0.6	62.2(1.2)		
	26~	15	2.0±0.4	55.7(1.4)		
Girls	~20	7	1.0±0.2	48.3(1.3)	* * *	
	21~24	47	1.2±0.3	54.0(1.5)		
	25~	53	1.3±0.3	44.8(1.4)		

\* p<0.05, \*\* P<0.01

n: Number, A. M.: Arithmetic mean

S. D.: Standard deviation

G. M.: Geometric mean

G. S. D.: Geometric Standard deviation

Table 6. Levels of Biochemical Markers of Bone Turnover by Motor Ability Score

	Motor ability score	n	B-AIP (BLU)		Hyp/Cr (mg/gCre)	
			A. M. ± S. D.	G. M. (G. S. D.)	A. M. ± S. D.	G. M. (G. S. D.)
Boys	~39	11	2.4±0.7	68.2(1.3)	**	
	40~59	13	2.2±0.8	60.5(1.2)		
	60~	7	2.1±0.6	52.0(1.4)		
Girls	~39	52	1.2±0.3	51.9(1.5)	**	
	40~59	36	1.3±0.3	47.5(1.4)		
	60~	16	1.5±0.4	43.6(1.4)		

\*\* P<0.01

n: Number, A. M.: Arithmetic mean

S. D.: Standard deviation

G. M.: Geometric mean

G. S. D.: Geometric Standard deviation

群に比べ共に有意に低値であった。女子では血清 B-AIP は得点が高いもので高値を示し、25点以上群は20点以下群に比べ高かった ( $p < 0.05$ )。一方、尿中 Hyp/Cr は得点が高いものでは低く、25点以上群が21~24点群に比べ有意に低値を示した ( $p < 0.05$ )。

運動能力テスト合計得点は男子は13~83点、女子では9~81点に分布していた。この得点を級別判定表(1~5級)に従い、男女共に39点以下(4~5級)、40~59点(3級)、60点以上(1~2級)の3群に分け骨代謝指標を比較した(Table 6)。男子については血清 B-AIP に違いは認められなかった。尿中 Hyp/Cr は有意ではないが得点が高いものほど低い傾向を示した。女子では血清 B-AIP は得点が高いもので高値を示し、60点以上群は39点以下群に比べて有意に高かった ( $p < 0.01$ )。また、尿中 Hyp/Cr は男子と同様得点が高いものほど低くなる傾向がみられた。

## 考 察

我々は前報において、高校2年生時では血清 B-AIP および尿中 Hyp/Cr の両骨代謝指標は男女共に身長の変化量と正の相関があることを報告した[1]。しかし今回の解析では、男子については骨代謝指標と身長変化量とに正の相関がみられたが、女子では関連が認められなかった。そこで身長の伸びおよび骨代謝指標値を前報の値と比べると、身長の伸びは男子では高校1年生から2年生の間は2.1cmであったのが高校2年生から3年生の間では0.9cmに、女子では0.8が0.4cmへと小さくなっていった。骨代謝指標は男子の血清 B-AIP では2年生時に3.6が3年生時は2.4BLU、尿中 Hyp/Cr は71.3が65.5mg/gCre、女子では血清 B-AIP は1.7が1.3BLU、尿中 Hyp/Cr は43.6が48.4mg/gCre となっており低下している項目が多かった。このように特に女子では、身長変化量が0.4cmとほとんど伸びていないため、身長変化量と骨代謝指標に有意な相関がみられなかったものと思われる。また、女子について高校3年生の骨代謝

指標値を30歳代と比較すると、30歳代女性では血清 B-AIP は0.9BLU、尿中 Hyp/Cr は25.1mg/gCre [2] であり、高校3年生の値は成人に比べて高かった。

運動と骨代謝指標との関連では、運動のクラブ活動をしているものでは男子の尿中 Hyp/Cr が低い傾向を示した。以前に、小学生について運動と尿中 Hyp/Cr の関連について解析した結果でも、運動クラブ活動の量が多い者では尿中 Hyp/Cr が179.5mg/gCre でクラブ活動なしの206.7mg/gCre より低値を示しており[3]、高校生でも同様の結果を得た。しかし、女子については運動クラブ活動の有無では骨代謝指標に違いはなかった。そこで、日常の運動量をより正確に反映する指標として、スポーツテスト成績を用いた。スポーツテスト成績と運動との関連について鈴木らは、女子短大一年生では高校時代運動部に所属したものはスポーツテストの成績が平均値よりも優れていたと報告している[4]。また、文部省の平成6年度体力・運動能力調査報告書によると、運動・スポーツの実施状況(週または月あたりの回数による段階分け)および一日の運動・スポーツ実施時間は高校生では男女とも運動能力テストのすべての項目、および体力診断テストのほとんどすべての項目で有意な相関を示したと報告されている[5]。これらのことから、我々はスポーツテスト成績が運動の実施状況を客観的に反映しうると考え、骨代謝指標との関連を検討した。その結果、男子ではスポーツテスト成績が良いものでは尿中 Hyp/Cr が低値を示した。女子では、男子と同じく尿中 Hyp/Cr はスポーツテスト成績が良いもので低い傾向を示し、さらに、血清 B-AIP が高値を示した。以上の運動クラブ活動の有無やスポーツテスト成績と骨代謝指標との関連の結果から、運動を実施しているものでは非運動群に比べ、男女共に骨吸収の抑制が推測され、さらに女子では、骨形成が亢進していると考えられた。

成長期は身長、体重の増加と共に骨量も著しく増加する時期であるといわれ[6]、女子においては高校3年生にあたる18歳前後で腰椎が最大骨量に到達するという報告もある[7]。この骨量

平成8年10月1日

が形成されるときにできるだけ骨量を増やしておくことは、将来における骨粗しょう症の予防に重要であると考えられる。そのためには、まず成長期の骨量増加に有効な要因を見いだすことが必要であろう。今回の検討では骨代謝の面からだけではあるが、運動は成長期において骨吸収を抑制、さらに女子では骨形成を亢進させる可能性が示され、骨量を増大させるのに有効な要因であることが考えられた。今後は骨密度もあわせて検討したい。

## 文 献

1. 堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信 (1995). 富山衛研年報, 18, 177-180.
2. 西野治身, 田中朋子, 土肥祥子, 伊木雅之, 梶田悦子, 日下幸則, 鏡森定信 (1994). 日本衛生学雑誌, 49, 807-815.
3. 堀井裕子, 西野治身, 田中朋子, 林 徹雄, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信 (1993). 富山衛研年報, 16, 152-155.
4. 鈴木 衛, 立身政信 (1993). 日本衛生学雑誌, 47, 1041-1049.
5. 予防医学ジャーナル (1995), 307, 8-20.
6. Hirokazu Tsukahara, Masakatsu Sudo, Tetsuo Nakashima, Yasushi Fujii, Kazutaka Yamamoto, Yasushi Ishii (1993). J. Bone Miner. Met., 11, 17-21.
7. 清野佳紀, 田中弘之, 西山宗六, 井本岳秋, 福永仁夫 (1994). 医学のあゆみ, 170, 1041-1042.

## 成人男性における尿中過酸化脂質排泄量 (TBARS 排泄量) と飲酒・喫煙習慣

新村 哲夫 中崎美峰子 西野 治身 熊西 忠郎  
中川 秀昭<sup>1</sup> 成瀬 優知<sup>2</sup> 鏡森 定信<sup>3</sup>

Urinary Excretion of Thiobarbituric Acid  
Reactive Substances (TBARS) in Male Adults  
in Relation to Drinking and Smoking Habits

Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Harumi  
NISHINO, Tadaro KUMANISHI, Hideaki NAKAGAWA<sup>1</sup>,  
Yuchi NARUSE<sup>2</sup> and Sadanobu KAGAMIMORI<sup>3</sup>

**要 旨** 成人男性の尿中過酸化脂質の濃度や排泄量を測定し、飲酒や喫煙などの生活習慣との関係について明らかにする目的で、富山県内の一工場に勤務する20歳から59歳までの労働者から無作為に選んだ男154名を対象に調査を行った。その結果、中等度以上の飲酒習慣(アルコール換算で1週間あたり200g以上)によって、Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) の24時間尿中濃度および排泄量は、TBARSの血清値と同様に、有意に高値を示した。1日あたり25本以上の重度の喫煙習慣によって、血清TBARS値は変わらなかったが、尿中濃度および排泄量は有意に高値を示し、尿中TBARSが生体の過酸化の指標となることが示唆された。

さきに我々は、成人男性において、喫煙習慣によって血清セレン (Se) 濃度は低値を示し [1], Se含有酵素であり過酸化脂質の消去系として働くグルタチオン・ペルオキシダーゼ (GPX) の血清中活性値も低いことを報告した [2]。また、飲酒習慣によって血清Se濃度は高値を示し [1], 赤血球GPX活性も高値を示すことを報告した [3]。このように、過酸化脂質の消去系に係わるGPX活性の変動がみられたことから、前報において [3], 飲酒習慣による血清中の過酸化脂質の変動について検討し、過酸化脂質の指標である血清中の Thiobarbituric acid reactive sub-

stances (TBARS) が中等度以上の飲酒習慣で高値を示すことを報告した。しかしながら、喫煙習慣による血清中TBARSの変動を明らかにすることはできなかった。

最近、尿中に排泄されるTBARSは、生体内における過酸化の結果生じるものであり、尿中TBARSが脂質過酸化の指標になることを示唆する報告がなされている [4]。そこで、今回は成人男性を対象に、尿中TBARS濃度および排泄量を測定し、飲酒や喫煙習慣との関係について検討したので報告する。

1. 金沢医科大学公衆衛生学 2. 富山医科薬科大学地域看護学 3. 富山医科薬科大学保健医学

## 対 象 と 方 法

調査の対象は、富山県東部にある工場の従業員で、20歳から50歳代の各年代から約40名ずつを無作為に抽出した男154名である。調査は1993年10月から11月にかけて行った。

調査項目として、飲酒習慣と喫煙習慣とについて調べた [5]。飲酒習慣は、調査直前1週間の飲酒量を調査した。アルコール重量に換算して、非飲酒と少量飲酒（1週間あたり50g未満）、軽度飲酒（1週間あたり50g以上200g未満）、中等度以上飲酒（1週間あたり200g以上）の3段階に分けた。喫煙習慣は、1日あたりの喫煙本数を調査し、非喫煙、軽度喫煙（1日あたり25本未満）、重度喫煙（1日あたり25本以上）の3段階に分けた。

測定した項目は、TBARSの尿および血清中濃度である。用いた検体は、労働時間中から蓄尿を開始した24時間尿と、蓄尿終了時に採取した血清である。検体は、測定まで凍結保存した。

TBARSの測定は、八木法（蛍光法、マロンジアルデヒド換算）を用いた [6]。尿中のTBARSは、濃度（クレアチニン補正值）と1日排泄量で表した。

統計学的計算は、統計学パッケージHARUBAUを用いた。

## 結 果

測定したTBARSの24時間尿中の濃度（クレアチニン補正值）および排泄量を Fig. 1 に示した。いずれも、ほぼ正規分布型を示したので、以下の検討は算術平均値を用いた。

Table 1 に、TBARSの尿中濃度および排泄量の年代別の平均値と標準偏差を示した。尿中濃度および排泄量ともに年齢とともに高くなる傾向を示した ( $p < 0.001$ )。

次に、喫煙・飲酒習慣別に尿中TBARS濃度および排泄量について検討した (Table 2, 3)。

Table 2 は、飲酒習慣別の尿中TBARS濃度お

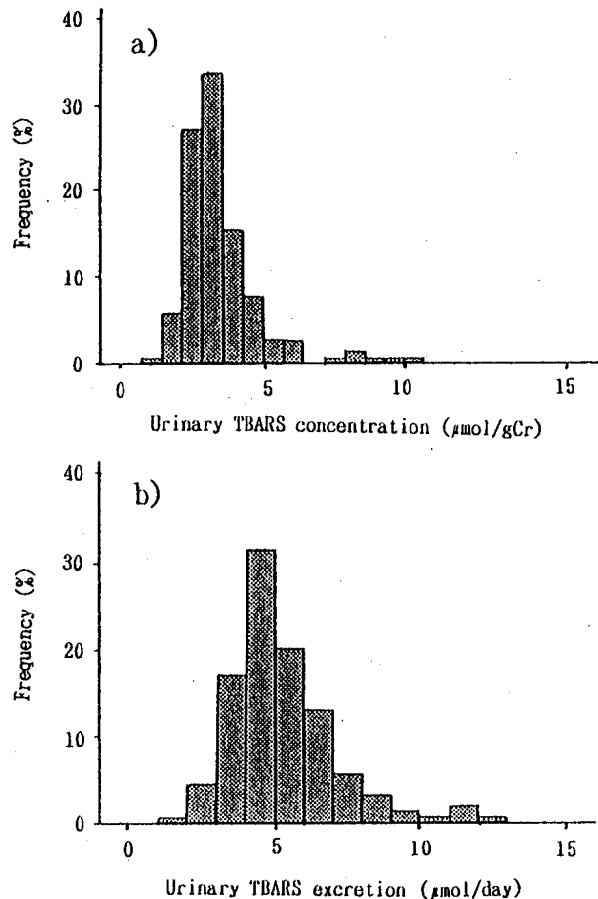


Fig 1. Distributions of Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Concentration and Its Excretion in Urine.

Table 1. Urinary Concentration and Excretion of Thiobarbituric Acid Reaction Substances (TBARS).

Age	No.	Concentration (MDA $\mu\text{mol/gCr}$ )	Excretion (MDA $\mu\text{mol/day}$ )
		M. $\pm$ S.D.	M. $\pm$ S.D.
20 - 29	37	2.68 $\pm$ 0.60	4.65 $\pm$ 1.18
30 - 39	39	3.17 $\pm$ 0.97	5.25 $\pm$ 1.77
40 - 49	38	3.48 $\pm$ 1.09	5.20 $\pm$ 1.74
50 - 59	40	4.27 $\pm$ 1.89***	6.10 $\pm$ 2.22**
Total	154	3.41 $\pm$ 1.37	5.31 $\pm$ 1.85
ANOVA		$p < 0.001$	$p < 0.01$

No., number of subjects; MDA, malondialdehyde.

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

\*\*\*, \*\*\*, significant difference ( $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively) compared with age of 20 - 29.

Table 2. Thiobarbituric Acid Reaction Substances (TBARS) Level in Serum and Its Urinary Concentration and Excretion in Subjects Devided into 6 Groups according to Age and Drinking Habit.

Age(years)	Item	Non or little drinkers (0~50g EtOH/week)			Light drinkers (50~200g EtOH/week)			Heavy drinkers (200g~ EtOH/week)			Total		
		No.	M.	± S.D.	No.	M.	± S.D.	No.	M.	± S.D.	No.	M.	± S.D.
20 - 39	S-TBARS	20	4.58 ± 1.44	36	4.94 ± 1.35	20	5.56 ± 1.22	76	5.01 ± 1.37				
	U-TBARS/C		2.84 ± 0.72		2.84 ± 0.81		3.17 ± 1.03		2.93 ± 0.85				
	U-TBARS/D		4.99 ± 1.44		4.72 ± 1.35		5.35 ± 1.94		4.95 ± 1.55				
40 - 59	S-TBARS	27	5.67 ± 1.65	24	5.35 ± 1.81	27	6.41 ± 1.47	78	5.83 ± 1.68**				
	U-TBARS/C		4.29 ± 1.93		3.18 ± 0.73		4.11 ± 1.68		3.89 ± 1.61***				
	U-TBARS/D		5.73 ± 2.35		4.92 ± 1.39		6.25 ± 2.12		5.66 ± 2.06*				
Total	S-TBARS	47	5.21 ± 1.64	64	5.10 ± 1.55	49	6.04 ± 1.42**	154	5.42 ± 1.58				
	U-TBARS/C		3.67 ± 1.69		2.98 ± 0.79		3.71 ± 1.50*		3.41 ± 1.38				
	U-TBARS/D		5.42 ± 2.03		4.80 ± 1.36		5.87 ± 2.08**		5.31 ± 1.86				

No, number of subjects; M., mean; S.D., standard deviation; S-TBARS, serum TBARS (MDA nmol/ml); U-TBARS/C, urinary concentration of TBARS (MDA μmol/gCr); U-TBARS/D, urinary excretion of TBARS (MDA μmol/day).

\*\* significant difference (p<0.01) compared with non or little drinkers.

\*\*\* significant difference (p<0.05 and p<0.01, respectively) compared with light drinkers.

\*\*\*\* significant difference (p<0.05, p<0.01 and p<0.001, respectively) compared with age of 20 - 39.

ANOVA; S-TBARS, factor drinking, p<0.01; U-TBARS/C, factor drinking, p<0.05; U-TBARS/D, factor drinking, p<0.05.

Table 3. Thiobarbituric Acid Reaction Substances (TBARS) Level in Serum and Its Urinary Concentration and Excretion in Subjects Devided into 6 Groups according to Age and Smoking Habit.

Age(years)	Item	Non-smokers		Light smokers (Cigarettes 1~24/day)		Heavy smokers (Cigarettes 25~/day)		Total		
		No.	M. ± S.D.	No.	M. ± S.D.	No.	M. ± S.D.	No.	M.	± S.D.
20 - 39	S-TBARS	29	4.98 ± 1.44	39	5.03 ± 1.34	8	4.96 ± 1.42	76	5.01 ± 1.37	
	U-TBARS/C		2.98 ± 0.98		2.88 ± 0.82		3.00 ± 0.48		2.93 ± 0.85	
	U-TBARS/D		4.91 ± 1.71		4.92 ± 1.58		5.26 ± 0.63		4.95 ± 1.55	
40 - 59	S-TBARS	30	6.14 ± 1.91	38	5.66 ± 1.65	10	5.55 ± 0.77	78	5.83 ± 1.68**	
	U-TBARS/C		3.70 ± 1.47		3.63 ± 1.27		5.42 ± 2.39		3.89 ± 1.61***	
	U-TBARS/D		5.65 ± 1.97		5.21 ± 1.92		7.43 ± 2.13		5.66 ± 2.06*	
Total	S-TBARS	59	5.57 ± 1.78	77	5.34 ± 1.53	18	5.29 ± 1.11	154	5.42 ± 1.58	
	U-TBARS/C		3.35 ± 1.29		3.25 ± 1.12		4.34 ± 2.16**		3.41 ± 1.38	
	U-TBARS/D		5.29 ± 1.86		5.06 ± 1.75		6.46 ± 1.94**		5.31 ± 1.86	

No, number of subjects; M., mean; S.D., standard deviation; S-TBARS, serum TBARS (MDA nmol/ml); U-TBARS/C, urinary concentration of TBARS (MDA μmol/gCr); U-TBARS/D, urinary excretion of TBARS (MDA μmol/day).

\*\*\* significant difference (p<0.05 and p<0.01, respectively) compared with non-smokers.

\*\* significant difference (p<0.01) compared with light smokers.

\*\*\*\* significant difference (p<0.05, p<0.01 and p<0.001, respectively) compared with age of 20~39.

ANOVA; S-TBARS, factor smoking, no significance; U-TBARS/C, factor smoking, p<0.01; U-TBARS/D, factor smoking, p<0.05.

よび排泄量を20~39歳と40~59歳に分けてみたものである。血清 TBARS 値の成績をあわせて記載した。血清 TBARS 値と同様に、いずれの年齢区分でも、中等度以上の飲酒習慣によって、尿中 TBARS 濃度および排泄量は高値を示し、年齢を加味した分散分析によって有意な結果が得られた (いずれも  $p < 0.05$ )。

Table 3 は、喫煙習慣について、20~39歳と40~59歳に分けてみたものである。1日25本以上の重度の喫煙習慣によって、血清 TBARS 値は変わらなかったが、いずれの年齢区分でも、TBARS の尿中濃度および排泄量は有意に高値を示した (年齢を加味した分散分析結果: 濃度  $p < 0.01$ , 排泄量  $p < 0.05$ )。

Fig. 2 は、尿中 TBARS 排泄量について、喫煙と飲酒の両習慣から全対象者を9グループに分け、

それぞれの平均値を図示したものである。喫煙と飲酒習慣の尿中 TBARS 濃度および排泄量への影響を二元配置分散分析で検討した結果、喫煙と飲酒習慣は独立して尿中 TBARS 濃度および排泄量を高める変動要因であると考えられた (喫煙と飲酒習慣いずれも  $p < 0.05$ )。

TBARS の血清値と尿中排泄量との関係についてみると、両者の間に有意な正の相関が認められた ( $r = 0.339$ ,  $p < 0.001$ )。

### 考 察

尿中 TBARS 濃度や排泄量について大きな集団を調査した疫学的な報告はみあたらないが、Kosugi ら [4] は男女6名について、 $\text{nmol}/$

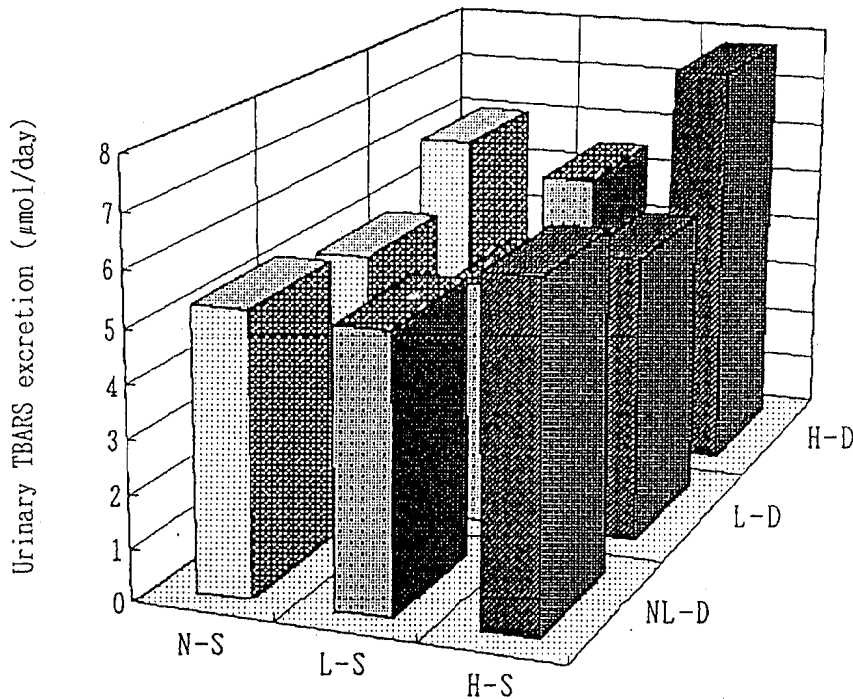


Fig 2. Urinary Excretion of Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) in Relation to Drinking and Smoking Habits.

N-S, Non-smokers; L-S, Light smokers (cigarettes 1~24/day); H-S, Heavy smokers (cigarettes 25~/day).

NL-D, Non or little drinkers (ethanol 0~50g/week); L-D, Light drinkers (ethanol 50~200g/week); H-D, Heavy drinkers (ethanol 200g~/week).



kg·day 値で報告している。それを  $\mu\text{mol/day}$  に再計算すると  $2.0\sim 5.0\mu\text{mol/day}$  となり、今回の尿中 TBARS 排泄量の平均値  $5.31\mu\text{mol/day}$  とは同レベルであった。

前報 [3] において、中等度以上の飲酒（一週間あたりアルコール換算で  $200\text{g}$  以上、日本酒換算で  $7.4$  合以上）習慣を有する者は、血清 TBARS 値が高値を示すことを報告した。今回は、尿中 TBARS 濃度や排泄量も、中等度以上の飲酒習慣を有する者では高値を示すことを明らかにした。このことは、TBARS が過酸化脂質の代謝産物との反応物質であることから、血清や尿中に過酸化脂質の代謝物が多いことを表している。動物実験において、重度のアルコール投与によって、肝臓に過酸化水素や過酸化脂質の生成が報告されており [9]、中等度以上の飲酒習慣によって生体内の脂質過酸化が昂進していることが推測される。

我々のこれまでの調査で、喫煙習慣を有する者の、血清 Se 濃度や GPX 活性が低値を示し [1, 2]、生体内抗酸化機能の低下が示唆されることから、生体内の脂質過酸化が昂進していることを疑い、喫煙習慣による血清 TBARS 値への影響の検討を行ったが、重度の喫煙習慣によっても血清 TBARS 値は変わらなかった [3]。喫煙習慣の血清 TBARS 値への影響については、これまでみられなかったとする報告が多い [7, 8]。しかしながら、今回の尿中 TBARS 濃度および排泄量調査の結果、1日あたり  $25$  本以上の重度の喫煙習慣によって中等度以上の飲酒習慣と同じように、TBARS が増加することが明らかとなった。このことは、重度の喫煙習慣によって体外へ排泄される過酸化脂質の代謝物が多いことを示唆して

おり、重度の喫煙習慣によって生体内でより多くの脂質過酸化が起きている可能性を示している。

これらのことから、尿中の TBARS 濃度や排泄量は、生体内における脂質過酸化の指標となることが示唆された。

## 文 献

1. 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, 156-161.
2. 新村哲夫, 中崎美峰子, 林 徹雄, 中川秀昭, 成瀬優知, 鏡森定信 (1994). 富山衛研年報, 17, 170-175.
3. 新村哲夫, 中崎美峰子, 西野治身, 中川秀昭, 成瀬優知, 鏡森定信 (1995). 富山衛研年報, 18, 181-184.
4. Kosugi, H., Kojima, T. and Kikugawa, K. (1993). *Lipids*, 28, 337-343.
5. INTERSALT Co-operative Research Group (1986). *J. Hypertens.*, 4, 781-787.
6. 島崎弘幸 (1989). 日本臨床, 47 (増刊), 516-520.
7. 坂本峰至, 中野篤浩, 金城芳秀, 若宮純司, 藤崎正, 東 博文, 北野隆雄, 二塚 信 (1992). 日本公衛誌, 38, 399-409.
8. 荒木万嘉, 深瀬 治, 山本昭夫, 藤原月美, 村山ヒサ子, 山口英明, 稲垣裕子, 大河内卓士 (1994). 日本公衛誌, 41, 311-322.
9. Misra, U. K., Bradford, B. U., Handler, J. A. and Thurman, R. G. (1992). *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 16, 839-842.

### 3. 資 料

# 富山県における クレチン症マススクリーニングの状況 —過去5年間の成績—

高橋 雅子 北村 敬

Studies on Neonatal Mass-Screening for  
Congenital Hypothyroidism in Toyama  
Prefecture (April 1990~March 1995)

Masako TAKAHASHI and Takashi KITAMURA

クレチン症は、先天的な甲状腺ホルモンの欠乏により身体の発育遅延と知能低下をきたす疾患であるが、新生児期の早期発見、早期治療により、心身障害の発生の予防が可能である。わが国では本症の新生児スクリーニングを昭和54年から行政レベルで実施しており、心身障害防止に大きな成果を挙げている。

一方、スクリーニング方法がRIA法からELISA法にかわり、より高感度化するに伴って、甲状腺機能異常症の様々な病態が明らかになってきた。

富山県では、昭和55年よりスクリーニングを開始し、平成6年度までの15年間で48人の患者を発見している。スクリーニング方法は昭和63年度まではRIA法、平成元年度からはELISA法で行われている。なお、検査は外部委託されているが、事務処理、判定、フォローアップは、当所で行っている。

今回、平成2年度から平成6年度までの5年間の実施状況およびこの期間に発見された非典型的なクレチン症と思われる症例を報告する。

判定基準；図1に、富山県におけるクレチン症マススクリーニングのシステムおよび判定基準を示す。再採血要求時のカットオフ値はTSH  $8 \mu\text{U}$

$\mu\text{U}/\text{ml}$ 、初回検体の精検依頼時のカットオフ値は $30 \mu\text{U}/\text{ml}$ 、再採血検体の精検依頼時のカットオフ値は $8 \mu\text{U}/\text{ml}$ に設定した。

結果および考察；各年度毎のスクリーニング成績を表1に示した。5年間で、53,539人を検査した結果、22人の患者を発見した。本県における患者発生頻度は $1/2,400$ となり、全国平均の $1/3,700$ に比べると高い傾向が見られる。

図2には、各年度毎の再採血率と精密検査率の推移をグラフに示した。再採血率は平成2年度が1.79%、平成3年度はさらに高くなり2%を上回ったことから調査したところ、ヨード含有消毒剤の影響が認められた[1]。その後ヨード含有消毒剤を使用していた医療機関に対し、他の消毒剤に変更するよう勧奨したところ、平成4年度以降の再採血率は低下した。

表2には、要精密検査者の検査結果を示した。当所では、フォローアップシステムとして、マススクリーニングの結果要精密検査となった症例について、精密医療機関に精密検査結果報告書を郵送し、精密検査の経過および診断名を記入して返送してもらうことにより、症例のマススクリーニング後の経過、検査結果を把握している。ここに示した結果は、その診断名に基づくものである。患者22人の病型は、確定されていない例が多かつ

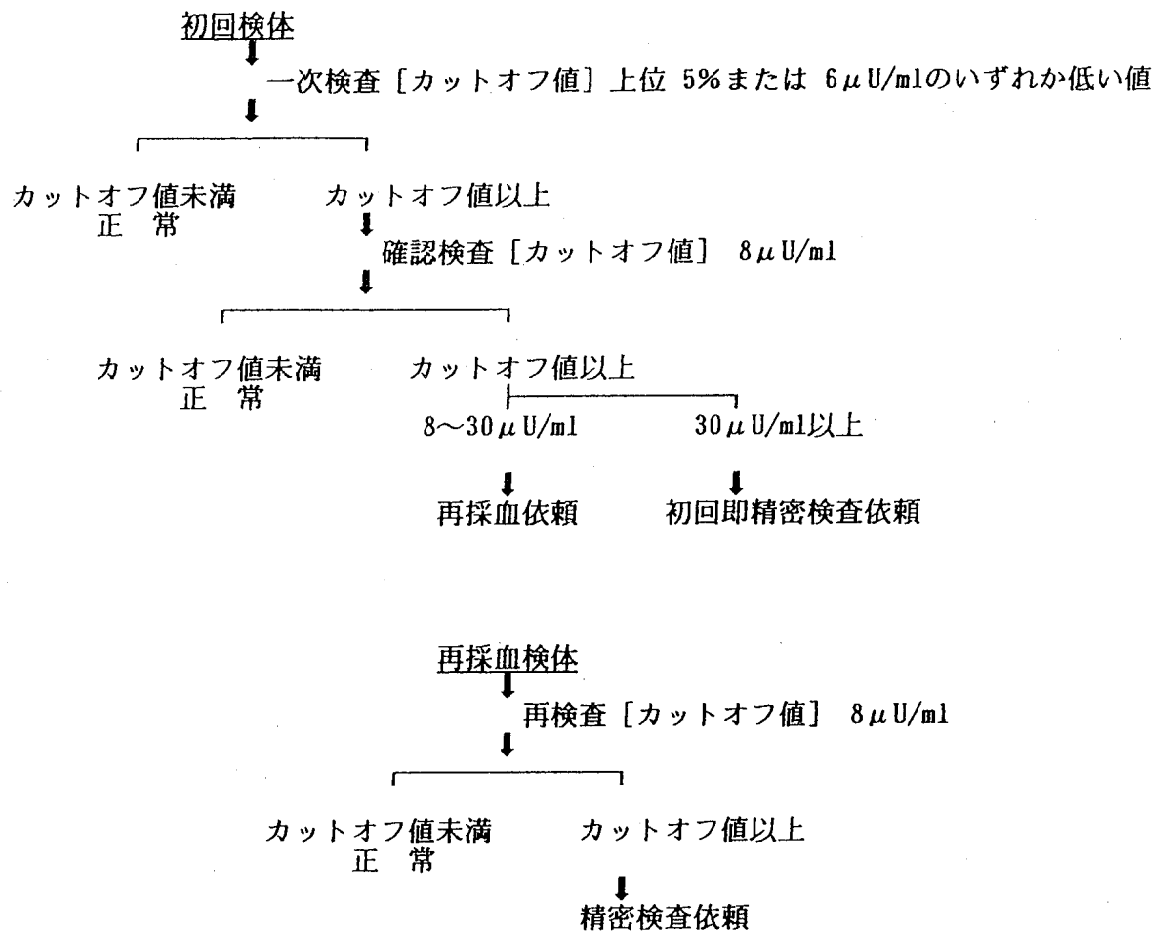


図1. マスクリーニングシステムおよび判定基準

表1. マスクリーニング成績

年度	検体数 (人)	再採血数 [率%] (人)	精密検査数 [率%] (人)	患者数 (人)	患者発生頻度	
					富山県	全国*
平成						
2	10,594	190 [1.79]	35 [0.33]	4	1 / 2,600	1 / 3,900
3	10,780	219 [2.03]	26 [0.24]	4	1 / 2,700	1 / 3,600
4	10,577	141 [1.33]	26 [0.25]	6	1 / 1,800	1 / 4,000
5	10,485	124 [1.18]	28 [0.27]	6	1 / 1,700	1 / 3,900
6	11,103	155 [1.40]	30 [0.27]	2	1 / 5,600	1 / 3,300
計	53,539	829 [1.55]	145 [0.27]	22	1 / 2,400	1 / 3,700

\*全国の患者発生頻度は、特殊ミルク情報第31号「先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況(厚生省児童家庭局母子保健課)」より引用

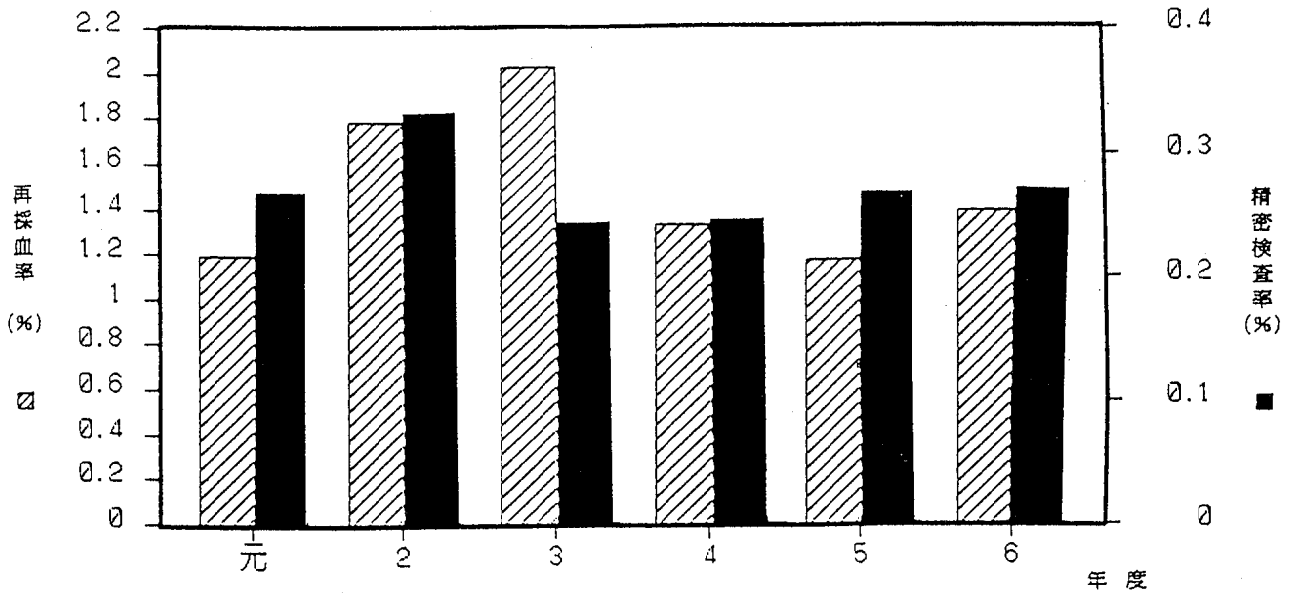


図2. 年度毎の再採血率と精密検査率

表2. 要精密検査者の検査結果

年	要精密検査者数 (人)	検査結果内訳			
		患者	一過性	正常	不明
平成					
2	35	4	26	4	1
3	26	4	21	1	0
4	26	6	16	3	1
5	28	6	19	2	1
6	30	2	26	0	2
計	145	22 *	108	10	5

\* 病型内訳 : 欠損 2、異所性 3、ホルモン合成障害 5、未確定 12

たが、確定されている例の中では、ホルモン合成障害が多かった。厚生省の研究班の報告 [2] によると、全国的にはスクリーニングで発見されたクレチン症の病型は異所性が60%と最も多く、欠損性・低形成24%、ホルモン合成障害16%となっており、常染色体劣性遺伝によるホルモン合成障害のクレチン症が多いのが本県の特徴と思われた。なお、筆者らが実施した昭和62年度までのクレチン症32人の患者追跡調査 [3] でも同様の結果が得られている。

また、検査結果が不明の5人については、医療機関からの結果未報告が3人、他の2人は、里帰り出産のため、要精密検査となった後、他県に転出した例であった。里帰り出産の例については追跡調査が難しく、厚生省研究班の調査でも追跡調査漏れが問題となっており [4]、自治体間のフォローアップ連絡網などシステムの早期の構築が望まれる。

表3に、クレチン症患者22人のうち、TSHが比較的low値で発見された症例を示した。比較的low

値とは、当所と同一試薬を使用している施設で設定しているカットオフ値がTSH 8~12 $\mu$ U/mlの範囲にあり[5]、初回スクリーニングの結果がこの範囲で発見された症例とした。なお、当所のカットオフ値は、同一試薬を使用している施設の中での最低値である8 $\mu$ U/mlに設定している。平成2年度から6年度までの5年間に、このような患者は7例発見されているが、表には病型が確定している3例の経過を示した。これらの症例は、カットオフ値を高く設定していた場合には見逃されていた可能性がある。厚生省研究班の調査では、マススクリーニングで発見されなかったクレチン症の症例のなかには、カットオフ値が高かったためと思われる例が報告されている[6]。これらの症例は、カットオフ値を低く設定することで、確実に発見されるが、一方で偽陽性者の増加をもたらすこととなり、スクリーニング効率、患者や家族の心理的負担等を考えると、慎重に検討する必要がある。また、最近、問題となっているのが、軽症クレチン症[7]、遅発型甲状腺機能低下症[8]である。軽症クレチン症は表に示したような、TSHが比較的low値で発見される場合があり[9]、スクリーニング時にTSHの上昇を認めた症例については明らかなクレチン症の所見を示さなくても長期にわたる注意深い経過観察が必要と

思われた。遅発型甲状腺機能低下症は、マススクリーニングでは発見されず、生後3~4か月に臨床症状により発見され、その発症頻度は1/150,000から1/35,000といわれている[10]。本県では遅発型甲状腺機能低下症の症例の報告はないが、スクリーニング時は正常でも臨床的に発見されるクレチン症が存在することを念頭におく必要があると思われた。

表4には、低出生体重児で初回検査が正常であったクレチン症の症例を示した。低出生体重児の場合、哺乳が不十分であったり機能が未熟であったりするため、2度検査を実施することになっている[11]が、表の例は、1か月後の再検査で発見された患者である。このような例は、稀と思われるが、正規の採血時期(生後5~7日目)による初回検査だけでは見逃されていた例であり、低出生体重児における2度の検査の必要性を再認識すると共に、更に徹底する必要があると思われた。

謝辞：本調査に御協力いただきました諸先生方に深謝いたします。

表3. TSHが比較的low値で発見されたクレチン型

症例	性	生年月日	マススクリーニング結果*	精密検査結果	病型
1	女	H4. 9.30	5日目 TSH 8.2 $\mu$ U/ml 9.3 $\mu$ U/ml 18日目 TSH 18.6 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.6 ng/dl	27日目 TSH 59.7 $\mu$ U/ml* FT <sub>4</sub> 0.4 ng/dl* 36日目 治療開始	ホルモン合成障害
2	女	H4.12.10	6日目 TSH 9.4 $\mu$ U/ml 12.6 $\mu$ U/ml 12日目 TSH 18.2 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.2 ng/dl	14日目 TSH 16.9 $\mu$ U/ml** T <sub>4</sub> 7.5 $\mu$ g/dl** T <sub>3</sub> 150 ng/dl** 治療開始	異所性(舌根部)
3	女	H5.11.11	10日目 TSH 10.1 $\mu$ U/ml 9.8 $\mu$ U/ml 17日目 TSH 17.0 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 1.4 ng/dl	24日目 TSH 27.0 $\mu$ U/ml* FT <sub>4</sub> 1.2 ng/dl* 6か月 治療開始	ホルモン合成障害

\* 単位は全血表示  
\*\* 単位は血清表示

表4. 低出生体重児で初回検査が正常であったクレチン症

症例	性	生年月日	マススクリーニング結果*	精密検査結果
1	男	H3. 9.13	5日目 TSH 1.4 $\mu$ U/ml 低体重児(1364g)のため再検  30日目 TSH 59.5 $\mu$ U/ml 57.6 $\mu$ U/ml FT <sub>4</sub> 0.2 ng/dl	8か月 治療中

\* 単位は全血表示

### 文 献

- 高橋雅子, 柏樹久雄 (1992). 富山衛研年報, 15, 175-177.
- 中島博徳. 平成4年度クレチン症検査技術者研修会研修テキスト, p3-28, 総合母子保健センター編.
- 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 (1992). 日本マス・スクリーニング学会誌, 2 (1), 29-38.
- 青木菊麿 (1986). 小児科, 27,1561.
- 渡辺倫子, 橋本延代, 成瀬 浩, 福士 勝 (1995). 日本マス・スクリーニング学会誌, 5 (2), 47.
- 猪股弘明, 中島博徳 (1993). 日本マス・スクリーニング学会誌, 3 (1), 101-105.
- 原田正平, 市原 侃, 木崎節子, 新井純理, 本間寛, 桜田教夫, 熊谷 満, 松浦信夫, 藤枝憲二, 大柳和彦, 奥野晃正 (1990). 道衛研所報, 40, 25-30.
- 松浦信夫, 原田正平, 三上裕平, 藤枝憲二, 福士勝, 高杉信男, 市原 侃 (1987). 厚生省心身障害研究, マススクリーニングに関する研究, 昭和61年度研究報告書, 36-39.
- 原田正平, 市原 侃, 松浦信夫, 藤枝憲二 (1991). 日児誌, 95 (9), 1974-1980.
- Fisher DA. (1987). Pediatr. Clin. North Am., 34, 881-890.
- 森山 豊, 和田義郎 (1987). 昭和61-62年度代謝異常スクリーニング研究会会報, 10, 29.

# 生がきが原因食である小型球形ウイルス (SRV) による急性胃腸炎の集団発生

長谷川澄代 森田修行 三井 博<sup>1</sup> 今井隆治<sup>1</sup>

An Outbreak of Gastroenteritis caused  
by Oysters with Small Round Structured Virus

Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA,  
Hiroshi Mitsui<sup>1</sup> and Takaharu Imai<sup>1</sup>

非細菌性嘔吐下痢症の起因ウイルスとして、ロタウイルス、アデノウイルスのほかに小型球形ウイルス (small round virus : SRV) の関与が示唆されてきている。SRVは冬季に乳児下痢症や急性胃腸炎からしばしば検出されるウイルスであり、食物摂取 [1, 2], 水系感染 [3, 4] での食中毒の原因ウイルスの一つとして世界各国で報告され、注目されている。

今回我々は、富山県内で発生した急性胃腸炎の集団発生事例から SRV を検出したので、その発生状況およびウイルス学的検索結果について報告する。

**事例の概要** : 1996年1月20日、午後7時八尾町の飲食店において、23名が食事をした。このうち「酢がき」を摂取した13名全員が21日から23日にかけて吐き気、下痢、発熱を主症状とする急性胃腸炎症状を呈した。患者の症状と発生状況から食中毒が疑われ、細菌とウイルスの両面から検査が行われた。これら患者の発生状況並びに臨床症状等の調査は患者居住地域の所轄の八尾保健所によって調査された。

**検索材料** : ウイルス学的検索材料は患者6名から採取した。糞便は1~3病日に4件、血液は0~2病日を急性期として、その3週間後を回復期として、ペア血清12件採取した。これらの患者便

について食中毒菌検索が行われたが、特定の原因菌は検出されなかった。

**電子顕微鏡観察** : 糞便材料は、ウイルス性下痢症検査法 [5] に準じて粗精製して電顕試料とし、2%リンタングステン酸でネガティブ染色を施し、電子顕微鏡 (日立600A) でウイルス検索を行った。

免疫電子顕微鏡法 (immune electron microscopy, IEM) : 被検血清は PBS で20倍に希釈し、56℃30分間非働化した。この血清と電顕試料を等量混合し、室温で1時間反応させた後、4℃1晩放置した。この反応液にPBSを加えて17,000 r.p.m. 90分間遠心し、抗原と抗体の結合体を沈査にして少量の蒸留水に懸濁後、2%リンタングステン酸でネガティブ染色を施し、検鏡した。IEMの判定は、Kapikianら [6] の方法に準じ、ウイルス粒子に付着している抗体量を0~+4の5段階に設定し、1段階以上の抗体付着量の上昇があったものを IEM 陽性とした。

**結果と考察** : ①患者発生状況—1月20日の午後7時に県内の飲食店において23名が会食し、21日に6名、22日に4名、23日に3名合計13名が胃腸炎症状を呈して発症し、発症率は56%と高率であった (Fig. 1)。患者の発生状況から単一暴露による食中毒が疑われた。1月20日当日の飲食店のメ

1. 八尾保健所



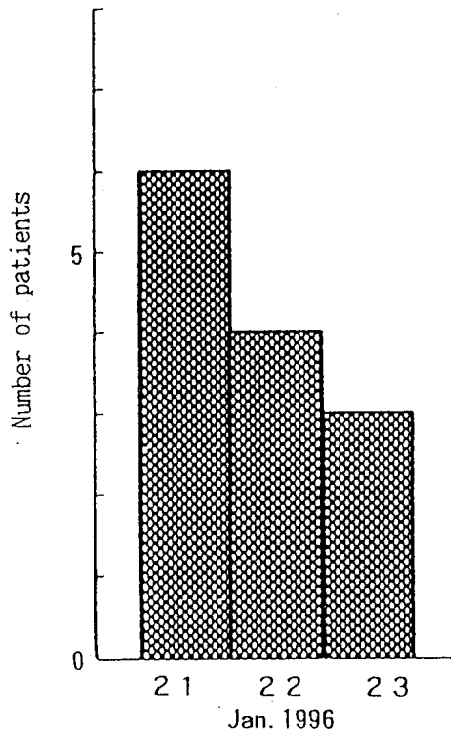


Fig. 1. Dates of Onset of Symptoms

ニューの「酢がき」を食べただけが発症しており、「酢がき」が発病率における  $X^2$  検定では、1%の危険率で有意差が認められた。このことから明らかに生がきが原因食と考えられた。Fig. 2に喫食から5時間おきの患者発生状況を示した。潜伏時間は24時間から60時間まで幅広くみられたが、40時間以降に9名(69%)が発症しており、

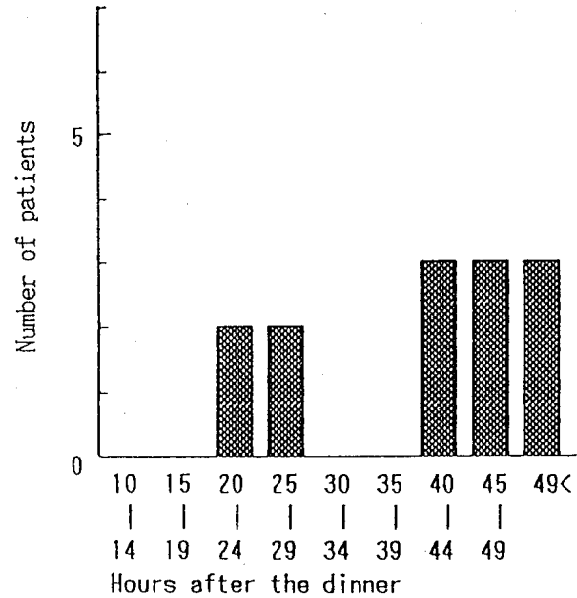


Fig. 2. Distribution of incubation period of patients

60時間の人が2名いた。平均潜伏時間は42時間であり、従来のSRV感染の報告(30~40時間)と一致していたが、昨年の場合の平均潜伏時間(35時間)より長かった[7]。

②臨床症状—患者13名の主な臨床症状(Table 1.)は、胃腸炎症状として吐き気が69.2%、下痢が61.5%と高頻度で、嘔気が53.8%であり、腹痛が15.4%であった。他に発熱が53.8%、悪寒が53.8%、倦怠感が23.0%の症状が見られた。これら臨

Table 1. Characteristics of Illness in Patients

Symptoms	No. of patients (n=13)	Frequency (%)
Nausea	9	69.2
Diarrhea	8	61.5
Chill	7	53.8
Fever	7	53.8
Eructation	4	30.8
Malaise	3	23.0
Abdominal pain	2	15.4
Vomiting	0	0.0

床症状の程度は、昨年の事例 [7] と比較すると吐き気が昨年の96.2%に比べて今回は69.2%と低く、更に嘔吐は昨年50%であったのに今回は全く見られなかった。

**③ウイルス粒子の検出および IEM 法による血清反応**—糞便材料の電顕観察の結果、4名中3名からSRVを検出した (Table 2.)。これら患者の糞便の採取は1~3病日であったが、殆どの患者の糞便性状は普通便であった。これらの糞便を精製濃縮して電顕観察でのウイルス粒子の検索を行ったが、糞便中のSRV粒子は少なかった。このSRVの直径は35nm程度で、表面に突起状の構造物がみられた。今回検出されたSRVは、Caul

ら [8] の形態学的特徴による分類では、表面に構造物のある Norwalk 因子、Hawaii 因子などを含む SRSV (small round structured virus) に属すると思われる。今回の場合、患者糞便中のウイルス粒子数は1~3病日にもかかわらず極めて少なかった。しかし、患者 Y.M. の糞便は1病日のもので性状は軟便であり、ウイルス粒子の形態がきれいでほかの検体よりも比較的数が多いので、この糞便濃縮材料を抗原として、患者のペア血清を IEM 法で抗体の検査を行った。ペアで血清が得られた6名全例に抗体上昇が確認された (Table 3.)。

近年、我が国において、カキが原因食であると

Table 2. Detection of SRV particles in feces by electron microscope

Patient		Incubation Period (hours)	Days after onset	Detection of SRV
Name	Age (years)			
M. Y.	36	40	2	+
A. N.	39	24	3	+
Y. M.	23	60	1	+
M. H.	45	25	3	-

Table 3. Antibody Development in Paired Sera by IEM

Patient	Rating of serum antibody response	
	Acute	Convalescent
M. Y.	0	4+
A. N.	0	4+
Y. M.	0	4+
M. H.	1+	4+
K. A.	0	3~4+
N. K.	0~1+	4+

SRVs from patient Y.M. were used as antigen.

0~4+:rating of serum antibody response to SRV particles.

考えられる急性胃腸炎の発生が冬季を中心に起きて、患者糞便中にSRV粒子が検出されると言う多数の報告が出ている[7, 9, 10, 11, 12, 13, 14]。今回の場合、発症者は明らかに「酢がき」を摂食しており、SRVで汚染された生ガキが原因食と考えられた。青木ら[14]は患者のSRVの排泄は、一過性ではなく一週間は続くが、2~3病日以後急速に減少すると報告している。今回の事例の場合、採便された時期が、1~3病日と比較的ウイルス粒子が糞便中に排泄される時期であったにもかかわらず、ウイルス粒子の検出が困難であった。これは昨年[7]との比較では患者13名全て嘔吐の症状が無く、ほかの症状も低率であったことから患者の腸管の中でウイルス粒子が十分に増殖しなかった為と考えられる。

今回、1月中旬に県内の飲食店での会食で急性胃腸炎の集団発生が起きた。疫学調査から飲食物「酢がき」による感染であると判定された。患者糞便からは既知病原細菌は検出されなかった。しかし、電顕観察で、4名中3名からSRVを検出した。IEM法による血清反応で、6名の患者ペア血清全てが検出したSRSVに有意の抗体上昇が認められた。これらの結果から、今回検出したSRSVは、本症の病因であると判定された。

## 文 献

1. Murphy, A. M., Grohmann, G. S., Christopher, P. J. Lopez, W. A., Davey, G. R. and Millson, R. H. (1979). *Med. J. Aust.* 2, 329-333.
2. Gill, O. N., Cubitt, W. D. Mcswiggan, D. A., Wat-ney, B. M. and Bartlett, C. L. R. (1983). *Brit. Med. J.* 287, 1532-1534.
3. Kaplan, J. E., Goodman, R. A., Schonberger, L. B., L. B. Lippy, E. C. and Gary, G. W. (1982). *J. Inf. Dis.* 146, 190-197.
4. Brondum, J., Spitalny, K. C., Vogt, E. L. Godle-Wski, K., Madore, H. P. and Dolin, R. (1985) *J. Infct. Dis.* 152, 834-837.
5. 厚生省：レファレンスシステム研究班 (1985) ウ

イルス性下痢症検査法。

6. Kapikian, A. Z., Wyatt, R. G., Dolin, R., Thorn-hill, T. S., Kalica, A. R. and Chanock, R. M. (1972). *J. Virol.*, 10, 1075-1081.
7. 長谷川澄代, 森田修行, 西部健治, 遠藤京子, 大浦美穂子 (1995). *富山衛研年報*, 18, 201-204.
8. Caul, E. O. and Appleton, H. (1982). *J. Med. Virol.*, 9, 257-265.
9. 川本尋義, 三輪智恵子, 長谷川澄代, 森田修行, 小林信行, 後藤判友 (1989). *病原微生物検出情報*, 月報, 10, 160-173.
10. 豊川安延, 佐藤充武, 佐藤真理子, 三星陽子, 梅津浩司, 山本 仁 (1989). *病原微生物検出情報*, 月報, 10, 178-179.
11. 長谷川澄代, 森田修行, 蔦 靖男, 柚木正博, 高附庸志 (1989). *富山衛研年報*, 12, 236-238.
12. 長谷川澄代, 森田修行, 西川不二夫, 荒谷考一 (1990). *富山衛研年報*, 13, 203-205.
13. 長谷川澄代, 森田修行, 西部健次, 城石将幸 (1994). *富山衛研年報*, 17, 199-201.
14. 春木孝祐, 村上 司, 木村輝男 (1988). *臨床とウイルス*, 16, 59-64.

## 富山県における恙虫病患者発生状況 (1995年)

森田 修行 石倉 康宏 松原 勝博<sup>1</sup>  
遠藤 京子<sup>2</sup> 尾崎 博子<sup>3</sup>

Incidence of Tsutsugamushi Disease  
in Toyoma Prefecture in 1995

Osayuki MORITA, Mitsuhiro ISHIKURA,  
Katsuhiko MATSUBARA<sup>1</sup>, Kyoko ENDO<sup>2</sup>  
and Hiroko OZAKI<sup>3</sup>

1976年と1977年のいずれも秋に発疹性熱性疾患が入善町と黒部市に発生したことが黒部市民病院で注目され、感染症の疑いがあるとの診断であった。しかし、検査の機会がなく、疾患の原因は解明されなかった。1978年の秋に同様の症状を呈した患者11名が同病院の外来を受診したので、8名から検体が採取された。ウイルス学的検査の結果は全て陰性であったが、恙虫病リケッチアに対する血清抗体価の成績から、全例が恙虫病であることが明らかになった〔1〕。それ以来、入善町の全域、黒部市および宇奈月町の黒部川左岸地域など黒部川扇状地では毎年患者の発生が続いている。1985年頃から魚津市や上市町など黒部川扇状地以外の地域でも、時折、患者発生がみられるようになった。また、4～5月に患者が発生するようになったことも近年の傾向である。

1984年わが国初の紅斑熱群リケッチア感染症が報告された〔2〕。Uchidaら〔3〕は四国で発病した患者の血液から、Vero細胞でリケッチアYK株を分離し、*Rickettsia japonica*と呼ぶことを提唱した。本疾患は高知県、徳島県に多いが、千葉県や島根県など10都県で患者発生が確認されている〔4〕。本県では、紅斑熱群リケッチアである*R. montana*および*R. japonica*に対する野ネズミの抗体保有状況〔5〕やマダニのリケッ

チア保有状況〔6〕からみて、紅斑熱群リケッチアの存在は明らかである。しかし、現在までのところ、患者は確認されていない。発疹性熱性疾患について、恙虫病患者を含め、検査を行っているので報告する。

Table 1は、血清学的検査により恙虫病であることを確認するようになった1978年からの患者発生状況（この中の一部に臨床症状のみによって診断された患者を含む）を市町村別に示す。これより以前にも臨床症状が恙虫病に類似の患者が存在しており、1976年に入善町2名、黒部市2名、1977年に入善町4名、黒部市1名の計9名が発病していた。1978年から1995年までの累積患者数は205名となったが、その54%が入善町、31%が黒部市の住民である。宇奈月町も含め、これら1市2町の患者は黒部川扇状地の上で発生している。しかも秋季に多発するので、この地域には、恙虫病リケッチア（*Orientia tsutsugamushi*, Ot；これまで*Rickettsia tsutsugamushi*と呼ばれてきた〔7〕）を保有しているタテツツガムシが多数生息しているものと考えられる。1985年頃から上市町、小矢部市、魚津市など黒部川扇状地以外の地域でも発生するようになり、感染の危険地域が拡がりつつある。しかし、これらの地域では、患者発生数が少なく、毎年連続して発生すること

1. 八尾保健所 2. 氷見保健所 3. 黒部保健所

平成8年10月1日

Table1. Numbers of Tsutsugamushi Disease Patients in Toyama Prefecture

Area	1978~1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	Total
Asahi	1							1					2	4
Nyuzen	42	16	6	5	5	5	3	8	6	7	6	1	1	111
Kurobe	30		4	4	4		1	3	5	8	1	3	1	64
Unazuki	4		1		1	1			2					9
Uozu				1				1						2
Kamiichi			2	1					1		1			5
Tateyama							1				1			2
Yatsuo													1	1
Toyama		1	1						1			1		4
Oyabe			1											1
Himi					1								1	2
Total	77	17	15	11	11	6	5	13	15	15	9	5	6	205

も少ない。これらのことから、県内に広くOt媒介ツツガムシが生息しているものと推測されるが、Otに感染する機会が黒部川扇状地とその他の地域ではかなり異なっていると考えられる。

Table 2は、1995年に届出のあった恙虫病患者の年齢、職業、臨床症状などを示す。患者は4月に1名、5月に3名、10月に2名の計6名発生した。地区別では氷見市1名、八尾町1名、朝日町2名、入善町1名、黒部市1名であり、黒部川扇状地での発生数は過去最も少数であった。これらのうち、氷見市、八尾町、朝日町の患者は4~5月に発生し、入善町、黒部市の患者は10月の発生であった。このように、黒部川扇状地では依然として秋季に発生しているが、他の地域では春季に発生したのが今年の特徴である。これら患者の年齢は40歳から82歳に分布し、性別では男3名、女3名であった。職業は、公務員、農業、紡績会社社員が各1名の他は無職3名であり、職業上で恙虫病に罹患する危険性のある者は少ない。臨床症

状は、発熱が38~39℃、発疹は全例に認められたが、リンパ節腫脹を認めない患者が1例あった。ツツガムシ幼虫の刺し口は全例に認められた。なお、数値を示してないが、全例がGOT値またはGOT、GPTの両値ともにやや高い値を示し、軽度の肝機能異常がみられた。

これらの患者が感染した場所と機会を推定するために、発病前2週間の屋外における行動などについて調査した。No.1の患者は公務員だが、業務上で農業と関連性がある。しかし、この度の発病に直接関係した行動はみられなかった。住居は田園地帯なので、その周辺に感染源があるのかもしれない。No.2の患者は高齢でもあり、特に仕事をしていないが、晴れた日には時折畑へ出向くことがある。八尾町では初めての患者なので、Ot保有ツツガムシの生息状況はまったく不明である。当患者は4月下旬に約2時間程田の用水の掃除をしたことがあるとのことで、その時に感染したと考えられ、刺し口が下腿部に認められたの

Table2. Clinical Findings of Tsutsugamushi Disease Patients

No.	Age (years)	Sex	Occupation	Residence	Date of onset	Clinical findings			
						Fever (°C)	Rash	Lymphonode swelling	Eschar
1	59	M	Public servant	Himi	Apr 20	38.6	+	+	Lowerthigh
2	82	F	None	Yatsuo	May 9	39.0	+	+	Lowerthigh
3	67	F	Farmer	Asahi	May 13	38.6	+	+	Lowerthigh
4	40	F	Weaver	Asahi	May 14	38.0	+	+	Breast
5	69	M	None	Nyuzen	Oct 29	38.0	+	-	Breast
6	72	M	None	Kurobe	Oct 30	39.0	+	+	Lowerthigh

で、作業中にツツガムシ幼虫が取付いたと推測される。患者No. 3は、造成地に住宅があり、家族の主力は会社勤務であるが、本人は農業に従事している。感染時期が4月末から5月初めと推定されるので、春耕に忙しい時期である。朝日町では過去に患者が発生したことがあるが、黒部川扇状地に隣接した地域でありながら、発生数は非常に少なかった。No. 3の場合も住居および作業している地域は、小川を挟んで黒部川扇状地から遠く離れている。当地で感染したかどうか疑問であり、患者の行動には不明の部分が多いので、感染場所を特定することは困難である。患者No. 4は、住居が住宅地にあり、紡績会社に勤務している。田畑はなく、庭での作業状況は不明なので、住居周辺に感染源があるかどうかは推測出来ない。発病1週間前に新潟県能生町へ山菜取りに出かけていることから、感染場所は能生町かもしれない。患者No. 3および患者No. 4は黒部川扇状地に隣接した地域に居住しているが、春季の感染である点で黒部川扇状地での感染とは異なっているように思われる。No. 5の患者は住宅地に居住し、無職だが、従来から患者が多発している地域で草取りや用水掃除をしていることから、住居周辺での感

染と推定される。刺し口は胸部なので、作業中に衣服を脱いで草むらに置いたものと考えられる。患者No. 6の住居は患者多発地域の田園地帯にある。本人はかなりの高齢なので、時折農作業をしたり、草地を散策する日々である。下腿に刺し口があるので、作業中か散策中にツツガムシ幼虫が取付いたものと推測される。

以上、これまで同様に感染場所の特定は困難であった。感染の機会は、患者6名のうち4名が下腿に刺し口を認め、残りの2名は胸部に刺し口があった。これらのことは、草地での作業や歩行中または脱いだ衣服にツツガムシ幼虫が取付いた可能性が高い。黒部川扇状地の患者多発地区では、感染防止のための住民啓蒙がなされているが、徹底することは難しい。県厚生部では、患者初発時に報道機関を通して、県民に広く情報を提供し、感染防止に注意を呼びかけている。さらに、発病後のできるだけ早期に受診し、適切な治療を受けることが最も重要であることを啓蒙している。

Table 3は、これら患者の各リケッチア抗原に対する血清抗体価を間接蛍光抗体法で測定した結果とPCR (polymerase chain reaction) で血液中のOt 遺伝子を検索した結果を示す。血清抗

Table 3. Rickettsiological Examination of Tsutsugamushi Disease Patients

No.	Days after onset	Serum antibody titers <sup>1)</sup> against						PCR <sup>4)</sup>	
		<i>O. tsutsugamushi</i>				<i>R. japonica</i> <sup>2)</sup> <i>R. montana</i> <sup>3)</sup>		1st	2nd
		Kato	Karp	Gilliam	Fujita <sup>5)</sup>				
1	11	<10	<10	<10	<10	<10	<10	+	nt <sup>7)</sup>
		(<10) <sup>6)</sup>	(<10)	(<10)		(<10)	(<10)		
	18	320	1,280	320		<10	<10	-	+
	26	320	1,280	320		<10	<10	-	+
2	10	20	40	20		<10	<10	-	+
		(20)	(40)	(20)		(<10)	(<10)		
	23	20	80	20		<10	<10	-	+
3	10	320	640	320	320	<10	<10	-	+
	18	1,280	1,280	640	640	<10	<10	-	+
4	9	<10	<10	<10	10	<10	<10	+	+
	17	320	320	160	160	<10	<10	-	+
5	3	<10	<10	<10	<10	<10	<10	-	+
		(<10)	(<10)	(<10)	(<10)	(<10)	(<10)		
	17	160	160	160	320	<10	<10	-	-
6	8	<10	<10	<10	<10	<10	<10	-	+
		(<10)	(<10)	(<10)	(<10)	(<10)	(<10)		
	16	320	320	320	640	<10	<10	-	+

- 1) Immuno-fluorescent antibody titers against each antigens of rickettsia.
- 2) Representative strain of rickettsia isolated from a patient with spotted fever disease in Tokushima Prefecture.
- 3) A reference strain of spotted fever group rickettsia.
- 4) Polymerase chain reaction(PCR) was performed as follows : as primers for PCR, a pair of 20 mers of oligonucleotides were synthesized by a DNA-synthesizer according to DNA sequence of the genome coding 56K-protein of *Orientia tsutsugamushi*. The patient bloods were treated with SDS and proteinase K, and template DNA were extracted by phenol-chloroform method. 78 bp length of DNA were amplified by PCR ( 35 cycles of 94°C for 30 sec, 57°C for 2 min, 72°C for 2 min ).
- 5) A strain of *O. tsutsugamushi* isolated from a patient in Toyama Prefecture.
- 6) Figures in parentheses are specific IgM antibody titer.
- 7) Not tested.

体価の測定などの検査法は前報〔8〕に準じた。抗原は、恙虫病リケッチアとして3標準株と入善町の患者から分離した Fujita 株を用い、紅斑熱群リケッチアとして *R. japonica* と *R. montana* を用いて抗体価を測定した。Ot 抗体価は、患者6名のうち5名は2回の採血で有意上昇を示し、他の1名は有意上昇を示さなかったが、特異 IgM 抗体が認められたことにより恙虫病の罹患であることが確認された。さらに、初回の採血で、PCR により Ot 遺伝子が検出されたことは、特異抗体産生前の早期診断を可能とし、ミノマイシン投与などの有効な治療に役立った。一方、紅斑熱群リケッチアに対する抗体測定では、有意な抗体価上昇は見られず、依然として県内に当該リケッチアの感染例は認められなかった。

今年の患者は、黒部川扇状地での発生が少なく、朝日町など従来患者がほとんど発生していない地域に散発した。黒部川扇状地の住民は恙虫病に対する認識があるので、発病後の早期に受診している。他方、その他の地域では、高熱を伴って発病しているにもかかわらず、家庭薬を服用し、我慢しているため、受診までに日数が経過して、病状が悪化する例がみられた。今後、患者が発生する危険性が県内各地に広がる傾向がみられる。上述したように、感染を防御することは非常に困難なので、発病後の早期に医療機関を訪れるように、県民が認識を高めることが重要であると考え。謝辞：調査に当たり、ご協力頂きました氷見市民病院の川尻剛照先生、八尾総合病院の寺崎敏郎先生、あさひ総合病院の寺田康人先生、香取美和子先生、黒部市民病院の武隈清先生ならびに関係各位に感謝いたします。

## 文 献

1. 森田修行, 石倉康宏, 渡辺 護, 西永慧次, 徳満尚子, 中山 喬, 植竹久雄, 清水宗則, 松原勝博, 有沢義夫, 笠木清孝, 山崎義時, 倉本安隆, 尾崎一郎, 富田良一, 坂田龍光 (1982). 富山県農村医学研究会誌, 13, 79-85.
2. 馬原文彦, 古賀敬一, 沢田誠三, 谷口哲三, 重見文雄, 須藤恒久, 坪井義昌, 大谷 明, 小山 一, 内山恒夫, 内田孝弘 (1985). 感染症誌, 59, 1165-1171.
3. Uchida, T., Uchiyama, T., Kumano, K., and Walker, D. H. (1992). Int. J. Syst. Bacteriol., 42, 303-305.
4. 千屋誠造, 高橋 信, 出口祐男, 鈴木秀吉, 坪井義昌 (1995). 高知衛研報, 41, 27-31.
5. 石倉康宏, 渡辺 護, 中山 喬, 松浦久美子 (1992). 富山衛研年報, 15, 109-114.
6. 石倉康宏, 渡辺 護, 品川保弘, 松浦久美子, 森田修行, 北村 敬, 植竹久雄 (1995). 第43回日本ウイルス学会総会演説抄録, 295.
7. Tamura, A., Ohashi, N., Urakami, H., and Miyamura, S. (1995). Intern. J. System. Bacteriol., 45, 589-591.
8. 森田修行, 石倉康宏, 南部厚子, 吉田慶子 (1995). 富山衛研年報, 18, 209-213.



## 富山県におけるウイルス検査状況

森田 修行 長谷川澄代 松浦久美子  
中山 喬 川越久美子<sup>1</sup> 寺崎さち子<sup>2</sup>  
小泉泰久<sup>3</sup> 小池美奈子<sup>4</sup>

### Virological Examination in Infectious Diseases in Toyama Prefecture

Osayuki MORITA, Sumiyo HASEGAWA  
Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA  
Kumiko KAWAGOSHI<sup>1</sup>, Sachiko TERASAKI<sup>2</sup>  
Yasuhisa KOIZUMI<sup>3</sup> and Minako KOIKE<sup>4</sup>

平成7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、ウイルス検査を行った結果について報告する。

検査材料および検査方法は、対象疾患により異なるが、概要は以下のものである。急性胃腸炎の検査では、小児急性胃腸炎の場合、患者から採取された糞便を約10%の乳剤とし、10,000回転、20分の遠心上清についてヒトA群ロタウイルス（HARV）の検索を行った。市販の「ロタRPHA」（デンカ生研）を用いたスクリーニングでHARV陽性となった検体は、Reverse transcription and polymerase chain reaction（RT-PCR）による血清型別を行った。糞便からのロタウイルスRNA抽出はP. Chomczynskiらの方法〔1〕、RT-PCRはプライマーなどV. Gouveaらの報告〔2〕に準じて行った。食中毒様急性胃腸炎の場合、患者からの糞便は、ウイルス性下痢症検査法〔3〕に準じて粗精製し、電子顕微鏡によって小型球形ウイルス（SRSV）を検索した。エンテロウイルス感染症の検査では、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。検査材料の糞便は約10%の乳剤とした後、

咽頭ぬぐい液および水疱内容はそのまま高速遠心によって除菌処理を行った。これらの処理材料および髄液のそれぞれを培養細胞に接種した。培養細胞として、RD-18S細胞、Vero細胞、MA-104細胞およびHEp-2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。分離されたウイルスは抗エンテロウイルス混合抗血清（国立予防衛生研究所より配付）および型特異抗血清（デンカ生研、予研分与、自家製）を用いて中和試験により同定した。患者から急性期および回復期の血清が得られた場合、分離ウイルス株および標準ウイルス株を抗原にして中和抗体価を測定した。Table 1に平成7年4月から平成8年3月までに行ったウイルス検索の状況を示す。

**急性胃腸炎（Gastroenteritis）：** 館小児科医院のご協力を得て、小児の急性胃腸炎におけるロタウイルスの疫学調査を継続して実施した。これまでの調査結果〔4〕から、本疾患は晩秋から増加し始め、冬季に多発して、春季以後徐々に減少しながら初夏まで続く傾向にあることが示されている。Table 1の4～6月にみられる急性胃腸炎患者は、

1. 富山保健所 2. 福野保健所 3. 黒部保健所 4. 高岡保健所

Table. Virus Detection from Infectious Disease Patients

Illnesses	Viruses	No. of patients from which viruses were detected												
		1995						1996						
		Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Total
Gastroenteritis		(19)	(10)	( 1)			( 7)	( 5)	(40)	(18)	(18)	(32)	(29)	(179)
	Rota	15	2								6	25	22	70
	SRSV										3			3
Aseptic meningitis		( 1)	( 3)	(14)	( 2)						( 1)			( 21)
	Cox. B2				1									1
	Cox. B3				1									1
	Echo 9			1										1
	Echo 16			2	5	1								8
Exanthem disease		( 1)	( 1)	( 1)	( 7)	( 1)	( 2)				( 1)			( 14)
	Echo 9		1											1
	Echo 16				7									7
Hand, foot and mouth disease		( 1)	( 2)	( 7)										( 10)
	Cox. A16		1	2	7									10
Others		( 1)				( 1)	( 2)			( 2)	( 2)			( 8)
	Herpes 1		1											1
Total		(20)	(14)	( 7)	(28)	( 4)	(11)	( 5)	(40)	(20)	(22)	(32)	(29)	(232)
		15	5	5	21	1	0	0	0	0	9	25	22	103

Abbreviation: SRSV, small round structured virus; Cox., coxsackievirus

Figures in parentheses show the numbers of patients examined.

平成6年11月から続いている流行[5]の延長である。一方、9月から12月にかけて下痢症の患者が多く発生したが、ロタRPHAのスクリーニングでの陽性例はみられなかった。平成8年1~3月によろやく HARV が検出されるようになった。

HARV 陽性検体について、RT-PCR で血清型別を行っているが、これまでのところ1型ウイルスが検出されている。

平成8年1月に、飲食店で会食した23名のうち13名が食中毒様の急性胃腸炎に罹患した。「生ガ

キ」の摂食が原因として疑われたので、ウイルス学的検査の依頼を受け、4名の患者から糞便を採取し、電子顕微鏡によるウイルス検索を行った。そのうち3例にノーウォークウイルス様の小型球形ウイルス粒子 (Small round structured virus: SRSV) が観察された。さらに、ウイルス粒子が観察された糞便検体から SRSV を半精製して抗原とし、患者血清の抗体を免疫電顕法で測定した。その結果、急性期および回復期の対血清が揃った6名全例に抗体価の有意上昇が認められた。これらのことから、原因は SRSV の感染によるものと推定された。

**無菌性髄膜炎 (Aseptic meningitis) :** 富山県結核・感染症サーベイランス事業の患者発生情報によれば、夏季を最盛期に3月から10月まで富山市など県中央部と黒部市など県東部に少数の患者発生が報告があった。当所への検査依頼も両地区における検査定点病院からであった。県中央部の患者15例のうち8例から、RD-18S細胞でエコーウイルス16型 (Echo 16) が分離された。県東部の患者5例のうち1例から Vero 細胞でコクサッキーウイルス B2 型 (Cox. B2), 1例から RD-18S細胞でエコーウイルス9型 (Echo 9) が分離された。その他に高岡市の患者1例から Vero 細胞でコクサッキーウイルス B3 型 (Cox. B3) が分離された。いずれのウイルスもあまり大きな流行にはならなかったようである。

**発疹性疾患 (Exanthem disease) :** 5月に風疹様の発疹を呈した患者の咽頭ぬぐい液から RD-18S細胞で Echo 9 が分離された。この患者は、上述した Echo 9 感染による無菌性髄膜炎患者と同じ黒部市であった。平成6年夏に県西部で流行した Echo 9 が今シーズンは県東部へ移ったものと推測される。

7月に平村のある保育園で発疹性疾患が多発した。検査を行った7例全例が Echo 16 の感染であることが明らかになった。しかし、流行はこの地域に限局され、Echo 16 が近隣の地域で分離されることはなかった。

Echo 16 は昭和60年 (1985年) に大規模な流行を起こし [6], 発疹性疾患や無菌性髄膜炎が多発して以来10年ぶりの流行である。この度、平村の患者の咽頭から分離されたウイルス株 (S-W415) を標準ウイルス (Harrington) および昭和60年の発疹性疾患の患者からの分離株 (Ty 2-85) と比較して、抗原性を検討した。Table 2 は、平村の患者7名の血清を用いて測定した3ウイルス株の中和抗体価を示す。Harrington と Ty 2-85 との間に、中和抗体価にほとんど差異は認められないが、S-W 415 は他の2株と明らかに異なる抗体価を示した。これらのことから、S-W 415 は従来の Echo 16 とは抗原性に変化を示すウイルスであると考えられる。

**手足口病 (Hand, foot and mouth disease) :** 平成7年の富山県結核・感染症サーベイランス事業では、本疾患の患者報告数は非常に多く、昭和56年に本事業が始まって以来最多 (定点当たりの年間患者報告数: 118名) であった。しかし、検査依頼数が少なく、大規模流行の原因ウイルスを十分把握することはできなかったが、県南西部の患者10名について検査したところ、全例がコクサッキーウイルス A16 型 (Cox. A16) の感染であったことが明らかになった。患者から採取された糞便および咽頭ぬぐい液のすべてと水疱内容10例中7例から Vero 細胞で容易にウイルスが分離された。これらの分離ウイルス株は、予研分与の抗 Cox. A16 (G-10) 高度免疫ウサギ血清または自家製の抗 Cox. A16 (G-10) 高度免疫モルモット血清で中和されたが、標準ウイルスである G-10 と比較して、中和抗体価は低く  $1/8$  または  $1/16$  であった。さらに、患者の回復期血清でも、抗原として用いた分離ウイルスと標準ウイルスとでは中和抗体価が異なっていた。これら Cox. A16 感染患者の臨床症状は、手足口病症状を呈したのみで、髄膜炎の所見は認められなかった。

**その他 (Others) :** ヘルペス感染が疑われた新生児の水疱内容から単純ヘルペス1型 (Herpes 1) が分離された。しかし、脳脊髄炎、細気管支

Table2. Comparative Antibody Titers against Prototype and Isolates of Echovirus Type 16 in Sera from Patients with Exanthem Disease

No.	Age of patient (years)	Echo 16 isolation		Antibody titers against echo 16*					
		Feces	Troat-swab	Harrington		Ty2-85		S-W415	
				Acute Conv.		Acute Conv.		Acute Conv.	
1	5	+	+	4	32	<4	32	8	128
2	2	+	+	32	64	32	64	32	256
3	2	+	+	16	256	16	256	64	2048
4	2	+	+	16	128	8	128	128	1024
5	2	+	+	<4	32	<4	32	8	128
6	3	+	+	<4	32	<4	32	<4	1024

\* 3 strains of echovirus 16 : Harrington is a prototype strain, Ty2-85 is a representative strain isolated in 1985 and S-W415 is a representative strain in 1995 from patient with exanthem disease in Toyama Prefecture.

炎, ライ症候群, サイトメガロウイルス感染疑いの肝炎などの検査では, ウイルスを分離することはできなかった。

#### 文 献

1. Chomczynski, P. and Sacchi, N. (1987). Analytical Biochemistry, 162, 156-159.
2. Gouvea, V., Glass, R. I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, HF., Forrester, B. and Fang, Z. Y. (1990). J. Clin. Microbiol., 28, 276-282.
3. 厚生省, レファレンスシステム研究班編 (1985). ウイルス性下痢症検査法.
4. 森田修行, 中山 喬, 庄司俊雄, 長谷川澄代, 松浦久美子, 児玉博英, 北村敬 (1995). 平成6年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書: 自然生態からの有用資源開発手法に関する総合的研究, 103-112.
5. 森田修行, 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 松井博保, 吉田慶子, 小泉泰久, 寺崎さち子 (1995). 富山衛研年報, 18, 205-208.
6. 森田修行, 中山 喬, 長谷川澄代, 松浦久美子, 植竹久雄 (1986). 富山衛研年報, 9, 77-81.

## 衛生研究所における梅毒蛍光抗体法検査結果 (昭和57年度～平成7年度)

細呂木志保 刑部陽宅 安井伊津子<sup>1</sup> 清原美千代<sup>1</sup>

Results of the Absorbed Fluorescent  
Treponemal Antibody Test in Toyama Institute  
of Health (1982-1995)

Shiho HOSOROGI, Yotaku GYOBU, Itsuko YASUI<sup>1</sup>  
and Michiyo KIYOHARA<sup>1</sup>

梅毒は、淋病・軟性下疳・鼠径リンパ肉腫と共に性病予防法の対象疾患とされており、第8、9条に基づき婚姻時、妊娠時の梅毒検査は公費負担で実施されている。また、性病の蔓延を防止するため医療機関等で梅毒と診断された場合は、届け出を行うことになっている。現在では、感染者は減少し、県内の届け出患者数は、昭和63年以降0～4人を推移している[1]。衛生研究所では、保健所で受け付けた検体のうち、特に依頼のあった検体について蛍光抗体法による確認検査を行っている。ここでは、昭和57年度から平成7年度の検査結果を報告する。

### 材料と方法

#### 1. 被検血清

検体は、昭和57年から平成7年の間に保健所で行ったガラス板法・TPHA法の結果が、ともに陽性であったもの、あるいは不一致であったものについてFTA-ABS法による確認検査の依頼を受けた235件を用いた。

#### 2. 血清反応

ガラス板法、TPHA法は保健所で行った。

TP抗体検出用FTA-ABSテスト-SG-KIT(KW)(日本凍結乾燥研究所)を用い、梅毒蛍光抗体法により行った。

### 結果および考察

表1に昭和57年4月から平成8年3月までに当所に確認依頼のあった検体のFTA-ABS法検査結果を年代別・男女別に集計し示した。妊娠者の健康診断で梅毒の検査が行われているため、男性よりも女性の検体が多くなっている。全検体におけるFTA-ABS陽性率は34%(男性:59%,女性:28%)で、年次による大きな陽性率の変化はなかった。

保健所におけるスクリーニング(ガラス板法、TPHA法)の結果とFTA-ABS法との関係(表2)をみると、最も多かったのが、FTA-ABS法(陰性)－ガラス板法(陽性)－TPHA法(陰性)という組み合わせで97件(全検体の40%)と最も多く、次いでFTA-ABS法(陽性)－ガラス板法(陽性)－TPHA法(陽性)で43件(18%)、FTA-ABS法(陽性)－ガラス板法(陰性)－TPHA法(陽性)で34件(14%)であった。ガ

1. 富山県立中央病院

表1. 年度別・男女別にみた検査結果

年度	男	女	合計
昭和57	4/ 7( 57)*	9/15( 60)	13/22( 59)
58	2/ 2(100)	3/ 5( 60)	5/ 7( 71)
59	1/ 1(100)	3/13( 23)	4/14( 29)
60	0/ 3( 0)	4/13( 31)	4/16( 25)
61	1/ 4( 25)	3/ 9( 33)	4/13( 31)
62	7/ 9( 78)	5/27( 19)	12/36( 33)
63	1/ 2( 50)	5/16( 31)	6/18( 33)
平成元	1/ 3( 33)	4/15( 27)	5/18( 28)
2	2/ 3( 67)	1/ 7( 14)	3/10( 30)
3	1/ 1(100)	2/ 4( 50)	3/ 5( 60)
4	3/ 6( 50)	2/ 7( 29)	3/13( 23)
5	1/ 1(100)	3/20( 15)	4/21( 19)
6	1/ 1(100)	5/13( 38)	6/14( 43)
7	1/ 1(100)	4/27( 15)	5/28( 18)
合計	26/44( 59)	53/191( 28)	79/235( 34)

※FTA-ABS陽性数／検査数 ( )内は陽性率。

表2. FTA-ABS法とTPHA法およびガラス板法との相関

FTA-ABS法	TPHA法**				ガラス板法***			
	-	±	+	不明	-	±	+	不明
-	107*	18	21	6	27	23	99	3
±		1	2		2	1		
+	2	8	67	3	24	1	50	5

※ 検体数

\*\* TPHA法は×80以上を+(陽性)とした。

\*\*\*ガラス板法1+以上を+(陽性)とした。

ラス板法などの脂質抗原法(STS)では、非特異的な生物学的疑陽性反応(BFP)を示す場合がある。妊娠もその要因のひとつで、ガラス板法(陽性)－TPHA法(陰性)例では妊娠者でのBFPが多く、その頻度は20～30%と報告されている[2]。また、ガラス板法(陰性)－TPHA法

(陽性)例では、高齢者などに治療後のIgG抗体が残存している場合が多いと報告されている。

FTA-ABS法とTPHA法はどちらも菌体を抗原として用いるが、表3はFTA-ABS法のほうが鋭敏度、特異性が高いため、まれに両者の結果に違いが生じることを示している。両者が一致し

表3. FTA-ABS法とTPHA法の関係

FTA-	TPHA法**									
	ABS法	×	20	40	80	160	320	640	1280	5120
-	104*	1	2	8	8	1	1			
±				1						
+	1		1	3	15	16	3	13	7	

※ 検体数

※※ TPHA法は×80以上を+(陽性)とした。

※※※ 定性で陰性、抗体価が分かっているものを集計。

ない例、すなわちFTA-ABS法(陽性) - TPHA法(陰性)は2件(0.9%)であった。TPHAはIgMとの反応が弱く、初期における検出率が50~60%と低いとされている[3]ので、これらの抗体はおもにIgMであったことが推定される。また、FTA-ABS法(陰性) - TPHA法(陽性)は22件(9%)で、これらのTPHA抗体価は×80~×160と比較的低倍率のものが多かった。このような例では、梅毒感染に関してどのような経歴があるか明らかでない。

富山県(特に西部地区)では、梅毒の血清反応は一般的に保健所でガラス板法・TPHA法を併用したスクリーニングを行った後、衛生研究所で

FTA-ABS法が実施されてきた。本稿で示したデータはガラス板法やTPHA法であいまいな例ではFTA-ABS法による確認は重要であることを改めて示している。

#### 文 献

- 1) 富山県厚生部健康課編(1994). 健康行政の概要. 113.
- 2) 大里和久(1995). 臨床と微生物, 22, 2-6.
- 3) 菅原孝雄(1995). 臨床検査, 39, 689-693.

# 富山県における1995年の病原微生物検出情報

細呂木志保 刑部陽宅

## Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1995

Shiho HOSOROGI and Yotaku GYOBU

「病原微生物検出情報」は、国立予防研究所を中心に全国レベルで医療機関、地研・保健所等から情報を収集し、それを速やかに協力機関に還元し医療現場に役立てることを目的として1980年より始められた。富山県では12カ所の公立病院検査室と10カ所の保健所、衛生研究所を定点として実施、国立予防衛生研究所への報告と県内情報、全国情報の還元を行っている。

表1. 1) - 8) に1995年1月から12月までの県内の病原細菌検出情報を材料別・菌種別に集計し示す。保健所・衛生研究所からの情報は、ほとんどが糞便材料からの分離例なので、それらを医療機関からの情報に含めた。また医療機関の各材料から分離される黄色ブドウ球菌については、メチシリン等に対する薬剤感受性試験結果も併せて収集しており、MRSAの割合として示す。

表中の○で囲んだ数字は、食中毒など同一フォークスからの分離株が含まれていることを示し、( )内の数字は、海外旅行者分の再掲である。

**糞便**：分離株総数869株、前年比88%。最も多かったのは黄色ブドウ球菌（そのうちMRSAは73%）であった。次に多かったのは腸炎ビブリオで、13件起こった食中毒のうち、10件が本菌によるものであった。1992～93年は全国的な傾向と同様、分離数が急に減少したが、再び94年から増え、昨年は前年比144%とさらに増加した。サルモネラは依然として分離は多いものの、前年比34%と減少し近年頻発していたサルモネラ食中毒も昨年は0件であった。それは血清型O9 (Enteritidis)

に顕著で、本血清型に限れば前年比17%の減少であった。カンピロバクター、大腸菌は前年並であった。

法定伝染病は、パラチフスA菌2株、コレラ菌5株が分離された。

海外からの持ち込みは、上記伝染病菌と腸炎ビブリオ、病原大腸菌が1株ずつであった。2月から3月にかけてインドネシア・バリ島旅行で日本人コレラ患者が集団発生したが、県内では5人の患者がみられ、いずれもエルトル小川型であった。

**穿刺液**：分離株総数256株、前年比112%。黄色ブドウ球菌（MRSAは52%）、大腸菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌などが多く分離された。

**髄液**：分離株総数10株、前年比167%。黄色ブドウ球菌（MRSAは60%）5株の他、インフルエンザ菌、B群溶連菌、肺炎球菌、結核菌、*Listeria monocytogenes* が分離された。

**血液**：分離株総数379株、前年比98%。大腸菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは47%）、コアグラゼ陰性ブドウ球菌がおもに分離された。1月と3月のパラチフスA菌については、患者糞便からも同菌が分離された。

**咽頭および鼻咽喉**：分離株総数1,239株、前年比108%。A群溶連菌が最も多く、インフルエンザ菌、肺炎球菌が分離された。

**喀痰、気管吸引液および下気道**：分離株総数4,704株、前年比107%。黄色ブドウ球菌（MRSAは67%）、緑膿菌が多く他には肺炎桿菌、インフルエンザ菌、肺炎球菌などが分離された。

**尿**：分離株総数5,458株、前年比91%。各分離



平成8年10月1日

材料のなかで最も分離株数が多く、菌種も様々であった。大腸菌、腸球菌、緑膿菌などが多かった。黄色ブドウ球菌（MRSAは68%）、*Candida albicans*なども分離された。

陰部尿道頸管擦過（分泌物）：分離株総数1,625株、前年比87%。ほとんどが、*Candida*

*albicans*であった。その他、B群溶連菌などが分離された。なお、*Chlamydia trachomatis*、*Trichomonas vaginalis*は抗原検出数である。

謝辞：県内12カ所の公立病院と10カ所の保健所の検査担当各位に感謝します。

表1. 月別・菌種別の病原微生物検出状況（1995年）

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Salmonella Typhi													
Salmonella Paratyphi A	1(1)		1(1)										2(2)
Salmonella O4			1			1	2	9	2	3	3		21
Salmonella O7						1	1	6	10	2	2		22
Salmonella O8		1	1	1		2	2	1	2	2	1	2	15
Salmonella O9		3	1	2			1	5	6	6	4		28
Salmonella その他	1		1					2	1	3	2	1	11
Salmonella 群不明													
Yersinia enterocolitica								1	1			2	4
Y. pseudotuberculosis										1			1
Vibrio cholerae O1		④(4)	①(1)										5(5)
Vibrio cholerae O139													
V. cholerae O1, O139 以外								2					2
Vibrio parahaemolyticus							7	⑦(7)	②(1)	3			114(1)
Vibrio fluvialis												1	1
Vibrio mimicus													
Aeromonas								2		1	1		4
Plesiomonas shigelloides							1						1
Campylobacter	3	5	6	7	12	10	7	9	5	5	15	6	90
Staphylococcus aureus	26	31	33	43	32	60	39	④(8)	46	44	43	37	482
Clostridium perfringens													
Clostridium botulinum													
Bacillus cereus													
Entamoeba histolytica													
Escherichia coli 細菌侵入性	3		1										4
“ 毒素原性	2	1		1	1		1						6
“ 病原大腸菌血清型	14	4(1)	4	3	3	1	3	4	3	3	4		46(1)
“ EHEC/VTEC													
“ その他不明	1		3	1	3	1			1				10
Shigella													
合計	51(1)	49(5)	53(2)	58	51	76	64	167	103(1)	73	75	49	869(9)

2) 分離材料：穿刺液（胸水、腹水、関節液など）

Escherichia coli	5	10	2	4	4	1	1	3	9	3	5	2	49
Klebsiella pneumoniae	1	3	1	2	2	1	3	2	8	2	1	2	28
Haemophilus influenzae										1			1
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	5	4	3	2	1	3	3	3	2	2	3	2	33
Mycobacterium spp.													
Staphylococcus aureus	4	4	6	3	5	10	2	9	12	9	6	8	78
Staphylococcus, コアグラーゼ陰性	5	4	3	4	2	5	3	2	3	4	3	1	39
Streptococcus pneumoniae										1			1
Anaerobes	1	2	4	1		2	2	2	7	1	3	2	27
Mycoplasma pneumoniae													
合計	21	27	19	16	14	22	14	21	41	23	21	17	256

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli													
Haemophilus influenzae										1			1
Neisseria meningitidis											1		1
Listeria monocytogenes													
Staphylococcus aureus				1		1			2			1	5
Streptococcus, B				1									1
Streptococcus pneumoniae												1	1
合計	0	0	0	2	0	1	0	0	2	1	1	2	9
M. tuberculosis											1		1

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	10	9	11	7	12	10	8	10	10	7	9	4	107
Salmonella Typhi													
Salmonella Paratyphi A	1(1)		1(1)										2(2)
Salmonella spp.												1	1
Haemophilus influenzae							1			1			2
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	3	1	2	2	2	6	1	2	2		3	2	25
Staphylococcus aureus	9	10	8	7	8	15	10	9	9	8	8	4	105
Staphylococcus, コブチ菌	12	3	11	5	8	12	8	8	9	11	13	8	108
Streptococcus, B		1		2		1	1			1	1	1	8
Streptococcus pneumoniae	1				2		1					1	5
Anaerobes	1	4	1	1		2	4	2					15
合計	37	28	34	24	32	46	34	31	30	28	34	21	379

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Bordetella pertussis													
Haemophilus influenzae	75	54	56	61	72	72	46	21	19	41	47	73	637
Neisseria meningitidis													
Streptococcus, A	31	39	61	49	50	30	24	13	13	32	49	57	448
Streptococcus pneumoniae	9	8	12	10	20	17	14	3	6	21	15	19	154
C. diphtheriae													
合計	115	101	129	120	142	119	84	37	38	94	111	149	1239

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
M. tuberculosis	2	1	6	1	2	2	7	7	3	3	2	4	40
Klebsiella pneumoniae	58	70	55	55	57	57	74	63	72	58	56	61	736
Haemophilus influenzae	39	38	31	28	34	29	32	31	20	37	35	27	381
Legionella pneumophila													
Pseudomonas aeruginosa	84	127	109	106	94	82	79	89	96	88	93	81	1128
Staphylococcus aureus	186	172	178	177	182	154	166	126	131	160	138	134	1904
Streptococcus, A	3	15	9	9	6	1	2	3	7	5	3	2	65
Streptococcus, B	15	14	12	12	7	7	5	11	5	4	9	11	112
Streptococcus pneumoniae	29	28	34	19	28	24	25	23	18	25	47	35	335
Anaerobes							1						1
Mycoplasma pneumoniae	2												2
合計	418	465	434	407	410	356	391	353	352	380	383	355	4704

平成8年10月1日

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	161	146	143	142	140	127	159	138	116	116	107	132	1627
Enterobacter spp.	29	22	32	18	20	21	28	25	19	13	17	16	260
Klebsiella pneumoniae	23	22	22	22	33	31	34	31	43	34	29	19	343
Acinetobacter spp.	1	9	6	5	6	5	11	8	8	3	2	6	70
Pseudomonas aeruginosa	54	56	78	76	77	95	104	73	88	55	70	61	887
Staphylococcus aureus	44	43	39	37	53	54	47	37	29	34	53	40	510
Staphylococcus, コアグラーゼ陰性	47	39	46	35	36	29	50	45	20	40	41	45	473
Enterococcus spp.	63	74	73	66	93	77	85	74	73	76	71	66	891
Candida albicans	35	40	41	34	27	35	35	35	36	25	20	34	397
合計	457	451	480	435	485	474	553	466	432	396	410	419	5458
グラム陽性球菌	1	6	1	2		2	3	2	15	3	3	2	40
グラム陰性桿菌	12	12	13	4	2	6	10	7	25	14	6	9	120
真菌	2	2	4	1	1	1	1	4	1		1	1	19

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

Neisseria gonorrhoeae				1			1		1	2		5	
Streptococcus, B	11	11	7	15	18	13	16	14	15	17	10	17	164
Chlamydia trachomatis	3	6	3	7	5	4	10	11	5	6	3	4	67
Ureaplasma													
Candida albicans	95	102	104	99	130	100	136	135	155	107	86	78	1327
Trichomonas vaginalis	5	2	6	7	7	2	5	5	4	9	8	2	62
合計	114	121	120	129	160	119	168	165	179	140	109	101	1625

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。

# オンカラム誘導体化グラジェント溶出 HPLC による 食品中ポリアミン類の一斉分析

山本 敦 松永 明信

Simultaneous Determination of Polyamines in Foodstuffs  
by High-performance Liquid Chromatography with On-  
column Derivatization and Gradient Elution

Atsushi YAMAMOTO and Akinobu MATSUNAGA

**目的**：食品中のタンパク質は、発酵・腐敗作用によって流通・保存中に徐々にアミノ酸へと分解され、さらに酵素的脱炭酸によってポリアミン類へ分解されていく。これらアミン類は不揮発性アミンとも呼ばれ、その含有量は食品腐敗の一指標とされている。一部ポリアミン類は、生体内で亜硝酸塩と発ガン性前駆体の疑いの持たれるニトロソアミンを形成し、またヒスタミン、チラミンのように多量摂取するとアレルギー様の食中毒を引き起こすものもあり、食品中のポリアミン類含有量を把握することは重要である。

著者らは、既にポストカラム誘導体化法を用いた高速液体クロマトグラフ装置 (HPLC) による食品中ポリアミン一斉分析法を報告したが [1, 2], 食品中に多量存在するアミノ酸類の妨害を受けるため、煩雑な精製操作を必要とした。最近、移動相中に予め反応試薬を添加しておき、分析カラム内で誘導体化と分離を同時に行なうオンカラム誘導体化によるポリアミン分析が報告された [3]。オンカラム誘導体化法では、送液ポンプが一台で済むためにシステムの簡素化が達成できるほか、カラム内での誘導体化が測定の再現性を向上させる。しかしこの方法でも、保持力の異なる多成分のポリアミンを同時に分析するには、試料の精製を必要とした。それは、移動相の濃度グラジェント溶出法適用が困難とされてきたため、保持の弱い成分では、アミノ酸等の妨害を被るから

である。そこで、オンカラム誘導体化法のグラジェント溶出への適用性を検討し、精製操作不要の食品中ポリアミン一斉分析法の確立を試みた。

**実験方法**：HPLC 装置は、島津 LC-4A ポンプ、同 CTO-1 恒温槽、同 RF-550A 蛍光検出器及びレオダイン7125インジェクタから構成した。分析カラムは、Shodex RSpak DE-613 (6 mm i.d. × 15 cm) を 40℃ で用いた。移動相には、各々 2 mM の *o*-フタルアルデヒド (OPA) と N-アセチルシステイン (NAC) を含む 10 mM リン酸二ナトリウム・2 mM NaOH / アセトニトリル (7 + 1) (A 液) 及び 0.6 mM OPA と 2 mM NAC を含む 10 mM リン酸二ナトリウム・2 mM NaOH / アセトニトリル (4 + 1) (B 液) を調製し、流速 0.7 ml/min で分析開始後 10 分で B 液 0% → 100% のリニアグラジェントを行ない、その後 20 分まで B 液 100% を保った後、A 液 100% に戻し、40 分周期で分析を繰り返した。検出は、励起波長 330 nm、蛍光波長 430 nm で行なった。

リン酸二ナトリウム、二塩酸ヒスタミン、OPA、NAC は和光特級品、トリクロロ酢酸 (TCA)、スペルミジンは同生化学用、プトレスシン、カダベリン、チラミンの塩酸塩及び硫酸アグマチンは同化学用を用いた。移動相のアセトニトリルは同 HPLC 用を、また、水酸化ナトリウム溶液には同容量分析用 1 N NaOH を用いた。

試料は、市販の醤油及び魚介乾製品を購入して用いた。醤油は、水で適宜希釈した後、 $0.45\mu\text{m}$ のフィルターを通してHPLCに供した。魚介乾製品は、その5gを5% TCA 20mlでホモゲナイズした後、水で全量を50mlとする。その5mlをとり、1N NaOHで中和した後、水で全量を10mlとし、ULTRACENT-30で限外ろ過した。

**結果と考察:** Saitoら[3]は、ポリアミン類をオンカラム誘導体化分析するに際し、対塩基性に優れたポリマー樹脂カラムであるAsahipak ODP-50を採用した。近年、ポリマー樹脂カラムに対する要望が増え、各種分離特性を有する製品が供給されるようになった。そこで今回、分析カラムとして、衛生化学分野では農薬分析等で最も普及している中極性ポリマー樹脂カラムであるShodex DE-613を用いて検討することにした。また、移動相の緩衝剤にはリン酸系を用いることにした。移動相pH 8から10に上げると、ピーク強度に変化はなかったが、全体に溶出が早くなり、保持の弱いアミン同士、あるいは塩基性アミノ酸との分離が不十分となった。初期移動相として、pH 8.5のリン酸緩衝液/アセトニトリル(7+1)を用いたところ、最も保持の弱いヒスタミンは、リシン、アルギニンといった塩基性アミノ酸や他のアミン類とも良好に分離された。更に、最終アセトニトリルの割合を緩衝液に対して(1+4)まで上げることにより、アグマチンまでの6種ポリアミンの一斉分析が可能であった。

OPAとNACによるオンカラム誘導体化条件は、Saitoらに準拠した。すなわち、OPAとNACの初期濃度は共に2mMとした。しかし、OPA濃度一定でグラジェント溶出行なったところ、移動相アセトニトリル濃度の上昇と共に、カラムに吸着されたOPAが溶出され、ベースラインの蛍光強度を上昇させた。そこで、アセトニトリル濃度の増大に伴い、添加するOPA濃度を低下させることによってベースラインドリフトを抑えることにした。その結果、溶離液B中のOPA濃度が0.6mMで、実用分析に耐え得る安定したベースラインが得られた。

以上の条件で測定した標品のクロマトグラムをFig. 1に示す。絶対注入量でヒスタミンとチラミンでは1~200 pmol、プトレスシン、カダバリン、アグマチンでは5~1,000 pmol、スペルミジンでは50~5,000 pmolの範囲においてピーク高さに直線性が認められた。なお、今回用いたLC-4Aポンプには高性能ダンパー(内容量約5ml)が内蔵されており、実際にグラジェントが始まるのはヒスタミン溶出後からである。

そこで、本法を実際試料に適用した。Fig. 2(A)は、醤油を100倍希釈して得られたクロマトグラムであるが、対象としたポリアミン以外に、多くの未知ピークが観察された。それに対し、十分に製造管理された魚介乾製品では、ほとんどア

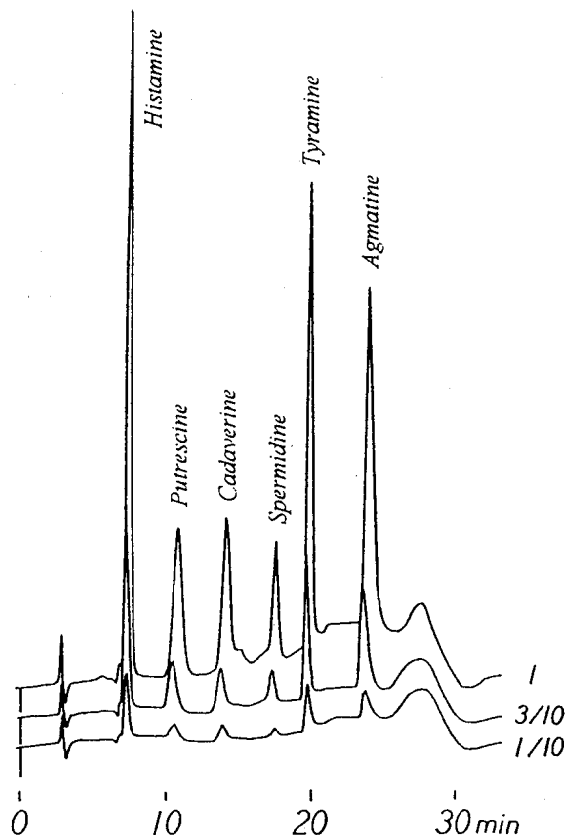


Fig.1. Gradient separation of 6 polyamines. Ten  $\mu\text{l}$  injections of serial dilutions of  $9.6\mu\text{M}$  Histamine,  $10.4\mu\text{M}$  Putrescine,  $9.1\mu\text{M}$  Cadaverine,  $89.5\mu\text{M}$  Spermidine,  $7.1\mu\text{M}$  Tyramine and  $16.8\mu\text{M}$  Agmatine.

ミン類は検出されなかった (Fig. 2 (B))。

以上、本法は複雑な精製処理を施すことなく、食品中のポリアミン類の一斉分析が可能であった。本法は、グラジエント溶出可能なポンプのみで適用可能なため、食品衛生上有用な分析手段になるものと思われる。

引用文献

1. 松永明信, 清水隆作 (1983). 富山衛研年報, 6, 75-77.
2. 松永明信, 山本 敦, 関口久義, 清水隆作 (1984). 富山衛研年報, 7, 62-69.
3. Saito, K., Horie, M., Nakagomi, K. and Nakazawa, H. (1992). Anal. Sci., 8, 675-680.

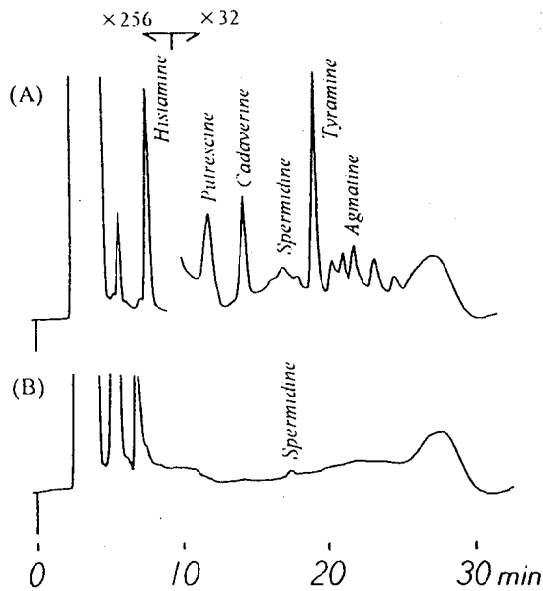


Fig.2. Chromatograms of (A) soy sauce and (B) salted and split horse mackerel.

## 農産物中のミクロブタニル, フェナリモル, ピリダベン及びレナシルの分析

齊藤行雄 大浦 徹 山本 敦 松永明信

Analysis of Myclobutanil, Fenarimol,  
Pyridaben and Lenacil in Agricultural Commodities

Yukio SAITO, Takashi OHURA,  
Atsushi YAMAMOTO and Akinobu MATSUNAGA

厚生省は1992年から130種以上の農産物に順次残留農薬基準を改正, 告示しており [1-5], 現在, 基準農薬数は108農薬と食品衛生法の中では最も膨大な規格基準となっている。これら告示の分析法では, 有機リン系農薬23種など, 一部の同時分析法もあるが, 殆どは個別分析法となっている。

著者らは, 前報 [6] で食品衛生法規格基準やFAO/WHOの国際残留農薬基準 [7] に設定されている70農薬 (77成分) について, ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) とシリカゲルまたはフロリジルミニカラムクロマトグラフィーを用いた多成分系統分析法を検討し, 農産物一般に適用できることを報告した。今回, 新たに食品衛生法規格基準に追加規制され, 個別分析法で測定するミクロブタニル, ピリダベン及び含窒素系12農薬同時分析法に入ったレナシル [4] 及びフェナリモル [5] の4農薬について, 前報 [6] の多成分系統分析法で同時に分析可能であるか検討した。

**材料と方法:** 試料は, 1995年7月から1995年11月にかけて富山県内で生産された玄米, きゅうり, りんごを用いた。

農薬標準品のミクロブタニル, ピリダベン及びレナシルは, リーデル・デ・ヘーン社, フェナリモルは, 和光純薬工業(株)のそれぞれ標準品を使用

した。各農薬標準原液は, 農薬標準品10mgをそれぞれアセトンに溶かして全量100mlとした。ただし, レナシルは酢酸エチル約5mlに溶かした後に, アセトンで全量100mlとした。4種農薬標準混合液については, 各農薬のGC感度に応じて, 標準原液の一定量を混合し, アセトンで希釈して調製した。

有機溶媒などその他については, 前報 [6] と同様のものを用いた。

GPC装置及びGPC条件, GC装置及びGC測定条件などその他は, 前報 [6] に従った。

試験溶液の調製は, 前報 [6] の系統分析法で調製し, 抽出農薬の精製はGPCと含窒素系農薬のシリカゲルミニカラムを使用した。なお, GC測定の際に, 標準溶液及び試験溶液のそれぞれ1mlに対して, ポリエチレングリコール200及び300を各5%含有させたアセトン溶液を5 $\mu$ l加え, 良く混合した後にGC測定を行った。

**結果及び考察:** Fig. 1 にミクロブタニル, フェナリモル, ピリダベン及びレナシルの化学構造を示した。ミクロブタニルは, トリアゾール骨格を有する殺菌剤であり, 前報 [6] で検討したトリアジメノールやビテルタノール等とよく似た構造で分子中に窒素を有する。殺菌剤のフェナリモル, 除草剤のレナシル及び殺虫殺ダニ剤のピリダベンは, ピリミジン, ピリミジノン及びピリダジノン

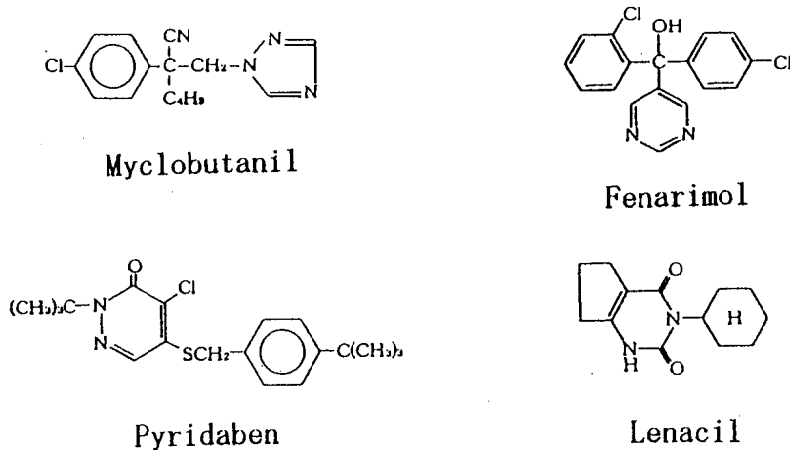


Fig.1. Chemical Structures of Myclobutanil, Fenarimol, Pyridaben and Lenacil

骨格を有する含窒素系農薬であるので、これら4農薬についてFTD-GCによるガスクロマトグラフィーを行った。Fig. 2に微極性のDB-17カラムによる4農薬のガスクロマトグラムを示した。ミクロブタニル、レナシル、フェナリモル、ピリダベンの順序で検出された。フェナリモルとピリダベンの保持時間(tR)の差は0.4分で接近しているが、各農薬はそれぞれ良好に分離した。これに対して、無極性のDB-1カラムでも、DB-17と同じGC条件では4農薬の溶出順序に変化はなく、フェナリモルとピリダベンのtR差は1.5分で十分に分離した。

しかし、DB-17カラムでは、4農薬以外のN-メチルカーバメートや含窒素系の22農薬のうち、ピリダベンと、2個の異性体を有し2本のピークが出現するピテルタノールの2本目の小ピークが、これに対してDB-1カラムではミクロブタニルとプレチラクロールがそれぞれ重複するため、実際の試料の分析では2種のカラムを併用するなど注意が必要であった。

次に、GPCによる4農薬の溶出実験を行った。抽出農薬の精製にGPCが優れていることは、既に報告している[6, 8]が、近年、ジクロロメタン等の環境への排出が規制されるなど、クリーンアナリシスの開発が必要となっている。このため、著者らもGPCの溶出溶媒であるジクロロメタン-シクロヘキサン系に代わる溶媒系として、

酢酸エチルーシクロヘキサン系及び酢酸エチルーシクロペンタン系を検討してきた。しかしながら、現在のところ、農産物中に多量含まれる脂質類と微量農薬を完全に分離する溶媒系はなく、検討した溶媒系では、特にカロチン等の脂溶性色素とフルバリネート等のピレスロイド系農薬との分離効率が極めて悪かった[9]。このようなことから、今回の4農薬のGPC溶出実験についても、ジクロロメタン-シクロヘキサン系(1:1)を使用した。Fig. 3にGPCの溶出パターンを示した。ピリダベンが画分10に20%程度溶出したが、ミクロブタニル、フェナリモル及びレナシルは画分11から画分15までに溶出した。これに対して玄米抽出物、クロロフィル、カロチンの脂質類は画分7から画分10までに97~98%が溶出し、画分11には2~3%程度の溶出であった。得られた結果から、前報[6]と同様に画分10まで(0~100ml)の脂質画分を除去し、画分11~20まで(100~200ml)の農薬画分を分取することにした。ピリダベンについてはGPC精製で20%程度損失するが、脂質類の除去を重視することにし、画分10を除去した。

次に、農薬添加回収実験を行った。玄米、きゅうり、りんごに4農薬を添加し、GPC精製法を主体にした本法による各農薬の回収率を求めた。Table 1に3回の繰返し実験から得られた回収率を、Fig. 4に玄米及びりんごの代表的なガス



平成8年10月1日

クロマトグラムをそれぞれ示した。きゅうりのガスクロマトグラムは示していないが、これらいずれの農産物についても、4農薬の測定を妨害するピークは見られなかった。回収率については、玄米でピリダベン 89.7~レナシル 100.3%，きゅうりでピリダベン 68.8~フェナリモル 101.0%，りんごでピリダベン 79.2~ミクロブタニル 99.0%のそれぞれ良好な数値を示した。変動係数も 9.0%以下と良好であった。検出限界は、ミクロブタニルが 0.01ppm，フェナリモル及びレナシルが

各々 0.02ppm，ピリダベンが 0.05ppmであった。

以上のことから、前報 [6] の GPC を用いた残留農薬多成分系統分析法でミクロブタニル，フェナリモル，ピリダベン及びレナシルも適用できることが明らかとなった。

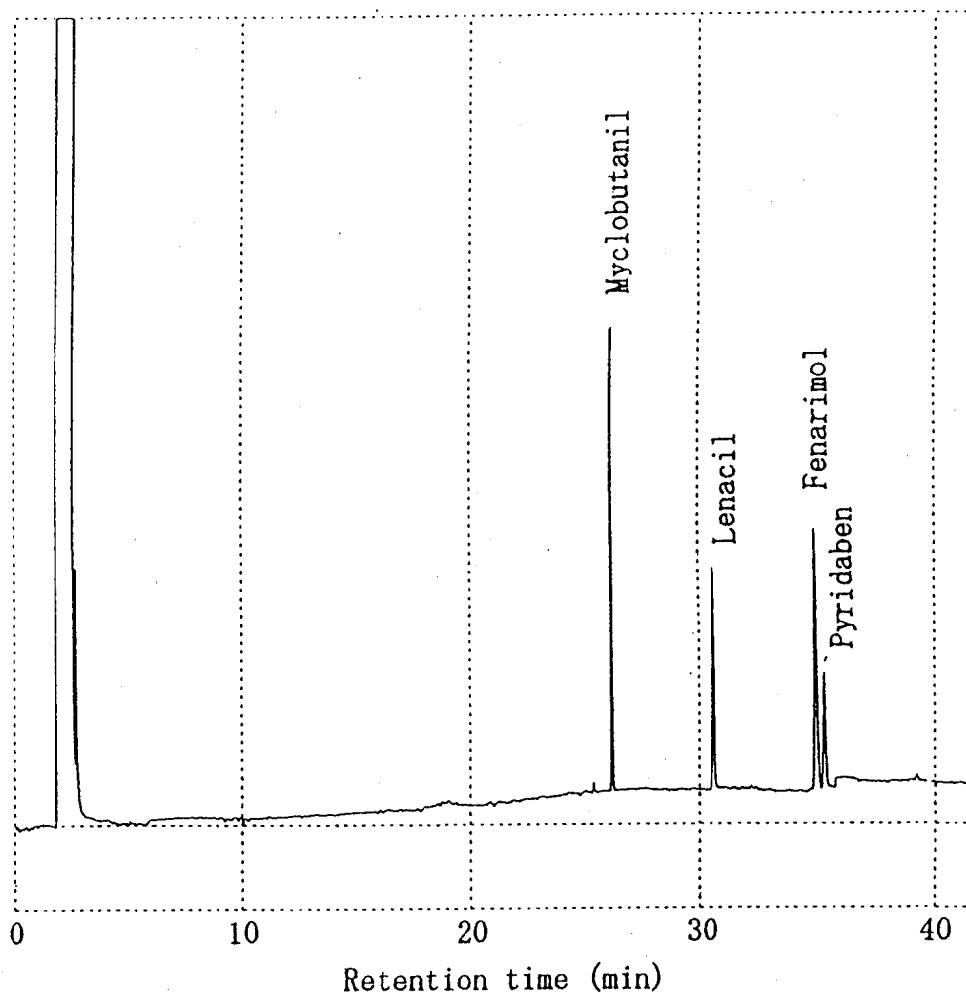


Fig.2. Gas Chromatogram of 4 Pesticides mixture by FTD - GC

Conditions: column, DB-17 (0.25mm i. d.  $\times$  30m, 0.25  $\mu$ m film thickness) ; column oven temp., 50 $^{\circ}$ C (0.5min)  $\rightarrow$  (10 $^{\circ}$ C/min)  $\rightarrow$  200 $^{\circ}$ C  $\rightarrow$  (8 $^{\circ}$ C/min)  $\rightarrow$  280 $^{\circ}$ C (19.5min) ; injection temp., 240 $^{\circ}$ C, detection temp., 280 $^{\circ}$ C ; myclobutanil 0.5  $\mu$ g/ml, lenacil and fenarimol 1  $\mu$ g/ml each, pyridaben 2  $\mu$ g/ml

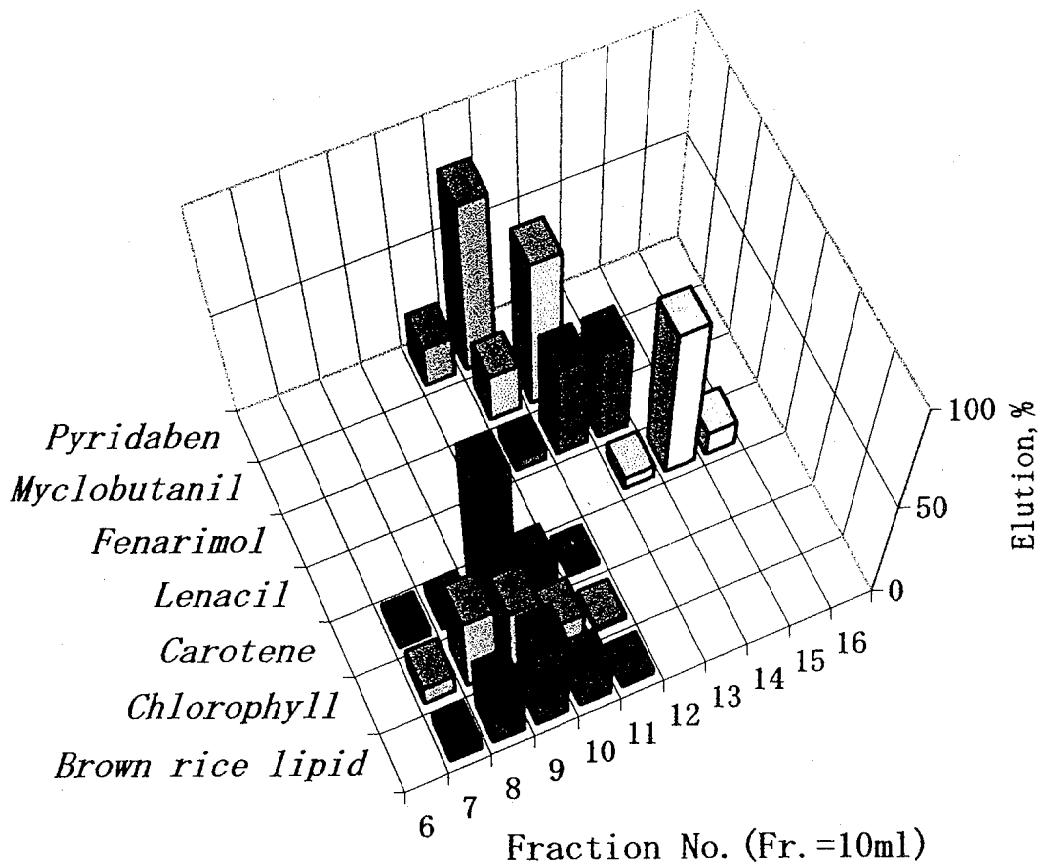


Fig. 3. GPC Elution Patterns of 4 Pesticides and Lipids from Bio-Beads SX-3 Column

Conditions: column, Bio-Beads SX-3 (200-400mesh, 22mm i. d. ×500mm); elution solvent, dichloromethane-cyclohexane (1:1); flow rate, 5 ml/min  
Fractions 11-20 (100-200ml) were collected.

文 献

1. 平成4年10月27日厚生省告示第239号
2. 平成5年3月4日厚生省告示第68号
3. 平成5年9月14日厚生省告示第200号
4. 平成6年6月9日厚生省告示第199号
5. 平成7年8月14日厚生省告示第161号
6. 齊藤行雄, 山本 敦, 松永明信, 水上英一 (1994).  
富山衛研年報, 17, 144-154.
7. 厚生省生活衛生局食品化学課監修 (1993). 国際残留農薬基準 - FAO/WHO 合同食品規格委員会勧告 -, 日本食品衛生協会.
8. 齊藤行雄, 山本 敦, 水上英一 (1993). 富山衛研年報, 16, 210-214.
9. 未発表

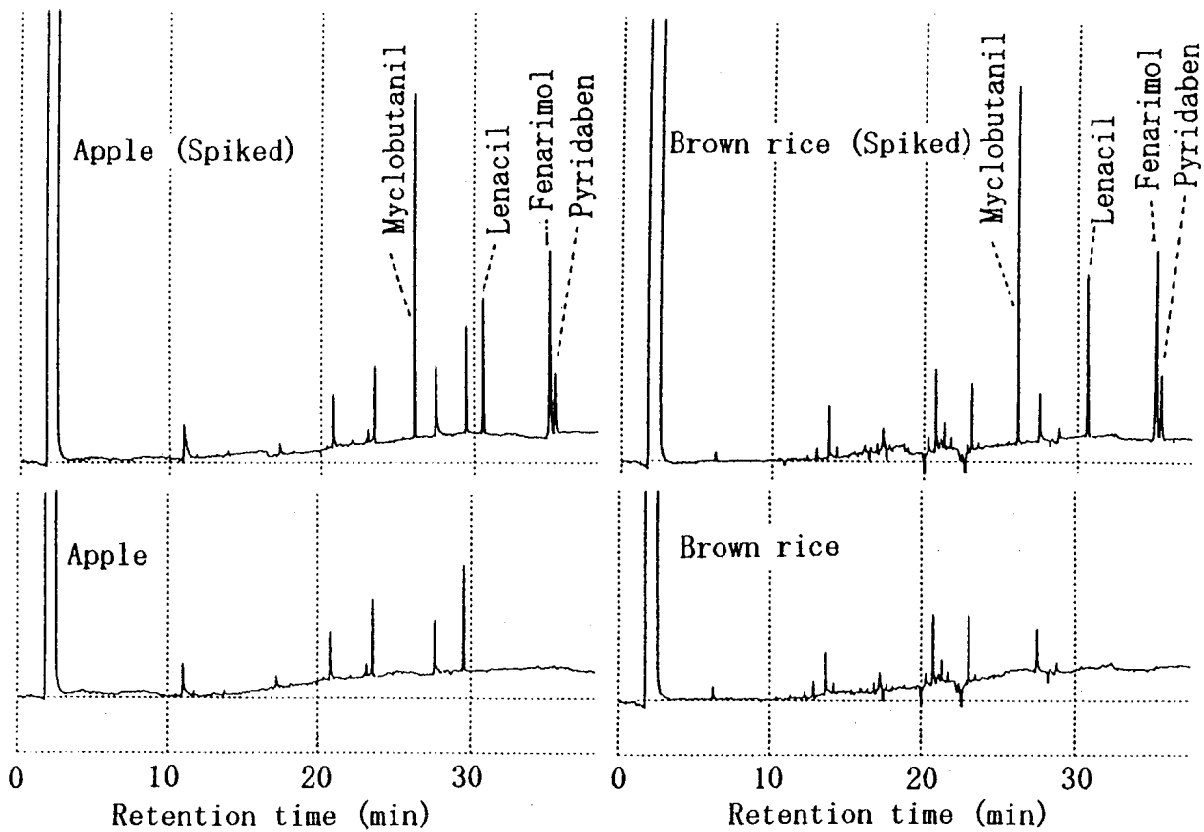


Fig.4. Typical Gas Chromatograms of Brown rice and Apple extract  
Conditions are same as those in Fig. 2.

Table1. Recoveries of Myclobutanil, Fenarimol, Pyridaben and  
Lenacil Spiked to Agricultural Commodities

Pesticide	Spiked level ( $\mu$ g/g)	Recovery (%)		
		Brown rice	Cucumber	Apple
Myclobutanil	0.125	97.3(6.3)	97.0(4.5)	99.0(2.7)
Fenarimol	0.25	93.8(6.4)	101.0(2.6)	95.5(2.4)
Pyridaben	0.5	89.7(6.5)	68.8(8.9)	79.2(7.7)
Lenacil	0.25	100.3(6.6)	79.7(5.8)	83.8(9.0)

Each recovery value is average of three determinations. Coefficient of variation is shown in parentheses.

## ポストカラム反応-HPLCによる県内産農産物中の N-メチルカーバメート系農薬の分析

大浦 徹 齊藤 行雄 松永 明信

Determination of N-methylcarbamate Pesticides in Agricultural Commodities  
in Toyama Prefecture by HPLC with Post-column Reaction System

Takasi OHURA, Yukio SAITO and Akinobu MATSUNAGA

食品中に残留する農薬については、食品、添加物等の規格基準において、現在108種の農薬についてその基準値が決められ、また、検査法については、類似の農薬を一つのグループにまとめて52の試験法が定められている。

しかし、検査時には多くの農産物に対して、できるだけ多くの農薬を対象とする事が望ましいことから、検査の効率化と操作の省力化を目的として各種の一斉分析法が検討されている。なかでも、試料からメタノール、アセトン等により溶媒抽出した後、GPCによって色素、脂質等の妨害物を除去する方法は、有機塩素系農薬、有機リン系農薬、ピレスロイド系農薬、あるいは含窒素系農薬と幅広い農薬に対して利用できることから注目されている。[1, 2, 3]

著者らは、このGPCによるクリンアップとポストカラム反応により加水分解の後、誘導体化し、蛍光検出器により検出するポストカラム反応 HPLC 法を用いて、1995年に県内で生産された農産物について、オキサミル、アルジカルブ、ベンダイオカルブ、カルバリル、エチオフェンカルブ、イソプロカルブ、フェノブカルブ、メチオカルブを対象に残留量を調査した。

**材料と方法**；材料は1995年7月から11月の間、県内で生産されたきゅうり2件、スイカ2件、日本なし2件、りんご2件、だいこん2件及び玄米2件を各保健所において収去して衛生研究所に搬入

し、分析に共するまでそのまま低温で貯蔵した。

溶媒抽出およびGPCに使用する試薬は残留農薬試験用、HPLCには液体クロマトグラフ用を用いた。また、標準液は和光純薬製またはリーデル・デ・ヘーン製の残留農薬検査用標準品10mgをメタノール100mlに溶かした標準原液を調整し、各標準原液1mlずつ取りメタノールで50mlとして混合標準液を調製し、適宜、検量線の作成、添加回収試験に使用した。

HPLC装置はウォーターズ製のカーバメート分析システムにウォーターズ製オートサンプラー717、ウォーターズ製データ処理装置を接続し、システムのコントロールおよびデータの解析はミレニウム2001Jによった。また、HPLCのカラム温度、反応温度、グラジエント濃度等の測定条件は永山ら[5]の方法によった。

分析法は試料を細切、均質化、秤量後、齊藤ら[4]の操作によった。GPC精製して得られたアセトン溶液1mlは、アセトンを留去し、メタノール0.3mlを加えて溶解し、塩酸溶液(pH3)2.7mlを加えた後、0.45 $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過して試験溶液とした。

**結果**；添加回収試験には、あらかじめポストカラム HPLC 法によって農薬標準品の位置にピークが出現しないことを確認したトマトを用いた。添加量は試料20gに対して混合標準液を0.5ml加えて、試料中の各農薬濃度が50ng/gとなるよう

に行った。添加回収率は、エチオフェンカルブを除く7種類の農薬と2代謝物（メチオカルブスルホキシド、メチオカルブスルホン）については74%から85%であった。しかし、エチオフェンカルブは回収されなかった。検出された農薬の検出限界は  $s/n=3$  において 5 ppb であった。

本法は7種農薬の分析法として利用できると考えられる。本法を用いて、1995年の県内産農産物12件を試験したところ、きゅうり2件、スイカ2件、だいこん2件及び玄米2件について、オキサミル、アルジカルブ、ベンダイオカルブ、カルバリル、イソプロカルブ、フェノブカルブ、メチオカルブの7種類の農薬はすべて不検出であった。しかし、カルバリルが日本なし2件 (0.22ppm, 0.14ppm) およびりんご2件 (0.16ppm, 0.12ppm) からそれぞれ検出された。Fig. 1に0.1ppm標準液、Fig. 2に日本なしから得られたクロマトグラムを示した。

カルバリルが検出された試料については、カルバリルそのものが蛍光を持つことからポストカラム反応を行わないで直接、蛍光検出器で検出することにより確認した。また、別にGCを用いた試験

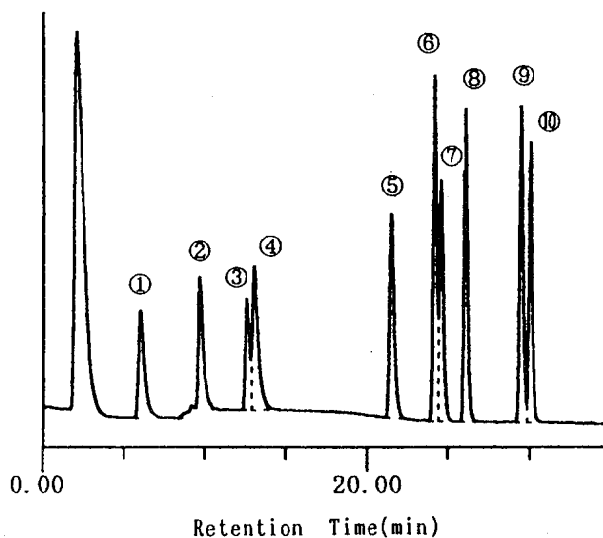


Fig.1. HPLC Chromatogram of 10 Carbamates

- ① Oxamyl    ② Methiocarb sulfoxide
- ③ Methiocarb sulfone    ④ Aldicarb
- ⑤ Bendiocarb    ⑥ Carbaryl    ⑦ Ethiofencarb
- ⑧ Isoprocarb    ⑨ Fenobucarb
- ⑩ Methiocarb each 10ng

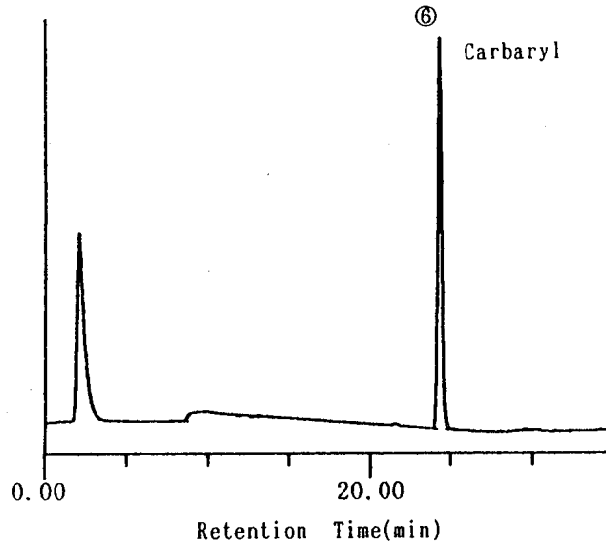


Fig.2. HPLC Chromatogram of Japanese Pear Extract

においても検出されたことから、GC/MSによる確認も併せて行った。[4]

今回、試験した農産物については、農家から防除歴を聞き取り調査して、N-メチルバーバメート農薬の使用を確認している事を考えると、本県の農産物においては概ね農薬の使用基準が守られていると考えられる。しかし、日本なし及びりんごについて、検査した件数はそれぞれ2件と少ないが、全てから基準値の1/8~1/5のカルバリルが検出されたことを考えると、今後も監視の対象とする必要がある。

## 文 献

1. 農薬残留分析法研究班編 (1995). 最新農薬の残留分析法, 686-687, 中央法規出版.
2. Holstege, D. M., Scharberg, D. L., Tor, E. R., Hart, L. C. and Galey, F. D. (1994). J. Assoc. off. Anal. Chem., 77, 1263-1274.
3. 斎藤 勲, 山田貞二, 大島晴美, 早川順子 (1995). 農薬誌, 20, 109-118.
4. 齊藤行雄, 大浦 敏, 山本 敦, 松永明信 (1996). 富山衛研年報, 19, XYZ-XYZ.
5. 永山敏廣, 小林麻紀, 塩田寛子ら (1994). 食衛誌, 35, 470-478.

## 農産物中の残留農薬調査

齊藤 行雄 大浦 徹 山本 敦 松永 明信

## Pesticide Residues in Agricultural Commodities

Yukio SAITO, Takashi OHURA,  
Atsushi YAMAMOTO and Akinobu MATSUNAGA

食糧確保のため、病害虫等の防除目的で使用される農薬は、1970年頃まではパラチオン、BHC、DDTのように人畜に対する毒性の強い薬剤が散布されていた。その後、環境にやさしい農薬が開発され、最近では人畜及び魚毒性の弱い、少量で病害虫等に効果があり〔1〕、散布後の土壌中半減期が約1ヵ月位の分解しやすい農薬が使用されている〔2〕。しかし、食品の安全性確保のためには、農薬安全使用基準を遵守した農薬の使用が実施されているか監視する必要がある、短期間に農産物中の残留農薬を分析調査することが重要である。

著者らは、既に前報〔3〕で、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）とフロリジル又はシリカゲルミニカラムクロマトグラフィーを用いたGCによる70農薬（77成分）系統分析法を検討し、農産物一般に適用できる簡易で迅速な分析法であることを報告した。

この系統分析法に、今回、検討したGCによるミクロブタニル、フェナリモル、ピリダベン、レナシル分析法〔4〕及びHPLCによるメチオカルブなどN-メチルカーバメート系7農薬（9成分）分析法〔5〕を追加し、76農薬（85成分）系統分析法とし、県内で生産された農産物中の残留農薬について調査した。

**材料と方法：**試料は、1995年7月から1995年11月にかけて富山県内で生産された玄米、だいこん、スイカ、きゅうり、りんご、及び日本なし（各々

2試料）の6種12試料を用いた。試薬は、前報〔3〕に従った。

調査農薬は、有機リン系農薬ではジクロロボス（DDVP）、サリチオン、ジメトエート、シアノホス（CYAP）、ダイアジノン、ジクロフェンチオン（ECP）、クロルピリホスメチル、フェニトロチオン（MEP）、ピリミホスメチル、マラチオン、フェンチオン（MPP）、クロルピリホス、フェントエート（PAP）、メチダチオン（DMTP）、プロチオホス、イソキサチオン、エチオン、エディフェンホス（EDDP）、ピリダフェンチオン、EPN、ホサロン、オメトエート、エトプロホス、モノクロトホス、テルブホス、エトリムホス、パラチオンメチル、パラチオン、クロルフェンピホス（ $\alpha$ -、 $\beta$ -CVP）、キナルホス、フェンスルホチオン、ホスメット（PMP）の合計32農薬（33成分）を用いた。

有機塩素系農薬ではBHC（ $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -BHC）、DDT（pp'-DDT、pp'-DDE、pp'-DDD、op'-DDT）、ディルドリン、アルドリン、エンドリン、ジコホール、クロルベンジレート、フサライド、クロルニトロフェン（CNP）、キントゼン（PCNB）の合計10農薬（16成分）を用いた。

ピレスロイド系農薬ではシハロトリン、ベルメトリン、シペルメトリン、フェンバレレート、デルタメトリン、フェンプロパトリン、シフルトリン、フルシトリネート、フルバリネートの合計9農薬（9成分）を使用した。

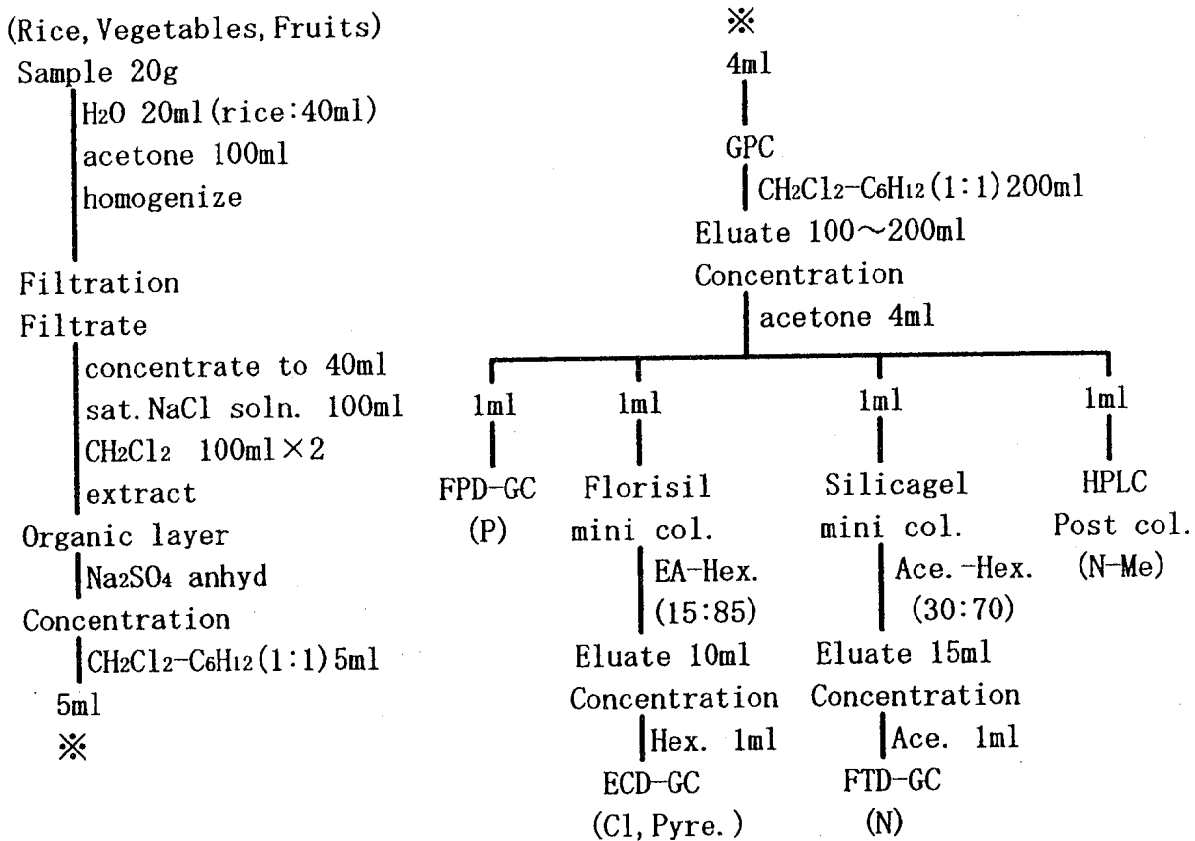
含窒素系農薬は、アルジカルブ、イソプロカル

ブ (MIPC), オキサミル, ペンダイオカルブ, カルバリル (NAC), メチオカルブ, メチオカルブスルホキシド, メチオカルブスルホン, フェノブカルブ (BPMC) (以上N-メチルカーバメート系), ピリミカーブ, エスプロカルブ, チオベンカルブ, ペンディメタリン, プレチラクロール, フルトラニル, キノメチオネート, メプロニル, プロピコナゾール, メフェナセット, クロルプロファミ (CIPC), ジェトフェンカルブ, トリアジメノール, ビテルタノール, ピリダベン, フェナリモル, ミクロブタニル, レナシルの合計25農薬 (27成分) を用いた。調査農薬の総計は76農薬 (85成分) である。

GPC 装置及び GPC 条件, GC 装置及び GC 測定条件などその他は, 前報 [3] に従った。GC で検出された農薬については, 農薬確認のため,

ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS, 島津製作所製 QP-5000) を使用した。GC/MS 条件は, スキャンモード及び選択イオンモニタリング (SIM) モードにより測定した。導入はスプリットレス法, カラムは DB-1 (内径 0.25mm, 長さ 30m, 膜厚 0.25 $\mu$ m) を用いた。カラム温度は 50 $^{\circ}$ C で 2 分保持し, 次に毎分 20 $^{\circ}$ C で 130 $^{\circ}$ C にまで昇温後, 毎分 5 $^{\circ}$ C で 280 $^{\circ}$ C に昇温し 10 分保持する温度条件を使用した。平衡化時間 3 分, サンプルング時間 2 分, キャリヤーガスは He で毎分 1.7 ml, スプリット比 9.0, 全流量毎分 20ml, イオン化電圧 70eV, 検出器電圧 1.7kV (スキャンモード) 及び 1.8kV (SIMモード), 注入口ガラスインサートは島津農薬分析用を使用した。

系統分析方法については, 前報 [3, 4, 5] を組合わせた。概略を Scheme 1 に示した。



Scheme 1. Systematic Determination Procedure of Pesticide Residues

P : Organophosphorus pesticides, Cl : Organochlorine pesticides,  
Pyre. : Pyrethroid pesticides, N : Nitrogen-containing pesticides  
N-Me : N-methylcarbamate pesticides

**結果及び考察：**有機リン系農薬については、防除歴から、玄米ではMEPとPAPが、だいこんではCYAP、ダイアジノン、マラチオン及びジメトエートが、スイカではDDVP, MEP, PAP及びホサロンが、りんごはクロルピリホス, CYAP, DDVP, DMTPが、日本なしではDMTP, MEP及びマラチオンがそれぞれ散布されていた。有機リン系農薬の使用は農産物全体としてみると合計10農薬で、含窒素系（5農薬）、ピレスロイド系（4農薬）、有機塩素系（3農薬）に比較して多種類が使用されていた。しかし、玄米及び野菜・果実類6種12農産物を分析した結果、全てに有機リン系農薬は不検出であった。

有機塩素系農薬については、玄米でフサライド、スイカではクロロベンジレート及びジコホルの使用があった。フサライドは、いもち病の特効薬として毎年使用されており、実際の散布剤はフサライド・カスガマイシン・バリダマイシンの3種混合剤やMEP・フサライド・BPMC・バリダマイシンの4種混合剤が用いられていた。当薬剤は、昨年度の調査では県内産玄米6試料の全てに0.006～0.032 ppmの範囲で残留していた農薬である[6]。しかしながら、今回の分析結果から

はフサライドを含む全ての農薬の残留は認められなかった。

ピレスロイド系農薬では、だいこんでフェンバレレート、スイカではシベルメトリン、フルバリネート及びベルメトリンが使用されていた。実際の散布剤は、フェンバレレート・マラチオンの2種混合剤、フェンバレレート・ジメトエートの2種混合剤がだいこんに用いられ、スイカでは単一剤であった。昨年度の調査ではキャベツやはくさいからフェンバレレート、トマトにベルメトリンの残留が認められた。しかしながら、今回の分析結果からはこれらを含む全ての農薬の残留は認められなかった。

今回、りんご試験溶液をECD-GCで測定した際、フェンプロパトリンの0.02 ppmに相当するピークが認められた。この農薬は、県の農作物病害虫・雑草防除指針[7]ではりんごに散布できることになっている。実際の防除歴での使用はないが、記載漏れも考えられるので明確にするため、GC/MSにより確認を行った。Fig. 1にGC/MSのスキャンモードによるフェンプロパトリンのTICとマススペクトルを示した。フラグメントイオンの中から、特徴的な質量数(m/z)

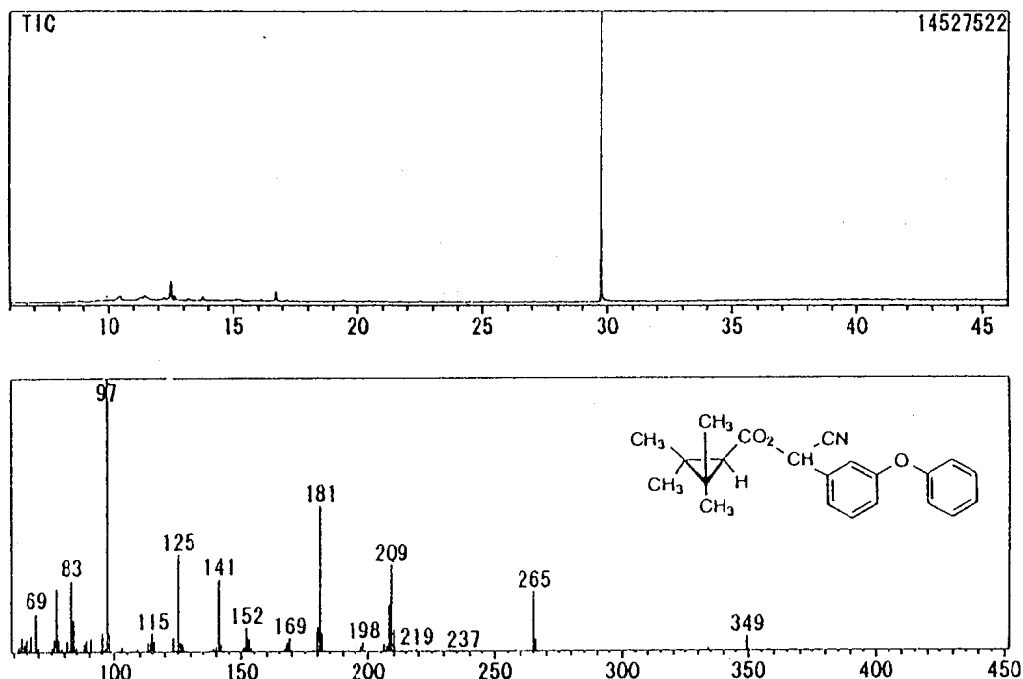


Fig.1. Total Ion Chromatogram (TIC) and Mass Spectrum of Fenprothrin



181, 209, 265, 97 及び分子イオン 349 を SIM モードのモニターイオンに選択した。Fig. 2 にこれらモニターイオンによる SIM クロマトグラムを示した。しかし、試料では、フェンプロパトリンの tR に相当するピークは、各種 SIM のうち m/z 181 のみであり、他のイオンピークは不検出であった。このことから、りんごの GC 測定でみられたフェンプロパトリンに相当するピークは、フェンプロパトリン以外の物質と考えられた。今回の例のように、GC で検出された物質については、GC/MS での確認が極めて重要であった。

含窒素系農薬における防除歴からの使用農薬は、玄米で BPMC、スイカでキノメチオネート及びピリダベン、りんごや日本なしではフェナリモル及び NAC であった。これら散布農薬のうち NAC が、りんご 2 試料から 0.12 及び 0.16 ppm、日本なし 2 試料から 0.14 及び 0.22 ppm の数値でそれぞれ残留していた（残留基準：各々 1.0 ppm）。日本なしでは、NAC・マラチオンの 2 種混合剤が使用されているが、有機リン系農薬のマラチオ

ンは不検出であったので、カーバメート系農薬 NAC の残留性が高いと考えられた。

次に、りんご中の NAC 測定値がポストカラム反応 HPLC [5] で 0.12 ppm 及び FTD-GC で同程度検出された当薬剤の確認を GC/MS により行った。Fig. 3 に GC/MS のスキャンモードによる NAC の TIC とマススペクトルを示した。GC/MS 測定における NAC は、A (tR11.73分) 及び B (18.93分) の 2 個のピークを生じた。この A 及び B のマススペクトルは殆ど同じマススペクトルを示したが、NIST ライブラリー検索及び有機化合物のスペクトルデータ [8] により、B ピークは NAC 本体であり、最初のピーク A は熱分解物の 1-ナフトールと考えられた。そこで、A 及び B の両ピーク共に確認することとし、フラグメントイオンの中から、特徴的な m/z 115, 116, 144 及び 145 を SIM モードのモニターイオンに選択した。Fig. 4 にこれら選択イオンによる両ピークの SIM クロマトグラムを示した。りんご試料中の A 及び B のピークは、NAC 標準溶液と

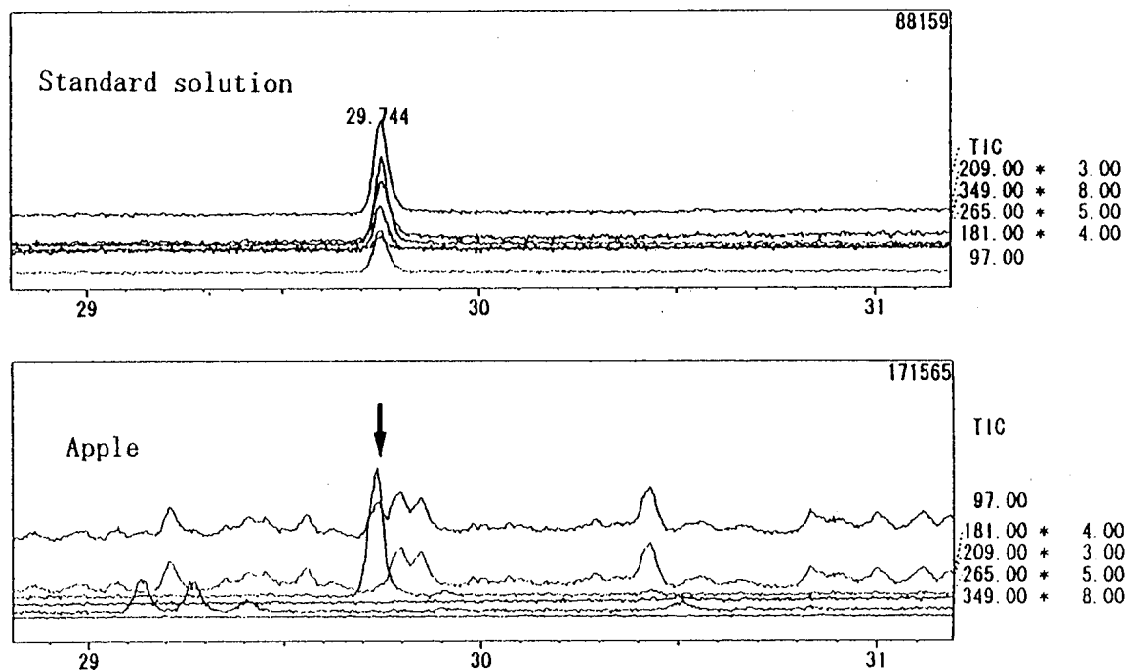


Fig. 2. Selected Ion Monitoring (SIM) Chromatograms of Fenpropathrin and Apple Sample

Peak in the apple sample was not obtained the same as in the standard Fenpropathrin solution with monitor ion of m/z 97, 209, 265 and 349.

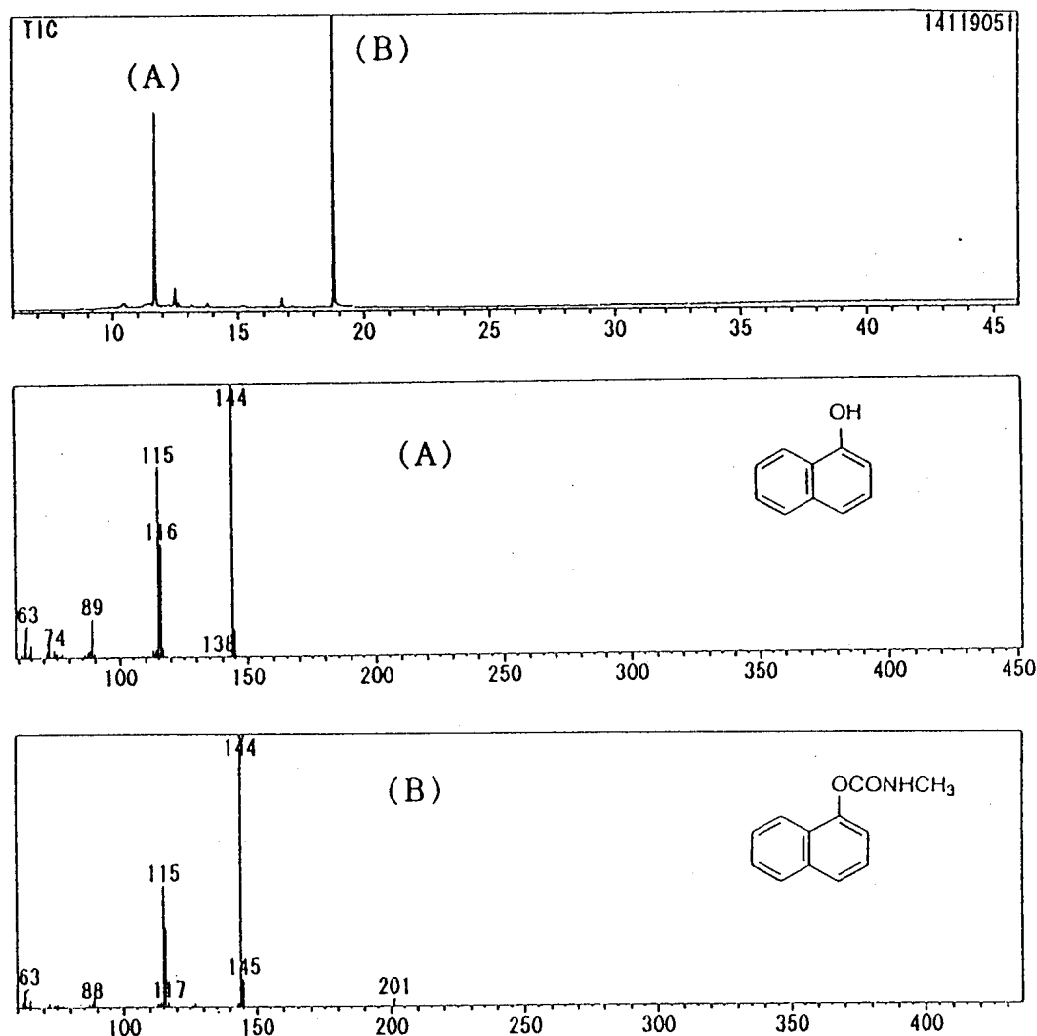


Fig.3. TIC and Mass Spectra of NAC

同一のtRに4種のイオンピークの存在が見られたことからNACであることが確認された。

永山ら [9] は、果実類に使用された農薬の果皮及び果肉中の濃度について調べており、NACでは殆どが果皮に検出されている。今回、得られた数値は、分析試料について洗浄及び剥皮処理を行わないで得られたデータであるが、基準の1/8～1/5であった。洗浄・調理のモデル実験 [10, 11] 等から、実際の喫食では果皮を剥いたり、水洗いや洗剤洗浄後に摂取するため、さらに、農薬が減少すると想定されており、NAC残留値は、喫食上、特に問題はないものと考えられる。

NACを国内農産物から検出した報告は少ないが、栃木県 [12]、兵庫県 [13] の例がある。本調査でのNAC検出量は、これら報告例と同程度

であった。

以上、残留していた農薬は、N-メチルカーバメート系のNACのみであったが、残留基準の1/5以下の残留量であり、人の健康に問題となる数値ではなかった。

防除歴の中で実際に使用された薬剤は、22農薬であったが、これらの殆どの農薬は不検出であり、生産者が農薬の安全使用基準を十分に遵守したものと推察された。今後も、さらに、安全な使用方法にもとづく農薬散布が必要であろう。

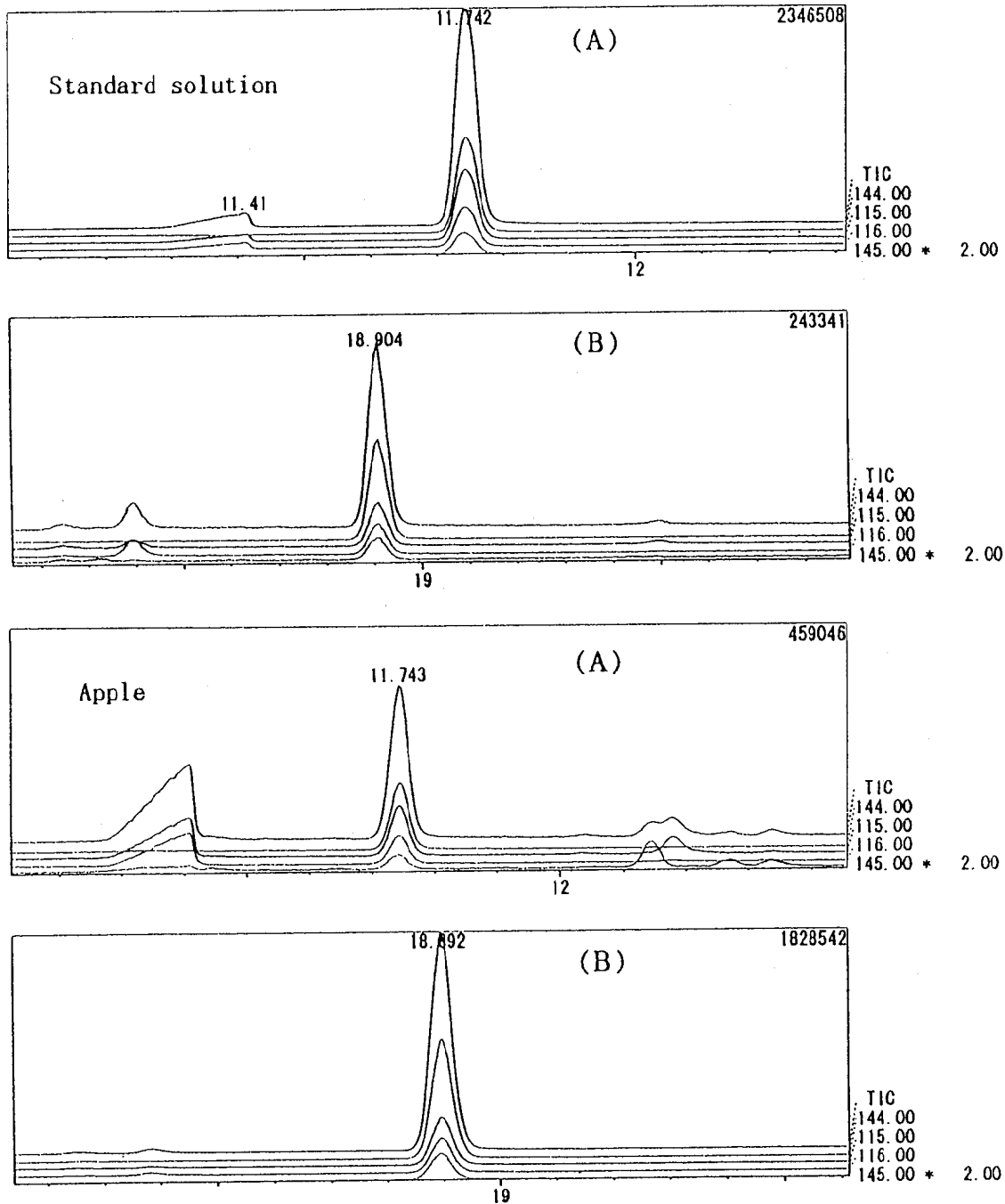


Fig.4. SIM Chromatograms of NAC and Apple Sample

Two peaks in the apple sample were obtained the same as in the standard NAC solution with monitor ion of m/z115, 116, 144 and 145.

文 献

1. 梅津憲治, 大川秀郎 (1994). 農業と環境から農薬を考える—その視点と選択—, 108-114, ソフトサイエンス社.
2. 食料・農業政策研究センター (1994). 1993 (平成5) 年度版食料白書—食品・農産物の安全性—, 93-97, 農山漁村文化協会.
3. 齊藤行雄, 山本 敦, 松永明信, 水上英一 (1994). 富山衛研年報, 17, 144-154.

4. 齊藤行雄, 大浦 敏, 山本 敦, 松永明信 (1996). 富山衛研年報, 19, 197-201.
5. 大浦 敏, 齊藤行雄, 松永明信 (1996). 富山衛研年報, 19, 202-203.
6. 齊藤行雄, 山本 敦, 松永明信 (1995). 富山衛研年報, 18, 151-157.
7. 富山県農業水産部 (1995). 平成7年度農作物病害虫・雑草防除指針.
8. Grasselli, J. G., Ritchey, W. M. (ed.) (1975) : Atlas of Spectral Data and Physical Constants for Organic Compounds, 2nd ed.
9. 永山敏廣, 小林麻紀, 塩田寛子, 伊藤正子, 田村行弘 (1995). 食衛誌, 36, 383-392.
10. 金沢 純 (1994). 農薬の環境科学, 79-86, 合同出版.
11. 杉林幸子, 濱田郁子, 三島郁子, 吉川典子, 片岡寿理, 川口恵代, 藤本祐子, 扇間昌規, 伊藤誉志男 (1995). 日食化誌, 2, 97-101.
12. 平成6年度栃木衛研所報 (1995), 25, 38.
13. 秋山由美, 武田信幸, 足立一彦 (1995). 食衛誌, 36, 42-49.

## 富山県内水道水中のハロ酢酸含有量

大戸 幹也 健名 智子 大浦 徹 松永 明信

Haloacetic Acids Contents in Tap Water  
in Toyama Prefecture

Mikiya OHTO, Tomoko KEMMEI, Takashi OHURA  
and Akinobu Matsunaga

水の塩素処理によって有害な有機ハロゲン化合物の生成が明らかにされて以来、水道水中の消毒副生成物に対する関心は高く、安全で信頼できる水道水を供給するための水質管理が求められている。本県の上水道水の37%は表流水を利用しており[1]、殺菌、消毒のために添加する塩素剤によって生成するトリハロメタン (THM)、ハロ酢酸、ハロアセトニトリル等の消毒副生成物含有量の実態把握は、水道事業者や行政にとって重要な責務となっている。

我々は、これまで水道水中の各種有害有機物の分析法の開発及び含有量調査を行ってきた[2-6]。本報では、消毒副生成物のハロ酢酸7種(クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ブロモクロロ酢酸、ブロモ酢酸、ジブロモ酢酸およびトリブロモ酢酸)について、含有量調査を行ったので報告する。

**材料と方法:** 試料は、前報[2]のパージ・トラップーガスクロマトグラフ質量分析法により、THMを検出した富山県内の水道水26検体を試験に供した。試薬は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸およびブロモ酢酸は関東化学製の水質試験用ハロ酢酸混合標準原液を、ブロモクロロ酢酸はジエールサイエンス製を、ジブロモ酢酸はAldrich製を、トリブロモ酢酸は関東化学製を使用した。また、tert-ブチルメチルエーテル溶液 (MTBE) は、Merck製の残留農薬分析用を、硫酸、無水硫酸ナトリウムは特級を、N-メ

チル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、東京化成製を用いた。ハロ酢酸は、島津製QP-1100 WA型ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて、文献[7]に従って測定した。試験溶液についても文献[7, 8]に準じて調製したが、トリブロモ酢酸を加えた7種類を対象とし、検水60mlに塩化ナトリウム24gを加えて飽和後、50%硫酸4mlを添加して強酸性下MTBE 4mlで抽出した。なお、測定質量数(m/z)は文献[7, 8]に従ったが、トリブロモ酢酸については、251, 253を用いた。

**結果と考察:** 蒸留水に、ハロ酢酸7種類を添加して分析したTICクロマトグラムをFig. 1の上図に、各ハロ酢酸のマスフラグメントクロマトグラムを下図に示した。

ハロ酢酸7種類の検量線は、 $400\mu\text{g}/\text{l}$ までの範囲ではほぼ原点を通る良好な直線性が得られた。なお、 $S/N=5$ で算出した検出(定量)下限値は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸およびブロモクロロ酢酸は、 $1\mu\text{g}/\text{l}$ 、ブロモ酢酸、ジブロモ酢酸は、 $2\mu\text{g}/\text{l}$ であったが、トリブロモ酢酸は、 $40\mu\text{g}/\text{l}$ で、他の6種類と比べ高かった。

THM検査から、総THMを $2\sim 36\mu\text{g}/\text{l}$ 、平均 $12\mu\text{g}/\text{l}$ (クロロホルムは $0\sim 16\mu\text{g}/\text{l}$ 、平均検出濃度 $6\mu\text{g}/\text{l}$ 、ジブロモクロロメタンは $0\sim 6\mu\text{g}/\text{l}$ 、同 $3\mu\text{g}/\text{l}$ 、プロモジクロロメタンは $0\sim 13\mu\text{g}/\text{l}$ 、同 $5\mu\text{g}/\text{l}$ 、プロモホルムは $0$

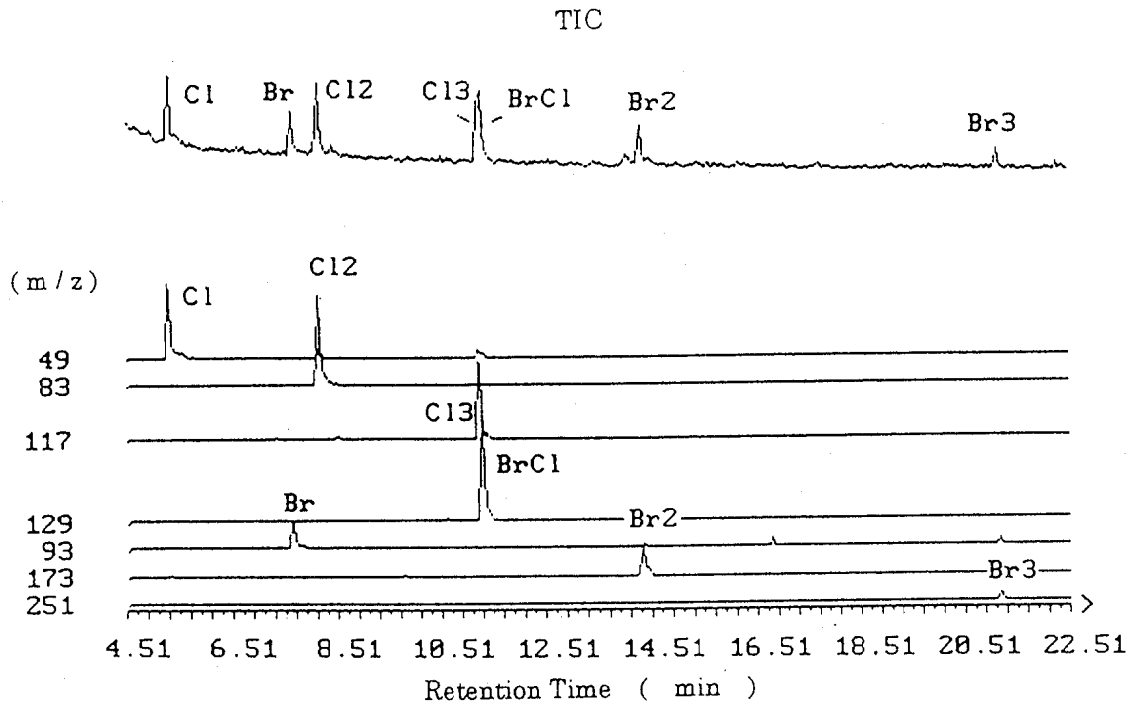


Fig.1. Chromatograms of 7 Haloacetic Acids

Cl; Chloroacetic acid, Cl2; Dichloroacetic acid, Cl3; Trichloroacetic acid, BrCl; Bromochloroacetic acid, Br; Bromoacetic acid, Br2; Dibromoacetic acid, Br3; Tribromoacetic acid

~ 2  $\mu\text{g}/\text{l}$ , 同 2  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) 検出した検体について、ハロ酢酸を定量した。クロロ酢酸は14検水から1~3  $\mu\text{g}/\text{l}$ の濃度範囲で検出し、平均検出濃度は2  $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。また、ジクロロ酢酸は全検水から1~8  $\mu\text{g}/\text{l}$ 検出し、平均検出濃度は4  $\mu\text{g}/\text{l}$ 、トリクロロ酢酸は24検水から1~7  $\mu\text{g}/\text{l}$ 検出し、同 4  $\mu\text{g}/\text{l}$ 、プロモクロロ酢酸は20検水から1~5  $\mu\text{g}/\text{l}$ 検出し、同 2  $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。また、ジブromo酢酸は、5検水から全て 2  $\mu\text{g}/\text{l}$ 検出した。プロモ酢酸とトリブromo酢酸は検出されなかった。総ハロ酢酸(7種類の総量)の濃度範囲は、1~22  $\mu\text{g}/\text{l}$ で、平均は11  $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。

THMが不検出である水道水は、ハロ酢酸を検査しても値が低い或不検出が推定される。このためハロ酢酸検出率は、実態より非常に高く現われる。高い順に、ジクロロ酢酸が100%、トリクロロ酢酸92%、プロモクロロ酢酸77%、クロロ酢酸54%、ジブromo酢酸19%であった。ハロ酢酸の中では、検出濃度や検出率が、ジクロロ酢酸とトリ

クロロ酢酸の二成分が高く、プロモ酢酸が低い傾向は、惣名らが関東周辺の17給水栓水中の5種類のハロ酢酸を分析した結果[9]の傾向とよく一致していた。また、トリブromo酢酸は検出されなかったが、定量下限値が他のハロ酢酸と比較して高いことや、水中で比較的不安定であること[10]が原因と考えられる。ジクロロ酢酸とトリクロロ酢酸で、全ハロ酢酸量の7割を占めていた結果は、水道法が監視項目においてハロ酢酸ではこの二成分の検査を指定していることを支持している。

ハロ酢酸は、THMと同様に前駆物質となるフミン質等の有機物が、塩素(臭素)付加反応、酸化反応、加水分解反応によって生成すると考えられている[11]。また、トリハロ酢酸が分解してTHMが生じる報告もあり[10]、ハロ酢酸とTHMの生成には、量的関連性が推定される。そこでこれらの関係を調べたところ、トリクロロ酢酸量は、Fig. 2に示したように、総THM量、クロロホルム量と相関係数(r)がそれぞれ0.890、0.899の特に強い正の相関関係(それぞれ危険率

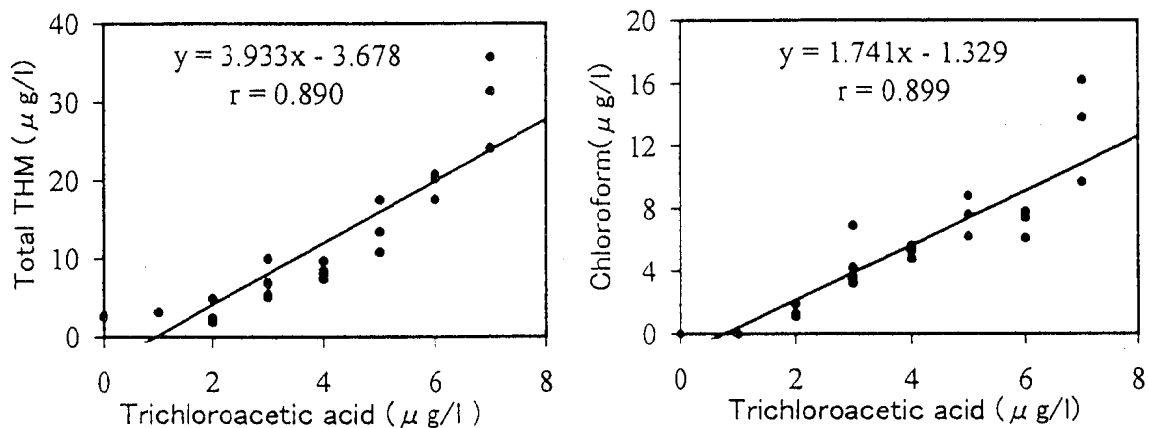


Fig. 2. Correlation between the Trichloroacetic Acid Contents and the THM Contents

0.1%) が得られた。また、ジクロロ酢酸量は、総 THM 量、クロロホルム量と相関係数がそれぞれ 0.517, 0.468 の強い正の相関関係 (それぞれ危険率 1%, 2%) が得られた。また、総ハロ酢酸量も、総 THM 量、クロロホルム量と相関係数がそれぞれ 0.678, 0.586 の強い正の相関関係 (それぞれ危険率 0.1%, 1%) が得られた。

一般に原水が表流水の場合、地下水や湧水に比べ、消毒副生成物量は多くなる傾向があるが、検水の原水はすべて表流水であったこと、更に総ハロ酢酸濃度は、総 THM 濃度と同濃度レベルで検出されたことから、水源の渇水や減水時期、夏期等 THM が多く発生すると思われる時期には、特に THM 検査に併せてハロ酢酸検査も行うことは必要と考えられる。

## 文 献

1. 富山県生活環境部環境衛生課 (1993). 富山県の水道の現況 p 41.
2. 健名智子, 松永明信, 高柳信孝 (1993). 富山衛研年報, 16, 139-145.
3. 坂田薫代, 松永明信, 高柳信孝, 水上英一 (1994). 富山衛研年報, 17, 229-233.
4. 大戸幹也, 松永明信, 坂田薫代, 高柳信孝, 水上英一 (1993). 富山衛研年報, 17, 234-236.
5. 大戸幹也, 松永明信 (1994). 富山衛研年報, 18, 158-162.
6. 大戸幹也, 山本敦, 松永明信, 水上英一 (1994). 分析化学, 43, 71-74.
7. 衛生試験法・注解 付. 追補 (1995). (日本薬学会編), p 1795-1798, 金原出版.
8. 日本水道協会 (1993). 上水試験方法 p 380-383.
9. 惣名史一, 相沢貴子, 真柄泰基 (1992). 第43回全国水道研究発表会講演集, 702-704.
10. HELLER-GROSSMAN, L., MANKA, J., LIMONI-RELIS, B. and REBHUN, M. (1993). Water Reserch, 27, 1323-1331.
11. 日本水道協会 (1993). 上水試験方法解説編, p 473.

## イオンクロマトグラフィーによる 温泉水中陰イオンの分析

高柳信孝 健名智子 山本 敦 松永明信

Analysis of Inorganic Anions in Mineral  
Spring Water by Ion Chromatography

Nobutaka TAKAYANAGI, Tomoko KEMMEI,  
Atsushi YAMAMOTO and Akinobu MATSUNAGA

イオンクロマトグラフィー (IC法) は、イオンの一斉分析が容易な分析法であり、上水試験方法、衛生試験法、JISの工業用水試験方法等に採用されている。鉱泉分析法指針ではまだ採用されていないが、鉱泉中の陰イオンの分析への適用についての研究が数編報告されている。世取山ら [1] は、フッ素イオン、塩素イオンおよび硫酸イオン、中岡ら [2] は、フッ素イオン、塩素イオンおよび臭素イオンについて、サプレッサー型 IC 装置 (電気伝導度検出器) を用い、小林と深澤 [3] は、塩素イオン、硫酸イオンおよび硝酸イオンについて、ノンサプレッサー型 IC 装置 (電気伝導度検出器) を用いて分析し、従来法に代わり得る分析法であると報告している。中山と小室 [4] は、臭素イオンとヨウ素イオンについて、サプレッサー型 IC 装置 (電気伝導度検出器、紫外分光検出器および電気化学検出器) を用いて検討を行っている。また甘露寺 [5] は、塩素イオン、硫酸イオンおよびフッ素イオンについて、ノンサプレッサー型 IC 装置 (紫外分光検出器) を用いて分析し、塩素イオン、硫酸イオンについては、ほぼ満足すべき結果を得ている。フッ素イオンについては、塩素イオンが過剰に含まれていない検体では、定量可能であると述べている。著者等も、ノンサプレッサー型 IC 装置 (電気伝導度検出器) を用い、温泉水中の陰イオン分析への適用の是非について検討を行った。

**材料と方法:** 富山県内の温泉水37検体 (泉質の内訳は Na-Cl 泉18検体、単純温泉 4 検体、アルカリ性単純温泉、単純硫黄泉、泉質なしが各 3 検体、Na-Cl·SO<sub>4</sub> 泉、Na-Cl·HCO<sub>3</sub> 泉、Na·Mg·Ca-HCO<sub>3</sub>·Cl 泉、Ca·Na-SO<sub>4</sub> 泉、単純酸性温泉、酸性・含 Fe (II)-Al-SO<sub>4</sub> 泉が各 1 検体) について、IC 法により、塩素イオン、硫酸イオン、フッ素イオンおよび臭素イオンを測定した。IC 装置は、東ソー CCPD ポンプ、レオダイン7125 型ループインジェクター、島津 CTO-6 A 恒温槽、東ソー CM-8010 電気伝導度検出器および島津 C-R 4 A インテグレーターで構成した。分析カラムには島津 Shim-pack IC-A 3 (4.6mm I. D.×15cm) を用い、8 mM p-ヒドロキシ安息香酸/3.2mM トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン水溶液を流速 1.2ml/min. で送液した。カラム温度は 40℃、注入量は 50 μl とした。測定はピーク面積法で行った。また同じ検体について、従来法による測定も行った。従来法は、塩素イオン、硫酸イオンおよびフッ素イオンについては鉱泉分析法指針 [6] に掲載されている方法、すなわちモール法による容量法、硫酸バリウムによる比濁法、ランタン・アリザリンコンプレクソン法による比色法 (蒸留処理) の各法によった。臭素イオンについては、ジメチル硫酸で臭素イオンのメチル化を行ったのち、ヘッドスペースーガスクロマトグラフ法 [7] で測定した。



**結果および考察：**IC 装置に各イオンの種々濃度の標準液を注入して検量線を作成した。塩素イオンでは0.1-1000mg/l, 硫酸イオンでは0.3-2000 mg/l, フッ素イオンでは0.05-300mg/l, 臭素イオンでは 0.1-1000mg/lの範囲で良好な直線性が確認された。県内の温泉水37検体を, 各イオンが上記の範囲に入るように精製水で希釈して IC 装置に供した。温泉水のイオンクロマトグラムの一例を Fig. 1 に示した。同じ検体について, 従来法による各イオンの測定値と比較したところ, 塩素イオン, フッ素イオンおよび臭素イオンでは相関係数がそれぞれ 0.999 (n=37), 0.993 (n=19) および 0.994 (n=32), 回帰方程式の傾きもそれぞれ 0.972, 0.983, 0.943と 1 に近い値が得られた (Fig. 2 ~ 4)。硫酸イオンでは, IC 分析時の試料水中の塩素イオンが 900~1000mg/l 程度のとき, 従来法による測定値の約80%とかなり低くなる傾向が見られた。このような現象

については, Singhら [8] や辻ら [9] も報告している。著者等も硫酸イオンの濃度を10mg/l および100mg/l に固定し, 塩素イオンの濃度を変化させて硫酸イオンのピーク面積の変化を調べたところ, 硫酸イオンの濃度にかかわらず, 塩素イオンが 600 ~ 800 mg/lあたりから硫酸イオンのピーク形状変化あるいはピーク面積の減少がみられた。そこで, 実試料水は, 塩素イオンの濃度が 300mg/l 以下になるように精製水で希釈して分析した。得られた分析値と従来法による分析値は, Fig. 5 に示すように相関係数が 0.998 (n=22), 回帰方程式の傾きも1.03とよく一致した。

以上の結果から, 従来法に代えて IC 法を用いてもほとんど問題ないものと考えられる。ただし, 塩素イオンがかなり高濃度の試料水中のフッ素イオンについては, 従来法で測定値が得られても, IC 法では装置に供する際の希釈によって定量下

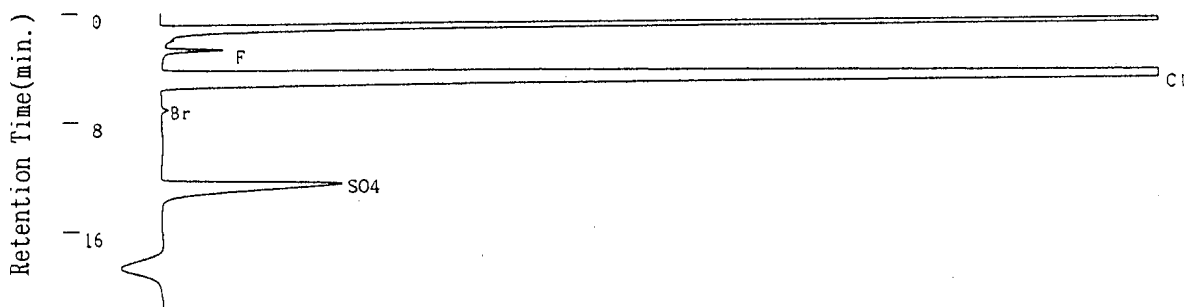


Fig.1. Chromatogram of Mineral Spring Water

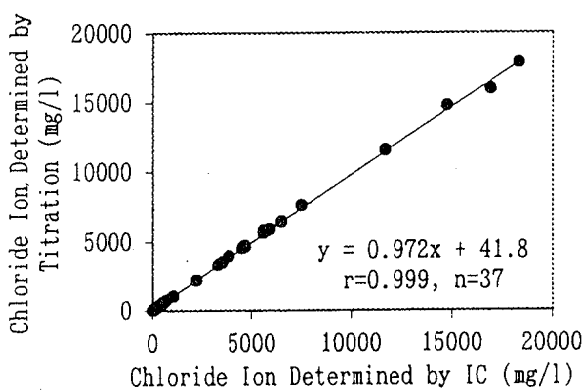


Fig.2. Comparison of the Results for the Determination of Chloride Ion by IC and Titration

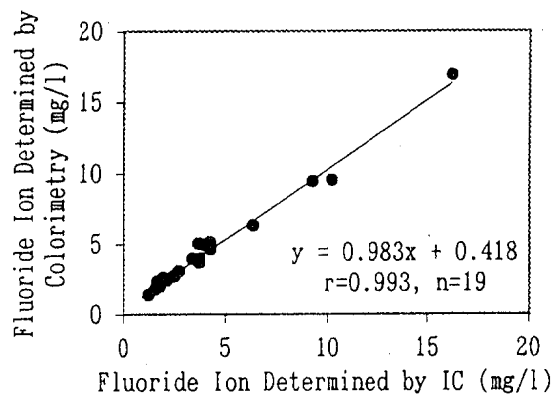


Fig.3. Comparison of the Results for the Determination of Fluoride Ion by IC and Colorimetry

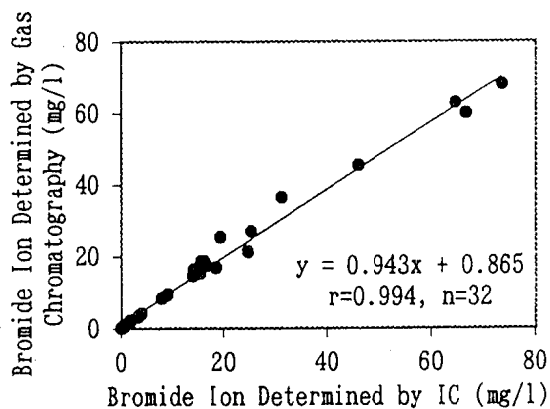


Fig. 4. Comparison of the Results for the Determination of Bromide Ion by IC and Gas Chromatography

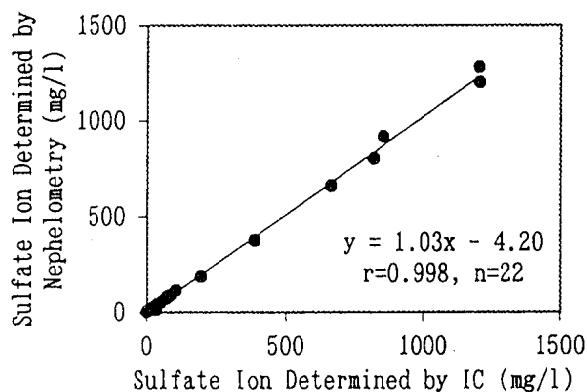


Fig. 5. Comparison of the Results for the Determination of Sulfate Ion by IC and Nephelometry

限を下回り、測定できない場合があった。今後は、フッ素イオンや硫酸イオンの分析時に、塩素イオンをより高濃度のまま測定できる条件を確立することが課題であろう。

### 文 献

1. 世取山守, 岡田幸治, 福富 清 (1979). 温泉工学 会誌, 13, 139-145.
2. 中岡寿子, 兎本文昭, 笠野光夫, 池田憲広, 市村 国俊, 上田栄次, 板野龍光 (1981). 分析化学, 30, T97-101.
3. 小林 浩, 深澤喜延 (1989). 山梨衛公研年報, 33, 1-4.
4. 中山和好, 小室芳洵 (1989). 千葉衛研年報, 13, 40-43.
5. 甘露寺泰雄 (1992). 温泉科学, 42, 96-102.
6. 環境庁自然保護局 (1978). 鉱泉分析法指針 (改訂)
7. 大沼章子, 茶谷邦男, 浜村憲克 (1984). 第21回全 国衛生化学技術協議会年会講演集, 142-143.
8. Raj P. Singh, Ernesto R. Pambid and Nureddin M. Abbas (1991). Anal. Chem., 63, 1897-1901.
9. 辻美佐子, 林 正人, 松岡昌弘, 高松 翼 (1996). 衛生化学, 42, 96-100.

## キャピラリー電気泳動法による 温泉水中陰イオンの分析

小玉修嗣 高柳信孝 山本 敦 松永明信

Analysis of Inorganic Anions in Mineral Spring  
Water by Capillary Electrophoresis

Shuji KODAMA, Nobutaka TAKAYANAGI,  
Atsushi YAMAMOTO and Akinobu MATSUNAGA

キャピラリー電気泳動法は、溶融シリカキャピラリーのもつ高分解能および分離モードの多様性により、環境化学を含む幅広い分野で用いられている。分離モードの一つにキャピラリーゾーン電気泳動法がある。これは、緩衝液を満たした中空のキャピラリーに電圧をかける方法で、陽イオンは陰極に移動する。キャピラリー内の表面電荷に由来する陽極から陰極への電気浸透流のため、中性物質や陰イオンも陰極に移動する。しかし、このような条件下で陰イオン分析を行うと、長い分析時間を要したり、あるいは電気浸透流の速度より速く移動する陰イオンは定量できない。キャピラリーゾーン電気泳動法に、電気浸透流の向きを反転させる対イオンの添加と間接吸光度検出を組み合わせて無機陰イオンを測定する方法が報告された[1]。種々の環境水について、無機陰イオンの分析が報告されている[2-4]。しかし、塩化物イオンあるいは硫酸イオンを多量に含む海水や温泉水を分析した報告は少ない。そこで、キャピラリー電気泳動法を用いて、富山県内の温泉水中の無機陰イオンを定量し、イオンクロマトグラフィーで定量した値と比較検討した。

**実験方法：**試料；富山県内で採取した温泉水10検体を用い、脱イオン水で1-40倍に希釈した後、キャピラリー電気泳動で分析した。試薬；泳動用緩衝液(2.25mM pyromellitic acid, 6.5mM

NaOH, 0.75mM hexamethonium hydroxide, 1.6mM triethanolamine, pH7.7)はFluka製を用いた。臭化物イオン標準液、塩化物イオン標準液、硫酸イオン標準液、硝酸イオン標準液、ふっ化物イオン標準液およびりん酸イオン標準液(いずれも1000mg/l)は和光純薬製を用いた。脱イオン水の調製はYamato Auto Still (Model WA-52G)により行った。標準溶液の調製；臭化物イオン標準液、塩化物イオン標準液、硫酸イオン標準液、硝酸イオン標準液、ふっ化物イオン標準液およびりん酸イオン標準液を脱イオン水で希釈して標準溶液とした(各イオン濃度として0.3-100mg/l)。キャピラリー電気泳動法；HP<sup>3D</sup>キャピラリー電気泳動システム(Hewlett Packard製)を用い、常法[5]に従って行った。キャピラリーカラムはヒューズドシリカバブルセルキャピラリー(75 $\mu$ m i. d. x 56cm, Hewlett Packard製)を用いた。試料の注入は加圧法(50mbar, 4sec)により行った。泳動電圧は30kVとした。検出には間接吸光度法を用い、254nmの吸光度を測定した。試料中の各イオン濃度の定量は、絶対検量線法を用いてピーク面積法により算出した。イオンクロマトグラフィー；高柳らの方法[6]により行った。

**結果および考察：**種々濃度の標準溶液をキャピラリー電気泳動に供し、検量線を作成した。臭化物

イオン、塩化物イオン、硫酸イオンおよび硝酸イオンについては、0.1mg/l-100mg/lの濃度範囲で良好な直線性を示した ( $r=0.999$ )。ふっ化物イオンおよびりん酸イオンについては、0.03 mg/l-30mg/lの濃度範囲で良好な直線性を示した ( $r=0.999$ )。標準溶液および温泉水のフェログラムの代表例を Fig. 1 に示した。キャピラリー電気泳動では、試料成分の泳動時間やピーク面積の再現性に課題があるといわれている。標準溶液 (各イオン濃度として 1 mg/l) および温泉水をそれぞれ 5 回ずつキャピラリー電気泳動に供したところ、各イオン成分の泳動時間とピーク面積の再現性 (CV) はそれぞれ 0.3% 以下および 2.2% 以下と良好な結果が得られた。

富山県内で採取した温泉水 10 検体について、キャピラリー電気泳動法およびイオンクロマトグラフィーにより陰イオンを定量した (Fig. 2)。その結果、キャピラリー電気泳動法で得られた塩化物イオン、硫酸イオンおよびふっ化物イオンの定量値とイオンクロマトグラフィーでのそれらとの相関係数は、いずれも 0.998 以上であった。

りん酸イオン、臭化物イオンおよび硝酸イオンは、ほとんどの検体で検出されなかった。Fig. 2 (A) に示したように、臭化物イオンおよび硝酸イオンの泳動時間は、塩化物イオンや硫酸イオ

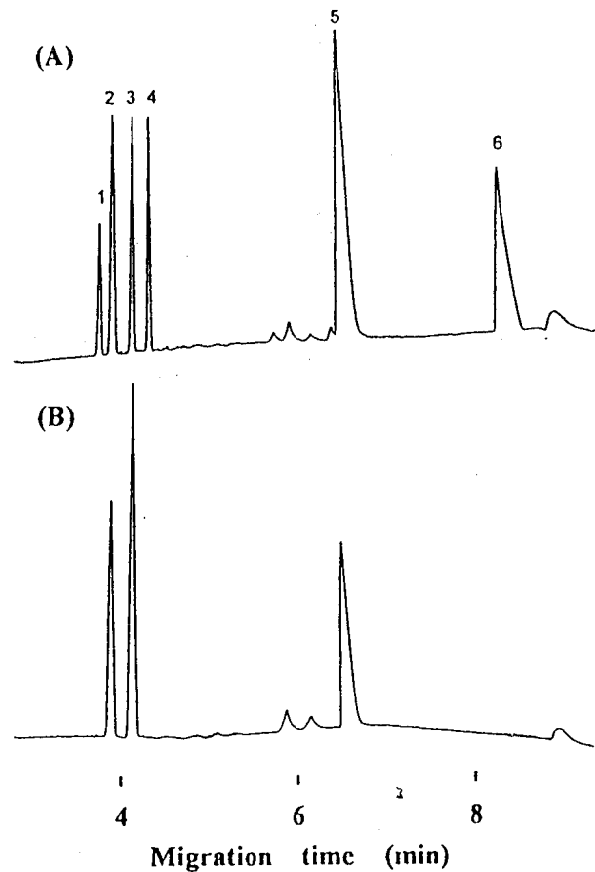


Fig. 1. Electropherograms of standard solution (A) and mineral spring water (B)

- 1 : bromide ion, 2 : chloride ion,
- 3 : sulfate ion, 4 : nitrate ion,
- 5 : fluoride ion, 6 : phosphate ion

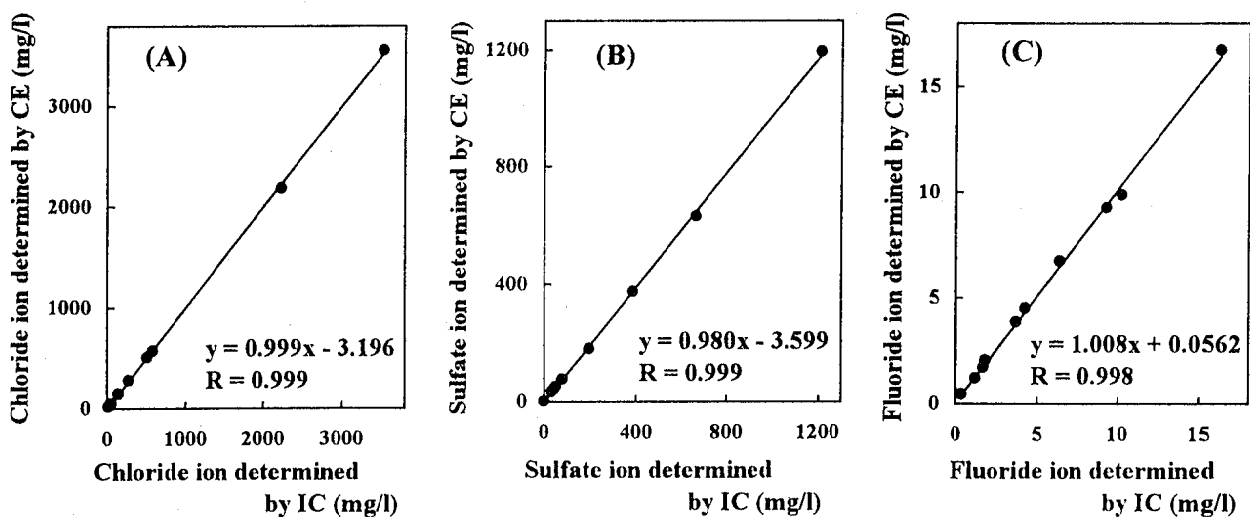


Fig. 2. Correlation between anions determined by capillary electrophoresis (CE) and ion chromatography (IC)

(A) : chloride ion, (B) : sulfate ion, (C) : fluoride ion

平成8年10月1日

ンのそれらと接近していた。したがって、塩化物イオンあるいは硫酸イオンを高濃度含む温泉水を希釈せずにキャピラリー電気泳動分析すると、臭化物イオンや硝酸イオンのピークが塩化物イオンあるいは硫酸イオンに埋もれてしまい検出できない。また、検体を希釈して分析すると、定量下限値は希釈倍率に依存して高くなる。したがって、特定の陰イオンを多量に含む温泉水あるいは海水中の陰イオン分析をする場合には、対イオンや泳動緩衝液などの分析条件を検討し、各陰イオンの泳動時間間隔を長くする必要がある。

以上のように、温泉水中の主陰イオン分析をキャピラリー電気泳動法で行う場合には今後の検討課題はあるが、その迅速性と定量性から有用であると推定された。

## 文 献

1. Romano J., Jandik P., Jones W. R., Jackson P. E. (1991). *J. Chromatogr.*, 546, 411-421.
2. Bondoux G., Jandik P., Jones W. R. (1992). *J. Chromatogr.*, 602, 79-88.
3. 田口圭吾, 東海敬一, 千葉 恵, 玉川勝美, 関 敏彦 (1992). *環境化学*, 2, 845-847.
4. 内山知二 (1993). *近畿中国農業研究*, 85, 10-13.
5. Hewlett Packard (1995). *HP Application News* No.16.
6. 高柳信孝, 健名智子 (1996). *富山県衛生研究所年報*, 18, 214-216.

# 女子大生における踵骨骨密度 および骨代謝指標について —骨代謝に関連する諸要因との関連—

堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子 西野治身  
熊西忠郎 小嶋康夫<sup>1</sup> 桑守豊美<sup>2</sup>

Bone Mineral Density of the Calcaneus and  
Biochemical Markers of Bone Metabolism in  
Students of Women's College  
—The Relation with Various Factors  
Affecting Bone Metabolism—

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA,  
Harumi NISHINO, Tadaro KUMANISHI,  
Yasuo KOJIMA<sup>1</sup>, and Toyomi KUWAMORI<sup>2</sup>

高齢化の進む日本においては寝たきりの原因となる骨粗しょう症が社会的な問題となってきている。その予防対策としては加齢に伴う骨量の減少を最小限にすることや、若年期において最大骨量をより高めることが大切であると指摘されている[1, 2]。

日本人女性では最大骨量に到達するのはこれまで20～40歳の間といわれてきたが、近年の調査では10歳代後半から20歳頃にかけてであるとの報告がみられる[2]。そこで、我々はより高い骨量を獲得するのに重要な時期にあたる女子大生について踵骨骨密度および血液や尿中の骨代謝指標を測定し、それらと体格、運動等骨代謝に関連する諸要因との関連を検討した。

**対象および方法：**対象は、女子大1年生90名であり、そのうち踵骨骨密度および骨代謝指標を測定し、解析できたのは77名である。

踵骨骨密度 (Bone Mineral Density of the

Calcaneus ; 以下 BMD) は Single energy X-ray absorptiometry (SXA 法, アロカ社, UX A-300) により測定した。骨代謝指標は骨形成指標として血清骨型アルカリフォスファターゼ (B-AIP) を窪田の方法 [3] で、オステオカルシン (Bone Gra-protein ; 以下 BGP) をサンドイッチ-EIA 法 (帝人社製キット) により測定した。骨吸収指標としては血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (Tr-AcP) を p-ニトロフェニルリン酸基質法 (酸性フォスファターゼテストワコー) で、早朝尿中ヒドロキシプロリン (Hyp) を池田らの方法 [4] で測定した。尿中クレアチニン (Cr) は Folin-Wu 法を用いた。以下の検討で尿中 Hyp はクレアチニンで補正 (Hyp/Cr) し、対数変換値を用いた。体格は身長、体重および体格指数として BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) を用いた。BMD および骨代謝指標との関連を検討した項目は初潮年齢、ダイエット経験、運動クラブ活動、喫煙習慣の有無、牛乳摂取量であり、これらはアンケー

1. 富山県立中央病院 2. 富山女子短期大学

トにより調査した。

**結果および考察：**①体格、BMD、骨代謝指標値について：Table 1に対象者の身長、体重、BMIを示した。身長、体重、BMIの値は他の女子短大生についての報告（身長158.9cm、体重52.4kg、BMI 20.7）[5]と違いはみられなかった。

Table 2にBMD、骨代謝指標の平均値および標準偏差を示した。BMDについて、SXA法で18~24歳の女性を測定した大城らの値は0.461 mg/cm<sup>2</sup>であり[6]、今回の対象者の結果と違いはなかった。骨代謝指標について高校3年生女子における我々の測定値と比べると、高校3年生はB-A1Pが1.3 BLU、Hyp/Crが48.4mg/gCrで[7]、女子大生では両指標共に低値であった。

BMDと各骨代謝指標との関連を検討したところ、これらの中に有意な関連は認められなかった。

次にBMD、骨代謝指標と骨代謝に関連する要因との関連を検討した。

②体格との関連：BMDと身長、体重、BMIとの関連を検討したところ、BMDはこれらすべてと有意な正の相関があり、相関係数は身長 r=0.252 (p<0.05)、体重 r=0.449 (p<0.001)、BMI r=0.385 (p<0.001)であった。骨代謝指標との相関は、Tr-AcPと体重 (r=0.286, p<0.05) およびBMI (r=0.277, p<0.05) の間に正の相関がみられたのみで、他の指標と体格との間に関連は認められなかった。

大城らは、18~24歳の女子学生において踵骨骨塩量は体重と正の相関があったと述べている[6]。

Table 1. Physical Characteristics in Subjects (n=77)

	Mean	S. D.	Min.	Max.
Height(cm)	158.6±4.7		145.0	172.0
Weight(Kg)	53.8±7.1		39.6	74.5
BMI(Kg/m <sup>2</sup> )	21.4±2.5		16.2	29.1

S. D. :Standard deviation  
Min. :Minimum Max. Maximum

Table 2. Mean Values of BMD and Biochemical Markers of Bone Metabolism in Subjects (n=77)

	Mean	S. D.	Min.	Max.
BMD(g/cm <sup>3</sup> )	0.455±0.068		0.282	0.624
B-A1P(BLU)	1.2±0.3		0.7	2.1
BGP#(ng/ml)	10.4(1.4)		3.3	24.8
Tr-AcP(BLU)	0.29±0.07		0.17	0.61
Hyp/Cr#(mg/gCr)	29.5(1.4)		12.9	70.0

S. D. :Standard deviation  
Min. :Minimum Max. Maximum  
#:Geometric mean  
(Geometric standard deviation)

また、成人女性においても腰椎骨密度は体重やBMIと正の相関が認められている[8]。我々の結果でも同様にBMDは体重やBMIと有意な正の相関があり、体格がBMDに大きく影響することが示された。また、身長とBMDにも相関がみられたが、これは身長と体重に良い相関 (r=0.499) があったためであろう。

先にBMDはBMIと正の相関がみられたが、肥満は虚血性心疾患などの危険因子であり、一般に好ましい状態ではない。そこで肥満がBMDを増やすように働くかどうか検討するために対象者をBMIで3群に分けBMDを比較した (Table 3)。BMIの群分けはBMI 22を肥満度0%とし、その10%以上 (BMI 24.2以上) を“肥満群”，-10%以上~+10%未満 (BMI 19.8以上 24.2未満) を“正常群”，-10%未満 (BMI 19.8未満)

Table 3. Mean Values of BMD by Body Mass Index

BMI(Kg/m <sup>2</sup> )	n	BMD(g/cm <sup>2</sup> )
16.2~19.7	23	0.419±0.073
19.8~24.2	46	0.465±0.058*
24.3~29.1	8	0.499±0.066**

\* p<0.05, \*\* p<0.01

を“やせ群”とした。その結果，“正常群”と“肥満群”のBMDに差はなく，“やせ群”が有意に低値を示した。このことから「肥満」はBMDの増加に有効には働かないことが考えられ、むしろ「やせ」がBMDにマイナスの影響を与えることが示された。

③初潮年齢について：初潮年齢は10～15歳に分布し、12歳が一番多かった（45人，53%）。初潮年齢で10，11，12，13，14～15歳の5群に分け、BMD，骨代謝指標を比較した（Tableなし）。初潮年齢の違いでBMD，骨代謝指標に有意な差はなく，初潮との関連はみられなかった。

④ダイエットについて：ダイエット経験の有無別にBMD，骨代謝指標を比較したが，いずれの項目にも違いは認められなかった（Tableなし）。ダイエットの回数別でも検討したがやはり差はみられなかった。

ダイエットと骨密度については，ダイエットを繰り返すもの，また，ダイエット開始年齢が低いものに低骨密度者の出現率が高いことが報告されている[9]。今回の結果ではダイエット経験の有無や回数との関連はみられず，ダイエットで減らした体重や食事制限の程度等，ダイエットの内容についても調査する必要があるかもしれない。

⑤運動習慣について：運動習慣は中学，高校のときの運動クラブ活動の有無を調査し，中，高共に“運動なし”，中学または高校でのみ活動してい

た“運動期間3年”，中学，高校両方で活動していた“運動期間6年”の3群に分けてBMD，骨代謝指標をTable4に示した。その結果，この3群でBMDに有意差はなかったが，“運動期間6年”は“運動なし”と“運動期間3年”をあわせたもの（BMD $0.444\text{g}/\text{cm}^2$ ）に比べて高い傾向にあった（ $p<0.1$ ）。先にBMDはBMIとの関連がみられたため運動習慣別でBMIも比較したが差はなく，BMIの影響はなかった。骨代謝指標には運動習慣による違いはみられなかった。

運動と骨密度の関連については，女子大生について運動歴があるものでは踵骨骨密度（超音波法）が高値を示していたことが報告されている[10]。我々の結果でも中学，高校で運動クラブ活動をしていた“運動期間6年”はBMDが高い傾向を示し，運動歴との関連がみられ，運動がBMDを増加させることが示された。

⑥喫煙習慣の有無について：喫煙習慣の有無別でBMD，骨代謝指標を比較した（Tableなし）。喫煙習慣があるものは3人と少ないものの，喫煙習慣ありのBMDは $0.367\text{g}/\text{cm}^2$ で習慣なしの $0.452\text{g}/\text{cm}^2$ に比べ有意に低値であった（ $p<0.05$ ）。喫煙習慣の有無でBMIに違いはなく，BMIは影響していなかった。骨代謝指標について違いはなかった。

喫煙習慣があるものは骨密度が低いという成人女性についての結果が報告されている[11]。今

Table 4. Mean Values of BMD and Biochemical Markers of Bone Metabolism by Habitual Physical Practice

	Habitual Physical Practice		
	No-habit n=19	for 3 years n=28	for 6 years n=25
BMD( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	0.438±0.069	0.449±0.055	0.473±0.076
B-AIP(BLU)	1.2±0.2	1.3±0.3	1.2±0.3
BGP#(ng/ml)	11.2(1.44)	10.6(1.40)	9.7(1.50)
Tr-AcP(BLU)	0.28±0.05	0.28±0.05	0.30±0.09
Hyp/Cr#(mg/gCr)	28.9(1.42)	29.2(1.37)	31.5(1.35)

#:Geometric mean(Geometric standard deviation)



回の対象でも同様な結果がえられた。しかし、喫煙習慣があるものは牛乳摂取量が少ないなど栄養摂取に問題点がみられ、喫煙以外の生活習慣も影響しているのかもしれない。

⑦牛乳摂取量について：一日あたりの牛乳摂取量で“ほとんど飲まない”，“1本以上飲む”の2群に分けBMD，骨代謝指標をTable 5に示した。牛乳摂取量では“ほとんど飲まない”が44人（52%）で半数以上であった。牛乳摂取量の違いではBMDに差はなかった。骨代謝指標では骨吸収指標のTr-AcPが“ほとんど飲まない”では0.29 BLUで“1本以上飲む”の0.25 BLUに比べ有意に高値を示した（ $p<0.01$ ）。

牛乳摂取習慣との関連について我々は，中高年女性についての調査で牛乳を飲まない群が飲む群よりもHyp/Crが高値を示す結果を得ている[12]。今回はHyp/Crに違いはみられなかったが，Hyp/Crと共に骨吸収指標であるTr-AcPが牛乳を飲まないもので飲むものよりも高値であったことは，牛乳摂取習慣が骨吸収を抑えるように働いていることを示すのかもしれない。

**まとめ：**以上の結果から女子大生においてBMD

Table 5. Mean Values of BMD and Biochemical Markers of Bone Metabolism by Habit of Milk Intake

	Habit of milk intake	
	Little intake n=41	more than 1bottles/day n=19
BMD(g/cm <sup>3</sup> )	0.448±0.079	0.454±0.053
B-AIP(BLU)	1.3±0.2	1.2±0.3
BGP <sup>#</sup> (ng/ml)	10.6(1.48)	10.9(1.43)
Tr-AcP(BLU)	0.29±0.05	0.25±0.05
Hyp/Cr <sup>#</sup> (mg/gCr)	29.0(1.36)	32.7(1.40)

\*\*  $p<0.01$

#:Geometric mean

(Geometric standard deviation)

は6年間の運動習慣があるものでは高く，瘦せているものや，喫煙習慣があるものでは低くなることが示された。骨代謝指標では牛乳摂取習慣があるものでは骨吸収が抑制される可能性が示された。今後，この対象者を追跡調査し，BMD，骨代謝指標の変化や，生活要因が今後のBMD，骨代謝指標にどのように影響するか検討する予定である。

## 文 献

1. 船迫真人，大畑雅洋（1990）. THE BONE, 4 (2), 59-64.
2. 清野佳紀，田中弘之，西山宗六，井本岳秋，福永仁夫（1994）. 医学のあゆみ, 170, 1041-1042.
3. 窪田一男（1989）. J. Nara Med. Ass., 40, 202-217.
4. 池田真吾，大澤誠喜，鈴木孝人，加納亮子，溝口勲（1987）. 東京都衛研年報, 38, 277-281.
5. 北野隆雄，井本岳秋，北野直子，澤田芳男，二塚信（1994）. 日本衛生学雑誌, 49, 308.
6. 大城 等，黒沢洋一，岩井伸夫，吉岡輝彦，森田親二，能勢隆之，飯塚舜介，中山英明，森尾真介，岡本幹三，陶山昭彦（1995）. 日本公衆衛生学雑誌, 42 (10), 400.
7. 堀井裕子，田中朋子，西野治身，山上孝司，成瀬優知，鏡森定信（1995）. 日本公衆衛生学雑誌, 42 (10), 973.
8. 梶田悦子，伊木雅之，飛田芳江，三田村純枝，日下幸則，緒方 昭，寺本路夫，土田千賀，山本和高，石井 靖（1995）. 日本衛生学雑誌, 50, 893-900.
9. 広田孝子，広田憲二（1994）. THE BONE, 8 (2), 95-103.
10. 笠井宗一郎，阿部登茂子（1995）. 日本公衆衛生学雑誌, 42 (10), 875.
11. Stevenson J. C., Devenport M., Cust M. P. and Ganger K. F. (1989). B. M. J., 298, 924-928.
12. 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.

## 工場労働者の血清および尿中 アルミニウム濃度の測定

新村 哲夫 中崎美峰子 西野 治身 熊西 忠郎  
中川 秀昭<sup>1</sup> 成瀬 優知<sup>2</sup> 鏡 森 定信<sup>3</sup>

Measurement of Alminum Concentrations in  
Serum and Urine in Workers at A Factory

Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Harumi  
NISHINO, Tadaro KUMANISHI, Hideaki NAKAGAWA<sup>1</sup>,  
Yuchi NARUSE<sup>2</sup>, and Sadanobu KAGAMIMORI<sup>3</sup>

血清アルミニウム (Al) の測定法として、パラジウム・アンモニア溶液を調整剤として直接希釈し、ゼーマン原子吸光法で分析する方法を報告した [1]。また、尿中Alの測定には、塩酸と過酸化水素による簡便な分解法を適用して良好な結果を得たことを報告した [1]。

今回は、前報で報告した簡易法を用いて、工場労働者の血清および尿中 Al 濃度の測定を行い、若干の知見を得たので報告する。

**対象と方法：**調査の対象は、富山県内の1工場の従業員で20～59歳の男150名である。

測定を行った試料は、勤務時間中から翌日までの24時間蓄えた尿 (24時間尿) および終了時に採取した血清である。いずれも、測定時まで凍結保存した。

血清および尿中 Al 濃度の測定方法は、前報のとおりである [1]。尿については、クレアチニン (Cre) 濃度および尿量を測定し、AlのCre補正值および排泄量を求めた。

**結果および考察：**Fig. 1は、血清 Al 濃度の分布

状況をみたものである。血清 Al 濃度は対数正規分布型を示したので、以下の検討は、幾何平均値を用いた。Table 1は、年齢別に血清 Al 濃度をみたものであり、年齢による有意な差はみられなかった。今回の全対象者の平均値は 9.4ng/ml (1 S. D. 範囲は 5.2～16.9ng/ml) であり、これまで正常値として報告されている 4～11ng/ml [2, 4, 5] と変わらない値を示した。

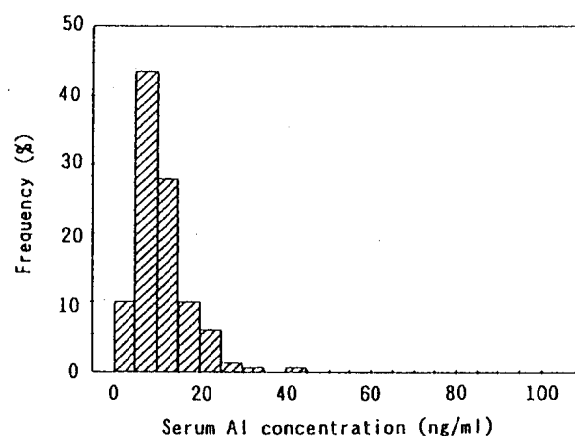


Fig.1. Distribution of Serum Concentration of Alminum.

1. 金沢医科大学公衆衛生学教室 2. 富山医科薬科大学地域看護学教室  
3. 富山医科薬科大学保健医学教室

Table 1. Serun Concentration of Aluminum (ng/ml).

Age	No.	G.M.	G.S.D.
20 - 29	35	10.9	1.7
30 - 39	39	8.7	1.7
40 - 49	36	11.1	1.6
50 - 59	40	7.7	1.8
Total	150	9.4	1.8

No., number of subjects.

G.M., geometric mean.

G.S.D., geometric standard deviation.

Fig. 2 は、尿中 Al 濃度、Cre 補正值および排泄量の分布状況を表したもので、いずれも対数正規分布型を示した。また、尿中 Al 濃度、Cre 補正值および排泄量のいずれも年齢による有意な差はみられなかった (Table 2)。尿中 Al 濃度と Cre 補正值および排泄量の間には、良好な正の相関がみられ (濃度と補正值:  $r=0.896$ , 濃度と排泄量:  $r=0.920$ , いずれも  $p<0.001$ )、尿中 Al 濃度によって十分に尿中の排泄量が推測できるものと考えられた。今回の尿中 Al 濃度の平均値は  $5.8 \mu\text{g/l}$  (1 S. D. 範囲は  $1.7\sim 19.7 \mu\text{g/l}$ ) であり、これまで報告されている正常値 ( $5\sim 30 \mu\text{g/l}$  [3, 6]) の範囲内の値を示した。尿中排泄量の平均値は、 $7.6 \mu\text{g/day}$  (1 S. D. 範囲は  $2.1\sim 27.4 \mu\text{g/day}$ ) であった。これは、渡辺ら [6] が報告している  $26.0 \mu\text{g/day}$  (1 S. D. 範囲は  $13.1\sim 51.7 \mu\text{g/day}$ , 105名) に比べると低値であった。

Fig. 3 は、血清 Al 濃度と尿中 Al 排泄量の関係を図示したものである。両者の間には相関はみられなかった。また、血清濃度と尿中濃度 (および Cre 補正值) との間においても同様であった。この図から明らかなように、血清濃度が低いにもかかわらず、尿中排泄量が多い例が比較的多くみられた。このことから、尿中 Al 濃度や排泄量が、血清濃度よりも、Al のよい暴露指標になりうる

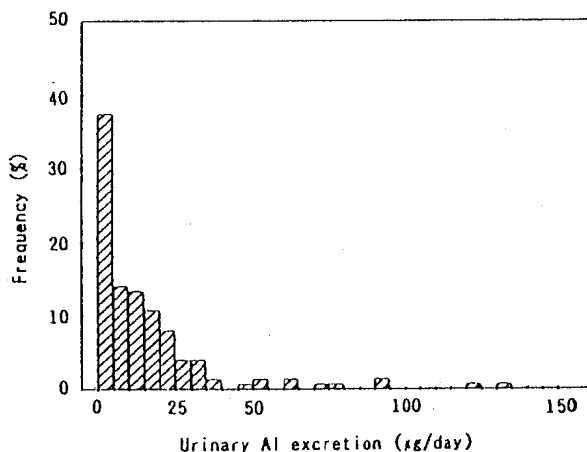
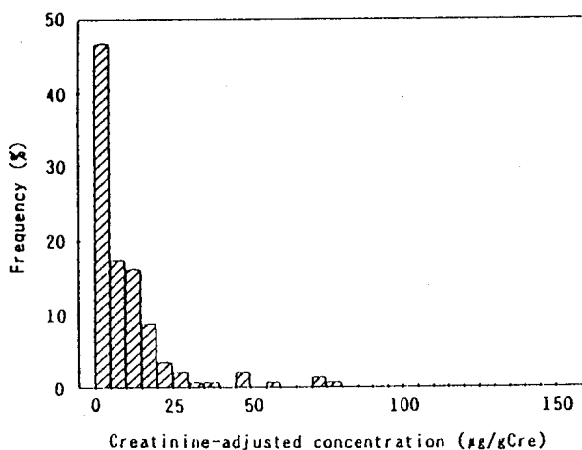
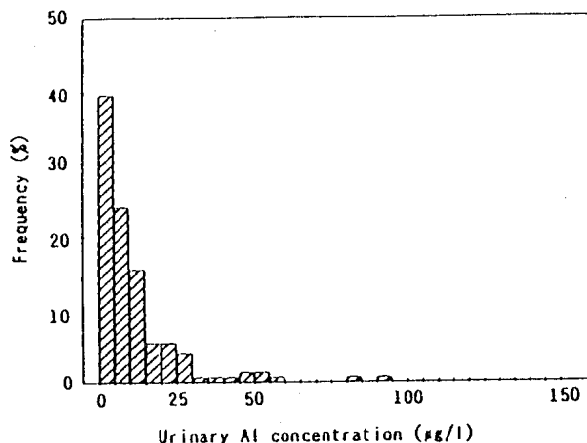


Fig. 2. Distributions of Urinary and Creatinine-adjusted Concentrations of Alminum and Its Urinary Excretion.

Table 2. Urinary and Creatinine-adjusted Concentrations of Aluminum and Its Urinary Excretion.

Age	No.	Urinary conc. (µg/l)		Cre-adjusted conc. (µg/gCre)		Excretion (µg/day)	
		G.M.	G.S.D.	G.M.	G.S.D.	G.M.	G.S.D.
20 - 29	35	6.8	3.2	4.4	3.4	7.4	3.5
30 - 39	39	5.9	3.3	5.4	3.6	9.0	3.5
40 - 49	36	4.3	3.1	4.1	3.4	5.8	3.5
50 - 59	40	6.4	3.7	6.3	3.8	8.6	3.8
Total	150	5.8	3.4	5.0	3.4	7.6	3.6

No., number of subjects; G.M., geometric mean; G.S.D., geometric standard deviation.

ことが示唆され、今後さらに検討していきたい。  
 今回の対象者のなかには、Al製品の取り扱い作業従事者が含まれており、今回のデータを正常値とすることはできない。また、Al製品の取り扱いをしていないことが確かにもかかわらず、尿中Al排泄量が明らかに高い例がみられた。内田ら[3]は、尿中Al濃度に地域差がみられたことを報告しており、尿中Al濃度に影響を与える種々の因子が存在することが考えられる。今後、

Al製品の取り扱い作業によるAl暴露の程度と、血清Al濃度や尿中排泄量との関係について検討を行うとともに、生活習慣等による影響についても検討を加えていきたい。

文 献

1. 新村哲夫, 中崎美峰子 (1995). 富山衛研年報, 18, 235-238.
2. 紀平為子 (1993). 治療, 75, 943-950.
3. 内田陽子, 岩見億丈, 渡辺孝男, 池田正之 (1992). 日衛誌, 47, 291.
4. Fredrik, A. W. and Gijsbert, B. V. (1986). Clin. Chim. Acta, 160, 183-188.
5. House, R. A. (1992). J. Occup. Med., 34, 1013-1017.
6. 渡辺孝男, 岩見億丈, 内田陽子, 池田正之 (1992). 日衛誌, 47, 292.

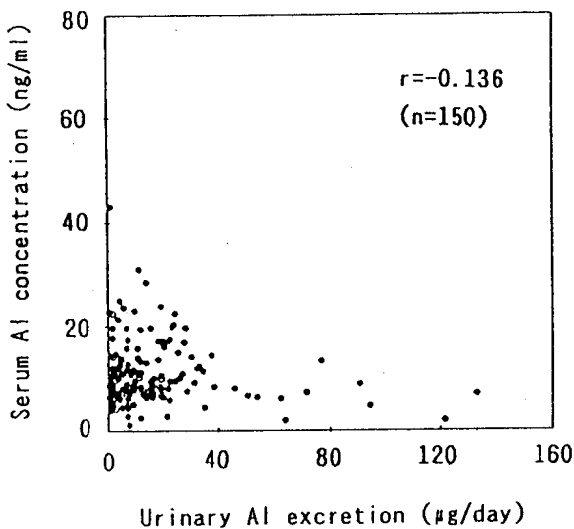


Fig. 3. Relationship between Serum Concentration and Urinary Excretion of Alminum.

## 4. 業 績

## 4. 業 績

### (1) 受賞, 学位授与, 資格取得等

#### 1. 受 賞

渡 辺 護

第39回全国環境衛生大会長 感謝状授与  
平成7年度環境衛生事業功労者, 中央推薦  
受賞日 平成7年11月10日

本 田 幸 子

第23回北陸公衆衛生学会 奨励賞授与  
受賞日 平成7年11月13日

#### 2. 学位授与

新 村 哲 夫

平成8年2月14日, 富山医科薬科大学から医学博士の学位を授与された。  
学位論文「ライフスタイルと抗酸化機能に関する疫学的研究」

中 山 喬

平成8年3月13日, 富山医科薬科大学から医学博士の学位を授与された。  
学位論文「発癌過程に対する石綿の作用に関する実験的研究」

(2) 誌 上 発 表

[原 著]

1) Evaluation of a Split-type Flow Cell for a Polarized Spectrophotometric Detector

Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga, Eiichi Mizukami, Kazuichi Hayakawa\*, Motoichi Miyazaki\*, Masayuki Nishimura\*, Mitsuo Kitaoka\* and Tomio Fujita\*

Analyst, 120, 1137-1139, 1995

A split-type flow cell for a polarized spectrophotometric detector (PPD), in which the column effluent is simultaneously passed through both the sample and reference sides, is described. The improvement in detection sensitivity in PPD with the use of this cell is discussed. Its utility as a universal polarimetric detector for HPLC for the detection of coloured amino acid-copper (II) complexes is shown. A new possibility for this cell in the gradient elution separation of glucose syrup is demonstrated.

2) NAD<sup>+</sup>-glycohydrolase productivity of haemolytic streptococci assayed by a simple fluorescent method and its relation to T serotype

Tadahiro Karasawa\*, Kiyotaka Yamakawa\*, Daisuke Tanaka, Yotaku Gyobu, Shinichi Nakamura\*

FEMS Microbiology Letters, 128, 289 ~ 292, 1995

The ability of haemolytic streptococci to produce NAD<sup>+</sup>-glycohydrolase was investigated by a fluorescent assay. Enzyme production was found in 31 (91%) of 34 group A, 17 (61%) of 28 group C and eight (27%) of 30 group G isolates. The high producers were found in 22 (65%) of group A, one (4%) of group C and none of group G isolates. The high producers of the group A isolates belonged to T-1, T-3, T-4 or T-12 serotype. These results suggest that NAD<sup>+</sup>-glycohydrolase productivity of streptococci is closely related to specific Lancefield's groups or T serotypes.

3) スギ雄花の花粉飛散特性とスギ花粉症患者の発症との関連性について

平 英彰\*, 庄司俊雄, 寺西秀豊\*, 剣田幸子\*, 槻陽一郎\*

アレルギー, 44(4), 467 ~ 473, 1995

一般に空中花粉調査ではスギの花粉飛散は, 2月から3月にかけてスギ雄花の開花に伴って観察される。しかし, スギ雄花の花粉飛散状況を直接観察すると, スギ花粉はDurham型花粉検索器でほとんど検索されなかったが, 1月上旬からすでに肉眼的に少量の花粉飛散が認められた。また, スギ花粉症患者の発症は, 1月上旬から認められており, Durham型花粉検索器で観測したスギ花粉数から判定したスギ花粉飛散開始日までに, スギ花粉症患者1,366人の内265人(19.4%)が発症していた。したがって, 少量ながらスギ花粉は1月上旬からすでに飛散しており, 敏感なスギ花粉症患者においては, 1月上旬から, スギ林から飛散した花粉によって症状が誘発される場合があると考えられる。

4) Effect of aging on spontaneous micronucleus frequencies in peripheral blood of nine mouse strains: the results of the 7th collaborative study organized by CSGMT/JEMS・MMS

Sei-ichi Sato\*, Masako Taketomi\*, Madoka Nakajima\*, Michiyo Kitazawa\*, Hiroyasu Shimada\*, Satoru Itoh\*, Miyuki Igarashi\*, Naohiko Higashikuni\*, Shizuyo Sutou\*, Yu F. Sasaki\*, Makoto Hayashi\*, Toshio Sofuni\*, Takafumi Higashiguchi\*, Shinji Nito\*, Yasushi Kondo\*, Sachiko Honda, Mikiko Hayashi, Yasuhiro Shinagawa, Eiichi Nakajima\*, Yoshie Oka\*, Kayoko Shimoi\*, Yumiko Hokabe\*, Akira Morita\*, Naohide Kinase\*, Masaki Takeuchi\*, Haruyoshi Hirono\*, Eiji Yamamura\*, Koichi Tamai\*

Mutation Research, 338, 51-57, 1995.

The spontaneous frequencies of micronucleated reticulocytes (MNRETs) were examined monthly over the life spans of animals belonging to nine mouse strains for the 7th collaborative study organized by the CSGMT/JEMS・MMS. Both sexes of the BDF1 strain and females of the A/J strain showed a statistically significant increase in mean spontaneous MNRET frequency in their last month of life, suggesting the possibility of strain-specific, age-dependent chromosomal instability. SAMP6/Tan, an accelerated senescence-prone strain, showed the same tendency, although it was not statistically significant. The other strains studied, ddY, CD-1, B6C3F1, SAMR1, and MS/Ae, did not show significant age-related differences in mean of MNRET frequencies. More extensive statistical analysis



es are underway, and the outcomes will be reported separately.

## 5) 過去22年間に経験したターナー症候群の核型と臨床所見

林美貴子, 本田幸子, 鏡森定信\*

母性衛生, 36(2), 287-292, 1995

当研究所では, 県内は勿論, 隣接の県からも染色体検査を依頼されており, 過去22年間に血液による染色体検査は1,039件に達した。これらの内, ターナー症候群の疑い, または鑑別のため, 検査依頼をしていた76人について, 最近のターナー症候群の動向を知る目的で検討した。

その結果は以下の通りであって, 76人の検査受付時の主訴は原発性無月経が最も多く, 次いで, 低身長, ほほ典型的ターナー症候群の疑い等が続いた。

染色体検査の結果, 76人中17人にXモノソミー(5人), Xモノソミーと正常細胞のモザイク(4人), XモノソミーとX染色体構造異常のモザイク等(8人)の多彩な染色体異常が発見された。

その17人の核型と臨床像についてまとめたところ, 殆どの症例で低身長がみられ, 次いで原発性無月経, 月経不順, 不妊等が主な症状であった。

精神発育に関しては正常または良好なものが88.2%と割合に多く, 自然月経の発来に関しては13歳以上の13人のうち6人にみられ, そのうちの1人は特に異常なく2子を出産していた。

## 6) 健康成人における血清セレン濃度および尿中排泄量と喫煙・飲酒習慣

新村哲夫, 中崎美峰子, 中川秀昭\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*

BIOMEDICAL RESEARCH ON TRACE ELEMENTS, 6(2), 91~99, 1995

As a first step towards clarifying the relationship between selenium (Se) and risk factors for adulthood disease, standard levels for the Se concentration in serum and the Se concentration and excretion in 24-hour urine were investigated. The subjects comprised 272 workers selected at random from about 7000 employees at a factory in Toyama Prefecture, and included 155 males and 117 females, aged from 20 to 59.

The geometric mean of the serum Se concentration in the males was 126 ng/ml, which was significantly higher than that in the females (116ng/ml). The geometric means of the creatinine-adjusted urinary concentration of Se in the males and females were 30.8  $\mu$ g/gCre and 39.0  $\mu$ g/gCre, respectively, with a significant difference between them. As regards the Se excretion in the urine, geometric means for the males and females were

47.4  $\mu$ g/day and 38.3  $\mu$ g/day, respectively, with the males showing significantly more excretion. This Se excretion appeared to be age-dependent: the older the age, the less the Se excretion. The urinary Se excretion showed a significantly positive correlation with the urinary urea-nitrogen excretion. A significantly positive correlation was noted between the serum concentration and urinary excretion of Se in the females, but not in the males.

The male subjects were further investigated to clarify the effects of smoking and drinking habits on the Se concentration in the serum and its urinary excretion. The serum Se concentration of cigarette smokers was significantly lower than that of non-smokers. The serum Se concentration of alcohol drinkers was significantly higher than that of non-drinkers. Analysis of variance suggested that a smoking habit might reduce the serum Se concentration and a drinking habit might raise it, respectively and independently. The urinary Se and urea-nitrogen excretions were not clearly affected by a smoking or drinking habit.

7) Study on how mobile phase buffer composition effects the retention behavior of the system peak in non-suppressed ion chromatography

Masayuki Nishimura\*, Morimasa Hayashi\*, Atsushi Yamamoto, Tatsuji Horikawa\*, Kazuichi Hayakawa\*, and Motoichi Miyazaki\*

Journal of Chromatography A, 708, 195-201, 1995

The effect of mobile phase buffering on the retention behaviour of a system peak in non-suppressed ion chromatography was studied. When a weak base whose pKa was near to the pH of the mobile phase was added to the mobile phase as a counter ion, the retention of the system peak selectivity shortened while the retention times of the analyte anions did not change. The cause of this phenomenon was thought to be an effect of mobile phase buffering induced by a weak base. Quantitative interpretation was successfully carried out to control the retention time of the system peak. The results allow the separation of analyte anions and control of the retention time of the system peak to be done independently. This method makes it possible to increase the variety of mobile phase compositions in the ion chromatography of anions.

8) Chromatographic Simulation of the Effect of a Polyvalent Counter Ion on Retention Behavior and Peak Intensity of Sulfate

Masayuki Nishimura\*, Morimasa Hayashi\*, Atsushi Yamamoto,  
Kazuichi Hayakawa\*, and Motoichi Miyazaki\*

ANALYTICAL SCIENCES, 11, 755-758 1995

The effect of a mobile phase polyvalent counter ion on the retention behavior and peak intensity of sulfate in non-suppressed ion chromatography was quantitatively studied using a chromatogram simulation method. In this study, both indirect photometric detection (IPD) method and conductometric detection (CD) method were evaluated. With the IPD method, the retention of sulfate was observed to decrease in the presence of the polyvalent counter ion (Trien) without any change in peak intensity. With the CD method, however, peak intensity of sulfate decreased and, under same conditions, gave a negative peak in simulation as was also observed in actual experiments. The present work demonstrates the possibility of predicting the effect of a polyvalent counter ion on sulfate retention without resorting to physical experiments.

#### 9) マウス末梢血の正染性赤血球を用いた小核試験法の検討

本田幸子, 林美貴子, 渡辺正男\*, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信

北陸公衆衛生学会誌, 22(1), 30-34, 1995.

The Micronucleus test using normochromatic erythrocytes (NCE) in mouse peripheral blood was compared with that using polychromatic erythrocyte (PCE) in mouse bone marrow cyclophosphamide (CYP) treatment. Male mice of ddY strain were administered 6 intraperitoneal injections of CYP at the dose of 25mg/kg body weight over a period of 18 days. Twelve or 16 samples of peripheral blood cells were obtained from the tail vein and 12 samples of bone marrow cells were obtained from femurs over a 54-day experimental period. The maximum frequency of micronucleated (MN) NCE in the group treated with CYP was 0.5% at 22 days after the last injection. Increased frequencies of MNNCE were observed for 30 days after the last treatment. On the other hand, the peak frequency of MNNCE were observed for 30 days after the last treatment. On the other hand, the peak frequency of MNPCE in the experimental group was observed at 24h after treatment and frequencies of MNPCE returned to the control level 4 days later. These results indicate that the MN test using NCE in mouse peripheral blood in the present study may be a useful equivalent to the method using bone marrow PCE.

10) 反復流産夫婦のリンパ球姉妹染色分体交換発生と女性ホルモンおよび、培養酸素濃度に関する研究

林美貴子, 本田幸子, 大中正光\*, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*

北陸公衆衛生学会誌, 22(1), 35-41, 1995

The effects of diethylstilbestrol (DES) and oxygen concentration in culture atmosphere on the frequency of induced sister chromatid exchanges (SCE) were investigated in peripheral blood lymphocytes from 10 recurrent abortion couples and 20 age and sex matched controls. Whole blood culture was conducted with 20  $\mu$ g/ml of BrdU under 5 and 20% O<sub>2</sub> in 5% CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>-balanced air atmosphere at 37°C for 72 hrs. At all treatments, the mean frequency of SCE per metaphase in men from recurrent abortion couples was significantly higher than the mean from the control ( $p < 0.01$ ). The mean in women from recurrent abortion couples ( $8.6 \pm 3.0$ ) was significantly higher than the mean from the control ( $7.7 \pm 2.8$ ) ( $p < 0.01$ ), at treatment with DES ( $2 \times 10^5$ M) in 20% O<sub>2</sub>. In lymphocytes from the two groups of women, as compared with normoxic cultures (20% O<sub>2</sub>), hypoxic cultures (5% O<sub>2</sub>), showed a significant decrease, while no significant difference was noted in lymphocytes from the two groups of men, it suggested a sex-related difference in the effect induced by oxygen concentration on the frequency of induced SCE. Thus, the possible existence of recurrent abortion couples who are more sensitive to mutagens and/or environmental factors was suggested.

11) 閉経前後の骨量減少の予知における骨代謝指標測定の意義

西野治身, 伊木雅之\*, 田中朋子, 堀井裕子, 土肥祥子\*, 梶田悦子\*, 日下幸則\*, 鏡森定信\*

北陸公衆衛生学会誌, 22(1), 78-85, 1995

Associations between bone mineral density (BMD) of the lumbar spine and biochemical markers for bone turnover were examined to study the predictive value of the markers for rapid loss of BMD around menopause.

We measured BMD of the lumbar spine, serum bone alkaline phosphatase (B-AIP) and bone gla-protein (BGP) as markers of bone formation, and fasting urinary creatinine-adjusted pyridinoline (Pyr/Cr), deoxy-pyridinoline (Dpyr/Cr), hydroxyproline (Hyp/Cr) and calcium (Ca/Cr) as those of bone resorption in 138 community-dwelling healthy women aged 35 years and over.

In premenopausal subjects, the levels of serum B-ALP and urinary Dpyr/Cr were significantly higher in the subjects with sixth decade of age than those in the younger subjects, although no statistically significant difference in BMD was observed. The levels of all the biochemical markers except Ca/Cr in postmenopausal women were elevated compared with those in premenopausal women regardless of years since menopause. However, significantly lower BMD than that in premenopausal women appeared in the subjects who entered menopause more than five years ago.

Thus, we may conclude that the elevation of biochemical marker levels precede menopause as well as marked decrement in BMD in the early postmenopausal period, suggesting that the markers might predict the amount of rapid loss of BMD around menopause.

## 12) 殺虫剤展着網の覆いによる家屋侵入性カメムシの侵入阻止実験

渡辺 護, 荒川 良\*, 品川保弘, 斉藤嘉宏\*, 小菅喜昭\*

ペストロジー学会誌, 10(1), 27-31, 1995

シフェノトリンを展着させた網で家屋を覆い, 家屋侵入性カメムシの侵入を阻止する実地試験を行ったところ, 以下に示す良好な成績が得られた。

1. 網目3 cmの防鳥ネットを5%シフェノトリン水性懸濁剤の2.5倍液に浸し, 乾燥させた後に家屋を覆った場合, カメムシ(クサギ)の侵入阻止率は92%であった。
2. 網目2 cmの防風ネットにシフェノトリンを0.5 g/m<sup>2</sup>展着させた網で家屋を覆った場合, カメムシ(クサギ)の侵入阻止率は97.9%であった。
3. 網目1 cmの防風ネットにシフェノトリンを0.5 g/m<sup>2</sup>展着させた網で家屋を覆った場合, カメムシ(スコット)の侵入阻止率は95.1%であった。

## 13) 印刷工場における飛翔性昆虫の侵入阻止の試み

渡辺 護, 荒川 良\*, 品川保弘, 斉藤嘉宏\*, 小菅喜昭\*

ペストロジー学会誌, 10(1), 49-52, 1995

富山県婦負郡婦中町のY印刷工場で, 飛翔性昆虫の侵入阻止の試みとして, 1992年11月から窓, 出入口にシフェノトリン5%水性懸濁剤10倍液による重点処理, 1993年9月にはフェノトリン1%含有炭酸ガス製剤の自動空間噴霧を行い, 工場に侵入する飛翔性昆虫の侵入阻止を図る実地試験を行った。その結果, 侵入数と内部捕集率の減少が, 各阻止処理を行った直後に観察された。しかし, 明確な

平成8年10月1日

侵入阻止を図れたとする成績は得られなかった。今後は効果判定の方法も含め、効果的な侵入阻止法を確立したい。

#### 14) 染色体異常を疑った過去22年間1,013事例の陽性率およびその核型に関する疫学的研究

林美貴子, 本田幸子, 鏡森定信\*

母性衛生, 36(4), 421-429, 1995

染色体検査の現場における染色体異常の陽性率を過去22年間に経験した1,013事例から検討を行った結果, 185人に染色体異常が確認され, その染色体異常の陽性率は18.3%になった。さらに, 22年間の前半11年の前期, 後期11年の後期にわけて, 依頼理由別の陽性率, 核型について検討を行った。その結果は以下の通りである。

- (1) 全期間を通して依頼理由別の陽性率が高いものを順に挙げると, ダウン症候群の疑い(79.3%), 白血病等(23.8%), 先天奇形(22.0%), ターナー症候群等の疑い(20.0%)が主なものであった。この依頼理由別の陽性率を前期と後期で比較したが, いずれも有意な差は認められず, 医師の染色体異常に関する診断はこの22年間に著変のないものと診断された。後期全体の陽性率は前期に比較し低下したが, それは陽性率の低い流産経験者の依頼数の増加と, 一方, それが高いダウン症候群の疑いの依頼数の減少によるものであった。
- (2) 数的異常の割合は前期80%から後期54%に減少し, 反対に構造的異常の割合は19%から45%に増加したが, これは数的異常の多いダウン症候群の減少と構造的異常の多い白血病等の増加によるものであった。
- (3) 流産経験者236人中, 均衡転座保因者13人(5.5%)とトリプルX1人(0.4%)の計14人に染色体異常が発見され, その陽性率は5.9%であり, これは10組の夫婦あたり約1組の夫婦に染色体異常が発見されたことになった。染色体異常は夫・妻の半々に発見されたため, 流産を繰り返す場合には夫婦ともに染色体検査が必要と考えられた。また, 流産回数と陽性率の間には量反応関係が見られた。

#### 15) 北海道の一小学校における家屋侵入性カメムシの生態と防除 2. 防音サッシ二重窓と殺虫剤の窓枠重点処理による侵入阻止効果

渡辺 護, 稲岡 徹\*, 小菅喜昭\*, 小浜卓司\*

衛生動物, 46(4), 349-353, 1995

初冬に大群でカメムシ類が飛来する北海道の一小学校で、それらカメムシの侵入阻止法として、防音サッシ二重窓と従来型二重窓枠へのシフェノトリン水性懸濁剤の重点処理区との間で比較検討を行い、以下の結果を得た。

防音二重窓は従来型二重窓に比べ、侵入数を1/6に減らす効果が観察された。シフェノトリン0.7%水性懸濁剤の窓枠重点処理法は、侵入マダラナガカメムシの96.6%、スコットカメムシの91%、ヨツモンカメムシの72.8%を殺すことが推定された。しかも、死亡個体の大部分は二重サッシの中間の隙間で観察され、教室内への侵入はわずかであった。

## 16) SEROEPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF WILD RATS FOR SEOUL VIRUS IN INDONESIA

Ima-Nurisa IBRAHIM\*, Mohammad SUDOMO\*, Chiharu MORITA<sup>1</sup>\*,  
Sachiko UEMURA\*, Yasukazu MURAMATSU\*, Hiroshi UENO\*  
and Takashi KITAMURA<sup>2</sup>

Jpn. J. Med. Sci. Biol., 49, 69-74, 1996.

The prevalence of antibodies against Seoul virus was investigated in 655 wild rats (*Rattus norvegicus*, *R. rattus*, *R. rattus diardii*, *R. exulans*, *R. tionmanicus*) captured in seven port areas of Indonesia. Twenty-four of 238 *R. norvegicus*, one of 142 *R. rattus* and one of 102 *R. exulans* from two port areas had the antibodies against Seoul virus.

## 17) スペクトルの微分解析を用いる高速液体クロマトグラフィーによる水中の除草剤の分析

小玉修嗣, 山本 敦, 齋藤行雄, 高柳信孝, 松永明信

分析化学, 45, 259-263, 1996

スペクトルの微分解析を用いた HPLC により、農業用水中に含まれる 2 種類の除草剤（ダイムロンとメフェナセット）を分析した。すなわち、2 種類の標準化合物を HPLC に供し、フォトダイオードアレイ検出器から得られたそれぞれのスペクトルデータを 0～4 回微分処理し、微分スペクトルを得た。単純な移動相を用いたため、通常のクロマトグラム（0 次微分）では、2 種類の除草剤は分離されなかった。これに対し、標準化合物の 1～4 次微分スペクトルとその極大（極小）波長の組み合わせを用いて、農業用水のスペクトルデータを微分した値を経時的にプロットした微分値のクロマトグラムでは、両者を分別定量できた。農業用水を用いた微分値のクロマトグラムと標準化合物のそれと

平成8年10月1日

の一致度を指標としたピーク純度を考慮すると、農業用水中のダイムロン及びメフェナセットの定量値は、GC/MSで得られたそれぞれの定量値とよく一致した。従って、本法はHPLCの選択的検出法として有用であると考えられる。

## 18) パルスフィールド電気泳動によるA群溶血レンサ球菌の型別

田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英\*

感染症学雑誌, 70(3), 283~286, 1996

Restriction endonuclease (*Sma* I) digestion patterns of chromosomal DNAs of T types 1 and 3 (T1 and T3) group A streptococci (GAS), isolated at two hospitals in Toyama Prefecture from 1983 to 1994, were analysed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). One hundred twenty seven isolates of T1 GAS were further divided into 5 PFGE types, which were provisionally designated as T1-1~T1-5. Two epidemics of T1 GAS were observed during the 1983~1994 period, the first of which (1987~1988) seemed to be caused by T1-2, and the second (1991~1993) by T1-5. Some differences in biological characteristics between the two PFGE type strains were also observed. On the other hand, eighty one T3 GAS strains were divided into only two PFGE types, provisionally designated as T3-1 and T3-2, most of which belonged to T3-2. Naturally, both epidemics by T3 GAS, first from 1985 to 1986 and second from 1993 to 1994, seemed to be caused by the same PFGE type, T3-2. No differences in biological characteristics were observed between T3-1 and T3-2 strains.

### [報 告]

#### 1) 病原細菌の分子疫学的研究

刑部陽宅, 田中大祐, 児玉博英

平成5年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書, 53-62, 富山県, 1994

パルスフィールド電気泳動 (PFGE) を用いた染色体 DNA 制限酵素切断パターンによって富山県内の病院で分離されたB群溶連菌を型別した。その結果, 血清型 Ia, JM-9, III型の菌はそれぞれ, 更に多くの型に分けられ, 病院によって PFGE 型の分布差は認められなかった。また, 2年以上にまたがって同じ PFGE 型の溶連菌を保有した患者が認められた。



刑部陽宅, 田中大祐, 細呂木志保, 北村 敬

平成6年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書, 91-102, 富山県, 1995.

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って, コレラ菌, サルモネラ, B群溶血レンサ球菌を型別する条件を Bio-Rad 社 CHEF-DR II で検討し, 次に検討した方法を用いて多数の菌株の型別を行い各菌の流行様式について考察した。

結果, 1) 型別に使用する制限酵素はコレラ菌で *Sfi* I あるいは *Not* I, サルモネラ エンテリティディスで *Bln* I, B群溶連菌で *Sma* I が良く, 泳動条件は温度14℃, 電圧150V, パルスタイム3から40~70秒が良かった。2) コレラ菌では, 国内の環境に分布する菌株と東南アジア由来の菌株では, クローンが異なること, 由来国によって菌の指紋に差があることが明らかになった。また, B群溶連菌では, 病院内における本菌のヒトからヒトへの伝播は少ないことが推定された。一方, サルモネラでは, *S. Enteritidis* 食中毒が多発する前と後(1989年以後)で菌のクローンが異なることが明らかになった。

## 2) ウイルスの遺伝子検出による疫学的研究

森田修行, 中山 喬, 長谷川澄代, 庄司俊雄, 松浦久美子

平成5年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書, 63-77, 富山県, 1994

小児の急性胃腸炎患者から糞便を採取し, A群ヒトロタウイルスをスクリーニングで選別した後, これらロタウイルスをモノクローナル抗体・ELISA法で血清型別した結果から, 1型ウイルスが圧倒的多数を占めていることが示された。さらに, これらすべての検体をRT-PCRで血清型別した結果が, モノクローナル抗体によるものと一致することを確認した。しかし, 冬季に採取した下水からはRT-PCR法でロタウイルス遺伝子を検出できなかった。一方, 県内のある地域住民のC型肝炎ウイルス(HCV)抗体保有状況を調査し, 男性14%, 女性22%に抗体保有を認めたが, RT-PCRによって, これら抗体保有者からHCV遺伝子を検出することができなかった。

森田修行, 中山 喬, 庄司俊雄, 長谷川澄代, 松浦久美子, 児玉博英, 北村 敬

平成6年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書, 103-112, 富山県, 1995

1992年1月から1994年12月までの3年間, 県西部の小児を中心に急性胃腸炎患者について, A群ロタウイルス感染の調査を行い, その成績をまとめた。季節的には冬~春季に多発した患者461名のうち, 約51%にロタRPHAおよび電子顕微鏡観察で, A群ロタウイルスが検出された。さらに, モノクローナル抗体・ELISA法とRT-PCR法によって, これらウイルスを血清型別した。その結果, 1型ウイルスが全体の69%を占めて最も多く, 2型17%, 3型4%であった。しかし, 型別の比率は流

行シーズンによって変動がみられた。一方、RT-PCR法およびNested PCR法によってC型肝炎ウイルス（HCV）の遺伝子を検出し、型別する手技を確立したことで、一般住民の高いHCV抗体価を示す血清には、高率にHCV遺伝子が検出されることが明らかになった。次に、母子間のHCV垂直感染について調査を行なった。遺伝子型がⅡ型またはⅢ型のHCVに感染し、キャリアになっている健康な母親の新生児は、高い抗体価を保有しているが、HCV遺伝子が検出された例はみられなかった。

### 3) 骨粗しょう症の発症要因に関する疫学的研究

西野治身，田中朋子，堀井裕子，伊木雅之\*，梶田悦子\*

平成5年度科学技術庁委託調査研究，調査研究成果報告書，78～93，富山県，1994

年齢および閉経に関連した骨量減少の機序を明らかにするために腰椎でのBMDと骨代謝回転の生化学指標，すなわち骨形成の指標として血清B-A1Pを，骨吸収の指標として尿中Hyp/Crを，地域在住の女性166人について測定した。

年齢と各指標との間には有意な正の相関が認められた。この関係は直線的ではなく，指標レベルの上昇は特に40歳代に比べ50歳代で顕著に認められた。

骨代謝指標とBMDとの間には有意な負の相関を呈し，年齢の影響を除いた偏相関も有意であった。5歳毎の年齢階級別に分析すると，尿中Hyp/CrとBMDとの関係は50～54歳代で有意であり，血清B-A1PとBMDとの関係は55～59歳代で有意となった。この結果から，骨吸収の指標の変化は骨形成の指標の変化より早期に出現すると考えられた。

50～54歳代の閉経後3年以上経過したものでは，Hyp/Crが上昇し，BMDと有意な負の相関が認められた。それ故，閉経は50歳付近の対象で認められる骨代謝異常を説明できるものと思われる。

以上の結果から，50歳代での骨量減少は，閉経による骨吸収の亢進が骨形成のそれに先行して始まることによると示唆された。

西野治身，田中朋子，堀井裕子，伊木雅之\*，梶田悦子\*

平成6年度科学技術庁委託調査研究，調査研究成果報告書，113～132，富山県，1995

骨粗鬆症予備軍と考えられる地域在住の35歳以上の女性について，腰椎骨密度と骨代謝指標の測定および既往歴や月経歴などの面接調査を，開始時と2年後に再度実施した。その結果，骨密度は30歳代の若年齢層で既に低下していることが明らかとなった。また，骨塩量の低下には個人差があり，骨塩量を急速に失うFast bone losersとSlow bone losersが存在すること，Fast bone losersでは研究開始時点で既にSlow bone losersより骨代謝マーカーが高値を示すこと，ライフスタイルの比較ではFast bone losersの方が運動をしない傾向にあることなどの結果が得られた。

#### 4) 腰椎骨塩量のいわゆる Fast losers の Lifestyle に関する症例－対照研究

伊木雅之\*, 土肥祥子\*, 西野治身, 梶田悦子\*

平成5年度骨粗鬆症財団研究助成, 研究成果報告書, 1994

健康な女性の腰椎骨塩量を追跡し, 年間3%以上を失ういわゆる Fast bone losers と, 逆に低下が1%以下にとどまる Slow bone losers の存在を確認した。そこで前者を case, 後者を control として両者のライフスタイルの特徴を明らかにするための研究報告である。

#### 5) 富山県における胃がん発生背景要因の疫学的研究報告書

品川保弘, 柏樹久雄, 桑守豊美, 尾崎米厚, 簗輪眞澄, 佐藤茂秋

富山県衛生研究所 (1994年11月)

富山県民の胃がん罹患率及び年齢調整死亡率が, 男女ともに全国平均に比べて高率を示す背景要因を探るために, 県内の胃がん患者と, 年齢・居住地域等の比較的類似した院外対照者との間で, 食生活等を比較する患者対照研究を, 平成元年よりおよそ5年を費やして実施した。その結果, 胃がんの危険要因として, 米飯の摂取頻度, ジュース・紅茶などの嗜好飲料の摂取頻度の高いことが, 逆に胃がんを抑制する要因として, あずき・えんどう等の豆類, みかん, 生鮮魚介類, めん類等の摂取量や摂取頻度の高いことが見いだされた。従来言われてきた抑制要因としてのビタミンAや緑黄色野菜との関連, 促進因子としての喫煙との相関は認められなかった。食事時間が規則的であること, よく噛んで食べることのような食習慣, 飲料水源が上水道であることが胃がん発生に対し, 抑制的に働いていることも明らかとなった。

### [著書・総説・解説]

#### 1) タイのエイズ流行と対応策

北村 敬: 日本医事新報 No.3702. 142, 1995.

人口5千万人中60万人以上がHIVに感染している, 東南アジアで最も高いHIV浸淫率を呈するタイの疫学的状況と, 公衆衛生的対応を解説した。

平成8年10月1日

## 2) HIV ワクチンの現状と将来

北村 敬：化学療法の領域 第11巻4号 705-710, 1995.

HIVワクチン開発のための戦略と、それに沿って行われている研究の現状を紹介し、将来の方向を検討した。

## 3) HIV ワクチン

北村 敬：化学療法の領域 第11巻5号 922-938, 1995.

HIVワクチン開発上の困難な問題を、遺伝学、免疫学、病理学の諸観点から検討し、問題を克服して、ワクチンが成功するか否かの可能性を評論した。

## 4) ウイルス感染症としてのエイズの特徴と予防対策

北村 敬：医報とやま No.1142, 9-11, 1995.

HIV感染と、その結果としてのエイズの特徴を、疫学、ウイルス学、免疫学、病理学、臨床医学的に整理し、臨床家がHIV感染者を診断する場合の対策を整理して示した。

## 5) 液体クロマトグラフィーにおける間接吸光度検出法の新展開

早川和一\*, 山本 敦

分析化学, 44, 417-436, 1995.

これまで、液体クロマトグラフィーにおける吸光度検出器は専ら光吸収を有する化合物を検出する装置であり、その原理と検出器は既に完成されたものとの印象が強かった。本総説は、上述の概念を大きく変革しつつある吸光度検出法の新展開として、光吸収のない対象物質を検出できる間接吸光度検出法と、更なる考え方を光学活性物質の検出に向けた偏光吸光度検出法に焦点を合わせ、著者らの研究成果も含めて紹介した。

6) Global Challenge of AIDS —The Years of HIV/AIDS Research

*Proceedings of the Tenth International Conference on AIDS/International Conference on STD*

*Yokohama, August 7-12, 1994*

Edited by

Yuichi Shiokawa Professor Emeritus, *Juntendo University, Tokyo, Japan*

Takashi Kitamura Director Emeritus, *National Institute of Health, Tokyo, Japan*

(Kodansha, Tokyo/Karger, Basel, 1995)

Preface by T. Kitamura

This volume, *Global Challenge of AIDS: Ten Years of HIV/AIDS Research*, is a collection of papers presented at the plenary and tenth anniversary sessions of the Tenth International Conference on AIDS/International Conference on STD (Xth-ICA), held 7-12 August, 1994, in Yokohama, Japan. The conference was organized and supported by numerous governmental and non-governmental organizations working in AIDS research, prevention, control and support of affected society and individuals, as described by the Organizing Committee chair.

Under the set theme, "The Global Challenge of AIDS-Together for the Future," the programming of the Conference put special emphasis on: 1) HIV infection of women and its impact on future generations, 2) HIV/AIDS pandemic in developing countries, and 3) community-based support of people with HIV/AIDS (PWA). With increasingly larger voices of those working on the non-science side of AIDS control and PWA support, the Program Committee (PC) was put in the rather difficult position of balancing the scientific quality of the ICA and its social nature, the public relations opportunity for AIDS control and PWA support activities, and serious concerns were, indeed, expressed by a number of scientists who insisted on the tradition of ICA as a meeting place for broad aspects of HIV/AIDS research.

The Organizing Committee established the Community Liaison Committee to work in liaison activities, including communication and coordination with such support organizations, and Program Committee entrusted this liaison committee to provide programming advice in four scientific tracks, i. e., A. basic science, B. clinical science and care, C. epidemiology and prevention, and, D. impact, social response and education. The track chairs (Drs. Takashi Kurimura (A), Kaoru Shimada (B), Kenji Soda (C), and Hirotsada Hirose (D)) were assisted by internationally renowned cochairs (Drs. Flossie Wong-Staal, David Ho, Jean-Baptiste Brunet, Werasit Sittitrai, respectively) as well as more than 80

principal HIV/AIDS researchers in and outside Japan as Program Committee members.

The major scientific features of the Tenth ICA program can be summarized as follows : 1) epidemiology of the serious, unexpected, rapid dissemination of HIV/AIDS in developing countries, especially in Asia ; 2) long-term non-progressors who have been HIV-infected for a long period without practical progression of HIV disease, a thorough study of which is giving significant insights into the protective immunity ; 3) a new approach to genetic therapy by hairpin ribozyme ; 4) HIV protease inhibitors as new therapeutic agents under clinical trial ; 5) new approach to a protective HIV vaccine with special reference to eliciting cytotoxic T lymphocyte response ; 6) synergistic effects of combined therapy with available HIV therapeutics.

In parallel with 97 sessions of nearly 1,000 oral abstract presentations of representative research reports from more than 3,500 accepted abstracts, the Program Committee invited the 30 speakers for plenary sessions to provide a state-of-the-art summary of progress in the topics of the above four tracks and 11 speakers for three sessions of Tenth Anniversary Special Sessions to review the progress in the last decade.

The editors rearranged the 26 papers presented at the plenary session : according to scientific topic. As for the four invited speakers from whom the editors did not receive completed papers by the end of March 1995, abstracts from the conference program or excerpts given to the conference chairs have been included as alternatives. The editors express sincere gratitude for the cooperation of the authors, devoted editorial work by Ms. Shigeko Yoshida, Kodansha Scientific, and Dr. Yoshiki Sakurai, National AIDS Medical Information Center, for his hard work in program coordination during ICA and the editorial work thereafter.

As the program chair, the editor wishes to express his personal congratulations for the successful completion of Tenth ICA and scientific progress reported in both plenary and abstract sessions. The Tenth ICA should be regarded as the first ICA which dealt with HIV/AIDS in women on a scientific basis. The editors hope the present volume will serve as a scientific overview of HIV/AIDS research conducted over the ten years the ICA has been in existence.

## 7) エイズ研究の10年

北村 敬 : 治療学 第29巻8号, 838-841, 1995.

1985年の第1回国際エイズ学会(アトランタ)から, 1994年の第10回学会(横浜)にいたるエイズ研究の進歩を, HIVのウイルス学, 感染初期の生体応答, 抗体陽転の空白期, HIVの伝播と疫学, HIVの感染予防, ワクチン開発の方向, 抗HIV剤の開発と限界等について評論し, 近い将来のエイズ克服の戦略を検討した。

## 8) タイのエイズ流行と性行動

北村 敬：日本医事新報 No.3721, 154-155, 1995.

タイの高い HIV 浸淫率が東南アジアで最も高く、さらに上昇を続けている事の原因が、同国の成年男子の独特の性行動にある事を、文献その他により論証した。

## 9) エボラ出血熱

北村 敬：治療 第77巻9号 2510-2511, 1995.

エボラ出血熱の本質を、ウイルス性出血熱の概念、疫学、原因ウイルス、臨床、診断、治療、予防に分けて解説した。

## 10) 吸光度検出器で旋光度検出を行なう —— 偏光吸光度検出器の開発 ——

山本 敦：LC talk, 36, 5, 1995

HPLC用吸光度検出器のフローセルの前後に偏光板を組込むだけで、光吸収の無い光学活性物質（旋光度を有する物質）の溶出を選択的に捉えることが可能となる。この偏光吸光度検出法の原理と応用法および光吸収をもつ光学活性物質のための改良型装置の開発状況について解説した。

## 11) アフリカ出血熱 —— その生態の謎

北村 敬：病態生理 第14巻10号, 1995

エボラ出血熱、マールブルグ病、ラッサ熱等よりなるアフリカ出血熱を、他のウイルス性出血熱、特にヒトサルボックス症との比較で検討し、不明とされるエボラ出血熱、マールブルグ病の原因ウイルスの生態の謎を解明する方向について評論した。

平成8年10月1日

12) エボラ出血熱 — ウイルスが引き起こす恐怖の伝染病

北村 敬：現代化学 No.295, 32-37, 1995

ウイルス性出血熱，特にフィロウイルス感染症（エボラ出血熱，マールブルグ病）の特徴と対策を，微生物分野になじみの少ない理化学分野の研究者に解説した。（副題は，編集者によって付けられたものである。）

13) エボラ出血熱 — その正体と防疫対策

北村 敬：アイソトープニュース No.497, 8-9, 1995

エボラ出血熱の原因であるフィロウイルスとその感染症の特徴を，理化学研究者向けに解説し，防疫対策はどう行われているかを示した。

14) 痘瘡根絶の理論と成果

北村 敬：治療 第77巻10号, 50-54, 1995

人類の歴史と共に古くから惨禍をもたらして来た痘瘡（天然痘）は，明確な疫学理論と的確な予防接種，疫学監視，根絶確認の疫学理論を用いて，1977年に全世界から根絶された。現在，種々な感染症が新たに出現し，或いは復活しつつある状況下に痘瘡根絶の理論と実践の進捗の過程を解説した。

15) 臨床ウイルス学講座 — ウイルス感染とウイルス病総論

北村 敬：医学検査 第44巻4号, 837-840, 1995

16) 臨床ウイルス学講座 — レトロウイルス感染症

北村 敬：医学検査 第44巻12号, 1859-1862, 1995



17) 臨床ウイルス学講座 —— 国際伝染病

北村 敬：医学検査 第45巻1号，92-94，1995

臨床衛生検査技師のために，ウイルス検査の基礎となるウイルス学事実を要約して，各項目について解説した。

18) 渡辺 護：家屋侵入性カメムシの生態と家屋侵入阻止対策

連載講座，新・不快害虫シリーズ4  
生活と環境，平成7年11月号，79-85，1995

主要な家屋侵入性カメムシ5種類の生態と家屋侵入対策について解説

19) 渡辺 護：家屋に侵入するカメムシ類と侵入阻止対策

家屋害虫，17(2)，119-130，1995

家屋に侵入するカメムシ65種類の目録と主要10種を写真で説明，さらに侵入の実態など生態と家屋侵入対策について解説

20) 渡辺 護：カメムシを家屋に侵入させない方法

インセクタリウム，33巻，2月号，14-17，1996

中学生でも理解できる様に平易に，越冬飛来の生態と家屋侵入阻止法について解説

21) HIV 感染症の医学

北村 敬（メディカルビュー社，大阪，1996）

本書は，HIV 感染とその結果としての AIDS 発症に至る基本的な過程を，著者の集めた文献に基づ

いて、ウイルス学的、免疫学的にまとめたものであって、その母体となったものは、「免疫・Immunology Frontier」誌に第3巻1号（1993年2月）から第5巻1号（1995年2月）にかけて“Series AIDS”として、13回連載させていただいたもので、これに文献、その後の知見による内容の改変、新しい資料の図や表の追加などの補充を加えて、第I部 HIV 感染症の基礎医学とし、さらに、第II部 HIV 感染症の臨床医学を新たに書き加えたものである。基礎医学者のみならず、臨床諸科の医師にも参考になるよう心がけたが、事実と文献に忠実な解説にこだわったため、あまり読みやすくないというご批判の出ることは覚悟している。

本文中に繰り返し触れたように、AIDSは、HIV（ヒト免疫不全ウイルス）の感染で起こる細胞性免疫不全に各種の日和見疾患が重複したもので、免疫不全に至る経過には多くの未知の免疫学的機序が関与するとともに、発生する日和見疾患は臨床医学のほとんど全分野に及んでいる。ウイルス感染症としてみると、レトロウイルスであるため、その遺伝子の構成と機能、分子レベルでの潜伏感染など、これまで医学ウイルス学が研究対象とし、次々に克服してきた多くの古典的ウイルス病と多くの点で違いがあり、液性免疫による遊離ウイルスの除去、細胞性免疫による感染細胞の排除という図式が簡単に通用せず、それだけに研究や対策が困難であるとともに、研究対象としてはきわめて興味ある取り組み相手である。1994年、横浜で開かれた第10回国際エイズ会議には、参加者144カ国より12,700、発表演題3,500という、単一のウイルス感染症としては考えられないような数の研究者の、多方面からの取り組みがみられた。免疫不全状態での臨床各科の症状の発現は、第II部で触れているように、健常な免疫機能と寄生体との間の相互作用のバランスに基づいている古典的な病態から、多くの場合全く逸脱してしまう。HIV 感染症はCD4 Tリンパ球が選択的になくなったらヒトはどうなるかという自然の実験ともいえるべく、患者の苦悩の上に与えられたこの貴重な機会を生かして研究成果が得られれば、HIV 感染者の治療のみならず、ウイルスの分子遺伝学、基礎免疫学、臨床免疫学など、広い範囲の医学に多大の進歩をもたらすであろう。冒頭にも述べたように、本書はHIV 感染症に関する知見を説明するにあたり、読みやすさをあまり考えることなく、徹底して原論文を引用して話を進めることとした。熱意のある読者が研究や診療を進めるにあたって、本書の基礎的解説がお役に立つことがあれば、著者の喜びこれに過ぎることはない。

(3) 特別講演等

- 1) AIDS 研究の10年 (所長 北村 敬)

日本薬学会衛生化学調査会 北陸部会第8回学術講演会  
1995年9月22日；金沢市

- 2) 痘瘡根絶からポリオ根絶へ (所長 北村 敬)

第10回日本国際保健医療学会総会  
1995年10月28日；東京都

- 3) ウイルス病との戦い — エイズとエボラ出血熱 (所長 北村 敬)

第43回日本ウイルス学会総会  
1995年10月30日；岡山市

- 4) 国際伝染病 — その正体と防疫対策 (所長 北村 敬)

群馬県衛生環境部 国際伝染病研究会  
1996年3月11日；前橋市

#### (4) 学 会 発 表 等

- 1) 最近の富山産コガタイエカ幼虫の有機燐剤抵抗性と季節消長について  
上村 清\*, 荒川 良\*, Rosdiana NATZIR\*, 新村律子\*, 渡辺 護  
第47回日本衛生動物学会大会, 平. 7. 4. 1~3, 三重市
- 2) 市販カメムシ用エアゾールの窓枠重点処理によるカメムシの侵入阻止試験  
渡辺 護, 荒川 良\*, 品川保弘  
第47回日本衛生動物学会大会, 平. 7. 4. 1~3, 三重市
- 3) スギ花粉症調査から  
庄司俊雄, 藤崎洋子\*, 中川稔夫\*, 田中孝雄\*, 大橋直樹\*, 石政喜弘\*, 田近由美子\*, 野垣俊幸\*, 槻陽一郎\*, 島 一晴\*, 高橋芳親\*, 小林英人\*, 羽岡直樹\*, 石橋陽二\*, 清水規矩雄\*, 堀 正人\*, 村井 満\*, 小森 貢\*, 大谷溥子\*, 佐藤尚夫\*, 石丸 正\*, 作本 真\*, 中橋常雄\*, 室野 繁\*, 竹下 剛\*, 斉藤栄広\*, 宮崎為夫\*, 米野邦彦\*, 寺西秀豊\*, 劔田幸子\*  
第7回花粉症研究会総会および学術集会, 平. 7. 6. 10, 富山市
- 4) パルスフィールド電気泳動によるA群溶血レンサ球菌の型別  
田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英  
第28回レンサ球菌感染症研究会, 平7. 6. 24, 東京都
- 5) 都市河川水のサルモネラに関する定点観測 — 15年間の成績 —  
磯部順子, 刑部陽宅  
衛生微生物技術協議会第16回研究会シンポジウム, 平. 7. 7. 13~14, 広島市
- 6) 家屋で越冬するカメムシ類の家屋侵入阻止法  
渡辺 護, 荒川 良\*, 品川保弘, 稲岡 徹\*  
第55回日本昆虫学会大会, 第39回日本応用動物昆虫学会大会合同大会,  
平7. 8. 25~28, 帯広市
- 7) 偏光吸光度検出法の開発と応用 —— スプリット型セルの試作と食品分析への適用 ——  
西村雅之\*, 北岡光夫\*, 山本 敦, 松永明信, 早川和一\*, 宮崎元一\*  
1995年分析機器と解析システムに関する東京討論会, 平7. 9. 6~7, 千葉市
- 8) PCR法によるマダニ類からのライム病関連ボレリア DNA の検出と制限酵素切断多型  
渡辺 護, 石倉康宏, 品川保弘, 北村 敬  
第3回ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー, 平. 7. 9. 6~8, 長野県原村
- 9) PCR法によるマダニ類からのリケッチア DNA の検出と制限酵素切断多型  
石倉康宏, 渡辺 護, 品川保弘, 北村 敬

第3回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー，平. 7. 9. 6～8，長野県原村

10) 骨粗鬆症集団検診における High Risk Group のスクリーニング法

西野治身

平成7年度地研東海北陸支部環境保健部会，平. 7. 9. 21～22，三重県 賢島

11) 水道水および食品中のフタル酸エステルの全自動 HPLC 分析

小玉修嗣，松永明信，山本 敦

日本薬学会衛生化学調査委員会 北陸部会第8回学術講演会，平7. 9. 22，金沢市

12) 偏光吸光度検出法 —— スプリット型セルによる HPLC / 円二色性検出 ——

山本 敦，松永明信，早川和一\*，宮崎元一\*，西村雅之\*

第44回日本分析化学会，平7. 9. 28～30，札幌市

13) 家屋侵入性カメムシの侵入実態

渡辺 護，品川保弘，荒川 良\*

第50回日本衛生動物学会西日本大会，平. 7. 10. 7～8，大阪市

14) 踵骨超音波計測値と腰椎骨密度ならびに骨代謝指標との関係

西野治身，伊木雅之\*，田中朋子，堀井裕子，梶田悦子\*，三田村純枝\*，山崎 巖\*，  
土肥祥子\*，日下幸則\*，鏡森定信\*

第54回日本公衆衛生学会総会，平. 7. 10. 12～14，山形市

15) 成人男性の尿中過酸化脂質（チオバルビツール酸反応物質）と飲酒・喫煙習慣

新村哲夫，中崎美峰子，西野治身，中川秀昭\*，成瀬優知\*，鏡森定信\*

第54回日本公衆衛生学会総会，平. 7. 10. 12～14，山形市

16) 高校生におけるスポーツテスト成績と骨代謝指標との関連

堀井裕子，田中朋子，西野治身，山上孝司\*，成瀬優知\*，鏡森定信\*

第54回日本公衆衛生学会総会，平. 7. 10. 12～14，山形市

17) 超音波骨密度測定装置の再現性と測定値に影響する要因

伊木雅之\*，梶田悦子\*，西野治身，三田村純枝\*，山崎 巖\*，山上孝司\*，長浜直樹\*，日下幸則\*

第54回日本公衆衛生学会総会，平. 7. 10. 12～14，山形市

18) 高齢者における腰椎骨密度の変化とライフスタイルの関係

梶田悦子\*，伊木雅之\*，西野治身，三田村純枝\*，山崎 巖\*，飛田芳江\*，日下幸則\*，北山富士子\*

第54回日本公衆衛生学会総会，平. 7. 10. 12～14，山形市

平成8年10月1日

- 19) 富山県衛生研究所における羊水の染色体検査状況  
本田幸子, 林美貴子, 北村 敬, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*  
第54回日本公衆衛生学会, 平. 7. 10. 12~14, 山形市
- 20) 反復流産夫婦のリンパ球姉妹染色分体交換発生頻度と女性ホルモンおよび培養酸素濃度の影響  
林美貴子, 本田幸子, 北村 敬, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*  
第54回日本公衆衛生学会, 平. 7. 10. 12~14, 山形市
- 21) Review of AIDS epidemiology and research in Japan.  
T. Kitamura  
6 th Japan-France AIDS Conference, October 23, 1995, Paris.
- 22) 秋・冬から春におよぶ抗原確認によるスギ花粉症患者調査  
庄司俊雄, 槻陽一郎\*, 清水規矩雄\*, 寺西秀豊\*, 平 英彰\*  
第45回日本アレルギー学会総会, 平. 7. 10. 25~27. 浦安市
- 23) パルスフィールド電気泳動によるA群溶血レンサ球菌感染症の解析  
田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英  
第32回日本細菌学会中部支部総会, 平7. 10. 26~27, 金沢市
- 24) 偏光吸光度検出法 —— 食品中のオリゴ糖分析 ——  
綿谷敏彦\*, 宮崎元一\*, 早川和一\*, 山本 敦, 松永明信, 西村雅之\*  
日本食品衛生学会第70回学術講演会, 平7. 10. 26~27, 名古屋市
- 25) PCR 法によるダニ類からのリケッチア DNA の検出  
石倉康宏, 渡辺 護, 品川保弘, 松浦久美子, 森田修行, 北村 敬, 植竹久雄\*  
第43回日本ウイルス学会総会, 平7. 10. 31~11. 2, 岡山市
- 26) 骨粗しょう症患者の骨代謝に対する歩行効果  
田中朋子, 西野治身, 堀井裕子, 鏡森定信\*  
第23回北陸公衆衛生学会, 平. 7. 11. 13, 富山市
- 27) 県内農産物中の残留農薬について  
齊藤行雄, 山本 敦, 松永 明信  
第23回北陸公衆衛生学会, 平. 7. 11. 13, 富山市
- 28) 過去22年間に行った染色体検査の陽性率およびその核型に関する検討  
林美貴子, 本田幸子, 北村 敬, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*  
第23回北陸公衆衛生学会, 平. 7. 11. 13, 富山市

- 29) 衛生研究所における染色体検査の現況  
 本田孝子, 林美貴子, 北村 敬, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*  
 第23回北陸公衆衛生学会, 平. 7. 11, 13, 富山市
- 30) 微分スペクトルクロマトグラム法による河川水中の除草剤の分析  
 小玉修嗣, 山本 敦, 斎藤行雄, 高柳信孝, 松永明信  
 第32回全国衛生化学技術協議会年会, 平. 7. 11, 16~17, 秋田市
- 31) 散布作業者の農薬暴露後における体内農薬の消長に関する追跡調査  
 中崎美峰子, 西野治身, 林 徹雄, 大浦栄次\*  
 第28回北陸信越薬剤師学術大会, 平. 7. 11. 18, 長野市
- 32) 印刷工場における飛翔性昆虫の侵入阻止の試み, 第2報  
 渡辺 護, 小菅喜昭\*, 宮地宏幸\*  
 第11回ペストロジー学会大会, 平. 7. 11. 22~23, 高知市
- 33) 健常日本人女性におけるビタミンDレセプター遺伝子多型と腰椎骨密度  
 伊木雅之\*, 土肥祥子\*, 西野治身, 梶田悦子\*, 三田村純枝\*, 森田明美\*,  
 佐藤一博\*, 日下幸則\*, 米増國雄\*  
 第4回骨粗鬆症研究会, 平. 7. 11. 30~12. 1, 浜松市
- 34) 富山県におけるクレチン症マススクリーニングの状況  
 高橋雅子, 米田 豊, 北村 敬, 松崎宏子\*  
 北陸先天異常研究会第16回学術集会, 平. 7. 12. 7, 富山市
- 35) 流産胎児の染色体分析から明らかになった染色体転座保因者夫婦について  
 本田幸子, 林美貴子, 北村 敬, 泉 陸一\*  
 第16回北陸先天異常研究会, 平7. 12. 9, 小杉町
- 36) 46, XY, i(9p), der(12)(9;12)と判定した9pトリソミー症候群の1例について  
 林美貴子, 本田幸子, 北村 敬, 山下富子\*, 伊川和美\*  
 第16回北陸先天異常研究会, 平. 7. 12. 9, 小杉町
- 37) 富山県における先天性甲状腺機能低下症マススクリーニングの過去6年間の結果について  
 高橋雅子  
 平成7年度富山県先天異常研究会, 平. 8. 1. 18, 富山市
- 38) Review of HIV / AIDS vaccine research in Japan.  
 T. Kitamura  
 8th Japan-US AIDS Conference, January 24, 1996, Baltimore, Md.

平成8年10月1日

39) 水道水中のハロ酢酸及びハロアセトニトリルの分析

健名智子

平成7年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部・衛生化学部会, 平8. 2. 1~2, 犬山市

40) イオン電極法による野菜中の硝酸イオンの定量

山本 敦

平成7年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部・衛生化学部会, 平8. 2. 1~2, 犬山市

41) イオンクロマトグラフィーの食品分析への応用

山本 敦

平成7年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部・衛生化学部会, 平8. 2. 1~2, 犬山市

42) 水道水中のハロ酢酸の一斉分析

大戸幹也, 健名智子, 大浦 徹, 松永明信

第22回富山県水道研究発表会, 平8. 2. 9, 富山市

43) 羊水の染色体検査実施状況

本田幸子, 林美貴子, 北村 敬, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*

第8回富山県母性衛生学会, 平8. 2. 17, 富山市

44) 流産経験者の染色体分析結果について — 富山県衛生研究所における成績 —

林美貴子, 本田幸子, 北村 敬, 山上孝司\*, 成瀬優知\*, 鏡森定信\*

第8回富山県母性衛生学会, 平8. 2. 17, 富山市.

45) 集合住宅の水環境から分離された *Methylobacterium* 属について

井山洋子

平成7年度地研東海北陸支部細菌部会, 平8. 2. 22~23

46) 劇症型A群レンサ球菌感染症由来株のパルスフィールド電気泳動

田中大祐

平成7年度地研東海北陸支部細菌部会, 平8. 2. 22~23

47) 富山県における平成7年度の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況

磯部順子, 細呂木志保

平成7年度地研東海北陸支部細菌部会, 平8. 2. 22~23

48) 感染症サーベイランス・ウイルス検査状況 (1995年)



森田修行, 松浦久美子, 長谷川澄代, 中山 喬

平成7年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平8. 3. 7~8, 岐阜市

49) 今冬の富山県におけるインフルエンザの流行状況

松浦久美子, 森田修行, 北村 敬

平成7年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平8. 3. 7~8, 岐阜市

50) HPLC Determination of Chiral Compounds with a Novel Polarized Spectrophotometric Detector

Mituo KITAOKA\*, Masayuki NISHIMURA\*, Ryutarō ODA\*, Teruhisa UEDA\*,  
Atsushi YAMAMOTO, Akinobu MATSUNAGA, Kazuichi HAYAKAWA\*, Motoichi  
MIYAZAKI\*

47th Pittsburgh Conference and Exposition on Analytical Chemistry and Applied  
Spectroscopy, March 3~8, 1996, Chicago.

51) *Salmonella* Enteritidis, 1961~1988年と1989~1994年分離株の比較

細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 刑部陽宅, 中村明子

第69回日本細菌学会総会, 平8. 3. 27~29, 福岡市

52) 偏光吸光度検出 HPLC によるソルビトール, マンニトールの分析

山本 敦, 松永明信, 大参秀徳\*, 宮崎元一\*, 早川和一\*, 西村雅之\*

日本薬学会第116回年会, 平8. 3. 27~29, 金沢市

53) イヨシロオビアブ誘殺用二酸化炭素誘引トラップについて

渡辺 護, 品川保弘

第48回日本衛生動物学会大会, 平. 8. 3. 27~29, 福岡市

編 集 委 員

委員長 刑部陽宅  
委員 長谷玲子  
渡辺護  
石倉康宏  
高柳信孝  
西野治身

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成7年度(1995)

1996年10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 (株)

富山市住吉町1丁目5-18

電話 (0764) 24-1755(代)

FAX (0764) 23-8899

