

昭和52年度

富山県衛生研究所年報

1978年5月発行

富山県衛生研究所

は　じ　め　に

昭和52年度の年報ができあがり、関係諸氏の御高覧に供することができるようになりました。職員一同と共に慶びにたえません。

この1年をふりかえりまして、富山県においては、衛生研究所として特に大きな変化のない平穏な1年だったといえます。しかしながら、県外においては、和歌山県有田市を始めとしてコレラ発生事件があり、伝染病の防疫という公衆衛生の原点にたちかえる大きな問題を提起しました。

このほか、新たな事業としては、10月から発足しました先天性代謝異常のスクリーニングがあげられます。この事業の実施については若干問題点があげられてはおりますが、富山県では衛生研究所が担当することになりました。また、今年からは風疹流行に端を發しました“先天性異常児発生の調査と監視計画”事業が発足し、日本母性保護医協会の“おぎあ一献金”の研究費を頂くことができ、富山県染色体検査研究協議会が主体となって推進されることになりました。今後数年にわたり継続される意義深い事業であり、是非成功させたいものであります。

多年の懸案であります、当研究所の新築移転問題は今年もついに日の目をみずに終わりました。一部の方々から、衛研の業務に対する一般の理解が不足ではないか、との御指摘も受けました。地方衛研のもつ本質的な性格からたいへん難しい問題であります。我々当事者として真剣に考えるべき重要課題であることを痛感しております。

以上のような見地からも、この1年の当研究所の業務の概要をまとめましたこの年報を御覧いただき、御批判を賜りますとともに、深い御理解と御鞭撻をいただければたいへん幸いです。

1978年5月

富山県衛生研究所長

渡　辺　正　男

目 次

A 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	2
5. 業務概要	5
6. 検査年報	16
7. 講師派遣	19
8. 研修指導	20
9. 海外出張	21
B 調査報告・研究報告・資料	
1. 病理部	
〔調査報告〕	
先天性代謝異常マススクリーニングにおける成果について	22
〔研究報告〕	
ヒト染色体異常に関する調査研究	27
コガタイエカ、シナハマダラカ群の発生動態の比較	29
チカイエカの発育ステージによるエステラーゼ酵素活性の違いについて	38
エステラーゼのアイソザイムパターンから見た「アカイエカ群」の系統について	44
立山におけるクロバエ類の分布とその季節消長（1975～1977年）	50
富山新港貯木場周辺に大発生するクロシヨウジョウバエの生態と駆除	54
クサギカメムシの生態と駆除について 1.室内飼育法の検討と卵巣発育過程	56
アベイト、スミチオンの水和剤によるブユ幼虫駆除の検討	60
<i>Simulium ochraceum</i> の卵巣発育過程と産卵間隔および回数について	63
2. ウイルス部	
〔調査報告〕	
ポリオ流行予測調査成績	70
インフルエンザ流行予測調査について	72
風疹流行予測調査について	77
日本脳炎流行予測調査について	85
〔研究報告〕	
小児下痢の研究：ウイルス学的、細菌学的検索	90
<i>Y. enterocolitica</i> の抗腫瘍活性について	96
担癌初期マウス血清中に存在する細菌感染抵抗性抑制因子について	100
〔資 料〕	
バラインフルエンザH I抗体価調査	105
3. 細菌部	
〔調査報告〕	
健康学童の咽頭溶連菌保菌に関する考察	108
百日咳流行予測 一感受性調査一	113
ジフテリア流行予測 一感受性調査一	117
食鳥処理場および周辺環境のサルモネラ汚染調査	127
北海道泥炭地帯の腐植栄養湖のプランクトンについて	132

〔研究報告〕	
溶連菌A群12型に関する研究	136
ウエルシュ菌生菌による結紮家兔腸管液貯留反応	141
ウエルシュ菌エンテロトキシンのVeroto細胞に対する作用量と作用時間について	143
〔資料〕	
東南アジア旅行者およびその家族のコレラ菌検査について	144
観光ツアーにおける食物の安全性について	145
富山県下で分離された腸チフス、パラチフス菌のファージ型について	146
県下婦人のトキソプラズマHA抗体レベル調査	148
堂田清水川水系の環境調査	149
富山新港貯木場の水質汚濁調査	153
4. 化学部	
〔調査報告〕	
母乳及び魚介類中のPCBに関する調査	155
母乳中の有機塩素系農薬に関する調査	158
食品中の残留農薬に関する調査—動物性食品中の有機塩素系農薬—	162
食品中の残留農薬に関する調査—茶、野菜類中の残留農薬—	167
河川水水質調査について	168
〔研究報告〕	
チヨウセンアサガオのアルカロイドについての研究	172
魚介類中の総水銀定量の迅速化に関する検討	178
精油定量器による魚介類中の α -パラフィン分析	180
チアミンの分解におよぼす亜硝酸ナトリウムの影響	184
マロンアルデヒドと尿素との反応から8, 4-ジヒドロ-2-ヒドロキシ-4-ウレイドピリミジンの生成	185
コレステロールの熱分解によるナフタレンと8, 4-ベンゾピレンの生成について	186
〔資料〕	
チヨウセンアサガオによる食中毒事件について	187
5. 環境保健部	
〔研究報告〕	
尿中総アミノ酸の正常値について	190
イタイイタイ病患者の尿中排泄アミノ酸について	194
尿中 β_2 ミクログロブリンの保存による影響	198
イタイイタイ病患者および要観察者の血中カドミウム量について	203
Delves Cup法による尿中カドミウムの簡易測定法について	205
カドミウム汚染の生体影響 汚染米による動物実験(第1報)	208
〔資料〕	
イタイイタイ病要観察者の尿・血液検査成績	217
イタイイタイ病要観察者の臓器中カドミウム量について	220
一農村地区住民の血中重金属濃度について	221
C 業 績	
1. 学会発表	223
2. 誌上发表	226

A 運 營

A. 運 営

1. 沿革および組織機構

- (1) 1947年10月1日 富山県部設置条例の制定により衛生部が設置され、衛生試験検査を所管。
- (2) 1948年1月1日 衛生部公衆衛生課が設置され、細菌検査、衛生試験室を併置。
- (3) 1948年4月7日 厚生省が「地方衛生研究所設置要綱」を提示。
- (4) 1959年3月30日 現研究所の旧庁舎が完成。
- (5) 1960年3月28日 富山県衛生研究所設置条例が公布され、4月1日から職員9名の構成で発足。
- (6) 1961年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の公布により、課、係制が設けられ、職員も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）。
- (7) 1962年11月30日 研究所新庁舎完成。
- (8) 1963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 ）
- (9) 1964年5月18日 「地方衛生研究所設置要綱」改正。
- (10) 1965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。
- (11) 1968年7月10日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の公布により、「所長代理」制を「次長」制に変更。
- (12) 1969年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の公布により、従来の課制を廃し、部制を設置し、部に主任研究員を配置（庶務課、病理生化学部、微生物部、食品科学部、公害調査部）。
- (13) 1971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、公害調査部が公害センターに吸収され、また、各部の名称を変更し、現在に至る（庶務課、病理部、ウイルス部、細菌部、化学部、環境保健部）。
- (14) 1976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。

2. 施設 の 概 要

敷 地	1,526.49 m ²	
建 物	1,884.83 m ²	
本 館	鉄筋コンクリート造3階建	1,655.27 m ²
旧 庁 舎	補強コンクリートブロック造平屋建	190.76 m ²
動物飼育舎	" 中2階建	124.0 m ²
実験動物舎	パネルハウス平屋建	264.0 m ²

3. 職 員 数

1978. 4. 1現在

区 分	所・次長 部・課長	副主幹 研究員	主 任 研究員	主 任	主 事	防 疫 技 師	研究員	技 術 職 員(嘱託を含む)	計
所 長	1								1
次 長	1								1
庶 務 課	1			1	1			5 (1)	8 (1)
病 理 部	(次長兼務)						4		4
ウ イ ル ス 部	1					2	5		8
細 菌 部	1	1	3				2		7
化 学 部	1	1	2				2		6
環 境 保 健 部	(所 長 事務取扱)	1	1				4		6
計	6	3	6	1	1	2	17	5 (1)	41 (1)

注：()内は、兼務者で内数

4. 職 員 一 覧

1978. 4. 1現在

職 名	氏 名	当 所 勤 務 年 数	主 なる 担 当 事 務
所 長	渡 辺 正 男	3年 9月	所内業務の総括
次 兼 病 理 部 長	西 田 義 雄	0	所長補佐及び病理部の総括

職 名	氏 名	当 所 勤務年数	主 なる 担 当 事 務
庶務課長 (出納員)	船見平之	1年0月	職員人事, 予算, 出納員業務及び課内事務の総括
主任 (会計員)	柚田昭	0. 8	物品購入, 予算経理, 決算及び会計員業務
主 事 (会計員)	宇治谷明美	0	給与, 旅費, 賃金の支給, 収入事務及び会計員業務
技 士	永森俊作	1. 5	公用車の操車, 整備保全業務
"	島崎清一	14. 11	文書等の送達及び洗浄業務
"	(兼) 竹沢外明	(10. 6)	自家用電気工作物の保安業務
助 手	渡辺保子	5. 0	窓口受付, 電話交換及び図書の整理業務
嘱 託	脇元仁正	6. 10	暖房施設の操作, 保全及び動物飼育管理業務
病理部長	(次長兼務)		
研 究 員	渡辺護	9. 2	衛生動物の検査, 調査研究及び防除対策の調査研究業務
"	本田幸子	7. 6	先天性代謝異常マスキリーニングの調査研究業務
"	林美貴子	7. 5	染色体異常の検査, 試験研究業務
"	村瀬均	4. 10	各種疾病の病因検索, 予防診断の試験研究及び電子顕微鏡に関する業務
ウイルス部長	森田修行	2. 9	ウイルス部の総括並びにウイルスその他病原微生物の調査研究, 指導業務
防疫技師	香取幸治	17. 0	ウイルス疾患の原因究明, 予防の調査研究及びウイルス学的検査法の開発研究業務
"	石倉康宏	14. 0	微生物感染症の免疫学的調査研究業務
研 究 員	松浦久美子	13. 0	ウイルスの疫学, ウイルス病予防の調査研究業務
"	西永慧次	1. 2	ウイルス疾患の原因究明, 予防の調査研究及びウイルス学的検査法の開発研究業務
"	中山喬	7. 11	微生物感染症の免疫学的調査研究及び細胞培養による生物学的調査研究業務

職 名	氏 名	当 所 勤 務 年 数	主 なる 担 当 事 務
研 究 員	長谷川 澄 代	6年 4月	ウイルスの疫学，ウイルス病予防の調査研究業務
"	庄 司 俊 雄	0. 7	ウイルスその他病原微生物の調査研究及び細胞培養による生物学的調査研究業務
細 菌 部 長	児 玉 博 英	11. 0	細菌部の総括並びに免疫，血清学的研究業務
副主幹研究員	山 崎 茂 一	18. 0	細菌に起因する食中毒の原因究明，予防の調査研究業務
主任研究員	田 口 由 清	8. 0	細菌に起因する感染症の原因究明，予防の調査研究及び医薬品の無菌試験等の業務
"	刑 部 陽 宅	15. 0	細菌に起因する感染症の原因究明及び細菌毒素の研究業務
"	井 山 洋 子	6. 11	食品の細菌学的検査，研究及び河川，ダム，湖沼等の有機汚染に関する調査研究業務
研 究 員	荒 井 優 実	12. 0	水の細菌学的検査，研究及び貯木場等の水質汚濁調査，胎生メダカの生理学的研究業務
"	久 保 義 博	8. 5	細菌に起因する感染症の原因究明及び梅毒蛍光抗体検査業務
化 学 部 長	小 林 寛	3. 0	化学部の総括並びに食品，環境中の有害物質の調査研究業務
副主幹研究員	坂 井 敏 郎	5. 0	化学物質による食品汚染，食中毒の調査研究業務
主任研究員	水 上 英 一	2. 0	食品中の添加物の挙動，食品成分の変化に関する調査研究業務
"	松 永 明 信	3. 11	上下水道その他環境の理化学検査及び生活環境の調査研究業務
研 究 員	大 浦 徹	7. 11	温泉の成分分析，調査研究及び食品，環境汚染の調査研究業務
"	斉 藤 行 雄	0	食品添加物，器具等の理化学検査及び食品中の残留農薬等の調査研究業務
環境保健部長	(所長事務取扱)		環境保健部の総括並びに公衆衛生学上の疫学的調査研究業務
副主幹研究員	城 石 和 子	17. 10	環境変化に基づく生体影響の生化学的調査研究及び産業衛生上の疾病の生化学的研究業務
主任研究員	西 野 治 身	13. 0	環境汚染に伴う地域住民の健康調査及び各種疾患の診断，治療，経過判定に必要な生化学的調査研究業務
研 究 員	岩 田 隆	4. 11	生体中の重金属の検査，研究業務
"	新 村 哲 夫	5. 11	生体中の有機性特異物質の検査，研究業務
"	中 田 仁 三	0	生化学的検査，研究業務
"	高 田 朋 子	0. 8	健康調査に関する臨床化学検査，研究業務

5. 業 務 概 要

庶 務 課

昭 和 5 2 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	17,718	3,913	13,805	
試験研究費	4,636		4,636	ガンの免疫学的研究費 474千円 ウイルスウォッチプログラム研究費 988 " 有害物質の生体の免疫学的能力に及ぼす影響研究費 289 " 溶連菌の生態に関する研究費 491 " ウェルシュ菌のエンテロトキシンに関する研究費 356 " サルモネラの環境汚染調査費 343 " 水質汚濁の生態系に及ぼす影響調査費 305 " 腸炎ビブリオ食中毒予防に関する研究費 310 " PCBその他の環境汚染物質に関する研究費 1,085 "
設備充実費	3,480		3,480	
新規設備充実費	3,800		3,800	
衛生昆虫調査費	707		707	
残留農薬調査費	428		428	
環境汚染物質に関する生体影響調査研究費	4,772		4,772	
開発研究費	1,141		1,141	抗ウイルス性物質に関する研究費 226千円 食品及び添加物から生成される物質に関する研究費 915 "
地研東海北陸ブロック細菌部会開催費	103		103	
(自 計 衛生研究所費)	36,785	3,913	32,872	

昭和 52 年度 歳入 決算

款	項	目	節	予算額	決算額	増減額	備 考
使用料及び 手数料	手 数 料	衛生手数料		円 3,913,000	円 5,106,764	円 1,193,764	
				3,913,000	5,106,764	1,193,764	
				3,913,000	5,106,764	1,193,764	
			衛生研究所	3,913,000	5,106,764	1,193,764	収入証紙 3,944,439円 納入通知書 1,162,325円
計				3,913,000	5,106,764	1,193,764	

昭和 52 年度 歳出 決算

款	項	目	節	予算額	決算額	残 額 (不用額)
総務費	総務管理費	人事管理費		円 2,855,960	円 2,855,960	円 0
				2,111,200	2,111,200	0
				752,200	752,200	0
			賃 金	632,400	632,400	0
			旅 費	119,800	119,800	0
			財 産 管 理 費	1,359,000	1,359,000	0
			需 用 費	1,359,000	1,359,000	0
			企 画 費	744,760	744,760	0
			計 画 調 査 費	744,760	744,760	0
			賃 金	189,760	189,760	0
			旅 費	90,000	90,000	0
			需 用 費	450,000	450,000	0
			役 務 費	15,000	15,000	0
			民生費	児 童 福 祉 費	児童福祉対策費	
	3,170,600	3,170,600				0
	3,170,600	3,170,600				0
賃 金	596,000	596,000				0
旅 費	335,600	335,600				0
需 用 費	1,203,000	1,203,000				0
役 務 費	36,000	36,000				0
備品購入費	1,000,000	1,000,000				0
衛生費	4,524,100	4,485,986				381,614
公衆衛生費	4,437,000	4,398,886				381,614

款	項	目	節	予 算 額	決 算 額	残 額 (不用額)
				円	円	円
		予 防 費		1259000	1259000	0
			賃 金	30000	30000	0
			旅 費	203000	203000	0
			需 用 費	1122000	1122000	0
			役 務 費	4000	4000	0
		母子保健費		50000	50000	0
			備品購入費	50000	50000	0
		環境保健対策費		6176000	6176000	0
			賃 金	523000	523000	0
			旅 費	120000	120000	0
			需 用 費	4873000	4873000	0
			諸 費	10000	10000	0
			役 務 費	2000	2000	0
			備品購入費	648000	648000	0
		衛生研究所費		36785000	36403386	381614
			賃 金	3274000	3274000	0
			報 償 費	213000	118190	94810
			旅 費	2398000	2398000	0
			需 用 費	20591000	20591000	0
			諸 費	197000	197000	0
			役 務 費	1,180,000	896,000	284,000
			委 託 料	1,130,000	1,128,000	2,000
			使用料及び賃料	432,000	431,996	4
			備品購入費	7280000	7280000	0
			負担金補助金 及び交付金	90,000	89,200	800
	環境衛生費			679000	679000	0
		食品衛生指導費		679000	679000	0
			旅 費	18000	18000	0
			需 用 費	660000	660000	0
			役 務 費	1000	1000	0
	公害防止費			192000	192000	0
		公害防止調査費		192000	192000	0
			需 用 費	192000	192000	0
土木費				207800	207800	0
	河川海岸費			114800	114800	0
		河川総務費		114800	114800	0
			賃 金	44800	44800	0
			需 用 費	70000	70000	0

款	項	目	節	予 算 額	決 算 額	残 額 (不用額)
	港 湾 費			円 93,000	円 93,000	円 0
		港 湾 管 理 費		93,000	93,000	0
			旅 費	18,000	18,000	0
			需 用 費	75,000	75,000	0
計				51,475,360	51,093,746	381,614

病 理 部

〔先天性代謝異常検査〕

フェニールケトン尿症等先天性代謝異常の早期発見治療を目的として先天性代謝異常マスキリーニングを昭和52年10月から主として希望者を中心に行なった。当初希望者1,500件(月平均300件)の見込みが、結果的には2倍余の3,449件(月平均575件)に達した。検査結果については陽性はなかったが、疑陽性は31件、採血不良による再採血要求件数が181件であった。

〔染色体異常検査〕

染色体検査については、昭和48年から実施しすでに159件についておこなった。最近染色体異常への理解が高まってきており、特に患児と共に、両親が受診する傾向が多くみられる。

今年度において検査した件数は52件で、そのうち15.4%の8件が陽性であった。陽性の主なものはダウン症候群であった。

〔衛生昆虫調査研究〕

蚊：今年度から衛生昆虫部門がウイルス部から移管されたが、従来行なってきた日本脳炎流行予測調査のための媒介蚊発生消長調査を継続して行なった。コガタイエカ数は前年度よりさらに低下し、豚での流行すら認められなくなった。また、9年間の発生消長調査から、同様に水田を発生源とするシナハマダラカ群はコガタイエカよりも山麓依存性で、平野部での出現が遅れることなどを明らかにした。さらに県下のビル街地下槽にも発生が認められるチカイエカは日本各地の系統間でエステラーゼ・アインザイムパターンにほとんど違いが認められず、下水溝などから発生するアカイエカでは系統間の違いが顕著であった。

ハエ：立山山岳観光地で多発生しているクロバエ類の垂直分布の季節変動を調査した。オオクロバエ、ミヤマクロバエ、ケバクロバエの3種でクロバエ類全体の9割を占め、高山帯では夏の1山型、低山帯では春秋の2山型の消長を示した。また、富山新港のクロシヨウジヨウバエは水面貯木場で初夏に、路面貯木場では盛夏に多発生しており、丸木の湿り具合が影響していた。

ブユ：低毒性殺虫剤のアベイト、スミチオン水和剤を用いてブユ幼虫駆除試験を行ない、アベイトでは1分間流水量あたり0.1ppm10分間連続投与で1Km下流まで駆除できた。また、国際協力事業団の要請により渡辺護がグアテマラでオンコセルカ症媒介ブユの調査に100日間従事した。

クサギカメムシ：悪臭のため宇奈月温泉などで問題となっているクサギカメムシの生態調査と飼育実験を行なった。

食品異物検査など：食品異物検査などとしてガ類、甲虫類各8件、ハエ類、ヤスデ類、ユスリカ類、シロアリ、マダニ類各2件、アリ、コナダニ、アニサキス各1件、その他26件の検査(同定)と対策指導を行なった。

〔カドミウム汚染米による動物実験〕

カドミウム汚染米の慢性毒性を調べる目的で、環境保健部と共同で、マウスを用いて、まず、非カドミウム汚染米を飼料にした場合、病態生化学的变化、病理組織学的变化が認められないことを確認した。

ウ イ ル ス 部

〔行政および一般検査〕

インフルエンザ流行予測調査：202検体について感染源調査をおこない、2月中旬まで22株のA香港型ウイルスを分離し、その後はソ連型を27株分離した。53年1月17日以後38施設に集団発生がおこり、19,131人のインフルエンザ様患者がでた。

ポリオ流行予測調査：感染源調査で71検体より上市町でポリオ1株、未同定2株を分離し、細入村でCox・B2を7株、Cox・B3を4株分離した。このことから、細入村でコクサッキーウイルスの流行のあったことが推測された。

風疹流行予測調査：5地区の235名について実施した。抗体保有陰性率は14才以下で36.8～42.9%で、昨年度より7～8%低下した。15～19才で高い値を示したが、20才以上では昨年度と変化なかった。患者発生は52年1月～12月の間に3,937人で、10月以降発生がなく、流行は翌年終息した。

日本脳炎流行予測調査：蚊の捕集は昨年比し2ヶ所で増加したが、他は減少した。豚血清中の日脳HI抗体保有は240検体とも陰性であった。日脳ワクチン接種後の追跡調査は3回目になるが、

昨年から今年にかけて抗体保有率、抗体価において著るしい変化をみなかった。

〔試験研究〕

小児嘔吐下痢症のウイルス学的診断法の一部を前年度年報に報告したが、下痢症小児の便などについてウイルス学的、細菌学的検索を試みた。61検体の便から21件の agents を検出したが、その他に便中に含まれるIgAの問題がクローズアップされ、今後検討を要する。

担がん動物における免疫機能低下の機構解明の一方法として、担がん初期マウスにおける細菌感染抵抗性抑制因子の存在に焦点を合わせ究明している。

今回は上記抑制因子を含むがん性腹水をゲル分画し、低分子分画に活性をみい出した。他方、エルシニア菌の抗腫瘍活性について検討した。

その他では、厚生省特別研究費によるバラインフルエンザH I抗体価の調査を実施した。風疹流行予測調査で採取された血清を利用して、1、2、3型に対する抗体価を測定したところ、4～6才頃から1、2型に対する抗体を保有するようになるが、3型に対する抗体保有は乳児を含め、全年令層にみられた。先天性異常児発生の調査と監視計画が今年より開始された。調査内容としては、妊婦一般健康診査受診票にもとづく調査、調査票〔I〕によって妊婦ならびに新生児を詳細に調査し、血液を採取して風疹およびトキソプラズマの抗体価などを測定して、異常児発生の因子を詳しく解析する調査の2項目について始めた。来年度は流死産児調査、異常児調査が加えられるとともに、中間集計をおこなう予定である。

たん白合成機構の分子生物学的研究の一つとして、エールリッヒ腹水がん細胞を用い、たん白合成の場におけるリボソームRNAの構造的変化について電気泳動による解析をおこなった。これはウイルス感染による宿主細胞の機能変化を解明するための基礎研究である。

〔一般依頼検査〕

風疹H I抗体価測定が本年度も続き、その他各種ウイルス抗体の測定をおこなった。

細 菌 部

〔コレラ流行への対応〕

52年6月から7月にかけての総計101名に及ぶ和歌山県有田市のコレラ流行の余波を受けて、富山県内でも6月から11月の期間、行政依頼又は個人の申出により、東南アジア方面への旅行者およびその家族のコレラ菌検査の要請が相次いだ。幸いにして、腸炎ビブリオ菌保菌者が3名見出されたのみで、コレラについては全員陰性であった。その他の細菌性伝染病に関しても、52年度は極めて少数の赤痢、腸チフス、パラチフスが散発的に発生したのみで、おおむね平穏無事であった。

しかしながら、有田市のコレラ流行の様相を見ると、規模は違いますが51年4月から5月にかけての県下福光町におけるパラチフスAの流行と、その環境要因において極めて共通な点が多いことに気付く。福光町で感染源の一つと目されたパラチフスAの健康保菌者が、仮りにコレラ菌保菌者であれば当時の環境要因から、コレラの流行が起ったであろうと推測される。このことは、保菌者が一旦侵入すれば、県内にはコレラの流行が起り得る環境要因を持つ地域が未だ多くあることを意味する。一方では、コレラ菌が国外から一次的又は二次的に持込まれる可能性は今後更に増大することが予想されるので、平常時から、かなり大がかりな保菌者検索にも対処し得る態勢をとるべきであらう。そのため、53年1月には、県の防疫担当者と共に部長が有田市を訪ね、現地を見、担当者から詳細に経験をきいた上で部内で討論し、大規模な検査態勢の確立に意を払った。その概要は、2月に行なわれた県・市町村合同のコレラ防疫研修会で紹介した。もとより、限られた人員、施設であり、万全とはいえないが、少くとも住民を不安に陥れるような流行のひろがりやを阻止出来ると確信している。伝染病の防疫も警察・消防と同様初動態勢が鍵である。その初動態勢をあやまらせないように、検査陣は適切な対応をしたいものである。有田市の流行をもって他山の石とすべきであらう。

〔流行予測調査〕

百日咳、ジフテリア流行予測調査は50年度からの継続事業であり、8年目に当る。対象者は年度毎に異なるが、結果は3年間を通じて類似の傾向を示し、百日咳については、時にワクチンによらない、感染によると思われる抗体が見出されているが、ジフテリアに関しては、ほぼ全例がワクチン接種による抗体であり、そのレベルも充分感染を防御し得るものであった。しょう紅熱流行予測では、今年度初めて咽頭以外に、手のふきとり、学習機のふきとりから溶連菌の分離を試みたが、或る時期に限って、特定菌型のみが咽頭以外からも分離されるという興味ある成績が得られた。

〔調査研究〕

継続の研究としては、溶連菌とウェルシュ菌に関するものがある。溶連菌については、特に起病性の強いA群12型菌の性状が詳細に調べられ、同じ12型菌の中にも、ヒトに対する病原性の疑わしいパターンのもものが、健康保菌者由来株中にはかなり認められることが指摘された。ウェルシュ菌については、実際の食中毒の際の下痢原性を、菌側、宿主側の両面から追及する目的で、in vitroでのenterotoxin産生性の異なる様々の菌株を用い、家兎結紮腸管内での液貯留というモデルで解析が行われた。菌側の要因としては、in vitroでのenterotoxin強産生性、腸管内での菌の増殖と芽胞形成が、宿主側の要因としては、菌の増殖に好適な腸管内環境—栄養分、pH等—を提供することが、発症への必要条件とみなされた。なお、enterotoxinのVerocell毒性の機作についても若干検討し、腸管内でもenterotoxinの作用は比較的速やかに発現され

るであろうと推定した。

新規事業としては、環境衛生課、福野・黒部両保健所と協同で、鶏肉のサルモネラ汚染防止を最終目的として、食鳥処理場4施設における、解体肉、器具等のサルモネラ汚染調査を行なった。汚染率は総体的には高くなかったが、大規模施設にかたよって汚染が見られたこと、検出菌型のうち、従来から悪名高いネズミチフス菌などと共に、国外由来と思われるS. londonが高頻度に見られたことは、輸入飼料への依存度が更に増すこと、処理施設の規模が今後益々大型化されること、が予想されることから、極めて注目すべきデータである。S. londonは同時期のヒト由来株中にも見出されており、病原性も疑う余地がないことから、今後警戒を要する菌型である。

陸水生物の分野では、本年度は淡水生物研究所、県立技術短大との協同で、北海道泥炭地帯の腐植栄養湖の生物相調査を行ない、いくつかの湖沼について従来未知であった湖沼標式が示された。12月には、この分野の専門家である井山主任研究員が、「熱帯湖における富栄養化の研究」の調査団の一員として、8日間スマトラに派遣された。観光ツアーにおける食物の安全性についての資料は、その機会を利用して、東南アジア方面への航空機の機内食、ホテル、レストランの食事の大腸菌汚染を、スタンプ法で検査したものである。

富山新港貯木場の水質調査は、県港湾課の依頼により49年度来行なっているもの、堂田清水川水系の環境調査は、県住宅供給公社の依頼により今年度初めて行なったもので、共に公共事業にもなり環境アセスメントの一つのひな型である。後者は、団地造成にもなり周辺水系への影響ということであるが、本年度は、いわばベースラインを知ったというところで、本格的にやるとなると、かなり長期にわたり綿密にやらなければならないであろう。こゝでも又、人と時間の問題がネックである。
〔その他の試験検査〕

伝染病関係の行政検査は、前年度のバラチフスA検査にかわって、件数は少ないがコレラ検査が主体であった。一般依頼検査の大幅な増加は、過去に集団赤痢の発生した社会福祉法人セーナー苑からの定期検便の依頼による。血清検査の増加分は、「先天異常児発生の調査と監視計画」の一環として行なっている、妊婦血清のトキソプラズマHA検査の増加による。食品検査も又、行政検査、依頼検査をあわせて、前年比160.5%と大幅な件数の増加であった。

化 学 部

〔調査研究〕

食品の汚染物質のうち、野菜、果物などの残留農薬については、昭和47年度以来毎年調査を実施しているが、最近では県内産の野菜、果物、牛乳などはすべて基準以下であって、むしろ規制対象外

とされている、食肉や鶏卵などの農薬残留状況を把握する必要があるようになったので、昨年度に行なった県内産の食肉（牛、豚、鶏）及び鶏卵、鶏用飼料の調査に引き続き、今年度は主として輸入肉と昨年度の調査で残留値の高かった鶏肉、鶏卵ならびに鶏用飼料などについての調査を実施した。今回の調査では、輸入肉の一部に残留値の高いものがみられたほか、昨年と同様に鶏肉や鶏卵などの、農薬による汚染の水準が数年前とくらべても殆ど変化がないことが確認された。母乳中の残留農薬に関する調査も昭和46年以来継続して行なっており、今年度も保健所の協力を得て、都市住宅地区、漁村地区、農村地区在住の産婦20名を対象に調査を実施した。また、PCBに関しては、魚介類32検体のほか上記の母乳20検体について調査を行なった。母乳中の残留農薬及びPCBは、共に昨年度の調査結果と比較して僅かに減少の傾向がみられた。

食品添加物に関する研究では、食品添加物のうちニトロソアミンの生成に関するものとして問題視されている、亜硝酸ナトリウムを取り上げてみた。亜硝酸ナトリウムを含むチアミンの溶液を加熱することにより、チアミンは分解し4-メチル-5（ベータヒドロオキシエチル）チアゾールとイオウのほか、チオクローム（推定）を生成することがわかった。また、昨年度の研究で蛍光分析法を確立した、酸化油中のマロンアルデヒドとの関連で、尿素とマロンアルデヒドとの反応生成物について検討し、これまで長い間結論が得られていなかった、化学構造を明らかにすることが出来た。そのほか、食品の成分に関する研究では、魚肉や畜肉中に含まれる、コレステロールを高温で加熱した場合熱分解によりナフタレン、3,4-ベンゾピレンなどの多環芳香族炭化水素を生成することを、検出器として蛍光分光光度計を接続した高速液体クロマトグラフによって確認することが出来た。

〔行政検査および依頼試験〕

県内で水揚げされたサバ、カツオ、フクラギなどの魚類28検体について、総水銀の定量を実施した。全体として0.02～0.16ppmの範囲にあり、0.4ppmの暫定規制値をこえるものはなかった。また、いわゆる家庭用品規制法に基づき、寝衣、外衣、下着、おむつカバーなどの繊維製品中のホルムアルデヒドや、エアゾール製品中の塩化ビニールガスのほか、靴下、接着剤、靴クリーム中の有機水銀の検査を行なったが、いずれも基準に適合していた。

昭和52年の年末になって、自然毒による食中毒事件が発生した。検体からアトロピン、スコポラミンなどのアルカロイドが検出され、また実物鑑定などの結果から、チヨウセンアサガオの根をゴボウと間違えて食べたために、中毒を起したものであることが判明した。チヨウセンアサガオによる食中毒の発生は、県下では初めてのことでないかと思われる。患者の裏庭から採取したチヨウセンアサガオの根について、含有アルカロイドの総量を調べたほか、ガスクロマトグラフィーによってアルカロイドを分析するための条件を検討し、食中毒の原因となった主要アルカロイドの含量組成についても知ることが出来た。

環境の関係では、51年度に引続き県環境衛生課からの依頼により、水資源の有効利用を図る為の基礎資料を得る目的で、常願寺川水系の常東用水及び久婦須川の水質調査を、年間を通じて毎月2回実施した。そのほか、昨年行なわれた下水道法の改正に伴い、富山市の下水道条例も改められたため当研究所からの排水中の重金属含有量などについても厳重に規制されることとなった。昭和58年5月からの適用を前にして、11月以降2ヶ所の排水について、流量の測定とカドミウム、シアンの定量を含む20項目の検査を実施中である。

一般県民からの依頼試験では、食品中の合成保存料の定量、合成樹脂製および金属製の食器や容器の規格試験、クロレラ原末中のプロピレンオキシド、プロピレンクロロヒドリンの試験等があり、水道水の精密試験の件数が相変わらず多かった。温泉については、分析後10年以上経過したものの方の再分析と、新たに掘さくされた泉源の分析で計25件の依頼試験を消化した。

環 境 保 健 部

〔イタイイタイ病に関する調査研究〕

カドミウム汚染地域住民の健康調査方式が改正されて2年目にあたり、昨年度に引き続き新方式における検査法の検討を行なった。

その1つは、尿中総アミノ酸のスクリーニングレベルの検討である。スクリーニングの基準値はカドミウム汚染がない場合でも、しばしばみられる数値であり疑問がもたれた。そこで、正常値について検討を行ない、一応の目安を得た。今後、この値をもとにイタイイタイ病発生地帯住民のアミノ酸尿について調査を行なう予定である。

カドミウムの測定法については、これまでに血液の簡易測定法について検討を行なってきた。本年度は尿中のカドミウムについて検討を行ない汚染地域のスクリーニング検査として充分利用し得る方法を開発した。現在この方法を用いてイタイイタイ病地域住民の尿を測定中である。

尿中カドミウムは汚染の生体指標としてこれまで重視されてきたが、血中カドミウムについても最近注目されつつある。そこで患者、要観察者、地域住民の血中カドミウムの測定を行ないその実態を把握した。これらの血中カドミウムの意義については、さらに検討したい。

カドミウムによる生体影響について経年変化を追跡し、イタイイタイ病患者や要観察者の経過判定に役立てるため、保存尿による検査から過去の状態について推定し得るか否か検討した。健康調査項目の中でも重要な β_2 ミクログロブリンは、数年間保存したものでもその変化が少なく充分利用し得るものであると考えられる。

環境庁の委託研究(イタイイタイ病に関する総合研究)として、昨年度は患者について行ない、ほ

ば全例についての検査が完了した。本年度はその結果について、特に尿中各種のアミノ酸排泄パターンについて詳細に検討を行なった結果、スレオニン、セリンの2アミノ酸について、非汚染者とは異なる特異な傾向を見出した。また、本年度は新たに要観察者の調査を実施した。未だ16名のみであり一部については現在なお分析中である。その他の要観察者については53年度において、さらに続ける予定である。

カドミウム汚染の生体影響に関する研究として汚染米を用いた動物実験(予備実験)を行なった。本研究は当研究所におけるプロジェクト研究班において実施したものである。その結果、米を含む飼料ではカドミウムに関係なくカルシウム代謝に影響を与える等、若干の変化がみられ飼料作成に充分留意する必要のあることが示唆された。この結果をもとに53年度より本実験を開始する計画である。

[その他の調査研究]

全国地方衛生研究所における特別研究の一環として血中重金属の正常値に関する研究を行なった。未だ例数は少ないが、今後さらに続ける予定である。

[行政および一般検査]

カドミウム汚染地域(神通川流域)の住民健康調査は昨年同様従来の方式に一部新調査方式を加えて行なった。1次検診延1,214名、2次検診164名である。イタイイタイ病要観察者は春(100名)、秋(104名)について年2回実施した。健康調査方式の改正と医学的な見地から、要観察者については数項目の検査が追加された。

黒部地域では昨年度の未検診地域を対象に新調査方式に準じて検診を行なった。1次検診78名、精密検診3名である。

水銀汚染に関する魚多食者の健康調査では、毛髪中水銀濃度の高かった2名につき同様に調査を行ない、目下分析中である。

一般依頼検査は、事業所における健康管理として依頼される血液、糞便等の医化学的検査の他、低分子蛋白、電気泳動等の特殊検査を行なっている。

6. 検 査 年 報

各 種 試 験 ・ 検 査 の 総 括

部 名	区 分	行政検査	一般検査
病 理 部	先天性代謝異常検査	3,449 件	— 件
	染色体検査	42	10
	衛生動物検査	1,404	—
	食品異物検査	—	48
	病理学的検査	758	—
ウイルス部	感染源調査	273	—
	血清学的検査	964	—
	ウイルス抗体価測定	—	2,883
細 菌 部	伝染病関係	371	1,588
	寄生虫関係	—	59
	血清関係	1,081	567
	医 薬 品	—	67
	食 品	427	267
	飲料水・河川水等	140	994
化 学 部	食品・食品添加物・器具等	254	44
	家庭用品	25	—
	飲料水・河川水	204	148
	温 泉	—	25
環境保健部	カドミウム住民健康調査	1,826	—
	毛髪水銀検査	2	—
	蛋白分画	—	1
	医化学的検査	—	14
	し尿検査	—	54
合	計	11,220	6,769

検 査 内 容

病 理 部

〔行政検査〕

1. 染色体検査	
(1) 血液	40
(2) 羊水	1
(3) 流産胎児	1
2. 先天性代謝異常スクリーニング	3,449
3. 衛生動物検査	1,404
4. 病理学的検査	758

〔一般依頼検査〕

1. 染色体検査	
(1) 血液	10
2. 食品異物検査	48

ウ イ ル ス 部

〔行政検査〕

1. 感染源検査	
(1) インフルエンザ	202
(2) ポリオ	71
2. 血清学的検査	
(1) インフルエンザ	452
(2) 日本脳炎 人血清	37
豚血清	240
(3) 風疹	235

〔一般依頼検査〕

(1) 風疹HI抗体価測定	2,681
(2) その他ウイルス抗体価測定	202

細 菌 部

〔行政検査〕

1. 伝染病関係	
(1) 保菌者検索	
コレラ菌	89

〔一般依頼検査〕

1. 伝染病関係	
(1) 保菌者検索	
腸内細菌	1,588

溶連菌	282	2. 寄生虫関係	
2. 血清検査		(1) 虫卵検査	59
(1) 百日咳凝集抗体測定	253	3. 血清検査	
(2) ジフテリア中和抗体測定	257	(1) 梅毒蛍光抗体検査	4
(3) 梅毒蛍光抗体測定	84	(2) トキソプラズマH A検査	563
(4) トキソプラズマH A検査	487	4. 医薬品関係	
3. 食品関係		(1) 無菌検査	28
(1) 収去検査	50	(2) 抗菌試験	32
(2) サルモネラ検査	377	(3) その他特殊検査	7
4. 飲料水・河川水等		5. 食品関係	
(1) 飲料水	2	(1) 食品	251
(2) 河川水等	138	(2) 容器包装等	9
		(3) 手指汚染度	8
		6. 飲料水・河川水等	
		(1) 飲料水	527
		(2) 河川水等	467

化 学 部

〔行政検査〕

1. 食品関係	() 内項目数
(1) 食品の成分分析及び添加物検査	144(582)
(2) 食品中の重金属等の検査	31(100)
(3) 食品中の残留農薬及びP C B検査	61(622)
(4) 合成樹脂製容器検査	6(34)
(5) その他の検査	12(29)
2. 家庭用品関係	
(1) 有機水銀の検査	5(5)
(2) 塩化ビニールの検査	5(5)
(3) ホルムアルデヒドの検査	15(15)
3. 水質関係	
(1) 河川水検査	197(1,363)
(2) 飲料水検査	3(50)
(3) 排水検査	4(80)

〔一般依頼検査〕

1. 食品関係	
(1) 食品中の添加物検査	6(6)
(2) 合成樹脂製容器包装等の検査	3(9)
(3) 乳及び乳製品の検査	3(9)
(4) 金属製食器の検査	7(35)
(5) その他の検査	25(39)
2. 水質関係	
(1) 河川水の検査	14(504)
(2) 水道水等全項目検査	99(2574)
(3) 水道水等その他の検査	15(102)
(4) 排水などの検査	20(142)
(5) 温泉分析	25(388)

環 境 保 健 部

〔行政検査〕

1. カドミウムに関するもの () 内項目数
- (1) 神通川流域(1病発生地域)住民健康調査
- 1次検診A 尿検査 982(1,964)
- 1次検診B 尿検査 392(872)
- 2次検診尿・血液・腎機能検査 164(2,488)
- (2) 神通川流域要観察者の管理検診
- 年2回実施 尿・血液検査
- 7月 100(2,100)
- 11月 104(2,080)
- (3) 患者認定申請に基づく検査
- 尿・血液検査 3(53)
- (4) 黒部地区住民健康調査 (
- 尿検査 78(390)
- 精密検査 3(24)
2. その他重金属に関するもの
- (1) 魚多食者水銀汚染に関する追跡調査
- 毛髪検査 2(4)

〔一般依頼検査〕

- (1) 医化学的検査 14(98)
- (2) し尿検査 54
- (3) 蛋白分画 1

7. 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
医薬品と害虫	上村 清	県薬事研究会総会	52. 5. 19	県高志会館
衛生害虫の防除	渡辺 護	衛生害虫防除講習会	52. 5. 21	大門町 福祉会館
蚊の分類方法について	上村 清	技術研修会	52. 6. 15	衛研図書室
細菌検査について	児玉 博英	製薬指導講演会	52. 6. 29	富山県民会館
外国から持ち込まれる伝染病	児玉 博英	西田地方小学校 P T A 家庭教育学級	52. 11. 24	西田地方小学校
病原微生物学	児玉 博英	富山大学文理学部 集中講義	52. 12. 15 ~17	富山大学 文理学部

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
インフルエンザに関する抗原構造の推移について	森田 修行	インフルエンザに関する研修会	53. 1. 27	富山保健所
インフルエンザの予防	森田 修行	NHKテレビレポート	53. 2. 7	NHK富山放送局
衛生統計の実際	松浦久美子	衛生統計に関する研修会	53. 2. 8 ～9	富山保健所
消毒方法の実際	児玉 博英	防疫研修会	53. 2. 14	県職員会館
インフルエンザに御注意を	渡辺 正男	みんなの県政	53. 2. 18	富山テレビ
観光行政における衛生動物の問題点	上村 清	ねずみ、衛生害虫駆除研究協議会	53. 2. 23	広島市見真講堂
コレラ菌検索の実際	児玉 博英	衛生検査技術研修会	53. 3. 24	県精神衛生センター

8 . 研 修 指 導

氏 名	所 属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
福島 優子	富山大学教育学部	52. 4. 1 ~ 53. 3. 31	蚊の研究方法の習得	病理部
原井 典子	"	"	"	"
吉沢 裕一	福寿製薬株式会社	52. 6. 27 ~ 7. 30	細菌学実験手技の習得	細菌部
竹下 宏子	富山県立福野高等学校 食品化学科	52. 7. 1 ~ 9. 30	食品添加物の分析法、食品の成分分析法の習得	化学部
坂本りつ子	リードケミカル 株式会社	52. 8. 29 ~ 9. 30	細菌検査の手技の習得	細菌部

9 . 海 外 出 張

職・氏名 研究員 渡 辺 護
派遣国 グアテマラ共和国
派遣機関 厚生省マラリア研究所
派遣期間 昭和52年10月1日～昭和53年1月10日
任務課題 昆虫生態学：中南米技術協力に基づくオンコセルカ症対策に関して，その媒介ブユの吸血→産卵間隔を明らかにすること。また，その手技を現地研究員に指導すること。
委嘱機関 国際協力事業団

職・氏名 主任研究員 井 山 洋 子
出張先 インドネシア
研究課題 熱帯湖における富栄養化の研究
出張期間 昭和52年12月18日～20日
出張依頼機関 (社団法人) 淡水生物研究所

B 調查報告・研究報告・資料

[調査報告]

先天性代謝異常マスキリーニングにおける 成果について

本田幸子, 林美貴子, 村瀬 均, 上村 清,
村井貞子*, 松島幸夫*

目 的

先天性代謝異常症は現在まで600種以上が報告されている。この中には種々の臨床症状を呈するものがあり、特に脳障害を起し、精神薄弱を伴うものが多い。しかしフェニルケトン尿症等の一部の先天性代謝異常は早期に発見、治療を行うことにより、精神薄弱等の心身障害の発生を防止することが可能である。このため富山県では、1977年10月より新生児を対象として、血液によるマスキリーニング検査を実施し、代謝異常の早期発見と治療による障害防止を目的とする本事業を始めた。

検査の対象症および対象者

対象疾患：フェニルケトン尿症、楓糖尿症（メイブルシロップ尿症）、ヒスチジン血症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症

対象者：県内で出生した新生児のうち、この検査を希望するもの。

検 査 方 法

1. Guthrie 法

Guthrie の開発した Bacterial Inhibition Assay (BIA) 法で、枯草菌の発育に必要なアミノ酸に対する代謝阻害剤を含む寒天培地に、血液を浸み込ませたディスクを置いて培養すると、血液中のアミノ酸量に比例して菌が発育する。阻害剤を変えることにより数種のアミノ酸代謝異常症の検出ができる。

1) 材料

① Demain 修正培地

BIA 10 倍濃縮培地（北研）を使用。

② 枯草菌芽胞浮遊液

ATCC 6633（北研）

ATCC 6051（北研）

③ 代謝阻害剤液

表1 参照

表 1 阻 害 剤 と 枯 草 菌 の 使 用 例

検出アミノ酸 (対象疾患)	阻害剤, 濃度, 使用量(*)	枯草菌 (胞子浮遊液)*
フェニルアラニン (フェニルケトン尿症)	β -2-Thienylalanine 5mM 0.12ml (Sigma)	ATCC 6633 (北研) $1 \times 10^8 / ml$ 1.6 ml
メチオニン (ホモシスチン尿症)	L-Methionine-DL -Sulfoximine 0.33 mM 0.15 ml (Sigma)	ATCC 6633 (北研) $1 \times 10^8 / ml$ 1.3 ml
ヒスチジン (ヒスチジン血症)	1, 2, 4-Triazol 3-Alanine 2 mM 0.3 ml (Sigma)	ATCC 6633 (北研) $1 \times 10^8 / ml$ 1.2 ml
ロイシン (楓糖尿症)	4-Aza-Leucin 1.0 mM 0.44 ml (N.B.C.)	ATCC 6051 (北研) $5 \times 10^8 / ml$

*現在使用している量。しかし試薬ロット, メーカー, 温度等の状態により変動する。

④ 寒天

Agar No. 1 (Oxoid)

Bact-Agar (Difco)

⑤ 標準血液濾紙 (スタンダード)

富士儀器製を使用。

⑥ 検体用紙

用紙の厚さ 0.4 mm の特殊用紙 (図 1) (東洋用紙製) に生後 5~7 日目の新生児の足趾より採血した血液を 4 つの円 (直径 1.1 cm) に満たし、自然乾燥したものを使用。


[代謝異常検査用 採血用紙]			
病院名 _____			
母氏名 _____			
児氏名 _____ 男・女			
出生	昭和	年	月 日 低体重 +
採血	昭和	年	月 日
哺乳	昭和	年	月 日 開始
哺乳：	良、不良、極めて不良	検査責任者	
(結果)	陽 疑 正	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
	陽 陽		
	性 性 常		
下の丸印を塗す位に充分に、しかも裏面にしみとおる様に採血して下さい。			
			

図 1

2) 操作

寒天平板培地の作成および培養は表 2 に示すとおりである。

表 2 B I A 法の手技

フラスコ
 寒天 Oxoid No. 1 1.2 g
 Bact Agar 1.8 g
 ↓ D.W. 13.5 ml
 融解 (オートクレーブ 115℃ 3~5)
 ↓
 60℃まで放冷
 B I A 濃縮培地 1.5 ml を加え 全量 15.0 ml
 芽胞浮遊液 (表 1 参)
 ↓ 阻害剤 (表 1 参)
 攪拌

↓

プラスチックのアガトレー (1.7 cm × 2.2 cm)

↓ にあけ水平台で固める。

検体用紙及び標準血液用紙からパンチインディスク機及び一穴パンチで血液ディスク (直径 8 mm) を抜き、寒天台上に置く。

培養 37℃ 17~18 時間

↓

判定

3) 判定

培養後、検体ディスクのまわりの枯草菌の発育円の大きさを、標準ディスクのものと比較する。標準ディスクは表 3 のごとく置いてある。

表 3 標準ディスク

	標準ディスク mg/dl			
フェニールアラニン	2	④	6	8
メチオニン	0.5	1	②	4 8
ヒスチジン	2	4	⑥	8
ロイシン	2	④	6	8

○はカットオフポイントで四隅にも置く。

第一回の検査でカットオフポイント付近、またはそれ以上の大きさになった検体は、ヒスチジン以外の血液用紙を 121℃、オートクレーブして、再チェックを行う。更に以上のものは疑陽性として再採血を要求する。ヒスチジンは加熱すると分解するため、70%エタノールで一晩抽出し、薄層クロマトグラフィでウロカニン酸の有無を検査し、再チェックを行う。

2. Beutler 法

ガラクトース血症のスクリーニング法で、図 2 のような反応系で代謝され、最後に NADPH の蛍光を発するようにする。

もし酵素欠損があれば、NADP から NADPH に変化しないので蛍光を発しない。

Galacto Kinase

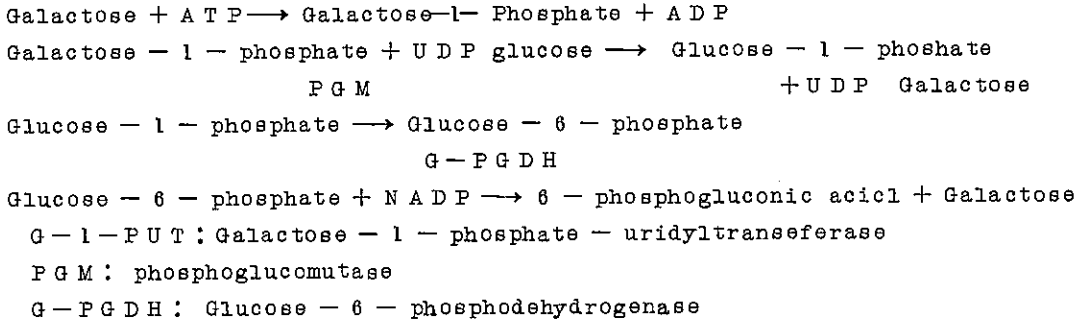


図2 Beutleru 法の反応系の概略

1) 材料

① Beutler 試薬

表4 参照

表4 Beutler 試薬

9.5 mM	UDP グルコース	0.2 ml
270 mM	ガラクトース 1 リン酸	0.45 ml
66 mM	NADP	0.6 ml
0.75 M	トリス酢酸緩衝液	2.0 ml
1.0 %	サポニン	0.8 ml
270 mM	EDTA	0.03 ml
D.W.		1.92 ml
	計	6.0 ml

UDP: Uridine Diphosphate
 NADP: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
 EDTA: Ethylenediamine tetraacetic acid

2) 操作

一穴パンチで直径 3 mm に切り抜いた血液ディスクをディンブルトレイに入れ、Beutler 試薬 0.1 ml を加え、4~5 時間反応させる。反応液をワットマン No. 1 の濾紙にスポットし、乾燥後、紫外線長波長で NADPH の蛍光をみる。コントロールは濾紙のみを切り抜き、同様の操作を行う。

3) 判定

長波長紫外線下で蛍光があれば正常、蛍光の全くないものを陽性とする。

検査結果

52年10月より53年3月までの6ヶ月の検査依頼件数は表5のようであった。そのうち疑陽性は表6のとおりであった。

考察

52年10月より、日本全国でマススクリーニングが実施され、やがてその成績が明確にされるが、本県においては、まだ陽性者の検出はない。疑陽性は36件であるがそのうち34件は再検査の結果、陰性となり2件は観察中である。

採血機関より送られた検体濾紙については最初のうちかなり不十分なものがみられた。まず採血量の足りないもの、裏まで十分通っていないものが一番多く、また反対に二重三重の重ね塗りのため、非常に濃くなっている濾紙も多かった。血液不足の場合、患者を見落とし、濃い時には正常者を陽性と誤判定する原因となるので再採血を要求した。また円の大きさまで血液がないため、パンチインディスク機にかからないものもかなりあった。次に採血日のミスが目立った。一応新生児の5~7日目に採血となっているが4日以内のものもかなりあり、これも再採血を要求した。血中アミノ酸は哺乳が正常な場合は、5日以後増加することが知られているので4日以内のものは不正確となるためである。また哺乳不良の新生児も哺乳量が増加してから再び採血することが必要である。

採血後の乾燥状態はかなり良好であるが、一部乾燥不十分なものもみられた。

表 5 採血機関による市町村別、

	採血 機関数	10月			11月			12月		
		受付 総数	再採血 要求数	未着数	受付 総数	再採血 要求数	未着数	受付 総数	再採血 要求数	未着数
富山市	22	147	29	7	223	15	6	264	11	2
高岡市	7	103	29	2	104	5		88	1	
魚津市	5	8	3		21			19	3	
氷見市	3	9	3		13			12	1	
砺波市	3	43	8		34			30		
黒部市	2	35	3		33	1		43		
滑川市	2	28	1		12	1		10		
新湊市	2	13	2		15			16	2	1
小矢部市	2	12	3		6			15		
上新川郡	1	5	2		1					
中新川郡	2	16	1		18			20	1	
下新川郡	2	2	1		1			1		
婦負郡	2	1	1	1						
射水郡	2	7	3		17	3	1	7		
東砺波郡	5	1	1	1	1	1	1	1		
西砺波郡	1							2		
計	63	430	90	11	499	26	8	523	19	3

生乾きの場合、一部のアミノ酸、酵素等が分解してしまい検査不能となる。

また糖尿病、ガラクトース血症はなるべく早く検査する必要があるので乾燥後すぐに郵送し、検査を行うことが必要である。

判定不能となった原因の一つに抗生物質の使用がある。この場合はディスクのまわりの枯草菌の発育が全くおさえられてしまう。ただし、抗生物質の使用がなくても、同様の現象がみられる例もあり、今後この原因について追求する必要がある。

以上のような原因での再採血要求数、および再採血の検体未着数は表5に示してあるが、慣れるに従い件数は減少している。

来年度からはこの検査希望者も多くなることが予想され、また将来血液汚紙を用いさらに多くの疾患の発見などが可能になると思われる。このマスクリーニングの検査法は先天的な異常を持つ子供が少しでも早く発見され、治療され、障害発生の防止に

役立つものと思われる。

表6 疑陽性の内訳

アミノ酸	件
フェニールアラニン	13
メチオニン	6
ヒスチジン	5
ロイシン	7
計	31

文 献

- 1) 成瀬浩(1974): 産婦人科の世界, 26: 1243
- 2) 北川照男ら(昭52): 先天代謝異常の早期発見と治療, 日本母性保護医協会

月別の依頼状況

1月			2月			3月			計		
受付 総数	再採血 要求数	未着数	受付 総数	再採血 要求数	未着数	受付 総数	再採血 要求数	未着数	受付 総数	再採血 要求数	未着数
321	7	3	320	2	2	356	3	1	1631	67	21
113			113	3	1	132	8	2	648	46	5
25	1	1	26	1		34	1		133	9	1
23	2		17			18			92	6	
28			39	1		33	1		207	10	
54	3		38			48	4	2	251	11	2
17	1	1	14			13			94	3	1
21			21			23			109	4	1
7			9			10	1		59	4	
4			6			7			23	2	
26			8			13			101	2	
1						10	1		15	2	
1						3	1		5	2	1
11			11	1		5			58	7	1
1	1	1	1			6	1	1	11	4	4
1			4	1		5			12	1	
654	15	6	627	9	3	716	21	6	3449	180	37

〔 研究報告 〕

ヒト染色体異常に関する調査研究

林美貴子, 本田幸子, 渡辺正男

目 的

本検査は1973年から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ために行っているもので、染色体事業事施要領に従い、染色体異常の有無を検査し、適正な指導を行うことを目的としている。

実施方法

検体採取機関名および件数は表1に示す通りである。

表1 検体区分 (1977年度)

病 院	血液(件)	羊水(件)	流産胎児(件)
県立中央病院	34	1	1
富山市民病院	8		
富山医科薬科大学	4		
高志学園	2		
国立金沢病院	2		

組織培養、染色体標本作製法および染色法は既報1)の通りである。

結果と考察

1977年度の全検査数は末梢血液50件と羊水、流産胎児各1件の計52件であり、そのうち8件に染色体異常がみられた。検査受付時の主訴、件数と染色体異常の有無について表2に示した。

末梢血液のうち、主なものでは先天異常児の両親13件、ダウン症候群の疑い7件、特異な顔貌4件、ターナー症候群の疑い、多発性奇型が各3件、その他20件となっている。

その他、羊水は8ヶ月目で急性羊水過多症1件、流産胎児は3ヶ月目のもの1件であった。

表2 染色体検査内容

主 訴	染色体異常不能 計(件) 備考	
	有(件)	無(件) (件)*
(1)末梢血		
先天異常児の両親		13 13
ダウン症の疑い	4	3 7
特異な顔貌		4 4
ターナー症の疑い	1	2 3
多発性奇型		3 3
手足奇形		2 2
発育遅延		2 2
原発性無月経		2 2
習慣性流産		2 2 (夫1)
半陰陽		1 1 2
睪丸性女性化症候群	1	
その他	1	7 1 9
(2)羊水		1 1
(3)流産胎	1	
計(件)	8	42 2 52

* 細菌汚染および分裂像の得られないもの。

染色体異常例の内訳、核型、件数とその主要症状(自験例のみ)について表3に示した。ダウン症候群(47, XY or XX, G+)が4例、クラインフェルター症候群(47, XXY)が1例、ターナー症候群(45, XO)が1例、睪丸性女性化症候群(46, XY)が1例、そして流産胎児にDトリソミー症候群(47, XY, D+)1例の計8例であった。

異常例の中ではダウン症候群が半分をしめており、うち3例は1ヶ月以内に、残る1例も1年以内に診断が確定され、後の指導に役立っているものと思われる。クラインフェルター症候群の1例は原発性肺ガン患者で偶然発見されたものであり、53才で現在普通の結婚生活をしているが子供はいない。

表3 染色体異常者の核型とその主要症状 (1977年度自験例)

	核 型	件	主 要 症 状
ダウン症候群	47, XY, G+	3 1 } 4	眼裂斜上, 鞍鼻, 猿線など,
	47, XX, G+		
クラインフェルター症候群	47, XX Y	1	原発性肺ガン,
ターナー症候群	45, XO	1	低身長, 原発性無月経,
睾丸性女性化症候群	46, XY	1	外見女性, 停留睾丸の疑い,
Dトリソミー症候群	47, XY, D+	1	流産胎児
計		8	

Dトリソミー症候群(D群未同定)の流産胎児は2回目の流産であるが両親に染色体異常はみられなかった。また、検査不能の2件の理由は細菌汚染(採血時の失敗)によるものと治療中(投薬)のために細胞分裂像が得られなかったためである。

今年度の検査の特徴としては主訴、症状は多方面にわたっていたが、検査数と異常例は昨年より減少している。

染色体異常の種類としては従来から知られている型が多く、新しく症候群として確立されているものはみつからなかった。

また、患児とともに両親も検査に応ずる例がふえてきており、県民の理解、関心も深まってきているものと思われる。来年度はさらに分染法を主体として、臨床症状とあわせ、きめこまかく検査を進めていきたいと考える。

文 献

1) 富山県衛生研究所病理部(1977): 富山県衛生研究所年報 昭和51年度: 16-18

〔研究報告〕 コガタイエカとシナハマダラカ群の発生消長の違いについて

上村 清、渡辺 謙

はじめに

県下9畜舎における9年間にわたる蚊の発生消長調査をまとめ、とくに多く捕集されたコガタイエカ *Cx. tritaeniorhynchus* とシナハマダラカ群 *An. sinensis* group (大部分シナハマダラカで一部エセシナハマダラカを含む) の季節消長の比較を行った。その結果、発生源が同じ水田である兩種だが、シナハマダラカ群はコガタイエカに比べて平野部での出現が遅れ、個体数も少ない傾向にあった。これはシナハマダラカ群が茂みに沿って暗い処を好んで移動する山麓部で越冬の種である反面、コガタイエカは川沿いに明るい所を好んで移動し、平野部にも越冬していることに基づくと考えられた。

調査方法

1964年から1972年の5月から10月にかけて、県下各地9ヶ所以上の畜舎(豚舎と牛舎)において、週1回以上蚊の捕集を行った。調査地域は平野部および山麓部の水田地帯に及び、図1に示す

よりの地点で行った。蚊の捕集は、野沢式ライト・トラップ各1台を畜舎中央部の床上約2mに設置し、日没時から日出時までフオトスイッチにより終夜作動させて行った。捕集された蚊は次日回収し、連日捕集の場合は70%アルコール浸として保存後随時同定を行い、週1~2回捕集の場合はクロロホルムで殺して後直ちに同定を行った。

結果と考察

各地点におけるコガタイエカとシナハマダラカ群の季節消長を、最多時捕集数を100として図2に示す。

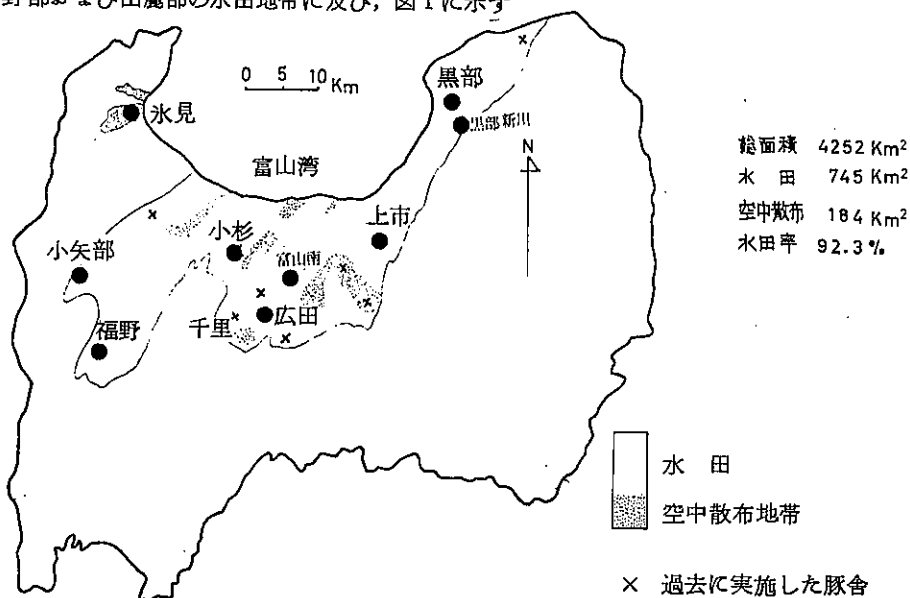


図1 調査地点略図

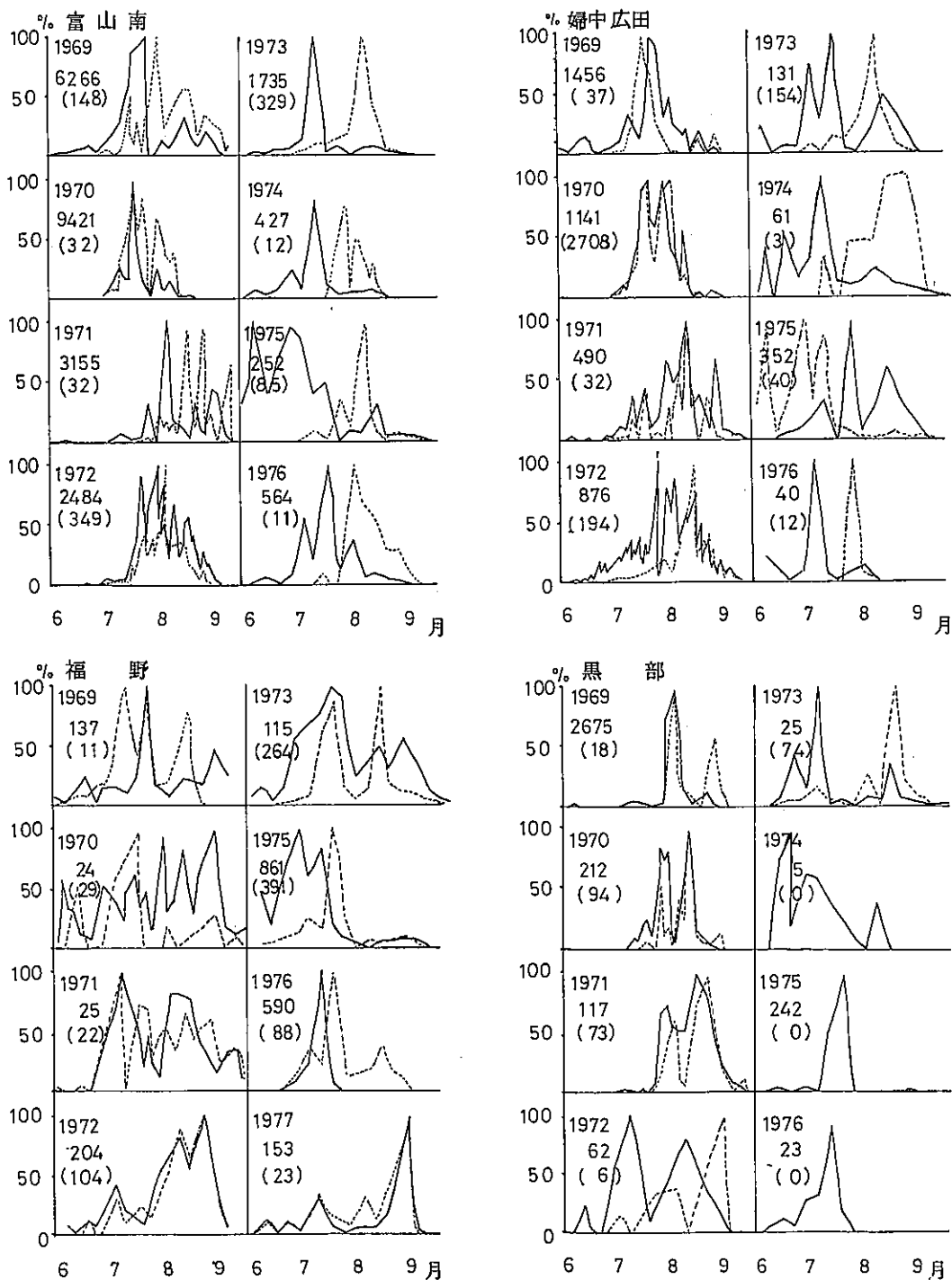


図2-1 富山県下各地畜舎におけるコガタイエカ(実線)とシナハマダラカ群(破線)の季節消長(最高時を100として示す, 数字は上から年度, コガタイエカ最高時捕集数, カッコ内シナハマダラカ最高時捕集数を示す)

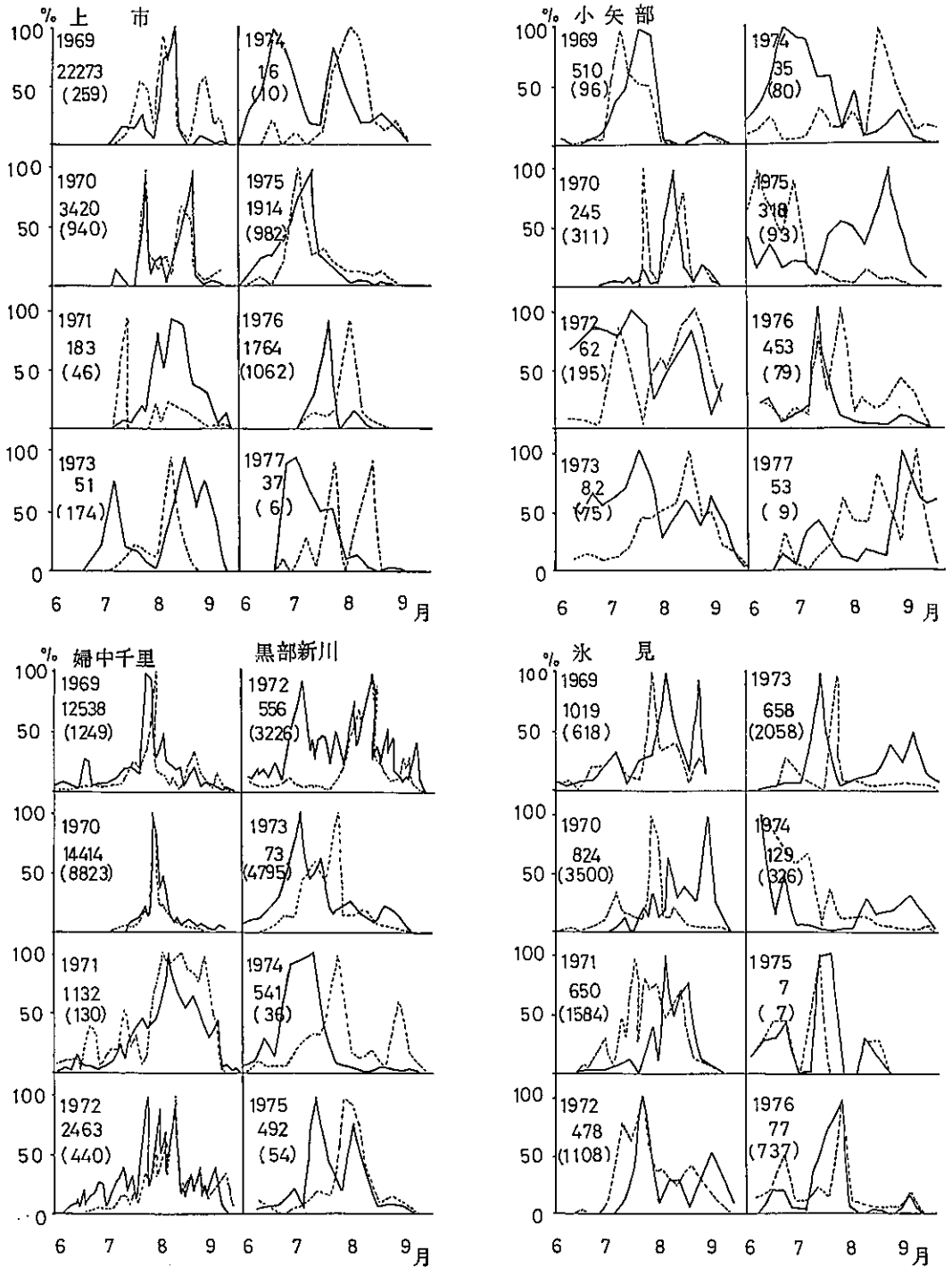


図 2-2 富山県下各地畜舎におけるコガタイエカ (実線) とシナハマダラカ群 (破線) の季節消長 (最高時を 100 として示す, 数字は上から年度, コガタイエカ 最高時捕集数, カッコ内シナハマダラカ最高時捕集数を示す)

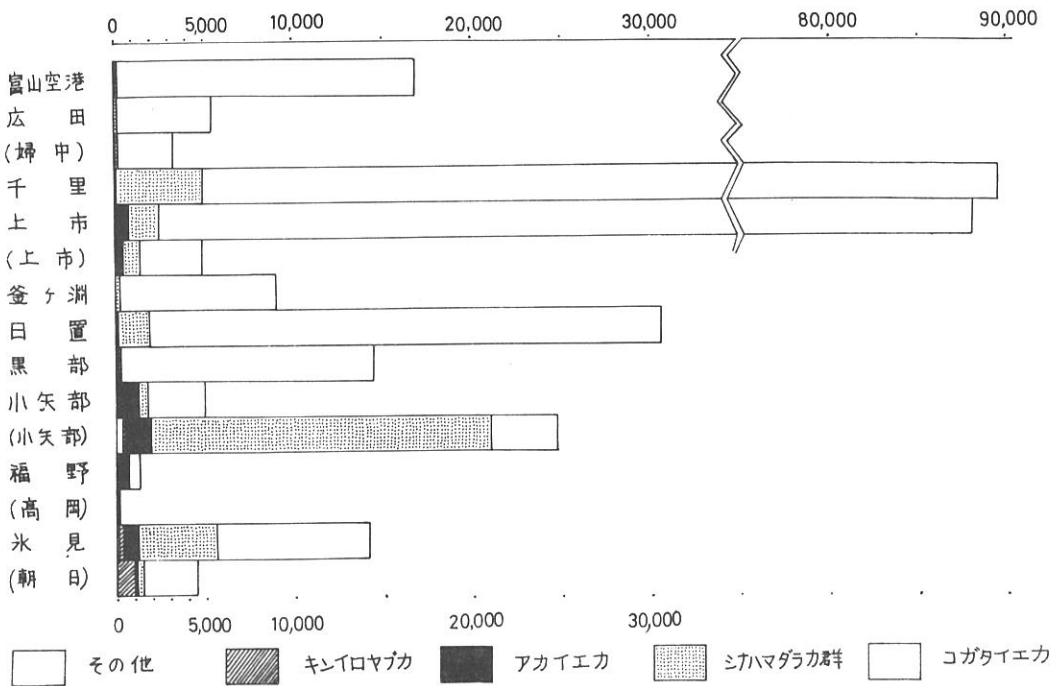


図3 蚊捕集数および蚊相の地域差(1969年, カッコ内は1968年)

コガタイエカ(実線で示す)は5月下旬から10月上旬にかけて, 7月末日ないし8月10日前後をピークに捕集されたが, 捕集数の地域差や年度による違いが目立った(図2, 3)。

この違いがトラップムラに基づくことが懸念されるが, 図5に示すごとく, 200m離れた富山飛行場近くの2牛舎での1972年の消長曲線を比較すると, 日変動は大きい, 増減はある程度平行しており, 類似の消長を示していることがわかる。

このことから, 各地点の捕集差などはそこでの地域性のある程度反映しているものと思われる。コガタイエカは富山南や婦中町千里などの平野部水田地帯の畜舎で結構多くの数が捕集されており, 平野部の方が山麓部よりも出現が遅れることはなかった。

一方, シナハマダラカ群は前半期の捕集数がコガタイエカに比べて少なく, とくに平野部畜舎で顕著であった。シナハマダラカ群の多く捕集された氷見, 黒部新川, 小矢部の畜舎はいずれも山麓部にあり,

稲葉山は山頂部にあって多く, いずれも茂みが付近に多いのが特徴である。これらの地点は個体数が多いため出現初期や後期は図に明らかになされていないが, シナハマダラカ群が平野部よりも早く出現している(図2-2)。また, 山麓部の小矢部市の豚舎(標高25ないし50m)から約5km離れた山頂部の稲葉山牛舎(標高250m)での捕集数の種構成を図6に示すが, これに明らかなように, 発生源に近い山麓部では両種相半ばしているにもかかわらず, 付近に発生源の見当たらない山頂部ではシナハマダラカ群が大半を占め, コガタイエカに比べて著しく多くのものが飛来して来たことがわかる。

富山空港

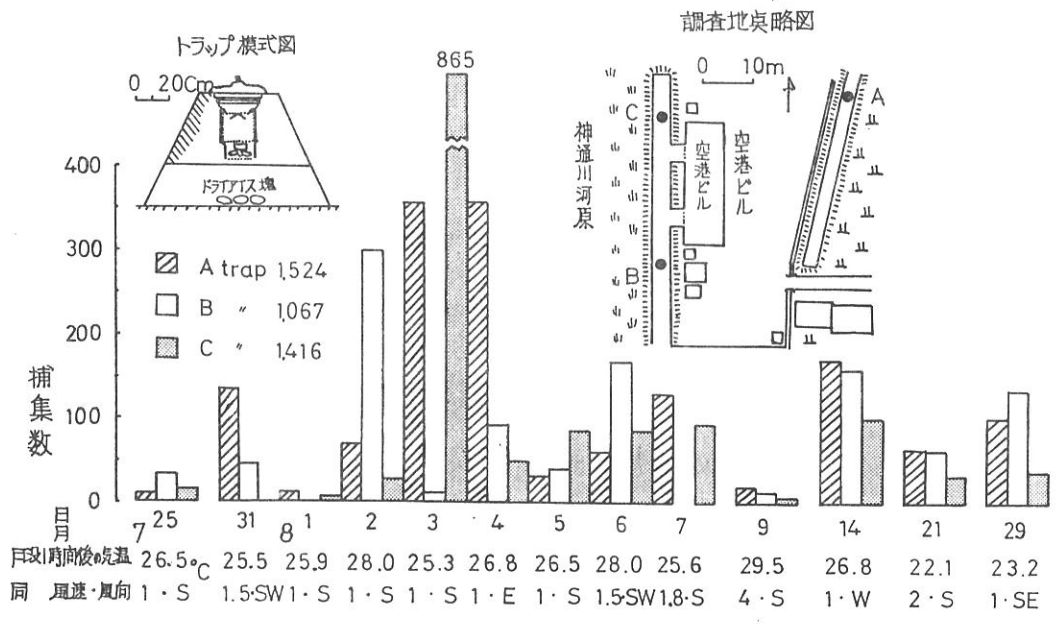
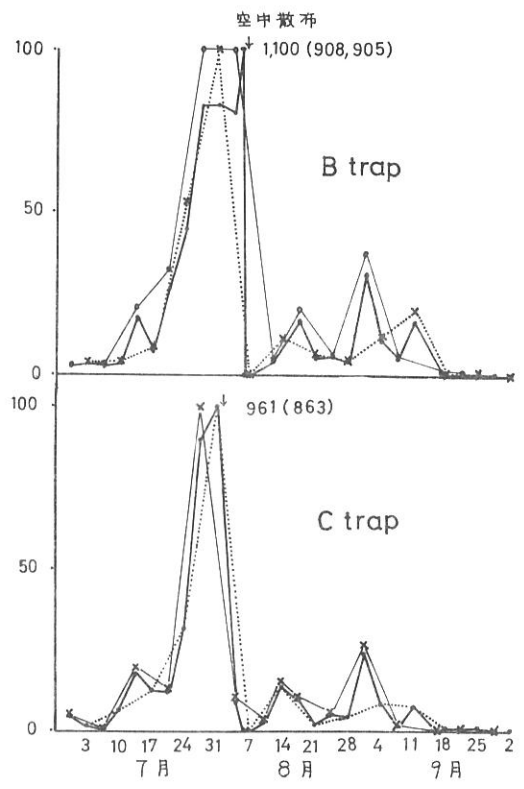
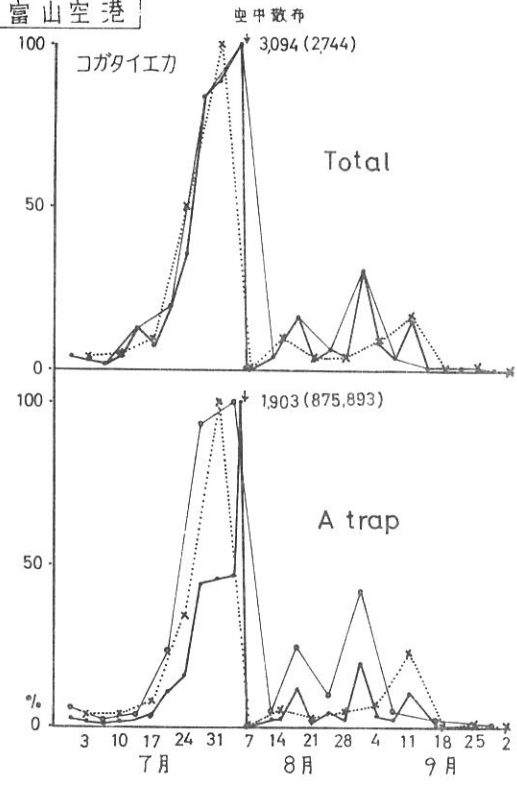


図4 ドライアイス・ライトラップ3台によるコガタイエカ捕集数の違い(上段1969年度, 下段1972年度)

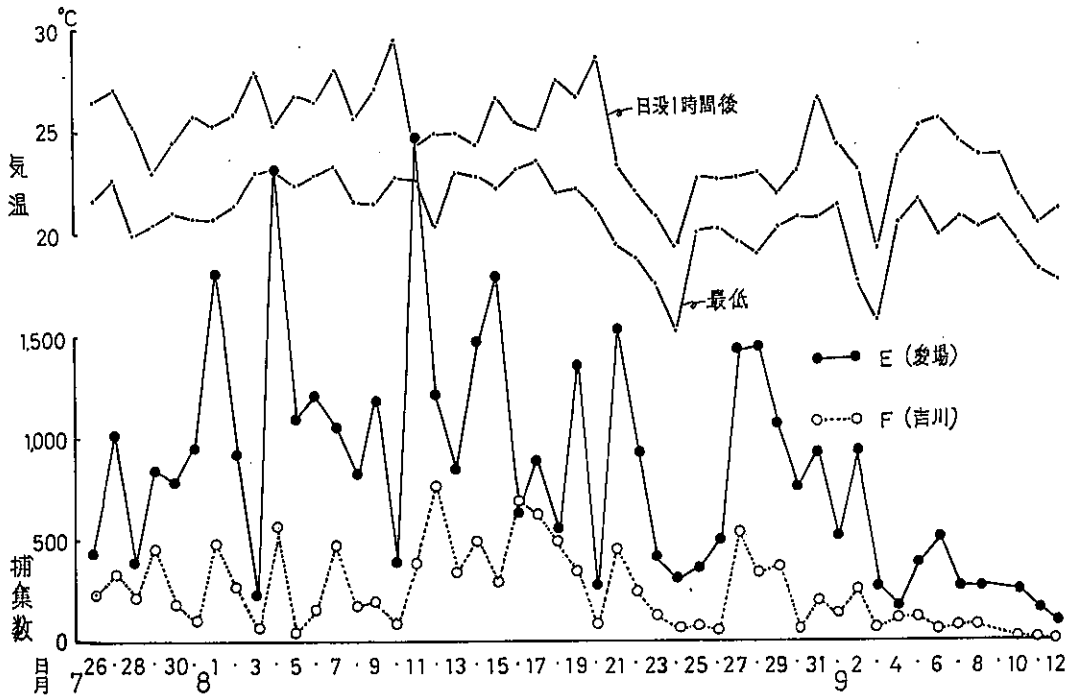


図5 近接2牛舎におけるコガタイエカ捕集数(1972年)

発生源が同じ水田で、動物嗜好性も牛馬や豚といった大動物を好んで吸血し、共にライト・トラップに高率に捕集される兩種であるが、それらの発生消長に地域差や年度差が認められるのは興味深いこと

である。シナハマダラカ群捕集数にコガタイエカの占める割合を図7に示すが、年による違いに地域差が認められる。また図2, 3, 7, 8に示すごとく、コガタイエカの方が平野部に多くて、シナハマダラカ群よりも

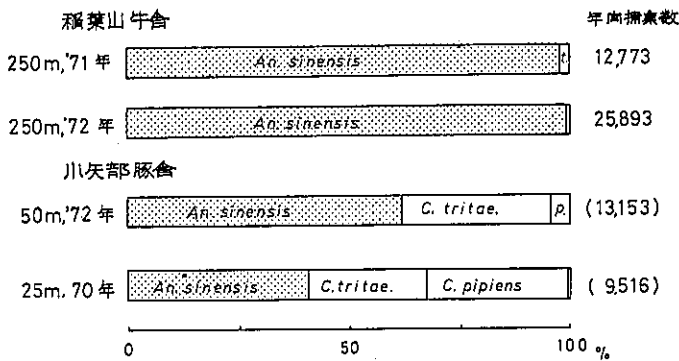


図6 山頂部と山麓部での捕集蚊種構成の比較

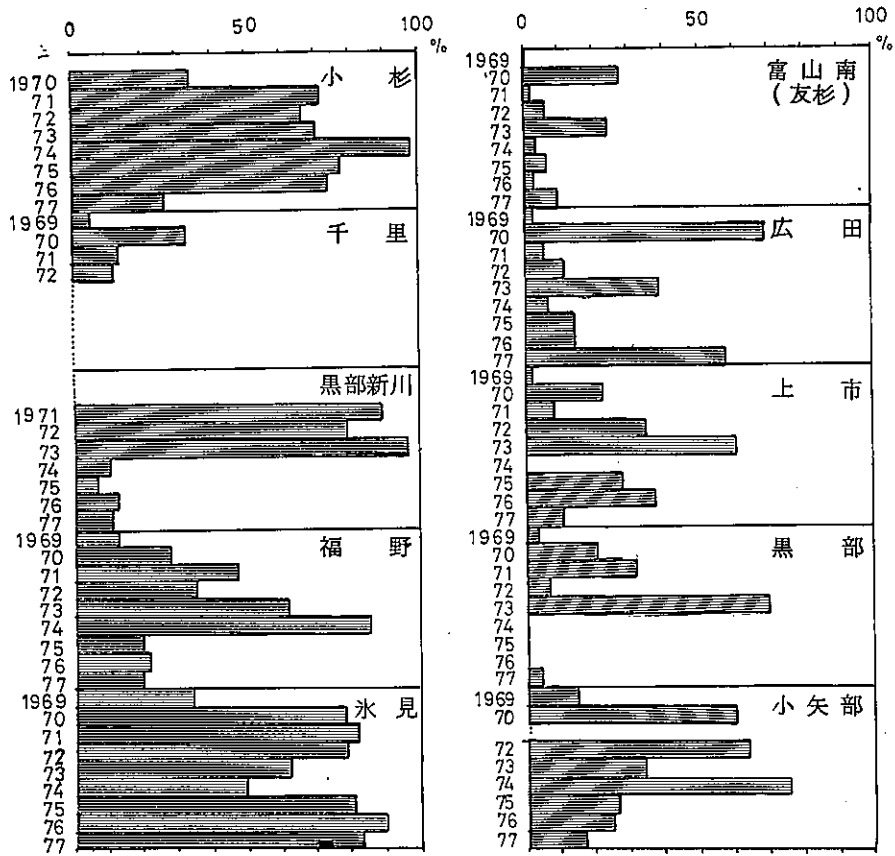


図7 シナハマダラカ年間捕集数のコガタイエカとの間に占める割合の年次変動

近年の減少傾向が著しい。県畜産試験場付近の水田（大沢野町扇状地基端部）522枚を1973年8月上旬に調査したところ、シナハマダラカ群の幼虫は図9に白丸で示すごとくほぼ全域の水田に分布していたのに反し、コガタイエカ幼虫は黒丸で示すごとく限られた水田で見付かり、用水路に沿ったところに多いように思われた。また、常願寺川の川岸近い立山町日置と釜淵の豚舎における1972年の両種の消長曲線を図10に示すが、川岸近くの畜舎ではそうでない畜舎よりもコガタイエカが多く捕集される傾向にあった。

これらのことから、コガタイエカは平野部でも越冬している可能性が大きく、平野部のとくに川岸沿いの明るい処を選んで移動する反面、シナハマダラカ群は山麓部でのみ越冬し、茂みに沿って暗い処を

選んで移動し、そのために平野部での出現がコガタイエカよりも遅れると考えられた。従って、平野部では水田の水管理の普及などが山麓部よりも徹底したために、コガタイエカの方がシナハマダラカ群よりも近年の減少傾向が著しく現われたと思われる。

文 献

上村清・渡辺護（1973）：防虫科学，38(4)，245
 上村清，渡辺護（1976）：富山県農村医誌，7，56

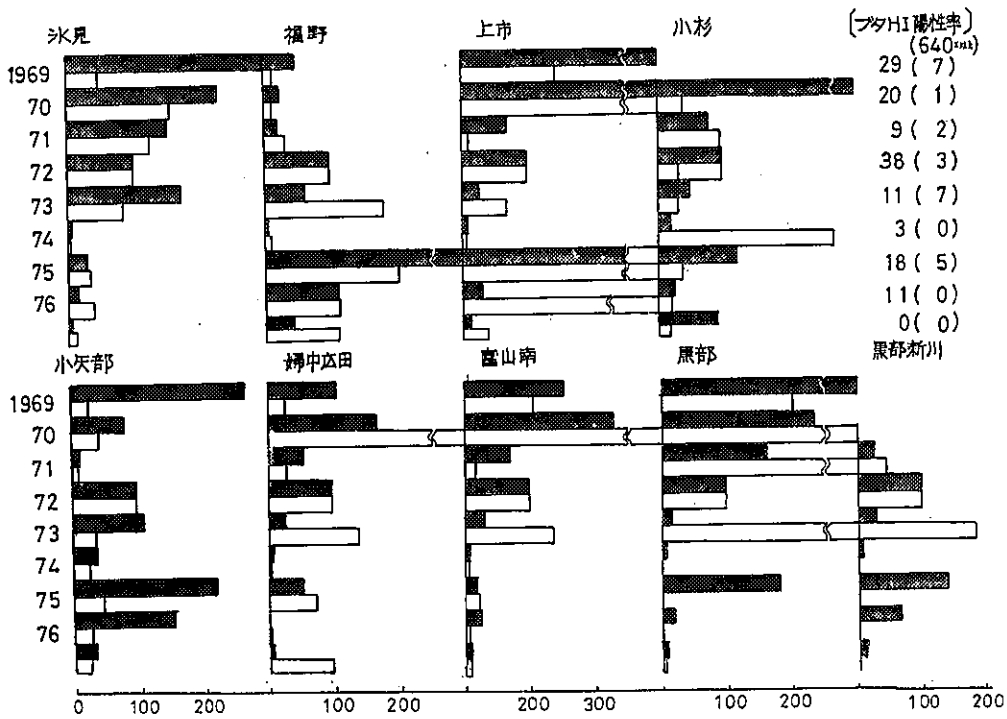


図8 コガタイエカとシナハマダラカの年次別捕集数の推移 (1972年を100とする)

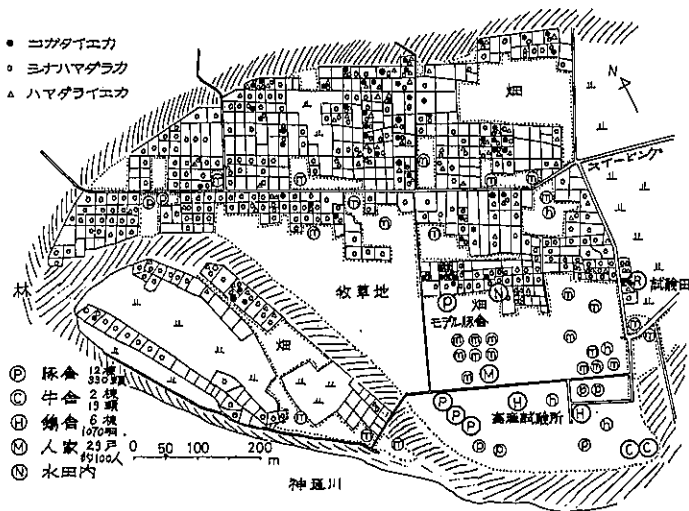


図9 調査地域と1973年における蚊幼虫捕集水田

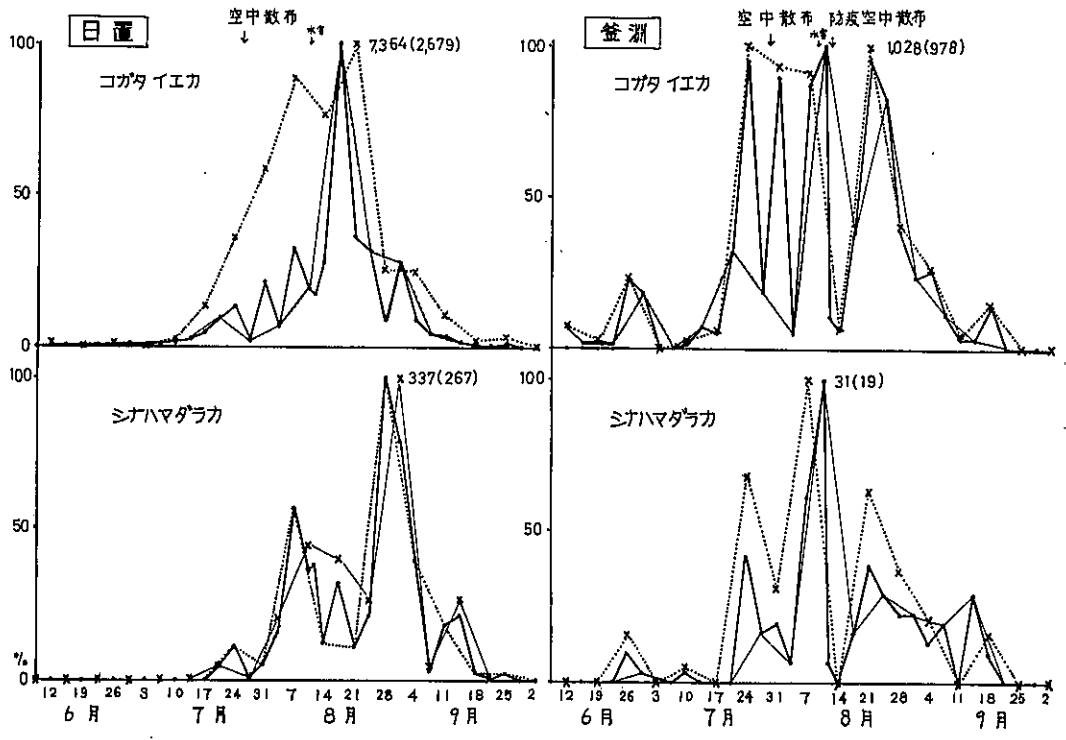


図10 常願寺川沿いの立山町の2豚舎における蚊消長曲線(実線1969年度,破線1968年度)

〔 研究報告 〕 チカイエカの発育ステージによるエステラーゼ
酵素活性の違いについて

上村 清, 福島優子*, 原井典子*

はじめに

昆虫におけるエステラーゼ酵素のアイソザイムに関する研究は比較的多く行われており, Laufer (1964) はカイコガで, Johnson ら (1968) はショウジョウバエで, 主に遺伝的研究を行っている。Simon (1969) はネッタイエカの発育段階におけるエステラーゼ酵素をディスク電気泳動によって分析し, 蚊の各発育期で特色あるアイソザイムパターンがみられることを発見し, さらに4令幼虫のエステラーゼB帯に多型がみられることからその遺伝的支配まで研究を進めている。また Ogita (1968) はイエバエの実験室飼育10系統成虫のエステラーゼパターンに明確な違いのあることを観察している。

本研究は川崎系チカイエカの発育に伴うエステラーゼ酵素のアイソザイムをポリアクリルアミドゲル直立型電気泳動装置を用いて分析し, そのパターンの変化を観察し, 他系統のアカイエカ群および近縁種間の違いを比較する場合の基礎資料とすることを目的とした。

材料と方法

供試虫: 神奈川県川崎市の地下水槽で1962年10月に採集され, 以来「川崎系」と称して東京大学医学研究所から富山県衛生研究所に於いて250代前後累代飼育中のチカイエカ *Cx. Pipiens pallens* を用いた。飼育は25℃, 14時間照明10時間暗黒の長日条件下で, 成虫には3~5%砂糖水を与え, 幼虫には昆虫飼料とエビオスの混合飼料を与えて行った。

試料作製法: チカイエカの卵, 幼虫, 蛹および成虫(雌, 雄)を発育日数別に各々0.1M Tris-Borate-EDTA (TBE)系緩衝液(含7%蔗糖)で洗浄後, ガラスホモジナイザーを用いてホモジネートし, 105400×gで1時間超遠心後,

上澄を各々ラベルした小試験管に小分けし, -20℃で冷凍保存し, 随時使用した。

電気泳動法: 実験には, 5%ポリアクリルアミドゲル(2×210×225mm)を作成し, 東洋科学製RJY-1型直立式電気泳動装置, 同PALSAHP-10型パルス電圧発生器, ヤマト科学製クールニクスGR-120型を用いて行った。

5%アクリルアミドゲルはアクリルアミド7.5g, メチレンビスアクリルアミド0.3g, 0.1M塩化マグネシウム水溶液7.5mlに0.1MTBE系緩衝液(pH8.9)を加えて150mlにし, NNNNテトラメチルエチレンジアミン0.3mlを加え, さらに, 10%過硫酸アンモニウム2mlを加えて作成した。

0.1MTBE系緩衝液(pH8.9)はトリスアミノメタン5.895g, ホウ酸4.59g, EDTA 3.33gに蒸留水を加えて6ℓとして用いた。

各ポケットに約20μℓずつの試料を注入後, 電極槽に前記の緩衝液を満たし, マーカーとしてブロムフェノールブルー(BPB)を注入し, 350V 80mAで約1.5時間泳動を行った。

染色法: 泳動後のゲルは0.5Mホウ酸溶液中に1時間5℃で放置し, 軽く水洗後, 色素Fast Blue RR salt 50mgを0.1M磷酸系緩衝液(pH6.5)100mlに溶かし, 基質としてα-ナフチル酢酸20mgとβ-ナフチル酢酸20mgを50%アセトン水溶液に1mlに溶かして混合し, 常温で約1~2時間染色した。

ゲル上に現われたバンドの観察は, 肉眼, 写真撮影, デンシトメータなどにより行った。デンシトメータによる酵素活性の比較は各帯の活性部分を化学天秤により秤量して, 重量換算面積比として行った。

結 果

1. 発育ステージによる活性の違い。

川崎系チカイエカの発育別の電気泳動によるエステラーゼ酵素のアイソザイムパターンを図1に示す。

* 富山大学教育学部学生

卵、幼虫、蛹、成虫と蚊の主な発育段階を比較すると特色ある違いが観察された。しかし各発育期内での活性の違いはわずかに認められたにすぎなかった。

卵：産卵後8時間と24時間経過した時の卵期のパターンを比較してみたが、胚の形成が進んだ24時間後でも、バンドの変化はほとんど認められなかった。卵期のバンド数は3帯と少なく、遅く動く順にa, b, cとすると、吸収曲線のピークはa, b, cの順に低下しているが、各帯の活性割合はaとbではほぼ等しく、cは低かった(図2)。

産卵1日目の活性はc帯部が低下し、b帯部が上昇した。a帯の色はb, cと違って黒褐色を呈した。

幼虫：幼虫は卵期よりもより速く動くバンドまで数を増す。若令(1・2令)幼虫、中令(3令)幼虫、終令(4令)幼虫のパターンは、主なバンドはほとんど共通しており、その活性や分画数は令が進むにつれて増す傾向がみられた。

すなわち、遅く動くバンドの順に、a, b, cとすると、aでは2本から4本の活性帯に、bでは1本から2本の活性帯にと多くなる(図1)。

若令から終令を通してb帯の吸収曲線のピークが一番低く、a, b帯が比較的高くて、若令ではcが

aよりもピークが高いが、中令では逆にaの方がcよりも高くなり、終令ではcの方がaよりもピークが高くなった(図2)。

バンドの幅も考え合えると、活性はaが高く、cがaよりもやや低く、bが低くて、その割合は令期が進んでもあまり変らなかった。

幼虫期のa帯の位置は卵期のa帯の位置と同じくb帯の位置は卵期のc帯の位置とほぼ一致していた。

蛹：蛹になると幼虫期と比較してバンドの数も減り、活性も低下する。遅く動くバンドの順にa, b, cとすると、b帯は鮮明に染色されたが、他の2帯は薄く染つたにすぎなかった。パターンとしては、初期蛹も晩期蛹もほぼ同様で、吸収曲線のピークはb, a, cの順に低かった(図2)。蛹期を通じてaとbの活性が高くてほぼ等しく、cの活性は著しく低かった。蛹期のb帯の位置は幼虫期のb帯の位置に、同じくc帯は幼虫期のc帯の位置にほぼ一致していた。またc帯が認められないこともあった。

成虫：成虫期になると、幼虫期の鮮明に染つたc帯、および蛹期に薄く染つたc帯の位置にあたる活性が消失した。しかし、蛹期に減少したバンド数は

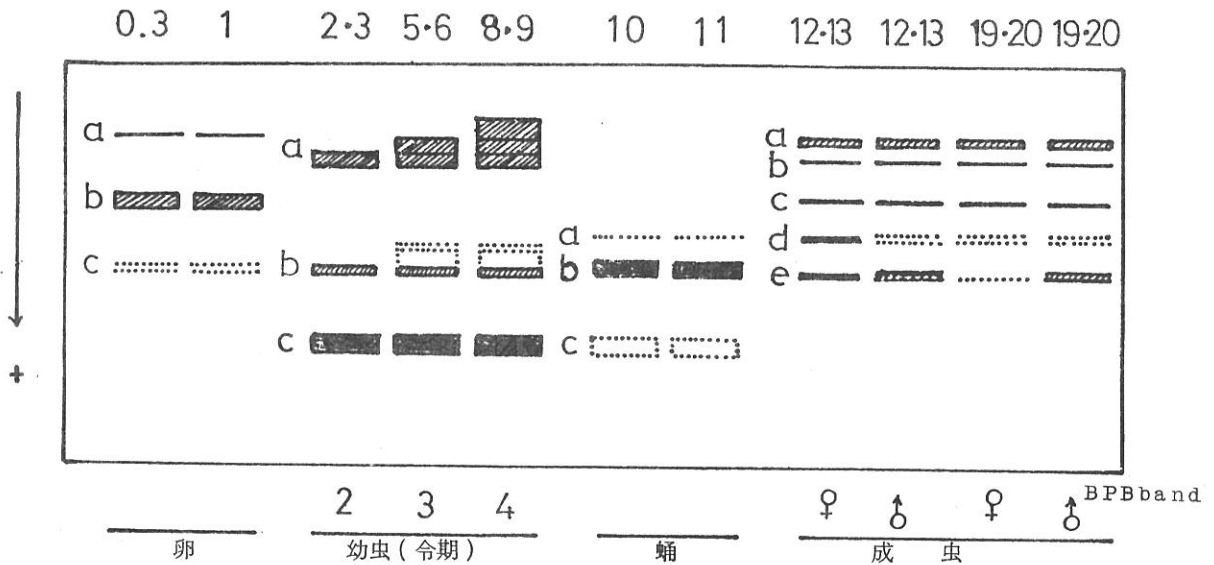


図1 川崎系チカイエカの発育にともなうエステラーゼ酵素活性の電気泳動像

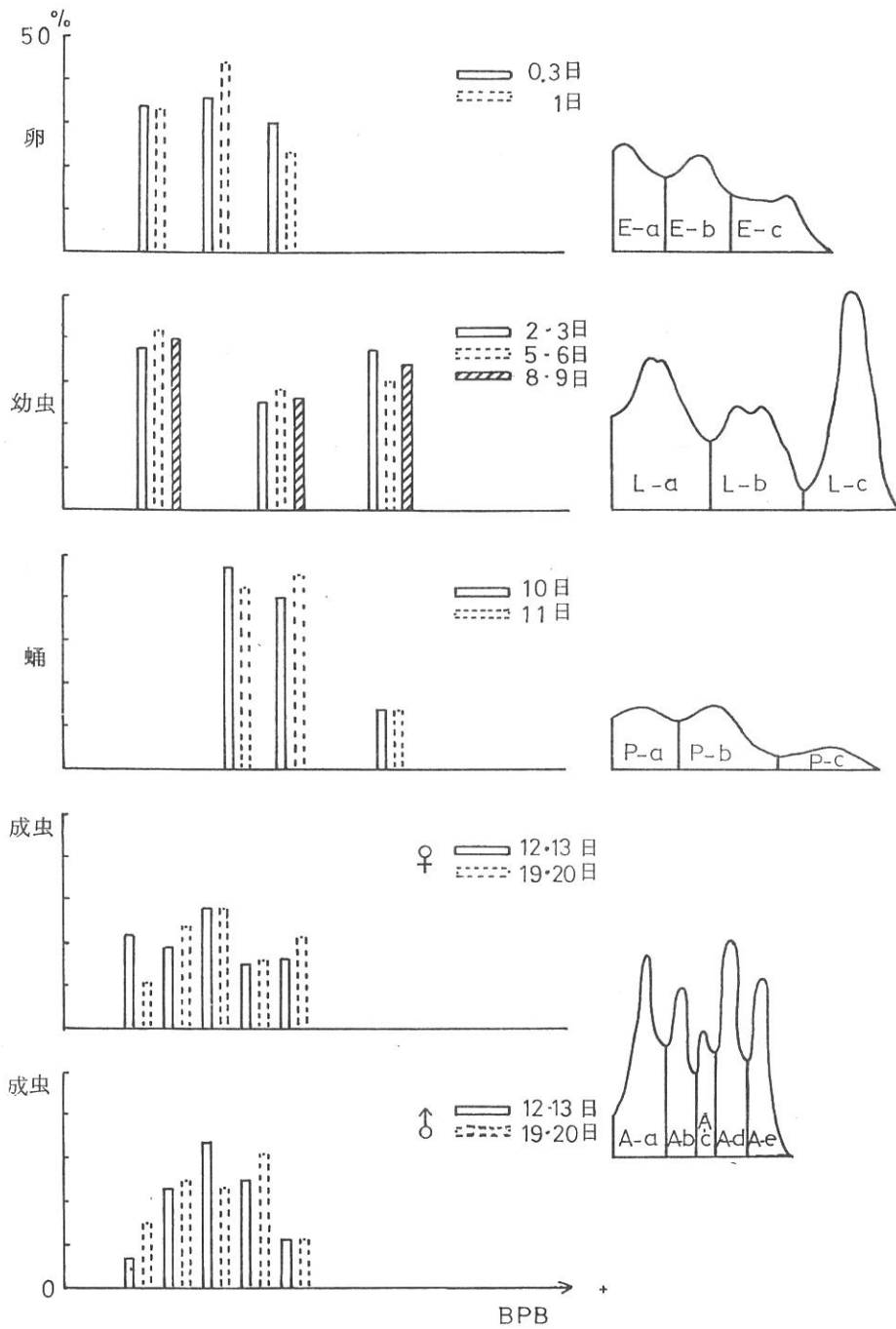


図2 発育にともなう川崎系カイエカのエステラーゼ酵素活性帯の吸収曲線の変動

再び増加し、ほぼ等間隔に5帯認められた。遅く動くバンド順にa, b, c, d, eとしたが、雌雄によるパターンの違いは観察されなかった。しかし、雌の場合は成虫期を通じてc帯の活性が高く、羽化後日数が経過するとa帯の活性が低下し、b, d, eの活性がわずかずつ上昇した(図3)。

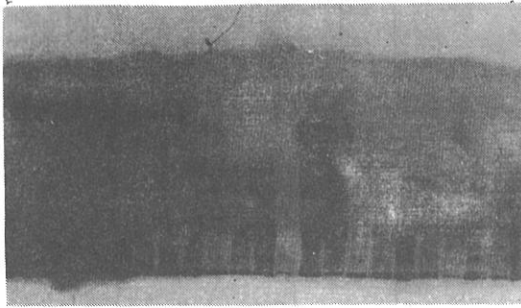


図3 川崎系チカイエカのエステラーゼ・アイザイムパターン
(♂0, ♀0, ♀Y, P0, PY, L0, L4, L4, LY, l3, l2, E)

雄では羽化後日数が経過するとバンドの色が薄くなる傾向にあり、また成虫期を通じてa, e帯の活性がb, c, d帯に比べて低く、羽化後2~3日目ではb, d, cの順に活性が低くて、日数が経過するとc帯の活性が著しく低下し、a, b, d帯の活性が上昇した。このように雌雄では各バンドの活性の変化に違いが認められた。

2. 他系統のアカイエカ群との比較

本研究では、川崎系チカイエカをはじめ、数系統のチカイエカ(戸塚系, 京都系, 大阪東系, 大阪港系, 長崎系)とアカイエカ数系統(富山系, 七尾系, 御所系, 堺系, 伝研B系)についても電気泳動によるエステラーゼ酵素活性の分析を行った。その結果、チカイエカ各系ではいずれも発育ステージによるエステラーゼのアイソザイムパターンの変化は、川崎系チカイエカとほぼ同様な傾向を示し、活性的にもよく似たパターンを呈した。アカイエカ各系においても各発育期で固有のパターンを示した。しかし、チカイエカと比べると、卵, 蛹, 成虫の各期では違いが認められ、幼虫期では違いが目立たな

かった。とくに成虫期のパターンにはチカイエカとは明らかに区別できる要素を持っていると思われた。

Simon(1969)は近縁のネッタイエカで発育ステージによるエステラーゼ酵素活性の違いを明らかにしている。それによれば、卵期の分画数は少なく、ふ化と同時に速く動くバンドまで分画数を増し、各帯の漸進的な増加を認めており、著者らのチカイエカでの成績と同様な傾向を呈している。ただ、卵期では幅広い1本の帯で、蛹期ではb帯より遅く動く部分のバンド数や活性の急激な低下は認められず、また雄に特有のバンドを認め、成虫では非常に速く動くバンドを観察している。

さらに、チカイエカとアカイエカとの違いは血液の影響とも考えられたので、富山系アカイエカを用いて、羽化後まもない若い個体、吸血後の抱卵個体、産卵済の老いた個体でのパターンを比較した。抱卵個体はa帯の色が他期よりも濃く、産卵済個体では全般的に色調が薄かったが、バンドの数、位置などに質的差違がなかった。また、マウス血液が消化された個体ではそのエステラーゼパターンとの共通点は見い出せなかった。

3. 方法及びその影響

試料は濃度を高くした方が鮮明に染色されるため材料はTBE緩衝液で洗浄する程度にとどめた。従って試料作成時に用いる緩衝液に蔗糖を7%加えた。これは試料がポケットから浮き上るのを防止するためである。しかし、試料と緩衝液とのTBE濃度差は配慮しなかった。

ホモジネイト後の試料は6.600×g程度の冷却遠心分離では不純物が多くてパターンが旨く分離できないため、105400×g, 1時間超速心を行ない、上澄を試料として用いた。また、試料は1頭ずつが望ましいが、活性としてうまく染色されないため、卵や若令幼虫は20~30卵塊分をまとめて、終令幼虫, 蛹, 成虫は300~500個体をまとめてホモジネイトし、試料として用いた。しかし、系統内での同時期に多数をまとめた試料間でのパターンの違いやばらつきはほとんど認められず、個体間の違いが省略出来て、系統間の比較にはかえって好都合であった。

試料は作製時においても酵素活性を低下させない

ために操作を手速く、氷で冷して行ったが、泳動時にも冷却水にてゲルを冷やし続けた。冷却が十分行われないと泳動像が分散ないし融合して鮮明なバンドとならず、温度が50℃近くまで上昇すると活性が著しく低下した。また、試料の凍結融解をくり返したり、-20℃で長期保存すると活性が次第に低下し、分離が悪くなるため、試料作製後は出来るだけ早く2~3日中に使用するよう心掛けた。なお低電圧で長時間泳動すると、バンド間の幅が広まって近接バンド間の確認には適すが、泳動像がぼやけて鮮明さを失う懸念があった。

染色時間が短かかったり、低温時には染り方が薄く、色調よりもバンドの位置の違いが重視された。

考 察

卵期は図1に示すごとく時間が経過してもほとんど変化が認められず、エステラーゼ酵素に関してはバンド数が少なかった。E-aの色の違いは基質特異性によることが考えられる。

幼虫期に入ると、常に速く動く分画までバンドの数を増した。若令幼虫は活性が低く、令期が進むにつれて次第に活性が高まり、終令幼虫ではバンド数も増え、バンドも明確なものとなる。しかし、若令幼虫では用いた試料が量的に少なかったため、活性が低かったと思われ、蛋白量を同じにすれば差があまり認められない可能性がある。いずれにしても幼虫では終令幼虫の方がバンド数も多く、より安定していて、材料として適していると思われる。L-c帯は幼虫期だけに鮮明に認められ、蛹期ではその位置にあるP-c帯の活性が落ちることから、L-c帯は幼虫期に著しく発育する唾液腺などの器官に関与する活性で、P-c帯は幼虫期から持込まれたもので、成虫に近づくほどその活性が低下し、成虫では完全に観察できなくなる可能性が大きいと思われる。

蛹期は食物もとらず排泄も行われず、外観的に不活発な時期のため、蛹のエステラーゼ酵素活性が低いものと思われる。しかし、1~2日の間に激しい内部構造の分化が行われ、独自の呼吸系や運動器官も有するため、蛹期においても高い活性を示す別の酵素が存在してもよいように思われる。

成虫では雌雄の 패턴の違いはあまりなく、羽化後日数が経過しても 패턴的には変化をほとん

どしないが、活性はやや低下した(図1)。同様なことはSimon(1969)も述べている。また、雌雄を分けずに試料とした成虫のバンド数も5本で、若い成虫では各々のバンドがほぼ同じ濃さに染色されたが、羽化後日数が進むとA-d帯が強く染るようになった。成虫期と幼虫期とではバンドの動く速さがよく似ているのは、卵は成虫が産んだものであり、雌成虫は卵成分を含んでいて、深いつながりを持つためと考えられる。また、卵のE-cと、幼虫のL-b、蛹のp-c、成虫のA-eの各帯は位置がほぼ同じなため、同種のエステラーゼではないかと考えられる。

川崎系チカイエカを、他系統のアカイエカ群や近縁種と比較する場合に、どの発育ステージのものを用いるのが適当であるかが問題となる。卵や蛹におけるエステラーゼ酵素の分画数は少なく、比較の対象としては適していないと思われる。しかし、チカイエカとネッタイエカを比較するには明確な違いがあって適しているように考えられる。(Simon 1969)。幼虫期ではより速く動く分画まで数を増し、若令幼虫から終令幼虫にかけてパターン位置の変化は認められないが、活性が漸次増加して、終令幼虫において最も分画数が増え、泳動像も鮮明になった(図1)。しかし、系統間の違いは明らかではなかった。成虫期では雄や羽化後の日数による活性の違いはわずかに認められたが、パターンとしては同じとみなされ、分画数も多く、しかも系統による違いが認められた。このことから、成虫期が系統間の比較をする場合に適していると思われ、特に雄は雌に比べて羽化後日数の違いにも安定したパターンを示したので材料として最も適していると考えられた。しかし、雄成虫や新生成虫の選別には手数がかかるため、実験には産卵済成虫群を用いた。

実験に用いた電気泳動装置と試料、実験条件では前述のごとき結果が得られたが、さらに試料や装置を改良することにより、発育ステージによる微妙な差異が多く見つかると思われ、そのことに関しては将来の研究に待ちたい。

ま と め

川崎系チカイエカの発育ステージによるエステラーゼ酵素活性の違いを、電気泳動装置を用いて行い、

その分析を肉眼、写真撮影によるほかデンストメーターを使用して行った。

その結果、卵、幼虫、蛹、成虫と蚊の主な発育ステージのアインザイムパターンに特色ある違いが観察され、各発育期内では活性の違いが幼虫、蛹、成虫でわずかに認められたにすぎなかった。以上のことより系統間を比較する場合には発育期内の日数による違いをある程度無視して、パターンを比較できると考えられた。

川崎系チカイエカと他系統のアカイエカ群の発育ステージにおけるエステラーゼ・アインザイムパターンは、ほぼ同様の傾向を示し、卵期や蛹期では分画数が少なく、幼虫期は分画数は多いが系統間の違いは明確ではなかった。成虫期においてはパターンとして雌雄や羽化日数による質的な違いは認められず安定している上、分画数も多くて系統による違いが認められるので、系統間の比較には最も適していると思われた。また、系統間の違いはバンドの色よりも位置が重視されると考えられた。

文 献

- 石井 孝 (1975) : 動物分類学会報, 48:1.
Johnson, F. M. et al (1968) :
Biochem. Genet., 1: 239
Laufter, H. (1964) : In C. A.
Leone (ed.), Taxonomic Biochemistry
and Serology, The Ronald Press Co.
Ogita, Z. (1968) : Ann. N. Y.
Acad. sci., 151: 243
Simon, J. P. (1968) : Ann. ent.
Soc. Amer. 62: 1307

〔 研究報告 〕

エステラーゼのアイソザイムパターンから見た
「アカイエカ群」の系統について

上村 清, 原井典子,* 福島優子*

はじめに

アカイエカ群 *Culex pipiens complex* の蚊は汎世界的に分布しており、バンクロフト糸状虫症などの媒介者として疫学上重要な種群である。このアカイエカ群には、生理的、生態的、あるいは形態的な性質の違いを示すいくつかの型があり、日本にはネッタイエカ *Cx. p. fatigans*, アカイエカ *Cx. p. pallens*, チカイエカ *Cx. p. molestus* の3型が分布している。このアカイエカ群の中で、チカイエカ型はその個体群がアカイエカ型とはかなり性的に隔離されていて、地下水槽や浄化槽など地下の水域に好んで生息しており、他と異った生理生態的特徴を示すとされている。(佐々, 1971など)。従って、チカイエカ型がアカイエカ群のどのような位置にあり、どのように分化していったのか興味もたれている。この問題に関し、日本産アカイエカから分化したという説(佐々, 1971, 森谷, 1974, 真喜屋, 1974など)と、日本産アカイエカとは別にヨーロッパから導入されて分散したものであるという説(和田, 1977)とがある。

蚊科昆虫のエステラーゼに関する遺伝学的研究は、Garganら(1977)など多数報告されている。これらの中で、Stephensonら(1976)はネッタインマカを材料として電気泳動によるエステラーゼパターンを調べ、生息場所のわずかな違いによってもエステラーゼ遺伝子座における対立因子に明瞭な違いがあることを認めている。このことから、全国的に分布するチカイエカのアイソザイムパターンが生息地で異なるかを調べ、その結果からアカイエカとの関係やチカイエカの分化を考察する可能性が示唆されると思われる。

そこで、本報ではまず手始めに日本内でのチカイエカ型、アカイエカ型、ネッタイエカ型の蚊のエステラーゼ電気泳動パターンの比較を行い、型によ

る特徴などの検討を行った。

材料と方法

供試虫：日本各地から採集され、現在富山県衛生研究所で累代飼育中の蚊成虫を用いた。各系統の概要を以下に示すが、名称は初代採集地名にもとづいている。

チカイエカ型(無吸血で累代飼育)

川崎A系：1962年川崎市地下槽で採集、東大医科研から1972年分与をうけた。

川崎B系：同系統を大阪府大に分与されたものをさらに分与をうけたもの。

戸塚系：東京都戸塚区の地下槽で採集、予研から1972年分与をうけた。

京都系：京都市の地下槽で採集、京都市衛研から予研に分与され、さらに1972年分与。

大阪東系：1968年大阪市東成区の地下槽で採集、大阪公衛研から予研に分与されたのを、1972年にさらに分与をうけた。

大阪港系：1970年大阪市大正区の地上開放水域から採集、大阪市大から1972年分与。

長崎系：1968年長崎市地下槽で採集、長崎大熱研から予研に分与のを1972年分与。

アカイエカ型(マウス吸血で累代飼育)

伝研B系：1959年東京都で採集、東大医科研で累代飼育中一部無吸血産卵をするようになったもので、1972年分与される。

富山系：1970年6月富山市水橋の水槽で採集。

七尾系：1974年6月石川県七尾市下水溝採集。

御所系：1971年6月奈良県御所市で採集、大阪公衛研から1978年分与をうけた。

大阪堺系：1976年5月大阪府堺市水田溝で採集、大阪市大から1978年分与をうけた。

ネッタイエカ型(マウス吸血で累代飼育)

古仁屋系：1961年鹿児島県奄美大島古仁屋の下水溝で採集、東大医科研から1978年

* 富山大学教育学部学生

分与をうけた。

- 那覇系 : 1977年沖縄県那覇市の人工容器で採集, 琉球大保健学部から1978年分与。
 交雑系(無吸血で累代飼育)
 アカチカ系: 1971年12月富山系13代雌に川崎系158代雄を交雑したもの。
 チカアカ系: 1971年12月川崎系158代雌に富山系13代雄を交雑したもの。
 古大系 : 1972年6月古仁屋系136代雌に, 大阪系23代雄を交雑したもの。

試料作製法および電気泳動法

試料作成および電気泳動は前述の福島らに同じである。その他, LKB 2117型等電点分画装置を用いてpH勾配を用いた等電点分画も行った。ゲルは所定のpH域(3.5~9.5)に調整されている市販の20×10cmの5%アクリルアミドゲルを用いた。試料は直前まで生きていた虫体を1個体または1卵ずつワッパ紙小片上で押しつぶし, ゲル上に10mm間隔に並べ, 低電圧に安定するまで約2時間通電し, 常法によりエステラーゼ染色を行った。

結 果

1. チカイエカ型について

日本産チカイエカ型6系統のエステラーゼ酵素活性のパターンを図1に模式的に示す。川崎系ではA系もB系も5本のバンドの位置や色調などに違いが認められず, きわめて類似のパターンを示した。遅く動いたバンドから速く動いたバンドへと順にa, b, c, d, eの記号を付け, 他型についてもこの記号位置に準じてバンドを取り扱うが, 川崎系ではd帯が濃く染まるのが特徴であった。京都系も川崎系と同様にd帯が濃く, バンドの位置は戸塚系とほぼ等しい類似パターンを示したが, 戸塚系ではd帯がそれほど濃くはなく, 5本とも似た色調であった。大阪東系のパターンも特に濃いバンドはなかったが, 5本がほぼ等間隔に並ぶのが特徴であり, a, b帯はチカイエカ型他系統にほぼ共通した位置にあるが, c帯は他系より速く動き, d帯寄りに現われた。また, 系統間でばらつきが著しいd, e帯は, それぞ

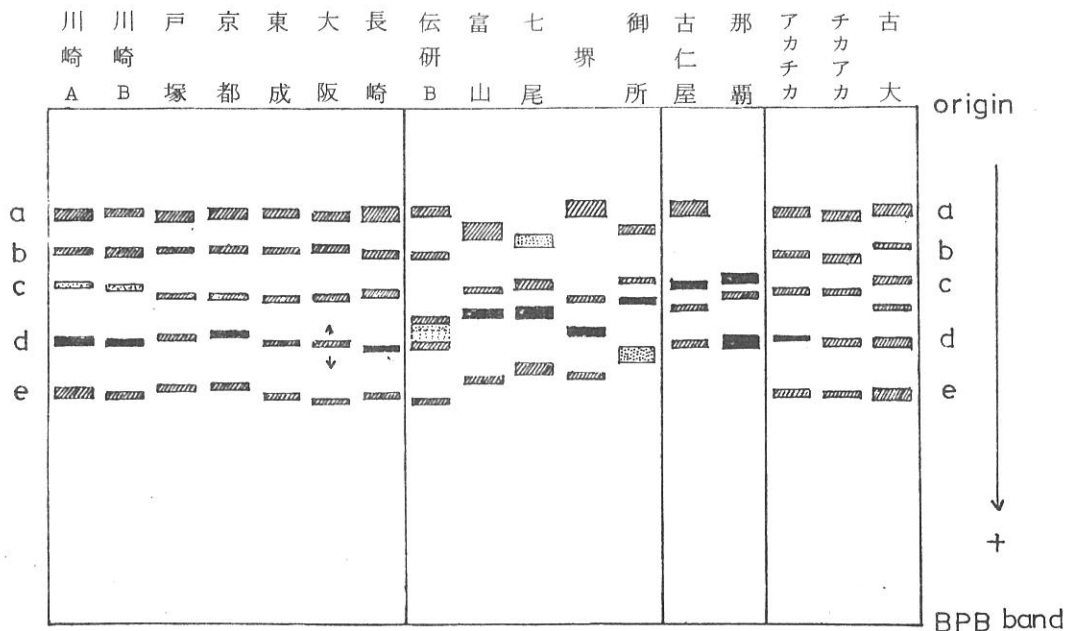


図1 アカイエカ群成虫の電気泳動によるエステラーゼ活性パターンの違い
 (チカイエカ6系統, アカイエカ5系統, ネットタイエカ2系統, 交系3系統)

れ平均的な位置にあった。大阪港系は他のチカイエカ型では類似の位置にあったd帯が上下にずれることがあったが、特に濃く太く染まるバンドはなく、d帯以外の4本のバンド位置は大阪東系と似ており、チカイエカ型に共通のパターンに属すとみなすのが妥当と思われた。

以上のごとく、チカイエカ型6系統ほどの系統もほぼ5本の類似したパターンを示し、特にゆっくり

動くバンドの位置ほど系統間の違いは少なく、a、b帯はそれぞれ位置と濃さがよく似ていた。しかしより速く動くバンドほど、系統ごとに位置と濃さに違いが少しずつ認められた。

このように類似のパターンを示したチカイエカ型の代表として川崎系のデントメータによる吸収曲線を図2に示す。

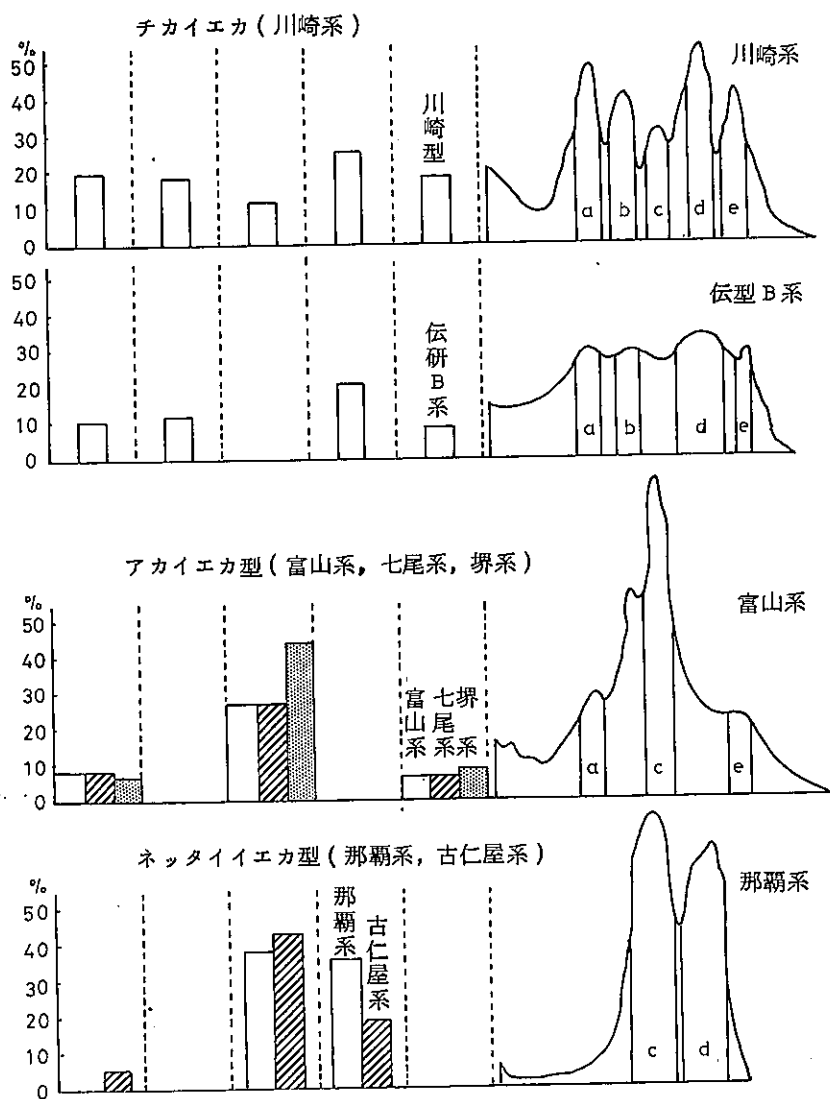


図2 アカイエカ群4系統のエステラーゼ活性の電気泳動による分析結果

各帯の活性割合は a, b, e 帯が各 20% 前後と等しく, c 帯は 12%, d 帯は 26% であった。ゲル上のバンドは 5 本とも幅がほぼ等しいため, エステラーゼ活性の割合は色調の違いとして現われ, d 帯が最も濃く, a, b, e 帯は色調も似ていて, c 帯が最も薄いバンドとして観察された。このようにチカイエカ型ではエステラーゼ活性が 5 本のバンドに分散していた。

2. アカイエカ型について

日本産アカイエカ型 5 系統のエステラーゼ酵素活性のパターンを図 1 に模式的に示した。富山系と大阪堺系では最も濃く染った c 帯がほぼ等しい位置に現われ, チカイエカ型の c 帯と d 帯との中間に位置しており, 付随して薄い色のバンドが Origin に近い側に現われた。七尾系では最も濃く染ったバンドは富山系や大阪堺系よりも速く動き, チカイエカ型の d 帯寄りに現われた。御所系では最も濃い色のバンドがチカイエカ型の c 帯の位置近くに出現し, 前記 3 系統の濃いバンドに比べ, 動きが最も遅かった。その他, 富山系と御所系においてはチカイエカ型の a, b 帯の中間に幅広の薄い色のバンドが現われ, 堺系ではより速く動き, b 帯寄りに位置が異っていた。七尾系では他の 3 系統よりもゆっくり動き, チカイエカ型の a 帯の位置にこのバンドが現われた。このようにアカイエカ型 4 系統 (伝研 B 系を除く) の 4 本のバンドの位置は不揃いで, 1 本の非常に濃く染まる太いバンドが観察されるのが特徴であった。富山系と七尾系の濃い c 帯の活性割合は共に 26% で, 大阪堺系では 43% と高い数値を得た。a 帯と c 帯は 5~8% と近似的で, 1 カ所にエステラーゼの活性が集中していた。

伝研 B 系では, 図 2 に示すごとくアカイエカ型他系統にみられるような特別濃いバンドは認められず, チカイエカ型の b 帯の位置にバンドが出現し, チカイエカに似ると思われた。しかし, チカイエカ型で 1 本のバンドであった d 帯が不明瞭で薄い 2~3 本のバンドとなって認められるなどの違いがあった。a, b, d, e 帯の吸収曲線による活性割合は, 各々 11, 12, 21, 8% で, c 帯は認められなかった。

3. ネットアイエカについて

日本産ネットアイエカ型 2 系統のエステラーゼ酵素活性のパターンを模式的に図 1 に示す。古仁屋系では c 帯に 2 本のバンドが現われ, 動きの遅いバンドの方がより濃く染まっていた。また, このバンドよりもやや薄いバンドが d 帯に 1 本, さらに薄いバンドが a 帯に 1 本現われた。那覇系では c 帯に同様 2 本のバンドが現われ, a, b, e 帯にはバンドが認められなかった。c 帯の 2 本のバンドの濃さの違いは古仁屋系と同様であったが, バンド間の距離は古仁屋系よりも那覇系の方が大きい傾向であった。また, d 帯にも濃く染まった 1~2 本のバンドが認められた。デンストメータによる 2 系統の吸収曲線には c 帯と d 帯の 2 カ所のピークのほか, 目立ったピークはなく, 薄い色のバンドは描かれなかった。各帯の活性は古仁屋系で c 帯 44%, d 帯 20%, 那覇系で c 帯 39%, d 帯 37% であった。ゲルにおいても古仁屋系では d 帯は合体して幅広の濃いバンドを呈し, c 帯よりも活性が高いと考えられるが, 那覇系では c, d 帯の活性はほぼ等しいとみなされる。ネットアイエカに関しては, わずか 2 系統での観察にしかすぎないが, チカイエカ型ともアカイエカ型とも異なり, 2 本の濃く太いバンドを有しているのが特徴であった。

4. 交雑系について

交雑系 3 系統のエステラーゼ酵素活性のパターンを模式的に図 1 に示した。富山系×川崎系 (アカチカ系) と川崎系×富山系 (チカアカ系) は共にチカイエカ型とほぼ同じ位置に 5 本のバンドが現われ, パターンとしてもチカイエカ型に属すとみなされた。アカチカ系が川崎系のように d 帯が濃く染まったが, チカアカ系と比べてほとんど相違がなかった。古仁屋系×大阪港系 (古大系) では薄いバンドではあったが, 大阪港系の b, e 帯と古仁屋系の 2 本の c 帯の特徴を併せ持つ中間的なパターンを呈した。なお, 交雑系ではデンストメータによる分析は行わなかった。

5. 等電点分画法による結果について

等電点分画法により 1 個体ずつ個体レベルでのエステラーゼ酵素活性の違いを検討したが, ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による結果と違って, 非常に多くのバンドが出現した (図 3)。

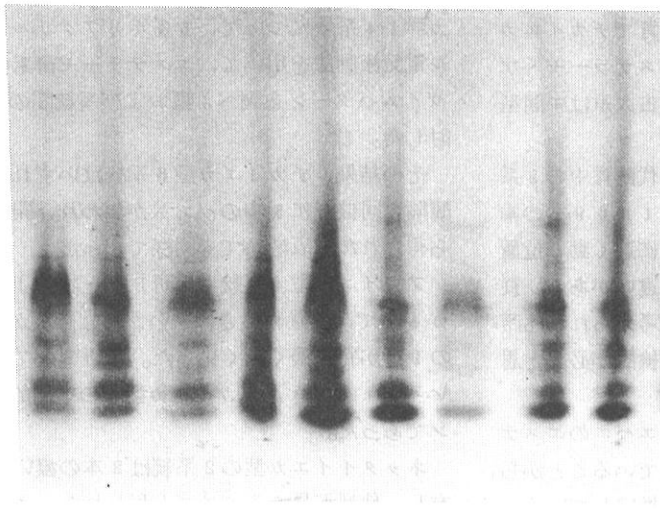


図3. アカイエカ群成虫の等電点電気泳動によるエステラーゼ・バンド

幼虫と成虫では少なくとも10本のバンドが観察され、卵と蛹ではバンド数が少なく色も薄いのは先の方法と同様であったが、それでも数本ずつバンドが認められた。

このように等電点分画法を用いると、同系統内の別個体でもバンドの位置に多少の違いが認められ、個体レベルでの分析が可能と思われた。しかし、亜種間や系統間の違いについては、バンドが錯綜して解析がかえって困難であった。

考 察

チカイエカ型のうち、大阪港系は開放水域から得られたものなので、他の閉鎖水域から得られたものと比べてどれだけの違いを示すか注目したが、あまり差がなく、チカイエカ型のパターンとみなすのが妥当と思われた。

アカイエカ型のうち、堺系のc帯の活性が他系統より高かったが、ゲル上では遅れて動く小さな幅のc'帯が認められ、これがc帯に含まれて活性の割合をより大きな数値にしたとみなされる。また、伝研B系のd帯の割合が他帯より大きかったのは、ゲル上の分離のよくない2~3本のバンドが重なって吸収曲線として描かれたためと考えられる。

伝研B系は東京大学医科学研究所の飼育室でアカイエカ型として長期間累代飼育していたものの内、ある時期に少数ながら無吸血産卵を行うようになって

た系統である(佐々, 1971)。また、国立予防衛生研究所でも尼崎市のどぶ川で採集した殺虫剤抵抗性アカイエカを累代飼育中、無吸血産卵個体を生じたのを分離し、無吸血で飼育していたとのことである(石井, 1977)。また、富山県衛生研究所でも七尾系が44代目頃から無吸血産卵をするようになり、チカイエカとのコンタミとして処分してしまったが、そのエステラーゼ・アイソザイムパターンは七尾系の特徴を示し、チカイエカないしはそれとの交雑とはみなされなかった。

これらはチカイエカの分化を考える上で大変興味ある現象であり、同一飼育室でチカイエカ型の系統も混在して飼育していたため、それとの交雑系ないし混入という危惧がいだかれるが、エステラーゼ・アイソザイムパターンなどによって違うことを裏付け可能と思われる。本研究による伝研B系のパターンは太く濃い1本のバンドは認められなかったが、c帯を欠き、d帯が3本からなる幅広のバンドからなるなどの違いがあった。また、無吸血で飼育もしてみたが、アカチカ系やチカアカ系のようにチカイエカ型に淘汰されることは認められなかった。従って、伝研B系はチカイエカとの交雑系という可能性も否定できなかったが、アカイエカから分化したという可能性がある。栗原・上村(1977)の雄外部生殖器の累代飼育による変化からみても、アカチ

カ系やチカアカ系では無吸血累代飼育でチカイエカ型に淘汰されるとみなされるが、エステルゼ・アインザウムパターンでは伝研B系や古大系は中間型にとどまっている。

ネットアイエカ型については、累代飼育中の2系統と比較したにすぎず、Simon (1969)の本型ではチカイエカ型のe帯よりさらに速く動く位置に明確なバンドが認められるなどの違いがある。従って本型では地域差が大きいことが考えられ、熱帯、亜熱帯に広く分布するため、さらに検討が必要と思われる。

Ogita (1968)は各地のイエバエのエステルゼ・パターンが非常にばらついていることから、遺伝的システムが多様化していると推定している。このことから、本研究でも、系統間に顕著なばらつきが認められたアカイエカ型やそう推察されるネットアイエカ型ではエステルゼ活性が遺伝的に多様化しており、逆に全系統がほぼ安定したパターンを示したチカイエカ型では、遺伝様式もほぼ同じである可能性が考えられる。

このことは各型の分化を考える上で、非常に興味深い現象である。もし、真喜屋(1974)などの述べるごとく、各地のアカイエカからチカイエカが各々環境適応によって分化したとすれば、多様化しているアカイエカ型に優るとも劣らぬ多様なチカイエカ型のエステルゼ・アインザウムのパターンを示しても良いと考えられる。しかし、エステルゼ酵素の関与する殺虫剤抵抗性がチカイエカ型でも出現することが知られており、(海野・鈴木, 1968), チカイエカ型が遺伝的にほぼ均一の安定したものととは思われない。従って、本方法で、殺虫剤に抵抗性と感受性の品種とでパターンが同じとなるか検討が必要と思われる。また、エステルゼ以外のアインザウムパターンで検討しても、本研究で得られたような結果が出るかどうか、さらにヨーロッパから北アフリカ、北米などにかけて分布する世界各地のチカイエカとではエステルゼ・アインザウムパターンが同じであるか興味を持たれ、今後の検討が望まれる。

ま と め

富山県衛生研究所で累代飼育中の日本産アカイエ

カ群14系統について、5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて、エステルゼ酵素のアインザウムパターンを調べ、型および系統間の違いを検討した。

その結果、チカイエカ型6系統はいずれもほぼ等間隔、同位置に5本のバンドが現われ、開放水域から得られた大阪港系でも同様であった。

アカイエカ型4系統(伝研B系を除く)はバンドが4本で、位置や濃さに違いが目立ったが、その内の1本が特に濃く太く染った。伝研B系では濃く太いバンドを欠き、チカイエカ型との中間的なパターンであった。

ネットアイエカ型の2系統は2本の濃いバンドを有し、他型と異なるタイプと思われた。

無吸血累代飼育による川崎系と富山系とでの交雑2系はチカイエカ型にきわめて類似したパターンを示したが、古仁屋系と大阪港系とでの交雑系は中間的なパターンを示した。

アカイエカ型のエステルゼ・アインザウムパターンがかなりばらついているのに、チカイエカ型ではきわめて類似していたことから、チカイエカ型ではエステルゼの遺伝様式が統一的で安定しており、各地でアカイエカから分化した可能性は少ないと考えられた。

文 献

- Gargan, T. P. & Barr, A. R. (1977): *Ann. ent. Soc. Amer.*, 70: 402
石井 孝(1977): アカイエカ通信, 2(3): 9
栗原 毅・上村 清(1977): 衛生動物, 28: 29
真喜屋清(1974): 第29回衛動西日本講演集, 12
森谷清樹(1974): 同, 14。
Ogita, Z. (1968): *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1516: 243
佐々 学(1971): 衛生動物学の進歩, 1: 49., 学術書出版会
Stephen, S. H. et al. (1976): *Ann. ent. Soc. Amer.*, 69: 73
海野登久子・鈴木 猛(1968): 衛生動物, 19: 55

[研究報告]

立山におけるクロバエ類の分布とその季節消長 (1975 ~ 1977年)

荒井優実*, 渡辺 護, 上村 清

目 的

立山におけるクロバエ類の発生消長, 越冬生態などを解明するとともに, 山岳環境の人為的汚染との関連性を追及し, 併せて効果的な防除対策を行なうことを目的とする。

調 査 方 法

1975~1977年の3年間, 立山西斜面の登山自動車道沿に, 標高250~500m毎にそれぞれ5定点を設け, 金網製ハエ捕虫器を用い, 豚レバ

一約60gを誘引餌に, 5~10月まで月1回, 朝から夕方までに飛来したハエ類を捕集した。捕集したハエ類は各定点毎にクロロホルム麻醉後冷凍保存し, 適時種名同定を行なった。

結 果 と 調 査

クロバエ類の標高別捕集実数を表1に, 種構成の標高および季節による変動を図1に示した。また, 主要種の季節別垂直分布を図2,3に示した。

表1 クロバエ類の標高別捕集成績

種 名	年	標 高 (m)							合 計
		250	500	1,000	1,500	2,000	2,500	2,750	
オオクロバエ	1975	16	62	362	568	193	154	110	1,465
	1976	34	101	163	477	410	217	10	1,412
	1977	86	990	512	889	637	444	344	3,902
ミヤマクロバエ	1975	5	37	78	385	208	249	64	1,026
	1976	5	375	8	72	260	143	4	867
	1977	28	779	135	60	190	119	221	1,532
クモマオオクロバエ	1975	0	0	8	82	50	221	167	528
	1976	0	4	3	11	2	13	7	40
	1977	1	3	1	7	11	27	52	102
ホホアカクロバエ	1975	0	0	1	0	2	1	0	4
	1976	0	1	0	0	1	14	3	19
	1977	2	11	0	1	17	9	3	43
タカネクロバエ	1975	0	0	12	0	1	1	0	14
	1976	0	1	6	1	0	0	0	8
	1977	1	4	4	4	1	0	1	15
ケブカクロバエ	1975	13	19	79	290	99	303	128	931
	1976	8	7	81	160	167	162	18	603
	1977	116	151	84	261	224	245	197	1,278
フタオクロバエ	1975	0	0	5	39	15	60	20	139
	1976	2	7	10	42	45	128	7	241
	1977	9	80	15	20	26	92	79	321

* 細菌部

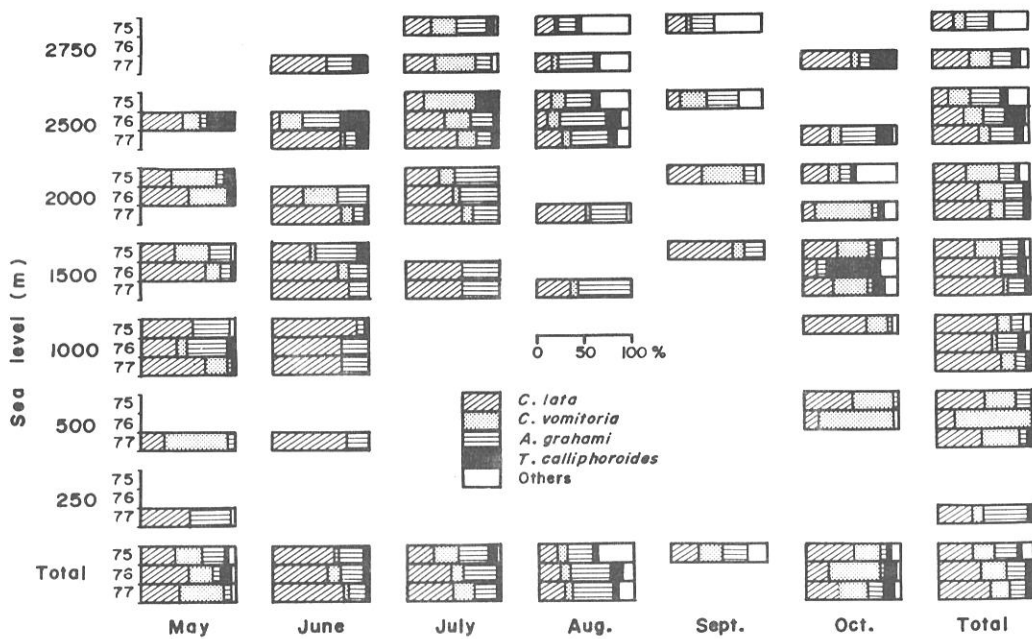


図1 種構成の標高および季節による変化
 (1地点50個体以上, 合計100個体以上が捕集されたものについて示す)

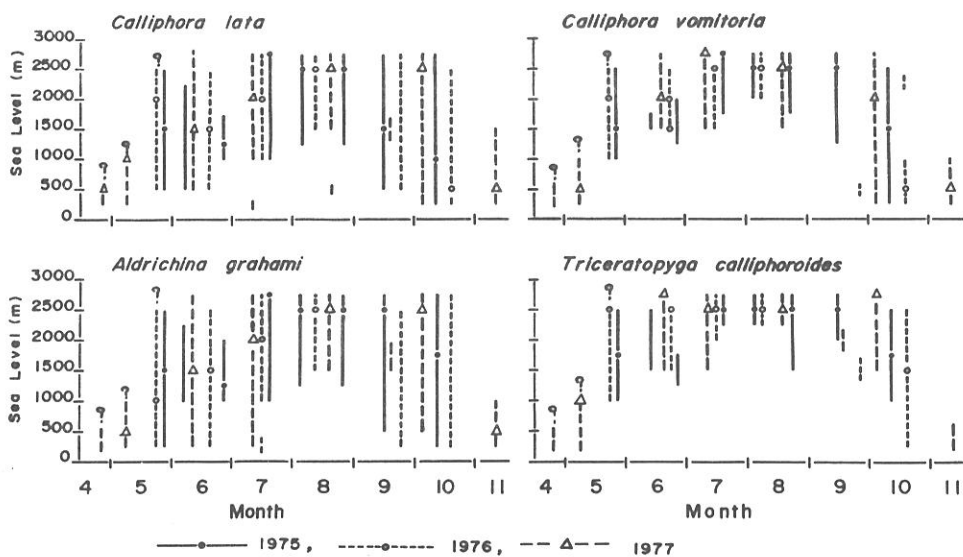


図2 主要種の分布帯とその季節変動
 (棒の範囲は捕集範囲, ・ ; ○ ; △ は最多捕集地を示す)

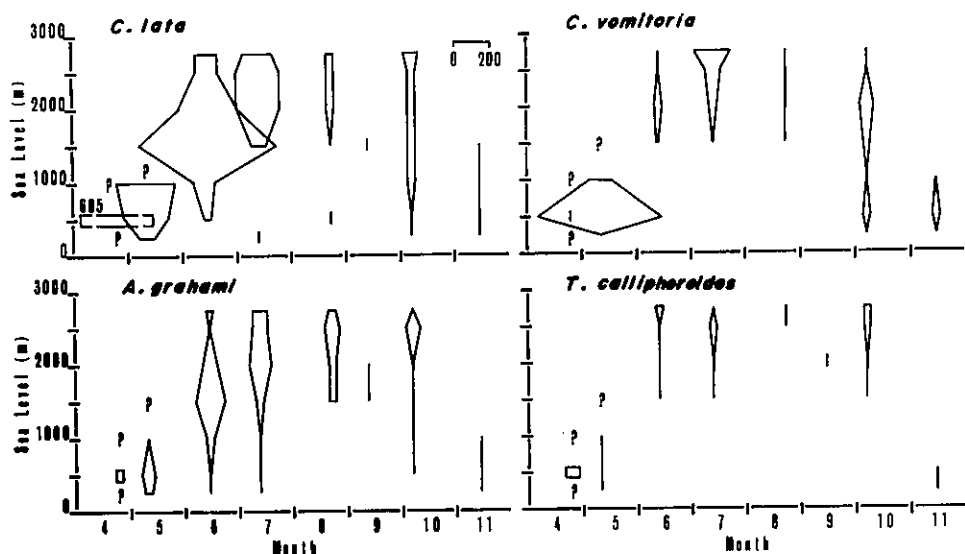


図3 主要種の垂直分布とその季節変動(1977年)

オオクロバエ *Calliphora lata* は最も多く捕集され、クロバエ類全体の約半数を占め、7~9月の高山帯を除いた、ほぼ全域で優占種となった。本種は夏季を除けば低山帯から高山帯まで広く分布し、低山帯における消長は春・秋の2山型で、高山帯では夏の1山型を示した。また春から初夏にかけて、低山帯から高山帯へと順次捕集個体数の多い地点が移動し、残雪に覆われている2,500mや2,750mの地点でも多く捕集された。この現象は上村ら(1975)がすでに指摘しているように、秋に適温域を求めて低山まで下降したハエが、越冬後、春の雪どけとともに再び高山帯へ移動してくるためと考えられるが、卵巣成熟度や翅長の測定などを行なって、更に検討する必要がある。

図4はクロバエ類3種の性比の標高および季節による変化を示したものである。オオクロバエの性比(オス率)は、全体として40~50%を示しているが、5月に低く、6,7月に高い値がみられた。また、1,000~1,500mで最も高く、標高が上がるにしたがって低くなる傾向を示した。前者は、越冬個体群への新生個体の急激な加入によるものと思われ、後者は、越冬個体群の移動と新生個体群の加

入の時期および雌雄の飛行習性の相違等が関連しているものと推察される。

ミヤマクロバエ *C. vomitoria* はオオクロバエについて多く、クロバエ類の約25%を占め、5~7月に亜高山帯と高山帯で、10月には亜高山帯と低山帯でかなりの比率を占めるが、優占種となることは少なかった。本種はオオクロバエに比べて分布帯が狭く、より高所に分布しているが、季節消長はほぼ同様な傾向を示した。また、1976年10月18日と1977年5月10日に500m地点で多数の個体が捕集されたことから、500m地点、或いはより低地での越冬の可能性が示唆される。本種のオス率は1977年5月を除けばいずれも極端に低く、オオクロバエとは酷似種でありながら、その生態がかなり異なるものと推察される。

クモオオクロバエ *C. loewi* は1975年の8~9月の高山帯で多数捕集され、高い構成比がみられたが、76,77年はかなり少なく、オス率はミヤマクロバエと同様に極端に低かった。

ケバクロバエ *Aldrichina grahmi* はクロバエ類全体の約20%を占め、6~9月の亜高山帯と高山帯でかなり高い構成比を示した。本種はオオ

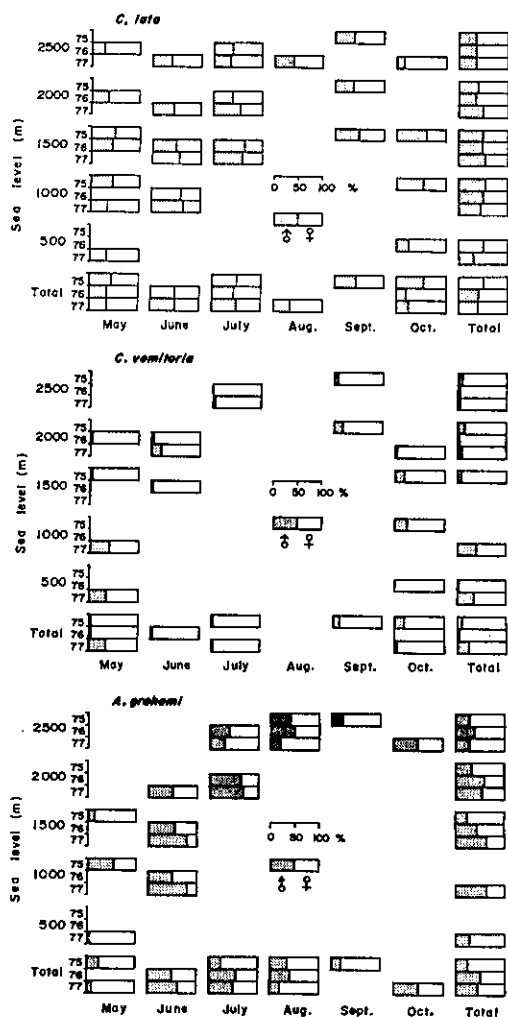


図4 クロバエ類3種の性比の標高および季節による変化
(1地点50個体以上, 合計100個体以上が捕集されたものについて示す)

クロバエと同様な季節消長を示し, 分布帯もよく一致しているが, 捕集数は亜高山帯から高山帯にかけて多かった。また, 性比はオオクロバエとよく似た傾向を示した。

フタオクロバエ *Triceratopyga calliphoroides* はクロバエ類の約5%程度で, 6~8月の

高山帯でや、高い構成比がみられた。本種の分布帯はミヤマクロバエと同じく, オオクロバエやケブカクロバエに比べて分布帯が狭く, より高所に分布していた。季節消長はオオクロバエとほぼ同様であるが, 捕集数はケブカクロバエと同様に, 亜高山帯から高山帯にかけて多かった。

まとめ

立山山岳観光地において, 1975~77年の5~11月に, 標高250~500mおきに, 豚レバーハエトラップを設置し, クロバエ類の垂直分布を調査した。

1. オオクロバエ・ミヤマクロバエ・ケブカクロバエの3種は, クロバエ類全体の85~95%を占め, オオクロバエとケブカクロバエは, 夏季を除いて, 低山帯から高山帯まで広く分布していた。
2. これら3種の, 低山帯における消長は春・秋の2山型で, 高山帯では夏の1山型を示した。
3. オオクロバエとケブカクロバエは, オス, メスほぼ同数が捕集されたが, ミヤマクロバエはメスが大半を占めた。

文 献

- 1) 荒井優実ら(1978), 衛生動物, 29, 70
- 2) 上村 清ら(1975), 衛生動物, 25, 317
- 3) 上村 清ら(1976), 生理生態, 17, 313

富山新港貯木場周辺に大発生する クロシヨウジヨウバエの生態と駆除

渡 辺 護

結果と考察

この調査は主に水面貯木場で行なっているが、1975年から1部路面貯木場での発生数調査も加えており、それらの発生生態の比較を試み、クロシヨウジヨウバエ *Drosophila virilis* の貯木場における多発生を考察する1資料に供することを目的とした。

調査地および調査方法

水面貯木場は従来通り、富山新港中野水面整理場の周辺にバナナ誘殺トラップを15定点設け、年間を通してほぼ毎週1日間の誘殺を行なった。

路面貯木場は富山市米田貯木場に3定点を設け、中野整理場と同様の方法で同じ日に誘引誘殺を行なった。

図に過去3年間の両貯木場における捕獲数の季節変動を示した。1975年は両貯木場とも捕獲数が多く、しかも、発生のピークが明瞭であった。すなわち、水面貯木場では初夏にピークがみられ、路面貯木場では盛夏にピークが観察された。

1976年は両貯木場とも捕獲数が半減し、発生のピークも不明瞭になった。

1977年は水面貯木場での捕獲数は1976年と同じ様に少なかったが、路面貯木場での捕獲数は多く、発生のピークも盛夏に明瞭に現われた。

これら捕獲数の年度による違いが認められ、発生生態が複雑に思われる一方で、発生初期の4月、5月を水面、路面で比較すると興味ある差異が認められ、それが3年とも同様のパターンを示している。すなわち、水面ではここ

では示さなかったが、3月から発生が認められ、4月から6月にかけて、世代交代を繰り返しながら、徐々に個体数を増加させていったが(渡辺, 1975), 路面では3月から発生が認められても、6月になるまで増加が起らない。そして、6月から8月にかけて急激に増加する傾向が観察され、1975年, 1977年で顕著であった。

この発生初期の個体数の増加過程は水面と路面という形態の差がクロシヨウジヨウバエの生産に大きく影響していると考えられる。今後は発生源となる新しい木材の入荷出荷状況と発育を左右する気温, 湿度などの気象状況を把握して、クロシヨウジヨウバエの発生数との関連をきめ細かく観察し、多発要因を明確にして、その要因を取り除

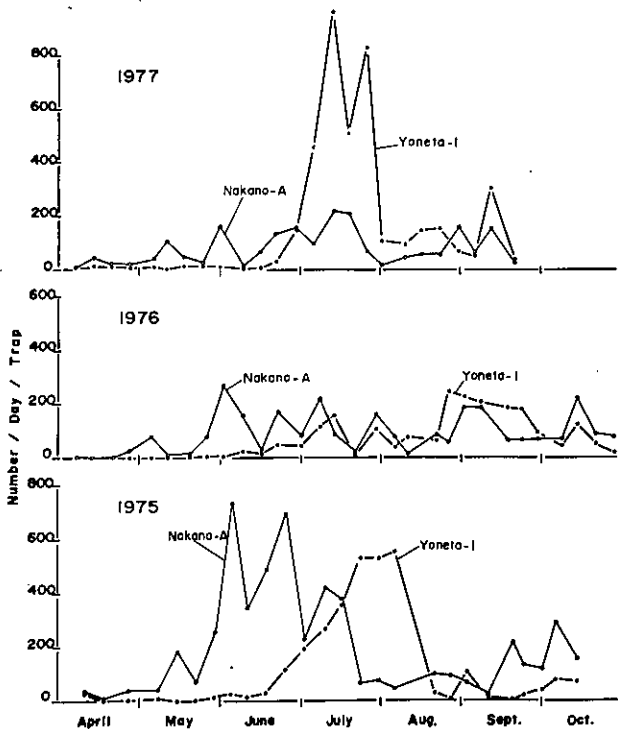


図 水面 (Nakano-A) と路面 (Yoneta-1) 貯木場におけるクロシヨウジヨウバエ捕獲数の季節変動の比較

く一方で、殺虫剤などを用いて、総合的な防除を考
えて行く必要があると思われる。

ま と め

水面貯木場では初夏に、路面貯木場では盛夏に多
発する傾向が観察された。この発生の違いは水面と
路面の構造の差が、クロシヨウジヨウバエの発育に
適する木材の湿り具合と密接な関係があると推察さ

れ、今後のきめ細い観察が必要と思われた。

文 献

山下貴美雄ら(1974), 害虫(シヨウジヨウバ
エ)防除対策調査研究中間報告, 2:2, 京都府衛
生研究所。

渡辺 護(1970), 衛生動物, 27:21.

同上 (1977), 同上, 28:45.

クサギカメムシの生態と駆除について 1. 室内飼育法の検討と卵巣発育過程

渡辺 護, 上村 清, 小泉 泰久*

はじめに

クサギカメムシ *Halyomorpha mista* は県内の山間地に広く分布し、不快な臭いを出すことで知られており、富山県の地方名を「ヘクサンボ」¹⁾ という。本虫の臭気被害は朝日町、宇奈月町、立山町、大山町、福野町、福光町などで顕著である。人家内に侵入した本虫は殺虫剤で殺すことが出来るが、死ぬ際に大変強烈な臭気を放出するため、本虫の防除は人家内への侵入を阻止する方法を見出すことが最良と思われる。そこで、本虫の越冬生理を調査、観察して人家内への越冬阻止を見出すことが本研究の主目的と考えられる。

初年度の1977年は野外における生活史と飼育方法の確立および卵巣の発育過程に観察の目標をおき、富山における本虫の周年経過を明確にしようとしてみた。

観察地および実験方法

野外における観察は宇奈月温泉と千寿ヶ原温泉の2地点で行なった。両地点ともほぼ毎月1回、ホテルか旅館もしくは事務所でクサギカメムシの捕獲と付近の草むら、畑、林内での採集を行なった。

室内飼育は4月15日の宇奈月の捕獲34個体(雌20個体, 雄14個体)と千寿ヶ原4月21日捕獲の58個体(雌31個体, 雄27個体)を出発個体とした。飼育容器は縦、横、高さ18×12×15cmのプラスチック水槽にガーゼの覆いをしたものと径1.5cmのデシケーターを用いて、芽出し大豆を餌として、温度25°C、湿度85%以上、日長14L10Dで継代飼育した。

卵巣の発育過程の観察は、人家内への侵入個体を予備観察に用い、剖検方法を確認した後に、上記の継代飼育で得られた羽化成虫を経日的に毎回5個体

を剖検した。しかし、初年度のこともあり、飼育の不慣れで個体数を多量に準備出来なくなり、温度25°C日長14L10Dの条件下での観察しか行なえなかった。

結果と考察

1) 野外個体群の生活史

人家内越冬虫は4月の雪溶けとともに越冬から覚め、人家内を徘徊するが、野外に飛び出す個体は少ない。そして、5月中旬になると大部分のクサギカメムシは野外に飛び出す。しかし、人家付近のケヤキ、グミ、クワ、アケビなどで休息もしくは交尾などを行ない、飛翔性は小さいように思われる。6月に入ると、人家内ではまったく観察されず、付近の木立にも少数しかみられないようになる。7月、8月になると人家付近から全く姿を消し、少し離れたクズヤクサギで少数が観察され、産下された卵塊を観ることが出来る。しかし、若令幼虫は観察できなかった。9月中旬になると、5月に観察されたと同じように人家付近のケヤキ、クワ、キイチゴなどに成虫と老令幼虫が観察されるようになる。しかし、5月の時には活動性は低かったが、9月の個体は活発に動き回っていた。そして、10月から12月初旬にかけて、人家内に侵入して越冬することが観察された。

2) 飼育成績

小型プラスチック水槽は湿度の管理が難しく、恒温恒湿器が必要であった。また、カビなどによって飼育成績は悪いように思われた。デシケーターは湿度の保持も良く、カビなどの害も少なく飼育が容易であった。

表-1にデシケーターで飼育した成績を示す。

表-1 各令期に要する平均的日数と生存率

	卵	1令	2令	3令	4令	5令	合計
期間日数	7	6	10	9	9	11	52日
生存率	100	82	58	52	50	45	45%

出発卵数; 61卵塊1.603卵。

(25°C14L10D, 芽出し大豆で飼育)

* 黒部保健所衛生課

ふ化率 82% (1314/1603卵), 2令幼虫化率 58% (929/1603) と2令幼虫になるまでに略々半数が死亡する。最終的に成虫になったのは721個体, 45%であった。その時の雌率は50.8%であった。ふ化率は同一の雌成虫が後半に産下した卵塊ほど悪い傾向にあり, 第1回目産卵だけを見るとふ化率は94.5% (635/672)であった。本虫の特徴は2令幼虫化率が低く, それぞれ

の卵塊で観察された。死亡原因は不明であるが1つの要因として, 3令になるまで本虫は集合して生活する性質があり, 飼育管理の際にその集合性を破壊することが考えられる。

越冬成虫の覚醒後の産卵回数および産卵数を表-2に示した。同一の雌の最多産卵回数は7回, 産卵数は168個であり, 平均的産卵回数は2.5回, 66卵であった。

表-2 越冬成虫の産卵回数と産卵数

	産卵回数							産卵数					
	1	2	3	4	5	6	7	14	15	25	28	29	36
数	4	12	3	3	1	0	1	7	1	1	50	1	1

3) 卵巢發育過程の觀察

図-1に示す生殖器官を実体顕微鏡下の生理食塩水の中で取り出し, 片側に7個ある卵巢小管をスライドガラス上に移して観察した。図-2に卵巢小管の發育区分を示した。

第I-N期; 小管は砲弾状で栄養細胞のみ. 1-1.2mm

第I期; 小管基部が伸長する. 1.5-1.9mm

第II期; 小管基部に卵黄顆粒が認められ, 第1卵胞が形成される. 2.2-2.8mm

第III期; 第1卵胞が円形になり, 第2卵胞も形成され, 卵黄顆粒の蓄積が認められる. 2.5-3.1mm

第IV期; 第1卵胞がほぼ産下卵の形状になるが,

第2卵胞は第1卵胞の半分ほどの長さである. 3.0-3.5mm

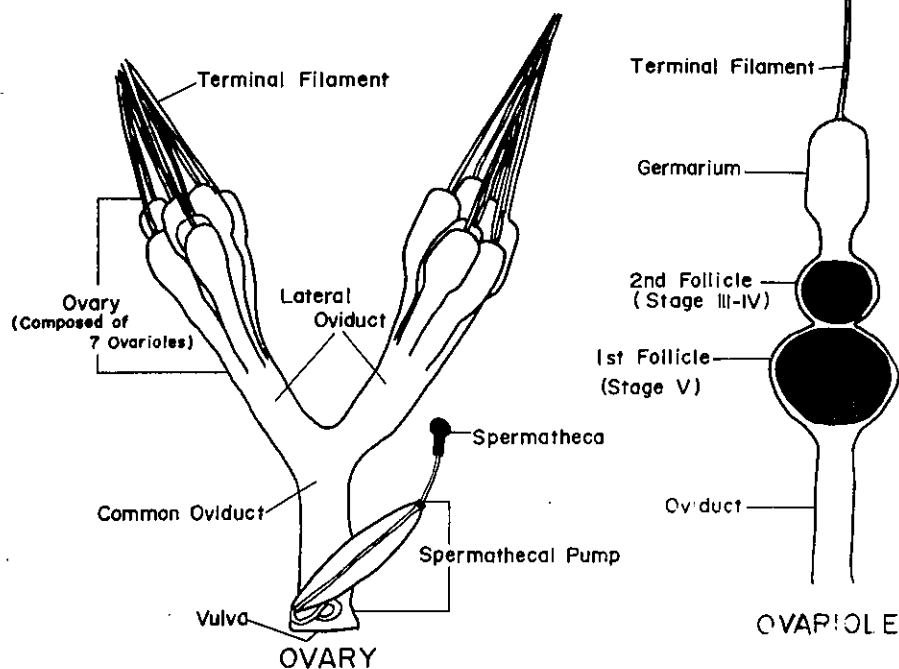


図-1. クサギカメムシ雌の生殖器官の模式図

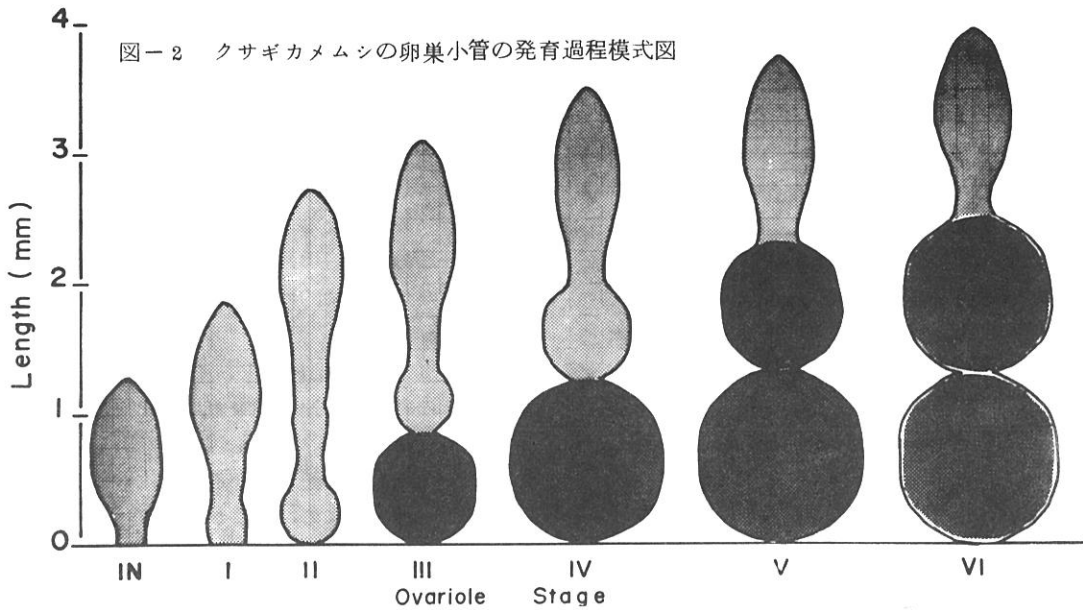


図-2 クサギカメムシの卵巢小管の發育過程模式図

第V期；第1卵胞は完全に産下卵の形状になるが、第2卵胞は未成熟である。3.1～3.8mm。
 第VI期；第1卵胞，第2卵胞とも完全に産下卵の形状になる。3.5～4.0mm

卵巢の發育速度を図-3に示した。羽化後4日目にはほぼ交尾を終え，8日目には第1卵胞が成熟卵に達した(第V期)が，第2卵胞ともども成熟卵に達するのは羽化後10日目からであった。最も遅い例は羽

化後28日目であったが，平均的な成熟卵形成までの日数は14日であった。

前述のふ化から羽化までの平均日数が52日間であるから，ふ化した幼虫が發育して，再び産卵するまでには平均66日間必要であることが明らかになった。これらの結果から，クサギカメムシの化性を考察すると年2化の可能性が示唆される。すなわち越冬覚醒成虫が5月中下旬に産卵すると，7月上中

旬には成虫になり，8月上旬には産卵可能になる。そしてこの卵からの幼虫は9月下旬には成虫になり，そのまま越冬に入ることが出来る。しかし，越冬覚醒成虫や第1化成虫の産卵が遅れて来ると，越冬時期を迎えても成虫になれずに死亡することになる。一方，越冬覚醒成虫は産卵後死亡してしまうが，1化成虫は産卵後越冬するのか，死亡するのか確

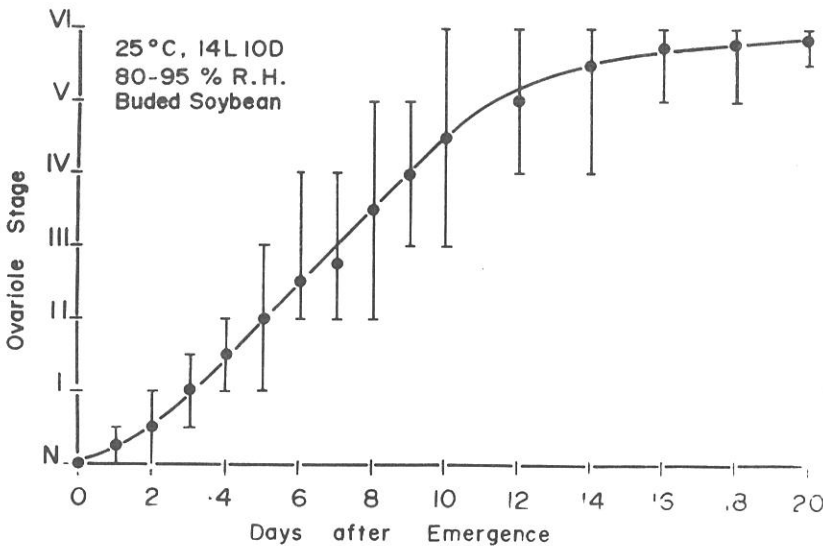


図-3. クサギカメムシの卵巢小管の發育速度。(縦線は發育範囲，黒丸はその平均)

認出来なかった。また、実際に越冬するのは1化成虫が大半なのか、2化成虫が大半なのか、その割合は確認出来なかった。しかし、越冬のために人家内に侵入した雌成虫に脂肪体がほとんど見られない個体もあり、それらが1化成虫の可能性も考えられる。今後この脂肪体を持っている個体と産卵経験の関係など明確にして、富山県におけるクサギカメムシの周年経過を明らかにするとともに、越冬前後の生理生態を把握して、家屋内の越冬阻止の方法を考えて行きたい。

ま と め

1977年4月から宇奈月温泉と千寿ヶ原温泉において、ほぼ毎月1回のクサギカメムシ捕獲調査を行った。また、実験室において飼育法の検討およびその飼育個体を用いて、卵巣の発育過程を観察した。その結果次の点が明らかになった。

1) 越冬覚醒は4月から始まり、5月中旬には交尾活動が活発になって、6月には産卵を開始する。

2) 7-8月は家屋内および周辺で本虫はほとんど観察されない。

3) 9月になると、人家周辺のケヤキ、クワなどで成虫、老令幼虫が観察され、10月から12月にかけて家屋内に侵入、越冬する。

4) 飼育にはデンケータが湿度保持や飼育管理の上で優れていた。

5) 産下卵の成虫羽化率は45% (721/1603卵)、そのときの雌率は50.8%であった。

6) 卵から成虫になるまでに平均52日を要した。

7) 同一雌の最多産卵回数7回、産卵数は168個であったが、平均的産卵回数は2.5回、66卵であった。

8) 温度25°C、日長14L10D、湿度85%以上のときの卵巣発育速度は最短10日、最長28日、平均14日であった。

9) 以上の諸点を考えあわせると、本県におけるクサギカメムシは年2化の可能性が示唆された。

文 献

Cuda, J. P. et al. (1976) Ann. Ent. Soc. Amer., 69: 977

藤崎憲治 (1977), 遺伝, 31: 29.

小林 尚, 木村重義 (1969), 東北農試研報, 37: 123.

斉藤 豊ら (1964), 衛生動物, 15: 7.

清水喜一 (1976), 植物防疫, 30: 142.

梅谷献二 (1976), 同上, 30: 133.

〔研究報告〕

アベイト，スミチオンの水和剤による ブユ幼虫駆除の検討

上村 清，渡辺 護

はじめに

1976年8月から1977年7月にかけて、ブユ幼虫駆除の基礎資料を得る目的で、富山県・長野

県などの延15水系において、アベイトおよびスミチオンの水和剤を用いて適用試験を行った。

試験方法

調査水系：川幅40cmから240cmの1分間流量10t未満の山脚部15水系を対象とした。富山県下で延10水系（大沢野町須原，小矢部市稲葉山など），長野県山の内町志賀3水系，愛知県瀬戸市定光寺2水系の計15水系で行った。

散布方法：アベイト temephos 5%水和剤を1分間流量あたり0.05ppmから1ppmの10倍量を水6ℓに希釈して10分間連続投与した。流量は広井式流速計を用いて測定した。同様にスミチオン sumithion 10%水和剤を1分間流量あたり0.1～2.6ppm，10分間連続投与した。なお、アベイト5%含有発泡錠剤500mgのもの（三共KK試作）を化繊ネットにて流水中につるして約30分で融解させ、効力を比較した。

試験対象種：主なる種はスズキアシマダラブユ *Simulium suzukii*，ウチダツノマユブユ *S. uchidai* の2種で、富山県下では他にハクサンツノマユブユ *S. (Eusimulium) sp.*，アシマダラブユ *S. japonicum*，オタルツノマユブユ *S. subcostatum*，アオキツメトゲブユ *S. aokii*，長野県志賀では他にアシマダラブユ，ツメトゲブユ *S. iwatense*，愛知県定光寺では他にアオキツメトゲブユ，アシマダラブユ，ミエツノマユブユ *S. mie*，ヒメアシマダラブユ *S. arakawae*，オオムタホソネブユ *S. omutaense* が含まれる。

結果と考察

調査結果を表1，図1，図2に示す。

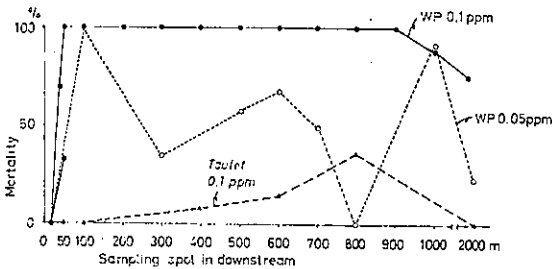
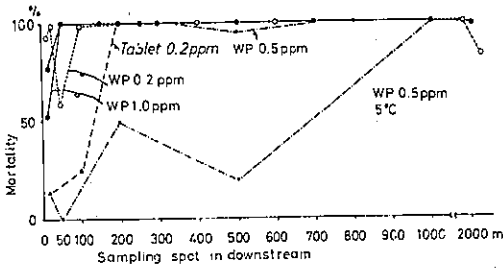


図1 アベイト水和剤0.05～1ppmの10分間投与によるブユ幼虫の流失率

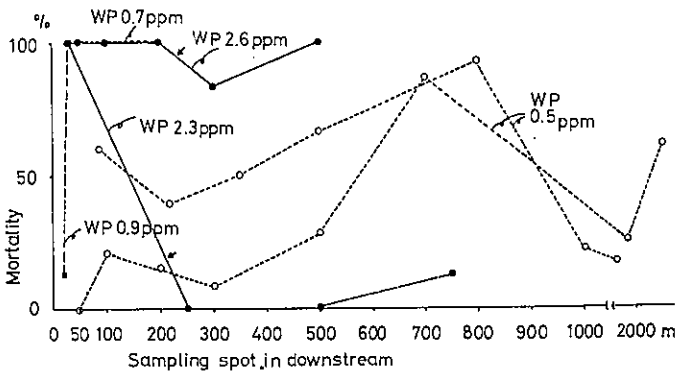


図2 スミチオン水和剤0.5～2.6ppmの10分間投与によるブユ幼虫の流失率

表1. アベイトおよびスミチオンの水和剤のブユ幼虫駆除効果
(0.05~2.6ppmの10分間処理24時間後判定)

濃度 ppm	月日	幼虫生残数/幼虫数(生残率)							流量 t/min	水温 ℃
		-10m	10m	50m	200m	500m	1000m	2000m		
A 0.05	7-28	$\frac{21}{22}$ (95)	$\frac{29}{24}$ (100)	$\frac{0}{12}$ (0)	$\frac{20}{31}$ (75)	$\frac{17}{46}$ (37)	$\frac{33}{70}$ (47)	$\frac{14}{18}$ (78)	3.74	18
A 0.1※	11-2	.	$\frac{4}{4}$ (100)	$\frac{2}{3}$ (67)	5.5	7
A 0.1	7-21	$\frac{52}{39}$ (100)	$\frac{23}{20}$ (100)	$\frac{8}{61}$ (13)	$\frac{0}{68}$ (0)	$\frac{0}{101}$ (0)	$\frac{19}{240}$ (8)	.	3.74 (5.27)	17
A 0.2	6-30	$\frac{128}{89}$ (100)	$\frac{3}{46}$ (7)	$\frac{32}{188}$ (17)	$\frac{1}{89}$ (1)	$\frac{0}{265}$ (0)	$\frac{0}{119}$ (0)	$\frac{8}{19}$ (16)	4.2 (11.0)	16
A 0.4※	11-2	.	.	.	$\frac{0}{3}$ (0)	$\frac{0}{3}$ (0)	.	.	1.78	7
A 0.5	11-2	.	$\frac{7}{8}$ (87)	$\frac{18}{14}$ (100)	$\frac{2}{4}$ (50)	$\frac{4}{5}$ (80)	$\frac{0}{4}$ (0)	$\frac{0}{1}$ (0)	6.5	5
A 0.5	10-21	$\frac{5}{5}$ (100)	.	$\frac{0}{15}$ (0)	$\frac{0}{25}$ (0)	$\frac{1}{57}$ (2)	$\frac{0}{31}$ (0)	$\frac{0}{7}$ (0)	9.07	14
A 0.5	9-2	$\frac{4}{4}$ (100)	$\frac{0}{2}$ (0)	$\frac{0}{5}$ (0)	$\frac{0}{6}$ (0)	.	.	.	1.9 (4.0)	15
A 1.0	9-2	$\frac{14}{10}$ (100)	$\frac{5}{22}$ (23)	$\frac{0}{21}$ (0)	$\frac{0}{39}$ (0)	$\frac{0}{189}$ (0)	.	.	9.84	15
A 1.0	9-2	$\frac{61}{47}$ (100)	$\frac{14}{29}$ (48)	$\frac{0}{8}$ (0)	$\frac{0}{26}$ (0)	.	.	.	0.95	14
S 0.5	10-21	$\frac{10}{10}$ (100)	.	$\frac{11}{28}$ (39)	$\frac{9}{15}$ (60)	$\frac{10}{22}$ (45)	$\frac{13}{27}$ (48)	.	3.3	14
S 0.5	7-28	$\frac{37}{36}$ (100)	$\frac{103}{98}$ (100)	$\frac{68}{66}$ (100)	$\frac{334}{406}$ (82)	$\frac{74}{103}$ (72)	$\frac{13}{34}$ (38)	.	2.17	18
S 0.7	11-2	.	$\frac{0}{3}$ (0)	.	.	$\frac{0}{5}$ (0)	.	.	2.82	12
S 0.9	8-2	.	$\frac{15}{20}$ (75)	0.27	16
S 2.3	10-1	$\frac{5}{5}$ (100)	$\frac{0}{6}$ (0)	.	.	$\frac{3}{8}$ (100)	$\frac{6}{7}$ (86)	.	0.44 (2.3)	15
S 2.6	10-1	$\frac{25}{26}$ (96)	$\frac{0}{12}$ (0)	$\frac{1}{45}$ (2)	$\frac{0}{17}$ (0)	$\frac{6}{47}$ (13)	.	.	2.3 (5.0)	16

A:アベイト, S:スミチオン, ※印は同一水系で中間点で薬剤追加を示す

すなわち、アベイト水和剤では1分間流量あたり0.05ppmを10分間散布した場合は200mより下流で生残率37~78%と残存個体が多く認められた。しかし、0.1ppm以上の濃度では投入点から100m下流より1,000m下流までの生残率が一部例外を除いて、0~8%と低く、ブユ幼虫駆除効果が顕著で、2,000m下流でも生残率16%と駆除効果が認められた。しかし、低温下では効果が劣るようで、水温5℃下で500m下流まで50~100%が残存した。また、50m下流までは0.2ppmでも17%が残存し、10m下流では1ppmでも23~48%が残存した。これらは薬剤の拡散にむらが大いことに基づくと考えられる。

同一水系では急流箇所や老熟幼虫の方が残存しやすい傾向にあり、幼虫の薬剤摂取性とは矛盾していた。蛹に対しては1ppmでも駆除効果が認められず、羽化してくる。

なお、アベイト5%含有発泡錠500錠のものをビニールネットに入れて流水中につるし、10分間薬量相当を約30分間で融解させたが、0.1ppmでは50m下流で100%(15/15)、200m下流で92%(24/26)、500m下流では85%(11/13)、1,000m下流で62%(18/29)、2,000m下流で100%(13/13)と大半残存し、0.2ppmでも効果が不安定で、多量残存した。このように残存したのは、総薬量が

同じでも単位時間あたりの薬量が少なかったほか、薬剤の拡散性が劣り、沈降性が大きいためと考えられる。

また、スミチオン水和剤では、1分間流水量あたり0.5ppmの10分間散布では200m下流にて60～82%，500m下流にて45～72%，1000m下流にて38～48%と幼虫が多数残存したが、一応の効果が認められる。2.3および2.6ppmの高濃度散布にもかかわらず下流で効力が低下しているのは、中間点で川が合流し、カッコ内の下流の流水量で示すように、水量が増して有効濃度が低下したためである。このようなことがなければ十分に駆除できたと思われる。従って、ブユ幼虫駆除のためには、スミチオンはアベイトの約10倍量である1分間流水量あたり1ppmを10分間投与することが必要のように考えられる。なお、アベイトではブユ幼虫が流失していても水生昆虫の一部が残存していることが目立ったが、スミチオンではそれらをも一掃してしまう傾向にあった。低温での効力低下はアベイトほど明らかではなかった。

ま と め

アベイトおよびスミチオンの水和剤でブユ幼虫の駆除試験を富山県下などの15水系で行った。その結果、アベイトでは1分間流水量あたり0.1ppm、スミチオンでは1ppmを10分間連続投与すれば、ブユ幼虫を100～1000m下流まで駆除できた。投入点付近や2000m以上の下流、急流箇所や老熟幼虫は残存しやすい傾向にあった。発泡錠剤では効力が劣った。

なお、富山県での対象種はスズキアシマダラブユ、ウチダツノマユブユ、ハクサンツノマユブユ、アシマダラブユ、オタルツノマユブユ、アオキツメトゲブユの6種であった。

本調査の一部は文部省科学研究費「オンコセルカ症対策のための媒介昆虫防除、化学療法および効果判定について」の助成を受けた。

文 献

- 折井 健ら(1964)：衛生害虫，8：1。
Wallace et al. (1973)：Can. ent., 105：817。
World Health Organization (1976)：WHO Technical Report, 597：94pp.

〔研究報告〕

Simulium ochraceumの卵巣発育過程 と産卵間隔および回数について*

渡 辺 護

はじめに

本種ブユはグアテマラ共和国におけるオンコセルカ症の主要媒介ブユであり、日・グ2国間科学協力により、1976年から発生源などの調査が行なわれ、駆除対策が立てられる状況になって来た。しかし、一方では本種の生理生態学的知見が少なく、恒久的な防除システムを考えるには到っていない。そこで、最も基礎的な本種媒介ブユとオンコセルカ症原因糸状虫の *Onchocerca volvulus* との関係を確認しておく必要がある。その1つに吸血の際にブユ体内に取り込まれた *O. volvulus* のミクロフィラリアが発育して、感染型幼虫になる期間と、感染の機会であるブユが再び吸血する間隔が旨くシンクロナイズされているか、否かを明確にする必要がある。

本報告は室内実験におけるブユの卵巣発育と野外個体群の剖検観察から、*Simulium ochraceum* の吸血→産卵間隔 (Gonotrophic Cycle) を考察しようと試みたものである。

調 査 方 法

次の手順によって調査を進め、考察を試みた。

- 1) 人を吸血させた個体を室内で個別飼育して、経時的に剖検、卵巣の発育過程、速度を観察する。
- 2) ヒト吸血嚙来個体を剖検して、卵胞期 (Follicular stage) が何期であるか観察する。また同時に産卵経験の判定方法の検討を行なう。
- 3) 蛹の採集を行ない、それらからの羽化成虫を用いて、前項の卵胞期になるまでの日数を剖検観察して、羽化から吸血までの期間 (吸血前期間) を決定する。および、新生成虫の特徴を明らかにする。
- 4) 1) から 3) までの観察結果から、羽化→吸血→産卵までの最短期間を決定する。
- 5) 野外の一定点において定期的にブユ成虫を採集して、野外個体群の産卵経験率、Sac-like dilatation、新生成虫率などを観察して、野外個体群の産卵間隔を推定する。

6) 最後に全てを総合して、ブユの吸血→産卵間隔を考察する。

結果および考察

1) 産卵経験および回数 の 判 定

外部形態 (例えば平均桿など) では産卵経験の判定は難しいと考えられたので、一般的な卵巣の形態変化による方法を追試、再確認を行なった。また、*Simulium damnosum* で Crosseky (1958)、Duke (1968) などが行なった脂肪体の消失程度による判定方法は *S. ochraceum* では利用できなかった。すなわち、*S. ochraceum* における脂肪体は羽化後4日以内の新生成虫にのみ観察された。このことは新生成虫の重要な特徴として利用できる。

S. ochraceum における産卵経験の判定は Polovodova (1941)、Detinova (1962) らの、産卵収縮物 (Follicular dilatation) の有無によって判定できた。また、産卵経験個体の卵巣は解剖の際に容易に取り出せること、および共通輸卵管の傘状部が産卵遺残物の顆粒などで不透明 (黄味を帯びる) になること (図-1) などによっても産卵経験の有無を判定出来たが、産卵回数 の判定は困難であった。

産卵回数は今回の観察では産卵収縮物の個数によってのみ判定出来たが、3回以上の多経産個体は観察出来なかった。このことは野外個体群の生理的年令が若いということばかりでなく、多経産個体の産卵収縮物が観察しにくい、見落している可能性があるように思われる。

2) 卵巣の卵胞期区分と発育速度

卵胞期を Christophers (1911) をモデルにして、6段階に区分し (図-2)、その時の計測値を表-1、2に示した。

第I期N. 栄養細胞の分裂が不十分。25-30μm

a. 栄養細胞の分裂が活発になるが、卵胞は円形である。40-60μm.

* 本研究は国際協力事業団のオンコセルカ症研究対策プロジェクトの短期専門家として、1977年10月1日から1978年1月10日まで、グアテマラ共和国に派遣された時の任務課題および結果である。

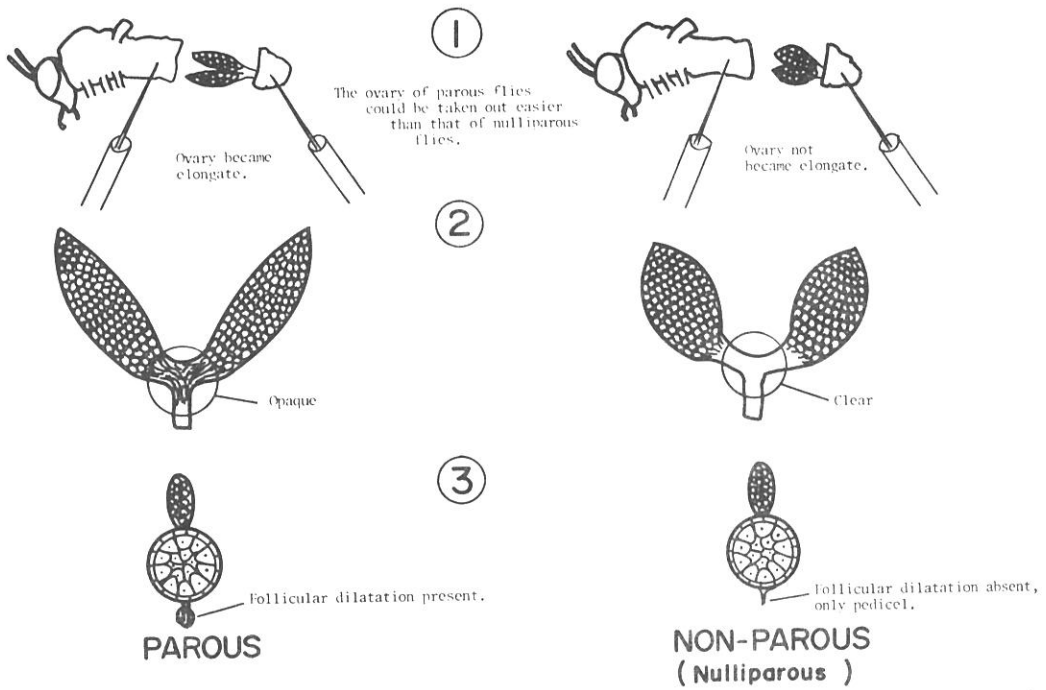


図-1. ブユの産卵経験の判定法。

(3 判定基準のうち、2つあれば産卵経験有と判定した。)

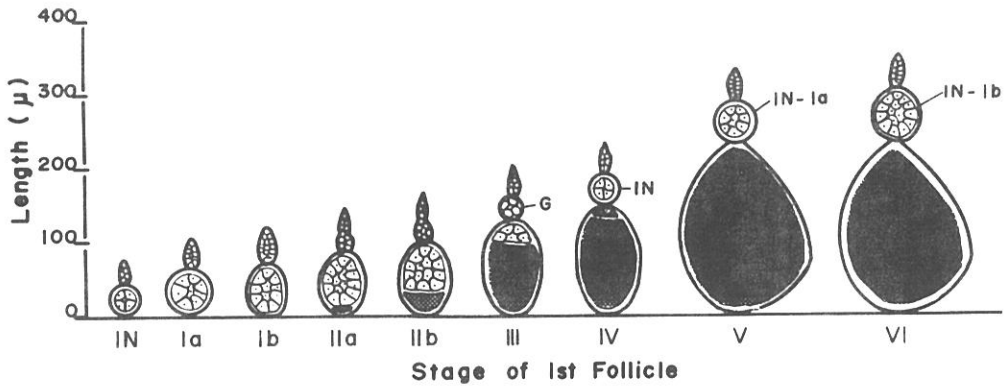


図-2 *Simulium ochraceum* の卵巣小管発育過程とその卵胞期。

- | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>b. 卵胞が楕円になるが、卵黄顆粒が認められない。</p> <p>第II期 a. 卵黄顆粒が認められるが、卵胞の $1/3$ 以内である。 $60 - 80 \mu\text{m}$。</p> <p>b. 卵黄顆粒が卵胞の $1/3$ から $1/2$ を占める。</p> | <p>第III期 卵黄顆粒が卵胞の $1/2$ から $2/3$ を占め、栄養細胞部分より大きくなる。
$120 - 140 \mu\text{m}$。</p> <p>第IV期 卵黄顆粒が卵胞の $4/5$ から $5/6$ を占める。
$140 - 160 \mu\text{m}$。</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

第V期 産下卵の形になり、栄養細胞部分がほとんど消失し、卵黄顆粒で充満する。

180~220 μm.

第VI期 V期と同じ形状を示したが、卵黄部と卵殻との間にわずかな隙間が出来る。

200~230 μm.

羽化後の雌成虫は22°Cの定温下で2日目に卵胞はIb期に發育するが、9日を経過してもII期には進行せずにIb期で發育が停止し、いわゆる休息相を示した(表-1)。

一方、野外個体のIa-b期の雌成虫が吸血してから、VI期になるには22°Cの定温下で4日間であった(表-2、図-3)。

表-1. *S. ochraceum* 羽化後の同一卵巣小管における第1卵胞と第2卵胞の發育の関係。

羽化後日数	観察数	第 1 卵 胞			第 2 卵 胞		
		卵胞期	長さ(μm)	幅(μm)	卵胞期	長さ(μm)	幅(μm)
0	3	IN※	25-30	25-30	G※※	25-30	10-15
1	5	Ia-Ib	50-70	50-55	G	40-50	20-25
2	5	Ia-Ib	50-80	50-55	G	40-50	20-25
3	5	Ia-Ib	50-80	50-55	G	40-50	20-25
4	4	Ia-Ib	50-80	50-60	G	40-50	20-25
5	3	Ia-Ib	50-80	50-60	G	40-50	20-25
6	5	Ia-Ib	50-80	50-60	G	40-50	20-25
9	6	Ia-Ib	50-80	50-60	G	40-50	20-25

※第1期初期 ※※卵胞巢

(22°Cで実験)

表-2. *S. ochraceum* 吸血後の同一卵巣小管における第1卵胞と第2卵胞の發育の関係

吸血後日後	観察数	第 1 卵 胞			第 2 卵 胞		
		卵胞期	長さ(μm)	幅(μm)	卵胞期	長さ(μm)	幅(μm)
0	5	Ia-Ib	50-70	50-60	G※	40-50	15-20
0.5	3	IIb	80-90	55-60	G	40-55	20-25
1	4	III-V	120-150	80-90	IN	25-30	20-30
2	4	IV-V	140-220	80-140	IN	25-30	25-30
2.5	3	V-VI	180-230	120-150	IN	25-30	25-30
3	3	V-VI	200-250	145-160	IN	25-30	25-30
4	30	VI	200-230	150-170	IN-Ia	30-60	25-70
5	25	VI	200-230	150-170	IN-Ia	30-70	25-70
6	27	VI	200-230	150-170	IN-Ib	30-70	25-70
7	19	VI	200-230	150-170	IN-Ib	30-70	25-70
8	18	VI	200-230	150-170	IN-Ib	30-70	25-70
10	30	VI	200-230	160-170	IN-Ib	30-70	25-70
11	39	VI	200-230	160-170	IN-Ib	30-70	25-70
13	30	VI	200-230	160-170	IN-Ib	30-70	25-70

※卵胞巢

(22°Cで実験)

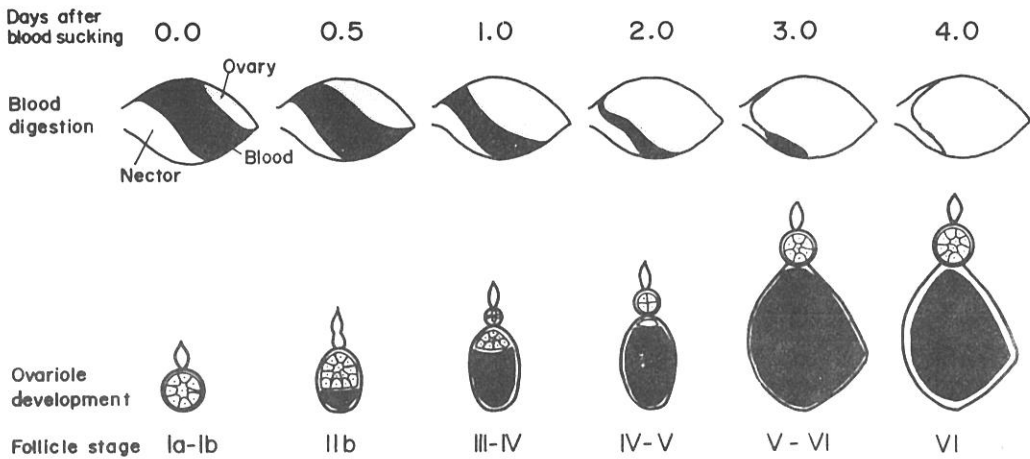


図-3 吸血後の血液消化と卵巢发育の関係。

すなわち、上記の観察結果から最も卵巢の发育が早い個体は羽化後2日で吸血して、吸血後4日間で産卵することを示す。

産卵後の卵巢小管の形態変化、とくに Sac-like dilatation の変化は室内での産卵が不成功のために観察出来なかった。しかし、野外個体群などの観察から産卵後12時間以内は卵巢小管の長さ以上の“Large” Sac-like dilatation で、それ以上24時間以内は卵巢小管基部卵胞とほぼ同長の“Small” Sac-like dilatation になると推察された。また、24時間以上は一般的な dilatation=relic になるものと思われる。

3) 野外個体群の剖検成績

S. ochraceum 野外個体群は一例を除いて (Pena Blanca; 11月9日~10日)、大部分の個体が(84~99.5%) 卵胞 Ia-b 期で吸血襲来している(表-3)。

産卵経験率は35.5~63.2%であった。その47.3~78.3%が産卵後24時間以内に再度の吸血に襲来している Sac-like dilatation 個体であった。

脂肪体を持っている個体は飼育実験の結果から、羽化後4日以内の新生成虫を示しているが、野外個体群の新生成虫率は低い(未産卵個体の14.6%; 230/1578)。前述の如く、第1回目の吸血は早い個体で羽化後2日目程の、まだ十分に脂肪体

を持っている個体と考えられるが、平均的には脂肪体の消失した羽化後5~6日目の個体が多いことが示唆される。

表-4に *S. ochraceum* 以外の剖検成績を示した。産卵経験率は *S. ochraceum* に比べ、*S. metallicum*, *S. callidum*, *S. mexicanum* とともに低い傾向にあったが、Sac-like dilatation 率は *S. ochraceum* と同様の高い傾向を示した。脂肪体保持率は *S. metallicum* で *S. ochraceum* と同様に低かったが、*S. callidum* では高い値を示した。卵巢小管数は3種とも *S. ochraceum* よりも多く、とくに *S. mexicanum* では2倍に達した。

図-4に Santa Monica Ibone における産卵経験率と sac-like dilatation 率の日変動を示した。3回の観察であったが、3回とも同様な日変動を示した。すなわち、産卵経験率は午前中30~40%であったが、午後には50~70%に上昇する。そして、夕刻近くになって下降する。この変動は Sac-like dilatation 率も同じ傾向を示した。このような現象は Garms (1975) も述べており、また、図示しなかったが、Pena Blanca でも観察された。このことは dilatation の収縮過程から、早朝と夕刻に産卵が多いことが示唆される。

図-5に同じ Santa Monica Ibone で10月

表-3. 4地点における *S. ochraceum* の剖検成績.

調査地	調査日	剖検数 (2回産卵)	産卵経験率 ¹⁾	サック状 ²⁾	残卵 ³⁾	第I期 ⁴⁾	脂体 ⁵⁾	吸密率 ⁶⁾	平均
			(%)	遺残物率 (%)	保持率 (%)	卵胞率 (%)	保持率 (%)	(%)	卵巣小管数 (片側)
Santa Monica Ibone	10,Oct.	100	39.0(5.0)	64.1	0.0	84.0	3.0	93.0	—
	16-17,Nov.	1376	47.6(1.2)	57.7	1.5	93.2	7.0	97.1	60.0
	21-22,Nov.	310	35.5(2.3)	47.3	2.9	93.9	14.5	99.5	58.0
	28-29,Nov.	800	58.1(1.8)	45.6	2.8	86.1	6.3	98.4	61.7
	13-15,Dec.	200	42.0(3.5)	50.0	1.5	99.5	9.5	95.4	58.6
Pena Blanca	9-10,Nov.	199	44.2(4.0)	47.7	2.5	59.3	5.0	79.4	67.6
	6-7,Dec.	73	63.0(2.7)	78.3	0.0	84.9	6.8	97.3	73.2
Victoria	25,Oct.	19	63.2(5.3)	66.7	0.0	89.5	5.3	—	—
Guachipilin	28,Oct.	10	40.0(0.0)	50.0	0.0	70.0	10.0	100	60.9
Total		3087	48.7(2.0)	53.0	4.0	89.0	7.5	96.2	59.9

1), 4), 5), 6) 全剖検数に対する割合

2), 3) 産卵経験個体に対する割合.

表-4. グアテマラ産3種ブユの剖検成績

種類 ¹⁾	調査地	調査日	剖検数 (2回産卵)	産卵経験率 ²⁾	サック状 ³⁾	残卵 ⁴⁾	第I期 ⁵⁾	脂体 ⁶⁾	吸密率 ⁷⁾	平均
				(%)	遺残物率 (%)	保持率 (%)	卵胞率 (%)	卵胞率 (%)	(%)	卵巣小管数 (片側)
met.	Sumatan	26,Oct.	31	41.9(3.2)	23.1	0.0	96.8	12.9	—	—
	Guachipilin	28,Oct.	34	47.1(0.0)	62.5	0.0	91.2	5.9	100	89.5
	Pena Blanca	8,Nov. ⁸⁾	33	36.4(0.0)	25.0	8.3	66.7	15.2	75.8	82.3
		9-10,Nov.	31	35.5(0.0)	36.4	0.0	77.4	6.5	81.5	86.5
		6-7,Dec.	65	41.5(10.8)	55.6	14.8	80.0	3.1	83.1	88.1
Total			194	40.7(4.1)	44.3	6.3	82.0	7.7	84.9	86.8
cal.	Guachipilin	28,Oct.	7	42.9(0.0)	66.7	0.0	100	0.0	100	82.6
	Pena Blanca	8,Nov. ⁸⁾	39	53.8(5.1)	23.8	0.0	82.1	53.8	89.7	94.3
		9-10,Nov.	36	55.6(2.8)	65.0	0.0	83.3	38.9	75.0	91.6
		6-7,Dec.	30	26.7(0.0)	87.5	0.0	83.3	13.3	73.3	97.0
Total			112	46.4(2.7)	51.9	0.0	83.9	34.8	81.3	93.7
mex.	Pena Blanca	8,Nov. ⁸⁾	18	38.9(0.0)	57.1	0.0	50.0	0.0	66.7	129.2

1) met. = *S. metallicum*, cal. = *S. callidum*, mex. = *S(H). mexicanum*.

2), 5), 6), 7) 全剖検数に対する割合.

3), 4) 産卵経験個体に対する割合.

8) 馬に飛来した個体を調査(他は全て人で採集).

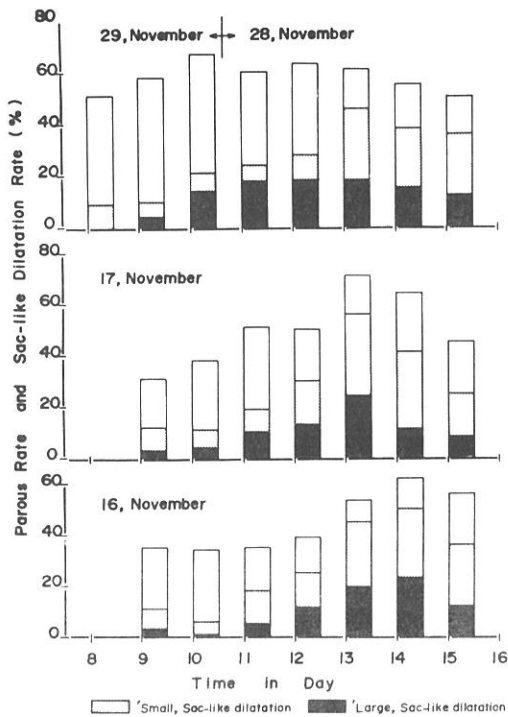


図-4. サンタ・モニカ・イボネ地区における *S. ochraceum* の産卵経験率と

サック状遺残物の日変動

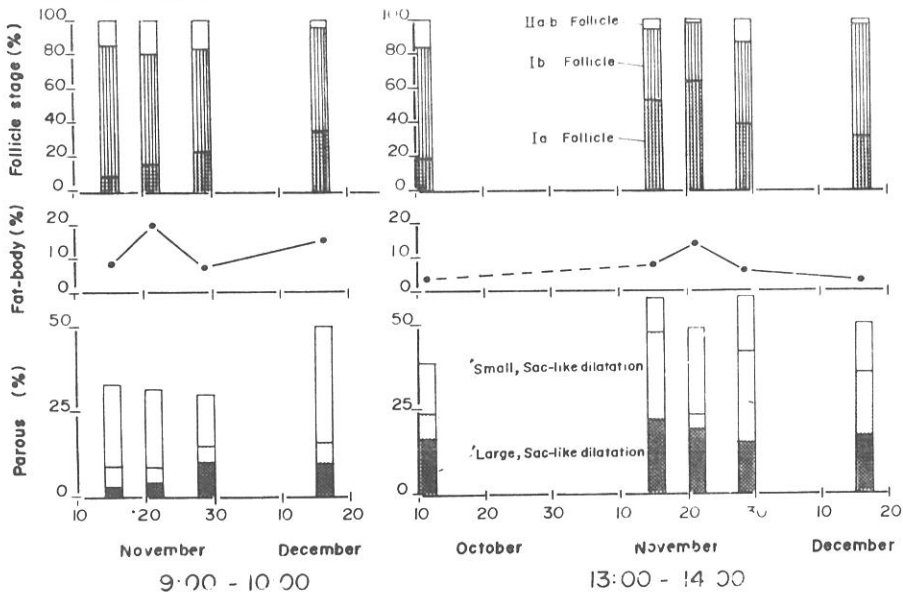


図-5. サンタ・モニカ・イボネ地区における *S. ochraceum* の産卵経験率、サック状遺残物、脂肪体保持率と卵胞期率の2ヶ月間の動き。

から12月にかけて、5回のヒトおとり採集を行ない、同じ時間帯(9:00-10:00と13:00-14:00)にまとめて、卵胞期率と産卵経験率などを示した。調査回数が少なく、しかも間隔も長すぎたために、野外個体群のGonotrophic cycleの把握は出来なかった。しかし、11月21~22日は前週の11月16~17日や次週の11月28~29日に比べ、脂肪体保持率が高く、産卵経験率が低い傾向にあり、新生成虫の加入が多いことが示唆される。

ま と め

図-6に *S. ochraceum* のGonotrophic cycleの模式図を示した。最も羽化後活動と卵巣発育の早い個体を考えると、羽化後1日目には交尾を行ない、それから1日後に第1回目の交尾を行なうと考えられる。そして、吸血した個体は4日間で十分に卵巣が発育し産卵する。それ以後の吸血→産卵の間隔はまのびするものと思われる。

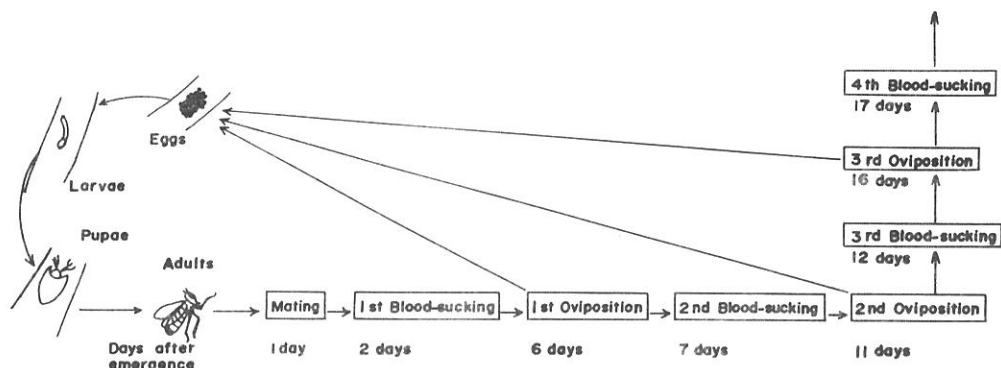


図-6 *S. ochraceum*の吸血→産卵間隔の模式図.

るが、ここでは全て4日間で示した。故に吸血から吸血までの期間を22°Cの定温下で最短5日間として考えた。*Onchocerca volvulus*のマイクロフィラリアがブユ体内で感染型幼虫に发育するには日・グプロジェクトチームの実験から、25°Cで8日間、Colins (1977)の報告では30°Cで4日間であったことから、1回目の吸血でマイクロフィラリアを取り込んだと仮定すると、通常考えられるグアテマラ流行地の気温から(25°C前後)、感染型幼虫を再吸血の際に伝播するのは、3回目もしくは4回目の吸血と考えられる。そのため、最も条件良く发育したブユで最低12日間、もしくはそれ以上生存する必要がある。本種*S. ochraceum*の吸血性は高率を示し、寿命は長いと判断され、充分に最低12日間生存出来ると思われた。また、本種の日生存率Pが一定と仮定すると、産卵経験率355%~63%から、 $0.36 \sim 0.63 = P^4$ から日生存率0.77~0.89となり、12日目の生存率は

5.6~24.7%と推定できる (Wada, 1975)。

第2媒介者と考えられる*S. metallicum*, *S. callidum*も卵巣发育の近似性から、同様の吸血→産卵サイクル(Gonotrophic cycle)を持つものと考えられる。

文 献

- Christophers, S. R. (1911), *Paludism*, 2:73
 Crosskey, R. W. (1958), *Ann. Trop. Med. Para.*, 52:149
 Ditinova, T. S. (1962), *WHO, Mong. Ser.*, 47:69
 Duke, B. O. L. (1968), *Ann. Trop. Med. Para.*, 62:95.
 Garms, R. (1975), *Tropenmed. Parasit.*, 26:169.
 Polovodova, V. P. (1941), *Parazitarn. Bolezi*, 10:387.
 Wada, Y. (1975), *Trop. Med.*, 16:171.

〔 調査報告 〕

ポリオ流行予測調査成績

香取幸治, 松浦久美子, 森田修行

目 的

本調査は昭和38年から49年まで免疫度(感受性)および浸淫度(感染源)調査の両面から実施され、ポリオに対する状況を正しく把握することに重要な役割をはたしてきた。一昨年度から種々のウイルスに感受性の高い若年令層を対象に感染源調査を実施し、野生型ポリオウイルスあるいは生ワクチン由来のポリオウイルスの野外での動態を調査するとともに、その他のウイルスの不顕性感染ならびに流行を知ることを目的とした。

材料と方法

調査地区として上市町と細入村の2ヶ所を選定し、1地区あたり6才以下の健康な乳幼児および児童を対象とした。調査時期は春期生ワクチン投与後2ヶ月以上経過した時点を設定し、糞便を採取した。

採取糞便をイーグルMEMで10%乳剤として、MK細胞、Vero細胞、Hep-2細胞に接種した。ウイルスによるCPE陽性例についてはSchmidtのブール血清を用いてウイルスの型同定をおこなった。型同定の結果、ポリオウイルスであつた場合は分離株を国立予防衛生研究所へ行政検査として送付し、野生または生ワクチン由来のポリオウイルスかの検定を依頼した。

結 果

本調査における糞便からのウイルス分離検査は、上市地区の0~6才の37名と細入村地区の1~5才の34名について実施した。検査した結果を表1に示す。上市地区において、0才の乳児より1株、1才の幼児より2株のウイルスを分離した。これら3株の同定結果を表2に示すように、2株は上記のブール血清で中和されず同定できなかつた。いま1株はポリオウイルス2型であり、1才の幼児から分離されたものであつた。この幼児は生後9ヶ月目になつた時点の5月26日に生ワクチンの投与を受けており、本調査での採便まで2ヶ月を経過して、投与ワクチンウイルスを検出するにはすでに難かしい

時期であつたにもかかわらず分離されたものであつた。最近のポリオ流行予測調査、ウイルスの定点観測などで、全国で分離されているポリオウイルスはすべて生ワクチン由来なので、本調査での分離株も生ワクチン由来と考えられたが、確認のためマーカータストを予研に依頼した。なお、同時に未同定の2株も型決定を依頼した。

一方、細入村地区のウイルス分離状況は、表1および表2に示すように、検査実施の各年令層にわたりコクサツキウイルス(Cox.) B2型あるいはB3型が多く分離された。Cox. B3は1才より3株と4才より1株分離された。Cox. B2は2才から5才の各年令にわたり7株分離された。これらのウイルスが分離された乳幼児について過去2ヶ月間の健康状態を調査したところ、Cox. B3の検出された乳幼児はなんら健康に異常がみられなかつた。ところが、Cox. B2の検出された7名のうち4名は8月中旬から9月上旬にかけて、発熱を主徴とする疾患にかかり、保育園を休んでいた。このことから晩夏の頃細入村近辺にCox. B2およびB3ウイルスの流行があつたのではないかと推測された。

考 察

全国での昭和50年度ポリオ流行予測調査ならびに51年度の病的材料からの分離ポリオウイルスの性状は予研中央検査部での調査によると、すべて生ワクチン様ウイルスであつて、野生型ウイルスは分離されないと報告している。しかし、これら分離生ワクチン様ポリオウイルス株のなかには、血清学的にもマーカータストでも、弱毒ワクチン株とは性状の異なつた株の存在することが認められている(厚生省公衆衛生局保健情報課)。したがつて、今後とも感染源調査をおこない、上述のごとき変異について監視するとともに、健康者のポリオウイルスに対する抗体の保有状況を把握する必要があると考える。

ま と め

上市地区における87名の対象者から、3例のウイルス分離をみた。1例はポリオウイルス2型、2例は同定できなかつた。細入村地区では34名の乳幼児から11例のウイルスを分離したが、これらはCox. B2またはB3型ウイルスであつた。

文 献

厚生省保健情報課(1975), 臨床とウイルス, 3:399

表1 ポリオ流行予測調査被検者年齢分布

区分	地区	採便月日	性別	年齢区分(歳)							計
				0	1	2	3	4	5	6	
ウイルス検査件数	上市町	7月27日	男	3	2 ⁽¹⁾	4	4	3	2		18 ⁽¹⁾
			女	5 ⁽¹⁾	5 ⁽¹⁾	4	2	1		2	19 ⁽²⁾
	細入村	9月27日	男		6 ⁽²⁾	1	1	3 ⁽²⁾	6 ⁽²⁾		17 ⁽⁶⁾
			女	4 ⁽¹⁾	1 ⁽¹⁾	4 ⁽²⁾	5 ⁽¹⁾	3			17 ⁽⁵⁾
計				8	17	10	11	12	11	2	71
ウイルス分離状況				(1) (5) (1) (2) (3) (2)							(14)

表2 分離ウイルスのシュミット・プール血清による同定

地区	性別	年齢区分(歳)					
		0	1	2	3	4	5
上市町	男	同定不能					
	女	同定不能 p-2					
細入村	男			CB-3		CB-2	CB-2
	女			CB-3	CB-2	CB-2	CB-3
				CB-3	CB-2	CB-2	CB-2

p-2: ポリオ 2型

CB-3: コクサツキー B3型

CB-2: コクサツキー B2型 CB-2: CB-2による発熱休園

〔 調査報告 〕

インフルエンザ流行予測調査について

香取幸治, 中山 喬, 松浦久美子, 久保義博*
長谷川澄代, 西永慧次, 石倉康宏, 森田修行

目 的

本年度の流行予測調査はおおむね例年通りであるが、特にブタ型インフルエンザに対する抗体保有状況を調べる感受性調査があらたに加えられた。今冬の流行は2種類のA型亜型ウイルスが世界的に流行した。その一つはA香港型の流行であり、他の一つはシベリア、香港で最初に分離されたA/FM/1/47株に類以のA(H1N1)型ウイルスの流行であった。富山県においても両亜型ウイルスによる集団発生があつたので、ウイルス分離および抗体価測定をおこなつた。調査内容は〔I〕ブタ型インフルエンザ感受性調査、〔II〕インフルエンザ流行発生予測調査であつた。

〔 I 〕ブタ型インフルエンザ感受性調査

1976年2月アメリカで人からブタ型インフルエンザウイルス(A/NJ/76)が分離されたことから、この種のウイルスが今後世界的流行をおこすかもしれないという危険性を考えて、全国的に感受性調査が実施された。

(1) 対象と実施方法

1 地区を選定し、全年令層を網羅できるように、10才ごとに8区分を設定、各年令層15名づつの計120名を対象に、予防接種実施前の7月~9月の間に採血し、抗体保有状況を調査することが内容であつた。本県では、上市保健所において6月22日から9月26日までに131名を対象に採血がおこなわれた。抗体価測定には、抗原としてA/NJ/8/76(x-53), A/熊本/22/76, B/神奈川/3/76の3種類を使用した。これらの抗原は市販(武田薬品工業KK)のものを用い、血球凝集抑制反応(HI)によつて抗体価を測定した。

* 細菌部

(2) 結果

実施状況および抗体価の年令区分別度数分布を表1に示す。A/NJ/8/76に対する抗体の保有率は、49才以下の年令層ですべて抗体保有陰性であつた。50~59才で33.3%, 60~69才で100%, 70才以上で93.4%であつた。この結果から、本県の抗体保有状況は概ね全国的水準に等

表1 インフルエンザ感受性調査:
年令別HI抗体価分布表
A/NJ/8/76 (x-53)

年令区分	実施件数	H I 抗体価							抗体保有率(%)	
		<16	16	32	64	128	256	512		1024
0~9	15	15								0
10~19	19	19								0
20~29	22	22								0
30~39	15	15								0
40~49	15	15								0
50~59	15	10			4	1				33.3
60~69	15			1	2	3	7	1	1	100.0
70以上	15	1		3	7	2	1	1		93.3
計	131	97	0	1	9	11	9	2	2	26.0

A/熊本/22/76

年令区分	実施件数	H I 抗体価							抗体保有率(%)	
		<16	16	32	64	128	256	512		
0~9	15	1	3	3	7	1				93.3
10~19	19			5	9	5				100.0
20~29	22	14	4	2	2					36.4
30~39	15	11	2	1	1					26.7
40~49	15	11	1	3						26.7
50~59	15	11		2	2					26.7
60~69	15	8	2	4	1					46.7
70以上	15	9	1	3		2				40.0
計	131	65	10	23	18	14	1	0		50.4

年齢区分	実施 件数	H I 抗体価							抗体保 有率(%)
		≤6	16	32	64	128	256	512	
0～9	15	1	1	4	4	3	2		93.3
10～19	19			3	11	4	1		100.0
20～29	22	8	9	3	1	1			63.6
30～39	15	8	2	3	1	1			46.7
40～49	15	6	2	3	3	1			60.0
50～59	15	4	2	5	4				73.3
60～69	15	8		4	2		1		46.7
70以上	15	10	1		3			1	33.3
計	131	45	17	25	29	10	4	1	65.6

しいものと考えられる。他の2種類の抗原に対する抗体保有状況では、20才以上の年齢層に陰性者が多くみられるが、19才以下ではほとんどの人が抗体を保有していた。使用抗原が最近の流行株であり、これらのウイルス株が県内では19才以下の年齢層において主に流行したことが示された。

〔II〕インフルエンザ流行発生予測調査

(1) 調査期間：昭和52年7月～53年3月

(2) 調査施設：定点観測は高岡市の館小児科医院，集団発生施設は伏木小学校他16施設，その他では，野原内科医院（富山市）および福野保健所。

(3) 実施方法：インフルエンザウイルス分離
ウイルス分離用材料として咽頭ぬぐい液を用い，ふ化9日卵に接種して，35℃3日間培養した。同時に材料をMDCK細胞に接種し，20μg/mlの濃度にトリブソンを含むイーグル培地を維持液としてウイルス分離をおこなった。分離の判定は，ふ化卵では羊水，漿尿液における血球凝集（HA）の有無でスクリーニングし，培養細胞ではCPEと培養上清におけるHAを指標とした。HA陽性の検体について，インフルエンザ抗A香港型（ビクトリア型富山株），抗A（H1N1）型（予研分与）および抗B香港型（富山株）の各因子血清を用いてHIをおこない，型を決定した。にわとり血球を主に用いた。
被検血清のHI抗体価測定

インフルエンザ様患者の急性期および回復期血清をRD処理後，にわとり血球を加えて異種血球凝集素の除去をおこない，HI抗体価測定に供した。

HI用抗原として，A/NJ/8/76（Hsw1N1，市販），A/熊本/22/76（H3N2，ワクチン株市販），A/富山/1/78（H3N2，53年分離），A/USSR/92/77（H1N1，予研分与），A/富山/1/78（H1N1，53年分離），B/神奈川/3/76（ワクチン株，市販）の計6株を使用した。HIの実施にはマイクロタイター法でおこなった。

(4) 結果

イ) インフルエンザ様疾患発生状況

53年1月17日，伏木小（高岡市），城山中（婦中町）において集団発生の初発があつた。これら両校で採取された検体からA香港型ウイルスが分離された。その後2月中旬まで規模としてはそれ程大きくなく，しかも散發的な流行が続き，県厚生部の調べでは15施設2022人の患者発生をみた。2月18日西部中（富山市）などにおこつた集団発生からソ連型ウイルスA（H1N1）を分離して以来患者数は急激に増加し，学級，学年閉鎖などの処置をおこなつた施設数も多くなつた。2月27日から3月7日頃が流行の最盛期となり，1日に2000人近い患者をみる程であつた。しかし3月10日を過ぎると退潮しはじめ，3月16日月岡小（富山市）での学級閉鎖を最後に集団発生はなくなつた。この間のインフルエンザ様疾患発生施設は73のほり，17109人の患者発生であつた。この様に今冬の流行は2つの形態を示したが，県内の集団発生は，88施設，19131人の患者発生数であつた。

ロ) ウイルス分離

今冬の流行で分離したウイルスはA香港（H3N2）とソ連型A（H1N1）の2種類であつた。ウイルス分離状況を表2に示す。伏木小，城山中の検体から，1月22日にA香港型ウイルスを分離したのが初発であつた。しかし，野原医院において52年12月22日に外来患者から採集していた検体より後日同型ウイルスを分離し，集団発生に先立ち県内にウイルスの浸淫があつたことを示した。2月18日に西部中などに大規模な集団発生があり，ソ連型ウイルスを分離した。この場合も野原医院で2月14日に採取した検体から同じウイルスが分離された。これらのことは，ウイルスが侵入後，巷である程度増幅して集団発生につながることを暗示している。

表2 インフルエンザ流行予測調査

(取扱件数, ウイルス分離数, 血清学的陽性数)

保健所	施設	被検者数	ウイルス分離			血清学的反応				陽性者数
			咽頭ぬぐい液		ウイルス分離	検体数		陽性件数※		
			採取日	検体数	数及型	急性期	回復期	A (H3N2) 型	A (H1N1) 型	
高岡	館小児科医院	14	52.11.25~52.12.20	14	0	14	14	0	0	0
	野原内科医院	7	52.12.23~53.1.9	7	3 A(H3N2)	0	0	—	—	3
小杉	小杉中	6	1.14	6	0	6	6	0	0	0
八尾	城山中	8	1.17	8	2 A(H3N2)	8	8	4	0	5
高岡	伏木中	5	1.18	5	1 A(H3N2)	4	5	4	0	5
高岡	館小児科医院	13	1.20~1.30	13	8 A(H3N2)	13	12	5	0	9
富山	水橋中	10	1.26	10	0	10	10	2	0	2
	野原内科医院	8	1.26~2.9	8	5 A(H3N2)	0	0	—	—	5
黒部	上原小	10	1.31	10	1 A(H3N2)	10	10	2	0	2
高岡	野村小	5	2.1	5	0	0	0	—	—	0
小杉	小杉中	3	2.2	3	0	3	1	1	0	1
小杉	太閤山小	5	2.7	5	0	5	5	0	0	0
福野	福野保健所	3	2.10	1	0	3	2	0	0	0
高岡	館小児科医院	1	2.13	1	0	1	1	1	0	1
	野原内科医院	4	2.14~2.17	4	1 A(H1N1) 2 A(H3N2)	0	0	—	—	3
富山	西部中	15	2.20	15	3 A(H1N1)	14	14	0	6	7
富山	呉羽中	11	2.20	10	8 A(H1N1)	11	10	0	10	10
福野	出町中	10	2.20	10	1 A(H1N1)	10	10	0	10	10
黒部	桜井中	10	2.21	10	7 A(H1N1)	10	10	0	10	10

保健所	施設	被件者数	ウイルス分離			血清学的反応				陽性者数
			咽頭ぬぐい液		ウイルス分離 数および型	検体数		陽性件数		
			採集日	検付数		急性期	回復期	A (H3N2)型	A (H1N1)型	
福野	福野中	10	2.24	10	0	10	10	0	5	5
	野原内科医院	5	2.23	5	0	0	0	—	—	0
高岡	南星中	5	2.24	5	1 A (H1N1)	5	5	1	4	5
氷見	北部中	5	2.27	5	1 A (H1N1)	5	5	0	1	2
高岡	館小児科医院	7	2.22~3.3	7	5 A (H1N1)	7	7	0	5	5
小矢部	石動中	8	3.2	8	0	7	6	0	0	0
富山	西部中	12	3.6	12	0	0	0	—	—	0
魚津	大町小	5	3.7	5	0	5	5	0	2	2
八尾	城山中	4		0	—	—	4	0	0	0
合計		209		202	49 A(H3N2) 22 A(H1N1) 27	161	160	20	53	92

※ 対血清において4倍以上の抗体価上昇を示したものを陽性とした。

ウイルス分離初発 A (H3N2) : 53年1月22日, A (H1N1) : 53年2月23日

集団発生初発 A (H3N2) : 53年1月17日, A (H1N1) : 53年2月18日

本年度の感染源調査で取扱った咽頭ぬぐい液の数は202件であり、A香港型22株、ソ連型27株のウイルスを分離同定した。これらウイルスのふ化卵およびMDCK細胞での分離数を表3に示し、表4は、MDCK細胞で分離確定までの培養日数と株数を示した。MDCK細胞で分離したソ連型ウイルス株の中にヒト型およびモルモット血球凝集能をもつが、にわとり血球凝集能の非常に低いウイルス3株をみとめた(表5)。

表3 孵化卵およびMDCKでのウイルス分離

	孵化卵			計
	+	+	-	
A H K	1	2	8	22
A (H1N1)	1	5	6	27

表4 MDCKにおけるウイルス分離と培養日数

	培養日数								計
	2	3	4	5	6	7	8	9	
A H K	0	4	1	3	1	3	1	1	14
A (H1N1)	5	14	1	0	1	0	0	0	21

表5 血球凝集性の異なるA (H1N1) 型株

番号	被検者	血球 (HA価)			抗原性 (HI価) 抗A/OSSR /92/77
		ニワトリ	モルモット	ヒト	
260	Y K	32	32	32	256
264	Y M	2	16	16	128
290	I S	2	32	16	128
339	F Y	<2	32	16	256

しかもこれらはふ化卵ではほとんど増殖しなかつた。

ハ) 患者血清の抗体価測定

今冬の流行が2月中旬をさかいに2種類のA型ウイルスによつておこつたので、血清反応の抗原として6種類を用いた。ウイルス分離陽性の被検者の多くは、分離株と同型の抗原に対する血中抗体も有意上昇を示した。しかし、A香港型分離者で4例、ソ連型分離者で1例に抗体価上昇がみられなかつた。一方、ウイルス分離がなく、血清学的にのみ罹患性と判定したのが43例であつた。これらの成績を取扱い件数とともに表2に示した。

上述のごとく2種の亜型ウイルスの流行が2月中旬に交替した。これら両亜型ウイルスは互にHA抗原の交叉がないので同一人が両ウイルスに罹患するかもしれない危険性が十分に考えられた。そこでA香港型の感染が明らかな城山中の生徒4名から、3月16日再度採血し、ソ連型の感染の有無について、血清学的に検査した。しかし測定結果は陰性であり2度感染の例を認めることはできなかつた。

(5) 考察

A香港型ウイルスが出現してからすでに10年を経過したので、A型の流行は他の亜型ウイルスへの交替がおこるであろうと考えられていた。しかも交替によつて登場するウイルスはまったく新しい型ではなく、これまでの流行史に出現したことのあるウイルスの再流行であろうとの考えが強く提唱されてきた。そして今年度当初はブタ型ウイルスに対する監視体制が強化され、感受性調査を実施するなど防疫対策の手が打たれた。

昨年春B型流行が終息した直後の52年4月から5月にかけて、東京、新潟、北海道などで散発的にA香港型ウイルスの分離があつた。これらの株はA/ビクトリア/75とは抗原性の異なる変異株(A/東京/77)であつた。インフルエンザ流行シーズンはじまつた11月29日名古屋で同型のウイルス分離をみたのを皮きりに53年2月頃まで全国各地にA/東京/77型の流行がおこつた。

WHOの報告によれば、52年晩秋シベリア、香港などでA(H1N1)型ウイルスが分離されていた。このウイルスはしだいに勢力をヨーロッパに拡大し、世界的流行の兆を示した。予想外のウイルス出現に、ワクチンなしの状態で行方を迎えることとなり、

加えて20才未満では抗体保有者が皆無なので、ウイルスの伝播は一層加速されたものと思われる。我が国では53年1月24日に島根、福岡で分離の初発をみた。富山県では2月中旬に浸襲があり、以後急激に患者発症数が増えた。A(H1N1)型ウイルスの流行がはじまると、従来のA香港ウイルスはほとんど分離されなくなつた。今後のA型インフルエンザ流行はA(H1N1)型ウイルスが主流をなすであろうと考えられる。

総 括

- 1 ブタ型ウイルスに対する感受性調査では、50才未満に抗体保有者がみられなかつた。
- 2 今冬のインフルエンザ流行で、88施設に集団発生があり、19131人の患者をみた。
- 3 分離されたウイルスは2種類で、2月中旬まではA香港型、その後はA(H1N1)型であつた。
- 4 検査件数は延人数で209名、ウイルス分離ならびに血清学的には92例が陽性であつた。

風疹流行予測調査について

中山 喬, 香取幸治, 松浦久美子
長谷川澄代, 森田修行

目 的

昭和50年春から始まった風疹の流行は、51年に入つて大流行となつた。秋に患者数は少なくなつたが、52年になつて再び罹患者が増加した。従来風疹の流行は、8年で終息するといわれているように、52年の流行規模は小さかつた。本県では10月以降患者発生がほとんどなく、流行は終息にむかつたものと思われる。

風疹は、妊娠初期の婦人が罹患した場合、先天性風疹症候群と呼ばれる奇型児を出産する危険が大きくなることから重要視されている。この流行後における風疹抗体保有者の割合を調査し、県内での風疹の拡散度、今後の流行の予測、予防と防疫およびワクチン接種対象者の問題等について検討する。

対象と方法

調査地区、調査人数および調査月日

富山、魚津、黒部、福野、氷見の5地区の保健所において、6区分の年齢層における女性を対象に調査を実施した。各地区における調査月日、調査人数および年齢分布は表1に示すとおりである。

表1 流行予測調査地区、調査月日、
調査人数および年齢分布

調査地区	調査月日	調査人数	年 令 分 布						
			0~4	5~9	10~14	15~19	20~24	25~29	30~
富山	7/4, 7/6	69	6	15	10	5	10	18	5
黒部	8/26 7/12~10/4	40	3	7	5	8	10	7	
魚津	9/14, 9/16	40	5	5	5	5	10	10	
福野	9/20, 9/21 9/24	46	5	7	7	7	10	10	
氷見	9/28 10/8~10/12	40	2	4	8	6	9	11	
合計		235	21	38	35	31	49	56	5

抗原

風疹ウイルス Baylor株を、BHK-21細胞で増殖し、G・L・Stewartら、および森田らの方法により抗原を作成した。

風疹HI反応術式

予研中検法に従つて実施し、血球は1日令ヒヨコの赤血球を使用した。血清の前処理は、25%カオリン処理を室温20分間、および50%ヒヨコ赤血球による吸収を、氷水中で1時間30分間実施した。対照として、予研から分与された風疹抗体陽性(HI抗体価64倍, Lot 4)および陰性の標準血清を併用し、抗体価を判定した。

結 果

昭和51年に引き続いて、52年1月より風疹患者発生は徐々に増加し、昨年同様5~6月をピークとしてそれぞれ1518名、946名の患者が報告された(表2)。しかし、流行の規模は51年に比べて小さく、9月の6名以後53年2月の8名まで患者発生の報告がなかつた。患者数は昨年の約3分の1で、大部分は中学生以下の低年齢層であつた。

県内5ヶ所の保健所管内で採血した235名について、風疹抗体価の測定をおこなつた結果は表3、および図1に示すとおりである。

風疹抗体陰性者についてみると、0~4才では21名中9名が陰性で陰性率42.9%、5~9才では38名中14名で36.8%、10才から14才では35名中15名で42.9%となつており、この3グループでの陰性率はほぼ等しい値を示した。

15~19才では31名中22名が陰性で71.0%と高率であつた。20~24才で49名中

11名、25～29才では56名中18名が陰性で、それ以上では全員抗体保有者であつた。
 それぞれ22.4%、23.2%の陰性率を示し、30

表2 風疹患者調査

昭和52年1月～12月 (富山県)

届出月	保育所および学校						その他の施設	主婦	その他の者	合計
	幼稚園 保育所	小学校		中学校	高校	その他				
		1～3年	4～6年							
1		27	24	38	2			2	3	96
2		4	33	157	1		47	1	1	244
3	48	13	49	202	7			1	2	322
4	110	117	127	98	45				2	499
5	414	414	453	216	16			2	3	1518
6	277	237	228	140	55			7	2	946
7	69	81	62	17	3			2	5	239
8	20	27	17	3						67
9	2	2	2							6
10										0
11										0
12										0
合計	940	922	995	871			47	15	18	3937

表3 年齢別風疹HI抗体価分布

年齢区分	抗体価								合計	陰性率	抗体保有者 平均抗体価
	<8	8	16	32	64	128	256	≥512			
0～4	9				4	4	3	1	21	42.9%	135.6
5～9	14	1			8	11	4		38	36.8	101.6
10～14	15				9	7	4		35	42.9	107.3
15～19	22			1	5	3			31	71.0	74.6
20～24	11	1	4	11	16	5	1		49	22.4	48.7
25～29	13		7	13	21	1	1		56	23.2	43.5
30～			1	2	1	1			5	0	42.2
合計	84	2	12	27	64	32	13	1	235	35.7	65.2

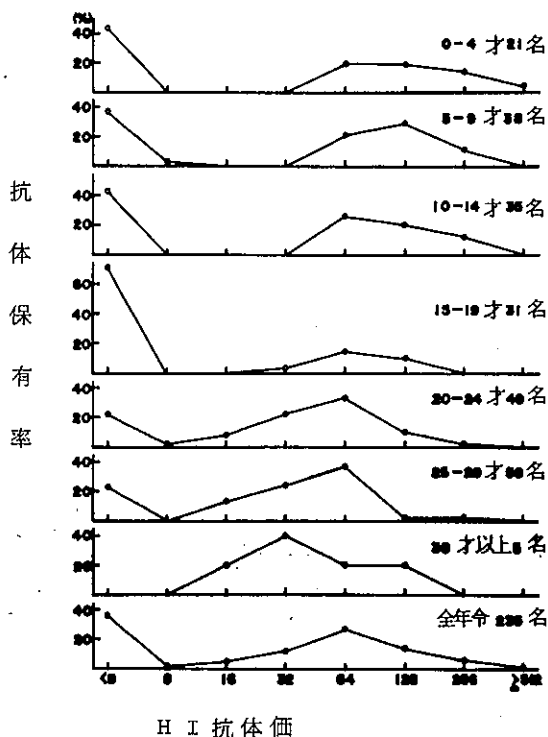


図1 年齢別抗体保有率分布

抗体保有者について、抗体価の分布と平均抗体価をみると、19才以下のグループでは、64倍から128倍に分布のピークがあつた。平均抗体価は、0才～4才が135.9倍、5～9才が101.6倍、10～14才で107.8倍、15～19才は74.6倍であつた。20才以上の妊娠可能年齢では、分布のピークが32倍から64倍で、平均抗体価は20～24才が48.7倍、25～29才で43.5倍、30才以上では42.2倍であつた。全年令総計では、陰性率が35.7%、平均抗体価は65.2倍を示し、風疹流行中に実施した昨年流行予測結果と、ほぼ同様の結果が得られた。

調査地区別の風疹抗体保有状況は、表4に示すように、陰性率、平均抗体価とも、各地区ほぼ同様の結果が得られた。

考 察

風疹の流行形態について、従来、2年目をピークとして約3年で終息するといわれている。本県における風疹の流行も、昭和50年に始まり、51年を

ピークとし、52年9月まで続いた。10月以後患者発生報告はなく、53年2月に8名報告されているが、一応流行も終息にむかつたと考えられる。

今年度の流行予測検体は、この流行末期の7月から10月にかけて採血されたもので、集団免疫としての抗体陰性率と、流行終息との関係について、図2および図3に示すような結果が得られた。

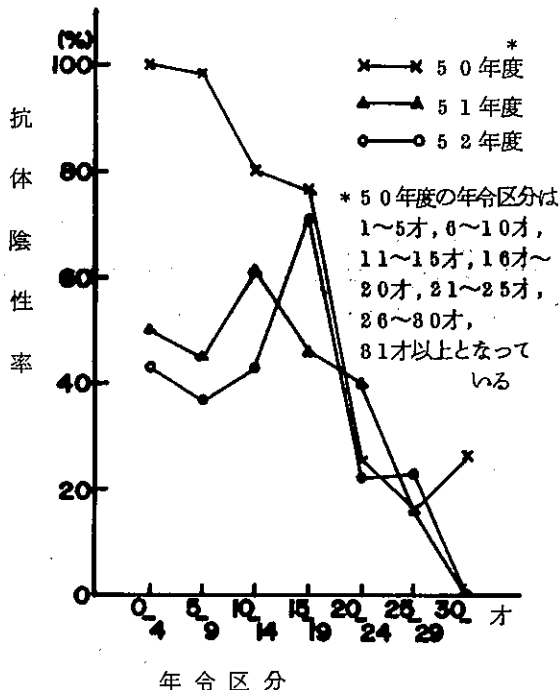


図2 流行前後の抗体陰性率の推移

抗体陰性率についてみると、全年令平均で、流行初期の50年度に74.0%であつたが、51年度には37.6%、52年度では35.7%の陰性率であり、約2分の1に低下している。年齢別では、14才以下の低年齢層の陰性率が、51年度よりさらに7～8%減少し、本年度も患者の大部分が中学生以下であつたことを反映している。20才以上では昨年度とあまり差が認められない。しかし、15～19才の陰性率が71.0%と高率を占め、流行初期の陰性率76.4%に近い値を示した。昨年度の陰性率が45.7%であり、本年度の割合が高すぎるように思われるが、富山地区の40.0%を除く他の4地区すべてが71.4%から83.3%を示していることなど

表4 調査地区別陰性率および平均抗体価

項目 地区名 年齢区分	抗体陰性率(%)					平均H I抗体価				
	富山	黒部	魚津	福野	氷見	富山	黒部	魚津	福野	氷見
0~4	100.0	0	40.0	20.0	0	—	101.6	101.6	304.3	64.0
5~9	46.7	28.6	40.0	28.6	25.0	128.0	48.5	161.2	128.0	80.6
10~14	50.0	40.0	40.0	14.3	62.5	111.4	80.6	128.0	128.0	80.6
15~19	40.0	75.0	80.0	71.4	88.3	80.6	90.5	128.0	64.0	32.0
20~24	40.0	30.0	10.0	10.0	22.2	45.2	52.5	43.5	69.1	35.4
25~29	16.7	28.6	20.0	40.0	18.2	53.2	27.9	38.0	57.0	37.3
30~	0					42.2				
全年令	39.1	37.5	32.5	30.4	37.5	67.2	54.2	62.4	98.7	45.9

から、この年齢層には流行の影響が少なかったものと考えられる。

風疹抗体保有者151名についてみると、抗体の分布のピークが64倍、平均抗体価65.2倍で、昨年と同様であった。また、年齢別に見ても、抗体価の分布、平均抗体価ともに昨年度と同じ傾向であった。流行初期と比較すると、図3に示すとおり、19才以下では抗体保有率と、分布のピークを示す抗体価ともに上昇が認められる。しかし20才以上については、流行前後の変化は少なかった。

これらのことから、今度の風疹流行で、抗体陰性率が初期の74.0%から、流行後の35.7%まで、約2分の1に減少して流行が終息した。しかしこの陰性率の減少は、14才以下の陰性率が、初期の約100%から昨年度は約50%に低下し、さらに本年度に約40%にまで減少したことによるもので、20才以上の妊娠可能年齢層の陰性率は、流行前後でもほとんど変化せず、ほぼ4人に1人の抗体陰性者が残っていると考えられる。

昨年度の流行予測結果では、調査地区により陰性率に差がみられ、流行地と非流行地が存在したと考えられた。本年度の結果では、年齢別に見れば多少のばらつきが認められるが、全体的には30.4%から39.1%の陰性率であり、流行はほぼ全県におよんだものと考えられる。

風疹の流行は本年度で終息したと考えられ、今後は

散発的に発生しても、大きな流行にはならないと思われる。富山県では、本年度より中学3年女子に対して、風疹ワクチンを接種しており、現在中学3年以下の低年齢層の女子は、15才以上にすれば全員が抗体保有者となる。しかし現在高校生以上の高年齢層では、約70%から20%の人が抗体陰性のまま残されることになる。先天性風疹症候群罹患児予防のためには、事前に風疹抗体の有無を知り、希望者が手軽にワクチンの接種を受けられるような体制を作る必要があると考えられる。

まとめ

昭和52年度の風疹流行予測調査を、県下5地区の235名について実施した。

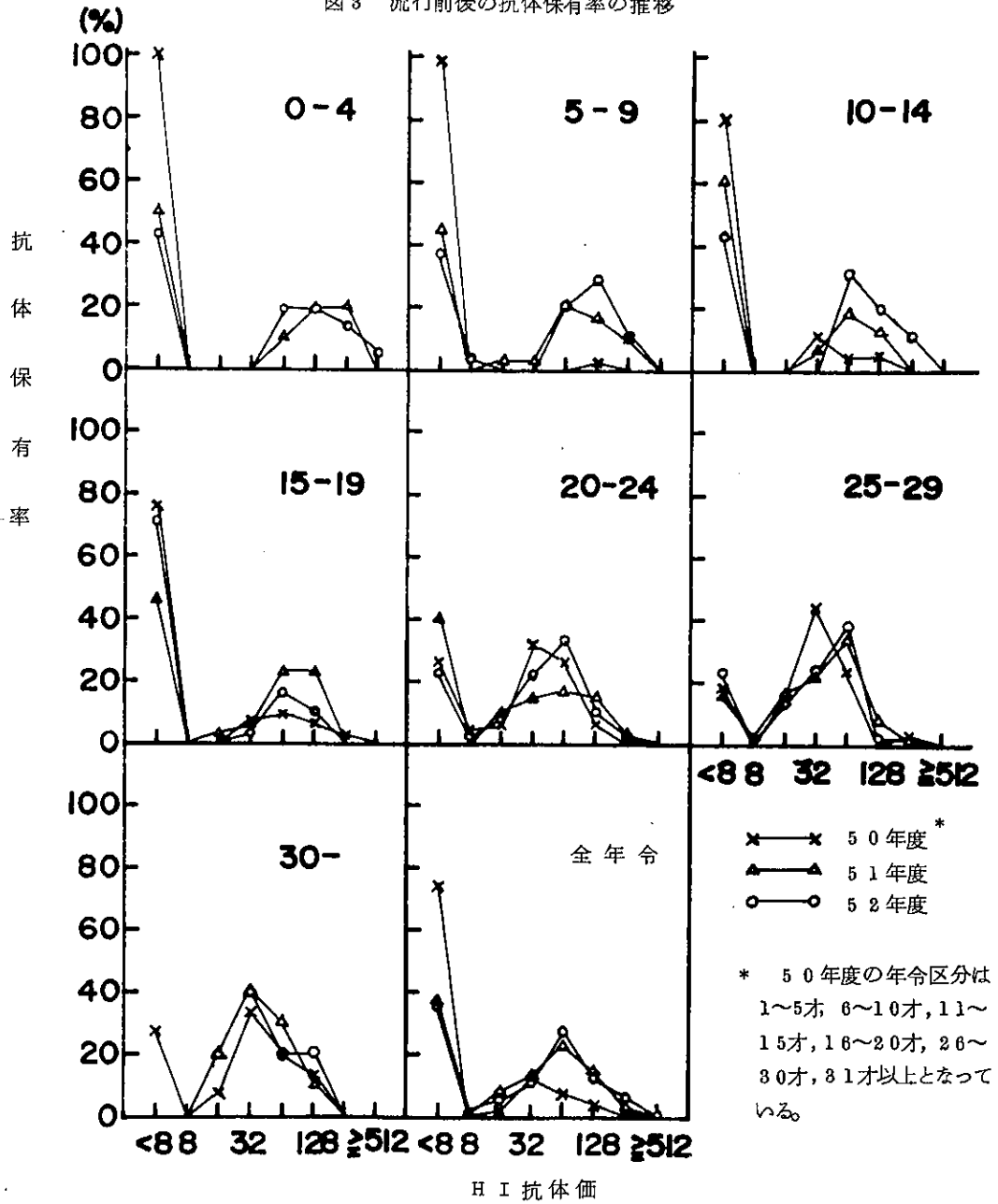
風疹抗体陰性率は、全年令平均で35.7%であった。年齢別では、14才以下の年齢層が36.8%~42.9%で、昨年より7~8%の低下を示した。20才以上では昨年同様22.4%~23.2%を示した。しかし15~19才では71.0%の高率を示した。

抗体保有者の平均抗体価は65.2倍であった。

14才以下では、101.6倍~135.6倍、20才以上では42.2倍~48.7倍を示し、15~19才は74.6倍で、前兩者の中間の値であった。

抗体陰性率、平均抗体価とも、調査地区間に差はあまり認められず、風疹も全県的に拡散したと思われる。また患者発生も52年10月以降ほとんどなく、流行も終息にむかっただと思われる。

図3 流行前後の抗体保有率の推移



*
上村 清, 渡辺 護, 長谷川澄代
*
香取幸治, 松浦久美子, 森田修行

目 的

富山県では昭和40年以来、蚊の発生活長調査および豚における日脳抗体保有状況調査をおこなうことにより、日本脳炎の発生あるいは流行を監視してきた。本県ではさいわい日脳患者の発生は今年まづたく認められていない。一方、日脳抗体保有率からみたかぎりでは、豚の日脳ウイルス汚染も非常に少なくなつた。このように日本脳炎の流行がすっかり低滞しているのは本県のみならず、全国的にみられる傾向である。その要因の一つとして日脳ウイルスを媒介する蚊族の発生が今年非常に減少していることが指摘されている。しかし、日脳ウイルスが完全に駆逐されたとはいえず、沖縄、九州、四国などで捕集蚊から日脳ウイルスが分離されているので、日本脳炎に対する監視体制は必要であるところから、昨年同様に流行予測を実施した。

事業内容として、〔I〕蚊族の発生活長、〔II〕豚血清の日本脳炎HI抗体保有調査、〔III〕日脳ワクチン接種児童における抗体価の追跡調査をおこなつた。

〔I〕蚊族の発生活長

日脳媒介蚊であるコガタイエカの発生が近年非常に減少している。その原因については推論の域をでないが、コガタイエカは水田が好適発生源であるところから、現在の稲作管理がこの種の蚊の発生を抑制していると考えられる。しかしそれがいつくずれて多発をまねくかわからないという危険性を有しているので、県下各地の蚊の発生活長を把握することは欠かせぬことといえる。

(1) 調査地点および調査方法

調査地点は前年度と同一の9地点でおこなつた。その概要を表1に示す。調査は昭和52年6月から10月まで毎水曜日の夕方から翌朝までおこなつた。

表1 調査地点の概要

調査地点	類別	地点の概要
富山南	牛舎	富山市萩原、愛場正治所有、乳牛10頭、平野部水田地帯、神通川原近く高速道路そば
婦中 広田	豚舎	婦中町広田、浦野国一所有、種豚13頭、仔豚50頭内外、平野部水田地帯、神通川より1K m
小杉 黒川	牛舎	小杉町黒河、津幡治作所有、乳牛6頭、丘陵部水田地帯、
上市	牛舎	上市町天神田、沢田牧場所有、乳牛11頭、別棟に7頭、平野部上市川沿いの村落内
福野	牛舎	福野町柴田屋、芝井茂所有、乳牛11頭、平野部水田地帯、
小矢部	豚舎	小矢部市植生、辻谷重太郎所有、種豚6頭、肥育豚27頭、水田地帯の丘陵に続く高台
黒部 新川	牛舎	黒部市中山、若田厚良所有、乳牛5頭、9月28日出荷のため中止、山麓部水田地帯、付近に放牧場有
黒部	牛舎	黒部市植木、松村清太郎所有、乳牛11頭、平野部水田地帯
氷見 加納	牛舎	氷見市加納、桜打 寛所有、乳牛44頭、畑地

富山南、婦中広田、黒部新川の3畜舎では連日捕集をおこない、日別別アルコール浸標本にし、後日同定したが、他の6畜舎ではクロロホルムで殺して直ぐに同定した。調査日は捕集成績とともに表2に示した。

蚊の捕集は、ライトトラップ（野沢製作所製捕虫機NH5型、NEC製6WBL管使用）各1台を、畜舎中央部の床上約2mに設置し、日没時から日出時までフォトスイッチにより、終夜作動させておこ

表2-1 9畜舎における蚊雌成虫の捕集数
 (昭和52年度, 水曜日ライトラップ設置1日捕り)
 A S シナハマダラカ, C t コガタイエカ, C P アカイエカ

(1)

	富山南牛舎					婦中広田豚舎					小杉黒河牛舎				
	A S	C t	C P	その他	計	A S	C t	C P	その他	計	A S	C t	C P	その他	計
6-15	0	5	0	0	5	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
-22	0	1	1	0	2	0	9	2	0	11	0	3	0	2	5
-29	0	9	8	0	17	0	1	1	0	2	1	4	10	0	15
7-6	0	21	5	0	26	0	4	0	0	4	3	5	4	2	14
-13	1	96	16	0	113	1	8	0	0	9	2	19	3	2	26
-20	1	136	21	0	158	2	18	2	0	22	2	6	0	7	15
-27	1	5	4	0	10	0	0	1	0	1	1	93	3	9	106
8-3	0	7	4	0	11	2	1	0	0	3	0	3	34	0	37
-10	7	31	10	0	48	35	2	0	0	37	4	8	2	0	14
-17	5	47	2	1	55	115	19	0	0	134	3	5	0	1	9
-24	11	149	6	0	166	151	162	0	0	313	0	8	4	1	13
-31	2	30	2	0	24	26	8	0	0	34	26	9	2	5	42
9-7	21	60	8	0	89	14	16	0	0	30	24	25	4	1	54
-14	6	24	0	0	30	6	5	0	0	11	18	42	3	4	67
-21	4	16	7	0	27	1	4	0	0	5	0	1	0	0	1
-28	0	0	1	0	1	0	10	1	0	11	6	11	4	0	21
合計	59	627	95	1	782	353	268	7	0	628	90	242	73	34	439

コガタイエカの最多日とその頭数

富山南最多 7月24日397, 婦中広田最多 8月24日162, 黒部新川最多 7月25日124,

表2-2 9畜舎における蚊雌成虫の捕集数
 (昭和52年度, 水曜日ライトラップ設置1日捕り)
 As シナハマダラカ, Ct コガタイエカ, Cp アカイエカ

(2)

	上市牛舎					福野牛舎					小矢部豚舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6-15	0	0	2	0	2	1	1	5	0	7	0	0	0	0	0
-22	0	0	0	0	0	0	18	14	0	32	0	0	0	0	
-29	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	3	7	0	0	
7-6	1	36	11	2	50	1	12	3	0	16	1	3	0	0	
-13	0	(37)	8	0	45	1	6	0	0	7	0	17	0	0	
-20	2	27	5	3	37	1	28	2	0	31	1	19	0	1	
-27	1	20	10	2	33	7	44	4	0	55	2	12	0	0	
8-3	6	21	8	2	37	3	5	0	0	8	6	6	0	0	
-10	0	4	7	4	15	2	1	21	0	24	4	2	0	0	
-17	3	5	0	1	9	8	5	4	0	17	4	9	0	0	
-24	6	2	0	4	12	4	3	0	0	7	8	6	1	0	
-31	1	1	1	0	3	10	11	2	0	23	5	6	0	0	
9-7	0	2	1	0	3	19	33	5	0	57	2	(53)	0	0	
-14	0	1	1	0	2	23	(153)	20	0	196	9	35	1	0	
-21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	31	0	0	
-28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	10	1	
合計	20	156	52	18	246	80	321	81	0	482	48	238	12	2	

なった。

(2) 結果と考察

雌成虫の捕集成績は表2のとおりである。コガタ

イエカが多数捕集されたのは富山南、福野で、婦中
 広田、小杉黒川、小矢部がそれに次いだ。婦中広田
 と小杉黒川とではコガタイエカ数が年間でそれぞれ

表2-3 9畜舎における蚊雌成虫の捕集数
 (昭和52年度、水曜日ライトラップ設置1日捕り)
 Asシナハマダラカ、Ctコガタイエカ、Cpアカイエカ

(3)

	黒部新川牛舎					黒部植木牛舎					氷見加納牛舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6-15	0	2	2	0	4	0	0	0	0	0	3	9	7	1	52
-22	0	9	2	4	15	0	0	0	0	0	1	5	5	0	23
-29	0	3	2	0	5	0	0	0	0	0	5	1	7	0	13
7-6	0	3	1	3	7	0	0	0	1	1	3	5	17	0	25
-13	0	35	4	3	42	0	2	0	0	2	5	3	33	0	41
-20	1	12	0	7	20	0	7	3	1	11	36	31	10	0	77
-27	3	59	1	1	64	0	9	4	0	13	84	20	8	1	113
8-3	8	31	7	3	49	0	0	0	0	0	225	13	21	0	259
-10	8	6	3	0	17	0	0	0	0	0	25	0	3	0	28
-17	7	16	2	2	27	1	0	0	0	1	4	2	3	1	10
-24	1	2	1	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-31	0	5	4	9	18	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
9-7	1	18	5	5	29	0	1	1	1	3	0	0	0	0	0
-14	1	17	2	4	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-21	0	7	6	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-28	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	30	225	43	42	340	1	20	8	3	32	435	39	114	3	641

2, 5, 7 倍に増加したが、他の地点では減少し、特に上市での減少が著しかった(表3)。またコガタイエカと同様に水田を主要発生源とするシナハマダラカ群(シナハマダラカに一部エセシナハマダラカを含む)は婦中広田で増加したが、上市、福野、氷見で減少し、その増減割合は兩種でかならずしも一致しなかつた。兩種共に婦中広田で増加し、上市で

減少した。これは好天候のために水田の水温が上昇し過ぎて幼虫の生息が困難となつたのに加えて、いもち病多発などのために農薬散布が徹底しておこなわれたためと考えられる。しかし、その解析は困難であり、地点による違いも目立つ。そのため、県下の蚊発生数を多地点で調査することが必要である。

表4 各地点におけるコガタイエカ年間推定捕集数の年次変動

(通年ライトトラップ捕集推定数、カッコ内上段は前年度比、下段は昭和47年を100とした割合、※印は畜舎の変更を示す。)

年度	氷 見	小 矢 部	福 野	婦中広田	富 山 南	上 市	黒部新川	黒 部 市	小 杉 町
52	(44)	(24)	(41)	(250)	(45)	(6)	(19)	(43)	(710)
	700	1,700	2,250	1,500	5,800	1,100	1,700	150	1,700
	(7)	(38)	(44)	(9)	(12)	(14)	(13)	(8)	(89)
51	(55)※	(65)	(23)	(6)	(130)	(61)	(51)	(10)	(22)
	1,600	7,100	5,500	600	13,000	24,000	9,000	350	240
	(16)	(158)	(108)	(3)	(28)	(31)	(69)	(19)	(13)
50	(1450)※	(733)	(4800)※	(689)	(313)	(6615)※	(1,271)	(2,267)※	(540)
	2,900	11,000	24,000	9,300	10,000	43,000	17,800	3,400	1,100
	(29)	(244)	(471)	(53)	(21)	(558)	(137)	(180)	(58)
49	(1)※	(29)	(2)※	(31)	(23)	(35)	(40)	(36)	(48)
	200	1,500	50	1,350	3,200	650	1,400	150	200
	(2)	(33)	(1)	(8)	(7)	(8)	(11)	(8)	(11)
48	(170)※	(116)	(61)	(25)	(30)	(24)	(27)	(22)	(24)
	17,000	5,200	3,100	4,350	14,000	1,850	3,500	420	450
	(170)	(116)	(61)	(25)	(30)	(24)	(27)	(22)	(24)
47	(67)	(789)	(510)	(185)	(142)	(145)	(438)	(62)	(240)
	10,000	4,500	5,100	17,550	47,000	7,700	13,000	1,890	1,900
	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)

減少しているが、付近環境などで目立つた違いは見当らなかつた。今年度は越冬期に豪雪、多発期に好天が続く、蚊数が増加するのではないかとも思われたが、予想に反してコガタイエカが昨年にもまして

コガタイエカは6月上旬から10月上旬まで捕集され、7月中旬から8月上旬にかけて多かつた。シナハマダラカ群は氷見加納では6月15日にすでに1晩で35疋得られたが、他地点ではコガタイエカ

よりも出現が遅れ、8月中旬に多かつた。アカイエカは6月上旬から10月中旬まで得られたが、氷見加納、富山南、小杉黒川などに多く、7月から8月上旬にかけて多く捕集された。本種はライトトラップでの捕集率が前2種より低いため、実際にはより多数のものが吸血に襲来しているものと考えられる。また、多数得られた畜舎では付近に発生源があり、雄成虫も多く捕集された。

その他、黒部新川ではヤマトヤブカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカ、キンイロヤブカ、キンバラナガハシカなどの昼間吸血性の蚊も比較的多く捕集された。他に、トラフカクイカ、ハマダライエカ、カラツイエカが少数捕集された。

〔Ⅱ〕豚血清の日本脳炎H I抗体保有調査

生後8ヶ月以内の豚における日脳抗体保有状況を調査することによつて、日脳ウイルスの浸淫度を推測し、流行予知をおこなう。保有率が50%以上を示した場合、日脳汚染地域とみなされる。

(1) 調査対象と方法

昭和52年度は、立山と畜場において生後6～8ヶ月の豚について、殺放血時に採血し、血清中における日脳H I抗体価を測定した。測定方法は予研法によつた。採血日、採血頭数を表4に示す。

表4 と畜場豚血清の日脳H I抗体価

検体採取月日	検体数	陽性数 (抗体価)	陽性率
6—20	20	1*(20×)	5%*
7—4	20	0	0
—11	20	0	0
—18	20	0	0
—25	20	0	0
8—1	20	0	0
—8	20	0	0
—22	20	0	0
—29	20	0	0
9—5	20	0	0
—19	20	0	0
10—3	20	0	0
合計	240	1	

*再検査の結果陰性

(2) 結果と考察

表5に抗体価測定の結果を示すとく、6月20日から10月30日までの調査期間中、第1回採血の30頭中の1例が血清希釈20倍で陽性を示した。しかし、この血清のアセトン処理を2度おこなうとH I反応は陰性になった。したがってこの血清には多量のインヒビターが含まれていたためにH I反応が陽性を示したものであり、特異抗体を含まない血清であった。その後採血した220頭において陽性は1例もなく、今年度は全例陰性であった。

前述の表4が示すとく、コガタイエカの捕集数が前年よりさらに減少していることが、豚における日脳抗体保有全例陰性につながったのかもしれない。全国日本脳炎情報(昭和52年度)によれば、全国的に豚の抗体保有率が低い傾向にあり、特に北陸から東北にかけての日本海側の各県で低率であった。

〔Ⅲ〕日脳ワクチン接種児童における抗体価の追跡調査

富山県は50年度の予防接種対策委員会で、日脳ワクチンの接種対象者は基礎免疫終了後、3年経過後追加免疫することを決定した。そこで基礎的データをを得るために、基礎免疫終了の保育園児を対象に抗体の獲得状態、抗体の持続、3年経過後の追加免疫に対する抗体上昇の問題などを同一人について追跡調査することを目的とする。本県では近年日本脳炎の自然感染の機会是非常に少ないので、ワクチン接種効果を調査するうえで好条件が保たれている。本年度はワクチン接種直後を含めて、3回目の追跡調査である。

(1) 対象と方法

51年度の調査において、日脳H I抗体価を10倍以上保有していた児童のみを対象とした。対象地区および人数は小矢部地区15名、上市地区15名八尾地区7名であった。抗体価測定はH I反応をおこない、手技は予研法によつた。

(2) 結果と考察

上記3地区における対象児童について、基礎免疫終了後(50年度)、1年経過(51年度)、2年経過(52年度)のH I抗体価の度数分布を表5に示した。

表5 日脳ワクチン接種者HI抗体価年次推移
(保育園児での基礎免疫終了者の追跡調査)

	小 矢 部 地 区			上 市 地 区			八 尾 地 区		
	年月日	年月日	年月日	年月日	年月日	年月日	年月日	年月日	年月日
	50. 7. 25	51.11.25	52. 6.21	50. 8.26	51.10.19	52. 6.22	50.10.27	51.12.16	52. 9.29
1	80	10	10	80	40	40	80	—	
2	80	20	20	80	40	20	40	20	
3	20	<10		80	20	20	<10	<10	
4	40	20	—	80	40	40	40	20	
5	40	20	20	80	10	10	20	10	
6	160	10	<10	40	<10		40	20	<10
7	80	40	40	40	<10		20	10	10
8	80	<10		40	10	10	40	40	20
9	160	20	10	40	<10		40	20	<10
10	20	<10		160	20	20	40	—	
11	40	<10		80	40	40	20	<10	<10
12	80	10	<10	80	<10		20	10	<10
13	80	20	20	160	20	20	10	<10	<10
14	40	<10		40	<10		<10	—	
15	20	<10		80	20	20	20	—	
16	40	<10		80	40	40	<10	<10	
17	40	—	—	<10	<10		<10	—	
18	40	<10		80	20	10	40	20	
19	40	<10		80	20	10	20	<10	
20	80	10	<10	160	20	20	80	—	
21	160	20	20	80	20	<10	<10	20	
22	80	20	20				<10	10	
23	40	20	20				<10	<10	
24	40	<10					<10	20	
25	20	<10					10	10	
26	40	<10					<10	10	
27	40	20	20				20	20	
28	80	<10					<10	<10	
29	40	10	10				<10	<10	
30	80	<10					<10	<10	
31	40	<10					<10	—	
32	10	<10					160	160	
33	80	20	20						
34	20	<10							追加接種者
抗体 保有率	100.0%	48.5%	37.5%	95.2%	71.4%	66.7%	59.4%	41.3%	28.6%

基礎免疫終了後の抗体保有率は、小矢部、上市地区でそれぞれ100%、95.2%と高い値を示し、ワクチン接種による免疫効果が良好であつたことを示した。八尾地区での値が59.4%と比較的低いのは、接種後採血までに日数経過があつたことによるかもしれない。

1年経過後の51年度調査における抗体保有率は小矢部地区48.5%、上市地区71.4%といづれも減少しており、平均抗体価も約4分の1に低下していた。八尾地区においては、一部追加接種が実施されていたので、完全な追跡調査にはならなかったが傾向としては他の2地区と同様の抗体価推移と考えられた。

2年経過後の本年度調査は、前年度抗体保有者のみを対象とした。調査人員は小矢部、上市、八尾で15名、15名、7名であり、抗体価を測定したところ保有者はそれぞれ12名、14名、2名であり、多くの人が保有者であつた。

このことから、ワクチン接種者のうち、2年後の抗体保有者は小矢部82名中12名で37.5%、上市では21名中14名で66.7%の保有率であつた。これらの値は1年経過後の保有率と比べて大きな低下ではなかつた。また保有者の抗体価は総じて昨年度の値とあまり変わりなく、同レベルの抗体価を維持したのは小矢部、上市両地区でともに11名づつみられた。

以上のことから、日脳ワクチンの基礎免疫によつて得られた免疫の持続性をHI抗体価の年次推移からみると2通りに大別された。一つは基礎免疫終了後、ワクチンで十分な抗体産生があつたにもかかわらず、1年以内にHI価が10倍以下に低下する短期間免疫型と、他の一つは免疫後1年で抗体価の減少があるが、その後低い値ながら持続し安定している長期間免疫型であつた。なお、これらのグループに追加免疫が施行された場合、抗体産生がどのような反応を示すか興味ある問題である。

〔 研究報告 〕

小児下痢症の研究：ウイルス学的、細菌学的検索

香取幸治 松浦久美子 長谷川澄代 森田修行
山崎茂一* 児玉博英*

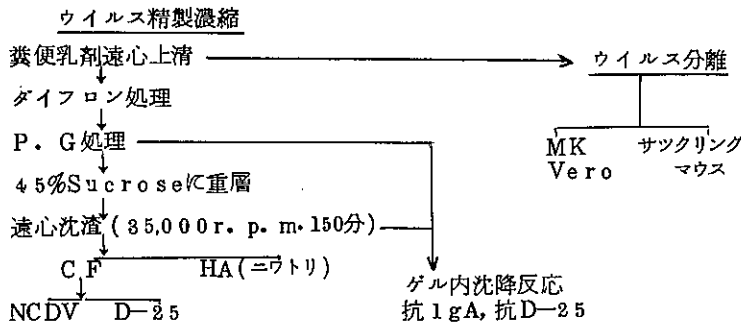
目 的

仮性コレラ等の乳児下痢症患者から、1973年 Bishopらは電子顕微鏡を用いて、糞便中に、HRVL (Human reovirus like agent) を認め報告している。その後多くの研究者によつて乳児下痢症の病原体としてHRVLの重要性は、ほぼ確立された。しかし、その他のウイルスについて下痢症との関係は明らかでない。そこで著者らは乳児下痢症がウイルス並に細菌とどのように関係しているか究明するために、1977年1月から1978年1月までの1年間に県立中央病院小児科外来を訪ずれた下痢症患者(2才以下)の糞便をウイルス学的細菌学的検査を行った。その結果、いままでに明らかになつたいくつかの知見について報告する。

材料と方法

検査材料：中央病院小児科外来を下痢症で訪ずれた患児の糞便と咽頭ぬぐい液を採取した。

ウイルス検査



細菌検査

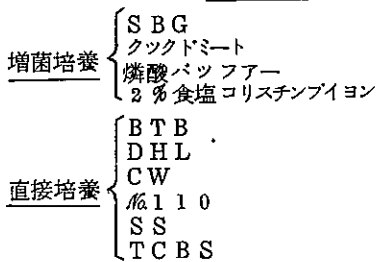


図1 下痢症検査法

糞便は4℃に保存し、出来るだけ早く細菌検査(図1)を実施した。残りの糞便と咽頭ぬぐい液は-70℃に保存し、その後ウイルス検査に際して図1に示す方法で検体を処理して使用した。

1) ウイルス精製濃縮

Bishopの方法に準じて行つた。まず、下痢便をPBS(-)でおよそ10%乳剤とし、10000rpm30分間の遠心上清を1/5量のダイフロンS3で1回処理し、その後、ポリエチレングリコール6000を最終濃度8%, NaClを0.3Mに加え、1晩4℃に放置した。その後10000rpm60分間遠心した沈渣を出発材料と同量のTris buffer (PH7.0)に浮遊し、これを45% Sucroseに重層し、SPR40ローターで35000rpm15分間遠心した。その沈渣をTris bufferで再浮遊し、超音波処理後3000rpm20分間遠心上清をウイルス精製濃縮抗原とした。この抗原はニワ

トリ血球凝集性を調べた後抗NCDV血清、抗アデノ様D-25(抗D-25)血清を用いて補体結合(CF)反応、さらに抗IgA血清と抗D-25血清を用いてゲル内沈降反応を試みた。

2) ウイルス分離

Eagle's MEMで10%乳剤を作成した糞便と咽頭ぬぐい液は、10000rpm15分間遠心した上清にPC, SMをそれぞれ250u/ml, 100r/mlに加えウイルス分離材料とした。ウイルス分離には、カニクイザル腎細胞, Hep-2細

* 細菌部

胞, MDCK細胞, 乳のみマウスに糞便と咽頭ぬぐい液の分離材料を接種して, 細胞変性 (cpe), 血球凝集性 (HA), マウスの発症を指標として行つた。同定には抗血清を用いて中和反応又はCF反応で同定した。

3) 細菌検査

検査対象とした病原菌は赤痢菌, サルモネラ菌, 病原性大腸菌, 腸炎ビブリオ菌, 病原性ブドウ球菌エンテロトキシン産生ウエルシ菌およびエルシニア菌の7菌種として次の増菌および分離培地を使用した。まず直接培養はSS, DHL, BTBマツコンキ変法, TCBS, スタヒロコッカス株110およびカナマイシンCW寒天平板を使用し糞便1白金耳宛塗抹しそれぞれ指定の温度と時間で培養を行つた。一方増菌培養は下痢便0.5gをSBSスルファ培地→DHL寒天, コリスチン培地→TCBS寒天, N/15 磷酸緩衝液 (PH7.6) →SS寒天およびクックドミート培地→マツコンキ変法, スタヒロコッカス株110とCW寒天の3分離培地とする各組合せで培養した。各分離培地での培養後それぞれ疑わしい集落を可能な限り5個宛確認培養を行い血清学および生化学的同定を行い, 必要に応じて毒素検定を行い病原菌を判定した。

4) ゲル内沈降反応

2.5 mM EDTA加M/1000 Tris bufferに溶解した0.9%アガロースII (同仁薬化) をスライドグラスに2mlを流しプレートを作成した後穴開器で図2に示すように直径2mmの穴を5ヶ所開け, 中心の穴に抗IgA血清を, 周囲の穴にはウイルス精製濃縮抗原またはポリエチレン・グリコール処理抗原を注入し, 4°Cに24~48時間反応させ沈降バンドの有無を観察した。抗アデノ1型 (抗Ad-1), 抗アデノ2型 (抗Ad-2), 抗D-25血清にそれぞれ対応する抗原を組合せて沈降バンドの観察も行つた。

5) NCDVとHRVLのHA抗原

NCDV (仔牛下痢症ウイルス) をカニクイザル腎細胞にM. O. I=0.1で接種, 増殖させた。維持液には1%牛アルブミンを加えたEagle's MEMを用いた。培養上清を2日目から連日10日目まで採取したものをそのまままたはダイフロンS3で処理したものをHA抗原とした。このHA, H

I反応はVBSに0.1%牛アルブミンを加えた希釈液と0.5%ヒトO型血球を用い4°Cで行つた。

HRVLのHA抗原は糞便よりウイルス精製濃縮で作成したCF抗原である。HA, HI反応はPBS(-)希釈液と0.5%ニワトリ血球を用い4°Cで行つた。HI反応には免疫血清をカオリン処理して用いた。

6) 免疫血清

抗IgA血清: 医学生物学研究所製

抗Ad-1, Ad-2, D-25血清: Ad-1 Ad-2, D-25 (下痢患者D-25から検出したAdeno like agent)の各抗原はウイルス精製濃縮の方法に従つて作成した。各抗原を完全アジュバンド (ヤトロン製) で処理し, モルモットの四肢筋肉内に接種し, その後4週間後に同抗原を不完全アジュバンドで処理し追加免疫し, 1週間後に採血して免疫血清とした。

抗NCDV, HRVL血清: 51年度富山県衛生研究所年報に報告したようにモルモットとウサギを用いて作成した。

結果と考察

1 下痢症検査成績は表1に示すとおりである。

a ウイルス検査結果

Bishopの方法によるウイルス粒子の検出は下痢便61件について実施した。1977年1~8月4件, 4月2件, 5月2件, 7月2件の10件よりウイルス粒子様物質を検出した。これらのうち8件は抗NCDV血清, 抗HRVL血清に対して特異的なCF反応を示し, HRVL agentであることを決定した。残る2件は抗Ad-1血清, 抗Ad-2血清に対してCF反応を示し, adeno like agentであることを決定した。乳児における下痢症からのHRVLの検出は一般に晩秋から春にかけての仮性コレラ患者に見られることが報告されているように, 1977年1月から春にかけて7件検出された。残る1件は7月上旬に検出された。しかし1977年晩秋から1978年春にかけて小児下痢患児11件を検査したが, HRVLの検出は出来なかつた。この時期は全国的に仮性コレラの発生が少なかつたと言われている。小児下痢の原因の一つとして, アデノウイルスが関与していると言われている。最近の報告の多くは, Bishopの

方法で精製濃縮した標品を電子顕微鏡下で形態的に Adeno like と同定する方法がとられている。抗 Ad 血清との間で CF 反応またはゲル内沈降反応を用いて、Adeno like と同定したのは著者らが始めてであろう。

組織培養によるウイルス分離同定は糞便から Ad-1 型 1 件 polio-2 型 2 件、未同定 3 件がなされている。採便と同時に採取した咽頭ぬぐい液からは polio-2 型 3 件、Ad-5 型 2 件未同定 2 件が検出された。乳のみマウスを用いてのウイルス分離は糞便より Cox. A-2 型 1 件、咽頭ぬぐい液から Cox. A 群が 2 株分離された。

polio-2 型は、乳児を対象に 5 月から 8 月にかけて実施されているポリオ生ワクチン投与後の生ワクチン由来の polio-2 型と思われる、咽頭ぬぐい液、便から良く検出された。その他 Ad-2 型、Ad-5 型が下痢患者より分離されているが、これらのウイルスは臨時的にウイルス感染症と考えられない検体や健康乳児から多く分離されていることから、下痢症とは直接関係ないと思われる。

b 細菌検査結果

新鮮便を増菌培養、直接培養の結果を表 1 に示す。病原性大腸菌 O55:K59, O126:K71, O111:K58 の 3 件がそれぞれ 7 月、12 月、1 月に直接培養から検出された。O126:K71 と O111:K58 は純培養に近い状態で検出出来、O55:K59 は疑しいコロニーの 20% に見られた。病原大腸菌を純培養状態で検出した 2 件については下痢症との因果関係が明らかであるが、残る 1 件については下痢症と深いかわりがあると推測されるが、患児の血清中の定量凝集価の値を測つたうえで決定する必要がある。一方増菌培養によつてネズミチフス菌の検出された 1 件はたまたま一過性に分離されたか、または健康保菌者が明らかでない。

なお表示以外の病原菌では、腸炎ビブリオおよびエルシニア・エンテロユリチカは全例陰性、病原性ブドウ球菌およびエンテロトキシン産生ウエルシー菌については現在検査中である。

表 1 下痢症検体の検査成績

年 月	材 料	検体数	ウイルス検査			細菌検査 同 定
			ウイルス濃縮 HRVL	精製濃縮 Ad. L	C P E	
1977	1~3 便	12	4			
	4 咽頭ぬぐい液	9	1	1		
	便	15			(Ad-5)2	
	5 咽頭ぬぐい液	10	2		(Ad-2)1 (p-2)1 株 ²	(CA-2)1
	便	14			(p-2)3	
	6 咽頭ぬぐい液	7			(p-2)1	
	便	14				(CA)2*
	7 咽頭ぬぐい液	7	1	1		O-55, K-59(値) S. tyhimurium(増)
	便	8			(未)1	
1978	8 咽頭ぬぐい液	3			(未)1	
	便	4			(未)1	
	9 咽頭ぬぐい液	2				
	便	3				
	12 咽頭ぬぐい液	8				
	便	11				
	1 咽頭ぬぐい液	3				
	便	3				
	計	便	61	8	2	(Ad-2)1 (p-2)2 (未同定) 8
咽頭ぬぐい液	72			(p-2)3 (Ad-5)2 (未同定) 2	(CA)2*	

* CA-2, 5, 8, 10 以外

2 糞便中のIgAの証明

ポリオ生ワクチン投与後糞便中に証明される糞便抗体(copro antibody)は主体はIgAであると報告されている。これらのことから下痢症の場合も同様に腸管にIgAが分泌される可能性を推定し、下痢便のポリエチレン処理後の材料と同精製濃縮標品について、寒天ゲル内沈降反応によりIgAの検索を行った。その結果は表2に示す通りである。

HRV L agentの検出された便の4/8, AdV L agentの検出された便の1/2, 培養細胞にcpeまたは乳のみマウスを発症した便の3/7にIgAを検出した。一方直接または増菌培養で病原細菌の分離された4件の便についてはIgAは検出されなかつた。しかし下痢症検査方法ではなにも分離検出されなかつた材料の14/40(35%)にもIgAが検出された。この現象よりウイルスまたは細菌の検出されない下痢症患者児にも、なんらかの感染症が大腸あるいは小腸に成立している可能性がうかがえるのでIgAの検出が下痢症の診断の一つの担手となると思われる。

3 NCDV, HRV LのHAについて

NCDVは稲葉らがヒト, ウマ, ウシ, ヒツジ等の赤血球を0.1%以上の各種動物のアルブミンの存在下で, さらにHRV Lについては篠崎らがニワトリ赤血球によってそれぞれHAが現ることを報告している。著者らはカニクイザル腎細胞にNCDVを

接種, 経時的に採取した培養上清について, ヒトO型血球を用いてHAを行った。その結果は表3に示す通りである。

HA抗原の出現はCF抗原の検出される2日目から4倍~8倍のHAが現われ, 4~5日目に16倍のHAを示し, その後は徐々に低下する傾向が見られ9日目には4倍のHAを示した。NCDV感染細胞の培養上清をダイフロン処理することによってHAが増強されると報告されているが, そのような現象は見られなかつた。一方小児下痢症より検出したHRV L抗原のWATANABE株, D-37株のHA

表2 Agentsを検出した便において抗IgAに対する沈降バンドを証明した例数

便中に検出したagents	IgA陽性例	率(%)
HRV L	4/8	50
AdV L	1/2	50
CPE, SM	3/7	43
病原性細菌	0/4	0
非検出	14/40	35

分母はagentに関する例数, 分子はIgAの例数

表3 NCDV, HRV Lの血球凝集能

抗原	NCDV (培養上清)										HRV L						
	1日目	2	3	4	5	6	7	8	9	10	4日目**		7日目		watanabe D-37		
											未処理	処理	未処理	処理			
CF抗原価***	—	16	16	32	16	32	16	32	32	16					32	16	
HA 価	O型・VBS・FV*	—	4	4	16	8	8	4	4	4						—	—
	O型・PBS・FV	—	8	16	16	16	8	8	8	4	4					—	—
	ニワトリ・PBS	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	32	8

* 0.1%牛アルブミン加 ** ダイフロンS 8処理 *** ポリエチレングリコール処理による

表 4 抗血清に対するNCDVとHRVLのHI反応

		抗NCDV血清		抗HRVL
		ウサギ	モルモット	モルモット血清
NCDV	未処理	1024	2048	8
	ダイフロン処理	1024	1024	8
HRVL		256	256	256

は表3に示すとおりニワトリの血球に凝集性を示し8倍から32倍のHA価を得、これは篠崎の報告と同じであつた。

4 抗血清に対するNCDVとHRVLのHI HA抗原(NCDV, HRVL)と抗血清(抗NCDV家免血清, 抗NCDVモルモット血清, 抗HRVL血清)の間でHIの交叉試験を実施した。その成績を表4に示す。

抗NCDV家免, モルモット血清, および抗HRVLモルモット血清に対するNCDVとダイフロン処理NCDVの両HA抗原に対するHI態度は全くでありホモである抗NCDV家免, モルモット血清に対しては、それぞれ1024倍, 2048倍と高いHI価を示したが、ヘテロである抗HRVLモルモット血清に対しては8倍と低い値を示した。一方HRVLのHA抗原に対するホモである抗HRVLモルモット血清は256倍を示し、ヘテロである抗NCDV家免, モルモット血清は共に256倍を示した。

51年度年報で報告したCF反応では、抗NCDV, HRVL血清に対する抗原NCDV, HRVLの間には、明らかな交叉反応が認められ小児下痢症患児の診断にNCDVのCF抗原を十分に使用出来たと明らかにしたが、今回のNCDV, HRVLの両HI抗原に対する抗NCDV, HRVL血清の態度は表から明らかなように交叉が非常に少なく、NCDVのHA抗原を用いてのHI反応で小児下痢を診断することは適当でないことが明らかになつた。

このような現象は木村らが報告しているNCDVで抗NCDV血清, 抗HRVL血清を中和した時、

中和価は抗NCDV血清に高く、抗HRVL血清に非常に低いことと良く一致している。

5 アデノ様抗原D-25のCF反応について
下痢便材料よりBishopらの方法によつて精製したD-25 agentの抗原をモルモットで免疫し免疫血清を作成した。これらの免疫血清と各抗原の間のCF反応を行つた結果を表5に示す。

表5 CFでみられるD-25とアデノウイルスの交叉反応

抗体*	抗原**		
	Ad-1	Ad-2	D-25
Ad-1	1024	512	64
Ad-2	514	1024	64
Ad-3	256	512	128
D-25	128	64	256

*遠心精製した抗原を用いて作成(モルモット)

**免疫に使用した抗原

免疫血清Ad-1, Ad-2, D-25に対するホモである抗原にはそれぞれ1024倍, 256倍の高いCF特異性を示し、又抗D-25血清の抗原Ad-1, Ad-2とAd-3に対するCF抗体価はそれぞれ64倍, 64倍, 128倍と強い交叉反応を示した。また抗Ad-1, Ad-2血清に対しても

各抗原はほぼ同程度の抗体価を示し、D-25には128倍、64倍を示した。このようなCF反応の結果よりD-25 agentはAdeno likeと考えられた。

6 D-25のゲル内沈降反応

抗原D-25, Ad-1, Ad-2, Ad-3と各抗血清のゲル内沈降反応の成績は図2に示す通り

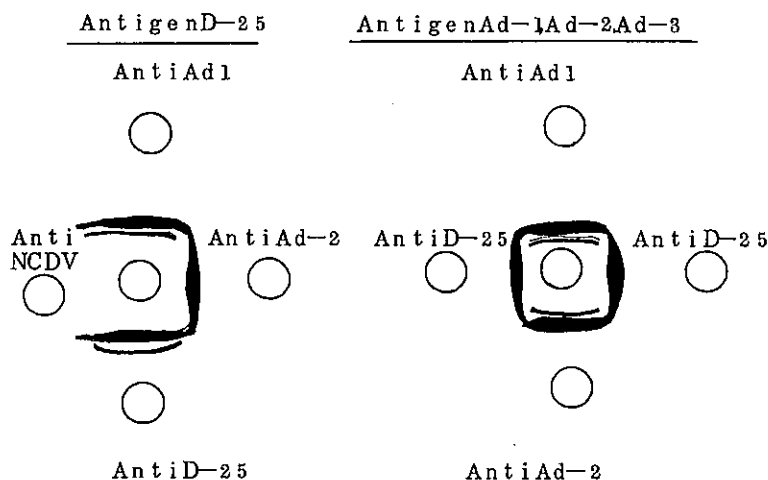


図2 D-25, Ad-1, Ad-2, Ad-3, 抗原に対する各抗血清のゲル内沈降反応

である。抗原D-25に対する抗Ad-1, Ad-2, D-25血清の反応は図2に示すように特異性を示す共通な一本の明瞭な沈降バンドが観られた。また抗原Ad-1, Ad-2, Ad-3に対して抗Ad-1, Ad-2, D-25血清は、共通の一本の沈降バンドが認められた。

以上のCF反応とゲル内沈降反応の成績により、D-25はアデノウイルスと血清学的に共通性があることが明らかになった。

今後この抗D-25血清に対して既知のアデノウイルスが中和されるかどうか検討する必要がある。この精製濃縮したD-25 AgentはHep-2細胞カニクイザル腎細胞にCpeが認められない、またこの便の乳剤も組織培養に対してCpeを認められないことから小児下痢患者の便より電子顕微鏡的にAdeno like virusと観察報告しているものと同様なものであろうと推測している。

まとめ

1) 1977年1月から1978年1月までの1年間に小児下痢患者の61名より、HRVLAgent 8件, Adeno like agent 2件, 病原大腸菌 3件, ネズミチフス菌 1件を検出した。

2) 下痢患児の糞便中にIgAが検出されたことから腸管感染が考えられる。

IgAの検出は下痢症の診断の補助となると思う。

3) NCDVからのHA抗原は、抗HRVLA血清に対して交叉がないことから小児下痢症診断には使用困難である。

4) 小児下痢症よりBishopの方法で精製濃縮した抗原で抗アデノ血清に対してCF反応及びゲル内沈降反応を示したものはAdeno like agentと同定した。

文献

Bishop, R. F., et al. (1974) Lancet 1 149-151
Inaba, Y., et al. (1977) Microbiology and immunology Vol. 21, (9) 531-534

木村輝男ら(1977) ウイルス学会総会演説抄録 (大阪)
甲野礼作ら(1969) ウイルス学の進展 48-62
Madeley, C. R., et al (1977) J. Hyg. 78, 261-273
篠崎立彦ら(1977) ウイルス学会総会演説抄録 (大阪)

〔 研究報告 〕

Y. enterocolitica の抗腫瘍活性について

石倉康宏, 森田修行

Y. enterocolitica (*Y. e*) は, 食中毒起因菌として, 公衆衛生上重要な細菌の一つとして知られている。一方, *Y. e* をマウスに感染させると強い網内系機能亢進活性が認められ (石倉ら), 結核菌や, 嫌気性コリネバクテリウムと同じように抗腫瘍性が期待される。今回は *Y. e* に抗腫瘍性があるかどうかをマウスを用いて検討したので報告する。

材料と方法

1) 供試マウス: 25~30g の *dddY* マウスを用いた。

2) 供試腫瘍細胞: 抗腫瘍性のスクリーニングに広く使用されているサルコーマ 180 腫瘍を用い, その他にエーリツヒ腹水癌も使用した (両腫瘍細胞は *dddY* マウス腹腔内に継代)。

3) *Y. e* の培養と調整: *Y. e* は食中毒由来株である O:3 型を用いた。*Y. e* はトリプトンイ培地で 25 °C, 24 時間培養した。培養菌は PBS を用い, 3 回遠心洗浄し, 10^8 /ml の濃度で少量に分けて, -70 °C に保存したものを使用した。

4) 抗腫瘍性の判定: *Y. e* 処理マウスに 10^5 の S-180 細胞を腹腔に移植し, 腹水癌形成率, 癌死亡率, 平均寿命から効果判定を行った。観察期間は S-180 移植後 50 日間である。

5) *Y. e* のホルマリンおよび加熱処理: ホルマリン処理は, 0.2% ホルマリン加 PBS に *Y. e* を 2 時間作用させ, 加熱処理は 100 °C, 30 分加熱を行った。両処理菌は遠心で 3 回洗浄し, 10^8 /ml になるように PBS に浮遊させた。

成 績

1) *Y. e* の S-180 腹水癌に対する抗腫瘍性と *Y. e* の接種量との関係

Y. e の接種量を変えて, 生菌を腹腔内に投与 1 日後に, 10^8 の S-180 細胞を腹腔に移植し, 50 日間観察した。結果は表 1 に示すように, *Y. e* の 10^8 , 10^7 接種群において対照群にくらべ, 明らかに有意な抗腫瘍性が認められた。それに反し, 10^6 , 10^5 接種群では, 有意な腹水癌形成阻止や, 延命効果を認めることは出来なかつた。

表 1 *Y. enterocolitica* の S-180 の腹水癌に対する抗腫瘍性

接 種	抗 腫 瘍 性						平均寿命	
	<i>Y. e</i> 数	癌形成数/移植数	%	P	癌死数/移植数	%		P
PBS		9/9	100		9/9	100		27±3
10^8		3/10	30	<0.01	3/10	30	<0.01	
10^7		2/10	20	<0.01	2/10	20	<0.01	
10^6		9/10	90		9/10	90		25±4
10^5		10/10	100		10/10	100		22±4

Y. e は S-180 移植 1 日前に生菌を腹腔に接種した。S-180 は 10^5 腹腔に移植し, 50 日間観察した。

表2 Y. enterocoliticaの接種時期のちがいによる抗腫瘍効果

Y. e 接種 時期	抗腫瘍性		腫瘍性		P	平均寿命
	癌形成数/移植数	%	癌死数/移植数	%		
PBS	10/10	100	10/10	100		26±2
-7	10/10	100	10/10	100		28±7
-4	4/10	40	4/10	40	<0.05	31±12
-2	5/10	50	4/10	40	<0.05	25±8
-1	2/10	20	2/10	20	<0.001	
0	2/10	20	2/10	20	<0.001	
+2	2/10	20	2/10	20	<0.001	
+4	8/10	80	8/10	80		24±4
+7	10/10	100	8/10	80		32±5

(-)はS-180移植前にY. eを接種した日数。(+)はS-180移植後Y. eを接種した日数
S-180は 10^5 , Y. eは 10^8 の生菌を腹腔内に接種した。

2) Y. eの接種時期の違いが抗腫瘍性におよぼす影響

前の実験において、 10^8 のY. e接種が最も抗腫瘍効果が認められたので、 10^8 の接種量で、S-180移植の前後7日までY. eの接種時期をかえ、抗腫瘍性を観察した。表2に示すように、S-180移植前4日から移植後2日までY. eを接種した場合にのみ有意な抗腫瘍性が認められた。最も有意な抗腫瘍性が認められたのは、S-180移植1日前、同時接種、腫瘍移植後2日までであった。

3) Y. eの接種ルートの違いによる抗腫瘍性
これまでの実験では、S-180, Y. eとも同じ腹腔内に接種して、抗腫瘍性をみてきたが、S-180とY. eを別のルートから接種した場合にも抗腫瘍性が認められるかどうかを検討した。Y. eを 10^8 尾静脈に接種1日後、S-180を 10^5 腹に移植して観察したところ、表3に示すように抗腫瘍性は全く認められなかった。

4) 他の移植腫瘍に対するY. eの抗腫瘍性

Y. eはS-180腫瘍増殖を有意に抑制することがわかったので、他の腫瘍に対する効果を検討した。表4に示すように、エーリツヒ腹水癌(10^5 移植)に対してもS-180と同程度の抗腫瘍性を示すことが判明した。

5) Y. eの加熱およびホルマリン処理が抗腫瘍性におよぼす影響

これまでの実験ではすべて生菌を用いての実験であった。そこで死菌によっても生菌と同じような抗腫瘍性が認められるかどうかを検討した。表5に示すように、ホルマリン処理死菌では有意な抗腫瘍性が認められたのに反し、加熱死菌では若干の延命効果を認めただけで過ぎなかった。

図1は腫瘍移植後の体重から、移植前の体重を減じた値を経日的にプロットしたものである。生菌、

表3 Y. enterocoliticaの静脈内接種による抗腫瘍性

マウス処理 (静脈)	抗腫瘍性		平均寿命
	癌形成数/移植数	%	
PBS	10/10	100	27±3
Y. entero colitica	10/10	100	26±3

Y. eは 10^8 静脈内に接種1日後、 10^5 のS-180を腹腔に移植した。

ホルマリン処理群で腫瘍死した個体をみると、対照のPBS群と同じように、S-180移植後、10日目頃から腫瘍細胞の増殖がさかんになる個体と増殖が遅延する個体に分かれる。加熱死菌群においては対照群よりも腫瘍の増殖はさかんであるにもかかわらず、延命効果があることを示している。

考 察

Y. e.の生菌およびホルマリン処理死菌には、S-180、エーリツヒ腹水癌に対し強い抗腫瘍性が認められた。Y. e.の抗腫瘍性には、至適doseがあり、Y. e.の 10^8 以上の菌数が必要である。またY. e.の接種時期にも影響され、腫瘍移植とY. e.接種時期の間が短いほど抗腫瘍効果が有意に認められた。一方、Y. e.の接種ルートの実験から、Y. e.の抗腫瘍性は、腫瘍細胞とY. e.を同一ルート(腹腔)に接種したときのみ発現されることがわかつ

た。

グラム陰性菌の抗腫瘍性について、これまでの報告では、耐熱性であるLPSがその活性をになり菌体成分とされている。著者らの今回の実験では、生菌、ホルマリン死菌に抗腫瘍活性が認められたのに反し、加熱死菌には認められなかつた。このことはこれまでの報告と異なり、Y. e.の抗腫瘍活性をになり菌体成分は易熱性の物質であることが予想される。

最近、人間の腫瘍の実験的治療にBCGや嫌気性コリネバクテリウムが使われ、注目されている。Y. e.もマウスの腫瘍に対し、これらの細菌に比適する抗腫瘍活性を示すことから、今後はY. e.の抗腫瘍性の機序等について、更に詳細な研究を進めたい。

文 献

石倉康宏, 中山喬ら(1974), 日本細菌学会中部支部総会講演集。

表4 Y. enterocoliticaのエーリツヒ腹水癌に対する抗腫瘍性

細胞	抗 腫 瘍 性			抗 腫 瘍 性		
	癌形成数/移植数	%	P	癌死数/移植数	%	P
PBS	10/10	100		10/10	100	<0.001
エーリツヒ腹水	2/10	20	<0.001	2/10	20	
PBS	10/10	100		10/10	100	
S-180腹水	2/10	20	<0.001	2/10	20	<0.001

Y. e.の生菌 10^8 を腹腔接種1日後、S-180 10^6 を移植した。

表5 Y. enterocoliticaの加熱およびホルマリン処理が抗腫瘍性におよぼす影響

Y. e. 処理	抗 腫 瘍 性			抗 腫 瘍 性			平均寿命
	癌形成数/移植数	%	P	癌死数/移植数	%	P	
PBS	10/10	100		10/10	100		26±2
生 菌	2/10	20	<0.001	2/10	20	<0.001	
熱 処 理 死 菌	9/9	100		9/9	100		33±7
ホルマリン処理死菌	4/10	40	<0.05	4/10	40	<0.05	27±6

各処理菌は 10^8 腹腔に接種、1日後 10^6 のS-180を移植した。

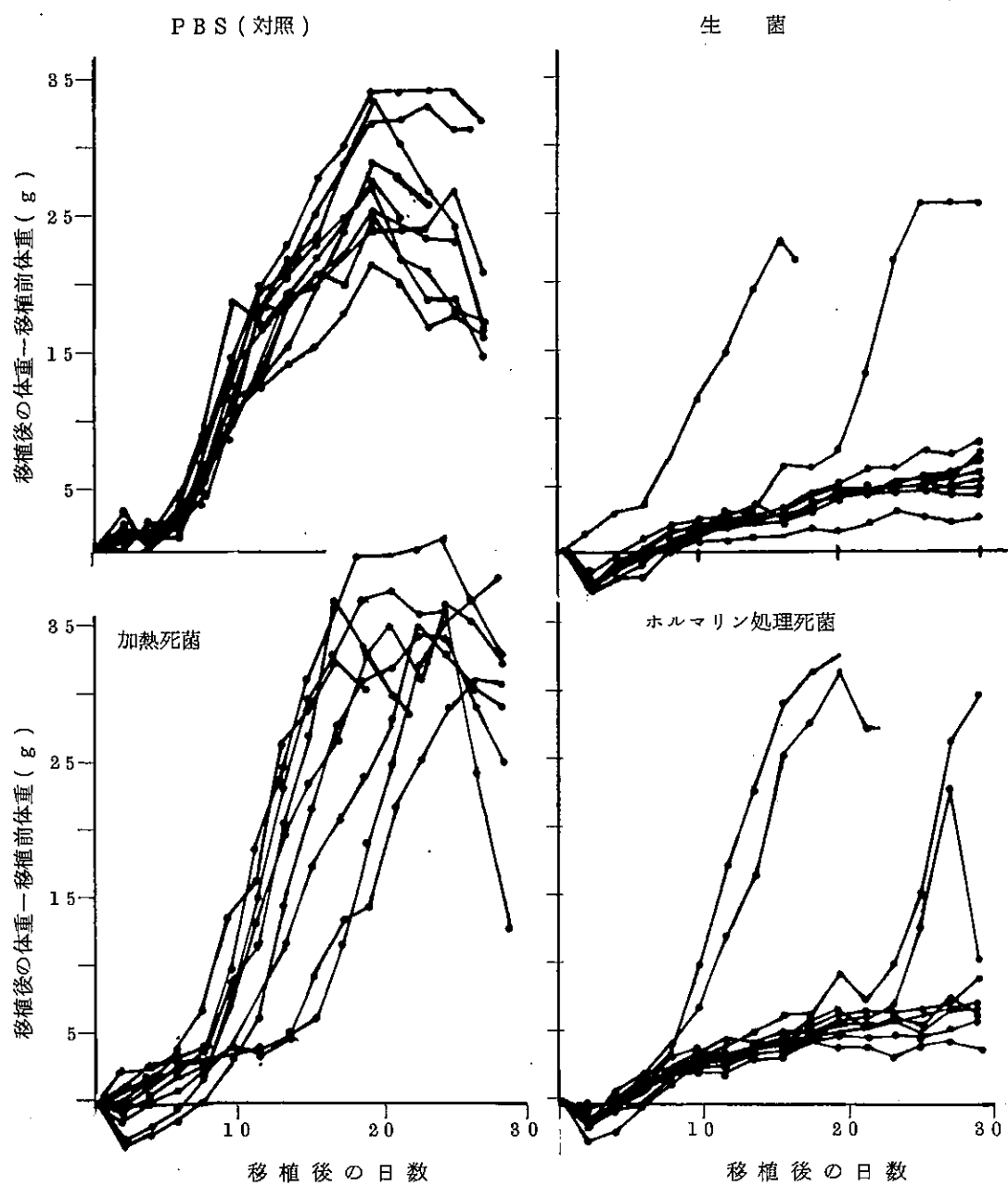


図1 生菌，ホルマリン処理死菌，加熱死菌を前処理したマウスにおけるS-180腫瘍の増殖

担癌初期マウス血清中に存在する細菌感染 抵抗性抑制因子について

石倉康宏 森田修行

前報において、担癌初期マウスは、リステリアをはじめ、各種細菌の実験的感染に対し、感染抵抗性が抑制され、その抑制因子が担癌初期マウス血清中に存在することを明らかにした。さらに、この血清因子は、炎症局所に滲出する多核白血球、マクロファージの集積を抑制する活性があり、これが原因となつて、細菌感染の抵抗抑制が発現されることを報告した。

今回は、血清中に存在する抑制因子が、担癌状態という特殊な条件下において、宿主細胞によつて産生されるのか、移植された癌細胞が産生するのか、正常および癌細胞に関係なく、ただ単に細胞移植といつた条件下で産生されるものかどうかを検討し、さらに、抑制因子のSephadex G75による分離を試みたので報告する。

材料と方法

1) 供試マウス：実験は主に ddY マウスを使いその他に、DBA/2, BALB/C, C57BL/6 を用いた。

2) 感染実験：細菌は *L. monocytogenes* (*L. m*) を用い、各種前処理マウスの腹腔、足趾に感染 (3×10^4) させ、目的とする時間に、腹腔洗液、肝、足趾 (ホモジネート) 内の菌数をトリプトイ寒天平板を用い算出した。

3) 正常および担癌血清の採取：マウス (担癌マウスは 24 時間目) の大腿部動脈より採血し、血清は -50°C に保存したものを用いた。

4) 癌性腹水と癌細胞の採取：エーリツヒ腹水癌細胞 (EATC) は ddY マウスの腹腔に移植、15 日目に腹水を採取し、速心して腹水と細胞に分け、腹水は -50°C に保存、細胞はさらに Hanks 液で洗浄し、癌の継代、培養のために供した。

5) 供試した培養細胞と癌細胞：培養細胞は、L (C3H由来), 3T3 (NIH), MC (ddY, マウス腫瘍原性) の継代細胞の外に DBA/2 の肺細胞 (初代) を用いた。脾細胞は、ddY, ICR

C57BL/6 の脾臓から常法に従つて採取し、使用した。

6) 細胞培養と培養上清の採取：培地は 15% FCS 加 Eagle's MEM を用いた。各細胞は 10^6 / plate の割で接種し、3 日間培養し、上清は 1000 rpm 20 分で冷却遠心したものを実験に供した。

7) 癌移植部位における抑制因子の抽出：マウスの後右足趾に EATC を 10^6 移植し経日的に足首で切断し、重量の 3 倍量の PBS を加えてホモジネートし、12000 rpm 20 分遠心し、上清を -70°C に保存した。対照は非移植足趾を同様に処理し、上清を得た。

8) 多核白血球の腹腔内への誘導および正常細胞または、担癌、正常マウス血清で前処理した実験では TGC 培地を誘導剤として使用し、培養細胞上清を用いる実験では、直接培養上清を TGC 同様 3 ml 腹腔内に注射し、6 時間後に腹腔を洗浄し、腹腔細胞はスライドグラスに塗抹、固定後、ギムザ染色を行つて多核白血球率を求めた。

9) マクロファージの誘導

I) 腹腔内への誘導：PHA-P (Difco) 40 mcg を前処理されたマウス腹腔内に注射し、24 時間目の腹腔細胞の 7~8 割はマクロファージであることから、マクロファージの腹腔内集積は、簡単に腹腔内の総細胞数として表わした。

II) PHA による足趾反応：各種前処理マウスの後右足趾に 100 mcg PHA を注射し、24 時間後に PBS を注射した対照の左足趾との厚さの差から足趾反応 index を求めた。

$$\text{足趾反応 index} = \frac{\text{PBS-PHA}}{\text{PBS}} \times 100$$

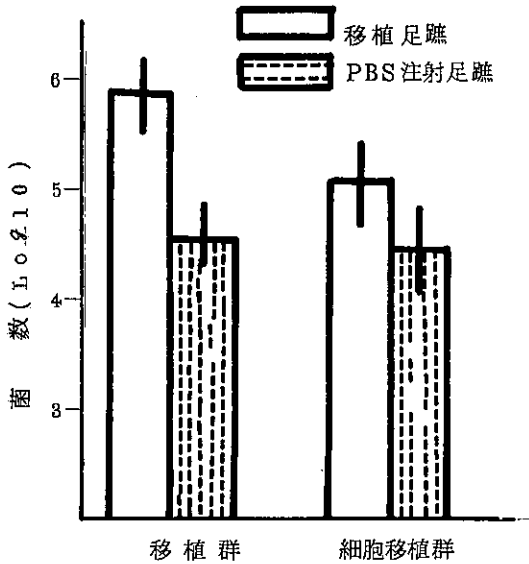
10) 癌性腹水からの抑制因子の分離：Sephadex G75 を用い、 $3.5 \times 4.0 \text{ cm}$ のカラムに 10 ml の Sample をのせ、PBS (PH 7.4) で 40 ml/h で流出させた。流出液は 5 つに分画し、抑制活性を測定した。

実験結果

1) 癌細胞および正常脾細胞移植足蹠内のリステリアの増殖

ddYマウスの後右足蹠にEATCと正常脾細胞(ddY)を 10^8 移植し、左足蹠にPBSを注射し対照とした。24時間後、L.mを 3×10^4 足蹠内に感染させ、2日後に各足蹠内のリステリア数を算出した。

正常脾細胞移植足蹠内でのL.mの増殖差は、対照のPBS注射足蹠にくらべてわずかであつたのに反し、EATC移植足蹠では10倍以上の差が認められ、また脾細胞移植足蹠との間にも約10倍近い差が認められた(図1)。



リステリアは 3×10^4 細胞移植、非移植の足蹠に接種し、2日後に足蹠内の菌数を測定した。

図1. および正常脾細胞移植足蹠内でのリステリアの増殖

2) EATC移植足蹠ホモジネート上清がL.m増殖におよぼす影響

前の実験において、癌細胞移植部位でL.mがよく増殖することから、細菌感染抵抗性抑制因子が、移植部位で産生されている可能性が示唆される。そこで、癌移植部位に液性の抑制因子が存在するかどうかを検討した。

ddYマウスの後右足蹠にEATCを 10^8 移植し左足蹠にPBS注射後、経目的に足蹠をホモジネートし、遠心後の上清は、ddYマウスの尾静脈に0.4ml注射した。2時間後に 3×10^4 のL.mを腹腔内に感染させ、2日後に、肝および腹腔内のL.m数を算出した。移植足蹠ホモジネート上清は、非移植足蹠にくらべ、肝、腹腔内ともに、有意の差をもってL.m感染を促進する作用が認められた(図2)。このことは、明らかに癌移植部位で液性の抑制因子が産生されていることを示すものであろう。

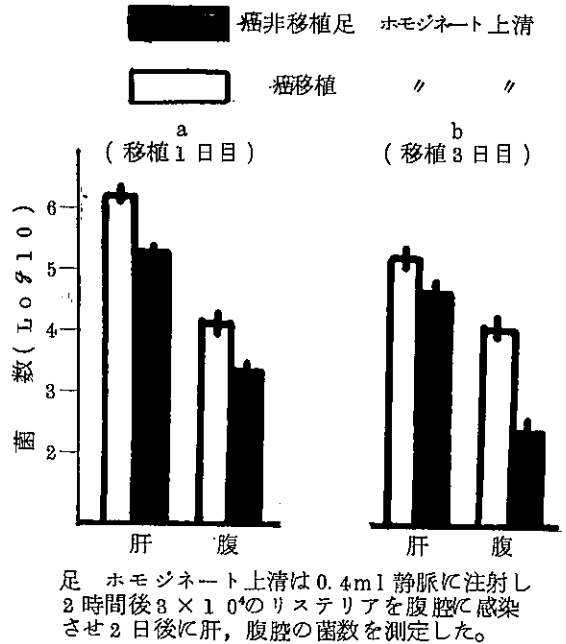


図2. 癌移植足蹠ホモジネート上清がリステリアの増殖におよぼす影響

3) 各種マウス細胞の皮下移植による多核白血球とマクロファージの腹腔および足蹠への集積に与える影響

1) マクロファージ、多核白血球の腹腔への集積に与える影響

癌細胞および正常の同系又は異系の脾細胞をddYマウス後右足蹠に 10^8 移植24時間後、PHA 40mgを腹腔内に注射した。注射24時間後、腹腔の総細胞数を測定したところ、ETCA、MC細胞と

いつた腫瘍原性をもつ細胞を移植した群においては腹腔へのマクロファージの集積は著しく低下しているのに反し、脾細胞前処理群では対照群との間に差を認めることが出来なかつた。

表1 各種マウス細胞の皮下移植がマクロファージの腹腔への集積に与える影響

移植細胞	腹腔総細胞数 ($n \times 10^6$)	抑制%
PBS	7.5±0.3	
DDY SPLEEN CELL	6.3±0.1	16
ICR SPLEEN CELL	7.8±0.1	3
MC CELL	3.5±2.0	53
EAT CELL	2.0±0.5	73

各細胞は足蹠内に 10^6 移植し、移植24時間後40mcgのPHAで腹腔へマクロファージを誘導した。

多核白血球の腹腔内への集積の影響をみるために上記の如く前処理したマウスの腹腔内に、TGC培地を3ml注射し、6時間目の腹腔内細胞の多核白血球の割合を算出した。対照のPBS群で $4.5 \pm 5\%$ 、ddY脾細胞で $4.8 \pm 6\%$ 、ICR脾細胞で $4.2 \pm 3\%$ 、MC細胞で $3.5 \pm 5\%$ 、EATCで $3.2 \pm 2\%$ であり、マクロファージと同様に、腫瘍原性を持つ細胞移植群は、正常脾細胞移植群にくらべて、腹腔への多核白血球の集積が抑制されていた。

II) 足蹠へのマクロファージの集積に与える影響

表2に示してある各種のマウス細胞で、上述した実験と同様に前処理し、マウス足蹠にPHA100mcgを注射し、24時間後の足蹠反応からindexを求めた。EATC、MC細胞は低い値のindexを示し、PBS群とくらべるとおよそ40%抑制されている。また異系の脾細胞移植群でも20%前後の低下を示している(表2)。

4) 各種マウス由来細胞培養上清が腹腔への多核白血球の集積および、PHA足蹠反応におよぼす影響

表2 各種マウス細胞の皮下移植が、PHA足蹠反応に与える影響

移植細胞	PHA足蹠反応 index	抑制%
PBS	21±2	
DDY SPLEEN CELL	21±3	0
ICR SPLEEN CELL	16±2	23
C57BL/6 SPLEEN CELL	17±3	16
MC CELL	13±2	40
3T3 CELL	13±2	40
EAT CELL	12±2	43

各細胞は背部皮下に 10^6 移植し移植24時間後に100mcgのPHAを後右足蹠に、左足蹠にPBSを注射し、24時間後にindexを求めた。

培養上清をddYマウス腹腔内に3ml注射し、多核白血球は6時間目に測定し、PHA足蹠反応はPHA注射24時間目に判定した。

多核白血球の集積にはEATC移植群のみに若干の低下が認められ、PHA足蹠反応では、癌細胞の外に継代細胞(L. 3T3)に反応の低下が認められた(表3)。

表3 各種マウス由来細胞培養上清が腹腔への多核白血球への集積およびPHA足蹠反応におよぼす影響

培養上清	PNC%	PHA足蹠反応 index
MEDIUM	47±4	20±3
L CELL	51±3	16±2
3T3 CELL	53±3	15±3
DBA/2 LUNGE CELL	48±11	18±5
MC CELL	55±3	14±3
EAT CELL	35±2	14±2

培養上清は腹腔内に3ml注射し、多核白血球(PNC)は6時間目の腹腔細胞より算出した。PHA足蹠反応は、PHA注射24時間後に判定した。

5) Sephadex G75 による EATC 由来癌性腹水からの抑制因子の分離

EATC 移植 15 日目の癌性腹水中に抑制因子が存在するかどうかを検討した結果、表 4 に示すように明らかな抑制活性が認められた。そこで、この癌性腹水を Sephadex G75 で分画したところ、280 μ m の吸収で 3 つのピークが認められた。これを流出順に 5 つの分画に分け、生物活性をみると図 3 に示すように、F1 に弱い活性が、F4 に比較的強い抑制活性が認められた。

考 察

癌移植部位と非移植部位 (同一個体) に直接 L. m を感染させ、増殖を比較すると、移植部位内での増殖が、非移植部位に比べて良く (図 1)、しかも

表 4 癌性腹水が腹腔への多核白血球の集積、および PHA 足趾反応におよぼす影響

血清と癌性腹水	PNC%*	PHA 足趾反応 index
PBS	45 \pm 3	18 \pm 2
DDY 正常血清	50 \pm 4	18 \pm 5
BALB/C 正常血清	53 \pm 3	18 \pm 7
DDY 担癌血清	26 \pm 5	10 \pm 2
DDY 癌性腹水	28 \pm 8	11 \pm 2

* PNC -- 多核白血球血清、癌性腹水 (移植 15 日目) は 0.5 ml 腹腔に注射し、2 時間後に 2.5 ml の TGC 培地で腹腔へ多核白血球を誘導した。

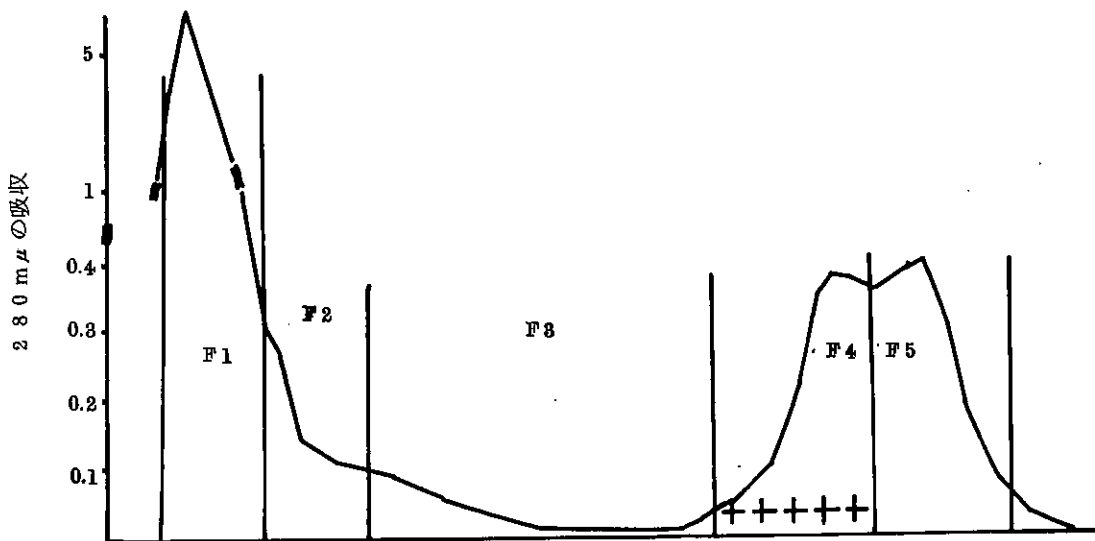


図 3 Sephadex G75 による癌性腹水からの抑制因子の分離

癌移植部位組織のホモジネート上清に、L. m 感染抵抗性抑制因子が認められた (図 2)。さらに、癌細胞や、継代培養細胞、同系、異系の脾細胞を皮下に移植すると、癌細胞移植群では、多核白血球、マクロファージの炎症局所への集積が強く抑制され、

その抑制因子がわずかながら癌細胞 (EATC, MC 細胞) 培養上清に認められた。

これらの成績から、担癌マウスの血清中に認められる抑制因子は、癌移植部位で癌細胞によつて産生され、血行を介して、多核白血球、マクロファージ

に作用し、細菌感染抵抗性抑制作用へとつながって行くことが判明した。

ではこの抑制因子は、癌細胞のみが特異的に産生する物質であろうか。正常脾細胞移植部位にL. mを感染させると、対照にくらべ、わずかながらL. m増殖が促進されることや(図1)、腫瘍原性の認められない θ T θ 細胞、異系脾細胞の移植によつてPHA足蹠反応が抑制されることから(表3)、癌細胞のみが特異的に抑制因子を産生するとは考えがたい。特に癌細胞に強い活性が認められることは、癌細胞の方がより多量の抑制因子を産生する能力があるにすぎないのかもしれない。

ではこの抑制因子はいかなる物質であろうか。抑制活性のある癌性腹水をSephadex G75で分画したところ、低分子分画に活性の主体が認められた。最近Levineらは癌細胞は多量のプロスタグランデンを産生するものが多いこと、またHillらはプロスタグランデンはホルモンと同様に、アデニールサイラ

ーゼを介し、細胞内のCAMPの濃度を上昇させ、多核白血球やマクロファージの遊走を抑制することを報告している。著者らも、プロスタグランデンの特異的合成阻害剤であるアスピリンを用いた実験において、担癌マウスの感染抵抗性の抑制が解除される現象を観察している(未発表)。

また、プロスタグランデンの分子量(350前後)から考えても、抑制因子がプロスタグランデンである可能性は十分考えられる。

文 献

- Hill, H. R., Estensen, R. D. (1975),
Metabolism, 24, 447.
Levine, L., Hinkle, P. M. (1972),
Biochim. Biophys. Res. Commun.,

〔資料〕

パラインフルエンザ H I 抗体価調査

久保義博, 香取幸治, 松浦久美子
中山 喬, 森田修行

厚生省特別研究費補助のもとに全国地研協議会はウイルス関係ではパラインフルエンザ感受性調査を実施することになった。パラインフルエンザは乳幼児から小学校就学頃までに多く感染するといわれているが、わが国での抗体保有状況調査の報告は少ない。このたび全国的規模で血清疫学調査がおこなわれることは意義あることである。

H I 抗体価調査では、風疹流行予測調査で採取された血清のうちから19才以下のものを選んでおこなった。したがって、対象者は福野、氷見、富山、魚津、黒部各保健所管内の女子であった。年齢別では検体数の少ない年齢もあるが、0才から19才まですべての年齢を網羅した。抗体価測定用抗原ならびに標準抗血清は地研協議会で指定（愛知衛研が力価測定）された東芝化学製で、抗原としては1型（HA-2, lot15209）、2型（CA, lot13209）、3型（HA-1, lot12209）、抗血清としては1型（lot06210）、陰性血清（lot01210）を使

用した。抗原と標準抗血清の力価を使用時に測定したが、表示力価と著しい違いはなかつた。H I 術式は芦原の方法（臨床とウイルス、3巻、2号、14頁）によつた。

年齢別H I 抗体価分布を表に示す。1型に対する抗体保有状況は入学前（5才以下）でほとんど陰性だが、小学生の低学年から高学年にかけて陰性率は低下する傾向にあつた。2型では入学前に陰性者の多いのは1型と同様だが、全般的に1型に比し抗体保有者は少ない。3型では各年齢区分とも低い陰性率を示した。パラインフルエンザのH I は各型相互に交叉があるといわれているので、抗体保有状況からある型のウイルス感染を断定できないが、すくなくとも3型ウイルスの感染が乳幼児など若年層においてもおこっていることは明らかである。これらの結果は西川の報告（臨床とウイルス、3巻、2号）にみられる抗体保有調査の結果と同じ傾向であつた。

パラインフルエンザ年齢別H I 抗体価分布表

パラインフルエンザ 1型（HA-2）

年齢区分	実施 件数	H I 抗体価						陰性率 (%)
		<4	4	8	16	32	64	
入学前	22	20		1	1			91
小学校1~3年	27	13	7	5	2			48
小学校4~6年	15	2		11	1	1		13
中学生	12	1	2	5	4			8
高校生	20	4	4	10	2			20
計	96	40	13	32	10	1		42

バラインフルエンザ 2型 (CA)

年 令 区 分	実施 件数	H I 抗 体 価					陰 性 率 (%)
		< 4	4	8	1 6	3 2	
入 学 前	2 2	2 0	1	1			9 1
小 学 校 1 ~ 3 年	2 7	9	8	7	1	2	3 3
小 学 校 4 ~ 6 年	1 5	6	1	6	2		4 0
中 学 校	1 2	8	3		1		6 7
高 校 生	2 0	6	4	8	1	1	3 0
計	9 6	4 9	1 7	2 2	5	3	5 1

パラインフルエンザ 3型(HA-1)

年 令 区 分	実施 件数	H I 抗 体 価						陰 性 率 (%)
		< 4	4	8	1 6	3 2	6 4	
入 学 前	2 2	1		1	6	7	7	5
小学校1～3年	2 7	1	1	2	8	1 3	2	4
小学校4～6年	1 5	2			7	4	2	1 3
中 学 生	1 2		1		9	2		0
高 校 生	2 0		1		1 3	5	1	0
計	9 6	4	3	3	4 3	3 1	1 2	4

〔調査報告〕

健康学童の咽頭溶連菌保菌に関する考察

児玉 博英・田口 由清・刑部 陽宅
久保 義博・大浦美穂子*

目 的

1.しより紅熱をはじめとする溶連菌感染症の流行を未然に防ぐため、健康児童の咽頭における本菌保菌状態を把握すること。2.本菌の健康保菌者について、咽頭細菌叢と溶連菌の関係を明確にすること。3.本年度は特に、咽頭と平行して、児童の手のみきとりおよび机のみきとりから溶連菌の検出を試み、一教室という環境での溶連菌の動態を見ることを主眼とした。

調査対象および方法

対象：Ⅰ 新湊市新湊小学校1年北組（在籍42）
Ⅱ 福光町吉江小学校1年2組（在籍30）
検査月日：新湊小学校，第1回，S52年6月21日，第2回，10月25日，第3回，12月8日，第4回，S53年2月18日。吉江小学校，第1回，S52年6月28日，第2回，10月18日，第3回，12月6日，第4回，S53年2月7日。

検査方法：児童の咽頭両側を綿棒（川本綿帯製）で充分ぬぐった後、馬血液寒天平板への直接塗抹とバイク培地（Difco製）増菌培養を併用して溶連菌を分離した。今回は定量培養は行わず、直接塗

抹平板上のβ溶血コロニー数から、溶連菌数を推定した。手のみきとりは両手のひら全面を、机のみきとりは約70cm²を、それぞれバイク培地に浸した1本の綿棒によりのみきとり、バイク増菌培養後、馬血液寒天混濁培養により溶連菌を分離した。分離菌については、自家製抗血清による群別、A群の型別を行ない（児玉博英，1971），A群菌については同時に東芝製抗血清を用いてT型別も行なった。分離菌の薬剤感受性は3濃度ディスク法（栄研トリディスク使用）により、ペニシリン（PC）、テトラサイクリン（TC）、クロラムフェニコール（CF）、エリスロマイシン（EM）の4剤に関して測定した。

検 査 結 果

Ⅰ. 新湊小学校について

4回の検査を通じて、咽頭溶連菌保菌率は一般に高く、最低でも6月の20.5%，最高は10月の38.1%であった。菌型分布はA群12型，4型，1型およびG群であった（表1，2）。

表1 咽頭溶連菌保菌率と分離菌の菌型分布（新湊小学校）

検査回	検査月日	検査数	溶連菌 保菌者 数（率）	分 離 溶 連 菌 の 群 ・ 型 別														
				群					型									
				A	B	C	G	?	1	3	4	5/27 44	6	12	22	imp19	B3264	?
第1回	S52. 6. 21	39	8 (20.5%)	7	0	0	1	0	2	0	3	0	0	2	0	0	0	0
第2回	S52. 10. 25	42	16 (38.1%)	10	1	0	5	0	2	0	4	0	0	3	0	0	0	1
第3回	S52. 12. 8	42	14 (33.3%)	10	0	0	4	0	2	0	3	0	0	5	0	0	0	0
第4回	S53. 2. 18	41	10 (24.4%)	7	0	0	3	0	1	0	3	0	0	3	0	0	0	0

*高岡保健所

表2 児童の手のひらおよび机のふきとりからの溶連菌検出率と分離菌の菌型分布

検査回	検査対象	検査数	溶連菌検出 数 (率)	分離溶連菌の群・型別															
				群					型										
				A	B	C	G	?	1	3	4	5/27 4	6	12	22	imp19	E3264	?	
第1回	手のひら	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	机	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
第2回	手のひら	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	机	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
第3回	手のひら	42	7*(16.6%)	6	0	0	2	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	机	42	3 (7.1%)	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
第4回	手のひら	41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	机	41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* 1名 A12型とG群菌の両方を検出(表3のNo25及び図1のNo25)

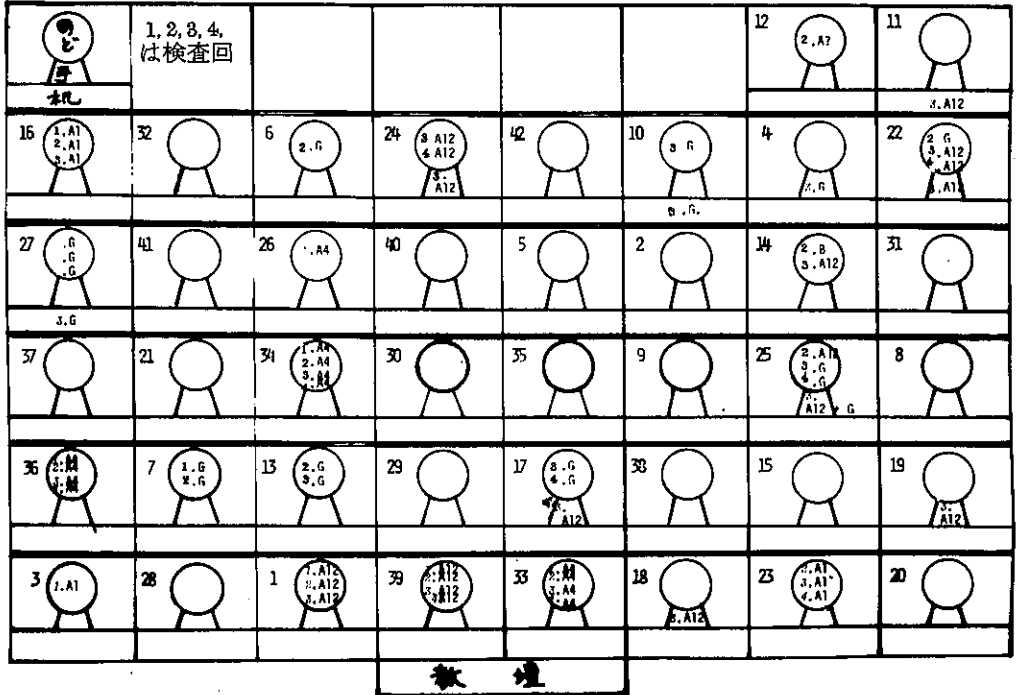


図1 新湊小学校クラスにおける机の配置(第3回検査時)と咽頭, 手, 机のふきとりからの溶連菌検出状況

保菌状態を個人別に見ると、1回だけ溶連菌が分離された例も散見されるが、多くは連続保菌者であり、A群12型菌の保菌者2名、4型菌保菌者3名1型菌保菌者2名、G群菌保菌者が1名が、3〜4回連続して同一の保菌状態を維持していた。その他、A群12型菌を2回連続して保菌していたものが2名、G群菌を2回連続保菌していたものが4名認められた。このような咽頭溶連菌保菌者の殆どは、直接培養の所見から、咽頭細菌叢に占める溶連菌の比率が著しく少なく、わずかに第2回検査の№25と第3回検査の№24（図1、共にA群12型）の2例が、比較的溶連菌数が多かった。一方、手のひら、机のふきとりの結果、第3回（12月）の検査においてのみ、手のひらから7名（1名は2菌型を同時に分離）、机3台から溶連菌が分離されたが、菌型はA群12型とG群のみであった。その他の時期には、咽頭以外からは全く溶連菌は検出されな

った。手のひらおよび机から多数溶連菌が分離された第3回検査の時点での机の配置と、咽頭溶連菌保菌状態との関連を示したのが図1である。手のひらから溶連菌が検出された7名のうち、3名は同一菌型が咽頭からも分離されており、1名は手のひらからはA群12型、咽頭からはG群が分離され、残る3名は咽頭から溶連菌は分離されていない。なお、手のひらからA群12型とG群が同時に分離された例では、その時点での咽頭由来菌はG群のみであった。又、机から溶連菌が検出された3例中2例は、その机を使用している本人の咽頭からも同一菌型（いずれもG群）が見出されている。1例は本人ではないが、すぐ前の席に同一菌型の保菌者が座っているという状況であった。

II. 吉江小学校について

この集団の咽頭溶連菌保菌率は、4回の検査を通じて常に低く、10.3〜16.6%の範囲であり、菌型分布も、A群1型および3型が各1例見出されたほかは総てA群型不明菌であって、特に優勢な菌型は見られなかった（表3、4）。

表3 咽頭溶連菌保菌率と分離菌の菌型分布（吉江小学校）

検査回	検査月日	検査数	溶連菌保菌者数（率）	分離溶連菌の群・型別															
				群					型										
				A	B	C	G	?	1	3	4	5/27 /44	6	12	22	impl9	B3264	?	
第1回	S52. 6. 28	30	5 (16.6%)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
第2回	S52. 10. 18	30	4 (13.3%)	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3
第3回	S52. 12. 6	29	3 (10.3%)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
第4回	S53. 2. 7	29	3 (10.3%)	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1

表4 児童の手のひらおよび机のふきとりからの溶連菌検出率と分離菌の菌型分布

検査回	検査対象	検査数	溶連菌検出数（率）	分離溶連菌の群・型別														
				群					型									
				A	B	C	G	?	1	3	4	5/27 /44	6	12	22	impl9	B3264	?
第1回	手のひら	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	机	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
第2回	手のひら	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	机	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
第3回	手のひら	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	机	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
第4回	手のひら	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	机	30	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

個人別に保菌状態を見ると、A群型不明菌の保菌者の中に、2回、3回および4回の連続保菌が各1名見られたが、1型と8型菌に関しては1回のみ保菌であった(図2)。又、手のふきとり、机のふ

きとりでは、4回の検査を通じて、机から1例A群B3264型が分離されたのみであり、その菌型は咽頭には見出されていない。

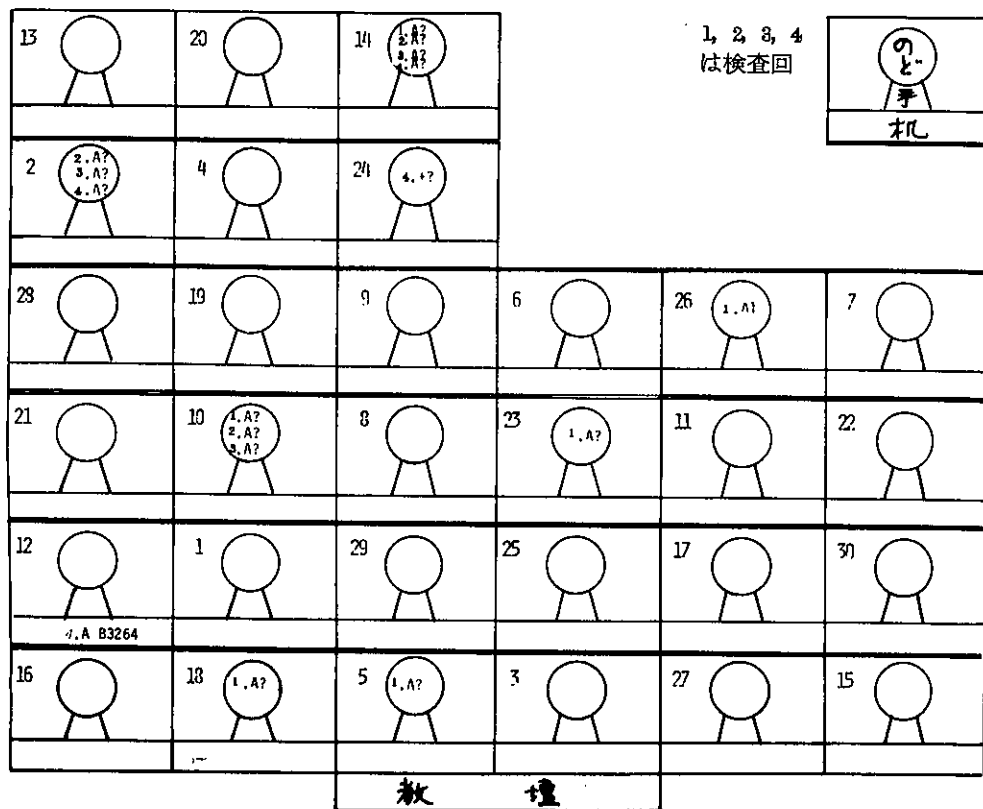


図2 吉江小学校クラスにおける机の配置(第4回検査時)と咽頭, 手, 机のふきとりからの溶連菌検出状況

考察と総括

I 新湊小学校について

4回の検査結果を総合して、このクラスにおける宿主(児童)と溶連菌の動態を要約すると次のようである。1. 咽頭溶連菌保菌率はかなり高く、個人別に見ると、A群12型、4型、1型およびG群菌の保菌状態は長期定着の傾向である。2. 冬期に向けて、エリスロマイシン耐性のA群12型菌の保菌者が徐々に増加し、G群と共に咽頭溶連菌の優勢菌型になっている。3. 咽頭の状態を反映して、第8回の検査では、手のひら、机のふきとりから、かなりの頻度でA群12型とG群のみが検出されている。

このような事実は、咽頭に見出される各種菌型のうち、A群12型とG群菌が、冬期には環境中でも生存力が強く、保菌者からの飛沫を介してばかりではなく、手、机等を介しても増幅され得ることを示唆している。2月の検査では、咽頭保菌率も低下し、手のひら、机のふきとりからは全く菌が検出されなくなったのは、インフルエンザの流行期に入り、手洗い、うがいの励行といったことが菌数の減少をもたらした可能性がある。上述の溶連菌の動態は、昨年までの調査において、同様に保菌率の高かった大山町大庄小や、富山市大広田小のクラスと同一の傾向である。咽頭以外に、手のひら、机のふきとりからの菌検出は本年度が初の試みであるが、それによ

ってA群12型菌(エリスロマイシン耐性)とG群菌のみが、しかも12月の時点でのみ検出されたことは、わずか1クラスの例であるが、過去の県下の溶連菌感染症の集団発生例—多くはA群12型菌によるもので、G群菌によるしゅう紅熱の流行も1例見られる—を想起すると極めて象徴的である。病原体の側からは、このクラスにも本菌感染の流行が起り得る要因はあるが、咽頭保菌者の菌数が、延べ48例のうち、2例を除いて、著しく少ないことから、宿主側の要因を考慮すると流行のおそれはないであろう。

II. 吉江小学校について

この集団の溶連菌の動態は季節にかゝりなく一定しており、咽頭溶連菌保菌率は低く、少数分離されるA群菌は殆どが型不明であり、12型菌は全く分離されていない。この傾向は過去の調査での低

保菌率のクラス(富山市萩浦小など)と同様であった。

但し、このA群型不明菌の保菌状態も長期持続の傾向であった。咽頭以外では、第4回検査(2月)で机のふきとりから分離された菌型は、咽頭には見られない菌型であって、全く由来不明である。病原体の側からも、宿主の側からも、この集団に溶連菌感染症の流行は全く考えられない。

文 献

児玉博英他(1971), 感染症学雑誌, 45, 321。

〔調査報告〕

百日咳流行予測 — 感受性調査 —

田口 由清・久保 義博・児玉 博英

目 的

近年、副作用、後遺症等の問題に関連して、乳幼児における百日咳、ジフテリアのワクチン接種率が低下し、それにとまってこれらの疾患が漸増する危険性が憂慮されている。幸い富山県では昭和25年をピークとして、百日咳の届出患者数は漸減し、この10年間は全く流行も見られないが、本年度県が医師会の協力のもとに行なったアンケート調査では、いずれも臨床決定ではあるが、188名に及ぶ患者数が集計されており、正式な届出数は少ないが潜在的な散発例はかなりあるようである。他府県では昭和47年来いくつかの流行例が報告されている。

一方、集団免疫の効果を維持しつつ、重篤な副反応等の予防接種事故を最少限にとどめる目的で、昨年度から予防接種法が改正され、3種混合（又は2種混合）ワクチンのI期接種時期が延長されることになった。そこで、ワクチン接種による免疫効果の実態を把握し、今後の本症の流行防止を目的として、昭和50年来、中学生以下の年齢階層において、百日咳標準株（ワクチン株）抗原および新鮮株（最近の他府県の流行例から分離された株）抗原に対する抗体レベルとワクチン歴の関連を調べてきた。今回は昭和52年度の成績を述べると共に、過去3年間の調査成績を総括して考察を加えたい。

調査対象および方法

年齢階層	検査数	備 考
0 ~ 2才	21	18例 厚生連高岡病院小児科 高岡市民病院小児科 3例 富山保健所
3 ~ 5才	47	42例 厚生連高岡病院小児科 高岡市民病院小児科 5例 富山保健所
6 ~ 10才	104	81例 高岡市中田小学校 12例 立山町北部小学校 11例 富山市奥田小学校
11 ~ 14才	81	全例 高岡市中田中学校

対象者：0～2才、および3～5才の年齢階層については、主として厚生連高岡病院と高岡市民病院小児科から検体を得、6～10才および11～14

才の年齢階層については、それぞれ高岡市中田小学校、高岡市中田中学校の生徒を主として対象とした。詳細は別表の通りである。

表1. 百日咳，年齢区分別，ワクチン歴別，抗体価分布

年齢区分	ワクチン歴	検査数	抗原の種類	抗体価							平均抗体価 (管数)
				管数1	2	3	4	5	6	7	
				希釈 ≤ 10	20	40	80	160	320	≥ 640	
0 ~ 2才 (21例)	なし	18	S F	14 12	2 3	1 2		1 1			1.44 1.61
	I期1~3回のみ	2	S F	2 1	1						1.0 1.5
	その他の不完全接種	1	S F		1 1						—
	完全接種	0	S F								—
3 ~ 5才 (47例)	なし	1	S F	1 1							—
	I期1~3回のみ	17	S F	6 4	3 11	4	3 1	1 1			2.41 2.05
	その他の不完全接種	9	S F	2 2	1 2	1 3	3 2	2			3.22 2.56
	完全接種	19	S F	3	4 7	4 6	7 2	3 1	1		3.63 2.52
6 ~ 10才 (104例)	なし	0	S F								—
	I期1~3回のみ	40	S F		7 8	10 18	14 11	9 2			3.62 3.12
	その他の不完全接種	23	S F		3 2	7 12	7 5	6 3			3.69 3.30
	完全接種	41	S F		5 4	11 17	16 13	9 3			3.70 3.17
11 ~ 14才 (81例)	なし	0	S F								—
	I期1~3回のみ	40	S F		1 4	19 20	17 12	3 4			3.55 3.40
	その他の不完全接種	25	S F		1	11 11	9 11	5 1	1		3.76 3.36
	完全接種	16	S F			6 5	8 8	1 2		1	3.88 3.93

S標準株(ワクチン株)抗原

F新鮮株(流行株)抗原

抗体価の測定：百日咳菌死菌抗原に対する凝集抗体を測定する術式として、昨年度は試験管法とマイクロタイター法を併用して極めて一致した成績が得られたので、本年度はマイクロタイター法のみで抗体価を測定した。抗原は本年度予研から分与を受けた標準株抗原および新鮮株抗原(共にLot 77-1

北研，菌濃度は50 bil/ml)をそれぞれpH 7.0のリン酸塩緩衝食塩水で50倍に希釈し，予め非働化した各被検血清の5倍希釈からの2倍段階希釈各50 μ lのシリーズに等量加え，37℃，2時間反応後，冷所に一夜静置し判定した。凝集の程度は黒色紙をバックにして実体顕微鏡下(×6)で判定し

1 十以上の凝集を示す最高希釈倍数（抗原による希釈を含む）をもって抗体価とした。

ワクチン歴の調査：母子手帳の参照，市役所保管のワクチン接種台帳調査又は保護者への直接のききとり調査のいずれかによってワクチン歴を調べ，ワクチン接種歴のない群，I 期 1～3 回のみの群，その他の不完全接種群および完全接種群にわけ，抗体価の分布を集計した。

結 果

年齢階層別，ワクチン歴別の抗体価分布を表 1 に示した。0～2 才の年齢階層では，ワクチン接種のない者が殆どであるが，抗体価も一般に極めて低く，殆どが 20 倍かそれ以下であった。但し，1 例標準株，新鮮株抗原に対して共に 160 倍の高い抗体価を示したものがあつた。3～5 才の年齢階層でワクチン歴のない者は 1 名のみで，抗体価は 10 倍以下であった。この年齢では不完全接種群の数が多いが，I 期のみ接種の群，その他の不完全接種群（I 期+II 期だが，I 期の回数不足が多い），完全接種群とワクチン接種回数の増加につれて抗体価分布が徐々に高い方へ移っている傾向が見られる。6～10 才の区分の中でワクチン歴のない例はなかったが，ワクチン不完全接種群と完全接種群の抗体価分布には殆ど差が見られない。11～14 才の区分でもワクチン歴のない者は 1 例もない。ワクチン

不完全接種群の数が多いが，それらの多くは回数が 1 回不足しているだけで完全に近いためか，完全接種群と抗体価分布にあまり差が見られない。この年齢層では II 期接種後長期間経過しているにもかかわらず，なおかなり高いレベルの抗体が維持されている。

個人別のワクチン歴と百日咳，ジフテリア抗体価の一覧は，ジフテリア流行予測の項にまとめて示した。

考 察 と 総 括

年齢階層，ワクチン歴を無視して，個人別に標準株抗原に対する抗体価と，新鮮株抗原に対するそれを対比すると，殆どの場合，前者がやや高いか，両方同じレベルであつて，新鮮株抗原に対する抗体価が有意に高い例は見られないこと，ワクチン歴の全くない例は殆どが抗体価が低いこと，更にこの傾向は過去 8 年間の調査で一定していること（昭和 50 年度および昭和 51 年度富山衛研年報）などはこれら対象者の血中抗体が殆どがワクチン接種に起因することを示している。しかしながら表 2 に示したように時折ワクチン接種歴が明らかでないにもかかわらず，抗体価が高い例（表 2 の №1184，№1218）が見られ，このような抗体は顕性または不顕性感染の結果産生されたという可能性は否定できない。№1184 は病院小児科経由の検体であつ

表 2. ワクチン歴の全くない個体の百日咳，ジフテリアに対する抗体価

年 度	番 号	年 令	百日咳抗体価		ジフテリア抗体価単位 (希釈倍数)
			標準株抗原	新鮮株抗原	
S50	9	1	10	10	<0.005 (<1)
	13	1	<10	<10	<0.005 (<1)
S51	57	6	<10	<10	<0.005
	62	6	<10	<10	0.005
	65	6	<10	<10	<0.005
	84	6	20	20	<0.005
	86	6	10	10	<0.005
	105	9	10	20	<0.005
S52	107	10	<10	10	<0.005
	163	3	20	40	<0.005
	1163	1	<10	<10	<0.005

年度	番号	年令	百日咳抗体価		ジフテリア抗体価単位 (希釈倍数)
			標準株抗原	新鮮株抗原	
S 5 2	1168	2	20	40	<0.005
	1172	2	10	10	<0.005
	1175	0	<10	<10	<0.005
	1176	2	<10	<10	<0.005
	1180	1	<10	<10	<0.005
	1184	1	160	160*	<0.005
	1191	8	10	10	<0.005
	1198	2	<10	<10	<0.005
	1197	0	<10	<10	<0.005
	1198	1	<10	<10	<0.005
	1208	1	<10	<10	<0.005
	1212	0	<10	<10	<0.005
	1214	1	10	20	<0.005
	1218	1	40	40*	<0.005
	1219	2	<10	<10	<0.005
	1221	1	10	20	<0.005
	1241	1	20	20	<0.005

* ワクチン接種によると思われぬ抗体

て、当時の診断名は“ぜんそく性気管支炎だが、百日咳の疑いが強い”とされており、また“1218も”上気道炎”という診断だが、白血球数、リンパ球の比率共に百日咳の診断基準に近い検査データが得られていることが後の調査で判明した。前述のアンケート調査からも百日咳の散発例は県下にも時折見られるようである。

一方、ワクチン歴が完全であって抗体レベルが10倍以下という例は、昭和50年度105例中13例、昭和51年度は57例中3例、昭和52年度は75例中0と極めて少ないことから、規定通りワクチン接種がなされれば確実に集団免疫は達成されることは明らかである。問題は予防接種法の改正によって、0～2才の年令階層の大部分が、今回の調査からもわかるようにワクチン未接種という事実である。富山県においても、集団接種の場合は生後24ヶ月以後早期に第I期を開始することになっているが現在百日咳散発患者の多くが、予防接種歴のない、

2才未満児であるという報告(山本, 感染症学雑誌 第51巻10号, 537, 1977)と合わせ考えると、ワクチンそのものの効果に問題はないとしても、接種方法に関してはなお検討すべき余地が残る。

これは副作用の問題とも密接に関連しており、より安全な百日咳ワクチンの開発が待たれる。

文 献

1. 昭和50年度富山衛研年報, P. 96
2. 昭和51年度富山衛研年報, P. 81

〔調査報告〕

ジフテリア流行予測 — 感受性調査 —

刑部 陽宅・田口 由清・児玉 博英

目 的

富山県では昭和36～37年の氷見地区での流行を最後に、ジフテリアの流行はなく、年間患者数も激減し、この3年間を見ても昭和50年1名、51年0、52年2名の届出があったに過ぎない。しかしながら、本疾患に関しても百日咳と同様の理由からワクチン接種率は低下の傾向であり、再び患者数が増加する可能性がある。そこで中学生以下の年齢階層におけるジフテリア毒素に対する抗体保有状況を細胞培養系を用い毒素の細胞毒性の中和で測定するという方法により分析し、今後の本疾患の流行を推測する資料とするものである。ワクチン接種率の

低下を防ぐ意味も含めて昨年度改正された予防接種法では初回接種の時期が延長され、追加接種が1回省略されることになった。新しい接種方式での集団免疫効果を従来のものと比較する場合に、昭和50年からの調査結果は貴重な基礎資料になるものと期待される。今回は本年度の調査成績と共に、過去3ヶ年の結果をまとめて考察する。

調査対象および方法

対象者：原則として百日咳流行予測と同一であるが、血清量の少ないものについては、ジフテリア抗体価のみ測定した。詳細は別表の通りである。

年 令 階 層	検査数	備 考
0 ～ 2才	21	18例 厚生連高岡病院小児科 高岡市民病院小児科 3例 富山保健所
3 ～ 5才	48	42例 厚生連高岡病院小児科 高岡市民病院小児科 6例 富山保健所
6 ～ 10才	107	81例 高岡市中田小学校 15例 立山町北部小学校 11例 富山市奥田小学校
11 ～ 14才	81	全例 高岡市中田中学校

方法：ジフテリア毒素中和抗体の測定は前年度に準じて行なった。各被検血清の希釈系列について、細胞培養の色調変化で判定した終末点と、鏡検所見による終末点との間に、時に1管差が見られる場合があったが、その場合は後者を採用した。

結 果 と 考 察

表1に年齢区分別、ワクチン歴別のジフテリア毒素中和抗体価の分布を示した。ワクチン歴の全くない18例(0～2才17例、3～5才1例)では全例抗体が見出されず、百日咳流行予測の項の表2に

表1 ジフテリア、年齢区分別、ワクチン歴別、抗体価分布

年齢区分	ワクチン歴	検査数	抗体価											平均抗体価 (管数)	
			管数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11
			血清希釈 単位 ≤ 0.005	≤ 1	2	4	8	16	32	64	128	256	512		≥ 1024
0～2才 (21例)	なし	17	17												1.00
	不完全接種	4	3	1											1.20
	完全接種	0													—
3～5才 (48例) ワクチン歴不明	なし	1	1												—
	不完全接種	27	5	2	1	11	3	2	1		1	1		4.77	
	完全接種	19		1	2	8	3	4	1					5.47	
6～10才 (107例)	なし	0													—
	不完全接種	66		1	1	7	7	18	12	13	3	3	1	6.55	
	完全接種	41	1			1	6	6	12	10	5			6.82	
11～14才 (81例)	なし	0													—
	不完全接種	66				3	8	5	3	14	22	6	3	7.67	
	完全接種	15						1	6	1	4	3		8.13	

示したように、過去3年間の調査を通じて、ワクチン歴がなく、有意な抗体レベルを示した例はジフテリアに関しては全くなかった。各年齢階層についてワクチン不完全接種群と完全接種群を比較するといずれも後者がやや高く、同一のワクチン歴を有する群を年齢階層別に比較すると、年齢階層が上るにつれて抗体価分布が高い方に移行している。この傾向は対象者が毎年異なるにもかかわらず、3年間を通じて全く同様の傾向であり（昭和50年度および昭和51年度富山衛研年報）、これら年齢階層に見られるジフテリア毒素中和抗体は殆ど総てワクチンによるものであることを意味し、しかも従来の接種方式の第IV期までの追加接種のブースター効果を極めてよく反映している。

表1の中でワクチン不完全接種で抗体価が感染防禦レベルとされる0.005単位未満のものが8例あるが、そのうち7例までは1回の接種だけで追加接種を受けていない。不完全接種群でも追加接種によるブースター効果は著しく、IV期のうち1回追加接種が抜けても、必要なレベル以上の抗体は維持さ

れている。

昭和52年度のワクチン歴の完全な75例中、抗体価 ≤ 0.005 単位はわずか1名にすぎず、51年度も53例中1例、50年度も35例中1例のみであり、ジフテリアに関しては、百日咳よりも更に強い集団免疫がワクチン接種により確立されているといえよう。その程度は追加接種が1回省略されたとしてもゆるぎないものであり、現行のワクチン接種方式でも充分目的は達成されるであろう。

なお、個人別のワクチン歴とジフテリア抗毒素価および百日咳凝集抗体価の一覧を表2に示した。

表2. 個人別、ワクチン歴と百日咳凝集抗体価およびジフテリア抗毒素価一覧

検査番号	年令	予防接種		百日咳	ジフテリア		検査番号	年令	予防接種		百日咳	ジフテリア		
		D	F		S	F			S	F		S	F	
1001	12	3	2	80	128	0.64	1039	13	3	3	40	20	32	0.16
1002	12	3	2	80	256	1.28	1040	12	3	3	80	160	512	2.56
1003	12	2	2	80	1024	5.12	1041	13	2	2	40	40	256	1.28
1004	13	2	2	80	64	0.32	1042	13	3	3	80	40	16	0.08
1005	12	2	2	80	128	0.64	1043	13	3	3	80	160	512	2.56
1006	13	3	3	40	16	0.08	1044	13	3	3	40	40	256	1.28
1007	13	2	2	40	128	0.64	1045	13	2	2	40	20	256	1.28
1008	12	3	3	80	128	0.64	1046	12	3	3	160	80	1024	5.12
1009	12	2	2	80	128	0.64	1047	12	2	2	160	160	512	2.56
1010	12	2	2	80	256	1.28	1048	13	1	1	40	40	8	0.04
1011	13	3	3	80	256	1.28	1049	13	3	3	80	160	64	0.32
1012	13	2	2	40	128	0.64	1050	12	3	3	160	160	256	1.28
1013	12	2	2	80	256	1.28	1051	12	2	2	160	80	256	1.28
1014	12	2	2	40	32	0.16	1052	12	2	2	160	80	64	0.32
1015	13	3	3	80	128	0.64	1053	12	3	3	40	40	16	0.08
1016	13	2	2	40	256	1.28	1054	12	3	3	80	80	16	0.08
1017	12	1	1	80	8	0.04	1055	13	2	2	80	80	256	1.28
1018	13	2	2	40	256	1.28	1056	13	2	2	40	40	32	0.16

1019	12	2	2	160	320	1.28	1057	13	3	3	80	40	256	1.28
1020	13	3	3	40	40	5.12	1058	13	3	3	40	80	64	0.32
1021	13	3	3	40	40	0.32	1059	12	3	3	40	40	128	0.64
1022	12	3	3	640	320	1.28	1060	13	3	3	40	40	64	0.32
1023	12	2	2	80	80	0.64	1061	12	2	2	40	40	8	0.04
1024	13	2	2	80	80	0.08	1062	12	2	2	40	40	256	1.28
1025	13	3	3	80	80	1.28	1063	12	2	2	80	40	256	1.28
1026	13	2	2	40	40	0.08	1064	13	2	2	40	40	512	2.56
1027	13	2	2	40	40	0.16	1065	13	3	3	40	40	32	0.16
1028	13	2	2	80	40	2.56	1066	13	3	3	80	40	512	2.56
1029	13	3	3	80	80	1.28	1067	12	3	3	40	20	64	0.32
1030	13	3	3	40	80	0.64	1068	12	3	3	40	20	256	1.28
1031	12	3	3	40	40	1.28	1069	13	3	3	80	40	256	1.28
1032	12	2	2	80	80	0.64	1070	12	3	3	80	80	32	0.16
1033	12	3	3	80	80	2.56	1071	12	3	3	40	80	64	0.32
1034	12	2	2	20	40	<0.005	1072	13	3	3	40	40	16	0.08
1035	12	3	3	160	160	1.28	1073	14	3	3	80	40	512	2.56
1036	13	2	2	40	80	0.64	1074	13	2	2	40	40	16	0.08
1037	12	2	2	40	40	0.64	1075	13	2	2	160	80	256	1.28
1038	12	2	2	80	80	1	1076	14	2	2	80	80	256	1.28

S, 標準株およびP, 新鮮株に対する抗体価

検査 番号	年令	予防接種		百日咳		ジフテリア		検査 番号	年令	予防接種		百日咳		ジフテリア	
		D	P T	S	F	倍 数	単 位			D	P T	S	F	倍 数	単 位
1077	14	2	IIIV 2II	40	80	128	0.64	1115	10	3	III	80	40	128	0.64
1078	18	2	IIIIIV 2II	40	80	256	1.28	1116	9	2	III	40	40	32	0.16
1079	18	3	IIIIIV 3II	80	80	64	0.32	1117	9	3	IIII 3II	40	20	16	0.08
1080	14	3	IIIV 3	80	160	128	0.64	1118	9	3	III	160	80	128	0.64
1081	13	4	IIIIIV 3II	160	40	512	2.56	1119	9	3	IIII 3II	160	80	256	1.28
1082	9	3	IIII 3II	40	20	32	0.16	1120	9	3	III	160	160	16	0.08
1083	9	3	III 3	80	80	64	0.32	1121	9	2	III	40	40	8	0.04
1084	9	3	IIII 3II	20	40	128	0.64	1122	10	2	IIII 2II	160	160	32	0.16
1085	9	3	IIII 3II	80	80	64	0.32	1123	10	3	IIII 3II	40	40	64	0.32
1086	9	3	III 3	20	20	128	0.64	1124	10	3	III	160	80	64	0.32
1087	9	3	III 3	80	80	64	0.32	1125	10	3	III	80	40	16	0.08
1088	8	3	III 3	80	80	64	0.32	1126	10	3	III	80	80	64	0.32
1089	8	3	III 3	40	40	32	0.16	1127	10	3	III	80	20	128	0.64
1090	8	3	IIII 3II	80	40	128	0.64	1128	10	3	IIII 3II	160	160	64	0.32
1091	8	3	III 3	40	40	128	0.64	1129	9	3	III	80	160	32	0.16
1092	8	3	III 3	80	40	128	0.64	1130	9	2	III	160	80	32	0.16
1093	8	2	IIII 2II	80	40	512	2.56	1131	9	2	IIII 2II	40	20	32	0.16
1094	8	3	IIII 3II	80	80	128	0.64	1132	9	2	IIII 2II	40	40	16	0.08

1095	8	3	IIII 3II	40	10	64	0.32	1133	9	2	IIII 2II	80	40	16	0.08
1096	8	2	III 2	160	80	1024	5.12	1134	9	3	III	40	40	32	0.16
1097	8	3	III 3	160	80	128	0.64	1135	9	3	IIII 3II	160	80	64	0.32
1098	8	3	IIII 3II	40	40	32	0.16	1136	9	3	III	80	80	32	0.16
1099	9	2	IIII 2II	80	80	512	2.56	1137	10	3	III	160	80	32	0.16
1100	9	3	IIII 3II	40	40	128	0.64	1138	10	3	IIII 3II	20	40	32	0.16
1101	9	3	IIII 3II	40	40	128	0.64	1139	10	3	IIII 3II	20	20	32	0.16
1102	9	2	IIII 2II	80	80	128	0.64	1140	10	3	III	160	40	64	0.32
1103	9	3	III 3	20	40	32	0.16	1141	10	3	III	40	40	256	1.28
1104	9	3	IIII 3II	160	80	128	0.64	1142	9	3	III	20	20	32	0.16
1105	9	3	III 3	160	40	512	2.56	1143	9	2	IIII 2II	20	20	16	0.08
1106	9	3	IIII 3II	80	160	64	0.32	1144	9	3	IIII 3II	160	80	128	0.64
1107	8	3	III 3	40	20	64	0.32	1145	9	3	IIII 3II	80	80	16	0.08
1108	8	3	III 3	20	40	16	0.08	1146	9	3	III	80	40	64	0.32
1109	8	3	IIII 3II	80	80	64	0.32	1147	9	3	III	40	20	32	0.16
1110	8	2	III 2	20	20	64	0.32	1148	10	3	III	40	20	32	0.16
1111	8	2	IIII 2II	160	80	256	1.28	1149	10	3	IIII 3II	80	40	64	0.32
1112	10	3	III 3	40	40	32	0.16	1150	10	3	IIII 3II	80	40	128	0.64
1113	10	2	IIII 2II	80	160	128	0.64	1151	10	2	III 2	80	40	256	1.28
1114	10	3	IIII 3II	40	40	64	0.32	1152	10	3	III	80	40	128	0.64

検査 番号	検査 年令	予 防 接 種			百日咳			ジフテリア		検査 番号	検査 年令	予 防 接 種			百日咳			ジフテリア	
		D	P	T	S	F	倍 数	単 位	D			F	T	S	F	倍 数	単 位		
1153	10	3III	3		80	40	64	0.32		1192	4	3	3	3	40	20	16	0.08	
1154	9	3III	3		20	20	128	0.64		1193	2	なし		<10	<10	<1	<0.005		
1155	9	3III	3II		80	40	256	1.28		1194	4	3	3	3	10	10	16	0.08	
1156	9	2III	2II		160	160	64	0.32		1195	3	2II	2II	2II	80	40	1024	512	
1157	9	3III	3II		40	20	16	0.08		1196	4	2	2	2	40	20	16	0.08	
1158	9	2III	2II		160	80	32	0.16		1197	0	なし		<10	<10	<1	<0.005		
1159	9	2III	2II		40	40	64	0.32		1198	1	なし		<10	<10	<1	<0.005		
1160	9	3III	3II		160	160	16	0.08		1199	3	3	3	3	40	20	16	0.08	
1161	9	2III	2II		20	10	32	0.16		1200	3	3	3	3	10	<10	32	0.16	
1162	9	3III	3II		80	40	64	0.32		1201	4	不明		10	10	4	0.02		
1163	1	なし			<10	<10	<1	<0.005		1202	4	3II	3II	3II	160	40	16	0.08	
1164	5	3	3	3	80	20	16	0.08		1203	4	3	3	3	10	20	8	0.04	
1165	4	2II	2II	2II	80	20	16	0.08		1204	4	3	3	3	20	20	<1	<0.005	
1166	4	2II	2II	2II	10	10	<1	<0.005		1205	4	3II	3II	3II	20	20	64	0.32	
1167	4	3	3	3	80	20	32	0.16		1206	5	3	3	3	20	20	2	0.01	
1168	2	なし			20	40	<1	<0.005		1207	4	3	3	3	40	20	16	0.08	
1169	3	3II	3II	3II	80	20	32	0.16		1208	1	なし		<10	<10	<1	<0.005		
1170	5	3II	3II	3II	20	10	16	0.08		1209	2	1	1	1	10	10	2	0.01	

1171	3	2	2	2	10	20	16	0.08		1210	4	3II	3II	3II	40	40	8	0.04
1172	2	なし			10	10	<1	<0.005		1211	4	3II	3II	3II	160	80	2	0.01
1173	3	3II	3II	3II	320	160	64	0.32		1212	0	なし		<10	<10	<1	<0.005	
1174	5	3II	3II	3II	80	20	16	0.08		1213	5	3II	3II	3II	20	10	16	0.08
1175	0	なし			<10	<10	<1	<0.005		1214	1	なし		10	20	<1	<0.005	
1176	2	なし			<10	<10	<1	<0.005		1215	3	3	3	3	160	160	64	0.32
1177	3	2II	2II	2II	20	40	16	0.08		1216	3	1	1	1	20	10	<1	<0.005
1178	1	2	2	2	<10	<10	<1	<0.005		1217	4	3II	3II	3II	80	20	64	0.32
1179	3	2II	2II	2II	160	80	32	0.16		1218	1	なし		40	40	<1	<0.005	
1180	1	なし			<10	<10	<1	<0.005		1219	2	なし		<10	<10	<1	<0.005	
1181	5	3II	3II	3II	20	10	16	0.08		1220	4	3II	3II	3II	40	40	8	0.04
1182	4	3II	3II	3II	80	40	64	0.32		1221	1	なし		10	20	<1	<0.005	
1183	5	1	1	1	<10	20	2	0.01		1222	5	3II	3II	3II	40	20	32	0.16
1184	1	なし			160	160	<1	<0.005		1223	7	3II	3II	3II	160	40	8	0.04
1185	4	3	3	3	<10	<10	<1	<0.005		1224	7	3II	3II	3II	160	80	8	0.04
1186	3	2II	2II	2II	10	10	16	0.08		1225	6	3II	3II	3II	80	80	1	0.005
1187	3	3	3	3	80	80	612	2.56		1226	6	3II	3II	3II	80	80	32	0.16
1188	5	3II	3II	3II	80	20	16	0.08		1227	6	3II	3II	3II	160	80	128	0.64
1189	5	3II	3II	3II	80	40	16	0.08		1228	3	3II	3II	3II	20	10	2	0.01
1190	3	3II	3II	3II	40	20	128	0.64		1229	3	3II	3II	3II	20	10	32	0.16
1191	3	なし			10	10	<1	<0.005		1230	3	3II	3II	3II	80	40	256	1.28

検査 番号	検査 年令	予 防 接 種			百日咳		ジフテリア		検査 番号	検査 年令	予 防 接 種			百日咳		ジフテリア	
		D	P	T	S	F	倍 数	単 位			D	P	T	S	F	倍 数	単 位
1231	7	3II	3II	3II	40	40	256	128	1249	8	II	II	II	40	40	8	0.04
1232	7	3II	3II	3II			128	0.64	1250	7	II	II	II	160	40	32	0.16
1233	7	3II	3II	3II	80	40	256	128	1251	8	3II	3II	3II	160	80	32	0.16
1234	7	3II	3II	3II	40	40	32	0.16	1252	6	II	II	II	80	40	4	0.02
1235	7	3II	3II	3II			64	0.32	1253	9	不 明			160	80	128	0.64
1236	7	3	3	3	20	10	128	0.64	1254	6	3II	3II	3II	40	40	16	0.08
1237	7	3II	3II	3II			64	0.32	1255	8	3II	3II	3II	40	40	16	0.08
1238	2	II	II	II	20	20	<1	<0.005	1256	7	不 明			40	40	8	0.04
1239	3	II	II	II			<1	<0.005	1257	6	II	II	II	80	40	8	0.04
1240	4	II	II	II	40	80	128	0.64									
1241	1	な し			20	20	<1	<0.005									
1242	2	1	1	1	10	20	<1	<0.005									
1243	3	II	II	II	160	20	64	0.32									
1244	5	3II	3II	3II	80	40	16	0.08									
1245	6	3II	3II	3II	80	<10	8	0.04									
1246	5	II	II	II	80	40	16	0.08									
1247	7	3II	3II	3II	80	40	8	0.04									
1248	8	II	II	II	20	40	16	0.08									

*アラビア数字は各期を示し、算用数字はI期の回数を示す。

総 括 文 献

1. 過去3年間に対象とした中学生以下の年齢階層総計662例(S50;213, S51;192, S52;257)のうちワクチン歴のない者は全例抗体陰性であり、ワクチン歴を有する者では接種回数に応じて抗体レベルが高く、完全接種群では殆ど総てが感染防禦レベルをはるかに超える抗体を保持していた。

2. これらの事実は、上記年齢階層に認められる抗体が殆ど総てワクチン接種によるものであることを意味し、ジフテリアに関して、顕性または不顕性感染の機会は極めて希であることが判明した。

3. 追加接種が1回省略された現行のワクチン接種方式によっても、接種率の低下を防ぐならば、ジフテリアに関しては充分効果的な集団免疫が期待できるであろう。

- | | | |
|----------|--------|--------|
| 1.昭和50年度 | 富山衛研年報 | P. 102 |
| 2.昭和51年度 | 富山衛研年報 | P. 84 |

謝 辞

検体採取に御協力頂いた厚生連高岡病院と高岡市民病院の関係各位に深謝します。

〔調査報告〕

食鳥処理場および周辺環境のサルモネラ汚染調査

山崎 茂一・刑部 陽宅・井山 洋子
 荒井 優美・荒木 宏*・松村 邦生**
 高田 正耕***

目 的

近年、食鳥の需要の拡大から、多頭羽飼育となり飼料も多く輸入品に依存するとともに、輸入サルモネラの増加が指摘されている。現在、食鳥肉は食肉の如く厳密な衛生検査を受けることなく市販に供され、これが食肉店におけるサルモネラ汚染の主因の一つとされている。今回、我々は県内における食鳥肉のサルモネラ汚染の実態を解明する目的で、4食鳥処理場および周辺環境から本菌の検出を試み、分離菌の薬剤感受性を調べ、同じ時期に県内で分離された人由来サルモネラの菌型との比較を行なった。なお、検査方法についても若干検討した。

材 料 と 方 法

調査対象

食鳥処理場：処理規模により、大2、小2計4処理場を選び、鶏肉、盲腸内容各95件、まな板、庖丁、容器およびやすり等器具類のふきとり検体各19件、計266検体を対象とした。

環境調査：食鳥処理場排水が流入する河川について、表2に示したとおり、排水口を中心に上流100mおよび50mの2地点と、下流50mの計4地点の底泥、延べ75件を採取し検体とした。

食肉店：食鳥処理場から鶏肉が納入されている店を選び、表3の如く牛肉、豚肉および鶏肉の3種計18検体を対象とした。

調査期間

食鳥処理場とその環境調査は、1977年7月～

1978年3月まで隔月5回、食肉店は1978年1月および3月の2回行った(表1)。検査方法

食肉又は河川底泥1gを100mlのSBGおよびハーナのテトラチオン酸塩培地(ハーナと略)で、43℃、48時間培養した。盲腸内容は先端部1g、まな板等は生理食塩液に浸したガーゼでふき

とり、10mlの前記両培地に入れ、43℃、48時間培養した。培養24および48時間後の2回、DHLおよびMLCB寒天培地に1白金耳宛分離培養した。

表1. 食鳥処理場別調査状況

処理場別 実施回数	A	B	C	D
1		52. 7. 25	52. 7. 27	52. 7. 27
2	52. 9. 20	52. 9. 20	52. 9. 27	52. 9. 27
3	52. 11. 14	52. 11. 14	52. 11. 21	52. 11. 21
4	53. 1. 17	53. 1. 17	53. 1. 24	53. 1. 24
5	53. 3. 7	53. 3. 7	53. 3. 14	53. 3. 14

備考1) A-1は処理場の都合で調査未実施

2) A, Cは廃鶏を主として処理する小規模処理場

3) B, Dはブロイラーを主として処理する大規模処理場

4) 実施回数5では検査方法の検討は未実施

* 県厚生部環境衛生課
 ** 黒部保健所
 *** 福野保健所

表2. 食鳥処理場およびその環境のサルモネラ検出状況

(1977. 7~1978. 3)

処理場別		小処理場 (主に廃鶏)			大処理場 (主にブロイラー)			総計 (%)
		A	B	小計	C	D	小計	
鶏肉		0/20	0/25	0/45	4/25	2/25	6/50	6/95 (6.3)
盲腸		0/20	0/25	0/45	1/25	0/25	1/50	1/95 (1.1)
ふきとり	マナ板	0/4	0/5	0/9	1/5	0/5	1/10	1/19 (5.3)
	庖丁	0/4	0/5	0/9	0/5	0/5	0/10	0/19
	容器	0/4	0/5	0/9	0/5	0/5	0/10	0/19
	ヤスリ	0/4	0/5	0/9	0/5	0/5	0/10	0/19
河川底泥	排水口上流 100米	2/4	4/5	6/9	3/5	2/5	5/10	11/19 (57.9)
	排水口上流 50米		[5/5]	[7/9]	[4/5]		[12/10]	[13/19]
河川底泥	排水口 50米	2/4	5/5	7/9	2/5	3/5	5/10	12/19 (63.2)
	排水口 50米		[6/5]	[8/9]	[3/5]	[9/5]	[12/10]	[20/19]
河川底泥	排水口 50米	2/4	4/5	6/9	3/5	5/5	8/10	14/19 (73.7)
	排水口 50米	[3/4]*	[7/5]	[10/9]		[8/5]	[11/10]	[21/19]
河川底泥	排水口下流 50米	2/4	3/5	5/9	2/5	3/4	5/9	10/18 (55.6)
	排水口下流 50米		[4/5]	[6/9]	[4/5]	[4/4]	[8/9]	[14/18]

* []内は分離菌型数/検体数を示す

サルモネラを疑い集落を、可能なかぎり1平板から5ヶ宛釣菌し、TSI, LIMおよびマロン酸塩培地を用い確認培養を行なった。サルモネラの同定は常法によったが、亜属IIIおよびIV群菌はサルモネラセンターに同定を依頼した。薬剤感受性はCM, TC, SM, KM, CLおよびPcAの6剤について、8濃度ディスク法(栄研トリディスク使用)により調べた。

結 果

1. 食鳥処理場およびその環境からのサルモネラ検出状況

表2のとおり、小処理場では鶏肉等全検体共サルモネラは分離されなかったが、大処理場からは、鶏

表3. 食肉店のサルモネラ分離状況

	A 店	B 店	D 店	計
牛肉	0/2	0/2	0/2	0/6
豚肉	0/2	0/2	0/2	0/6
鶏肉	0/2	0/2	1/2	1/6

備考：調査した食鳥処理場から鶏肉が納入されている店舗を選んだ。

肉6/50 (S. heidelberg 1, S. thompson 1, S. cerro 4), 盲腸内容1/50 (S. ty-m 1) まな板1/10 (S. sofia 1) にサルモネラが分離された。一方、河川底泥では、食鳥処理施設に関係なくサルモネラ汚染率が高く、排水口14/19

(73.9%), 上流50m地点12/19(63.2%), 100m地点で11/19(57.9%)の汚染が認められた。下流50m地点では10/18(55.6%)であった。

2. 食肉店からのサルモネラ検出状況

食肉店は表3に示したとおり、鶏肉のみS. thompson 1例, 1/6 (17%)の汚染が見られたが、牛肉、豚肉からサルモネラは分離されなかった。

3. 分離株の血清型分布

分離した76株のサルモネラの血清型は、表4に示したとおり、S. typhimurium 17例, S. london 10例, S. paratyphi-B 9例など、20菌型にわたっていた。これら血清型のうち、○印を付した11菌型は、食鳥処理施設内、又は処理場排水口底泥より分離されたもので、施設由来と思われる菌型であった。

4. 分離株の薬剤感受性

表4. 食鳥処理場とその環境から分離したサルモネラ菌型と薬剤耐性

菌 型	分離数	薬 剤 耐 性					
		T C	S M	P c A	T C	S M	T C
		S M	P c A	P c A	S M	P c A	P c A
S. paratyphi-B	9						
○S. typhimurium	17 (1)**	1*	1		4		
○S. derby	5	1					
○S. bredeney	1						
○S. heidelberg	6 (1)**			2		2(1)**	2
○S. thompson	3 (2)**	3(2)**					
○S. infantis	2						
○S. bareilly	1						
S. panama	1						
S. anatum	1						
○S. london	10						
S. give	3						
S. senftenberg	1						
○S. worthington	3						
○S. cerro	5 (4)**						
○S. sofia	1 (1)****						
S. arizona	2						
48:l, v:l, 5, 7							
64:i:z	1						
S. sachsenwald	3						
R:d:-	1						
20 菌 型	76	5	1	2	4	2	2

* : 数字は該当薬剤に耐性の菌株数(トリデスク"栄研"を使用した。)

** : 鶏肉より分離

*** : 盲腸より分離

**** : マナ板より分離

○印は食鳥処理場または由来と推定される菌型

76株中、薬剤耐性菌は16株で、S. typhimurium 6株, S. derby 1株, S. heidelberg 6株, およびS. thompson 3株が、いずれかの薬剤に耐性を示した(表4)。

5. 人由来サルモネラとの菌型比較

本調査で得られたサルモネラと人由来サルモネラの関係を見るため、表5に同じ時期に県内で人から分離されたサルモネラの菌型分布を示した。人由来サルモネラの血清型は11菌型(24株)にわたりそのうち○印を付した7菌型(7/11, 63.6%)が食鳥処理場から分離さ

表5. 保健所および病院由来サルモネラの菌型分布と薬剤耐性

(1977.1~12)

	保健所 保菌者	病 院 患 者	計	薬 剤 耐 性			
				TC	CM	CTS	CM
				TC	TC	CM	CM
○ S. paratyphi-B	1		1				
○ S. typhimurium	1	2	3		1	1	1
○ S. derby	1	1	2	1			
○ S. bredeney		1	1				
○ S. thompson		1	1				
S. montevideo		1	1				
S. oranienburg		1	1				
S. gabon	1		1				
○ S. infantis		1	1				
S. typhi	1	8	9				
○ S. london	1	2	3				
計	6	18	24	1	1	1	1

○印は分布調査で認められた菌型

れたものと共通の血清型であった。

6. 検査方法別サルモネラの分離状況

現在粉末培地として市販されている増菌培地2種と分離培地2種の組合せに、増菌時間差を組合せてサルモネラの分離率を比較したのが表6である。SBG培地48時間増菌→MLCB寒天分離又はハーナ培地24時間増菌→MLCB寒天分離が、共に32/50(64%)で、他の方法に比して高い分離率を示した。

表6. 検査方法別サルモネラ分離状況 (1977.7~1978.1)

増菌培地 分離培地 増菌時間	S B G 培 地				ハーナのテトラチオン酸塩培地			
	D H L 培地		M L C B 培地		D H L 培地		M L C B 培地	
	24	48	24	48	24	48	24	48
* 陽性数/検体数	27/50 (54)	27/50 (54)	30/50 (60)	32/50 (64)	18/50 (36)	17/50 (34)	32/50 (64)	27/50 (54)
菌型数/検体数	32/50 (64)	28/50 (56)	34/50 (68)	34/50 (68)	19/50 (38)	17/50 (34)	34/50 (68)	30/50 (58)

()内は%

*: いずれかの方法でサルモネラが検出された検体数

考 察 総 括

食肉を対象としたサルモネラの検査報告は多く、それら多数のデータを集計した渡辺(1973)の報告を参考に平均的数値をとると、店頭では牛肉13%、豚肉21%、鶏肉27%という汚染率が推計的に示され、全国的にも鶏肉のサルモネラ汚染率は食肉中で最も高い。今回我々が行なった調査では食鳥処理場の解体中の鶏肉が、既に6/95(6%)という汚染を受けており、食肉店での汚染率は、例数は少ないが、1/6(17%)と更に高かった。陽性例は処理場において汚染が見られた大規模施設から納入された鶏肉で、菌型(*S. thompson*)も共通であった。

これは渡辺(1973)も指摘しているように、食肉店でのサルモネラ汚染の増幅を示唆するものであろう。

又、盲腸でのサルモネラ保菌 1/95(1%)は鶏肉、施設、器具等の重要な汚染源となり得る。事実、まな板の汚染 1/19(5%)も見られたことから、衛生的な内臓処理、施設、器具の洗滌、消毒方法の検討が今後の研究課題であらう。

食鳥処理場の環境汚染の調査指標として実施した排水流入河川の調査では、排水口で74%、その100m上流地点でも58%のサルモネラ汚染が認められ、これら河川が、食鳥処理施設の上流で既にかなりのサルモネラ汚染を受けていることが判明した。

しかしながら、処理施設の下流から分離された菌型のうち約半数は上流には見出されておらず、処理場由来と推定される菌型であった。

人由来サルモネラと血清型の関連を見ると、従来から共通して高頻度に分離されている *S. typhimurium* と共に、今回新たに *S. london* が両方から高頻度に分離され、今後、食品衛生上、この菌型にも注目する必要がある。なお、今回の調査で分離された20菌型のうち、*S. panama*, *S. london*, *S. cerro* および *S. arizona* 48:1, v:1, 5, 7 の4菌型は、県内では従来見られなかった菌型である。

食鳥処理場および周辺環境のサルモネラ汚染の実態調査を行ない、次の諸点を明らかにした。

1. 処理場における鶏肉のサルモネラ汚染は総計6/95(6.3%)、更にこれら処理場からの鶏肉が納入されている食肉店の鶏肉の汚染率は1/6(17%)であったが、汚染は大規模処理場2施設にかぎられ、小規模の2施設には全くサルモネラ汚染は認められなかった。

2. 施設の器具等のふきとりでは、延べ76件中まな板1件に汚染が認められたにすぎなかった。

3. 処理場の排水が流入する河川では、上流で既にかなりのサルモネラ汚染が見られたことから、上流と下流で汚染率に有意な差はなかったが、下流に見出された菌型の約半数は処理場由来と推定された。

4. 検査方法としては、SBG培地43℃、48時間又はハーナ培地43℃、24時間の増菌後、MLCB平板による分離が最適であった。

文 献

渡辺昭宣(1973), 埼玉県衛生研究所報, 7: 23.

北海道泥炭地帯の腐植栄養湖の プランクトンについて

井山 洋子・安田 郁子*・森木 郁子**

目 的

北海道には大小500余の種々のタイプの湖沼が存在するが、我々は昨年度の志賀高原湖沼群の中の腐植栄養湖の調査に続いて、今回北海道の泥炭地帯にみられる腐植湖のプランクトン相について、昭和52年9月28、29日に調査を行なったので、その一部を報告する。

調 査 対 象 湖

札幌東方湖沼；越後沼，三日月形の沼，江別川流域の小さな沼2ヶ所

厚岸町；床潭沼

釧路川流域の湖沼；シラルトロ湖，塘路湖，達古武沼

調 査 方 法

「生物による水質調査法」(山海堂)によった。

結 果 と 考 察

表1に各湖沼の動物性プランクトンを、表2に各湖沼の優占種と湖沼標式について示した。各湖沼の概況についてのべる。

越後沼；函館本線江別駅から約5km離れた越後村に存在するヤン形の小沼である。周囲は水生植物水草が繁茂し、水温20.4℃、pH7.2、茶褐色の典型的な腐植湖の様相を示すが、藍藻類のMicrocystis aeruginosaやM.flos-aquaeが多く富栄養化している。

三日月形の沼；江別駅から約2.5km、東光町にある無名の三日月形をした沼である。水温19.0℃、pH7.1、周囲は灌木帯にかこまれている。植物性プランクトン相は越後沼に似るが、量的に少なく、鞭毛藻類が非常に多い。

江別川第1、第2沼；江別川の上流をさか上ること約10km、南幌町江別川流域に散在する無名の小沼である。いずれも周囲は、瓦礫、ゴミなどの埋立地に変貌しつつある。第1沼は水温19.1℃、pH7.1。植物性プランクトンとして鞭毛藻類、硅藻のSurirella sp., Cymatopleura sp. など出現するが、一般に少ない。第2沼は水温17.8℃、pH8.8、水色はAphanizomenon flos-aquae による水の華の形成のため黄緑色を呈す。又、そのためpHも8.8とアルカリ性である。

床潭沼；厚岸町から約5km、厚岸湾に臨む海岸近くの沼で、水温17.9℃、pH7.4、水色は緑褐色。緋鮎の棲息地として有名。周囲に民家あり、水禽類が遊泳し、かなり富栄養化している。硅藻のMelosira italicaが非常に多い。

シラルトロ湖；釧網本線塘路駅から2.5km北にあり、水温41℃の温泉水が流入する。ヤナギモ、ササモ、コウガイモ等の水草繁茂する。水温14.0℃、pH7.8、ハゼ、イトヨ、スジエビがみられた。

植物性プランクトンは少なく黄鞭毛藻プランクトン(Dinobryon divergens)群集を主体とした貧栄養湖に近い状態にあるといえる。

塘路湖；塘路駅から0.5km、湖水面積6.58km²の比較的大きな湖である。水温19.6℃、pH7.8、ヒン帯あり。Aphanizomenon flos-aquaeによる著しい水の華の形成がみられた。黒萩ら(1965)によれば、1930年の水の華はAnabaena flos-aquaeであったという。典型的な富栄養湖である。

達古武沼；細岡駅から約0.5kmの所にある面積1.37km²余の湖である。水温18.3℃、pH7.1、水色は茶褐色(澄明)。プランクトンでは、黄色鞭毛藻類が極めて多かつた。

* 富山県立技術短期大学

** 社団法人淡水生物研究所

表1 各湖沼の動物性プランクトン

Species	湖沼名	越後沼	三日月 形の沼	江別川 第1沼	江別川 第2沼	床潭沼	シラル トロ湖	塘路湖	達古 武沼
(原生動物)									
<i>Peridinium</i> sp.					+++				
<i>Euglena</i> spp.		+	+	++	+			+	
<i>Phacus longicauda</i>			+						
<i>Trachelomonas</i> sp.					+	+	+		
<i>Pandorina morum</i>									+
<i>Eudorina elegans</i>							+	++	
<i>Diffugia acuminata</i>				+					
<i>Arcella vulgaris</i>		++		++	+			+	+
<i>Centropixis aculeata</i>		++		+			+		+
<i>Ceratium hirundinella</i>					++		+		
<i>Euglypha acanthophora</i> var. <i>flexuosa</i>				+		+			
<i>Paramecium</i> sp.								+	
<i>Tintinnidium</i> sp.		+			+				
<i>Vorticella</i> sp.		+		++	+				
<i>Epistylis</i> sp.		++			+				
Ciliata		+	+			+	+	+	
(輪虫類)									
<i>Collotheca cornata</i>		++							
<i>Conochiloides coenobasis</i>			+						
<i>Synchaeta stylata</i>			+	+++	+		+++	+	++
<i>S.</i> sp.				+	+		+		
<i>Polyarthra trigla</i>		++++	++++	+	++		++++	++++	+++
<i>Trichoerca capucina</i>		+		+				+	+
<i>T. longiseta</i>						+			
<i>T. birostris</i>			+++	+	+	+++			
<i>Asplanchna priodonta</i>		+	+			+++	+		
<i>Brachionus quadridentatus</i>								+	
<i>B. angularis</i>			++		+				
<i>B. diversicornis</i>		++							
<i>Keratella cochlearis</i> var. <i>tecta</i>		+	+++	+	++	+++		+	
<i>K. c.</i> var. <i>tecta</i> f. <i>micracantha</i>			++++	+++	++				+
<i>K. c.</i> var. <i>hispida</i>		+++	+		+	+	+		
<i>Colurella</i> sp.				+				++	
<i>Trichotria tetractis</i>		+							
<i>Lecane luna</i>						+			
<i>Filinia longiseta</i>		+		+		++++			
<i>Hexarthra mira</i>									+
<i>Ploesoma</i> sp.				++	++		+		
(枝角類)									
<i>Diaphanosoma brachyurum</i>		+							
<i>Bosmina coregoni</i>		+			++	+	+	++	
<i>Bosminopsis deiterisi</i>		+++	++		++	+			
<i>Alona guttata</i>						+	+	+	
(橈脚類)									
<i>Cyclops strenuus</i>		+							+
" Nauplius stage		+	+	++	++	+	+++	++	+++
Copepodid stage		++	+	++	+		+	+	+
(線虫類)									
Nematoda								+	

+, very rare, ++, rare, +++, common, +++++, rich, +++++; very rich

表 2 各湖沼の優占種と湖沼標式

湖 沼 名	植物性プランクトン	動物性プランクトン	湖 沼 標 式
越 後 沼	<i>Microcystis aeruginosa</i> <i>M. flos-aquae</i> Chromonadea (2 μ)	<i>Polyarthra trigla</i>	富 栄 養 湖
三日月形の沼	<i>Microcystis aeruginosa</i> <i>M. flos-aquae</i> <i>Cryptomonas</i> sp.	<i>Polyarthra trigla</i> <i>Keratella cochlearis</i>	腐 植 栄 養 湖
江別川第1沼	Chromonadea (2 μ)	<i>Synchaeta stylata</i> <i>Keratella cochlearis</i>	腐 植 栄 養 湖
江別川第2沼	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	<i>Peridinium</i> sp. <i>Keratella cochlearis</i>	富 栄 養 湖
床 潭 沼	<i>Melosira italica</i>	<i>Trichocerca birostris</i> <i>Filinia longiseta</i>	富 栄 養 湖
ンラルトロ湖	<i>Dinobryon divergens</i>	<i>Polyarthra trigla</i>	貧 栄 養 湖
塘 路 湖	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	<i>Polyarthra trigla</i>	富 栄 養 湖
達古武沼	<i>Dinobryon sertularia</i> <i>Chrysophaerella</i> sp. <i>Synura</i> sp.	<i>Polyarthra trigla</i>	腐 植 栄 養 湖

以上の8湖沼は、腐植栄養湖に特徴的な茶褐色ないし黄緑色を呈するが、腐植質の多量なために起るpHの酸性化は、表層の故にか見られなかった（表層は植物性プランクトンの増殖によりむしろアルカリ性に傾く）。生物相については、植物性プランクトンでは、鞭毛藻類、動物性では、輪虫類が優勢であった。この現象は、志賀高原の湖沼でも同様であり、この点について、羽田（1948）は元来泥炭地沼の水中にコロイド状態で溶解している腐植質が植物プランクトンに必要な無機栄養物質を吸着するため、硅藻、藍藻等の運動力を欠くプランクトンが非常に貧弱である。然るに鞭毛藻類や輪虫類は共に腐植質を餌料として、直接利用するので、優勢であると述べている。しかしながら、藍藻、硅藻による水の華の形成がみられる湖沼は、典型的な調和型富栄養湖であるといえる。吉村（1937）によれば、北海道の平地に於ては腐植栄養湖が卓越し釧路、根室方面、天塩方面及び札幌の東の広い谷地の中に褐色湖が分布すると述べている。しかし現在浅い湖沼はかなり富栄養化しており、今回調査した湖沼のうち、典型的な腐植栄養湖は、三日月形の沼、江別川第1沼、達古武沼だけであった。

ま と め

昭和52年9月28、29日に北海道泥炭地帯の腐植栄養湖の生物相について調査を行なった。

1. 植物性プランクトンについては、江別川第2沼と塘路湖で藍藻の *Aphanizomenon flos-aquae* による著しい水の華の形成がみられた。又、越後沼、床潭沼でも、藍藻の *Microcystis aeruginosa*, *M. flos-aquae* や、硅藻の *Melosira italica* の著しい繁殖がみられた。その他の湖沼では、鞭毛藻類が優勢であった。

2. 動物性プランクトンとしては、輪虫類の *Polyarthra trigla*, *Keratella cochlearis* が殆どの湖沼で優勢であった。いずれも全国に周年出現する普通種であるが、特に腐植湖で優勢であるといわれている。

3. 湖沼標式については、富栄養化したものが多くみられた。

文 献

羽田良禾（1948），生態学研究，9（1）：23

津田松苗編（1975），日本湖沼の診断，25 共立出版株式会社

吉村信吉（1937），湖沼学，383，三省堂

溶連菌 A 群 1 2 型に関する研究

児玉博英・大浦美穂子*

結 言

A 群溶連菌とヒトの関連については古くから知られているが、その中でも 1 2 型菌は、腎炎、リウマチ熱等の続発症を起すことから最も重要視されている。著者らは、A、C、G 群菌の耐熱性抗原の解析を行ってきたが（児玉博英他、1973）、最近市販の T 型別血清の普及により、T 凝集反応で 1 2 型菌と同定された菌株のかなりの部分が、1 2 型菌の M 蛋白抗原を持たないことを見出し、しかもそのような菌株の多くは、1 2 型菌のエリスロマイシン耐性化が進行しているなかで、依然として EM 感受性であることが多いという印象を受けた（児玉博英他、1977b）。そこで、同じ 1 2 型菌であっても、その性状を詳細に調べると、いろいろ不均一な点が見出されるものと考え、病原性との関連も考慮すべく、健康保菌者由来、およびしよ紅熱、咽頭炎等の患者由来の菌株について、M および T 抗原性、薬剤感受性、溶血性、マウスに対する菌力等を調べた。以下その概要を述べる。

材 料 と 方 法

供試菌株：健康保菌者由来株・昭和 49 年度末、富山県下の小学校低学年の延べ 470 名の児童の咽頭から分離した合計 168 株の溶連菌のうち、ゲル内沈降反応により A 群、T 型別により 1 2 型と決定された 88 株を用いた。患者由来株・昭和 51 年度にしよ紅熱研究会に集められた全国各地からのしよ紅熱を主とした患者由来株のうち、T 型別により 1 2 型と決定されたものの中から 82 株分与を受けた。うち 10 株は、特に M 1 2 の抗原性がないか又は極めて弱いと思われるものを選んで頂いた。その他、EM 耐性菌出現以前の 1970 年に、県下の流行性腎炎患者から分離した M 1 2 型菌も用いた（児玉博英他、1971）。

M 抗原性：常法通り作成した酸加熱抽出抗原と、自家製抗 A・M 1 2 型血清を用い、微量ゲル内沈降

* 高岡保健所

反応により、1 2 型 M 蛋白の有無を確認した（児玉博英他、1972）。

T 抗原性：常法通り作成したトリプシン処理菌液と、T 型別用因子血清（東芝化学製）とを用い、スライド凝集反応により型別を行なった。

薬剤感受性：馬血液 5% 加ハートインフュージョン寒天（日水製）平板を用い、ペニシリン（PC）、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）の 4 剤について、3 濃度ディスク法（栄研トリディスク）により感受性を調べた。

EM 感受性菌の実験的耐性化：Todd-Hewitt broth (Difco) に所定濃度段階の EM (922 μg/mg 力価粉末、富山化学より分与) を加え、増量継代培養を行なった。又、EM 耐性菌のマイトマイシン C 処理上清を加えた培地に感受性菌を培養し、EM 5~10 r 加血液寒天平板を用いて耐性菌の分離を試みた。

溶血性：馬又は羊血液 5% 加ハートインフュージョン寒天平板 18 時間培養の溶血環を観察したが、一部の菌株については、仔牛血清 5% 加 Todd 培地 18 時間培養菌を遠心後、メンブランフィルターで濾過した無菌上清について、Cysteine 添加又は無添加で、生理食塩液による 2 倍段階希釈を行ない、5% 兎血球浮遊液を用いて溶血素を定量した。

マウスに対する菌力：Todd 18 時間培養菌原液 ~ 10^{-3} 希釈 0.25 ml をマウス (ddY, ♀ 20~25 g) i. v. 接種後、4 日間の生死を判定、斃死例については、心血培養により菌血症を確認した。一部は同一材料を多数のマウスに接種しておき、経時的に殺処分して血中菌数を定量した。なお、T 1 2 型で 1 2 型の M 抗原を持たない菌株については、マウス 5 代継代後 M 抗原性を再検した。

結 果

表 1 に健康保菌者、およびしよ紅熱又は咽頭炎

患者由来のA群12型菌のMおよびT型別と、エリスロマイシン感受性の関係を示した。健康保菌者由来の83株中、12型のM抗原を有するものは26株にすぎず、残り57株はT凝集により12型と決定されたが、12型のM蛋白を持たない株であった。しょう紅熱又は咽頭炎患者由来株では、逆に殆どが12型のM蛋白を有しており、これを持たないのは4株にすぎなかった。又MおよびT抗原性とEMに対する態度は密接な関係があり、M12・T12株の多くはEM耐性、M?・T12の株の殆どはEM感受性であって、この関係は健康保菌者由来でも、患者由来でも同様であった。

表1 健康保菌者およびしょう紅熱患者からのM12 T12株とM? T12株の分離頻度

由来	検査株数	菌型	エリスロマイシン感受性
健康保菌者	83	M12・T12 26株	EM- 25株 EM+ 1株
		M?・T12 57株	EM- 1株 EM+ 56株
しょう紅熱患者 咽頭炎患者	32	M12・T12 28株	EM- 21株 EM+ 7株
		M?・T12 4株	EM- 1株 EM+ 3株

* 都立衛研(しょう紅熱研究会)より分与を受けた株

表2は、上述のM?・T12、EM感受性の株と、EM耐性菌が出現する以前の1970年、腎炎患者から分離したM12・T12の菌株を用い、EMの増量継代法により、EM耐性化の難易を比較したものである。上の2株は、当初からEM100 r/ml以上に耐性のM12・T12の株であるが、EM100 r/ml入りのTodd培地に15代継代すると、12型のM抗原は完全に消失し、M?・T12となった。EM感受性の8株は、いずれも当初はEM0.008 r/mlという低濃度でのみ発育を示し、15代の継代中もEMの発育可能最高濃度が1倍から32倍の範囲で上昇したに過ぎず、耐性菌のレベルには程遠い。腎炎患者から分離された株(A12-F)が特に耐性になりやすいということはなかったが、この株は15代継代後もなおM12の抗原を保持してい

た。EM耐性菌のマイトマイシンC処理上清による耐性の伝達は、現在までのところrecipientとして用いた株数も少なく、得られていない。

表3は、咽頭炎や腎炎由来のM12・T12と、健康保菌者由来のM?・T12の菌株の、マウスに対する菌力と、マウス5代継代後の抗原性を見たものである。菌力が最も強かったのは、EM耐性菌出現以前に腎炎から分離された株であり、Todd培養の 10^{-3} 希釈でも確実にマウスを斃した。咽頭炎からのM12・T12も比較的菌力が強かったが、それと同等の菌力を示すものがM?・T12の中にも1株見られた。その他のM? T12の4株は比較的菌力が弱いという傾向であった。またM? T12の5株は、いずれもマウス5代通過後もM12の抗原性を証明することは出来なかった。マウス静脈内接種後の菌数の消長を見ると(表4)、最も菌力の強かった腎炎由来のA-12F株では、最も菌の増殖速度が速く、48時間後にはマウスを斃した。M12・T12の他の2株がそれに次ぎ、M? T12の2株は前2者に比べて増殖の速度が緩慢であるか、又は一旦増加した菌数が48時間後には減少した。

表5はいろいろな由来の菌株の抗原性、EM感受性と、溶血性の関係を示したものである。M12・T12でEM耐性の株は、いずれも血液寒天平板上では羊、馬血液共に定型の β 溶血を示し、Todd培養上清の溶血活性も強かった。M12・T12でEM感受性である腎炎由来株も同様であり、Todd培養上清の溶血活性はこの株が最も強かった。しかしながら、M?・T12でEM感受性の菌株は、いずれも羊血液寒天平板上1夜培養では α 様溶血を示し、馬血液寒天では β 溶血だが溶血環が小さかった。培養上清の溶血活性も一般に弱かった。

表2 増量継代法によるエリスロマイシン感受性株の実験的耐性化

菌株番号	由来と菌型	継代回数															15代後の菌型	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
C-1215	咽頭炎 M12・T12	→															M?・T12	
C-1326	咽頭炎 M12・T12	→															M?・T12	
C-1495	健康保菌者 M?・T12	0008*	→	0015	→	003	→	006	→	006	→	006	→	006	→	006	(×8)	M?・T12
C-1499-1	咽頭炎 M?・T12	0008	→	0015	→	003	→	003	→	003	→	003	→	003	→	003	(×4)	M?・T12
C-1593	健康保菌者 M?・T12	0008	→	0015	→	003	→	012	→	012	→	012	→	012	→	012	(×16)	M?・T12
H-2	健康保菌者 M?・T12	0008	→	0015	→	003	→	006	→	006	→	006	→	006	→	006	(×8)	M?・T12
O-37	健康保菌者 M?・T12	0008	→	003	→	012	→	025	→	025	→	025	→	025	→	025	(×32)	M?・T12
A12-F	腎炎 M12・T12	0008	→	0015	→	003	→	006	→	006	→	006	→	006	→	006	(×8)	M12・T12

* 菌の発育を認めたエリスロマイシンの最高濃度 τ / ml

表3 マウスに対する菌力とマウス5代通過後の抗原性

菌株番号	由来	菌型	平板培養	溶連菌	血液培養	抗生物質感受性		マウス通過回数	菌力				マウス5回通過後の抗原性	
						FC	TC		CP	EM	Todd原液	×10		×100
C-1215	咽頭炎	M12・T12	β	β	-	+	+	-	1	D1(∞)	D4(∞)	K4(∞)	K4(-)	M12・T12
									2	D1(∞)	D3(∞)	D3(∞)	-	-
									3	D1(∞)	D4(∞)	K4(∞)	-	-
									4	D3(∞)	D3(∞)	K4(∞)	-	-
									5	D1(∞)	D4(∞)	D4(∞)	-	-
C-1495	健康保菌者	M?・T12	α	β	+	+	+	+	1	D1(∞)	K4(60)	K4(-)	K4(-)	M?・T12
									2	D2(∞)	D3(∞)	K4(-)	-	-
									3	D1(∞)	K4(∞)	K4(20)	-	-
									4	D1(∞)	K4(∞)	K4(-)	-	-
									5	D1(∞)	D4(∞)	K4(7)	-	-
C-1499-1	咽頭炎	M?・T12	β	β	+	+	+	+	1	D1(∞)	K4(∞)	K4(-)	K4(-)	M?・T12
									2	D2(∞)	K4(∞)	K4(-)	-	-
									3	D1(∞)	K4(100)	K4(60)	-	-
									4	D3(∞)	K4(∞)	K4(-)	-	-
									5	K4(70)	K4(-)	K4(-)	-	-
C-1593	健康保菌者	M?・T12	α	β	+	+	+	+	1	K4(1)	K4(-)	K4(26)	K4(-)	M?・T12
									2	D2(∞)	K4(-)	K4(-)	-	-
									3	K4(200)	K4(20)	K4(-)	-	-
									4	D2(∞)	K4(∞)	K4(-)	-	-
									5	D4(∞)	K4(100)	K4(3)	-	-
H-2	健康保菌者	M?・T12	α	β	+	+	+	+	1	K4(∞)	K4(50)	K4(∞)	K4(-)	M?・T12
									2	D3(∞)	D3(∞)	K4(∞)	-	-
									3	D2(∞)	K4(25)	K4(100)	-	-
									4	D1(∞)	D2(∞)	K4(100)	-	-
									5	D2(∞)	K4(100)	K4(-)	-	-
O-37	健康保菌者	M?・T12	α	β	+	+	+	+	1	D1(∞)	D4(∞)	D4(∞)	K4(-)	M?・T12
									2	D1(∞)	D2(∞)	D3(∞)	-	-
									3	D1(∞)	D3(∞)	D4(15)	-	-
									4	-	D3(∞)	K4(3)	-	-
									5	D2(∞)	D3(∞)	K4(-)	-	-
A12-F	腎炎	M12・T12	β	β	+	+	+	+	1	D1(∞)	D1(∞)	D2(∞)	-	M12・T12
									2	D1(∞)	D1(∞)	D1(∞)	-	-
									3	D1(∞)	D1(∞)	D2(∞)	-	-
									4	D1(∞)	D1(∞)	D1(∞)	D2(∞)	-
									5	-	D1(∞)	D1(∞)	D3(∞)	-

* D1(∞)は1日後マウス斃死、心血培養により溶連菌を無数検出、K4(-)は4日後マウス殺処分、心血培養により溶連菌陰性を意味する。

表4 マウス静脈内接種後の血中菌数の消長

菌株番号	由来	菌型	エリスロマイシン感受性	菌数(1ml中の菌数)			
				0hr	**	2	4
C-1215	咽頭炎	M12・T12	EM-	10 ⁰	<80	<80	5.6×10 ⁷
				10 ⁰	<20	<80	1.6×10 ⁷
O-37	健康保菌者	M?・T12	EM+	6×10 ⁷	<80	<10	2.4×10 ⁷
				6×10 ⁷	20	<80	5.6×10 ⁷
1060	しょう紅熱	M12・T12	EM-	7×10 ⁷	50	10	<2×10 ⁷
				7×10 ⁷	30	<80	7×10 ⁷
1151	しょう紅熱	M?・T12	EM+	10 ⁰	<40	<20	<2×10 ⁷
				10 ⁰	<20	<80	<2×10 ⁷
A12-F	腎炎	M12・T12	EM+	4×10 ⁴	40	20	2.9×10 ⁴
				4×10 ⁴	10	60	2.1×10 ⁴

* 心臓空刺による採血後、適当な希釈0.1mlを馬血液寒天に定量培養

** 菌接種直後の菌数は理論値

考 察

以上述べた実験成績は、T凝集反応で一応A群12型と決定される溶連菌が、極めて不均一な一群を形成していることを示すものである。特に、12型のM抗原の有無、エリスロマイシンに感受性が耐性か、の二つの要因の組合せから、四つのパターンに分け、その性状と由来をまとめたのが表6である。

表5 菌型、エリスロマイシン感受性と溶血性の関係

菌株番号	由来	菌型	エリスロマイシン感受性	血漿平板上の溶血性		5%仔牛血清加トット培養上の溶血素価*	
				羊	馬	システイン+	システイン-
C-1215	咽頭炎	M12・T12	EM-	β	β	32	16
C-1593	健康保菌者	M?・T12	EM+	α	β	4	4
H-2	健康保菌者	M?・T12	EM+	α	β	8	8
A-12F	腎炎	M12・T12	EM+	β	β	64	64
1028	しゅう紅熱	M?・T12	EM+	α	β	8	8
1035	しゅう紅熱	M12・T12	EM-	β	β	32	64
1081	しゅう紅熱	M12・T12	EM-	β	β	16	32
1110	しゅう紅熱	M?・T12	EM+	α	β	4	4
1147	しゅう紅熱	M12・T12	EM+	β	β	32	32
1151	しゅう紅熱	M?・T12	EM+	α	β	4	4

* トット18時間培養後遠心、上清を更にメンブランフィルター通過後、ASO測定に準じて溶血を判定

表6 A群12型菌の4つのパターンとその性状および由来

パターン	抗原性		抗生物質感受性				溶血性			由来
	M型別	T型別	PC	TC	CP	EM	平板上	培養上	血清中	
I	M12	T12	3+	1+	1+	-	β	β	強	しゅう紅熱、咽頭炎患者分離株の大部分がこのパターンを示し、腎炎、リウマチ熱の発生にも密接な関連あり。健康保菌者にも見られる。
II	M12	T12	3+	1+	3+	3+	β	β	強	しゅう紅熱、咽頭炎患者分離株の一部がこのパターンを示す。EM耐性株出現以前(1971以前)の腎炎、リウマチ熱分離株もこのパターン。健康保菌者にも時に見られる。
III	M?	T12	3+	1+	1+	-	β	β	強	屢々パターンIの分離により生ずる。健康保菌者にも時に見られる。
IV	M?	T12	3+	1+	3+	3+	α	β	弱 (但し溶血環は小)	しゅう紅熱、咽頭炎患者分離株には希、腎炎、リウマチ熱の発生に関与しない?健康保菌者株に高頻度に見られる。

パターンIとIIは共に12型のM抗原を有し、IがEM耐性、IIがEM感受性である点は異なるが、共に溶血性が強い。患者由来株の大部分はIに属するが、一部IIに属するものも見出される。パターンIIIは12型のM抗原を持たぬ点だけがIと異なるが、それ以外の性状はIと同じである。実験室内では、パターンIの菌株の分離によってパターンIIIが生ずるのは屢々経験することである。患者由来株中にも希に見られるが、おそらくそれらの菌株も分離当初はM抗原を有するIであったものが、Mを欠いてしまったものと推定される。最も問題になるのはパターンIVの菌株である。これは12型のM抗原を持たず、EM感受性であるが、溶血性が弱い点が他の三つのパターンのものと本質的に異なる。健康保菌者由来株中には高頻度に見られる。本実験に供試したしゅう紅熱研究会からの患者分離株32株中にも4株見出されているが、この頻度は患者分離株中の頻度を代表するものではない。というのは、32株中22株は無作為に選ば

れたものである(22株中パターンI, 17株, パターンII, 4株, パターンIII, 1株)が, 残りの10株は特にM抗原の不明確なものを全国から多数集められた中から選んで頂いたからである。むしろ, 上記22株のパターン分布が実情を反映していると思われ, パターンIVの菌株は, 患者由来株中には極めて希であると推察される。

マウスに対する菌力が最も強かったのは, パターンIIに属する腎炎由来株で, この株の菌力は群を抜いていた。EM加Todd培地に15代継代後もなお強いM抗原性を保持していたことより, 強毒性は密接に関連しているように思われる。しかし, パターンIIに属する菌株が総て菌力が強いということはない。一般に, M12の抗原を保持しているパターンIとIIの菌株が, III, IVのそれに比べると菌力が強いように思われるが, パターンIVに属する株の中にも, 菌力が強い株もあって, パターン別に明確に菌力を区別することは出来なかった。由来別に見ると, パターンIとIIが患者分離株の殆どを占めており, 富山県下の腎炎, リウマチ熱集団発生例もこの二つのパターンの菌株に起因している(児玉博英他, 1971, 1977a)。当然のことながら, バックグラウンドとして健康保菌者由来株中にもこの二つのパターンのものが見出され, Iは特に多い。パターンIII, IVは患者由来株中には希で, IVは健康保菌者由来株中に極めて多い。このように見ると, マウスに対する菌力では明確に一線を画することは出来なかったが, パターンIVに属する菌株の人に対する病原性は疑わしく, T凝集による型別が普及して, M抗原性がチェックされない場合には, このパターンに属する菌株も一様に12型菌として扱われることになり, 疫学的にも大いに問題がある。12型菌については特に, M抗原性を確認した上で, 病原性の強いパターンIおよびIIと, 病原性の疑わしいパターンIVを区別して論ずべきことを提起したい。

要 約

腎炎, リウマチ熱等統発症との関連から, 病原性が最も重視されている溶連菌A群12型の生態を究明するため, 健康者および患者由来の12型菌について, M抗原性, T抗原性, 薬剤感受性, 溶血性, 更にはマウスに対する菌力を調べ, 次の結論を得た。

1. MおよびT抗原性と, エリスロマイシンに対する態度から, 12型菌は次の四つのパターンに大別される。即ちI (M12・T12, EM-), II (M12・T12, EM+), III (M?・T12, EM-), およびIV (M?・T12, EM+)である。
 2. 患者由来株の大部分はパターンIに属し, IIも少数見られるが, III, IVは希である。健康者由来株では, パターンIVが最も多く, 次いでIであるが, II, IIIは少ない。
 3. パターンIVは12型のM抗原を欠いていること, EM感受性であること, 溶血性が弱いこと, 患者由来株には希で健康者由来株に多いという点で, パターンIとは極めて対照的で, ヒトに対する病原性は疑わしい。
 4. マウスに対する菌力が最も強かったのは, EM耐性菌出現以前の1970年, 富山県下の腎炎患者から分離したパターンIIの菌株であった。
- 謝辞: 菌株の分与を受けた都立衛研(しゅう紅熱研究会)大久保暢夫博士と, エリスロマイシンを恵与された富山化学理化学研の関係各位に深謝する。

文 献

1. 児玉博英他(1971), 感染症誌, 45:321
2. 児玉博英他(1972), 日細誌, 27:89
3. 児玉博英他(1973), 感染症誌, 47:527
4. 児玉博英他(1977a), 感染症誌, 51:115
5. 児玉博英他(1977b), 感染症誌, 51:121

〔研究報告〕

ウエルシュ菌生菌による結紮家兔腸管液貯留反応

刑部陽宅、山崎茂一、荒井優実、児玉博英

目 的

ウエルシュ菌による食中毒は症状の軽いA型菌によるものと、症状の重いC型菌によるものと2つに分けられている。A型菌については、本菌が腸管内で産生するエンテロトキシンによることが諸家によって明らかになっているが、現在、試験管内におけるエンテロトキシン産生量と下痢起病能との関係については、必ずしも明確でない。一方、C型菌はA型菌と同様のエンテロトキシンを産生することが、Skjelkvålら(1975)によって明らかにされているが、この型の菌による下痢はA型菌の場合と同様の機作であるかどうかについては、定まった見解を見出せない。本実験はこれらに関する知見を得るために、種々の菌株を結紮家兔腸管に接種し、その反応を調べた。

材 料 と 方 法

1) 菌株 A型菌は食中毒由来菌として、大阪市環境科学研究所安川章氏より分与された大阪F4105、大阪4202、石川衛研、芦川俊彦氏より分与された石川Y-1、同Y-10、環境由来菌として、著者らが人糞便より分離した10株を用いた。C型菌は富山医科薬科大、山岸高由博士より分与された7株を用いた。これらの由来はEnteritis necroticans (F記号3株)、豚腸炎(CWC記号3株)、Virginia Polytechnical Institute保存(VPI記号1株)である。

2) 結紮家兔腸管試験 合田(1971)の記載に従い、結紮家兔腸管(約10cm)に菌を接種した。開腹は20時間後に行ない、液貯留の有無を調べた後、貯留液(陰性の場合には5mlの生理食塩水洗浄液)中のエンテロトキシン量、菌数、孢子数を調べた。接種菌は先ザックドミート培地37℃一夜培養菌0.5mlを10mlのチオグリコレート培地中に入れ、70℃、10分加熱したものを、そのまま37℃一夜培養した。そして、この0.3mlを寒天を

含まないチオグリコレート培地10mlに接種して、37℃、18時間培養を行なった後遠心し、滅菌10%SKim milkに浮遊させ、ループ当り2mlを接種した。また、菌数、孢子数は刑部(1977)により、Ent量は宮村ら(1974)のジフテリア毒素測定法をそのまま応用した。

結 果

1) A型菌による腸管の反応

試験管内で種々のエンテロトキシン産生量を示す菌13株を結紮腸管に接種した。結果は表1にみられるように、試験管内で640MCD(Minimum Cytotoxic Doseの略で1MCD=0.0037μgのエンテロトキシンに相当)以上のエンテロトキシンを産生する株は腸管内でも、良くエンテロトキシンを産生し、液貯留と、家兔の死を起したが、40~160MCD以下の株は腸管内ではほとんどエンテロトキシンを産生せず、液貯留、家兔の死を起さなかった。

2) C型菌による腸管の反応

C型菌7株を結紮腸管に接種した。結果は表2にみられるように、試験管内でエンテロトキシンを産生する菌2株については、1株が腸内でエンテロトキシンを産生し、液貯留を起したが、他の1株は菌の増殖がみられないばかりか死滅し、液貯留を起さなかった。一方、エンテロトキシン非産生菌5株については、1株が腸内でエンテロトキシンを産生しない状態で、家兔の死と液貯留を起したが、他の4株は全く液貯留を起さなかった。

考 察

A型菌については、試験管内でエンテロトキシンを産生する株のみが液貯留を起した事実は、A型菌による下痢がエンテロトキシンによるものとするこれまでの諸家の主張を良く裏付けている。しかし、本実験結果は試験管内でエンテロトキシン産生の弱い株

の食中毒起病性は弱いことを示唆するものであろう。

一方、O型菌については、エンテロトキシン産生2株の内1株(239F)は、in vitro で発育が悪ければかりでなく、腸管内でも発育しないので、食中毒起病性がないと考えられるが、他の1株(398F)による下痢にはエンテロトキシンが大きく関与しているものと思われる。しかし、この株(398F)による下痢はエンテロトキシンによってのみ起るかどうかは、今後、更に、検討を必要とする。また、VPI87株による下痢については、この株のみがデルタ毒素を産生するので、これを疑って

検討中である。

謝辞：稿を終るに当り菌株の分与を受けた諸先生方(本文)に深謝いたします。

文 献

- 1) Skjelkvåle R., Duncan C. L. (1975). *Infect. Immun.*, 11:1061.
- 2) 合田 朗ら((1971). *感染症学雑誌*, 45:196.
- 3) 刑部陽宅(1977). *食衛誌*, 18:375
- 4) Miyamura et al (1974). *J. Biol. Stand.*, 2:189

表1 A型ウエルシユ菌に対する結紮家兎腸管の反応

菌 株	試験管内 でのエンテロ トキシン産生 (MCD/ml)	接種菌量 (ループ当り)	家兎の 生死	液貯留 (液量対長 さの比)	ループ中の エンテロトキシン 量(MCD)	ループ中のウエルシユ菌数 全菌数	胞子
TCW 16156-3	2560	4.7×10^7 3.9×10^8	死 "	1.1 1.2	32,768 61,400	3.0×10^9 7.8×10^8	1.7×10^8 6.0×10^8
Osaka 4202	640	5.0×10^8 1.3×10^9	" "	0.9 0.7	92,160 82,560	1.7×10^9 8.0×10^8	3.0×10^8 5.6×10^8
Ishikawa Y-1	160	2.4×10^8 4.4×10^8 1.0×10^8	生 " "	0.4 - -	240 (<100) (<100)	9.0×10^8 5.0×10^7	7.4×10^7 2.5×10^6 1.1×10^6
Ishikawa Y-10	40-80	2.2×10^7 2.8×10^7	" "	- -	(<100) (<100)	4.5×10^6 3.8×10^5	2.5×10^5 1.5×10^6
TCW 13595	陰性	8.0×10^7 4.3×10^8	" "	- -	(<100) (<100)	1.3×10^9	8.0×10^6
他の8株	陰性	3.0×10^8 2.0×10^9	"	-	N・E	N・E	N・E

N・E:測定しなかった。

表2 O型ウエルシユ菌に対する結紮家兎腸管の反応

菌 株	試験管内 でのエンテロ トキシン産生 (MCD/ml)	接種菌量 (ループ 当り)	家兎の 生死	液貯留 (液量対長 さの比)	ループ中の エンテロトキシン量 (MCD)	ループ中のウエルシユ菌数 全菌数	胞子数
398 F	320	7.2×10^7 8.0×10^7 7.0×10^7	生 " "	1.2 1.4 1.1	(<100) 33,280 10,240	9.1×10^6 3.1×10^8	4.0×10^6 1.9×10^7
239 F	160	2.0×10^8 1.2×10^8	" "	- -	(<100) (<100)	1.0×10^5 $<10^4$	$<10^3$ $<10^3$
410 F	陰性	8.0×10^8 7.5×10^8	" "	- -	(<100) (<100)	5.0×10^8 2.0×10^8	3.0×10^7 6.0×10^7
VPI 87	"	7.8×10^8 4.6×10^8 6.7×10^8	死 " "	0.7 1.1 0.6	(<100) (<100) (<100)	6.0×10^8 8.0×10^8	2.0×10^6 6.0×10^5
CWC 12	"	1.2×10^8 2.3×10^8	生 "	- -	(<100) (<100)	7.5×10^8 5.0×10^8	$<10^4$ $<10^4$
CWC 17	"	3.4×10^8 2.2×10^8	" "	- -	(<100) (<100)	5.0×10^8 3.0×10^8	1.5×10^7 1.0×10^7
CWC 18	"	1.2×10^8 3.0×10^8	" "	- -	(<100) (<100)	1.2×10^8 1.0×10^8	1.0×10^5 2.0×10^5

N・E:測定しなかった。

〔研究報告〕

ウエルシユ菌エンテロトキシンのVero細胞 に対する作用量と作用時間について

刑部陽宅、児玉博英

目 的

著者らはすでに、ウエルシユ菌の産生するエンテロトキシンがVero細胞に毒性を示すことを見だしているが(刑部, 1977), 今回は, この毒素がVero細胞に致死作用を示す場合, どの程度の作用量と時間が必要かを明らかにしようとした。

材 料

Vero細胞は10%仔牛血清加イーグルMEM培地(Miyamuraら, 1974)で培養後, トリプシン処理して用いた。また, 精製エンテロトキシンはNCTC8798株のD. S培地培養菌の菌体抽出液を硫酸分画, セフアデックスG-200カラムクロマトグラフィー, DEAEセルロースクロマトグラフィーして得た。

方 法

実験は上記10%仔牛血清加イーグルMEM培地に浮遊したVero細胞液0.6mlに各濃度のエンテロトキシン溶液(上記培地で希釈)0.2mlを加え, 30℃におき, 経過時間毎に抗エンテロトキシン血清を加え, 出来るだけ速やかに(15分以内), トリパンブルーで染色し, Staining rateを求めた。本法におけるバックグラウンドの細胞死亡率は3%以下である。

結 果

1) Vero細胞に対するエンテロトキシン作用量について

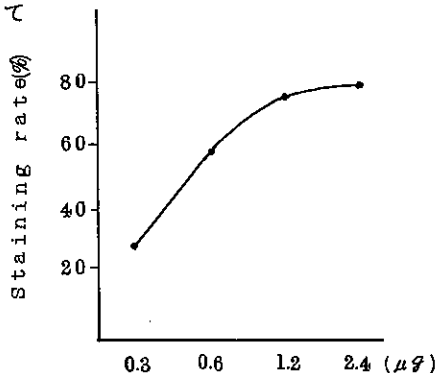


図1 エンテロトキシン量とSatining rateの関係

各濃度のエンテロトキシンをVero細胞に90分作用させると, エンテロトキシン濃度が最終0.15 µg/ml から1.2 µg/ml にかけて, 死亡率が増加し, 1.2~2.4 µg/ml になると, 最高(76%)の死亡率が得られた(図1)。なお, 発育を阻止する量は更に微量であると言う成績は別に得ている。

2) Vero細胞に対する作用時間について

図1で, 終濃度1.2 µg/ml のエンテロトキシン量で, 最高の死亡率が得られたので, この量のエンテロトキシンを作用させ, 経過時間毎に死亡率を測定した。結果は図2にみられるように, 0分から60分経過の間に, 急速な死を起して, 75分で最高の死亡率に達し, 以後, 新たな死を起さなかった。

考 察

今回, 60分と言ひ短い時間で, Vero細胞の大部分がエンテロトキシンにより死を起した事実な腸管で産生されたエンテロトキシンが比較的短い時間内に, 腸管組織に作用する可能性を示唆すると考えられる。

文 献

- 1) 刑部陽宅(1977), 食衛誌, 18:375。
- 2) Miyamura et al(1974), J. Biol. stand. 2:189。

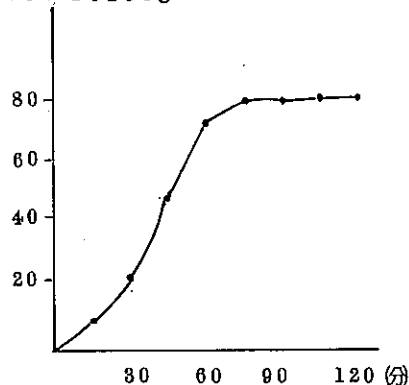


図2 Vero cell staining rateの経時変化

〔資料〕

東南アジア旅行者およびその家族のコレラ菌検査について

児玉博英・田口由清・刑部陽宅・大浦美穂子*

昭和52年6月～11月の6ヶ月間に、行政依頼又は個人の申出により、東南アジア方面の旅行者68名、およびその家族21名、計89名について、主としてコレラ菌の検出を目的として検査を行なった。保健所管内別、月別の検査一覧は表1の通りである。コレラ菌に関しては全例陰性であったが、旅

行者8名から腸炎ビブリオ菌を検出した（K3、神奈川+、K28神奈川-、およびK15神奈川+）。うち1名は帰国2週間後の有症者で、おそらくは国内の感染と思われるが、他の2名は無症状で、BS-A増菌培養によって菌が分離され、国外からの持込みか否かは不明である。

表1 保健所管内別東南アジア旅行者及びその家族のコレラ菌検索一覧

年月日	保健所管内別	旅行者(本人)	家族	備考
5.2.6.11	小杉HC	1名	2名	有田市医薬品配置行商
6.1.8	高岡HC	3		東南アジア旅行者
"	富山HC	2		"
"	小矢部HC	1	3	"
6.2.0	高岡HC	1	5	有症者(下痢)
6.2.1	黒部HC	1		腸炎ビブリオK3 BS-A増菌(+)
"	富山HC	1		"
6.2.2	小杉HC	2		"
6.2.3	"	1		"
6.2.4	"	1		"
6.2.5	富山HC	1		"
"	上市HC	1	5	"
6.2.7	富山HC	1	3	"
8.1.5	"	14		腸炎ビブリオK28(+)
"	上市HC	9		"
"	黒部HC	6		"
8.1.7	富山HC	1		"
8.1.8	小杉HC	2		"
8.2.0	八尾HC	1		有症者(下痢)2週間後腸炎ビブリオK15神奈川(+)
10.2.0	高岡HC	13		"
"	小杉HC	4	3	"
11.1.6	富山HC	1		"
		68名	21名	

*高岡保健所

〔資料〕

観光ツアーにおける食物の安全性について

井山 洋子

目 的

東南アジア方面は一般に衛生民度が低いと考えられるが、観光ツアーバックを利用した場合の食物の安全性の確保について知る。

期 間

昭和52年12月14日～18日

旅 行 先

シンガポール、インドネシア

調 査 場 所

S航空、G航空の機内食、シンガポール、スマトラ、ジャワ、バリ島のホテル、レストラン

方 法

デゾキンコロート培地を使用したフードスタンプ法による。

結 果

項 目	菌 数 別	大腸菌群数(10cm ² 当り)				検 査 件 数	判 定 (推定式 陽性)
		(-)	赤色 1~10	ピンク系コロニー 11~50	赤色 >50		
場 所 別	機内食	9件	1	2	3	15	40.0%
	ホテル・ レストラン	18	4	2	1	5	40.0
食 品 別	パン・白飯	9	2			11	18.2
	副食類 (加熱)	16	3	3	1	2	36.0
	サラダ・フルーツ (非加熱)	1		1	3	3	87.5
	コップの水	1				1	0

考 察

機内食の細菌学的調査については会田俊雄ら(1977)の報告がある。それによれば、東京国際空港に來航する航空機

65機分、498検体について調査した結果、大腸菌群検出率は昭和50年58.4%、51年48.7%であり、今回の40.0%は歓迎すべき数値かと思われる。食品別では、生食の野菜サラダや、パイナップル、ドリアンなどの果物の汚染率が高く、しかも50/10cm²以上と高い菌数を示したことは注意を要する。東南アジア特に今回の訪問先であるインドネシアでは、今だに1本の川で炊事、洗濯、水浴、風呂、便所とすべてが事足りるような生活様式であるので、渡航者に対し、衛生教育の必要性を痛感した。

文 献

会田俊雄ら(1977)、日本公衛誌、24(10):642

〔資料〕

富山県下で分離された腸チフス・パラチフス菌のフアーヅ型について

山崎 茂一

昭和41年11月の厚生省公衆衛生局長通知「腸チフス対策推進について」により実施している腸チフス・パラチフス菌のフアーヅ型別を昭和47年～53年の7年間に富山県下で分離された菌株について集計し表に示した。

腸チフス菌はE1型-11株、D2型-8株およびD1型-5株の順で10フアーヅ型（他に型別不能およびVi(-)）に分布した。これらフアーヅ型を腸チフス中央調査委員会資料No25(1977)と対比すると、C5型の1株を除き通常日本国内で認められるフアーヅ型が県内でも分布していることが明らかとなった(表1)。

パラチフスA菌28株(その他5例)のフアーヅ型は全て1型で、うち25株は51年度の集団発生例という1つのフォーカスであり、それ以外は3例と、その発生頻度は低かった(表2)。なお、1型は全国的にも最も頻度の高い型である。

パラチフスB菌4例は全て保菌者由来で、フォーカスも異なり、それぞれ異なるフアーヅ型を示した。そのうちDundeeはかなり分離頻度の低い型である(表3)。

文 献

腸チフス中央調査委員会(1977):感染症誌, 51(4), 197。

表1 腸チフス菌のフアーヅ型別成績

フアーヅ型	患者および保菌者別	年 別 (1月1日～12月31日)							計
		47年	48年	49年	50年	51年	52年	53年	
C 5	患者						1		1
	保菌者								
D 1	患者		4						4
	保菌者	1							1
D 2	患者		1	1	2	2	2		8
	保菌者								
D 6	患者				1				1
	保菌者				1				1
E 1	患者			2	3	1	3		9
	保菌者			1			1		2
E11	患者					2			2
	保菌者								
H	患者	1			1				2
	保菌者								
M 1	患者				1		2	1	4
	保菌者								
5 3	患者	1			1	1			3
	保菌者								
A-degraded	患者		2						2
	保菌者		1						1
型別不能	患者	1							1
	保菌者								
Vi(-)	患者		2						2
	保菌者								
計	患者	3	9	3	9	6	8	1	39
	保菌者	1	1	1	1		1		5
総計		4	10	4	10	6	9	1	44

備考: 53年は3月31日までの集計

表2 パラチフスA菌のファージ型別成績

ファージ型	患者別 保菌者	年別(1月1日~12月31日)			計
		48年	50年	51年	
1	患者	2	1	18	21
	保菌者			2	2
	その他*			5	5
計		2	1	25	28

* : 井戸水, 河川底泥より分離

表3 パラチフスB菌のファージ型別成績

ファージ型	患者別 保菌者	年別(1月1日~12月31日)				計
		47年	48年	50年	52年	
1	患者					
	保菌者	1				1
3a	患者					
	保菌者		1			1
3b	患者					
	保菌者			1		1
Dundee	患者					
	保菌者				1	1
計	患者					
	保菌者	1	1	1	1	4

[資 料]

県下婦人のトキソプラズマ H A 抗体レベル調査

田 口 由 清

人獣共通感染症の一つであるトキソプラズマ症は、近年その実態が明らかになるに従って先天異常発症に重要な役割を果たしていることが知られるようになった。胎児の水頭症を主とする奇形、視力障害、中枢神経系障害をひきおこし、また脈絡網膜炎患者の15～35%が本症の感染によるとの報告もある(Jacobs, L., 1970)。風疹、梅毒と共に、感染症によっておこる先天異常発生の三大原因の一つと考えられるようになった。この原虫は人のみでなく、他動物を含めて自然界に広く分布しており、感染源としては特に猫、家畜、鳥類等が重視されており、感染後はこの原虫の特性として、赤血球以外のあらゆる組織細胞に寄生する。食生活の上からも、食肉等を介しての経口感染、又は接触感染等が考えられるので、これらの経路を未然に防ぐことが重要である。

本県においても、人における感染の実態と感染源

追及のために、昭和48年以降、妊婦および未婚婦人の抗体レベル調査を実施してきた。今年度は、「先天性異常発生の調査と監視計画」の検体として、各市町村の妊婦血清の H A 抗体レベルを若干調査したが、地域的、職業的、又は年令的に有意差はなかった。最近まであまりトキソプラズマ症が注目されなかったのは、病原体である虫体の検出が比較的困難であること、また成人では大部分が無症状に経過する不顕性感染のためであろう。

主として県内の病院、臨床検査センター、保健所および母性保護協会等から依頼された妊婦血清の H A 抗体レベルをまとめた結果を表1に示した。

文 献

Jacobs, L(1970), J. Wildlife Dis, 6, 305。

表1 県下婦人(妊婦のトキソプラズマ H A 抗体レベル)

調査年度	検査数	H A 抗体価					
		<32	32	128	512	2,048	8,192
昭和49年度 (49.4.1~50.3.31)	143	34	42	46	14	4	3
昭和50年度 (50.4.1~51.3.31)	500	168	239	87	3	1	2
昭和51年度 (51.4.1~52.3.31)	733	272	306	144	11	0	0
昭和52年度 (52.4.1~53.3.31)	1,050 (845)*	378	357	183	95	29	8
合 計	2,426	852 (36.0%)	944 (39.0)	460 (19.0)	123 (5.6)	34 (1.4)	13 (0.6)

陽性率 7.0%

* 母性保護医協会分

[資 料]

堂田清水川水系の環境調査

井山洋子・荒井優実・久保義博

目 的

富山県住宅供給公社の依頼を受け、中田団地造成に伴なり環境影響評価のため、周辺の堂田清水川水系の水質調査を行なったので報告する。

59, 別表2-1, 備考3の最確数による定量法によった。生物学的調査は「生物による水質調査法」(山海堂)によった。

調 査 方 法

理化学的試験については、pHは溶液比色法、DOはウインクラ変法により、その他の項目はJISK0102に準じ測定した。細菌学的試験は環

結果および考察

調査地点は図1に示した。環境要因と理化学的、細菌学的試験結果は表1に示した。表2に各地点における生物相を示したが、以下それらの所見について述べる。

表1 堂田清水川水系の水質調査

(5 3 . 3 . 6 . 晴)

	st. 1	2	3	4	5
採 水 時 刻	10:35	11:10	11:50	11:30	11:40
気 温 (°C)	8.5	10.0	9.0	8.9	10.5
水 温 (°C)	12.6	12.2	12.9	6.8	5.9
透 視 度 (cm)	>30	>30	>30	>30	6.5
pH	6.6	6.5	6.3	7.9	6.6
SS (mg·l ⁻¹)	1.1	0.9	0.5	4.6	5.2
DO (mg·l ⁻¹)	10.6	10.4	8.2	13.5	10.7
DO (%)	103	100	80	114	88
COD (mg·l ⁻¹)	0.7	0.8	0.4	4.6	93.7
BOD (mg·l ⁻¹)	1.1	0.8	0.9	4.0	—
一般細菌数 (ヶ/ml)	6.2 × 10 ²	4.3 × 10 ³	7.0 × 10	2.5 × 10 ³	2.3 × 10 ⁴
大腸菌群 (MPN)	1.7 × 10 ³	7.9 × 10 ²	7.8	1.1 × 10 ³	3.3 × 10 ³
サルモネラ	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

表2 堂田清水川水系の付着生物相および底生動物

Species	St. 1	2	3	4	5
(細菌類)					
Sphaerotilus sp.	+	++		+	+++++
Zoogloea sp.		+			+++
(藍藻類)					
Chamaesiphon sp.			++		
Homoeothrix janthina			+++		
Oscillatoria formosa				+	
(矽藻類)					
Melosira varians	+++++	++	+	++++	+
M. italica		+			
Tabellaria sp.		+			
Diatoma sp.		+			+
Eragilaria crotonensis	+	+		+	
Asterionella sp.		+		+	
Synedra ulna	+++	+++	+		

Species	St. 1	2	3	4	5
<i>S. ulna</i> var. <i>ramesi</i>		+			
<i>Cocconeis placentula</i>	+	+	+		
<i>Navicula cryptocephala</i>	+	+		+	
<i>N. salinarum</i> var. <i>intermedia</i>		+		+	
<i>N. viridula</i> var. <i>slesvicensis</i>		+			
<i>N. radiosa</i> var. <i>tenella</i>	+	+	+		+
<i>Cymbella turgida</i>	++	++++			
<i>C. ventricosa</i>	++	+++		++	++
<i>C. turgidula</i> var. <i>nipponica</i>		+			
<i>C. tumida</i>		+			
<i>Gomphonema sphaerophorum</i>	+				
<i>G. quadripunctatum</i> var. <i>Hastata</i>	+++	++++		+++++	
<i>Nitzschia dissipata</i>		+			
<i>N. palea</i>				+	
<i>Surirella angusta</i>				+	
(緑藻類)					
<i>Ulothrix zonata</i>	+			+	
<i>Spirogyra</i> sp.	+			+	
<i>Mougeotia</i> sp.	+			+	
<i>Closterium</i> sp.	+			+	
(原生動物)					
<i>Euglena</i> sp.				+	+
<i>Bodo</i> sp.	+			+	
<i>Amoeba</i> sp.	+				
<i>Centropyxis acureata</i>		+			
<i>Amphileptus</i> sp.	+				+
<i>Lionotus fasciola</i>	+++	+++		+++	+
<i>Loxophyllum</i> sp.	+				
<i>Nassula</i> sp.	+				+
<i>Dysteria</i> sp.				++++	
<i>Paramecium bursaria</i>	+++				+++++
<i>Glaucoma</i> sp.				+	+
<i>Colpidium</i> sp.					+
<i>Cyclidium</i> sp.				+	
<i>Stentor</i> sp.		+			
<i>Strombilidium</i> sp.		+			
<i>Aspidisca</i> sp.	+			+	++
<i>Vorticella</i> sp.		+		+	
<i>Oxytricha</i> sp.	+				+
Ciliata	+	+		+	+++
(渦虫類)					
<i>Plagiosomum lemani</i>				+	
(線虫類)					
Nematoda	+				
(輪虫類)					
<i>Lecane luna</i>	+				
<i>Colurella</i> sp.		+		+	
(腹足類)					
<i>Semisulcospira libertina</i>			++		+
(貧毛類)					
(ヒル類)	+		+	+	
(端脚目)					
<i>Anisogammarus jescensis</i>	+++++			+++++	
(等脚目)					
<i>Gnorymosphaeroma oregonensis</i>	+	+++	++++		
<i>Asellus hilgendorfi</i>				+++	++
(蜉蝣目)					
<i>Ephemerella longicaudata</i>	+			+	
<i>Baëtis thermicus</i>	++++	++++		+++++	

Species	St. 1	2	3	4	5
(毛翅目)					
<i>Stenopsyche griseipennis</i>			+++++		
<i>Apatania</i> sp.	++		+++++		
<i>Goera japonica</i>			+		
(双翅目)					
<i>Tendipes halophilus</i> A					+
Chironomidae	+				
Saprobien-system	$\beta m+$	βm	OS	$\alpha m-$	PS

+; very rare, ++; rare, +++; common, +++++; rich, +++++; very rich

St. 1は中田団地造成地を流れる終末点である。水量豊富(水深30~40cm)。川底は泥質が主で水草繁茂し、それに硅藻類の*Melosira varians*の茶褐色のコロニーがびっしり付着している。本種はOSから αm までの広適応種である。原生動物の*Lionotus fasciola*は αm に、*Paramecium bursaria*は βm に優占的に出現する。底生動物では端脚目の*Anisogammarus jezoensis*は低水温域に、蜉蝣目の*Baëtis thermicus*はOSから βm にかけて出現する種類である。従ってSt. 1は αm に近い βm の水域と判定される($\beta m+$)。

St. 2は団地造成地に流入する前の地点で、コンクリート護岸の人工的な新し川床である。水深50~60cm, 流速大。硅藻類が種類数, 量共に多い。

原生動物は比較的少ない。 βm の水域と判定される。

St. 3は堂田清水川の水源地から約15mほど下流の石礫底で水深15cm, ほとんど湧水である。原生動物は全く出現せず, OSに特徴的な藍藻類の*Homoeothrix janthina*がやゝ優占的である。底生動物では, OSの流水域にみられる毛翅目の*Stenopsyche griseipennis*が優占種である。また, 等脚目の*Gnorymosphaeroma oregonensis*が出現するが, 本種は日本の阿寒湖およびその流出河川と, 山形, 島根, 富山などの湧泉やこれに続く小河川から採集されているもので, 現在までの採集地の環境から, OS~ βm の水域の指標となると考えられる。以上の生物相からOSの水域と判定される。

St. 4は中部用水の導入水路で三面コンクリートである。川巾はせまく, 水深10cm前後, 上流で工

事のため水量は非常に少ない。生物相はSt. 1と非常に似ているが, 等脚目の*Asellus hilgendorfi*が出現する。本種は αm の指標種である。 βm に近い αm の水域と判定される($\alpha m-$)。

St. 5はSt. 4と同じような形態の水路であるが, 周辺に民家や造り酒屋などがあり, 家庭の雑排水が常時排水口から流入している。川底は黒色, 水わたなどの有機物が付着している。硅藻, 緑藻類は殆ど出現せず, 汚水細菌の*Sphaerotilus* sp.や*Zoogloea* sp.が優占的で, 繊毛虫類も多い。底生動物では, *Tubifex* sp., *Asellus hilgendorfi*, ヌスリカ幼虫など耐汚濁性種のみ少数出現した。以上の結果, PSの水域と判定される。

これらのデータをもとに常田清水川水系の生物学的水質階級地図を作成した(図1)。

堂田清水川水系の調査地点

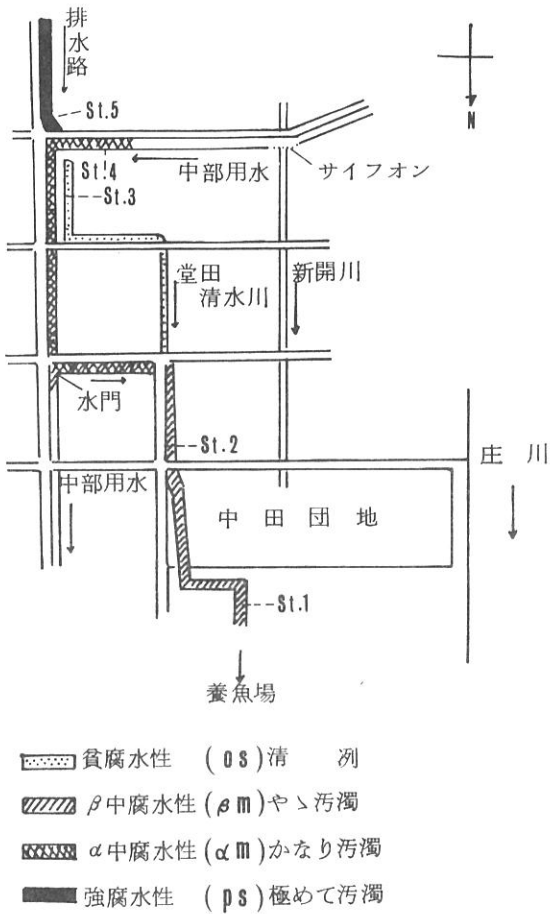


図1 生物学的水質階級地図

ま と め

1. 理化学的、細菌学的試験結果については、中田団地造成地の upstream St. 5, St. 4 で SS , COD , BOD はかなり高く、汚染されているが、造成地付近の St. 1 と 2 の間には特に有意差はみられなかった。
2. 生物学的水質判定では、St. 5 は生活排水の流入により、汚水細菌が優占的で PS , St. 3 は堂田清水川の水源（湧水）付近で、マイクロ、マクロ共に清水性種が出現し、 OS , St. 4 と 1 は非常によく似た生物相を示すが、St. 4 は等脚目の *Asellus hilgendorfi* が出現し、St. 1 よりやや汚染され αm 、St. 2 は原生動物が少なく、 βm 、従って St. 1 は $\beta m+$ と判定した。

〔資料〕

富山新港貯木場の水質汚濁調査*

荒井優実・井山洋子・山崎茂一

目 的

富山新港貯木場の環境保全の資料とするため、昨年度に引き続いて行なった。

調査方法

昭和52年5月、7月、10月、12月、昭和53年3月の5回にわたり、第1貯木場2地点、第2貯木場5地点、中野整理場3地点の計10地点につ

いて、表層水の水温、pH、透視度、SS、DO、COD、BOD、Cl⁻を測定した。

試験方法は、「環境保全・公害に係る試験方法の手引き」(富山県、昭和48年)に拠ったが、pH、Cl⁻については上水試験方法に準じた。特にpHは通常の淡水用比色計を用いたので、測定値は塩誤差を含む。

表1 富山新港貯木場の水質

試験項目	第1貯木場 平均(範囲)	第2貯木場 平均(範囲)	中野整理場 平均(範囲)
水 温(℃)	14.9 (9.0~22.2)	16.8 (8.0~26.7)	17.7 (9.0~26.7)
透 視 度(度)	3/10※(29~>30)	1/25※(30~>30)	0/15※(>30)
pH	7.1 (7.0~7.6)	7.5 (7.2~7.7)	7.5 (7.0~7.8)
DO (mg/l)	6.9 (4.5~8.5)	6.2 (3.6~10.1)	5.0 (1.0~8.0)
COD (")	5.7 (3.1~8.8)	3.0 (1.2~7.5)	2.6 (1.4~4.3)
BOD (")	2.2 (1.3~3.2)	1.6 (0.3~3.5)	1.6 (0.5~3.2)
SS (")	9.7 (4.0~15.3)	3.1 (1.5~6.1)	2.8 (1.1~5.2)
Cl ⁻ (‰)	3.2 (0.8~6.8)	13.4 (7.5~16.5)	13.6 (10.2~17.3)

※ 30度以下の頻度/試験数を示す

結果と考察

調査結果の概略を表1に示した。

第1貯木場は、第2貯木場、整理場に比べてpH、Cl⁻が低く、西部主幹排水路からの河川水の影響が強いものと考えられる。また、CODとSSが逆に高い値を示したが、昨年度の調査結果も勘案すると、貯木による汚濁とともに、河川水に負うところが大きいものと推察される。第2貯木場と整理場の水質は、整理場のDOがやゝ低い点を除けば、良く似た傾向を示し、CODとBODの間には相関が認められた。なお、整理場における低DOの原因は、整理場内における水の移動が全般的に少ないことに由来するものであろう。

第1、第2貯木場および整理場の水質を海域の環境基準にあてはめると、いずれもC類型(pH7.0~8.3, COD8ppm以下, DO2ppm以上)

に相当するようである。

昭和49年度以後4年間のDO、COD、BODの経年変化を図1に示した。

第1貯木場および整理場においては、DO、COD、BODのいずれも明瞭な年変化がみられなかった。第2貯木場では、BODに変化はみられなかったが、DOは51年度と52年度の間で明らかな減少が認められた。これは51年の6、7月に、植物プランクトンの大量発生によると考えられる。DOの過飽和状態(最高飽和率136%)がみられたのに対し、52年度には100%以上の飽和率が全くみられなかったためであろう。またこのことが、CODの減少傾向と密接に関連しているものと考えられる。

* 本調査は富山県港湾課の依頼による

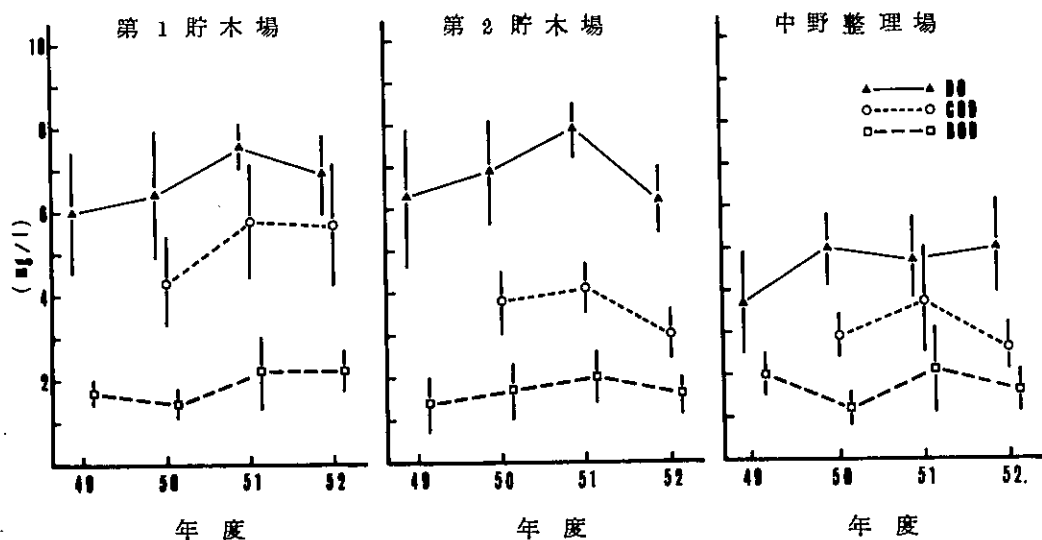


図1 DO, CODおよびBOD平均値の年変化
(棒線の範囲は平均値の95%信頼限界を示す)

ま と め

富山新港貯木場の環境保全に資するため、昭和52年5月、7月、10月、12月、53年5月の5回にわたり、水質調査を行なった。

1. 第1貯木場は西部主幹排水路からの河川水の影響が大きく、第2貯木場と中野整理場では、整理場のDOが低い点を除けば、ほぼ同様な傾向を示した。
2. 第1、第2貯木場および整理場の水質は、いずれも海域の環境基準のC類型 (pH 7.0~8.3, COD 8 ppm以下, DO 2 ppm以上)に相当し、過去4年間、著明な汚濁の変化は認められなかった。

[調査報告]

母乳及び魚介類中のPCBに関する調査

大浦 徹 穴山道子 小林 寛

目 的

産業用化学物質であるPCBが自然界に拡散し、食品を通して与える人体への影響が問題にされるようになり、1972年全国的にPCBの使用が制限されるに至った。しかしその後もPCBは食品あるいは環境中に根強く残っている。我々は食品のPCBによる汚染の状況を知るために、母乳については1971年度から、魚介類については1972年度から継続して調査を行っている。

材料及び方法

a) 母乳について；今年度は昨年度と同様都市住宅地区在住者5名（富山保健所管内）、農村地区在住者5名（上市保健所管内）、漁村地区在住者10名（氷見及び魚津保健所管内、各々5名）合計20名を選んだ。

試料は各保健所で採取したものが速やかに衛生研究所へ送付され直ちに分析を行った。

分析法は厚生省通知の「母乳中のPCB分析法」に従った。

b) 魚介類について；1977年10月及び12月、業者を通じて氷見魚市場に入荷した県内産のもの11魚種、32検体を購入した。（ハマチ、サバ、タチウオ各3検体、マイワシ1検体は10月に、その他のものは12月に購入した。）サンプリング及び分析法は、厚生省PCB分析班の方法を用いた。

結果と考察

1) 母乳についての分析結果は表1に示す。

表1 1977年度母乳中のPCB調査結果

	在 住 地 区 (採取保健所)	脂肪含有量 (%)	母乳中のPCB濃度 $\mu\text{g/g}$	
			脂肪当り	全乳当り
1	都市住宅地区 (富山)	3.4	0.2	0.01
2	" (")	4.1	0.3	0.01
3	" (")	4.0	0.2	0.01
4	" (")	4.3	0.3	0.02
5	" (")	4.1	0.4	0.01
	都市住宅地区在住者平均	4.1	0.31	0.012
6	農村地区 (上市)	4.0	0.3	0.01
7	" (")	2.7	0.3	0.01
8	" (")	4.0	0.3	0.01
9	" (")	4.2	0.5	0.02
10	" (")	0.9	0.4	0.00
	農村地区在住者平均	3.2	0.36	0.011
11	漁村地区 (魚津)	6.7	0.9	0.06
12	" (")	6.8	0.4	0.02
13	" (")	6.1	0.3	0.02
14	" (")	3.8	0.5	0.02
15	" (")	3.5	0.3	0.01
16	" (氷見)	4.3	0.5	0.02
17	" (")	1.5	0.4	0.01
18	" (")	3.5	0.2	0.01
19	" (")	2.8	0.3	0.01
20	" (")	5.0	0.2	0.01
	漁村地区在住者平均	4.4	0.40	0.019
	1977年度全平均	4.0	0.37	0.017

表2 母乳中のPCBの年度推移

調査年度 (調査数)	平均脂肪含有量(%)	平均PCB濃度 $\mu\text{g/g}$	
		脂肪当り	全乳当り
1971年度 (30)	3.2	1.1	0.03
1972年度 (22)	3.9	0.8	0.03
1973年度 (19)	5.1	0.7	0.03
1974年度 (19)	5.4	0.6	0.02
1975年度 (20)	5.1	0.3	0.02
1976年度 (20)	4.3	0.6	0.02
1977年度 (20)	4.0	0.4	0.02

脂肪当りのPCB濃度についてみると、都市住宅地区在住者平均 $0.31 \mu\text{g/g}$ であり、農村地区在住者平均、漁村地区在住者平均はそれぞれ $0.30 \mu\text{g/g}$ 、 $0.40 \mu\text{g/g}$ であった。これを過去6年の結果とともに表2に示した。1976年度に行った分析の結果は各々 $0.53 \mu\text{g/g}$ 、 $0.67 \mu\text{g/g}$ 、 $0.63 \mu\text{g/g}$ となっており、今年度はそれより $0.2 \sim 0.3 \mu\text{g/g}$ 減少したかに見えるが、1975年度の値は $0.34 \mu\text{g/g}$ 、 $0.32 \mu\text{g/g}$ 、 $0.30 \mu\text{g/g}$ であったことを考えると、長期的には減少しつつあるものの減少の仕方が次第に鈍化しつつあるのではないかと思われる。全乳当りでは

住宅地区在住者平均 $0.012 \mu\text{g/g}$ 、農村地区在住者平均 $0.011 \mu\text{g/g}$ 、漁村地区在住者平均 $0.011 \mu\text{g/g}$ 、全地区平均 $0.011 \mu\text{g/g}$ でいずれも過去6ヶ年中最も低かった。この結果は昨年度、厚生省が行った全国調査の平均 $0.020 \mu\text{g/g}$ 、 $0.021 \mu\text{g/g}$ 、 $0.030 \mu\text{g/g}$ 、および全地区平均 $0.020 \mu\text{g/g}$ と比べると、都市住宅地区在住者平均、農村地区在住者平均では全国調査の平均値の約50%、漁村地区在住者平均では同じく約70%の値となっているが、今年度の調査結果は未発表であり、全国的な位置づけはできない。

2) 魚介類中のPCB分析結果は表3に示した。

表3 1977年度魚介類中のPCB濃度

魚種	検査数	体長 (cm)	平均脂肪 (%)	PCB濃度 $\mu\text{g/g}$	
				全量当り平均	範囲
はまち	6	29 ~ 36	4.5	0.02	0.009 ~ 0.03
さば	6	21 ~ 36	10.0	0.03	0.007 ~ 0.05
かつお	3	28 ~ 29	20.6	0.02	0.006 ~ 0.03
たちうお	3	59 ~ 65	8.0	0.03	0.03
まいわし	1	12 ~ 14	0.8	0.01	
いしまち	3	21 ~ 24	4.0	0.04	0.03 ~ 0.06
かます	3	22	1.3	0.01	0.01 ~ 0.02
ひらめ	3	32 ~ 35	0.5	0.03	0.004 ~ 0.06
すずき	1	47	0.7	0.01	
あら	1	40	4.2	0.05	
ひらまき背肉	1	51	2.3	0.01	
腹肉	1	24 kg	4.9	0.02	
	32	平均		0.02	0.004 ~ 0.06

11魚種，32検体すべてからPCBは検出されたが，その全量当りの濃度の平均は0.021 $\mu\text{g}/\text{g}$ であり，最低値はヒラメの0.004 $\mu\text{g}/\text{g}$ ，最高値はイシモチ，ヒラメの0.06 $\mu\text{g}/\text{g}$ となっており全般に低い値を得た。厚生省が示した暫定規制値（遠洋沖合魚類0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ ，内海内湾魚類3 $\mu\text{g}/\text{g}$ ）を越えるものはなかった。永井ら（1976）の報告によれば，日本海海域から入荷するものは，おおむね全量当りの平均値で0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ 以下であり，その他の海域から入荷するものの平均0.2~0.4 $\mu\text{g}/\text{g}$ よりかなり低い値であるという。

この日本海海域の値は，今回我々が行った調査の結果とよく一致する。

脂肪含有量とPCB濃度の関係では，脂肪含有量の高いものほどPCB濃度が高いという傾向は見られず，又，遠洋沖合魚類と内海内湾魚類の差も見られなかった。一方，同一魚種で定量値のバラッキが大きかったものはヒラメであった。この点でも永井らが，一般に底魚は生産水域の影響を受けやすく広い範囲にバラックと述べていることと一致するものと思われる。

文 献

- 1) 永井ら（1976）名古屋市衛生研究所報
23号 84

[調査報告]

母乳中の有機塩素系農薬に関する調査

穴山道子 坂井敏郎 小林 寛

目 的

有機塩素系農薬による人体汚染の疫学的調査の一環として、母乳汚染の実態をみるため1970年度より継続して実施しているものである。

実施方法

検体：1977年8月、各保健所の協力を得て都市住宅地区（富山市）5名 漁村地区（氷見市、魚津市）10名、農村地区（滑川市、上市町）の5名計20名の出産後1ヶ月以上4ヶ月未満までの産婦

から採取した母乳を用いた。

検査項目：BHCおよびDDT（各異性体）、デイルドリン

検査方法：厚生省「母乳汚染の疫学的調査研究要綱」中の検査方法に準じた。

結果と考察

分析結果は表1のとおりであった。表2は脂肪分

表1 母乳中の有機塩素系農薬

	番号	脂肪 %	α-BHC		β-BHC		γ-BHC		δ-BHC		Total-BHC	
			Pat Base	Whole Base	F	W	F	W	F	W	F	W
都市住宅地区	1	3.8	nd	nd	0.47	0.018	nd	nd	nd	nd	0.47	0.018
	2	4.1	nd	nd	0.79	0.032	0.01	nd	nd	nd	0.80	0.032
	3	4.0	nd	nd	0.77	0.030	nd	nd	nd	nd	0.77	0.030
	4	4.3	nd	nd	1.60	0.069	0.01	0.000	nd	nd	1.61	0.069
	5	4.1	nd	nd	1.01	0.041	0.01	nd	nd	nd	1.01	0.041
農村地区	6	4.0	nd	nd	0.52	0.020	0.03	0.001	nd	nd	0.55	0.022
	7	2.7	0.03	0.001	0.86	0.023	0.03	0.001	nd	nd	0.92	0.025
	8	4.0	0.01	0.000	0.72	0.029	0.03	0.001	nd	nd	0.76	0.030
	9	4.2	nd	nd	1.41	0.060	0.03	0.001	nd	nd	1.44	0.061
	10	0.9	nd	nd	0.88	0.003	0.02	0.000	nd	nd	0.89	0.003
漁村地区	11	6.7	nd	nd	1.35	0.090	nd	nd	nd	nd	1.35	0.090
	12	6.8	nd	nd	0.53	0.036	nd	nd	nd	nd	0.53	0.036
	13	6.1	nd	nd	0.29	0.018	0.01	0.001	nd	nd	0.31	0.019
	14	3.8	nd	nd	1.31	0.049	0.04	0.001	nd	nd	1.35	0.051
	15	3.5	0.01	0.000	0.50	0.017	0.02	0.001	nd	nd	0.52	0.018
	16	4.3	nd	nd	1.32	0.056	nd	nd	nd	nd	1.33	0.056
	17	1.5	nd	nd	1.09	0.016	0.03	0.000	nd	nd	1.12	0.017
	18	3.5	nd	nd	1.30	0.045	0.02	0.001	nd	nd	1.32	0.046
	19	2.3	nd	nd	0.34	0.009	nd	nd	nd	nd	0.34	0.009
	20	5.0	nd	nd	1.24	0.062	nd	nd	nd	nd	1.24	0.062

Total BHC, Total DDT, ディルドリンについてその範囲および平均値をあらわしたものである。

BHC類では, β -BHCが, またDDT類では p-p'-DDTとp-p'-DDEが, Total量の大部分を占めており, DDEの方が多い傾向であった。

本年度の調査では, Total BHC, Total DDTの定量値は昨年度の定量値に比して少々低く, Total BHCで全乳当り平均0.037ppm(脂肪あたり0.93ppm), Total DDTで全乳当り平均0.032ppm(脂肪あたり0.76ppm)であった。

1971年度からの調査結果を都市住宅地区, 農村地区, 漁村地区にわけ, その平均値の年次推移を表したのが図1, 2である。

全乳あたりのTotal BHC量の推移をみると農村地区は1975年度まで0.06~0.07ppmであったが1977年度の調査では0.03ppmを示した。また都市住宅地区は1972年度, 1974年度では0.1ppm以上であったが1977年度の測定値は農村地区よりも多少高いものの大差はなく地区別の差異はほとんどなくなったように思われる。

全乳あたりのTotal DDT量の推移をみると, 1975年度を除いて, 都市住宅地区が農村地区よりも高い水準にあったが1977年度は地区別に大差なく0.024~0.035ppm程度となっている。

ディルドリンの値は全体として0.001~0.003ppmの範囲にあった。

残留量の調査結果

単位 Ppm

p-p'-DDT		p-p'-DDE		p-p'-DDD		o-p-DDT		Total-DDT		Dieldrin	
F	W	F	W	F	W	F	W	F	W	F	W
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
0017	0006	045	0017	nd	nd	nd	nd	061	0023	005	0001
022	0009	037	0015	nd	nd	nd	nd	059	0024	005	0002
020	0008	041	0016	nd	nd	nd	nd	061	0024	004	0001
040	0017	084	0036	nd	nd	nd	nd	124	0053	007	0003
024	0010	065	0027	nd	nd	nd	nd	089	0036	006	0002
036	0014	044	0017	nd	nd	nd	nd	080	0032	002	0001
022	0006	043	0012	nd	nd	nd	nd	065	0017	003	0001
018	0007	036	0015	nd	nd	nd	nd	054	0022	001	0001
035	0015	071	0030	nd	nd	nd	nd	106	0045	003	0001
011	0001	038	0003	nd	nd	nd	nd	040	0004	001	0000
037	0024	080	0060	nd	nd	nd	nd	127	0085	012	0008
016	0011	045	0031	nd	nd	nd	nd	061	0042	005	0003
020	0012	033	0020	nd	nd	nd	nd	052	0032	004	0002
048	0018	065	0025	nd	nd	nd	nd	113	0043	011	0004
014	0005	024	0009	nd	nd	nd	nd	039	0013	014	0005
053	0023	071	0030	nd	nd	nd	nd	123	0053	004	0002
021	0003	039	0006	nd	nd	nd	nd	059	0009	004	0001
044	0015	065	0023	nd	nd	nd	nd	109	0038	005	0002
011	0003	024	0007	nd	nd	nd	nd	035	0010	002	0001
021	0011	027	0013	nd	nd	nd	nd	048	0024	005	0003

表2 母乳中の有機塩素系農薬残留量の調査結果(まとめ)

単位 ppm

	都市住宅地区(5)		農村地区(5)		漁村地区(10)		全 体(20)	
	範囲	平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲	平均
脂肪分%	3.8~4.3	4.05	0.9~4.2	3.96	3.5~6.8	5.38	0.9~6.8	4.49
Total BHC								
Fat Base	0.47~1.61	0.93	0.55~1.44	0.91	0.31~1.35	0.94	0.31~1.61	0.93
Whole Base	0.018~0.069	0.038	0.008~0.061	0.029	0.009~0.090	0.041	0.008~0.090	0.037
Total DDT								
Fat Base	0.57~1.21	0.79	0.49~1.06	0.71	0.35~1.27	0.77	0.35~1.27	0.76
Whole Base	0.023~0.053	0.032	0.004~0.045	0.024	0.009~0.085	0.035	0.004~0.085	0.032
Dieldrin								
Fat Base	0.03~0.07	0.05	0.01~0.03	0.02	0.02~0.14	0.07	0.01~0.14	0.05
Whole Base	0.001~0.003	0.002	nd~0.001	0.001	0.001~0.008	0.003	nd~0.005	0.002

○—○ 農村地区
●—● 都市住宅地区
□—□ 漁村地区

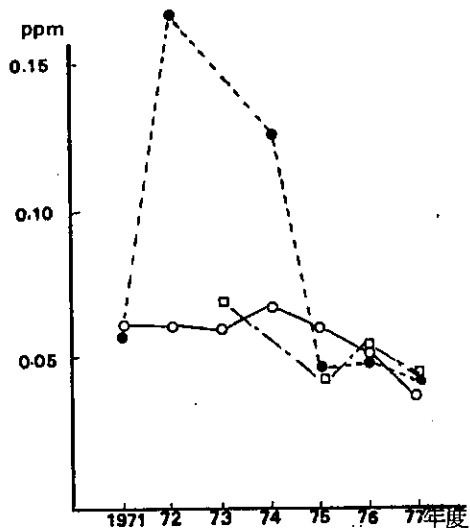


図1. 母乳中のTotal BHC量 (全乳あたり)の推移

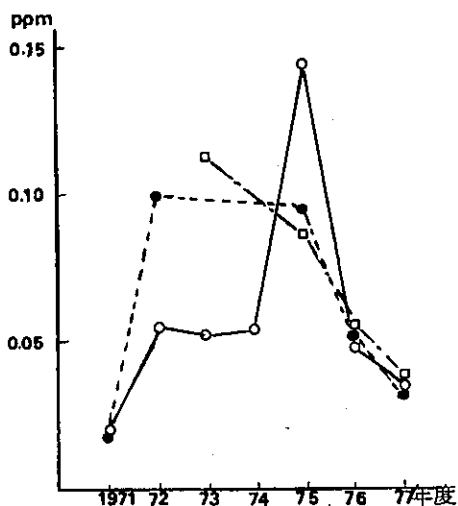


図2. 母乳中のTotal DDT量 (全乳あたり)の推移

表3 総BHC, 総DDT及びディルドリンの全国平均値との比較

単位 P P m

調 査 年 度			1975年度	1976年度	1977年度
総 B H C	全 体	全国平均値	0088	0080	未発表
		富山県平均値	0044	0050	0037
	都市住宅地区	全国 "	0092	0085	"
		富山県 "	0038	0047	0038
農村地区	全国 "	0072	0074	"	
	富山県 "	0063	0049	0029	
漁村地区	全国 "	0071	0075	"	
	富山県 "	0037	0052	0041	
総 D D T	全 体	全国 "	0068	0065	"
		富山県 "	0105	0051	0032
	都市住宅地区	全国 "	0062	0064	"
		富山県 "	0095	0054	0032
農村地区	全国 "	0071	0064	"	
	富山県 "	0141	0049	0024	
漁村地区	全国 "	0072	0066	"	
	富山県 "	0091	0055	0035	
ディ ル ド リ ン	全 体	全国 "	0003	0003	"
		富山県 "	0001	0003	0002
	都市住宅地区	全国 "	0003	0003	"
		富山県 "	0001	0002	0002
農村地区	全国 "	0002	0002	"	
	富山県 "	0000	0002	0001	
漁村地区	全国 "	0002	0003	"	
	富山県 "	0001	0003	0003	

1975年度から1977年度における総BHC, 総DDT並びにディルドリンの全国平均値との比較を表3に示した。1977年度分については全国調査の結果が未だ発表されていないので推定の域に止まるが、1975年度における総DDTを除き、本県在住者の母乳中における有機塩素系農薬の濃度は常に全国平均のそれよりも僅かに低い水準を保っているのではないかと考えられる。

文 献

PCB等母乳汚染疫学調査結果について

都道府県衛生主管部長あて(昭和51年8月15日付け)厚生省児童家庭局母子衛生課長通知

PCB等母乳汚染疫学調査結果について

同上 (昭和52年6月28日付け)

〔 調査報告 〕 食品中の残留農薬に関する調査 —動物性食品中の有機塩素系農薬—

坂井敏郎 穴山道子 大浦 敏 松永明信
彼谷邦光 水上英一 小林 寛

目 的

本調査は、動物性食品中の残留有機塩素系農薬による汚染状況の実態と、残留量の推移をみるため昨年度に引き続き実施したものである。

方 法

検体の採取：1978年1月から3月にかけて県環境衛生課（輸入肉）県経済連、個人の養鶏家（鶏肉、鶏卵、鶏用飼料）の協力を得て行なった。

検体の種類：生産地、数：

輸入肉：アルゼンチン、ほか3ヶ国から輸入された9検体

鶏肉：城端、福光、小矢部、立山の各養鶏場で購入した成鶏のもも肉5検体と、県経済連提供の解体処理済みの若鶏（産地：魚津、福野）2検体の計7検体

鶏卵：上記各養鶏場で購入した鶏卵5検体と県経済連提供の鶏卵（産地：魚津、高岡）2検体の計7検体

鶏用飼料：上記各養鶏場で購入したそれぞれ内容の異なる成鶏用混合飼料5検体と県経済連が県下の養鶏家に供給している成鶏用混合飼料1検体 計6検体

（上記鶏肉、鶏卵、鶏用飼料各5検体は、県経済連以外の業者から飼料を購入している養鶏家のうち規模の大きいところから購入した）

検査項目：BHC、DDT各異性体、ディルドリン、（エンドリン、アルドリン、ヘプタクロール等は1972年調査時にすべて不検出であったので今回は検査しなかった。）

検査方法：食品衛生法に基づく規格基準、ならびに、AOAC法に準じて行なった。

結果および考察

分析結果は表1に示すとおりであった。

輸入肉については、全ての検体から、 α -

β -、 γ - BHC、 p,p' -DDT、 p,p' -DDE

が検出されたが、ウサギを除けば、特に高濃度に残留している検体はみられず、われわれが昨年度に調査した県内産のウシ、ブタなどの値と比較して大差なくむしろ幾分低い値であった。

ウサギ肉についてはBHC（特に β -BHC）の濃度が今回分析した他の食肉にくらべて異状に高くWhole BaseでTotal-BHCが0.132 ppm、Fat Baseで756 ppmを示し、他の輸入肉よりも γ -異性体に対する、毒性の強い β -異性体の比率が高かった。

一方、DDTおよびその近縁化合物においても、ウサギ肉は今回調査した他の肉類に比較して残留量が多く、Total DDTについてはWhole Baseで0.027 ppm、Fat Baseで1.52 PPMの値を得た。ディルドリンについては、すべて痕跡か不検出であった。

鶏肉については、昨年度において県経済連から提供を受けた検体を分析に供したところ、BHC、DDTの残留量が、1972年当時より高く、比較的高水準であったことから、今回再び検体の提供を受けると同時に、経済連以外の業者から飼料を購入している養鶏場5ヶ所の成鶏をも検体として分析した。

全体の平均値としては、Total-BHC、Total-DDT、ディルドリンともに、昨年度の調査結果よりもやや低かったが、1972年度の調査当時よりも幾分高い数値を得た。経済連提供の検体と、それ以外の検体との比較では、Total-DDTで、前者の方がいくらか高い傾向がみられたが、顕著な差異は認められなかった。今回分析した検体の中では日〇配〇飼料の「テ〇1〇」で飼育した「ハイライン種」のBHC（特に β -異性体）の値が高いのが目立った。

表1. 動物性食品中の残留有機塩素系農薬調査結果

単位 PPM

検体名	採取地	採取年月	脂肪%	α-BHC		β-BHC		γ-BHC		δ-BHC			
				Fat Base	Whole Base	F B	W B	F B	W B	F B	W B	F B	W B
				馬 筋肉	A	1978.1	75	0.00	0.000	0.01	0.001	0.01	0.000
脂肪		"	740	0.01	0.005	0.03	0.020	0.01	0.005	nd	nd		
マトン 筋肉(胸)	B	"	25	0.00	0.000	0.02	0.001	0.01	0.000	nd	nd		
脂肪		"	925	0.00	0.003	0.01	0.011	0.01	0.005	nd	nd		
マトン 筋肉(もも)	C	"	16	0.01	0.000	0.05	0.001	0.02	0.000	nd	nd		
脂肪		"	645	0.00	0.003	0.02	0.015	0.02	0.010	nd	nd		
豚 筋肉(肩)	D	"	110	0.00	0.000	0.01	0.001	0.01	0.001	nd	nd		
脂肪		"	490	0.00	0.002	0.02	0.011	0.01	0.004	nd	nd		
ウサギ 筋肉	E	"	17	1.26	0.022	0.01	0.070	1.37	0.024	0.92	0.016		
鶏 " 肉	城端	1978.2	17	0.01	0.000	0.13	0.002	0.02	0.000	nd	nd		
"	福光	"	49	0.01	0.000	0.22	0.011	0.01	0.001	nd	nd		
"	小矢部	"	2.8	0.01	0.000	0.05	0.002	0.02	0.001	nd	nd		
"	小矢部	"	2.2	0.01	0.000	0.07	0.002	0.02	0.001	nd	nd		
"	立山	"	3.2	0.01	0.000	0.08	0.003	0.03	0.001	nd	nd		
"	魚津(県経済連)	1978.3	3.3	0.02	0.001	0.06	0.002	0.03	0.001	nd	nd		
"	福野(")	"	1.6	0.01	0.000	0.08	0.001	0.04	0.001	nd	nd		
鶏 卵	城端	1978.2			0.001		0.005		0.002		nd		
"	福光	"			0.001		0.028		0.002		tr		
"	小矢部	"			0.002		0.004		0.002		nd		
"	小矢部	"			0.001		0.004		0.003		nd		
"	立山	"			0.001		0.005		0.001		nd		
"	高岡(県経済連)	1978.3			0.002		0.009		0.002		nd		
"	魚津(")	"			0.002		0.012		0.002		nd		
鶏用飼料(成鶏用)	城端	1978.2	2.8	0.01	0.000	0.04	0.001	0.02	0.001	0.00	0.000		
"	福光	"	3.4	0.05	0.002	0.02	0.001	0.04	0.001	0.02	0.001		
"	小矢部	"	2.8	0.05	0.002	0.05	0.002	0.03	0.001	0.00	0.000		
"	小矢部	"	2.9	0.02	0.001	0.03	0.001	0.01	0.000	nd	nd		
"	立山	"	2.8	0.04	0.001	0.05	0.001	0.03	0.001	nd	nd		
"	(県経済連)	1978.3	3.2	0.11	0.004	0.08	0.003	0.05	0.002	nd	nd		

Total-BHC		p,p'-DDT		p,p'-DDE		p,p'-DDD		o,p'-DDT		Total-DDT		Dieldrin		備考
F B	W B	F B	W B	F B	W B	F B	W B	F B	W B	F B	W B	F B	W B	
0.02	0.001	0.01	0.001	0.01	0.001	nd	nd	nd	nd	0.02	0.002	nd	nd	
0.04	0.030	0.02	0.013	0.03	0.023	nd	nd	nd	nd	0.05	0.035	nd	nd	
0.04	0.001	0.01	0.000	0.02	0.001	nd	nd	nd	nd	0.03	0.001	tr	tr	
0.02	0.019	0.01	0.013	0.02	0.018	nd	nd	nd	nd	0.03	0.030	tr	tr	
0.08	0.001	0.04	0.001	0.02	0.000	nd	nd	nd	nd	0.06	0.001	nd	nd	
0.04	0.028	0.04	0.028	0.09	0.063	nd	nd	nd	nd	0.14	0.091	nd	nd	
0.01	0.002	0.04	0.004	0.04	0.004	nd	nd	nd	nd	0.07	0.008	nd	nd	
0.03	0.017	0.03	0.015	0.03	0.013	nd	nd	nd	nd	0.06	0.028	nd	nd	
7.56	0.132	0.82	0.015	0.34	0.006	0.34	0.006	nd	nd	1.52	0.027	nd	nd	
0.17	0.003	0.16	0.003	0.33	0.006	nd	nd	nd	nd	0.49	0.008	0.05	0.001	シエーバー(産鶏)ハイライン
0.24	0.012	0.09	0.005	0.19	0.009	0.01	0.001	nd	nd	0.29	0.014	0.02	0.001	(")バブコック
0.08	0.002	0.05	0.002	0.08	0.002	nd	nd	nd	nd	0.13	0.004	0.03	0.001	(")シエーバー
0.11	0.002	0.04	0.001	0.06	0.001	nd	nd	nd	nd	0.10	0.002	0.01	0.000	(")バブコック
0.11	0.004	0.08	0.003	0.11	0.004	nd	nd	nd	nd	0.19	0.006	0.01	0.000	(")若鶏ブロイラー
0.11	0.004	0.20	0.007	0.16	0.005	0.01	0.000	tr	tr	0.38	0.012	0.02	0.001	!!
0.13	0.002	0.27	0.004	0.13	0.002	nd	nd	nd	nd	0.40	0.006	0.01	0.000	
	0.007		0.009		0.010		0.001		nd		0.020		0.001	シエーバー
	0.030		0.009		0.021		0.003		nd		0.032		0.001	ハイライン
	0.007		0.007		0.008		0.002		nd		0.017		tr	バブコック
	0.007		0.006		0.005		tr		nd		0.011		0.001	シエーバー
	0.007		0.007		0.009		tr		tr		0.016		0.001	バブコック
	0.013		0.015		0.019		0.003		nd		0.037		0.003	
	0.013		0.008		0.016		0.003		0.001		0.028		0.001	
0.07	0.002	0.07	0.002	0.05	0.002	nd	nd	nd	nd	0.12	0.003	0.05	0.001	豊○飼料(ブ○シ○10)
0.13	0.005	0.34	0.012	0.10	0.004	tr	tr	0.03	0.001	0.47	0.016	0.11	0.004	日○配○飼料(テ○10)
0.14	0.004	0.19	0.005	0.05	0.002	tr	tr	0.07	0.002	0.31	0.009	0.08	0.002	日○農○工(コ○10)
0.07	0.002	0.08	0.002	0.04	0.001	nd	nd	0.01	0.000	0.13	0.004	0.05	0.001	日○農○工(マ○シ○10)
0.11	0.003	0.17	0.005	0.05	0.001	nd	nd	nd	nd	0.23	0.006	0.09	0.003	日○配○飼料(コ○10)
0.25	0.008	0.22	0.007	0.12	0.004	0.05	0.002	nd	nd	0.38	0.012	0.01	0.000	組○飼料(マ○シ○10)

表2 動物性食品中の残留有機塩素系農薬(まとめ)

単位 PPM

検体名	個数	β-BHC		Total-BHC		pp'-DDT		p,p'-DDE		Total-DDT		dieldrin	
		平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲
輸入肉(筋肉)	5	0.015	0.001~0.070	0.027	0.001~0.132	0.004	0.000~0.015	0.002	0.000~0.006	0.008	0.001~0.027	—	—
1977年度 鶏肉	7	0.003	0.001~0.011	0.004	0.003~0.012	0.004	0.001~0.007	0.004	0.001~0.009	0.007	0.002~0.014	0.001	0.000~0.001
(1976年度)	(5)	(0.008)	(0.005~0.007)	(0.015)	(0.012~0.021)	(0.045)	(0.030~0.088)	(0.021)	(0.016~0.023)	(0.066)	(0.046~0.090)	(0.005)	(0.003~0.006)
(1972年度)	(4)	(0.001)		(0.003)		(nd)		(0.002)		(0.004)		(0.000)	
1977年度 鶏卵	7	0.010	0.004~0.012	0.012	0.007~0.030	0.009	0.006~0.015	0.013	0.005~0.021	0.023	0.011~0.037	0.001	tr~0.003
(1976年度)	(10)	(0.008)	(0.003~0.019)	(0.011)	(0.007~0.026)	(0.025)	(0.008~0.041)	(0.022)	(0.014~0.033)	(0.047)	(0.022~0.066)	(0.002)	(0.001~0.004)
飼料(成鶏用)	6	0.002	0.001~0.003	0.004	0.003~0.008	0.006	0.002~0.012	0.002	0.001~0.004	0.008	0.003~0.016	0.002	0.000~0.004

()内は前回調査時の数値

鶏卵については、Total-BHCの平均値で昨年度の調査結果と殆んど等しい値を得たが、Total-DDTの平均値では昨年度よりも低い数値を得た。経済連提供の検体と「テ〇1〇」で飼育した「ハイライン種」について、Total-BHC、Total-DDTの残存量が、他の検体に比較して高い数値を示した。ことに「ハイライン種」では鶏肉の場合と同様にBHC(特にβ-異性体)で高水準を示した。

鶏用飼料についても、経済連提供の「マ〇シ〇1〇」と日〇配〇飼料の「テ〇1〇」がBHC、DDT(異性体、近縁化合物を含めて)ともに、他の検体に比べて高い数値を示した。このことは、鶏用飼料中に残留しているBHC、DDTの濃度が比較的高い「組合飼料マ〇シ〇1〇」と日〇配〇飼料の「テ〇1〇」によって飼育された成鶏及び鶏卵について共に比較的高い数値を得たことと一致する。これらの数値を国内東西両地区の近年における残留量(

井上1976)、(高木1974)、(今中1977)と比較すると表3に示すとおり、鶏肉については、岡山、神奈川両県における分析値よりも下廻っているが、神奈川県の水準に近く、鶏卵については、Total-BHC、Total-DDT共に神奈川県における分析値よりも高く、岡山県のそれにほぼ等しい数値となり、ディルドリンでは神奈川県における分析値に近い。

国内においてBHC、DDTの使用が規制されて以来、本県の調査では牛や豚の農薬残留量は著しく減少したが、鶏肉や鶏卵ではそれ程大きな変化は認められていない。わが国で消費される鶏用飼料原料の大部分を輸入に依存する限り、このような状態が続き、鶏肉及び鶏卵中の農薬含有量の著しい低下は望めないのではないかと推定される。

表3 BHC, DDT濃度の地区別比較表

単位 ppm

検体名		検体数	Total-BHC		Total-DDT		Dieldrin	
			平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲
鶏肉	富山県(1977)	7	0.004	0.012~ 0.012	0.007	0.002~ 0.014	0.001	0.000~ 0.001
	神奈川県(1974)	10	0.005	0.001~ 0.009	0.011	0.004~ 0.017	0.001	nd~ 0.008
	岡山県(1976)	10	0.005	nd~ 0.020	0.016	0.002~ 0.031	0.003	0.001~ 0.006
鶏卵	富山県(1977)	7	0.012	0.007~ 0.030	0.023	0.011~ 0.037	0.001	tr~ 0.003
	神奈川県(1976)	10	0.002	nd~ 0.006	0.003	nd~ 0.013	0.001	nd~ 0.009
	岡山県(1976)	10	0.013	0.003~ 0.033	0.023	0.011 0.039	0.004	0.002~ 0.006

文 献

- 岡山県環境保健センター年報 (1977)
- 神奈川県衛生研究所年報 (1976)
- 神奈川県衛生研究所年報 (1974)

〔 調査報告 〕

食品中の残留農薬に関する調査
— 茶，野菜類中の残留農薬 —

坂井敏郎 水上英一 彼谷邦光

目 的

県内産の茶，野菜類中の残留農薬による汚染状況をは握し，県民の食生活の安全を期するための資料の一つとするもので，1971年度から継続実施している。

実 施 方 法

期間：1977年5月～11月

検体：県下各市町村（富山市，八尾町，上市町，魚津市）で生産された茶2，野菜10の計12検体

検査項目：ヒ素，鉛，BHC，DDT，エンドリン，ディルドリン（アルドリン），ジコホール，キャプタン，パラチオン，マラチオン，EPN，ダイアジノン，フェントロチオン，カルバリル

分析方法：ヒ素，有機塩素系，有機リン系農薬の分析は公定法によって行った。鉛は原

子吸光法，カーバメイト系農薬はTFA化ガスクロマトグラフィーによった。

結 果

表1に示したとおり，茶ではBHCが1検体から0.015ppm検出され，その他の農薬は不検出であった。

きゅうりでは，BHCがとん跡，ディルドリンが2検体から，それぞれ0.008ppm，0.023ppm検出されたが，後者は野菜の成分規格0.02ppmに不適なものであった。

他の1検体からダイアジノンがとん跡ながら検出された。

白菜では，BHC，ディルドリンがとん跡検出された。

表1 野菜，茶中の残留農薬調査結果

品 名	採 取 地	月 日	農 薬 名													備 考			
			ヒ素	鉛	BHC	DDT	エンドリン	ディルドリン	ジコホール	キャプタン	パラチオン	マラチオン	EPN	ダイアジノン	フェントロチオン		カルバリル		
茶	富山市西押川	5.23			nd	nd	nd	nd	nd			nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	せん茶
茶	富山市吉作	5.23			0.015 PPM	nd	nd	nd	nd			nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	せん茶
きゅうり	婦負郡八尾町	7.4	nd	nd	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	tr	nd	nd	nd		
きゅうり	同 上	6.21	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.008 PPM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
きゅうり	富山市北代	6.21	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
きゅうり	富山市天正寺	6.21	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
きゅうり	中新川郡	6.21	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
きゅうり	上市町	7.4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.023 PPM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
白 菜	魚津市下椿	10.17			nd	nd	nd	tr				nd	nd	nd	nd	nd	nd		ひわり
白 菜	魚津市有山	10.17			tr	nd	nd	tr				nd	nd	nd	nd	nd	nd		耐病30日
白 菜	婦負郡八尾町	11.4			nd	nd	nd	nd				nd	nd	nd	nd	nd	nd		
白 菜	同 上	11.4			nd	nd	nd	nd				nd	nd	nd	nd	nd	nd		

nd：不検出 tr：とん跡 0.001ppm未満

[調査報告]

河川水水質調査について

化学部 松永明信 大浦 敬 新村哲夫* 井山洋子**

小林 寛 (*現在は環境保健部 **細菌部)

目 的

水資源の有効利用を図り、水道資源の恒久化と、水道の広域化を期するための基礎資料を得る目的で、今後開発が予定されている県内河川の水質調査を、1974年以来継続して行なっている。

調査方法

常願寺川から導水し、農業用水などに利用されている常東用水(採水地点;中新川郡立山町岩峯寺立山橋付近)および岐阜県古城郡官川村に源を発し、農山村を流下して井田川に合流する久婦須川(採水

表1 河川水水質調査結果

河 川 名			常 東 用 水		久 婦 須 川	
項 目	単 位		平均値	範 囲	平均値	範 囲
水 温	℃		8.8	3.0 ~ 15.8	10.8	0.3 ~ 19.7
濁 度	度		6	1 ~ 28	2	1 ~ 20
色 度	度		10	2 ~ 35	6	2 ~ 30
PH			7.1	6.9 ~ 7.3	7.5	7.1 ~ 8.0
アンモニア性窒素			10/22 *		6/22 *	
亜硝酸性窒素			3/22 *		3/22 *	
硝酸性窒素	ppm		0.2	0.1 ~ 0.3	0.2	<0.05 ~ 0.5
KMnO4消費量	ppm		2.7	1.2 ~ 5.3	2.3	1.0 ~ 5.6
塩素イオン	ppm		3.8	1.7 ~ 5.7	3.2	2.3 ~ 5.3
硬 度	ppm		30.3	17.0 ~ 50.6	43.2	31.3 ~ 52.7
酸 度	ppm		2.8	1.8 ~ 5.0	1.7	0.0 ~ 3.3
アルカリ度	ppm		22.5	15.1 ~ 31.0	43.2	28.5 ~ 54.2
蒸発残留物	ppm		7.6	3.6 ~ 11.0	7.4	5.9 ~ 10.5
浮遊物	ppm		1.3	1 ~ 4.1	8	1 ~ 5.7
フッ素	ppm		0.1	0.1 ~ 0.2	0.1	<0.05 ~ 0.1
溶存酸素	ppm		11.4	9.7 ~ 13.4	11.2	9.1 ~ 14.2
酸素飽和百分率	%		9.9	9.0 ~ 10.4	10.0	9.2 ~ 10.6
B O D	ppm		0.5	0.2 ~ 1.5	0.4	0.2 ~ 1.3
C O D	ppm		0.6	0.4 ~ 0.9	0.7	0.3 ~ 1.3
鉄	ppm		0.15	<0.02 ~ 0.35	0.09	<0.02 ~ 0.40
マンガン	ppm		0.03	<0.02 ~ 0.10		<0.02
亜鉛	ppm			<0.01 ~ 0.05		<0.01 ~ 0.02
一般細菌	個/ml		1.7×10^2	$4.6 \times 10^1 \sim 9.4 \times 10^2$	3.4×10^2	$3.7 \times 10^1 \sim 3.5 \times 10^3$
大腸菌群	MPN		4.2×10^2	$3.3 \times 10^1 \sim 1.3 \times 10^3$	7.0×10^2	$1.1 \times 10^1 \sim 9.2 \times 10^3$

*; 検出率 平均値; 一般細菌と大腸菌群は幾何平均, その他は算術平均

以下の項目は、両河川ともに、年間を通して不検出であった。

銅<0.05, 鉛<0.1, 六価クロム<0.01, カドミウム<0.01, 総水銀<0.0005, ヒ素<0.01, フェノール類<0.005, メチレンブルー活性物質<0.1, シアン; 不検出, 有機リン; 不検出,

地点；婦負郡八尾町掛畑 本法寺橋付近)について、1977年5月から1978年3月まで、水質調査を行った。

上水試験方法(厚生省令)ならびに工場排水試験方法(JIS K-0102)に準ずる方法により、気温、水温、外観、透視度、臭気、味、濁度、色度、PH、アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素、過マンガン酸カリウム消費量、塩素イオン、硬度、酸度、アルカリ度、鉄、マンガン、一般細菌および大腸菌群は、毎月2回、また蒸発残留物、浮遊物、フッ素、溶存酸素、化学的酸素要求量(COD)生物学的酸素要求量(BOD)、亜鉛、銅、鉛、六価クロム、カドミウム、総水銀、シアン、ヒ素、有機リン、フェノール類およびメチレンブルー活性物質は、毎月1回試験した。

結果および考察

調査結果の概要は、表1および図1～8に示した。両河川の水温は、気温の変化にともなって、夏期は高く、冬期は低く(図1)、常東用水および久婦須川の年平均水温は、8.8℃および10.8℃であった。溶存酸素は、水温とは逆に、冬期に高く夏期は低かった。(図2)。しかし、酸素飽和百分率は、年間を通して、両河川とも約100%であり、常に飽和状態にあった。久婦須川のPHは、夏期に少し高い傾向があり、常東用水はほぼ一定であった。(図3)

濁度は、図4に示すごとく、常東用水では、7月前期、12月後期および3月前期に大きくなった。久婦須川は、年間を通して透明な水質であり、12月後期だけ濁度は大きくなった。色度は、両河川ともに、濁度と同様な季節の変化がみられた。また、

この時期は、浮遊物が異常に大きな値となったが、硬度は減少し、蒸発残留物には大きな変化がみられなかった。亜硝酸性窒素の陽性は、両河川ともに、12月後期と2月後期および3月前期の8回であり、この時期はアンモニア性窒素も陽性であった。これらの汚濁は、12月は大量の降雨に、2～3月は融雪水に起因するものであろう。常東用水の7月の汚濁は、気象的因子はみあたらず、人為的因子によると推定された。

過マンガン酸カリウム消費量は、図5に示すごとく、濁度などの変化とかならずしも一致せず、年平均値は、常東用水27ppm、久婦須川23ppmであった。また、常東用水では、鉄は濁度と同様に、12月および2～3月の増水時に増大し、(図8)、マンガンは融雪期には約0.1ppmに増加した。久婦須川は、12月に鉄が増大し、マンガンは1年中検出されなかった。

硬度は、年間を通してほぼ一定であり(図6)、常東用水の平均値は303ppm、久婦須川は43.2ppmであった。アルカリ度、すなわち重炭酸塩は、硬度と同様に変化し、その平均値は、常東用水22.5ppm、久婦須川43.2ppmであった。この高いアルカリ度は、久婦須川の高いPHの一因であろう。

BODおよびCODは、両河川ともに、年平均値は1ppm未満であり、銅など10項目(表1参照)も年間を通して検出されなかった。したがって、測定2地点の水質は、理化学的には比較的清浄であり、水質汚濁に係る環境基準による水域類型の分類では、AA類型に相当するものと思われる。しかし、細菌学的には、表1に示すごとく、大腸菌は年間を通して検出され、ある程度の汚染がみられた。

河川水質の季節的変動 (I)

図1 水温

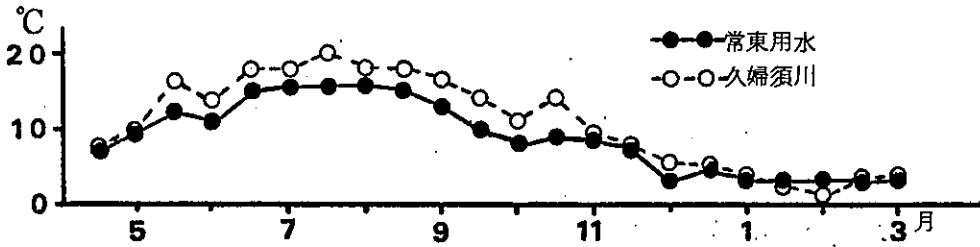


図2 溶存酸素

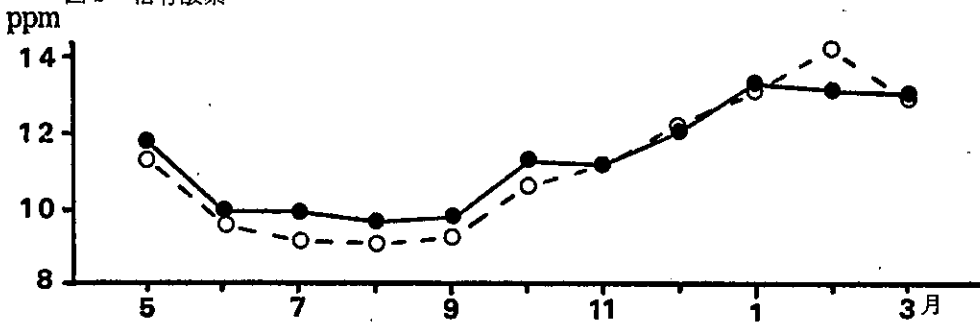


図3 PH

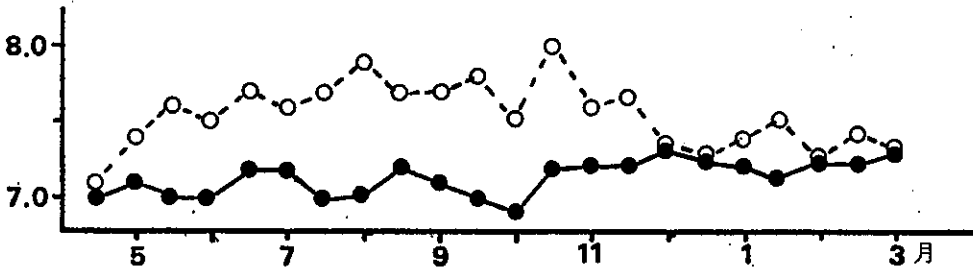
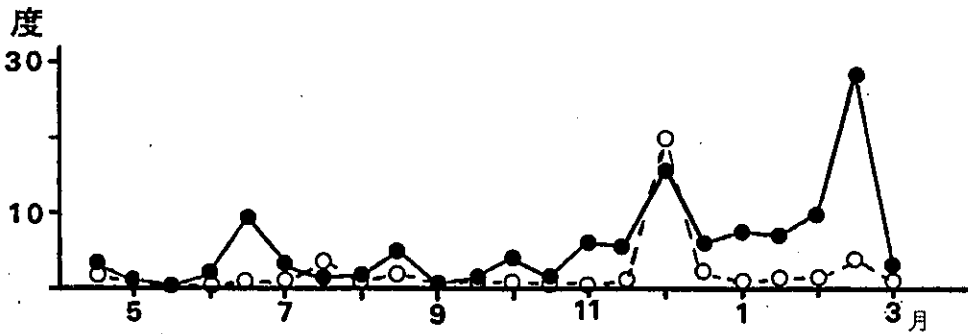
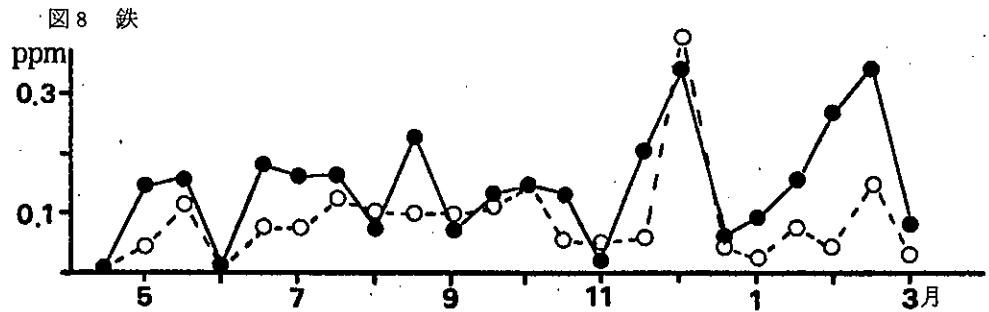
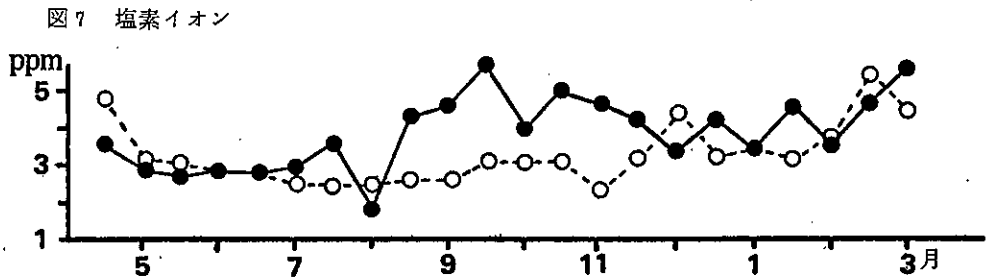
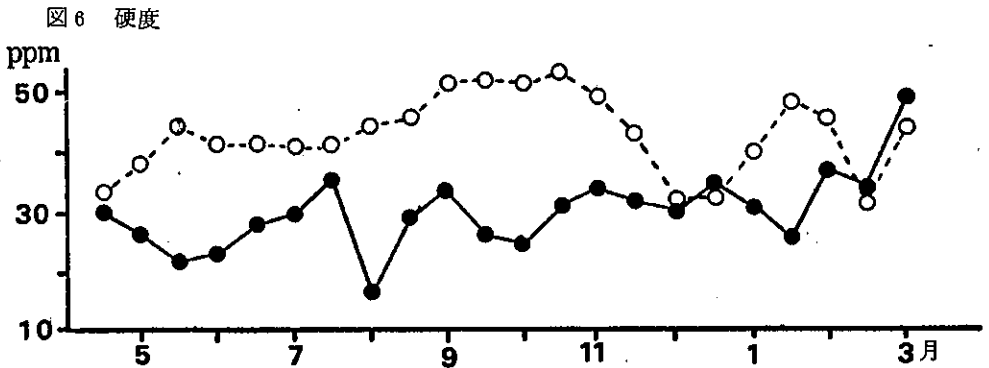
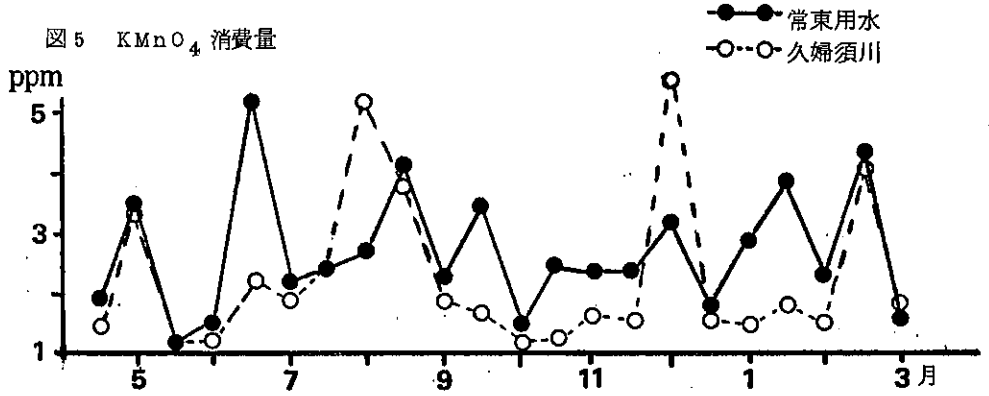


図4 濁度



河川水質の季節的変動 (II)



〔研究報告〕

チヨウセンアサガオのアルカロイドについての研究

彼谷邦光 水上英一 小林 寛

目 的

Datura属のアルカロイドについてはOsada (1924)がチヨウセンアサガオ, *Datura alba*, Neesの種子からスコポラミン(以下Sと略記), ヒヨスチアミン(以下Hと略記)アトロピン(以下Aと略記)等を報告したのを初めとして多くの研究報告がある。柴田ら(1954)も, *D. tatura* L., *D. Metel*, L.及び*D. meteloides*の根からS, H及びその他のアルカロイドを検出している。

しかし, この属のアルカロイドの構成は種, 産地生育度により異なるといわれており, 我々も今回の食中毒事件(本年報の資料編, 「チヨウセンアサガオによる食中毒事件について」参照)に際し保健所から送付された検体B(*Datura*属の植物の根)の主なアルカロイドの構成を明らかにするため検討した。

材料及び方法

1. 検査材料 前記の, 検体Bの抽出物を用いた。

2. 方法

a) 沈殿反応 前報の方法で抽出したアルカロイドを希硫酸に溶解して1mg/mlの溶液を調製し, 更に硫酸アトロピンを用いて, Aとして0.01, 0.1, 1, 10mg/mlの各濃度溶液を, また臭化水素酸スコポラミンを用いてSとしてAと同濃度の各溶液を調製した。別に沈殿試薬として, 1)リンモリブデン酸溶液(硝酸酸性5%, 水溶液), 2)ドラッグンドルフ試薬(次硝酸ピスマス0.34gを20%酢酸の20mlに溶解した液と40%ヨウ化カリウム水溶液5mlの混液), 3)マイヤー試薬, 4)マルメ試薬, 5)ワグナー試薬, 6)ピクリン酸液(飽和水溶液)の6種を調製し, 上記の各濃度の検液1mlに, これらの各沈殿試薬2滴ずつ加えて沈殿生成の有無を観察した。

b) 抽出アルカロイドのガスクロマトグラフィー ガスクロマトグラフ(FID)により含有アルカ

ロイドを分析するため, 2%SE-52/Gas Chrom Q, OV-17, QF-1, OV-225, SE-30の5種類のカラム(各2mのガラスカラム)を用いて検討した。

A及びBの定量は次の方法で行った。まず各標準溶液調製のため, Aについては硫酸アトロピン($C_{17}H_{23}NO_3$) $_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$, 試薬特級)120.1mgを正確に秤取し, アンモニアアルカリ性水(PH9)約20mlに溶解し, クロロホルム20mlずつを用いて3回抽出し, 少量の無水硫酸ナトリウムで脱水したのち, 水浴上でクロロホルムを蒸発させた。抽出物をエタノールに溶解して20mlとした。本液は1ml中にA5mgを含有する。

次にSについては臭化水素酸スコポラミン($C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr \cdot 3H_2O$, 試薬特級)144.5mgを正確に秤取し, A標準溶液と同様な方法で得た抽出物をエタノール溶解して20mlとした。本液1ml中にS5mgを含有する。

またAとSの混合標準溶液は, A及びS標準溶液の各10mlを混合して調製した。本液1ml中にはA及びSの各2.5mgずつを含有する。

次に検量線を作成するため, 上記の混合標準溶液をエタノール希釈して0.5, 1.0, 1.5, 2.0mg/mlの各溶液を調製し, その2~5 μ lを, 後記の条件で運転するガスクロマトグラフに注入して得られるガスクロマトグラム各ピークの面積から検量線を作成した。また試料溶液を用いて同様に分析して得たガスクロマトグラムから, A及びSの含量を算出した。

c) 抽出アルカロイドの薄層クロマトグラフィー まず抽出アルカロイドの構成を検討するため, 日本薬局方(日本公定書協会, 1976)「ロートコン」の確認試験2に準じて薄層クロマトグラフィーを実施した。薄層はワコーゲルB5FMの0.3mmを用い, 抽出物(Hとして)約340 μ gをスポットして展開した。

次に薄層クロマトグラム上の各スポットの比色定量を行うため、薄層からアルカロイドの各スポットをかき取りメタノール10 mlで抽出した。メタノールを蒸発後蒸留水1 mlを加えて溶解し、この0.5 mlを15 mlの遠心管に入れ、Wheeldonら(1958)の方法に従い、飽和リンモリブデン酸水溶液の0.1 mlを加え5℃で30分間放置した。この液を遠心分離して沈殿を分取し5 mlの蒸留水で2回洗滌し8 mlのアセトンで溶解した。

このアセトン液に10 N硫酸1 mlと5%塩化第1スズ液0.05 mlを加え混和後エタノールを加え10 mlとし、680nmで吸光度を測定した。別に硫酸アトロピンを用いてAの0.1, 0.2, 0.4 μmol液の各0.5 mlについても同様に操作して検量線を作製した。

表1 沈殿反応一覧表

試料 試薬	盲 検	検体B 抽出物 1 mg	アトロピン 0.01 mg				スコポミン 0.01 mg			
			0.1 mg	1 mg	10 mg	同 左	0.1 mg	1 mg	10 mg	同 左
リンモリブ デン酸	淡黄色 透明	淡黄白色 沈 殿	微混濁	混 濁	淡 色 沈殿多量	同 左	淡 黄 色 濁	混 濁	淡 色 沈殿多量	同 左
ドラージェ ンドルフ	黄 色 透明	橙 白 色 沈 殿	橙 色 沈 殿	"	"	"	"	"	"	"
マイヤー	無 色 透明	淡黄白色 沈 殿	無 色 透明	白 混 濁	淡黄白色 沈 殿	白 色 沈 殿	無 色 透明	"	淡黄白色 沈 殿	白 色 沈 殿
マルメ	無 色 透明	淡黄白色 沈 殿	無 色 透明	"	微混濁	白 色 沈 殿	無 色 透明	"	"	白 色 沈 殿
ワグナー	茶 色 透明	緑 褐 色 沈 殿	茶 褐 色 濁	淡緑褐色 沈 殿	緑 褐 色 沈 殿	赤 茶 色 沈 殿	茶 透 色 透明	茶 色 沈 殿	チコレート 色 沈 殿	チコレート 色 沈 殿
ピクリン 酸	黄 色 透明	"	"	"	"	黄 色 濁	黄 色 透明	"	"	"

結 果

1. 沈殿反応について 表1の結果からわかるように、リンモリブデン酸試薬及びドラージェンドルフ試薬を用いるとA, Sの10 μgの検出が可能であった。検体Bから抽出したアルカロイド1 mgについては5種類の反応(ピクリン酸を除く)全てが陽性であった。またワグナー試薬によりA 1 mgは緑褐色に

S 1 mgはチコレート色になったが、検体Bのアルカロイドは緑褐色で、Aに類似した色調を呈した。

アルカロイドの検出には各種の沈殿試薬が用いられているが検出限界が不明なものが多い。大岡ら(1956)は硫酸アトロピンに対するワグナー試薬やマイヤー試薬の検出限界を記載しているが、Sについての記載はない。そこで今回両試薬の検出限界

について検討したところ、Aに対してはワグナー試薬で $10\mu g$ 、マイヤー試薬で $1000\mu g$ 、Sに対してはそれぞれ $1000\mu g$ 、 $10000\mu g$ であった。しかしリンモリブデン酸試薬、ドラージェンドルフ試薬ではA、S共に $10\mu g$ で、この検出限界で実用に供しうると考えられたので、この2種類の試薬を用いた。

2 ガスクロマトグラフィー 分析条件を種々検討の結果、2% SE-52 / Gas Chrom Q, カラム恒温槽 $205^{\circ}C$ 、注入口温度 $250^{\circ}C$ 、キャリアガスはチッ素ガスで流量約 3.5 ml/分 の条件が最良であった。この分析条件におけるA及びSの保持時間はそれぞれ約12分、18分であった。充てん剤はSE-52に次いでOV-17、QF-1などにより良好な結果を得た。(図1)

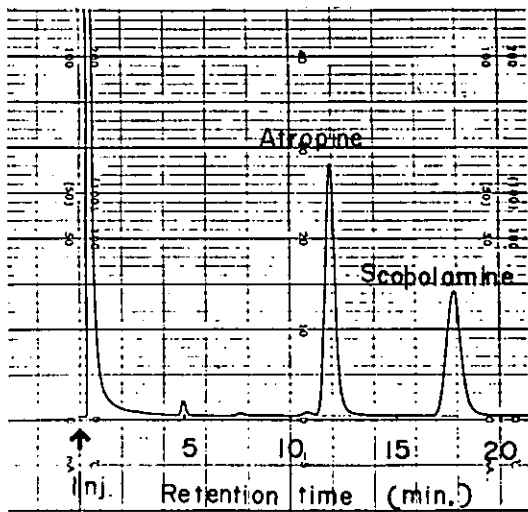


図1 アトロピン及びスコポラミンのガスクロマトグラム

検体Bのアルカロイドからは多数のピークが出現した(図2)。これらのピークのうち、その保持時間から R_{11} はチグロイジン、 R_{10} はA、 R_{11} はSであることを確認した。

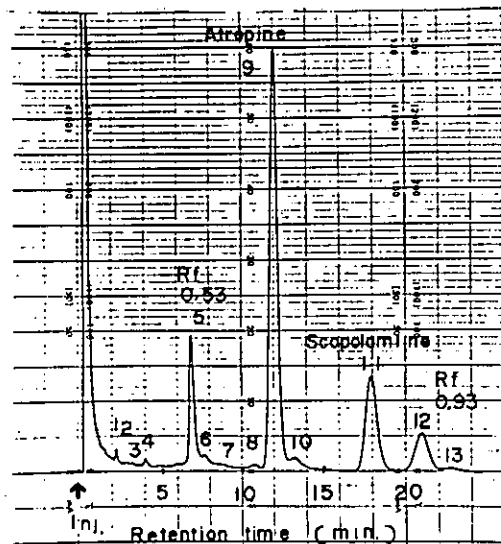


図2 検体Bの抽出物のガスクロマトグラム

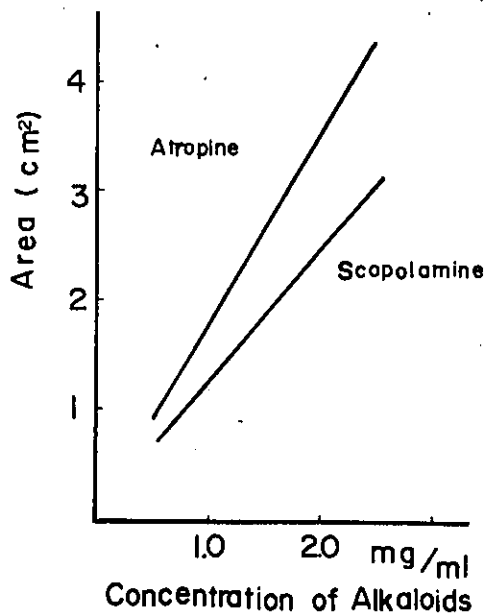
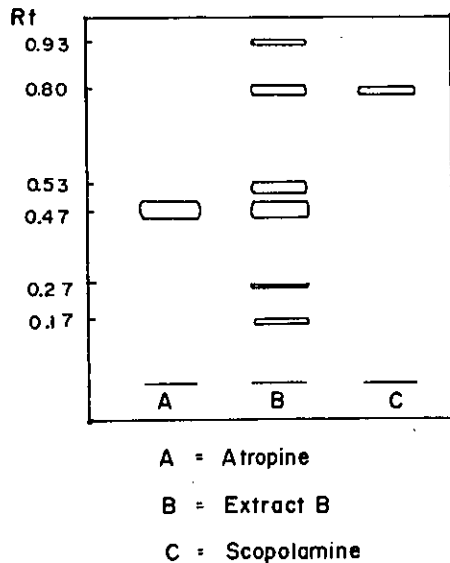


図3 アトロピン及びスコポラミンの検量線

またAとSの検量線は図3のとおりで、これから試料中のアルカロイドを定量した結果、A 0.078% (5.13%), S 0.034% (2.24%), その他のアルカロイド 0.089% (2.63%) で、AとSとの存在比は約2.8:1であった。

3・薄層クロマトグラフィー 図4のように6コのスポットが出現し、Rf 0.47はA、0.80はSであった。



UVとドラージェンドルフ試薬で検出

図4 検体Bの抽出物の薄層クロマトグラム

また残りの4スポットのうち、比較的量が多いとみられた2スポット (Rf 0.53及び0.93) のガスクロマトグラム上での対応ピークを明らかにするため、これら2スポットを分取し、メタノールで抽出してガスクロマトグラフィーを行ったところ、それぞれ図2のピークNo. 5とNo. 12に対応した。

さらに2スポットの成分を明らかにするため、薄層からのメタノール抽出物について Evans ら (

1957) の方法に準じて、水酸化バリウムで加水分解し、酸部分をガスクロマトグラフで分析したところ、両スポットに共通にチグリン酸が検出されたが、チグロイジンとは一致しなかった。

次に薄層クロマトグラム上の各スポットの量的比較を行うため、検量線図5により各スポットをAを基準としたモル%で表示したところ、表2のようにAとSが総アルカロイドの81.7%を占め、これにスポットRf 0.53及び0.93を加算すると94.5%となり、またAとSとの存在比は2.4:1でありガスクロマトグラフィーによる値とほぼ一致した。

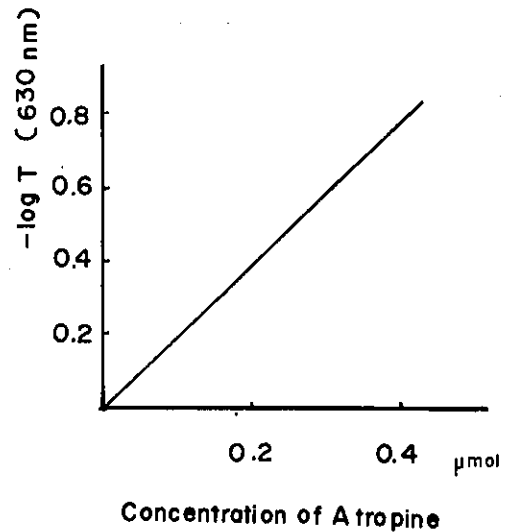


図5 アトロピンの検量線

表2 薄層クロマトグラム上の各スポットの割合

スポットのRf値	モル%	アルカロイド%
0.93	6.4	0.01
0.80 (スコポラミン)	24.2	0.04
0.53	6.4	0.01
0.47 (アトロピン)	57.5	0.09
0.27	3.8	痕跡
0.17	1.0	"
その他	0.7	"
計	100.0	0.15

考 察

検体から抽出したアルカロイドと、ワグナー試薬を用いて行った沈殿反応により生成した沈殿の色調がワグナー試薬とSとの沈殿よりも、Aとの沈殿の色調に似ていたため、アルカロイド中にはAの方が多量に存在するものと推定された。事実、薄層クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィーの結果から、Aの方が多量に存在することが確認された。

柴田ら(1954)が報告している存在比は、*D. tatula* ではH:S=2&8:1、*D. metel* では&6:1、*D. meteloides* で4.9:1などであり、検体Bの値とはかなり異なっていた。

またAとSが総アルカロイド中に占める割合は柴田ら(1964)の報告では、*D. tatula* で63%、*D. metel* で78%、*D. meteloides* で53%の値が記されているが、検体Bについて、ガスクロマトグラフィーによる分析の結果は7&7%と*D. metel*の値に近かった。

なお、合成した各種標準品の薄層及びガスクロマトグラフィーより、Rf 0.93のスポットは8, 6-ジチグロイルオキシトロパン又は7-ヒドロキシ-3, 6-ジチグロイルオキシトロパン、Rf 0.53のスポットは6-ヒドロキシ-3-チグロイルオキシトロパン又は6, 7-ジヒドロキシ-3-チグロイルオキシトロパンと推定された。

本食中毒の原因食物は*Datura* 属の莨菪ゆりに入るが、根茎のみで種の同定は困難であったため、花、葉、種子などによる総合的な鑑定のため引き続き検討中である。なお、県内の別の場所で採取したアメリ

カチヨウセンアサガオの根茎について、各種検査を行って検体と比較したところ、外観、臭味は類似し、抽出アルカロイドはビタリー反応、沈殿反応共に陽性であった。しかしガスクロマトグラム(図6)によればアルカロイドの構成成分は検体のそれと類似しているがパターンが異なっており、また種子の色も検体のそれとは異なっていた。

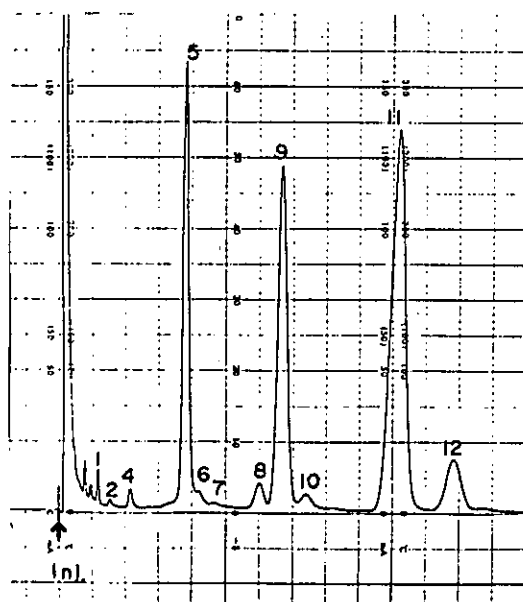


図6 アメリカチヨウセンアサガオの抽出物のガスクロマトグラム

ま と め

1 食中毒の原因となった *Datura* 属の植物の根からアルカロイドを抽出して検討を加えた。

2 アルカロイドの沈殿試薬として、リンモリブデン酸やドラージェンドルフ試薬が適し、両試薬により検体 B は強陽性を示した。

3 アルカロイドの分析にガスクロマトグラフィーを応用することについて検討したところ、SE-52 カラムが良く、検体 B からアトロピン、スコポラミン、チグロイジンや他の比較的少量に存在するとみられる二成分（未確認）等を検出した。

4 薄層クロマトグラフィーによっても、アトロピン、スコポラミン及び比較的少量に存在するとみられる二成分等を認められた。

5 総アルカロイドは湿重量当り 0.15% で、その 73.7% をアトロピンとスコポラミンが占めていた。

文 献

Evans, W. G. et al (1957), J. Chem. Soc., : 1102.

日本公定書協会 (1976), 第九改正日本薬局方解説書: D-958, 広川書店.

大岡増二郎ら (1956), 裁判化学: 54, 南山堂.

Osada S (1924), J. Pharm. Soc. Japan, No. 504: 89.

柴田承二ら (1954), 薬誌, 74(8): 862

Wheeldon, L. W., et al (1958), Biochem. J. 70: 43.

〔研究報告〕

魚介類中の総水銀定量の迅速化に関する検討

坂井敏郎 小林 寛

目 的

魚介類の水銀汚染についての一般の関心は往時に比べ沈静化しているものの依然として行政検査などが必要とされている。水銀分析の主流を占めている

方法は硫硝酸還元還元気化法であるが、分析に長時間を要するので迅速化をはかるため数多くの手法が発表されている。これらの中で有機物の湿式分解

に第一鉄イオンの存在で硝酸一過酸化水素を使用する方法 (Bruno Sansoni, 1968) を改良して魚介類中の水銀の定量に応用することを試みた。

方 法

検体 5 g に 30% 過酸化水素 10 ml, 硝酸 0.5 ml を加えて加熱し、さらに 10% 硫酸第一鉄溶液 3 ml を添加して加熱を続ける。次に硝酸 30 ml, 硫酸 10 ml を加え、最初加熱を始めてから 1 時間で加熱を止め、分解液ををヒドロキシルアミン塩酸塩溶液、塩化第一錫溶液によって、所定の還元気化を行なった。

検体の調製法：ホモジナイズした試料を泥状のまま篩 (36メッシュ) を通して筋、皮を除き更に乳鉢でよく混合し均一化した。

結 果 と 考 察

硫硝酸分解による定量法との比較実験成績及び再現性と添加回収実験成績をそれぞれ表 1 と表 2 に示す。

回収率については 5 回の平均で 94.0

% と比較的良好な結果を得たが、常法との比較実験成績では平均 80.3

% の検出量であり、外見上では分解が完了しているように見えるが、実際には分解は不完全なため検出量が低くなるものと思われる。水銀分析の迅速化をはかるための方策として酸素気流中 (又は助燃剤添加) 加熱燃焼還元気化 (田中, 1974)

表 1. 硫硝酸分解による定量値との比較実験成績

検 体	硫 硝 酸 分解法 8時間	硝酸一過酸化水素 分解法 1時間	%
あ じ 1	0.021 ppm	0.017 ppm	81.0
	0.024	0.020	83.3
い か 1	0.042	0.035	83.1
	0.044	0.037	84.8
は ま ち 1	0.070	0.061	87.1
	0.063	0.052	82.5
か ま す 1	0.032	0.026	81.3
	0.021	0.017	80.9
は ち め 1	0.033	0.026	78.7
	0.041	0.033	80.5
そ い 1	0.153	0.119	77.7
	0.142	0.112	78.8
せ い ご 1	0.081	0.061	75.3
	0.077	0.058	75.3
さ ば 1	0.052	0.040	76.9
	0.044	0.035	79.5
か つ お 1	0.155	0.116	74.8
	0.134	0.098	73.1
い わ し 1	0.019	0.017	89.5
	0.022	0.019	85.3
た ち う お 1	0.068	0.055	80.8
	0.063	0.053	84.1
しま だ い 1	0.035	0.028	80.0
	0.014	0.011	78.6
た ら 1	0.061	0.048	78.6
	0.055	0.043	78.2
た い 1	0.091	0.069	75.8
	0.088	0.070	79.5
か わ は ぎ 1	0.051	0.042	82.3
	0.043	0.035	81.3

平均 80.3%

表 2. 再現性と添加回収実験

検 体	水銀添加量 μg	検 出 量	回収率 %
ふくらぎ	0	0.062 ppm	
"	0	0.058 "	
"	0	0.060 "	
"	0	0.064 "	
"	0	0.061 "	
"	0.5 μg	0.753 μg	93.5
"	"	0.774 "	96.1
"	"	0.745 "	92.5
"	"	0.759 "	94.3
"	"	0.755 "	93.8

平均 94.0 %

表 3. 湿式分解所要時間

検 体	硫硝酸法	硫硝酸—五酸 化バナジウム法	硫硝酸—モリブ デン酸ソーダ法
はちめ	8時間	5時間	6時間
さば	8 "	5 "	7 "
かつお	8 "	6 "	6 "
しまだい	7 "	5 "	5 "
かます	7 "	5 "	5 "

表 4. 硫硝酸分解法と抽出法との比較実験成績

検 体	硫硝酸分解法 8時間	抽出法 1時間	%
かつお	0.132 ppm	0.096 ppm	72.7
た い	0.089 "	0.049 "	55.1
かます	0.025 "	0.020 "	80.0
はまち	0.065 "	0.057 "	87.7

加熱気化(田口, 1971), 金アマルガム法(西, 1974), セーマン2波長原子吸光法(神蔵, 1973)等数多くの手法が発表されているが, いずれも供試料は0.02g~1.0gで検体の均一化に問題が残る。一方硫硝酸還元法による分解時間の短縮に, 五酸化バナジウム(Frank D. Deitz, 1973)やモリブデン酸ナトリウム(Leon J. Dusci, 1976)を触媒として使用する方法及び分解を行わず抽出(松永, 1974)による定量法があり, これらについて追試を行なったが表3, 表4のように顕著な成果を得るに至らなかった。従ってスクリーニングに使用する場合を除き, ルーチンワークに用いるには未だ問題があり, さらに検討を重ねる必要があると思われる。

文 献

- Deitz, F. D. et al (1973), J. AOAC, 56: 378.
 Dusci L. J. et al (1976), J. AOAC, 59: 1182.
 神蔵ら(1973), 食衛誌, 13: 555.
 松永ら(1974), 第27回日本食品衛生学会
 西ら(1974), 分析化学, 23: 386.
 Sansoni, B. et al, Z. Anal. Chem., 243: 209.
 田口(1971), 日衛誌, 25: 553.
 田中ら(1974), 食衛誌, 15: 386

〔 研究報告 〕

精油定量器による魚介類中のn-パラフィンの分析法

水上英一 大浦 敬

彼谷邦光 小林 寛

目 的

石油類が事故によって海上へ流出したり、或いは投棄されるなどによる海水汚濁の事例が、近年次第に増加し、それに伴う魚介類の汚染が憂慮されるようになった。魚介類の石油系化合物による汚染状況を調べるための指標の一つとして、n-パラフィンをあげられるが、魚介類からの抽出法としてはホモジナイズした試料をそのまま、又はアルカリを加えて分解したのちn-ヘキサンによって抽出する方法が一般に用いられている。しかし試料によっては、n-ヘキサンによる抽出操作中に強固なエマルジョンを形成するために、途中で抽出液の分離が出来なくなることもある。そこでこのような場合に応用するため、食品中のフタル酸エステルやBHA、BHTなどの分析に用いられることがある、精油定量器での

抽出前処理法(丸山ら 1977)について検討を試みた。

実 験 方 法

1. 実験材料

県内で水揚げされる魚介類のうち比較的脂肪含量の多い、ハマチの肉質部(脂肪含量4.4%)をホモジナイズして試料とした。

2. 試薬

試薬はn-パラフィンの一部とシリカゲルを除き、試薬特級を用いた。

シリカゲル：メルク製Kiesel gel 60 ASTM 70~230メツシユ カラムクロマトグラフ用

n-パラフィン類混合標準溶液：C₁₅ (ペンタデカン)からC₂₅ (ペンタコサン)までの11種(東京化成)のn-パラフィンを正確に秤取し、い

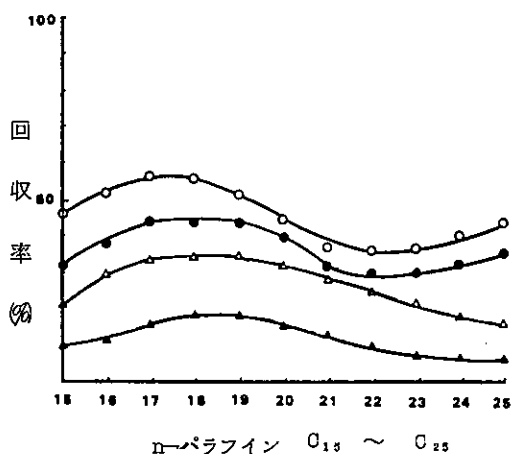


図1. 蒸留時間と回収率との関係

試料 5 g ; 硫酸無添加
n-ヘキサン 1.0 ml ; 蒸留時間 2 ~ 8 時間
—▲— 2時間 —●— 6時間
—△— 4時間 —○— 8時間

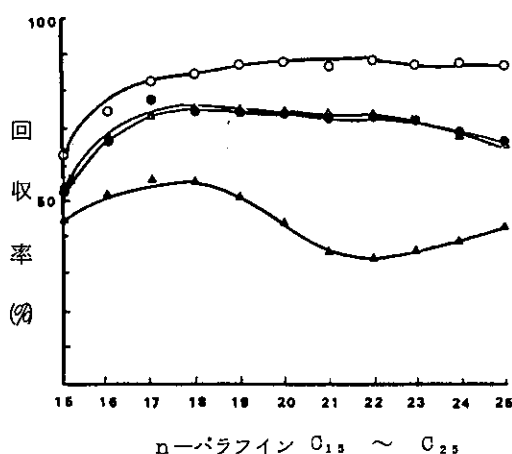


図2. 硫酸の添加量と回収率との関係

試料 5 g ; n-ヘキサン 1.0 ml
硫酸 0 ~ 7.5 ml
—▲— 0 ml —△— 2.5 ml
—○— 5 ml —●— 7.5 ml

ずれも 100 ppm の濃度となるよう n-ヘキサンに溶解し混合溶液とした。

内部標準溶液；2, 3-ジメチルナフタレン（東京化成特級）100 mg を、n-ヘキサン 1,000 ml に溶解した。

3. 装置

精油定量器：第9改正日本薬局方の精油定量器

マントルヒーター：大科電器製 AF-R 5 型（500 ml 用，250 W，スライダック付）

濃縮器：クデルナ・ダニツシュ型濃縮器

ガスクロマトグラフ：俣島津製作所製 GC-5 A 型（FID 検出器付）

実験操作

1. 蒸留方法および検液の調製法

内容 300 ml のナス型フラスコに試料 5 g，水 100 ml および消泡剤として少量のシリコン樹脂を入れる。精油定量器には，少量の水と n-ヘキサン 10 ml を入れてフラスコを連結し，上部に冷却器をつけ，マントルヒーターで加熱しながら蒸留速度 2.3 ~ 3.5 ml/min. で 8 時間蒸留する。蒸留後，精油定量器下部のコックを開いて水層を除去したのち，

冷却器の上部から 2.5 ml の n-ヘキサンを流して内部を洗う。洗液は捕集液と合わせ少量の無水硫酸ナトリウムで脱水し，クデルナ・ダニツシュ型濃縮器を用いて 40°C 以下で減圧濃縮し，約 3 ml としたのちシリカゲルカラム（内径 10 mm，長さ 300 mm のコック付ガラスカラムの下部に少量の脱脂綿をつめ，150°C で 24 時間活性化したシリカゲルを，n-ヘキサンを用いて湿式で充てんして層長 80 mm とし更に上部に少量の無水硫酸ナトリウムを層積したものに）に流し，n-ヘキサン 50 ml を溶離液として 1 分間に約 2 ml の速度で溶離する。溶離液を集めて再び濃縮器により減圧下 40°C 以下で蒸発乾固させ，残留物を内部標準溶液 2 ml に溶解してガスクロマト用検液とする。

2. ガスクロマトグラフィーの条件

カラム：内径 3 mm × 2 m のガラスカラム

充てん剤：2% o-v-17 / Gas Chrom Q，80~100 メツシュ

温度：試料注入口 290°C，カラム恒温槽 100°C → 250°C 6°C/min. 昇温

キャリアーガス：窒素ガス（3.5 ml/min.）

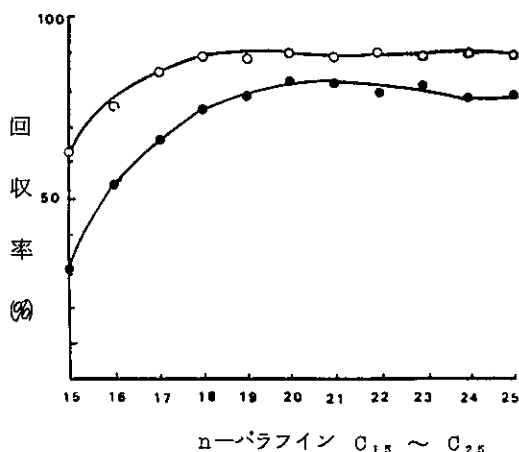


図3. 蒸留速度と回収率との関係

試料 5 g；硫酸 5 ml

n-ヘキサン 10 ml；蒸留時間 8 時間

●—蒸留速度 1.1~1.5 ml/min.

○— 2.3~3.5 ml/min.

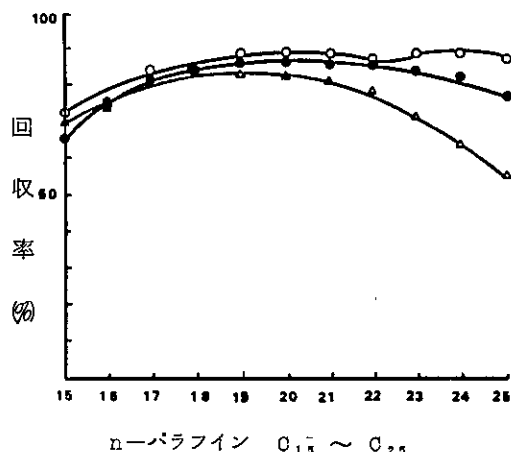


図4. 試料摂取量と回収率との関係

硫酸 5 ml；n-ヘキサン 10 ml

蒸留時間 8 時間；試料 5 ~ 20 g

○— 5 g ●— 10 g

△— 20 g

3. 定量操作

あらかじめ、内部標準物質を加えたn-パラフィン類混合標準溶液を用いて、ガスクロマトグラフィーの条件に従って操作して検量線を作成する。試料から調製したガスクロマト用検液についても同じ条件でガスクロマトグラフィーを行ない、検量線から試料中の各n-パラフィンの濃度を算出する。

実験結果および考察

1. 蒸留条件

蒸留のための基礎条件に関する検討を次のように行なった。内容300mlのナス型フラスコに試料5gを入れ、n-パラフィン類混合標準溶液1mlを加え、室温で溶媒(n-ヘキサン)を送風により揮散させたのち、水100mlおよび少量のシリコン樹脂を加える。捕集溶媒としてn-ヘキサン10mlを精油定量器に入れ、蒸留時間とn-パラフィンの回収率との関係について検討した。また水のほかに硫酸を添加して蒸留した場合の、蒸留時間とn-パラフィンの回収率との関係、捕集溶媒量、蒸留速度、試料採集量などとn-パラフィンの回収率との関係についても検討した。図1~4はそれらの結果を示し

たものである。蒸留時間は長くなるにつれてn-パラフィンの回収率は増大したが、8時間で最高を示しそれ以上蒸留時間を延長しても、殆んど回収率の増大はみられなかった。また蒸留の際に、水のほかに硫酸を加えることにより、n-パラフィンの回収率はかなり増大した。捕集溶媒量についてみると、溶媒量の増加につれてn-パラフィンの回収率は増大するが、8~10mlでほぼ一定の状態になった。また蒸留速度については、速いほどn-パラフィンの回収率は高くなったが、あまり加熱を強くし過ぎると試料がフラスコの内壁に焦げつくなどの障害がみられるため、加熱する強さは或る程度の制約を受けることになり、2.3~3.5ml/min.でほぼ安定した回収率を得ることが出来た。試料の採取量についてみると、5~20gの範囲では少ない程n-パラフィンの回収率は高かった。

2. 回収率の検討

以上のような蒸留条件により同一の試料を用い、

表1. 捕集溶媒量と回収率との関係

溶媒量 ml	n-パラフィン回収率(%)										
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
6	49.0	62.0	71.3	76.0	77.4	78.0	78.0	76.5	76.3	77.2	76.0
8	57.8	79.8	78.3	81.2	83.3	84.4	84.0	84.2	83.7	83.5	84.0
10	64.8	74.3	83.8	86.2	87.0	88.5	86.8	88.4	87.6	87.0	86.6

試料5g;硫酸5ml;蒸留時間8時間

表2. 添加回収率の再現性

	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
	62.2	74.0	81.8	84.6	86.2	87.2	87.0	87.8	87.2	86.5	85.2
	55.8	72.6	82.4	88.2	87.6	85.2	86.0	87.0	86.8	87.8	87.2
	68.0	82.5	87.2	88.3	91.8	91.0	89.8	89.0	88.6	87.5	86.4
	66.4	83.8	88.0	89.0	89.4	91.8	89.0	89.2	89.5	88.2	86.0
	69.5	79.2	87.5	88.0	89.0	88.5	87.4	91.2	89.5	80.0	90.2
\bar{x}	64.4	78.4	85.4	87.6	88.8	88.7	87.8	88.8	88.3	88.0	87.0
σ	5.5	5.0	3.0	1.7	2.1	2.7	1.5	1.6	1.3	1.3	1.9
cv (%)	8.5	6.4	3.5	2.0	2.4	3.1	1.8	1.8	1.4	1.5	2.2

検体5g;硫酸5ml;n-ヘキサン10ml 蒸留速度2.3~3.5ml/min;蒸留時間8時間

C₁₅~C₂₅ までのn-パラフィン各100 μ gを添加して回収実験を行ない、回収率の向上をはかるとともに分析方法の統一化について検討した。まず、蒸留の際に硫酸を加えた場合の回収率は、5 mlの添加により最大となり、C₁₅、C₁₆を除き80%以上に向上した。また、蒸留時間と回収率との関係では、蒸留時間を長くするにつれて回収率は増大し、8時間では低いものでも64%、その他は殆んど80%以上の回収率を示したが、蒸留時間を8時間以上に延長しても回収率の向上はみられなかった。捕集溶媒量と回収率との関係では、溶媒量は増加するにつれて回収率は増大し、表1に示すように8~10 mlではほぼ一定となり、10 mlでは平均83.7%の回収率を得た。蒸留速度と回収率との関係では、蒸留速度が速いほど回収量は高かったが、2.3~3.5 ml/min.ではほぼ安定した値を得た。試料採取量と回収率との関係では、試料採取量5 gから20 gまでの間では、試料採取量は少ないほど回収率は高く5 gの場合、平均80%以上の回収量を得た。

3. 添加回収率の再現性

同一の試料を用いて行なった、C₁₅~C₂₅ までのn-パラフィンについての5回の添加回収実験の結果は、表2に示すとおりである。平均回収率はC₁₅ および C₁₆ ではそれぞれ64.4%と78.4%であったが、他のものは85.4%~88.8%の範囲にあった。また、変動係数はC₁₅ で8.5%、C₁₆ では

6.4%であったが、C₁₇~C₂₅ では1.4%~3.5%の範囲にあった。

ま と め

魚介類中のn-パラフィン分析の前処理を、精油定量器(局方)によって行なう場合の条件について検討した。精油定量器を用い、試料5 gに水100 mlと硫酸5 mlを加え、捕集溶媒としてn-ヘキサン10 mlを入れて8時間蒸留し、抽出液をシリカゲルカラムでクリンアップする。試料に添加したC₁₅~C₂₅ までのn-パラフィンの回収率の平均は84.8%であった。C₁₅とC₁₆のn-パラフィンの回収率が特に低かったのは、蒸留又は濃縮操作中に揮散することによるものと考えられるので、充分注意して操作する必要がある。本法は蒸留に比較的長い時間を要するが、その反面、抽出のための操作は容易であり人手を要せず、抽出溶媒の使用量が少なくすむという利点がある。

なお、本研究の要旨は日本食品衛生学会第34回学術講演会(1977年10月、岐阜)において発表した。

文 献

- 丸山ら(1977), 食衛誌, 18:244
同上(1977) 食衛誌, 18:288

〔 研究報告 〕

チアミンの分解におよぼす亜硝酸ナトリウムの影響

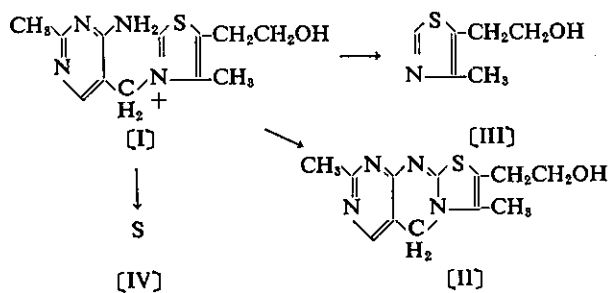
彼 谷 邦 光

近年，亜硝酸ナトリウムによってチアミン (I) が分解することが知られるようになったが，分解生成物の構造については明らかにされていない。そこで，亜硝酸ナトリウムとチアミンをハムやソーセージの製造工程中のクッキングの条件 (75 °C, 60 分間) で加熱し，その分解生成物の構造を検討した。

亜硝酸ナトリウムを含んだチアミン溶液を 75 °C で 60 分間加熱した時，単体イオウ (IV) と 4-メチル-5-(β-ヒドロキシエチル)チアゾール (III) の生成を確認し，チオクローム (II) の生成を推定した。一方，チアミンだけを加熱した場合

は，4-メチル-5-(β-ヒドロキシエチル)チアゾールが主生成物であり，単体イオウやチオクロームは生成しなかつた。これらのことから，単体イオウとチオクロームは亜硝酸ナトリウムの影響により生成したものと結論できる。

本論文の詳細は *Agri. Biol. Chem.* , 41 (10) 2055~2058 (1977) に “Effect of Sodium Nitrite on the Destruction of Thiamine ” として発表した。



〔 研究報告 〕

マロンアルデヒドと尿素との反応から 3,4-ジヒドロ-
2-ヒドロキシ-4-ウレイドピリミジンの生成

彼 谷 邦 光

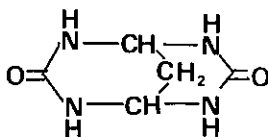
マロンアルデヒドは高度不飽和脂肪酸の酸化によって生成するジアルデヒドである。また、尿素は食品に含まれている化合物である。マロンアルデヒドと尿素との反応生成物については1949年以来研究されてきたが、生成物の構造については結論を得ていない。マロンアルデヒドと尿素との反応で得られる $C_5H_8N_4O_2$ の化合物の構造は3,4-ジヒドロ-2-ヒドロキシ-4-ウレイドピリミジン(I)か、2,4,6,8-テトラアザビシクロ[3,3,1]ノナ-3,7-ジオン(II)

のどちらかであると考えられていた。本報では本化合物の硝酸および塩酸による加水分解物が共に2-(1H)-ピリミジノン(III)をあたえることおよび本化合物のIRとMSスペクトルから、この化合物は(II)ではなく、(I)であると決定した。

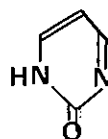
本論文の詳細はAgri. Biol. Chem., 42 (1) 171~172 (1978)に“Formation of 3,4-Dihydro-2-hydroxy-4-ureido Pyrimidine from Malonaldehyde and Urea”として発表した。



(I)



(II)



(III)

〔研究報告〕 コレステロールの熱分解によるナフタレン
と3,4-ベンゾピレンの生成について

彼谷邦光・小林 寛

目 的

魚肉や畜肉を加熱処理することによって多核芳香族炭化水素が生成することが知られている。山崎ら(1977)はこれらの多核芳香族炭化水素は主としてアセトン可溶性の脂質から生成すると述べている。そこで我々はアセトン可溶性脂質画分中のコレステロールを取りあげ、コレステロールの熱分解によって生成する多核芳香族炭化水素を高速液体クロマトグラフを用いて検索した。

方 法

コレステロールを電気炉中で加熱して熱分解させた。このコレステロールの熱分解生成物をシクロヘキサンで抽出し、これをケイ酸カラムで分画して多核芳香族炭化水素画分を分取し、この画分を高速液体クロマトグラフィーの試料とした。高速液体クロマトグラフはShimadzu-Du Pont LC-1を用い、カラムはZorbax ODSを用いた。検出器

にはShimadzu SPD-1分光光度計とJASCO-FP-4蛍光分光光度計を直列に連結して用いた。

結 果

コレステロールを400℃で10分間加熱した場合には多核芳香族炭化水素の生成が認められなかった。

コレステロールを400℃で30分間加熱した場合にはナフタレンの生成が認められた。コレステロールを400℃で10分間加熱した後、空気中で30秒間燃焼させた場合にはナフタレンと3,4-ベンゾピレンの生成が認められた。しかし、他の多核芳香族炭化水素については分離同定できなかった。

文 献

山崎ら(1977), 食衛誌, 18:368.

本内容は日本農芸化学会53年度大会で発表した。

〔資料〕

チヨウセンアサガオによる食中毒事件について

水上英一* 彼谷邦光* 小林 寛*

児玉博英** 中島一正*** 牛島賢三***

はじめに

自然毒による食中毒は全国的にみて発件数は少ないが死亡率が高いため充分注意することが必要である。自然毒による食中毒のうちで、チヨウセンアサガオの根をゴボウと間違えて食べたことによるものは、ここ数年のうちに愛知、群馬、香川の各県下で発生したことがある(河隈ら, 1971, 樋口ら, 1973, 武田ら, 1977)。昭和52年12月には県下でも初めてと思われる、同じような食中毒事件が発生し、その際我々は原因物質を究明するための仕事に携わり若干の知見を得たので報告する。

食中毒事件の概要

昭和52年12月22日富山県中新川郡T町のY氏宅で18時頃から19時半にわたり家族7名が夕食をとり、約30～60分後から全員が神経症状を呈した(上市保健所, 1978)。すなわち口渇、めまい、意識障害、尿閉、瞳孔散大、不穏、舞踏病様運動、うわごと、不順序の談話、せん妄、幻覚症状などであった。発熱、腹痛、下痢症状はなかったが、全員が吐気を催し、1名が1回の嘔吐をした。患者は男子3名(28才, 49才, 70才)、女子4名(22才, 50才, 64才, 90才)で、比較的軽症であった90才の女子を除く6名が、往診した付近の医師の手当を受けたのち、深夜に救急車で運ばれ富山市民病院五福分院に入院した(入院した患者はその後回復して、26日と27日に3名ずつ退院した)。往診した医師からは上市保健所へ、また患者が入院した病院の医師からは富山保健所へ、いずれも23日午前中に食中毒らしいとの届け出があり、時を移さず上市保健所からは食品衛生監視員が患者宅へ急行し、家に残っていた患者から前日の食事の献立を聞くなどの調査を開始した。更に入院患者については富山保健所とも連絡をとり、情報の収集に努力した。

23日午後、この事件について検査の依頼を受けな県衛生研究所では患者の症状がかって群馬県下な

どで起きた、チヨウセンアサガオによる食中毒の際の症状にきわめて良く似ており、しかも22日の夕食の献立の中に、ゴボウと鶏肉、とうふ、ねぎ、馬鈴薯などを用いたとり鍋があったことから、チヨウセンアサガオの根をゴボウと間違えて食べたのではないかとの疑いを持った。そこで上市保健所へ連絡して、台所の調理くずの中からゴボウ又はゴボウ類似品の切れはしの発見に努めるよう依頼したところ、運よくそれらしき物(検体A)が発見された。またこれとは別に、患者の裏庭の土中に越冬用として埋められていたゴボウを掘り起したところゴボウにまじって、やはりゴボウによく似た物(検体B)が発見され、これら検体A, Bは翌24日衛生研究所へ搬入された。

検査材料及び方法

I. 検査材料 検体Aは直径約0.8cm, 長さ約12cm, 検体Bは直径約1.5～2cm, 長さ約10～15cm, 直径約2.5～3cm, 長さ約15cmのもの等であった。

II. 各種検査 検体Aは少量だったので、外観の観察、臭味検査、検鏡、抽出アルカロイドの呈色反応、沈殿反応を行い、検体Bについてはこれらの他に、下記の検査項目3, 4及び5も行った。

1. 抽出アルカロイドの呈色反応 第九改正日本薬局方(日本公定書協会, 1976)「ロートコン」の確認試験Iに準じて実施した。

2. 抽出アルカロイドの沈殿反応 上記の方法による抽出物の一部を希硫酸に溶解して1mg/mlの溶液とし、この1mlに硝酸酸性5%リンモリブデン酸水溶液2滴を加え沈殿生成の有無を観察した。別にドラーゲンドルフ試薬(1.7%次硝酸ビスマスの20%酢酸溶液20mlと4.0%ヨウ化カリウム水溶液5mlの混液)を加え同様にを行った。

別に検体B100gを均質化しエタノール200mlで予備抽出し、50°Cで乾燥後、上記の「ロートコン」の定量法に準じて抽出し、この抽出物を以

* 化学部

** 細菌部

*** 上市保健所

下の検査項目 3, 4 及び 5 に用いた。

3. 総アルカロイドの定量 「ロートコン」の定量法に準じてヒヨスチアミンとしての総アルカロイド量を求めた。

4. 抽出アルカロイドのマウスへの経口投与と静注 抽出アルカロイドを 0.1 N 硫酸に溶解し中和後 1.0 mg/ml の溶液とした。別にアトロピン (以下 A と略記, 硫酸塩使用) 及びスコボラミン (以下 S と略記, 臭化水素酸塩使用) の各 1, 2, 20, 及び 100 mg/ml 液を調製した。これら溶液の各 0.5 ml ずつを, 各濃度液につき 1 匹又は 2 匹の d d Y 系雄成熟マウス (体重 30~33 g) に経口投与し観察した。同様に抽出アルカロイド, A 及び S の 7.5, 15, 22.5 mg/ml の溶液を調製し, これら溶液の 0.2 ml を各濃度液につき 1 匹ずつの前記のマウスに静注して観察し, また最少致死量を推定した。

5. 抽出アルカロイドの人への点眼 検体 B 1 g を細切しエタノール 2 ml で抽出, ろ過後, ろ液 1 ml を蒸発乾固し蒸留水 0.5 ml に溶解し抽出液を調製し,

表 1. 沈 殿 反 応

	アトロピン 1 mg	スコボラミン 1 mg	検 体 A 1 mg	検 体 B 1 mg	盲 検
リンモリブデン 酸 試 薬	淡黄色沈殿 多量	同 左	淡黄白色沈殿 多量	同 左	淡黄色 透明液
ド ラ ー ゲ ン ド ル フ 試 薬	橙色沈殿	同 左	橙白色沈殿	同 左	黄色 透明液

4. 総アルカロイドの定量 検体 B 20 g から抽出したアルカロイドをエタノール 1 ml に溶解し, 0.02 N 硫酸 20 ml を加え, 0.02 N 水酸化ナトリウム液で滴定した結果, ヒヨスチアミンとして 30.3 mg の値を得たので, 含量は 0.15% (湿重量当り) であった。

5. マウスへの投与実験結果 抽出アルカロイド 5 mg の経口投与では, 1 例において投与直後から活発に動き, 5 分後では外部刺激に敏感に反応し始め, また他の 1 例は投与後 30 秒で紙片にかみつくといい攻撃的態度を示し, 外部刺激にも敏感に反応したが, 2 匹とも約 4 時間後には回復したようであった。A の 0.5, 1 mg では投与後あまり動かなかったが刺激には敏感であり, 約 3 時間後には回復したよ

その 0.08 ml (総アルカロイドとして約 0.1 mg 相当) を 50 才の男子の右眼に滴下し観察した。

結 果

1. 外観・臭味 検体 A, B の外観は淡茶色で, ゴボウの褐色より淡色でやや異った色調であり, 横断面は淡黄色~淡紅色で透明さを有し, ゴボウよりみずみずしかった。臭はやや青くさく, 味は初め僅かに甘味を感じその直後に強い苦味を感じた。このように外観, 臭味に両者はゴボウと僅かな差異を示した。

2. 顕微鏡所見 検体 A, B の断面にデンプン粒及びナス科植物にみられる蓚酸カルシウムの砂晶を認めた。

3. 呈色反応及び沈殿反応 検体 A, B をアンモニアアルカリ性下エーテルで抽出し, 酸, アルカリ性で転溶して得た両者のアルカロイドは, ビタリール反応によりそれぞれ濃紫色を呈し, トロパンアルカロイドの存在を示した。また沈殿試薬により表 1 のような沈殿を生成した。

うであった。10 mg では投与後から, おが屑を掘り起して潜行したり, はい廻るなど非常に落着きのない行動が目立ち, 外部からの刺激には敏感に反応するという状態が 6 時間も継続した。50 mg では投与直後から全身にけいれんが起り 1 分後にはへい死した。S の 0.5, 1 mg では投与後 20 分間位は活発に活動しやがて静止したが, 外部刺激には敏感に反応して, 2 時間後には回復したようであった。10 mg では投与後 10 分間位は非常に活発に動きやがて静止したが, 刺激にはやはり敏感に反応し, 7 時間半後もこの状態を示した。50 mg では投与後 3 分間でけいれんしへい死した。

一方静注の場合, 抽出アルカロイドの 1.5 mg では投与 2 分間後には呼吸ひっ迫, けいれん, 直線的な

行動を示したが約4時間後にはほぼ回復した。3mgでは30秒後からけいれんをおこし、1分後にへい死、4.5mgではけいれんし45秒後にへい死した。この結果から最少致死量は1.5~3.0mg/30gと推定された。同様にAでは1.5~3.0mg/30g, Sではやや高く3.0~4.5mg/30gであった。

6. 人への点眼結果 点眼10分後から瞳孔は次第に散大し、その後少くとも約24時間にわたって瞳孔散大作用が認められた。

考 察

今回の原因植物はDatura属の一種であろうと推定されるが、この属にはシロバナヨウシュチヨウセンアサガオD. Stramonium L., ヨウシュチヨウセンアサガオD. Tatura L. などがあり、根茎のみでの検体の鑑定は困難で花、葉、種子など総合的な鑑定のため引き続き検討中である。

この根茎の総アルカロイド含量は湿重量当り0.15%であったが、水分含量80%とすれば乾燥重量当り0.75%となる。Datura属の根茎のアルカロイド含量については柴田ら(1953, 1954)がD. Tatura L. を播種後施肥して約3ヵ月後に採集したものの乾燥品で0.225%, ケチヨウセンアサガオD. Metol L. では0.661%, アメリカチヨウセンアサガオD. meteloides では0.613%, またIkramら(1964)はD. a-1baの根茎の乾燥品で0.188%と報告している。これらの報告はDatura属の含量は種類、地質、生育度により差異があることを示しているが、これらと比較すれば今回の検体の含量は比較的高かったといえよう。

樋口ら(1973)はd.d.N系雄成熟マウスにヨウシュチヨウセンアサガオの根茎抽出液を経口投与し瞳孔散大、外部からの刺激に対し敏感かつ攻撃的となり、けいれんを示すことを認めているが、我々の経口投与では敏感な反応、けいれんは認められたが、マウスにおける瞳孔散大を確認することは出来なかった。しかし人への点眼により瞳孔散大を確認した。

また今回の食中毒では、上市保健所(1978)の報告によればチヨウセンアサガオの根を患者1人平均約10gを摂取したと推定され、総アルカロイド含量0.15%の定量値を得ていることから計算す

ると、1人当り約15mgのアルカロイドを摂取して前記の症状を呈したことになる。この量は山村ら(1964)が述べているAの中毒量10~60mgにはほぼ相当し、致死量ともいわれている70~80mgに達しなかったのは不幸中の幸いであった。

ま と め

1. 昭和52年12月末富山県中新川郡T町で発生したゴボウ類似植物の誤食による食中毒事件にあたり、原因食品は外観、臭味、検鏡及び抽出物についてのアルカロイドの呈色及び沈殿反応などから、Datura属の根茎と推定された。

2. この根茎から抽出したアルカロイドにつき呈色反応、沈殿反応を行ったところ、アトロピン、スコポラミンなどのトロパンアルカロイドを検出し、総アルカロイド量は湿重量当りで0.15%であった。

3. 抽出アルカロイドのマウスへの経口投与により神経症状を認めた。また静注による最少致死量は1.5~3.0mg/30gであった。

4. 人への点眼により瞳孔散大作用を認めた。

5. 以上より、ゴボウ類似植物はDatura属の根茎で、含まれていたトロパンアルカロイドにより食中毒が発生したことを確認した。

文 献

Ikram M., et al (1964), Anal. Chem. 36(1): 111.

樋口洋一朗ら(1973), 群馬衛研年報, 5: 183.

上市保健所(1978), チヨウセンアサガオによる食中毒詳報。

河隈孝之ら(1971), 食品衛生研究, 21(7): 747.

日本公定書協会(1976), 第九改正日本薬局方解説書: D-958, 広川書店。

柴田承二ら(1953), 薬誌, 73(8): 797.

柴田承二ら(1954), 同上誌, 74(8): 862.

武田啓一ら(1977), 昭和52年度全国食監研修会研究発表抄録, 213.

山村醇一ら(1964), 裁判化学および実験書, 161, 広川書店。

尿中総アミノ酸の正常値について

城石和子, 島田外美枝, 西野治身, 渡辺正男

目 的

イタイイタイ病患者や要観察者では, 尿中にアミノ酸が増加することは, 既によく知られており, 従来から蛋白や糖とともにカドミウム汚染に伴う生体影響の指標の一つとして用いられてきた。また, 昭和51年に改正されたカドミウム環境汚染地域住民健康調査方式においては, 尿中総アミノ酸がスクリーニングの検査項目として取り上げられている。そこで, この尿中総アミノ酸を正しく評価し, 汚染地域におけるカドミウムの影響の実態を把握するため, 尿中総アミノ酸濃度の正常値について検討するとともに, イタイイタイ病患者や要観察者等との比較を行った。

方 法

対象者はカドミウム汚染がないと考えられる県内の一地区に居住する20才以上の女子211名, および, 老人ホームの女子59名で, 前者は早朝尿, 後者は昼のスポット尿を用いた。また, イタイイタイ病発生地域に居住する女子258名, イタイイタイ病患者53名, および, 要観察者102名については早朝尿を用いた。各グループの年令別対象者数を表1に示した。

表1 年令別対象者数

年 令	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	70~79	80~
非汚染地域住民	32	31	39	47	48	19	—
老人ホーム	—	—	—	—	15	34	10
イ病発生地域住民	10	9	8	111	80	35	—
イタイイタイ病患者	—	—	—	5	11	32	5
イタイイタイ病要観察者	—	—	1	7	35	50	9

測定方法はTNBS法を用い福島らの方法に従った。非汚染者の1部については, 日立084型液体クロマトグラフを用いてアミノ酸分画を行った。

結果および考察

結果を表2に示す。尿中総アミノ酸濃度は対数正規分布型であり, 平均値はすべて幾何平均値を用いた。非汚染地域住民では, 若令層が高く, 30才台を頂点として低下の傾向にあるが, 50才以上では

表2 尿中総アミノ酸排泄量

年 令	対 象 者 数	アミノ酸 測定値(Nmg/dl)			アミノ酸 クレアチニン 補正值(Nmg/g cr (mg/dl))			クレア チニン (mg/dl)	
		平均値	2SD	2SD	平均値	2SD	2SD		
			下限	上限		下限	上限		
非汚染地域住民	20~29	32	17.9	5.7	56.5	160	85	300	123
	30~39	31	19.1	8.1	45.0	187	97	360	110
	40~49	39	15.2	5.1	45.2	135	77	235	128
	50~59	47	11.8	4.1	33.9	142	75	269	95
	60~69	48	11.4	4.1	31.7	150	96	234	85
老人ホーム	60~69	15	8.9	4.8	16.7	158	90	274	61
	70~79	34	8.7	4.2	17.9	171	99	294	55
	80~89	10	8.7	3.8	18.4	170	119	243	52
イ病発生地域住民	20~29	10	11.2	3.9	31.9	146	91	233	90
	30~39	9	17.4	7.3	41.2	185	91	375	99
	40~49	8	13.9	5.1	38.0	145	65	320	101
	50~59	111	13.7	4.8	38.7	218	82	576	72
	60~69	80	13.2	4.8	36.6	257	89	745	58
70~79	35	13.0	4.2	39.9	270	97	750	54	
要観察者	46~85	102	20.3	8.5	48.6	446	169	1175	49
	47~87	54	21.3	8.4	54.0	575	216	1526	41

アミノ酸:幾何平均 クレアチニン:算術平均

殆んど年令差はみられなかった。この傾向は老人ホームの人達についても同様であった。しかし, 何れもバラツキは大きく, 特に, 非汚染地域住民では2標準偏差上限が30mg/dl以上を示した。カドミウム汚染地域における健康調査のスクリーニングレベルは28mg/dlとされているが, 今回の調査から非汚染者においてもこのレベルを上廻るものが多いことが判明した。

尿の定量値を評価する場合に, 尿の濃度を考慮する必要があり, これまでクレアチニン濃度による補正が一般によく利用されてきた。そこで, 尿中クレ

* 滝谷病院

アチニンと総アミノ酸との関係について検討を行ったところ、相関係数は0.740と高い相関を示した(図1)。このことは、クレアチニンによる補正がアミノ酸のバラツキを小さくする上で、かなり効果のあることを推定させるものである。表2にクレアチニン補正值を示したが、非汚染地域住民では若令層に比べ高令層が低く、未補正值と同じ傾向を示した。50才以上の平均値は148 Nmg/gCr, 2標準偏差上限は262 Nmg/gCrであった。

老人ホームの尿ではスポット尿であるため、未補正值では非汚染地域に比べ低値であったが、補正後はほぼ同じレベルに達した。

一方、イタイイタイ病発症地域住民の平均値、標準偏差は、未補正の場合、非汚染地域と殆んど同じであり、加齢に伴う変化においても同じ傾向を示した(表2)。しかし、クレアチニン補正の結果、その値は非汚染者に比べて大となり、図2の度数分布ではかなり高濃度側へ移行した。また、年令層別

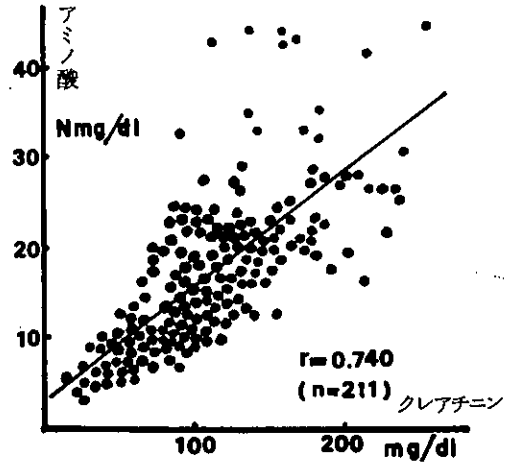


図1 非汚染地域住民の尿中総アミノ酸とクレアチニン

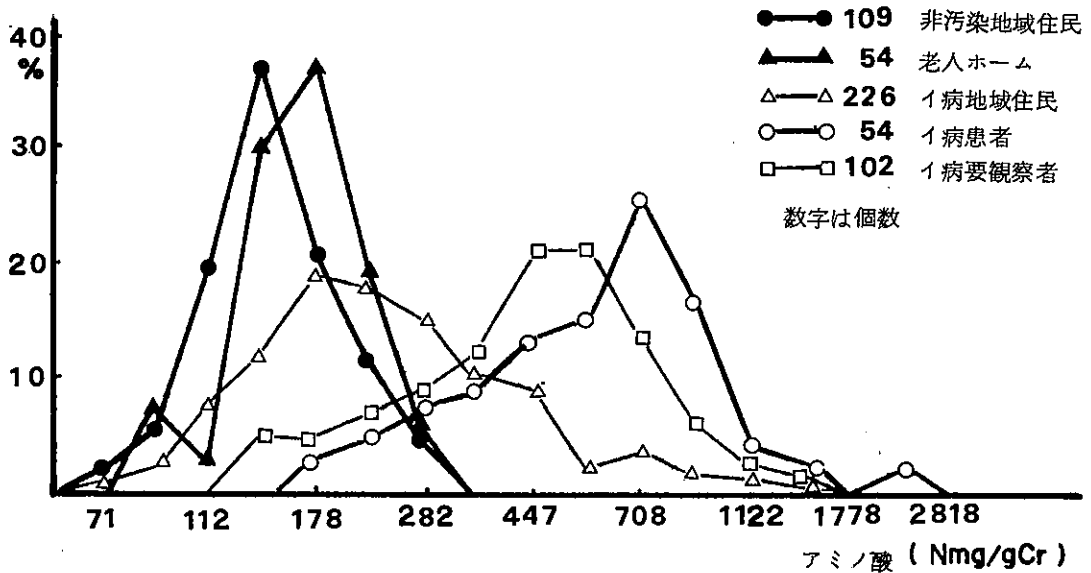


図2 尿中総アミノ酸排泄量の分布

にみると若令層では非汚染者と同一傾向を示しているが、50才台から急激に増加し、その後、徐々に上昇している(図8)。

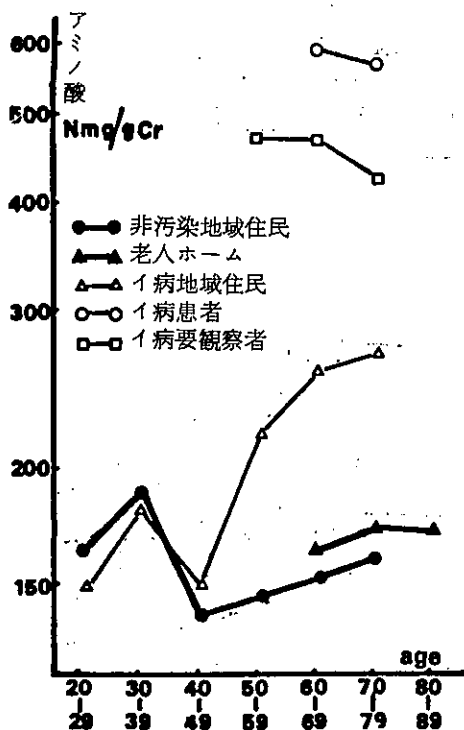


図8 年齢層別尿中アミノ酸排泄量

イタイタイ病患者や要観察者では、未補正值でもすでに高い値を示すが、さらに補正することにより、非汚染者より、はるかに大きな数値が得られた(図2, 3)。患者や要観察者では尿中クレアチン濃度が一般に低く(表2)、逆にアミノ酸は増加していることから、両者の相関は低く、患者では0.471, 要観察者では0.341であった。また、イタイタイ病発症地域住民でも0.411と同様に低値を示している。従って、クレアチニン補正を行っても非汚染者にみられるほど、バラツキを小さくする

ことは期待できない。むしろ、補正後にみられたアミノ酸レベルの違いは、クレアチニン濃度の違いにより生じた結果であると考えられ、アミノ酸自身の僅かの差をより拡大しているにすぎない。従って、補正值からアミノ酸の排泄量を評価する場合には、この点を充分考慮する必要がある。

汚染地域における健康調査の目的は異常者の発見であり、できる限り異常者の見落としのないものであることは勿論、その後の精密検診を有利に進めるためにできるだけ異常でない人を除くことが大切なことは今さら言うまでもない。その意味で、尿中総アミノ酸の場合は、未補正值を用いると、異常者の見落としと、異常でない者を余分に拾い上げる可能性がある。一方、補正值を用いると異常者の場合は、数値を実質以上に大きくするきらいはあるが、正常者のバラツキを押さえ、両者のふるいわけが比較的容易になる。以上のことからを勘案して、健康調査におけるスクリーニングにおいては、クレアチニン補正值を用いる方が、より目的にかなうものと考えられる。

以上は総アミノ酸の正常域について述べてきたがこれらの尿が、いかなるアミノ酸によって構成されているかを調べるため液体クロマトグラフによりアミノ酸の分画を行った。

表3は、総アミノ酸濃度の低い尿と、比較的高い尿についての分画百分率である。濃度の高いものでは、ほとんどのアミノ酸が一樣に増加しているため、百分率では濃度の低いものとほぼ同じ傾向を示している。ただ、グリシン、βアミノイソ酪酸が総アミノ酸の増加に比し著しく増加していた。

表4は、40才台、70才台各々の平均値である。40才台では総アミノ酸が21.7, 30.6 mg/dlと比較的高い濃度のものであり70才台では5.3~17.8 mg/dlの範囲にある。いずれもよく似たパターンを示し、グリシンが最も多く次いでタウリン、ヒ

表3 総アミノ酸濃度とアミノ酸分画(%)

年齢	総アミノ酸 mg/dl*	Tau	Thr	Ser	Asn	Gln	Gly	Ala	Tyr	β-AIBA	I-Me His	His	Lys
24	4.5	20.0	3.6	7.2	2.1	11.9	4.6	11.9	3.6	2.6	1.0	18.0	2.6
21	24.3	16.1	2.1	5.4	1.3	5.7	31.1	6.2	0.9	14.6	1.2	9.3	1.7

* 総アミノ酸: TNBS法による。

表4 年齢層別尿中アミノ酸分画(%)

年齢	n	Tau	Thr	Ser	Asn	Gln	Gly	Ala	Tyr	β -AIBA	I-Me His	His	Lys
40~49	2	14.5	2.9	5.9	2.2	7.4	22.8	5.4	1.1	11.8	1.8	14.4	4.8
70~79	13	17.1	1.9	4.9	2.1	5.4	18.8	5.8	1.6	9.6	6.4	13.3	5.6

スチジン、 β -アミノイソ酪酸が多い。イタイイタイ病患者の特徴の一つであるSer/Thr比は、20、40才台の若令層においても、2.3、2.2であり高令層(2.8)と同じレベルであった。

若令者についての分画は例数が少ないので今後、さらに追加し、加令に伴う排泄パターンの変化について検討しなければならない。

まとめ

カドミウム非汚染地域住民について尿中総アミノ酸濃度の測定とアミノ酸分画を行い次の結果を得た。

総アミノ酸濃度は30才台が最も高く、その後低下するが、50才以上ではほとんど同じである。

50才以上では平均値11Nmg/dlで2標準偏差上限は30Nmg/dlを超えている。

クレアチニン補正值では、平均148Nmg/gcr、2標準偏差上限は262Nmg/gcrであり健康調査におけるスクリーニングには補正值を用いる方がよい。

尿中アミノ酸で最も多いのはグリシンであり、年齢に関係なく、分画百分率はほぼ同じ値である。

文 献

- 石井輝子ら(1968)臨床病理16:308
- 西野治身ら(1978)本誌:194
- 福島匡昭, 小林悦子(1974)北陸公衛学会講演集:23
- 山本昭子, 野見山一生, 菅田安男(1968)45回産衛学会講演集:348

イタイイタイ病患者の尿中排泄 アミノ酸について

西野 治身, 城石 和子, 渡辺 正男

目 的

イタイイタイ病(1病)患者の尿中には, 多量の遊離アミノ酸排泄が認められている。我々は, 患者追跡調査において, 尿におけるアミノ酸排泄パターンを検討し, 以下の結果を得たので報告する。

方 法

1病患者は, 昭和51年1月~8月に, 金沢医科大学病院と富山県立中央病院の2ヶ所で, 短期入院検査を行った53名について, 24時間尿を採集した。対照としては, 1病発生地域以外に住む70才以上の老人13名の早朝尿を集め, いずれも分析まで凍結保存した。

尿の分析にあたっては, アミコン社のダイアフロ一膜UM-2を用いて, 窒素ガス加圧のもとに前処理を行ない, クエン酸リチウム緩衝液により, 日立034型液体クロマトグラフでアミノ酸の分離定量を行った。

結果および考察

総アミノ酸を, 28種類のアミノ酸量の総和として表わすと, 患者の総アミノ酸は $4.44 \sim 44.61$ mmole/lの範囲にあり, 対照者の $1.92 \sim 7.50$ mmole/lに比し著しく高値を示すものが多く,

その分布も高濃度側に移動している(図1)。

患者と対照者の個々のアミノ酸排泄量を, 主なものについて図2に示す。患者では, タウリン(Tau), β -アミノイン酪酸(β -AIBA), 1-メチルヒスチジン(1-Me His)以外はいずれも増加していた。そのなかでグリシン(Gly)が最も多く, これは対照者でも一番多かったが, その平均値は, 3.18 ± 1.68 mmole/lと対照者の4.7倍に達した。その他患者の尿中には, グルタミン(Gln) > アラニン(Ala) > リジン(Lys) > スレオニン(Thr)の順に多く排泄され, いずれも対照者の4~12倍の高値を示した。骨代謝に関連のあるアミノ酸といわれるヒドロキシプロリン(Hyp)およびプロリン(Pro)は, 対照者では認められなかったが, 患者の大部分に検出された。しかし, 患者の4名はHyp不検出で, そのなかの2名はProも不検出であった。シトルリン(Citr)も, 対照者では検出限界(0.01 mmole/l)付近あるいは不検出であったのに比し, 患者では 0.33 ± 0.21 mmole/lと高値を示した。

個々のアミノ酸の増加を検討するため, 総アミノ酸に対する割合を求め, 表1および図3に示した。患者の尿中に最も多いGlyは平均22.4%で, 対照者の18.8%を1.0とすると, その比は1.2となり, 図2に見られるほどの大差はなくなった。これに対し, 次に量の多いGlnでは対照者の2.6倍, さらにThrでは3.1倍と著しく増大した。

Hyp, Pro, Citr, オルニチン(Orn), アルギニン(Arg)も, 総アミノ酸に占める割合の著しい増加が見られたが, これについては福島ら, 星野らの報告とよく一致している。

ThrとSerは, 患者の尿中で特徴的な存在を示した。この両アミノ酸は, 対照者の全例においてThr < Serの関係を維持しながら排泄され,

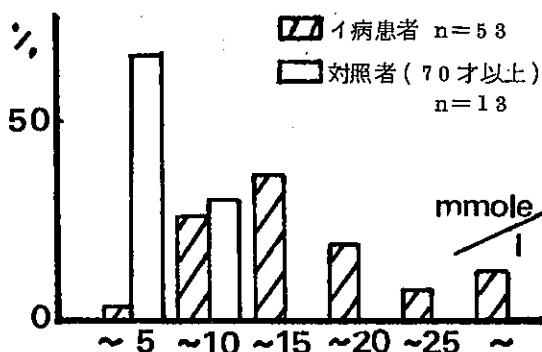


図1 尿中総アミノ酸

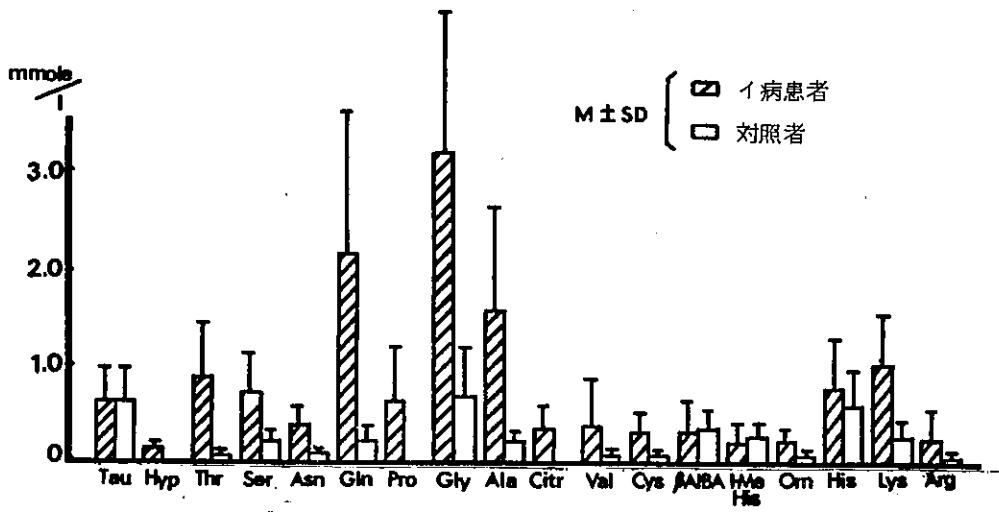


図2 尿中遊離アミノ酸

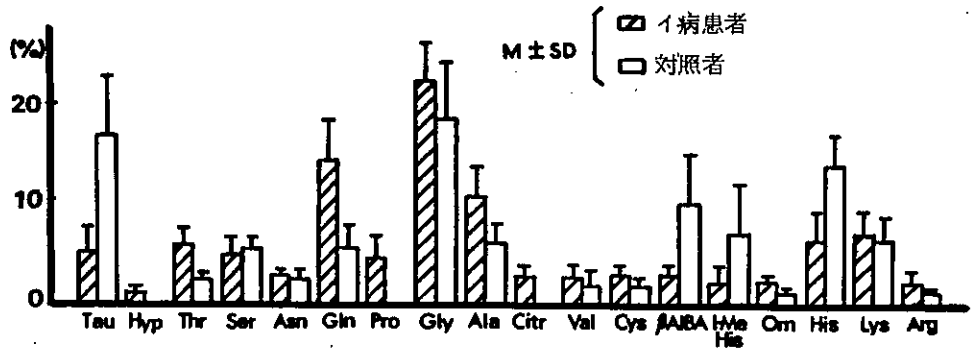


図3 遊離アミノ酸の総アミノ酸に対する割合

表1 尿中遊離アミノ酸の総アミノ酸に対する割合(%)

	患者 (n=51)			対照者 (n=13)	
	M	S D	比※	M	S D
Tau	4.8	2.9	0.3	17.1	5.3
Hyp	0.8	0.3	/	(-)	
Thr	5.8	1.7	3.1	1.9	0.5
Ser	4.5	1.9	0.9	4.9	1.5
Asn	2.5	0.7	1.2	2.1	0.9
Gln	14.8	4.0	2.6	5.4	2.0
Pro	4.2	2.1	/	(-)	
Gly	22.4	5.2	1.2*	18.8	5.8
Ala	10.5	3.0	1.7	5.8	2.0
Citr	2.3	0.8	/	(-)	
Val	2.1	1.4	1.9	1.1	1.8
Cys(half)	2.2	1.2	1.8	1.2	0.8
β -AIBA	2.3	2.6	0.2	9.6	5.3
l-MeHis	1.3	1.9	0.2	6.4	5.3
Orn	1.3	0.8	4.3	0.3	0.3
His	5.6	2.9	0.4	13.3	3.2
Lys	6.0	2.7	1.1	5.6	2.4
Arg	1.2	1.6	4.0	0.3	0.6

※ 対照者の割合を1.0とする

$\frac{Ser}{Thr}$ が 2.81 ± 0.98 ($n=13$) の値で一定していたが、患者では Thr が著しく増大するため、その80%が $Thr > Ser$ と逆の関係になり、 $\frac{Ser}{Thr}$ 比は 0.80 ± 0.33 ($n=49$) と低い値で得られた(図4)。

この結果は、Clarksonらの報告にある、カドミウム作業員の尿中に Thr と Ser の増加が著しいという結果とよく一致し、カドミウムとの関係で重要と思われるので、今後さらに検討を重ねたい。

尿細管機能とアミノ酸の関係をみるため、量の多い Gln について、Gln の総アミノ酸に対する割合(%)とリン再吸収率(%TRP)の関係を図5に示した。両者の間には有意の逆相関がみられ、Gln が10%以上認められた患者では、%TRP が80%以下を示した。同時に Gln は、リゾチームとは $r=0.392$ ($n=50$) で1%以下の危険率で有意であったが、 β_2 -ミクログロブリンとは相関がなかった。

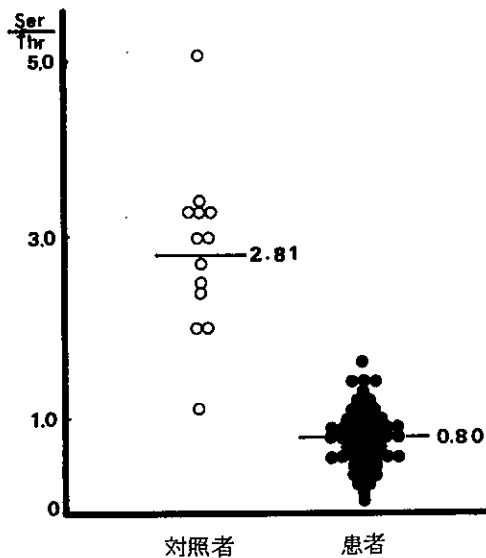


図4 患者の尿中 $\frac{Ser}{Thr}$ 比

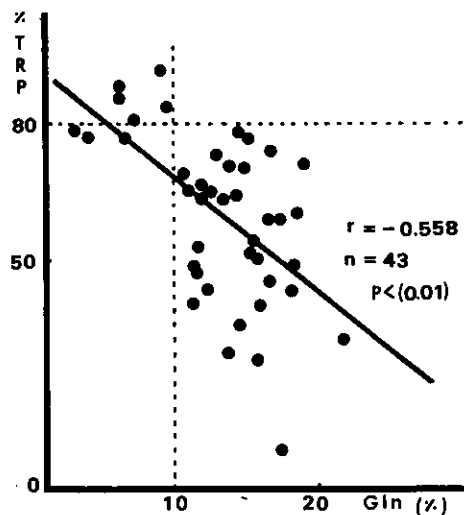


図5 患者の尿中 Gln (%) と %TRP

又、Pro の総アミノ酸に対する割合と %TRP についても、 $r=-0.568$ と1%以下の危険率で有意の逆相関を示した。

ま と め

イ病患者の尿中アミノ酸のうち、総アミノ酸の量に最も影響を与えるのはGlyであるが、総アミノ酸に占める割合としては、対照者と大差なかった。

割合が著しく増大するアミノ酸は、Gln, Thr, Hyp, Pro, Citr, Orn, Argで、これらのアミノ酸が患者の尿中アミノ酸パターンを特徴づけていると考えられる。特に患者では、Thrの増加が著しいため、ThrとSerの関係が対照者と逆のパターンを示すものが多かった。

文 献

Clarkson, T. W. et al (1956),
Biochem. J., 62; 361.

福島匡昭ら(1974), 日衛誌, 29; 498.

星野忠夫ら(1974), 環境保健レポート, 31;
97

尿中 β_2 ミクログロブリンの保存による影響

城石和子, 松永明^{*}信, 渡辺正男

目 的

イタイイタイ病患者や要観察者の尿中には蛋白が増加し、その蛋白は主として低分子蛋白からなる尿細管性のものであることはよく知られている。この蛋白の1つである β_2 ミクログロブリンは、尿管障害の指標として有用であることもすでに報告した。その後、カドミウム汚染地域住民の健康調査では、重要なスクリーニング項目として取り上げられている。そこでこの β_2 ミクログロブリンの測定を行うに際して、試料を保存することが成績にどのような影響を与えるか、また、長期保存された尿についての信頼性等について若干の検討を行ったので報告する。

方 法

測定方法は、一元免疫拡散法による定量で、抗血清はDakopatts社製、イムノプレートは自製の寒天板を、また、標準は患者尿より単離精製した β_2 ミクログロブリン(β_2 mG)を用いた。長期保存試験における採尿当時(保存0年)の測定は、ファルマシア社製キットを用いたラジオイムノアッセイによるものである。

尿は採尿後2分し、1つは氷室(5°C)、他の1つは凍結(-20°C)貯蔵した。氷室保存の尿はアジ化ナトリウムを0.1%加えた。凍結保存の尿は、検査回数に合わせて小分けし、1度解凍したものは凍結を繰り返すことなく、使用の都度新たなものを使用するようにした。

尿は感度の関係から濃度の高いイタイイタイ病要観察者の早朝尿33検体を用い、採尿の当日と以後1週間、1、4、15ヶ月の計5回測定を行った。長期保存試験に供した尿は、昭和46、48、50年に採尿したイタイイタイ病発生地域住民の尿で、昭和46年の尿は防腐剤を無添加のまま、他の尿はアジ化ナトリウムを0.01%添加し凍結保存されたものである。

結果および考察

採尿当日に測定した結果、 β_2 mG濃度は1~8.1

mg/dlの範囲にあったので、これを濃度から2>2~4, 4~6, 6<の4群に分け、各群毎の平均値について経時変化を調べた。図1にその結果を示したが、採尿当日に比べ僅かに減少の傾向にあり、

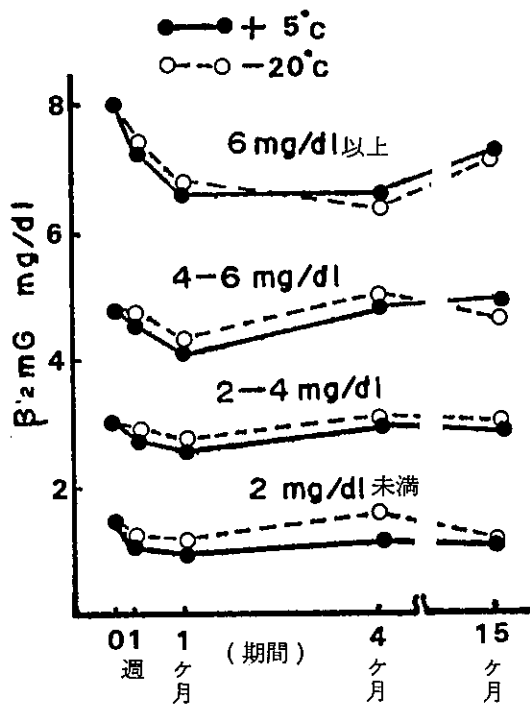


図1 保存方法の違いによる経時変化

なかでも6 mg/dl以上群の差が大きかった。それぞれの尿について、採尿当日の値とその後の値との差を求め、その群別平均値を表1に示した。最も差が大きかったのは6 mg/dl以上の群で1.7 mg/dlの減少であった。

本法の測定誤差は、数回の繰り返し実験の結果3~6 mg/dlの濃度範囲では±0.5~1であり、この点を考慮すれば、今回の減少はほとんど測定誤差範囲内の変化であった。

イタイイタイ病患者や要観察者の尿中 β_2 mGは殆

* 化学部

表1 採尿当日と各時期における測定値の差

単位: mg/dl

β_2 ミクログロブリン濃度範囲	n	保存温度	1 W	1 M	4 M	15 M
~2mg/dl	5	+5	-0.44	-0.54	-0.34	-0.10
		-20	-0.32	-0.42	-0.08	0.00
2~4	17	+5	-0.28	-0.57	-0.03	-0.17
		-20	-0.16	-0.36	+0.01	-0.06
4~6	9	+5	-0.36	-0.73	-0.07	+0.10
		-20	-0.10	-0.60	-0.03	-0.20
6~	2	+5	-0.85	-1.55	-1.40	-0.70
		-20	-0.70	-1.40	-1.70	-0.80

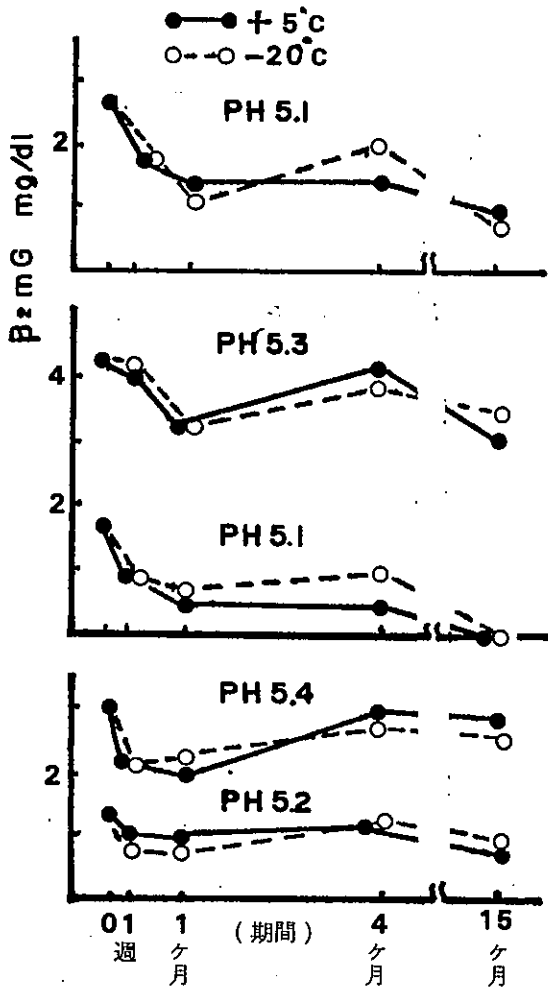


図2 弱酸性尿 (PH5.6 以下) の経時変化

んど1.0 mg/dl以下で、患者の平均値 (n=53) は3.1 mg/dl 標準偏差は1.7 mg/dl であり要観察者では平均値 (n=99) は2.6 mg/dl、標準偏差1.1 mg/dlであることから、仮りに8 mg/dlの尿で1.7 mg/dlの減少があったとしても、それは診断を誤らせるほど大きなものではないと考えられる。

33検体中PH 5.6以下の弱酸性尿は5例あり、それぞれの経時変化を図2に示した。上の3例が差の大きいもので、なかでもPH 5.1の1例では採尿当日1.7 mg/dlであったものが、15ヶ月後には検出限界以下の低濃度にまで減少した。しかし、下の2例では、ほとんど変化はみられなかった。

β_2 MGは、中性では比較的安定であり、PH 5.6以下では急激に減少するとUvrineらは報告している。今回の5例でも、2例にはほとんど変化がみられなかったが、3例に減少がみられており、測定に当っては充分注意しなければならない。

尿の保存方法による違いはみられず、PHの如何にかかわらず殆んど同じ傾向を示している (図1, 2)。カドミウム汚染地域住民の健康調査方式では、4°Cに保存し1週間以内に測定するのが望ましいとしている。しかし、本県のイタイイタイ病発症地域のように、対象者が多く試料の採集に1週間以上もかかるような場合には、どうしても或る期間保存することを余儀なくされる。しかし、氷室、或は凍結保存で1年以上経過しても実質的にその影響は僅かなものであることが判明した。

次に、長期間保存した場合の影響について検討した。表2は2年または、4年間凍結保存した尿についての結果である。試料はアツ化ナトリウムを添加後凍結した。経過0年の数値は、採尿後数ヶ月以内にラジオイムノアッセイにより測定したものである。方法による測定値の違いは、ラジオイムノアッセイと一元免疫拡散法 (SRID) の関係が、相関係数 (0.985)、回帰線 [RI=1.071 × (SRID) - 0.067] 等においてよく一致する (富山県衛生研究所年報) ことから殆んど無視してもよいものであろう。従って表2の結果は、いずれも経年変化がないものと見做され、4年後も充分測定が可能であると思われる。

そこで更に古い尿について測定を試みた。昭和46年に採尿したもので、当時はまだ β_2 MGの測定が

表2 長期保存による経年変化

単位: mg/dl

No.	保存年数			PH
	0年※	2年	4年	
1	0.3	0.4	—	6.6
2	2.4	2.3	—	6.4
3	2.9	2.5	—	6.2
4	0.5	0.4	—	6.4
5	0.1	0.1	—	6.2
6	2.9	1.6	—	6.0
7	0.6	0.5	—	6.6
8	0.4	0.4	—	6.8
9	0.3	0.3	—	7.2
10	0.9	0.9	—	6.0
11	2.8	—	3.0	6.2
12	3.9	—	4.3	6.0
13	5.2	—	6.2	6.4
14	3.7	—	4.0	6.8
15	4.7	—	4.1	5.4

- ※ 0年の測定法はラジオイムノアッセイによる
- Na₂S₂O₃添加冷凍保存尿

なされていなかったため、電気泳動像との比較を試みた。図3に採尿当時に実施した電気泳動像と、今回測定したβ₂mGの値を示した。上2段の電気泳動像は典型的な尿細管型であり、9例のβ₂-mGの平均値は3.0mg/dlであった。下段の5例は、やや蛋白が少く典型的な尿細管型とは言えないが、その平均値は1.9mg/dlであった。β₂-mGの泳動位置は泳動像のB-4の

位置(図4)にあたり、このB-4のピークの高さとβ₂mG濃度との関係について調べた。イタイイタイ病患者、要観察者、イタイイタイ病発生地域住民の尿について、それぞれ、新鮮尿による結果を比較したところ、3者とも高い相関にあり、回帰線もよく一致している(図5~7)。一方、6年間凍結保存した尿では、やや相関が低く、回帰線からもβ₂mGが低い傾向にあることが推察された(図8)。この尿は、防腐剤無添加の状態で保存されたものであり、β₂mG減少の原因としては、長期間保存されていたためとも考えられるが、あるいは、防腐剤が加えてなかったからかもしれない。また、両者が相互に影響を助長したのかもしれない。

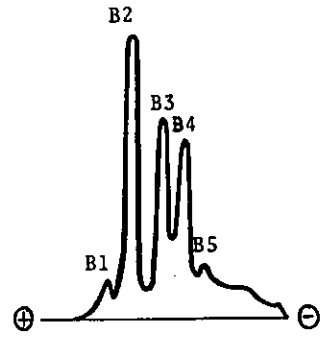
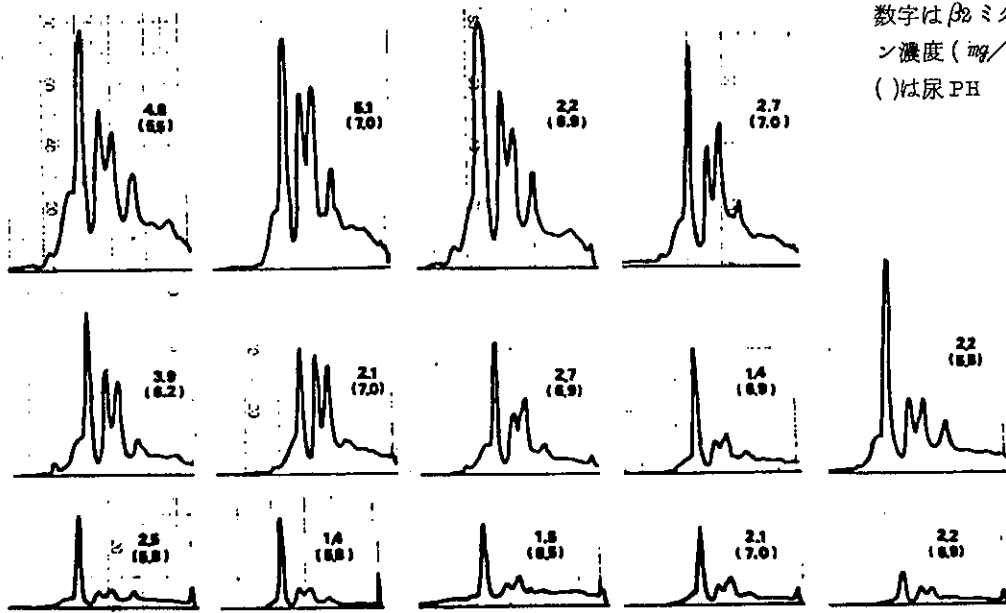


図4 イタイイタイ病患者の尿電気泳動像



防腐剤無添加凍結保存尿 昭・46採尿

図8 デイスク電気泳動像とβ₂ミクログロブリン濃度(採尿後6年)

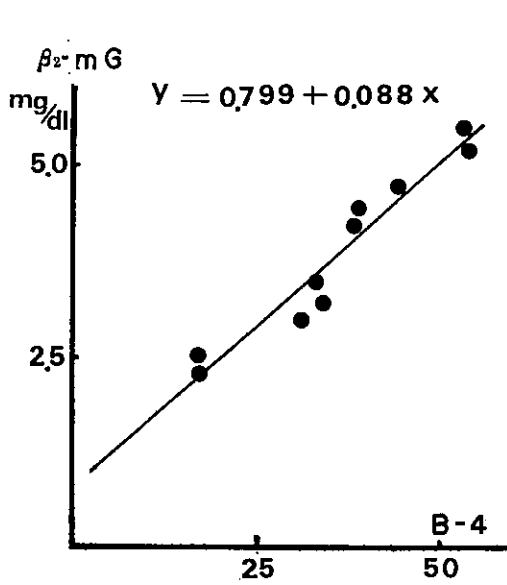


図5 イタイイタイ病患者の
 β_2 ミクログロブリンと電気泳動
像のB-4ピークの高さ

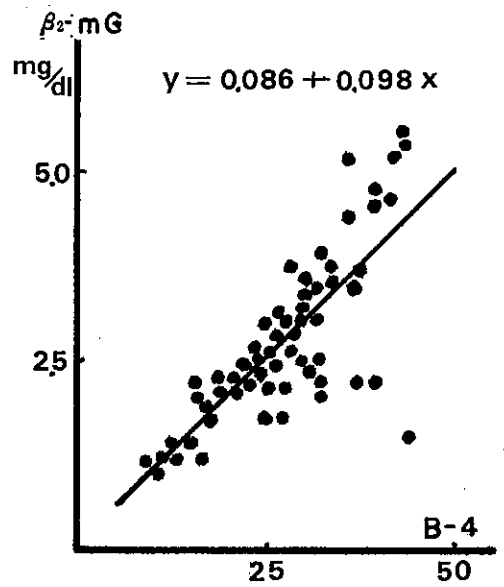
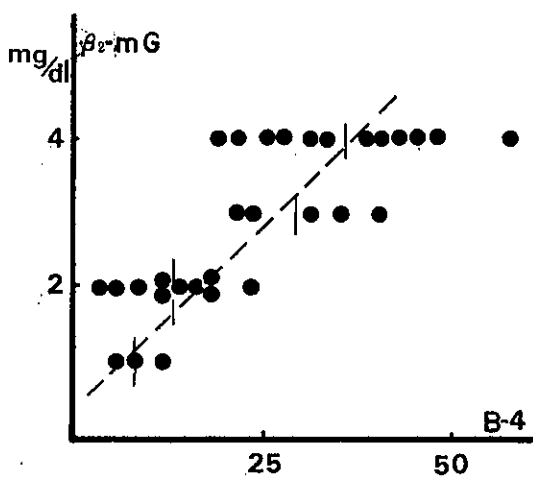


図6 イタイイタイ病要観察者の
 β_2 ミクログロブリンと電気泳動
像のB-4ピークの高さ



$\beta_2\text{mG}$: 半定量値

図7 イタイイタイ病発生地帯住民の
 β_2 ミクログロブリンと電気泳動像の
B-4ピークの高さ

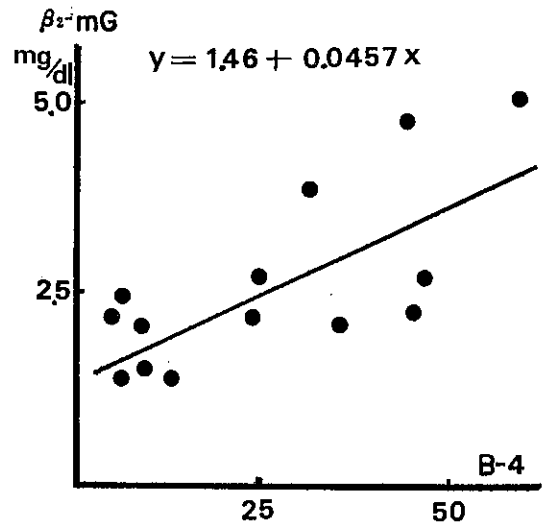


図8 長期保存後の β_2 ミクログロブリン
と電気泳動像(新鮮時)のB-4
ピークの高さ
—イタイイタイ病地域住民—

しかし、先にも述べたとおりイタイイタイ病患者や要観察者の平均値が、3.1, 1.7 mg/dlであることを考えれば、そのレベルを変える程減少したのではないと思われる。

今後、この結果をもとに、患者、あるいは地域住民の保存尿を通し、過去の状態をできる限り推察しカドミウムによる生体影響について経年変化の推定に役立てたいと考えている。

ま と め

尿中 β_2 ミクログロブリンの保存による影響について調べたの結果を得た。

保存尿は新鮮尿にくらべ低値を示すが、その差は測定誤差の程度である。

保存方法（氷室、凍結）による違いはない。

防腐剤を添加した尿では4年間の凍結保存による影響はないが、無添加で6年保存により、やゝ低値を示す。

PHの低い尿では、著しく減少する場合がある。

文 献

Evvin, P-E et al (1972)
Scand. J. Clin. Lab. Invest.
20:69

環境庁(1976)カドミウム環境汚染地域住民の健康調査方式について

大沢基保, 木村正己ら(1972)45回産衛学会講演集:350

Piscator, M., (1966) Arch.
Environ. Health. 12:385

城石和子ら(1975)日衛誌30.1:71

Shiroishi et al (1977)
Environ. Res. 13:407

富山県衛生研究所年報(1977) 昭和51年度. 151

[研究報告]

イタイイタイ病患者および要観察者の
血中カドミウム量について

岩田 隆, 城石和子, 渡辺正男

目 的

カドミウム暴露の指標として尿中カドミウム量は比較的よく用いられているが, 血中カドミウム量を用いた報告は少ない。原田, 渡辺らはカドミウム暴露を受けた人の血中カドミウム量および尿中カドミウム量との関係について報告しており, 著者らも以前にイタイイタイ病発地域住民の血中カドミウム量について報告した。今回イタイイタイ病患者, 要観察者, イタイイタイ病発地域住民の血中カドミウム量を測定するとともに尿中カドミウム量との関係についても検討した。

方 法

イ病発地域住民として尿蛋白, 尿糖, ディスク電気泳動等でスクリーニングした年令45~79才の女子(36名)を, 又対照地域住民として県内一地区の年令30~65才の女子(39名)を選んだ。患者は12名について, また, 要観察者は65名について調査した。測定法は尿についてはジチゾン・クロロホルム抽出原子吸光法で, 血液についてはジチゾン・クロロホルム抽出フレイムレス原子吸光法で行った。

結果および考察

表1は血中カドミウム量の分析結果である。平均

表1 血中Cd量

	n	M ± S. D. ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	有意差検定
イ病患者	12	1.04 ± 0.45	$P < 0.01$ } $P < 0.001$ $P < 0.05$
要観察者	65	1.59 ± 0.98	
イ病地域住民	36	2.13 ± 1.19	

値は患者で $1.04 \mu\text{g}/100\text{g}$, 要観察者で $1.59 \mu\text{g}/100\text{g}$, イ病発地域住民で $2.13 \mu\text{g}/100\text{g}$ であり, 患者の血中カドミウム量は要観察者, イ病地域住民に比べて有意に低い値を示した。

こゝでいうイ病発地域住民は検診の結果スクリーニングされ, ある程度腎障害の疑われる人たちであ

るため血中カドミウム量は一般のイ病発地域住民に比べて高い可能性も考えられる。対照地域住民

表2 対照地域住民の血中Cd量

年令	Cd $\mu\text{g}/100\text{g}$
30-34	0.35
35-39	0.71
40-44	0.51
45-49	0.81
50-54	0.41
55-59	0.66
60-64	0.56

(30~65才)を5才間隔で7群に区分し, 各群2~3人のブール血液を用いてカドミウム量を測定したところ, 表2に示すように平均値で $0.57 \mu\text{g}/100\text{g}$ であり, 患者, 要観

表3 尿中Cd量

	尿中Cd 単位	n	M ± S.D.
イ病患者	$\mu\text{g}/\text{L}$	12	8.6 ± 4.1
	$\mu\text{g}/\text{g Cr.}$	12	18.9 ± 6.6
要観察者	$\mu\text{g}/\text{L}$	65	9.9 ± 5.2
	$\mu\text{g}/\text{g Cr.}$	65	19.5 ± 10.4
イ病地域住民	$\mu\text{g}/\text{L}$	34	9.9 ± 6.1
	$\mu\text{g}/\text{g Cr.}$	32	24.8 ± 11.0
対照地域住民	$\mu\text{g}/\text{L}$	39	3.3 ± 2.0

察者, イ病発地域住民に比べて有意に低かった。

表3は尿中カドミウム量の分析結果である。平均値は患者で $8.6 \mu\text{g}/\text{L}$, 要観察者で $9.9 \mu\text{g}/\text{L}$, イ病発地域住民で $9.9 \mu\text{g}/\text{L}$ であり有意差はみられなかった。しかしいづれも対照地域住民の尿中カドミウム量 $3.3 \mu\text{g}/\text{L}$ よりも有意に高かった。従来から尿中排泄物の濃度補正には比重補正やクレアチニン補正などの方法がとられており, 著者らも尿中カドミウム量に対してクレアチニン補正を行ったが, 患者, 要観察者, イ病発地域住民の間に有意差は見られなかった。

表4, 図1は血中カドミウム量と尿中カドミウム量の関係であり患者, 要観察者, イ病発地域住民

表4 血中Cd量と尿中Cd量の相関

	尿中Cd 単位	n	r	P
I病患者	μg/l	12	0.709	<0.01
	μg/g Cr.	12	0.774	<0.01
要観察者	μg/l	65	0.475	<0.01
	μg/g Cr.	65	0.559	<0.01
I病地域住民	μg/l	34	0.662	<0.01
	μg/g Cr.	32	0.664	<0.01

ともに相関がみられた。又いずれも尿中カドミウムをクレアチンで補正した方が相関が高くなる傾向がみられた。これは尿中カドミウム量の濃度補正がクレアチンを用いることによりある程度可能であることを示していると思われる。

まとめ

I病患者、要観察者、I病発生地帯住民の血中カドミウム量を測定し以下の結果を得た。

- ① 対照者に比較していずれも高い値を示した。
- ② I病発生地帯住民>要観察者>I病患者の順に有意差がみられた。
- ③ いずれも血中カドミウム量と尿中カドミウム量の高い相関がみられた。

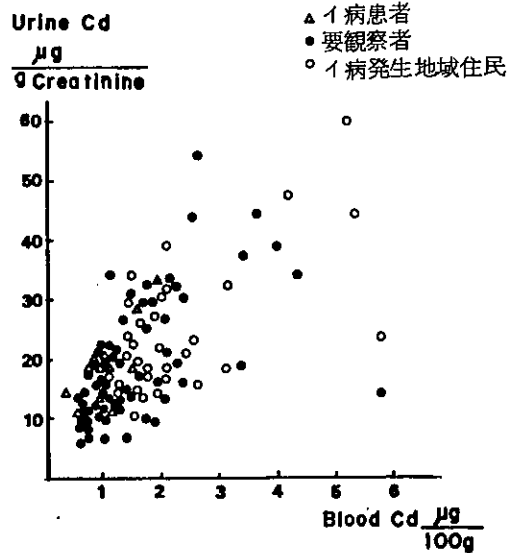


図1 血中Cd量と尿中Cd量

文献

原田章ら(1976), 環境保健レポート, 36: 48.
 渡辺弘ら(1976), 環境保健レポート, 36: 105
 岩田隆ら(1976), 日衛誌, 31: 96.

[研究報告]

Delves Cup法による尿中カドミウム の簡易測定法について

*
新村 哲夫, 島田 外美枝, 岩田 隆
城石 和子, 渡辺 正男

目 的

極微量の試料を用いて迅速簡便に重金属濃度を測定することを目的として、先に血中カドミウムについて報告した。今回は尿中カドミウム濃度の定量法について検討したので報告する。

方 法

前報と同様に、Perkin Elmer 303 型原子吸光光度計にDelves Micro-Sampling System を装着した、いわゆるDelves Cup法を用いた。光源は浜松テレビ社製ホロカソードランプを用い、D₂ Background Correctorにより補正を行った。試料は尿20 μ lを直径8mmの口紙(東洋口紙No.7)に添加し、一夜乾燥したものを用いた。この口紙片をair acetylene flame中Delves Cup中で直接燃焼させ、燃焼生成物のピークに続くカドミウム独自のピークによって測定した。検量線は、カドミウム濃度既知の尿にカドミウム標準液を添加してスタンダードを作成し、検体と同様に処理して得られるピークによった。

結果および考察

測定に用いた口紙は、カドミウム含量が本法の検

出限界以下で紙質が均一であるNo.7(東洋口紙)とし、口紙片の大きさは直径8mmとした。これは、試料をできるだけ多く採取できる様にDelves Cupの大きさに合せたものである。

検量線を図1に示す。サンプル量は、10 μ lでは感度が低めなので20 μ lないし40 μ l用いることとした。検量線はサンプル量を20 μ l用いた

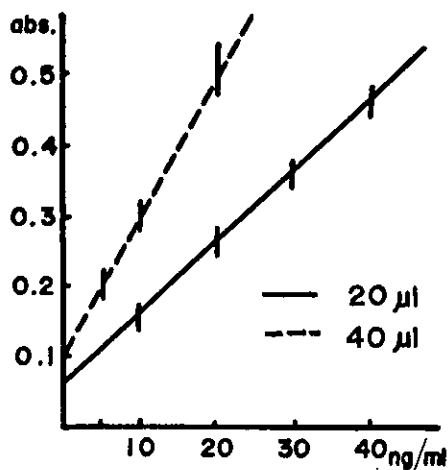


図1 検量線

表1 妨害物質の検討結果 (Cd 10 μ g/ml 添加)

検 討 物 質	塩化ナトリウム	塩化カリウム	アルブミン	糖	尿 素	カルシウム	マグネシウム	リン
添加量 μ g/l	30	10	2	10	15	1	1	1
回収率 %	101	96	95	97	103	88	82	87

表2 繰り返し測定結果 (検体量20 μ l, 単位 μ g/ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均値 \pm 標準偏差	変動係数
A	28	28	27	30	31	29	28	26	24	27.9 \pm 2.1	7.5%
B	15	15	14	15	14	12	12	12	12	13.4 \pm 1.4	10.4
C	7.1	8.8	6.2	7.1	6.8	6.4	6.8	7.0	6.7	6.99 \pm 0.74	10.6
D	1.8	1.8	0.4	3.2	2.2	2.5	1.9	1.5	0.7	1.78 \pm 0.86	48.2

* 滝谷病院

場合は40 μ g/ml, 40 μ lでは30 μ g/mlまで充分な直線性があった。

尿成分中の妨害物質の検討を行った結果を表1に示す。カドミウムを10 μ g/ml添加し、検討物質を加えた時の回収率を示したものである。タンパク質、尿素、塩化ナトリウムなどは回収率に影響を与えなかったが、カルシウム、リン、マグネシウムを添加した場合には幾分低値を示した。このこと

から、標準液としては、水溶液ではなく、カドミウム濃度の低い健常者（以下正常者と記す）の尿を用いて、カドミウム濃度が5, 10, 20, 30, 40 ng/ml 尿となる様に調製し、検量線の作成に供した。

繰り返し測定によってそのバラツキを調べた結果が表2である。種々のカドミウム濃度の検体について行ったが、5 ng/ml以上では変動係数は10%程度で血液の場合より小さい傾向であった。5 ng/ml未満の低濃度領域では、カドミウムのピークが小さく燃焼生成物によるピークとの分離状態が悪くなるため変動係数が大きくなる。これは、検体量を40 μlに増やすことによってある程度改善することができた。

カドミウムの添加回収実験（添加量10 ng/ml）を種々の検体について行った結果が表3である。高表3 添加回収実験結果（Cd 10 ng/ml添加）

No.	Cd 濃度 ng/ml	回収率	種別	クレアチニン濃度 mg/dl
1	3.5	104%	正常者	61
2	4.4	100	〃	141
3	1.4	68	〃	28
4	15	118	〃	199
5	8.8	106	1病地域住民	61
6	13	89	〃	55
7	10	97	1病要観察者	35
8	7.3	93	〃	45
9	4.2	76	1病患者	33
10	8.1	105	〃	70
11	3.5	88	〃	54
12	3.0	84	腎疾患患者	59
13	1.8	92	〃	93

濃度領域（5 ng/ml以上）では、101%（n=6）と充分満足する結果を得たが、低濃度領域（5 ng/ml未満）では87%（n=7）と幾分低い結果を得た。また正常者では回収率がよいが、イタイイタイ病（以下1病と記す）患者、腎疾患患者では幾分低いものが見られた。

ジチゾン・クロロホルム法による成績との比較を行った結果が図2である。全体として $r=0.952$ （ $n=100$ ）とよい相関を示した。正常者、1病発生地域住民では充分一致する結果を得たが、1病

患者などでは低めの傾向にあった。

1病患者や腎疾患患者で回収率が低かったり、他法との比較であまり一致しなかったが、これは患者の尿中成分が大きく正常尿と違うためではないかと考えられる。本法では、ある程度尿中の成分によって妨害をうけることを考え、スタンダードには正常尿を用いるなどその影響を少なくするよう工夫した。しかし、腎疾患患者では糸球体機能の異常から尿成分にかなりの変動があるものと考えられ、また1病患者でも尿細管障害に加えて糸球体異常のあるものが多く、同様に尿中成分が変化していることが予想されるので、それが測定になお影響を与えたのではないと思われる。その様な物質が何であるかは今後の検討課題である。

低濃度の尿では、バラツキが大きく、回収率が低い例もみられるので正確な値を、本法では期待しにくい。しかし、カドミウム汚染地域住民にみられるレベルでは充分な精度をもっているものと思われる。近年尿中カドミウムが生体側の汚染指標として重視されてきた。また、カドミウム汚染地域の健康調

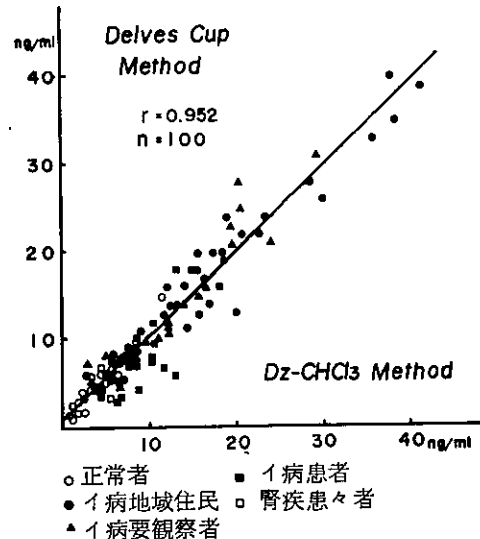


図2 ジチゾン・クロロホルム法との比較

査ではスクリーニング項目として取りあげられている。しかし、従来の測定方法は繁雑であり、多数の検体の処理には時間と経費が必要であり、そのためブール尿を用いて行なわれることが多い。だが、同じ地域住民でも個々の値はかなりのバラツキが見られることから、ブール尿では必ずしも実態を把握することができない。この様な観点から、本法は極微量の試料で迅速簡便かつ安価に測定することができ、多数の検体を処理しなければならない住民検診などの場合のスクリーニングとして十分に適用可能な方法であると考えられる。

ま と め

Delves Cup装置を装着した原子吸光度計を用い、尿中カドミウムの簡易測定法について検討した。

1) カドミウム濃度 5 ng/ml 以上では、サンプル量 $20 \mu\text{l}$ で測定可能であり、変動係数は 10% である。

2) 腎機能障害の強い尿ではやや低値を示す。

以上の結果、カドミウム汚染地域におけるスクリーニングに使用し得ると考えられる。

文 献

Delves. H. T (1970), Analyst, 95:481.

Ediyer. R. Detal (1973), At, Absorption Newslett, 12:3.

Fernandez. F, J (1973), At, Absorption Newslett 12:70.

Joselow. M. Metal (1973), At, Absorption Newslett, 12:128.

島田外美枝ら (1977), 日衛誌, 32:133.

富山県衛生研究所年報 (1977), 昭和51年度:151.

[研究報告]

カドミウム汚染の生体影響
汚染米による動物実験 (第1報)

城石和子, 山崎茂一*, 西野治身, 村瀬均**
岩田隆, 穴山道子***, 松永明信****, 新村哲夫
庄司俊雄, 高田朋子, 渡辺正男

目 的

環境汚染の1つとしてカドミウムの慢性毒性がとりあげられており, 特に富山県ではイタイタイ病の発生をみるにいたった。しかし, イタイタイ病発症のメカニズムは, なお不明の点が多く, カドミウムとの関係は主として疫学調査によるものである。最近のカドミウム汚染地域の調査によれば, 米中カドミウム濃度の高い地域では, 尿中低分子蛋白の異常値を示すものが多く, カドミウム汚染米と腎障害の関係が問題とされている。

かゝる観点から, 汚染米そのものゝ生体影響を明らかにすることが重要な課題と考えられ, 我々は, 汚染米を用いた動物実験により, その慢性毒性について検討することとした。

本調査はその予備実験として, マウスを用い, 米(非汚染米)を含む飼料で飼育したときの影響について, 生化学的, 病理学的検索を主体に調べるとともに, カドミウムの体内蓄積に及ぼす影響等についても検討したので報告する。

方 法

マウスは, B6D2F1(親雌C57BL/6, 親雄DBA/2)の雌, 雄各々50匹を4週令で購入し, 1週間観察の後5週令から実験を開始した。飼育は, 温度22±2°C, 湿度50~70%, 12時間照明のコンベンショナルな条件下で1ケージ4~5匹飼いとし, 飼料, 水(水道水)とも自由に摂取させた。

実験は雌, 雄とも2群に分け, 1群は玄米(カド

ミウム濃度0.130PPm)を添加した飼料を用いた米飼料群, 他の一群は市販の飼育用固型飼料を用いた市販飼料群とした。

玄米添加の飼料は業者に委託して調製したが, その配合割合は表1に示す通りである。

市販飼料はオリエンタル酵母製で, 両飼料の成分及びカドミウム濃度を表2に示す。

観察項目とその方法

1) 飼料, 水の摂取量

雌, 雄とも各々8匹を1匹毎の代謝ケージで飼育し, 飼料, 水の消費量を1日1回, 3日間連続記録し, その平均値を摂取量とした。

2) 体重

実験開始後10週令まで週2回, 以後週1回測定を行った。

3) 尿, 血液検査及びカドミウムの定量

検査項目と方法を表3に示す。これらの検査は, 実験開始後1ヶ月, 2ヶ月, 4ヶ月, 6ヶ月, 12ヶ月目に, 各群8~4匹を用いて行なった。測定は出来る限り微量化し, 尿中カドミウムを除いて各個体毎の資料を得るように努めた。

尿は剖検前に代謝ケージにて採取した。

血液一般検査は, 解剖時に頸動脈または前日に尾静脈より採血した。

血液臨床生化学検査及びカドミウム定量の試料は, 剖検時に得られた全採血血液(頸動脈血)ならびに臓器を用いた。

表1 玄米添加飼料配合表

原料名	白米	魚粉	ミルク カゼイン	小麦粉	大豆粉	食塩	リン酸三 カルシウム	ビタミン ヨンプレックス	計
%	7.0	1.0	5	1.0	2.7	0.3	1	1	10.0

表2 飼料成分表

	可溶性 無窒素分	粗タン パク質	粗脂肪	粗灰分	粗せんい	水分	カロリー	カドミウム
	%	%	%	%	%	%	cal/100g	P.P.m
市販飼料	51.8	24.6	5.0	7.4	4.2	7.0	350.6	0.113
米添加飼料	63.6	20.6	3.0	4.8	1.0	7.0	363.8	0.118

*細菌部 **病理部 ***中央病院

****化学部

表3 検査項目と方法

項目		方法	
尿検査	糖	定性	Paper法(テストテープ)
		定量	O.T.B法
	蛋白質	定性	Paper法(アルブステックス)
		定量	土屋-Biuret法
	低分子蛋白(リゾチーム)		Lysoplate法
	アミノ酸		TNBS法
無機リン		Fiske SubbaRow法	
カルシウム		原子吸光法	
血液一般検査		ヘマトクリット	毛細管法
		血色素	シアンメトヘモグロビン法
		赤血球	
		白血球	
血液臨床生化学検査		総蛋白質	土屋-Biuret法
		アルブミン	HABA法
		尿素窒素	ジアセチルモノオキシム法
		糖	O.T.B法
		コレステロール	O.T.A法
		アルカリフォスファターゼ	Bessey Lowry法
		無機リン	Fiske SubbaRow法
		カルシウム	原子吸光法
カドミウム定量		ジチゾン・クロホルム抽出	原子吸光法

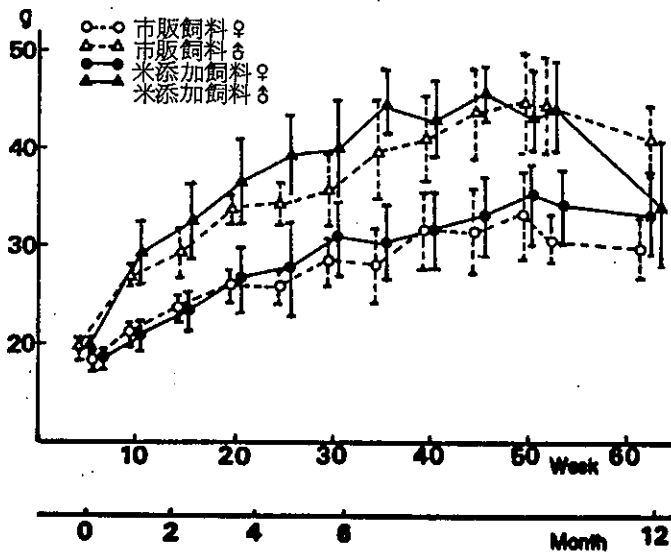


図1 体重曲線

4) 病理学的検査

血液一般検査, 臨床生化学検査と並行して経月的に病理学的検査を行なった。

剖検は, 実験開始前に雌雄各6匹, 開始以後64匹(各群雌雄4匹ずつ×4回)について行ない, 各4匹のうち2匹(計32匹)を無選択的に選び, 病理組織学的検査に用いた。

検査は次の臓器について行なった。

心臓, 肺, 脾臓, 胸腺, 一部の付属リンパ節(顎下, 腸間膜, 膝周囲等), 肝臓, 膵臓, 耳下腺, 下顎腺, 舌下腺, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 腎臓, 副腎, 生殖器(12ヶ月のみ精巣, 卵巢, 子宮), 骨(大腿骨, 胸骨)。

方法は, 型のように, Lillyの10%中性フォルマリンで固定した後, パラフィン切片とし, ヘマトキシリン・エオジン(H.E)染色を主に, 必要に応じてPAS染色, 鍍銀染色等を行なった。血液塗沫標本は, Wright-Giemsa染色によった。

結果および考察

1) 飼料, 水の摂取量

19~20週令時のマウス1匹1日当りの摂取量を表4に示す。雌, 雄と

表4 飼料と水の摂取量

		飼料(g)	水(ml)
雌	市販飼料	4.5~4.7	4.3~5.1
	米添加飼料	2.2~3.3	1.5~3.5
雄	市販飼料	4.9~5.5	3.8~5.9
	米添加飼料	3.1~4.6	2.3~3.6

もに市販飼料にくらべ米飼料では飼料, 水の摂取量は少ない。

2) 体重

5週令より61週令までの体重曲線を図1に示す。米飼料群では一般に体重のバラツキが大きい。また雄では, 10週令頃から米飼料群の方が市販飼

料群に比し、急速に増加の傾向を示したが、35週令を過ぎると殆んど増加はみられない。市販飼料群では除々に増加し、45週令で米飼料群とほぼ同じになり、以後増加はみられない。一方、雌の体重曲線は、両飼料群とも同じ傾向を示し、50週令まで除々に増加している。

3) 尿所見

検査結果を表5に示す。蛋白、糖では、定性と定量の結果は必ずしも一致していないので、測定法については、なお検討の必要があると考えられる。しかし、どの方法においても飼料による差は認められない。また、糖では雌雄差はみられなかったが、蛋

表5 尿検査結果

性	検査項目	実験開始時	市 販 飼 料					米 添 加 飼 料					
			1ヶ月目	2ヶ月目	4ヶ月目	6ヶ月目	12ヶ月目	1ヶ月目	2ヶ月目	4ヶ月目	6ヶ月目	12ヶ月目	
雌	糖	定性	(-) $\frac{3}{5}$ (±) $\frac{2}{5}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{3}{4}$ (±) $\frac{1}{4}$	—	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{2}{4}$ (±) $\frac{2}{4}$	(-) $\frac{1}{4}$ (±) $\frac{3}{4}$	(-) $\frac{2}{4}$ (±) $\frac{2}{4}$	—	(-) $\frac{4}{4}$
		定量(mg/dl)	—	43	52	46	64	96	60	62	66	86	88
	蛋白	定性	(+) $\frac{6}{6}$	(+) $\frac{2}{4}$ (H) $\frac{2}{4}$	(+) $\frac{4}{4}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{3}{4}$	(+) $\frac{4}{4}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{3}{4}$	(+) $\frac{2}{4}$ (H) $\frac{2}{4}$	(+) $\frac{3}{4}$ (H) $\frac{1}{4}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{3}{4}$	(+) $\frac{4}{4}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{3}{4}$
		定量(mg/dl)	138	384	269	271	312	438	440	258	463	357	88
	低分子蛋白 (リゾチーム)	—	(-) $\frac{3}{4}$ 痕跡 $\frac{1}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{2}{4}$ (±) $\frac{1}{4}$ (+) $\frac{1}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{3}{3}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$
	アミノ酸(Nmg/dl)	60	43	49	42	37	45	55	53	62	67	34	
	無機リン(mg/dl)	216	301	229	313	195	239	150	232	422	266	207	
カルシウム(mg/dl)	4.5	6.2	4.9	6.3	5.0	5.9	17.6	21.3	22.8	6.3	6.2		
雄	糖	定性	(-) $\frac{5}{6}$ (±) $\frac{1}{6}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	—	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{1}{4}$ (±) $\frac{3}{4}$	—	(-) $\frac{4}{4}$
		定量(mg/dl)	58	50	41	35	54	56	50	87	58	27	57
	蛋白	定性	(+) $\frac{6}{6}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{3}{4}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{2}{4}$ (H) $\frac{1}{4}$	(+) $\frac{3}{4}$ (H) $\frac{1}{4}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{2}{4}$	(+) $\frac{1}{4}$ (H) $\frac{3}{4}$	(+) $\frac{3}{4}$ (H) $\frac{1}{4}$	(+) $\frac{2}{4}$ (H) $\frac{2}{4}$	(+) $\frac{3}{4}$ (H) $\frac{1}{4}$	(+) $\frac{4}{4}$	(+) $\frac{2}{4}$ (H) $\frac{2}{4}$
		定量(mg/dl)	152	715	750	796	1055	720	1038	1103	1256	844	401
	低分子蛋白 (リゾチーム)	—	(-) $\frac{3}{4}$ 痕跡 $\frac{1}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$	(-) $\frac{4}{4}$
	アミノ酸(Nmg/dl)	34	73	37	43	49	63	61	75	46	42	44	
	無機リン(mg/dl)	187	133	255	194	160	229	163	276	344	228	177	
カルシウム(mg/dl)	6.6	4.5	2.9	2.7	4.9	5.9	11.7	15.2	14.8	8.0	9.7		

(注) 定量は各群の平均値

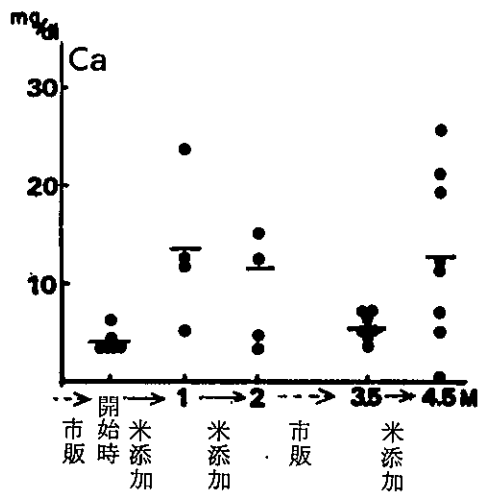


図2 飼料の変化による尿中カルシウムの推移

白では雌にくらべ雄が高値を示した。

カルシウムでは、雌雄とも市販飼料群より米飼料群が高く、リンでもカルシウム程大きな差ではないが、同様の傾向がみられた。また、リン、カルシウムとも雄より雌が高い値を示した。市販飼料と米飼料による違いを確かめるため、2ヶ月間米飼料により飼育したマウスを市販飼料にかえ、一定期間飼育の後再び米飼料にかえ、随時尿中リン及びカルシウムの測定を行った(図2, 3)。その結果カルシウムでは、市販飼料にかえることにより一時減少した尿中カルシウムは、米飼料投与後1ヶ月目に測定した時には、再び8匹中5匹にカルシウムの増加がみられ、市販飼料群と米飼料群の尿中カルシウム濃度の違いは、飼料に起因するものであることが明らかとなった。リンではカルシウムにみられるような著しい変化はないが、米飼料から市販飼料にかえて1.5ヶ月後の測定では、8匹中1匹を除いては実験開始時のレベルにまで低下した。

しかし、再び米飼料にかえて1ヶ月後に測定した結果では、わずかに上昇のきざしがみられたにすぎなかった。

表6 飼料中のCaとP

	Ca (mg/g)	P (mg/g)
市販飼料	3.2	9.1
米添加飼料	3.3	6.3

一方、両飼料中のリン、カルシウム濃度を測定したと

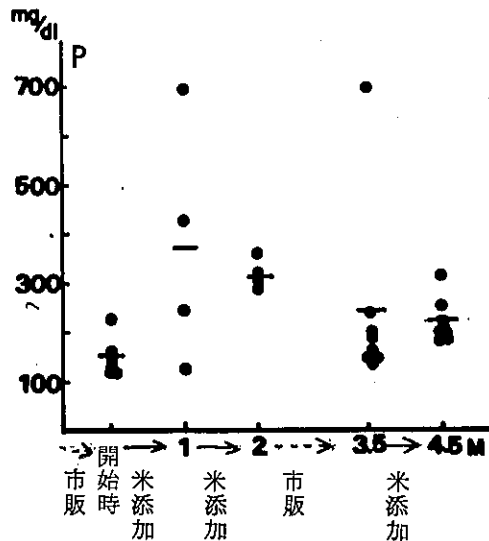


図3 飼料の変化による尿中リンの推移

ころ(表6), リンの含量に差がみられ、市販飼料のカルシウムとリンの比率が1:2.8であるのに対し、米飼料では1:1.9であった。

また実験開始後6ヶ月経過したマウスの後肢大腿骨を用い、骨中のリン、カルシウムの定量を行なったところ、米飼料群のカルシウムがやゝ低値を示した(表7)。Shahらは飼料中のリン、カルシウ

表7 マウス骨中のCaとP

		Ca (mg/g)	P (mg/g)	Ca/P
雌	市販飼料	142	96	1.48
	米添加飼料	131	95	1.38
雄	市販飼料	154	90	1.71
	米添加飼料	138	91	1.46

ムの割合は、骨形成に影響を与え、リンの増加は大腿骨中のカルシウムを減少させたと述べ、その理由として腸管におけるカルシウム吸収の減少を挙げている。今回の実験は、Shahらの報告と必ずしも一致しなかったが、例数も少なく一時期のみの結果であること等から、なお検討の余地があるかと思われる。しかし、いずれにしても飼料によるリン、カルシウムの尿中排泄への影響は、カルシウム:リン比の違いによるものではないかと推定される。

リゾチーム、アミノ酸では、雌雄差、飼料差ともにみられなかった。

これらの検査項目は、カドミウム汚染米投与実験において、生体影響の指標として重要なものと思われるが、リン、カルシウムを除いては飼料差は全くみられなかった。しかし、カドミウムの骨への影響を検討するためには欠くべからざるカルシウムが飼

料により影響される事実は、今後の実験において充分留意されるべきである。

4) 血液一般検査所見

検査結果を図4に示す。血液は、実験開始時より2ヶ月目までは頸動脈血を使用した。白血球数の

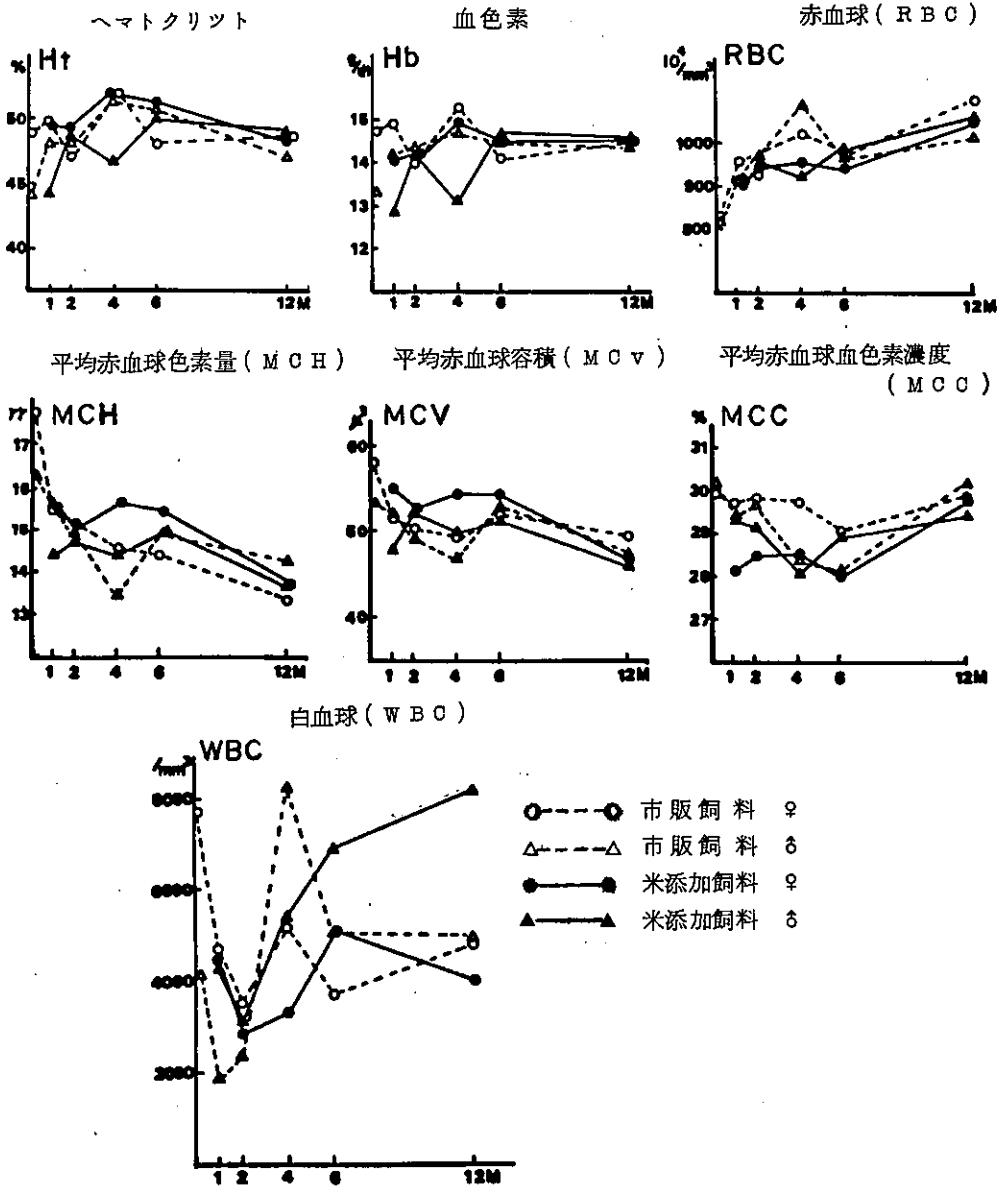


図4 血液一般検査結果

減少が顕著にみられたので、4ヶ月以後は尾静脈血により測定した。そのため若令期から成熟期にかけての連続した曲線を得ることはできなかったが、4ヶ月以後はほぼ一定の値を保っている。飼料による

差はみられなかった。

5) 血液臨床生化学検査所見

検査結果を図5に示す。糖は全血、その他の項目はすべて血漿を用いた。

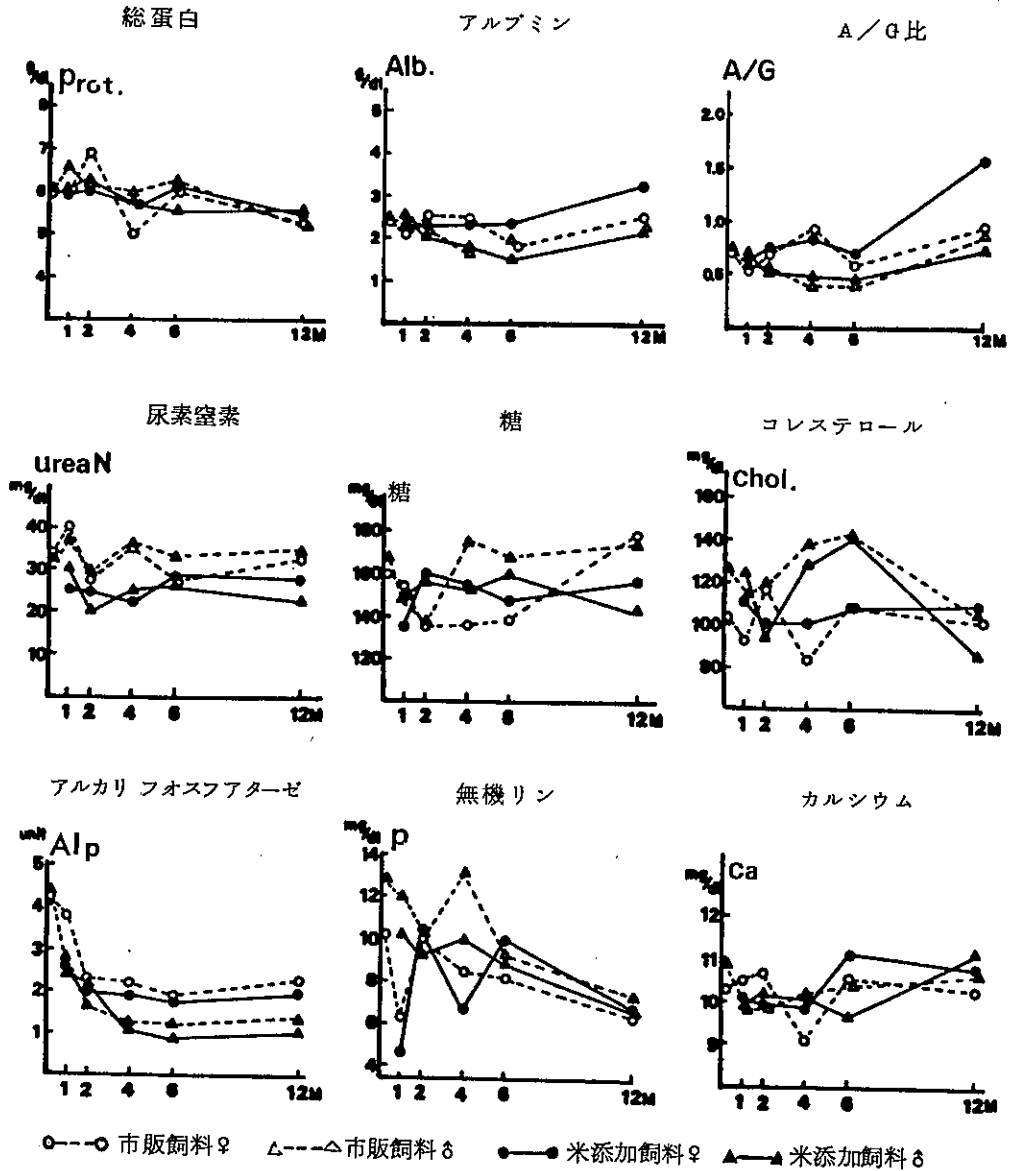


図5 血液臨床生化学検査結果

総蛋白では、若令期がわずかに高く、その後減少の傾向がみられる。しかし、アルブミン、A/G比とも加令に伴う変化はみられなかった。また、総蛋白、アルブミン、A/G比とも飼料差、雌雄差はみられなかった。

尿素窒素は経月変化、雌雄差ともほとんどみられなかったが、市販飼料群に比し米飼料群では低い傾向を示した。

糖では採血前の食餌制限を行わなかったため、測定値はかなりのバラツキがみられ、特に市販飼料では大きかった。しかし、全般的にみて加令に伴う変化、雌雄差、飼料差ともないものと思われる。

コレステロールでは、雄が体重増加の時期にやや高い値を示していたが、雌ではほぼ一定で、飼料による影響は雌雄ともにみられなかった。

アルカリフォスファターゼ活性は、雌雄ともに若令時高く、成長するに従い低下し、成熟後一定の値を保っている。雄では4ヶ月頃より一定となるが、雌ではこれより早く、2ヶ月頃より安定し、その値は、雄の約2倍の高値を示した。

リン、カルシウムでは、雌雄差、飼料差、加令による変化ともみられなかった。

6) カドミウムの蓄積

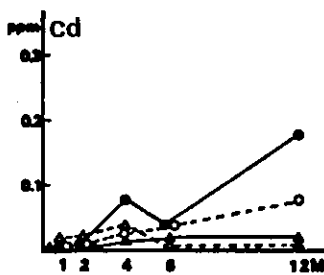
臓器中カドミウムの蓄積を調べるため主要臓器に

ついて、カドミウム濃度の測定を行った(表8)。その結果、肝、腎臓を除いてはすべて検出限界以下であったので以後、肝、腎臓について飼料による蓄積に差異があるか否かを検討した。その結果、肝、腎ともわずかに増加の傾向がみられたが、飼料による差異は明らかではなかった(図6, 7)。肝と腎におけるカドミウム濃度の関係は、肝に比し腎がやや高い。また腎/肝比は両飼料間に差はみられなかったが、雌雄間では傾向がやや異なり、雄では経月的変化があるのに対し、雌ではほぼ一定の値を示した(図8)。加美山らはラットを用いた実験で、腎より肝の蓄積が大きいと報告している。一方、吉田らは、市販の米糠含有の飼料で飼育した仔マウスについて腎>肝の関係を示し、この関係は実験終了時(6ヶ月)まで変わらなかったと報告しており、我々の結果と一致した。

一方、尿中カドミウムは、経月的に一定の傾向はなく、また腎との相関も認められなかった(表9)。

表8 主要臓器におけるカドミウム量(6ヶ月)

飼料	臓器	血液	肝臓	腎臓	脾臓	心臓	小腸	骨	糞
		市販飼料	雌 0.004	0.05	0.14	0.01	0.01	<0.01	0.01
	雄	<0.002	0.01	0.06	0.01	<0.01	0.02	<0.01	—
米添加飼料	雌	<0.002	0.05	0.14	0.01	<0.01	0.03	0.02	—
	雄	<0.002	0.02	0.14	0.01	<0.01	0.06	0.01	—



○—○ 市販飼料♀

△---△ 市販飼料♂

●—● 米添加飼料♀

▲---▲ 米添加飼料♂

図6 肝臓中カドミウム

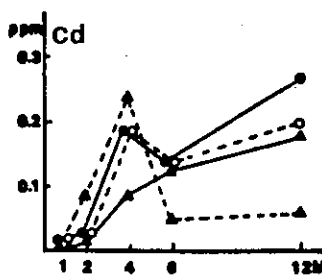


図7 腎臓中カドミウム

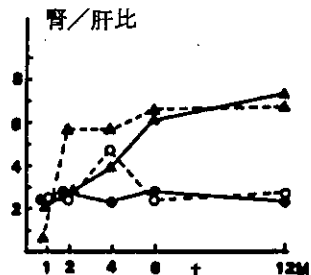


図8 腎臓中カドミウムと肝臓中カドミウムの比

表9 尿中カドミウムと腎臓中カドミウム

		市 販 飼 料					米 添 加 飼 料				
		1ヶ月目	2ヶ月目	4ヶ月目	6ヶ月目	12ヶ月目	1ヶ月目	2ヶ月目	4ヶ月目	6ヶ月目	12ヶ月目
雌	尿 ($\mu\text{g}/\ell$)	1.7	4.9	1.2	1.2	1.2	1.9	2.1	2.9	5.3	0.8
	腎 ($\mu\text{g}/\text{g}$)	0.02	0.03	0.19	0.14	0.20	0.02	0.03	0.19	0.14	0.27
雄	尿 ($\mu\text{g}/\ell$)	1.5	2.1	5.1	1.9	0.3	—	1.2	3.6	0.8	0.7
	腎 ($\mu\text{g}/\text{g}$)	0.01	0.09	0.22	0.05	0.06	0.01	0.02	0.09	0.13	0.18

7) 病理学的所見

肉眼的所見

実験開始後約1ヶ月目より、眼窩、鼻孔、頬部を中心とする顔面の小斑状の脱毛が両飼料群ともに認められた。脱毛斑は、 $5 \times 5 \text{ mm}$ までの大きさで、形は不整形であった。しかし、脱毛部、健常部ともに皮膚表面には異常は認められなかった。4ヶ月目では、脱毛の程度の強い個体が20-30%みられ、これらの個体では、顔全体、さらには頂部、背部、尾部にも認められた。背部、尾部のそれは、約 $1.5 \times 2 \text{ cm}$ 大までの比較的大きいもので、周囲健常部とは境界が明らかであった。その出現率、強さについては飼料差、性差の有無を検討した所、飼料については市販飼料群より米飼料群の方が、性については雌よりも雄の方が少し強い傾向を示したが、著しい差異は認められなかった。同一ケージ内での各マウスの脱毛のしかた(発現時期、分布、程度等)は、比較的よく類似していた。寄生虫、真菌の罹患について、念のため検査を行なったが、いずれも陰性であった。脱毛は、4ヶ月目を過ぎた頃よりほとんど非進行性となった。

この他、両飼料群ともに、4ヶ月目頃より、皮下及び腹腔内の脂肪沈着が目立ちはじめた。飼料では米飼料群、性では雄の方が量的に若干多い傾向を示したが、著しい差異はなかった。

肉眼的病変としては、一部の個体で肺炎が認められた以外は異常はみられなかった。

組織学的所見

組織学的に変化のみられた臓器について述べる。

肝臓では、孤立性ないし散在性の小壊死巣(直径 0.1 mm まで)が、全個体の約60%に認められた。病巣は、基本的には、好酸性となった少数の壊死肝細胞とこれを囲むKupffer細胞、組織球性細胞とから成る。一部では、膿瘍の像、あるいは陳旧化して軽度の線維化が加わった像もみられた。この

病変の出現率は、両飼料群とも月を経るごとに上昇する傾向にあり、12ヶ月目では約80%であった。出現率、広がり、病像の進行度から飼料差、性差についてみると、飼料差は全くみられず、性差として雌の方がやや高い傾向を示した。

肝細胞の軽微な変化としては、びまん性の淡明化がみられた。肝細胞は、核、原形質とも軽く腫大し、明るく、ことに原形質は細顆粒状で、ヘマトキシリン・エオジン染色では、細胞の周辺部が染まらず不規則にぬけているように見える。全個体の約30%にみられたが、飼料差、性差に一定の傾向はみられなかった。

その他としては、軽度の脂肪化がごく少数例に認められた。

小腸では、12ヶ月目のごく少数例において、十二指腸~空腸上部に限局した、亜慢性的軽度の炎症像がみられた他は、異常は認められなかった。

腎臓では、両飼料間で差異のある変化はみられなかった。ほぼ全個体に共通した経月的変化として、糸球体メサンギウムの軽度の増殖がみられた。性については、雄に共通した変化として、近位尿細管上皮に限局した、ほぼびまん性の空胞変性が全期間を通じて認められた。空胞は原形質のみ認められ、大きさも一定でなく、PAS染色(α グリコール基をもつ多糖類)、脂肪染色ともに陰性であった。尿細管上皮では、核の偏在化、圧迫、原形質の膨化ならびに染色性の低下、刷子縁の消失等がみられ、一部の上皮は壊死性となっている。飼料差については、市販飼料群より米飼料群の方がやや強い傾向がみられた。同様の雄の変化として、4ヶ月目以降では、ポーマンのう外葉上皮の立方上皮化が顕著となったが、飼料による差異はみられなかった。

肺では、顕微鏡的に全個体の約25%に肺炎がみられた。広がり、病像の点で、いずれも軽度の気管支肺炎がほとんどであったが、大葉性の強い肺炎も

1 例みとめられた。

血液塗沫所見

血液像の観察は全個体 64 例について行なった。赤血球所見では、両飼料群とも、球状赤血球が若干多い傾向がみられたが、差異はなかった。白血球所見では、両飼料群とも分画の上でリンパ球が 80～92% とやや高く、顆粒球、特に好中球が 7～14% と比較的低い傾向であったが、差異は認められなかった。血小板についても同様に差異はみられなかった。

最近、カドミウム汚染米の生体影響に関する動物実験がいくつか報告されている。しかし、カドミウムによる影響を論ずる以前の問題として、特殊飼料による影響を充分考慮しなければならないことは言うまでもない。我々はカドミウム汚染米を投与するための予備実験として、これらの問題点について検討を行なった。その結果、飼料に米を添加することによりマウスに若干の影響がみられた。なかでも雄の体重変化が目立ち、米飼料群では急速な体重の増加と脂肪沈着、コレステロールの増加がみられた。またこれと相前後して脱毛が出現しはじめ、体重増加の著しい 4 ヶ月頃を頂点として、その進行は緩慢となった。鈴木らは、C57BL/6 マウスについて肥満と脱毛に関係のあることを報告している。この現象は、すべて体重の増加に付随して生じたものとするのは早計であるかもしれない。しかし、米を多量に与えることにより、単に体重増加のみでなく脱毛等にも影響を与えると仮定すれば、感染、その他派生する二次的な影響の起こり得る可能性もあり充分な配慮が必要である。

一方、米飼料の投与は尿中のリン、カルシウムの動態に変化を与え、また骨中の濃度への影響もあるかに見受けられた。しかし、血中のそれへの影響はみられなかった。このことは、カドミウム汚染米の生体影響を目的とする研究において見過ごすことのできない重要な問題であり飼料中のリン：カルシウム比に一考を要するところである。

臓器中カドミウムの蓄積量では飼料間に差はみられず、また飼料の摂取量の違いが臓器蓄積量に影響を与えるまでにはいたらなかった。しかしこの場合は、飼料中のカドミウム濃度は極めて低く、カドミウム濃度がより高い場合にも同様であるとは必ずし

も言い得ないであろう。

病理学的検索では、両飼料群とも肝臓、腎臓、肺に若干の変化がみられた。しかしいずれも軽度の変化であり生化学的検査結果においてもこれと関係があると思われる変化は見られなかった。また飼料の違いによる差異もみられなかった。

ま と め

Cd 汚染米を投与しカドミウムの慢性毒性を検討するための予備実験として、マウスに米を含む飼料を与えその影響について調べた。その結果、米飼料の影響は雌より雄に多く現われ、体重の急速な増加、脂質増加、脱毛等がみられた。

また、リン、カルシウムの代謝に影響を与え、尿、骨中濃度に変化がみられた。

臓器中カドミウムの蓄積は両飼料とも同じ傾向を示し、また、病理組織学的にも著しい差異はみられなかった。

本研究の一部は、厚生省食品衛生調査研究費によるものである。

文 献

石崎有信、福島匡昭 (1968) 日衛誌, 23: 271

石崎有信、福島匡昭 (1974) 北陸公衛誌, 1: 9

イタイイタイ病研究班 (1968), いわゆるイタイイタイ病に関する調査研究報告

加美山茂利、道岡政 (1977) 50 回産衛学会講演集: 444

Kjellström, T., Shiroishi, K., Evrin, P.-E., (1977) Environ. Res. 13: 318

齊藤寛ら (1976) 環境保健レポート, 88: 78

Shah, B. G. et al (1967) J. Nut. 92: 30

鈴木敏明、清水正導、飼料のエネルギー含量と加齢による C57BL/6 マウスの肥満および脱毛について、日本農産中央研。

〔 資 料 〕

イタイイタイ病要観察者の尿、血液検査成績

城石和子, 西野治身, 岩田 隆, 新村哲夫
庄司俊雄, 高田朋子

目 的

イタイイタイ病患者の病状や予後を改善するとともに本病の発生を未然に防止するため、昭和50～51年にわたり、患者についての調査研究を行ってきた。本年度は要観察者について、患者と同様の精密調査を行ない、現病状の把握、患者との比較を行った。

方 法

イタイイタイ病要観察者8名について、短期入院(金医大病院)により諸検査を行った。検査は表1

表1 イタイイタイ病要観察者の検査項目と内容

項 目	内 容
問 診	自覚症状 病歴 既往歴 家族歴 生活歴
診 察	内科 外科 整形外科
一般検査	血圧 心電図 身体計測
X線検査	胸部 骨 等
血液検査	血球計算および糖 BUN クレアチニン等生化学検査
尿 検 査	蛋白 糖 アミノ酸 電解質 カドミウム 等
腎機能検査	PSP 腎クリアランス試験
そ の 他	レノグラム 腎スキヤン 等

の項目について諸研究機関とのプロジェクトチームにより行われたが、そのうちの尿、血液検査について実施したものである。各検査方法は表2のとおりである。尿は早期尿および24時間尿を用いた。

結 果

尿検査結果を表3に示す。検査は全項目について当研究所と金医大衛生学教室の両機関において実施した。その結果、比重と低分子蛋白を除いて、その値はほぼ一致しよい相関($r = 0.935 \sim 0.996$)が得られた。比重は、昨年の結果を基に、次式による補正值を用いた。 $(T' + 9.4) \times 1.2$, $T' = (\text{測定値} - 1) \times 1000$ 低分子蛋白では前回と同様に両機関の相関は高かったが、測定値にやゝ違いがみられた。回帰線は表4のとおりである。

表2 尿・血液(血清)検査の項目と方法

項 目		検 査 方 法	
尿	比 重	屈 折 計	
	PH	紙 験 紙	
	糖 定 性	テ ス テ ー プ	
	糖 定 量	O T B 法	
	蛋 白 定 量	K-C法, T-B法	
	低分子蛋白	β_2 ミクログロブリン	{ 一元免疫拡散法 * ラジオイムノアッセイ
		ビタミンA結合蛋白	一元免疫拡散法
		リゾチーム	リゾプレート法
	アミノ酸	T N B S 法	
	カルシウム	原子吸光法	
無機リン	Fiske-SubbaRow法		
クレアチニン	Folin-Wu法		
血 清	カドミウム	ジチゾン・クロロホルム抽出 原子吸光法	
	蛋白分画	ディスク電気泳動法	
	アルカリフォスファターゼ	Bessey Lowry法	
	アルカリフォスファターゼ アインザイム	電気泳動法	
	無機リン	Fiske-SubbaRow法	
	カルシウム	原子吸光法	
	尿素窒素	ジアセチルモノオキシム法	
	トランスアミナーゼ (GOT)	Reitman-Frankel法	
	β_2 ミクログロブリン	ラジオイムノアッセイ *	

*ラジオイムノアッセイ:フェルマシアキット(シオノギ)

表4 低分子蛋白のクロスチェックによる相関

検査項目	n	r	回 帰 線
β_2 ミクログロブリン	8	0.957	$T = 0.02K - 1.85$
ビタミンA結合蛋白	8	0.968	$T = 0.51K$
リゾチーム	8	0.872	$T = 0.43K + 0.94$

T: 富衛研 K: 金医大

表3 イタイイタイ病要観察者尿検査結果

検査項目	S.O.(78才)		K.N.(72才)		S.O.(68才)		T.S.(73才)		H.T.(81才)		Y.T.(69才)		T.N.(74才)		P.N.(67才)		患者平均値		
	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	早朝尿	24時間尿	
比重	1.015	1.016	1.012	1.014	1.011	1.013	1.021	1.020	1.013	1.014	1.009	1.012	1.012	1.016	1.012	1.012	1.017	1.017	
PH	5.4 >	5.4 >	5.6	6.0	6.8	7.0 <	6.2	6.2	7.0 <	7.0 <	7.0 <	7.0 <	6.8	7.0 <	7.0 <	6.4			
糖定性	(H)	(H)	(H)	(H)	(H)	(H)	(H)	(H)	(+)	(+)	(+)	(H)	(+)	(+)	(±)	(+)			
ク定量 mg/dl	268	234	303	167	175	241	397	388	95	135	53	221	81	192	25	56	150	235	
蛋白定量 mg/dl	68	52	44	43	54	66	91	66	42	45	28	37	18	10	10	18	44	41	
ク ** mg/dl	9.4	7.9	6.5	6.6	6.6	6.4	132	60	63	63	38	54	36	4.0	2.4	3.1			
低分子蛋白	β2ミクログロブリン mg/dl	2.9	3.4	3.4	3.2	4.5	4.9	12.0	6.2	5.5	6.3	3.5	4.7	3.0	3.3	1.4	1.5	3.1	3.1
	ク *** mg/dl	2.8		4.3		4.0		10 <		4.5		5.2		5.1					
	トランスA結合蛋白 mg/dl	5.6	4.8	4.2	4.1	2.5	3.1	6.1	5.0	3.2	4.8	2.6	5.5	2.3	2.7	0.5	0.8	2.5	2.8
	リソチーム mg/dl	5.9	5.1	3.0	2.9	3.0	4.7	6.4	4.5	3.5	4.4	2.3	2.8	0.66	0.71	0.24	0.35	2.0	2.0
アミノ酸 N-mg/dl	43.5	33.4	29.9	28.6	14.1	16.2	57.4	41.9	16.4	18.1	9.5	13.3	17.8	26.2	16.3	18.8	28.2	29.2	
ク N-mg/100r	906	795	925	894	564	648	598	735	513	532	528	532	524	624	320	448	662	726	
カルシウム mg/dl	2.4	2.7	5.4	4.9	2.0	1.7	1.50	1.22	4.1	3.0	1.9	2.0	6.7	6.1	11.6	15.0	11.8	12.3	
無機リン mg/dl	2.8	1.7	2.0	1.9	2.6	2.1	8.5	5.2	1.6	1.5	1.8	1.1	1.9	2.8	4.0	2.8	3.2	3.2	
クレアチニン mg/dl	4.8	4.2	3.2	3.2	2.5	2.5	9.6	5.7	3.2	3.4	1.8	2.5	3.4	4.2	5.1	4.2	4.7	4.3	
カドミウム μg/L		5.0		4.4		1.9		10.0		3.3		3.2		8.6		5.4	11.3	9.5	
蛋白分画 (陽極:左側)																	n: 53 低分子蛋白 n: 41		

* 数値は $(T' + 0.4) \times \frac{1}{1.2}$, $T' = (\text{測定値} - 1) \times 100.0$ による補正值 * * 蛋白: T-B法 * * * β₂ミクログロブリン: ラジオイムノアッセイ

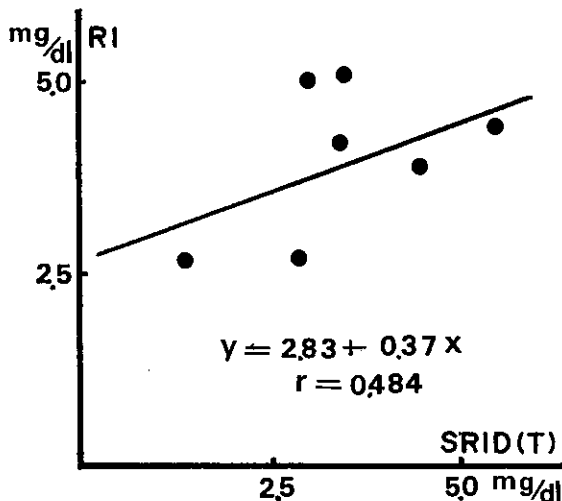


図1 一元免疫拡散法 (SRID) とラジオイムノアッセイ (RI) の比較
—尿中β₂ミクログロブリンについて—

β₂ミクログロブリンは早朝尿についてRadio-immunoassayによる測定を併用したので、両法の関係を図1に示した。

患者については、昨年までに検査が可能な患者のほとんど全例について、すでに検査が完了しておりその結果を表3に併記した。平均値はすべて算術平均である。要観察者については8名のみであり、これは、要観察者99名(昭53.3.30現在)の10%に満たないものであり、この値から、現在の要観察者全体のレベルを論ずることはできない。今回の8名のみについてみるならば、糖、蛋白、アミノ酸等は全般的に患者との差はみられないが、カルシウム、カドミウムについてはやや低い傾向がみられた。

血液検査結果を表5に示した。検査項目は試料量の関係から住民健康調査に用いられている項目を主体とし、他にアルカリフォスファターゼ、アインザイムとβ₂ミクログロブリンの定量を加えた。一部の検査項目については、金医大(中検)に

表5 イタイイタイ病要観察者血液(血清)検査結果

検査項目		S.O. (78)	K.N.	S.O. (68)	T.S.	H.T.	Y.T.	T.N.	F.N.
アルカリ フォスファターゼ	T BL単位	4.6	3.8	5.6	2.8	4.3	5.2	1.9	1.7
	K 国際単位	175	154	241	116	177	217	75	70
アルカリフォスファターゼ アインザイム		III	III	III	III	III	III	III	II, IV
無機リン mg/dl		4.0	3.7	6.3	3.2	2.8	2.9	2.7	3.1
カルシウム	T mg/dl	9.8	9.6	7.8	9.5	9.4	8.7	9.6	10.2
	K mg/dl	8.9	8.9	7.2	9.2	8.6	7.9	8.8	9.8
尿素窒素	T mg/dl	28.8	37.8	52.4	25.4	33.5	36.4	15.7	18.9
	K mg/dl	2.8	3.9	5.3	2.5	3.4	3.7	1.5	1.9
トランスアミナーゼ(GOT) Kar. 単位		7.0	8.4	9.0	12.8	18.1	—	—	9.0
β ₂ ミクログロブリン mg/dl		0.53	0.46	1.3	0.17	0.64	0.94	0.17	0.30

T: 富衛研 K: 金医大, 検査方法は自動分析装置(SMAC)による。

においても測定されているので併記した。

アルカリフォスファターゼ活性は、患者では58% (58例中31例)に上昇がみられたが、要観察者では8例中4名が高値を示した。これらの4名については、GOTの上昇は伴わず、また、アインザイムにおいても骨由来のものと同一泳動位置を示した。試料量が少ないので、アインザイムの検出は電気泳動法のみ使用した。アインザイムが骨由来でなかった1例については、今後、他の方法の併用によ

り、さらに検討をしたい。

β₂ミクログロブリンは、正常範囲を越えるものが多かったが、その傾向は、金井らによるイタイイタイ病患者についての報告と同様であった。尿中β₂ミクログロブリンとの相関はみられなかった。

今後さらに症例を増加し要観察者の実態を把握する予定である。

本調査は環境庁委託研究(イタイイタイ病に関する研究)の一環として実施した。

文 献

渡辺正男, 城石和子ら(1977), 環境保健レポート, 41: 63.

イタイイタイ病要観察者の臓器中カドミウム量について

岩田 隆, 城石和子, 渡辺正男

目 的

カドミウム汚染に伴う人体内蓄積量に関してはすでにいくつかの報告があり、又一般住民についても各臓器中のカドミウム含量の測定がなされてきた。著者らもイタイイタイ病要観察者の剖検材料を入手することができたので各臓器中のカドミウム量を測定した。

方 法

材料は要観察者として観察中に死亡した2例について剖検時に採取した後、直ちに凍結保存された試料を用いた。測定は硝酸・過塩素酸による湿式灰化後、ジチゾン・クロロホルム抽出原子吸光法により行った。

結果および考察

表1に各臓器中カドミウム量の分析結果を示した。そのうちの1例については他研究機関とクロスチェックを行い、ほぼ一致した結果を得た。肝臓中のカドミウム量はそれぞれ $81.7 \mu\text{g/g}$ 、 $142 \mu\text{g/g}$ であり、石崎らおよび喜田村らが報告している対照者の平均値が $20 \mu\text{g/g}$ (11例)、 $8.9 \mu\text{g/g}$ (4例) であるのに比較して著しく高い。同様に脾臓についても $98.3 \mu\text{g/g}$ 、 $68.7 \mu\text{g/g}$ であり、石崎らの対照者の平均値 $1.6 \mu\text{g/g}$ (3例)、喜田村らの対照者の平均値 $3.6 \mu\text{g/g}$ (4例) に比較して著しく高い。しかし一般に重金属の蓄積されやすいと言われている腎臓については、一例では髓質で $37.0 \mu\text{g/g}$ 、皮質で $66.1 \mu\text{g/g}$ であり、他の1例では腎臓全体で $21.0 \mu\text{g/g}$ であった。石崎らによる対照者の平均値は髓質が $5.5 \mu\text{g/g}$ (6例)、皮質が $108 \mu\text{g/g}$ (6例) であり、喜田村らの値は腎臓全体の分析値で $76.8 \mu\text{g/g}$ (4例) であるのでこれらの値と比較すると今回の要観察者の方が低いと思われる。石崎らは1病患者(5例)の臓器について腎皮質では対照者の方が高く、髓質では差がないと報告している。又肝臓、脾臓では対照者に比較して著しく高く、それ以外の

臓器についても患者の方が高いことを指摘している。今回の2例もほぼ同様の傾向を示していると思われる。

表1 臓器中のカドミウム量

	Cd $\mu\text{g/g}$ 生重量		
	No. 1	No. 2	No. 1*
肝 臓	81.7	142	86.5
胆 の う	5.47		5.7
脾 臓	7.01	7.6	9.1
脾 臓	98.3	68.7	81.4
食 道	6.32		6.9
胃	8.29		7.8
小 腸	11.9	3.6	12.9
大 腸	11.6		13.4
腎臓	皮質	21.0	65.6
	髓質		21.5
子 宮	15.3		16.0
肋 骨	6.85	2.1	4.2
腰 椎	3.75		3.5
筋 肉	19.0	14.9	19.6
横隔膜	12.0		13.9
甲状腺	15.9		148.6
副 腎	10.6	17.4	11.2
心 臓	3.23	2.7	3.4
肺	2.84	8.1	2.7
気 管	7.05		8.4
大 脳	1.36		1.0
小 脳	1.63		1.3
皮 膚	8.86		6.6
脂 肪	5.75	4.3	6.6
毛 髪		0.14	
腸 骨		2.0	

No. 1 ♀ 88才 No. 2 ♀ 78才

* K医科大分析値 (r = 0.993)

文 献

- 石崎有信ら (1971), 日衛誌, 28: 268.
 喜田村正次ら (1973), 環境保健レポート, 24: 7.

一農村地区住民の血中重金属濃度について

新村 哲夫, 岩田 隆, 城石和子, 渡辺正男

目 的

近年カドミウムなどの重金属による汚染が各地で問題となっている。重金属による環境汚染の生体側の指標の1つとして血中の重金属濃度の測定が重視されてきた。しかし、その正常値については、なお明らかでない。本報告は、全国の地方衛生研究所における特別研究の一環として、血中重金属の正常値を知ることを目的として実施したものである。

方 法

県東部の山麓にある一農村地区(魚津市松倉地区)住民を対象とし、試料は検体量の関係から同性、同年令層三名づつのブール血23検体(男9,女14)を用いた。年齢は男が40~70才,女が20~60才であった。測定は、鉄、亜鉛、銅、鉛、カドミウムの5元素について行なった。分析方法は、ブールした全血5gを硝酸一過塩素酸分解し、鉄は分解液を希釈して直接原子吸光法で測定し、その他の重金属については、塩酸酸性にしてMIBKで除鉄後、亜鉛、銅を直接原子吸光法で測定する。鉛、カドミウムについては、さらにジチゾン・クロロホルムで抽出後、希硝酸で逆抽出し、フレイムレス原子吸光法で測定した。使用した原子吸光々度計は、日立208型とパーキンエルマー303型、HGA2000型である。

結果および考察

表1に、男女別の各重金属濃度の最大値、最小値、平均値、標準偏差を示す。

鉄は、平均 $467\mu\text{g/g}$ ($n=23$)で男と比べて女が有意に低かった($P<0.01$)。星合は東京都の妊産婦で平均 $377\mu\text{g/ml}$ 、範囲 $158\sim 857\mu\text{g/ml}$ であったと報告している。これと比較すると少し高めであった。

銅は、平均 $0.87\mu\text{g/g}$ ($n=23$)であった。高木らは福井県での調査で、平均 $96.5\mu\text{g}/100\text{g}$ 、範囲 $25.5\sim 495\mu\text{g}/100\text{g}$ 、標準偏差 157 と報告しており、同レベルにあると思われる

が、今回の調査ではバラツキが少なかった。

カドミウムは、平均 $0.0056\mu\text{g/g}$ ($n=10$)であった。これは、高木らの報告と一致しているが、三島、星合らの大都市住民での報告よりは低値であった。調査した検体数が少ないのでくわしくは論じられないが、地域による違いがあるものと思われる。

表1 血中重金属の定量分析による結果

		鉄	亜鉛	銅	鉛	カドミウム
男	検体数	9	9	9	2	2
	最大値 ($\mu\text{g/g}$)	530	6.5	0.92	—	—
	最小値 ($\mu\text{g/g}$)	450	4.3	0.74	—	—
	平均値 ($\mu\text{g/g}$)	514	5.4	0.85	0.175	0.0064
	標準偏差	26.5	0.69	0.055	—	—
女	検体数	14	14	14	8	8
	最大値 ($\mu\text{g/g}$)	490	6.0	0.97	0.171	0.0068
	最小値 ($\mu\text{g/g}$)	380	4.1	0.77	0.031	0.0039
	平均値 ($\mu\text{g/g}$)	437	4.7	0.89	0.073	0.0054
	標準偏差	31.7	0.94	0.052	0.0475	0.00112

鉛は、平均 $0.093\mu\text{g/g}$ ($n=10$)であった。これは高木ら、三島らの報告と一致している。

亜鉛は、 $5.0\mu\text{g/g}$ ($n=23$)であった。これは高木らの平均 $93.8\mu\text{g}/100\text{g}$ 、範囲 $169\sim 15800\mu\text{g}/100\text{g}$ 、三島の平均 $960\mu\text{g}/100\text{g}$ 、範囲 $400\sim 1950\mu\text{g}/100\text{g}$ と比べると低値を示した。彼らは、一般的濃度の範囲にあっても相当個人差があり、中央地が $590\mu\text{g}/100\text{g}$ で、分布が二峰性をとることもあると述べている。今回の調査ではバラツキが大変少なかったが、これはブール血を用い、狭い同一地区住民を対象としているためと考えられる。以上のこ

とからこの地区住民の血中亜鉛濃度は、正常値の範囲の中では低いレベルにあるのではないかと思われる。

年齢による違いは、検体数が少ないことから比較できなかった。全体として、どの重金属についても濃度範囲が狭かった。これはブール血を使ったためと思われるが、この地区の住民の平均的濃度を示しているものと考えられる。

今後、調査地域および検体数をふやし、検討して

いきたいと考えている。

本調査は地研特別研究費により実施したものである。

文 献

星合 尚(1977), 日本公衛誌, 24:447.

星合 尚(1977), 〃, 24:727.

三島昌夫(1976), 日化, 1976:915.

高木靖弘, 松田 漸(1977), 日衛誌, 32:366.

C 業 績

C. 業 績

1. 学 会 発 表

発 表 の 主 題	発表者 (内他機関所属者)	学会名など	年 月 日	場 所
(1)カドミウム環境汚染地域住民の尿検査成績 —イタイイタイ病発生地域について—	城石和子, 穴山道子, 松永明信, 島田外美枝, 岩田 隆, 西野治身, 渡辺正男	第47回日本衛生学会	52.3.31~4.2	東京
(2)カドミウム環境汚染地域住民の尿検査成績 —要観察地域(黒部市)について—	城石和子, 穴山道子, 渡辺正男	同上		
(3)イタイイタイ病発生地域住民の尿中遊離hydroxy prolineについて(第二報)	西野治身, 島田外美枝, 城石和子, 渡辺正男	同上		
(4)アカイエカ・チカイエカ交雑群果代飼育の間のオス生殖器の変化	上村 清 (栗原 毅)	第29回日本衛生動物学会大会	52.4.2~3	徳島市
(5)クロシヨウジヨウバエの季節消長, とくに1975年と1976年の比較	渡辺 護	同上		
(6)各種産業のもたらす衛生動物の多発生現象, 流通機構の变革, 観光開発のもたらす衛生動物の多発	上村 清	同上		
(7)酸化油中のマロンアルデヒドの蛍光分析	彼谷邦光	昭和52年度日本農芸化学会	52.4.1~4	横浜市
(8)広節裂頭条虫症に関する研究(7) 他種条虫抗原による吸収試験	上村 清, (吉村裕之, 近藤力王至, 大西義博, 西田和美, 岡本 敬)	第46回日本寄生虫学会大会	52.4.4~5	徳島市
(9)生物環境学と地方行政研究機関の立場	上村 清	第24回日本生態学会自由集会	52.4.6~7	広島市
(10)富山県F町におけるバラチフスAの水系感染について	山崎茂一, 田口由清, 刑部陽宅, 井山洋子, 荒井優実, 石本美穂子, 児玉博英(福野保健所 県公衆衛生課)	第51回日本感染症学会総会	52.4.9~10	東京
(11)F町におけるバラチフスAの水系感染を裏付ける2, 3の実験について	児玉博英, 刑部陽宅, 田口由清, 山崎茂一, 石本美穂子	同上		
(12)溶連菌A群12型の抗原性とエリスロマイシン感受性について	児玉博英, 石本美穂子	第7回しょう紅熱研究会	52.5.28	東京
(13)健康学童の咽頭細菌叢と溶連菌の定量	児玉博英, 石本美穂子,	同上		

的考察	田口由清, 渡辺正男			
(14) 志賀高原における腐植栄養湖のプランクトンについて	荒井優実, 井山洋子 (安田郁子)	日本陸水学会第 42回大会	52.6.16~18	日光市
(15) 魚介類塩蔵品の酸化防止剤の定量法について	水上英一	全国衛生化学技 術協議会	52.9.29~30	福井市
(16) HeLa 細胞における 18 Sr RNA の Conformation の変化	西永慧次	第50回日本生 化学会大会	52.10.13	東京
(17) 魚介類中の n-パラフィンの分析	小林 寛, 大浦 徹 彼谷邦光, 水上英一	第34回日本食 品衛生学会	52.10.13~14	岐阜市
(18) 立山におけるオオクロバエとミヤマク ロバエの捕集成績について	荒井優実, 渡辺 護, 上村 清	第32回日本衛 生動物学会 西日本支部大会	52.10.15~16	金沢市
(19) アカイエカ類の発育にともなうエステ ラーゼ活性の違いについて	上村 清, 原井典子, 福島優子	同上		
(20) イタイイタイ病患者および要観察者の 血中カドミウム量について	岩田 隆, 城石和子, 渡辺正男	第36回日本公 衆衛生学会	52.10.26~28	神戸市
(21) 尿中総アミノ酸の正常値について	島田外美枝, 西野治身, 城石和子, 渡辺正男	同上		
(22) β_2 ミクログロブリンの測定法について	松永明信, 城石和子, 西野治身, 渡辺正男	同上		
(23) 溶連菌 A 群 12 型の不均一性について	児玉博英, 田口由清, 渡辺正男, (大浦美穂子)	第14回日本細 菌学会 中部支部総会	52.10.29~30	新潟市
(24) 環境における Enterotoxin 産生 <i>Clostridium perfringens</i> の分 布と産生菌の性状	刑部陽宅, 児玉博英, 渡辺正男	同上		
(25) クサギカメムシの調査について (第1 報)	渡辺 護 (小泉泰久, 中川秀幸, 吉川俊夫, 荒谷哲雄)	第5回北陸公衆 衛生学会	52.11.10	富山市
(26) 尿中 β_2 ミクログロブリンの安定性 について	城石和子, 松永明信, 渡辺正男	同上		
(27) 立山・地獄谷より分離した大腸菌につ いて	井山洋子, 荒井優実, 山崎茂一	第14回日本水 処理生物学会	52.11.20~21	長浜市
(28) 志賀高原における腐植栄養湖の水質と 細菌について	井山洋子, 荒井優実, (安田郁子)	同上		
(29) カドミウム汚染米による動物実験 —マウスを用いた予備実験について—	西野治身	東海北陸プロツ ク環境保健部会	52.11.24~25	名古屋市
(30) 自然毒による食中毒について	小林 寛	昭和52年度東 海北陸プロツク 衛生化学部会	53.1.27~28	名古屋市
(31) 東南アジア旅行者及びその家族のコレ	田口由清, 児玉博英,	昭和52年度東	53.3.4~5	富山市

ラ菌検索について	刑部陽宅, (大浦美穂子)	海北陸ブロック 衛研細菌部会		
(32) 観光ツアーにおける飲食物の安全性について	井山洋子	同上		
(33) 患者および健康保菌者由来溶連菌A群12型の諸性状について	児玉博英, (大浦美穂子)	同上		
(34) 人動物のウェルシュ菌 Enterotoxin 抗体保有率について	刑部陽宅	同上		
(35) 百日咳凝集反応抗原のロット差について	児玉博英, 田口由清	同上		
(36) 今冬のインフルエンザ流行について	森田修行	第12回東海北陸ブロック衛研ウイルス部会	533.10~11	下呂町
(37) 風疹流行後の血清疫学について	中山 喬	同上		
(38) 下痢症ウイルスの検査法について	香取幸治	同上		
(39) イタイイタイ病患者の尿中排泄アミノ酸について	西野治身, 城石和子, 渡辺正男	イタイイタイ病並びにカドミウム中毒症に関する総合的研究総会	533.20	東京
(40) カドミウム汚染米によるカドミウムの吸収・蓄積・排泄について—マウスによる動物実験—	渡辺正男	食品中に含まれる重金属等の化学形に関する研究会	533.29	東京
(41) 富山におけるシナハマダラカ群とコガタイエカの発生動態の比較	上村 清, 渡辺 護	第30回日本衛生動物学会大会	534.4~5	長崎市
(42) ケブカクロバエとクサギカメムシの卵巣の発育過程について	渡辺 護	同上		
(43) 福井県旧フィラリア流行地勝山地方の再調査(続報)	上村 清, (吉村裕之, 近藤力王至, 大西義博, 西田和美, 赤尾信明, グン, ヌグロフ, 藤田紘一郎, 池田照明, 藤森千衣子, 森下 薫, 藤井正男, 河北 環, 竹下外来男)	第47回日本寄生虫学会大会	534.5~6	長崎市

2. 誌 上 発 表

主 題	発表者(内他機関所属者)	掲載誌名	巻(号):頁	発行年月
(1) Mosquitoes	上村 清, (佐々学, 宮城一郎)	Animals of medical importance in the Nansei Islands in Japan	137~175	1977.8 新宿書房
(2) コウモリマルヒメダニの人体寄生3例について	上村 清, (近藤力王至)	衛生動物	28:58~59	1977.6
(3) タカサゴキアラマダニなど3種マダニの人体寄生4例について	上村 清, (近藤力王至)	衛生動物	28:59~60	1977.6
(4) 広節裂頭条虫症の免疫血清学的研究 1. 感染者の血清グロブリン, 特にIgE値および沈降反応について	上村 清, (近藤力王至, 吉村裕之, 西田和美, 大西義博)	寄生虫学雑誌	26:265~270	1977.8
(5) 衛生動物学	上村 清, (近藤力王至)	寄生虫学新書 (吉村裕之編)	151~196, 217~235	1978.4 文光堂
(6) 富山県におけるクサギカメムシの実態調査について	渡辺 護 (小泉康久, 中川秀幸, 吉川俊夫, 荒谷哲雄)	富山の水道	5:10~17	1978.3
(7) 1976年富山県での風疹流行における血清学的診断に関する研究	中山 喬, 香取幸治, 松浦久美子, 長谷川澄代, 久保義博, 森田修行, 渡辺正男	北陸公衆衛生学会誌	4(1): 81	1977
(8) リウマチ熱流行施設における細菌学的および血清学的追跡調査	児玉博英, 石本美穂子, 田口由清, (城野 晃, 橋爪淑子)	感染症学雑誌	51(3): 115~119	1977
(9) 健康学童の咽頭溶連菌に関する定量的考察	児玉博英, 石本美穂子, 田口由清, 刑部陽宅, 渡辺正男	感染症学雑誌	51(3): 120~127	1977
(10) 食中毒由来 Clostridium PerfringensのEnterotoxin 産生能と産生菌の性状について	刑部陽宅	食品衛生学雑誌	18(4): 375~381	1977
(11) 立山称名川水系の細菌叢について	井山洋子, 荒井優実, 山崎茂一	日本水処理生物学会誌	18(2): 14~17	1977
(12) ウロコ付魚介と生食用魚介の腸炎ビブリオ汚染	山崎茂一, 刑部陽宅, 井山洋子, 荒井優実, (安藤良吉, 林 徹雄, 小西鉄作, 長瀬 章, 吉本善次郎, 荒木 宏)	北陸公衆衛生学会誌	4: 51~56	1977
(13) 環境における Clostridium per-	刑部陽宅, 児玉博英	食品衛生学雑誌	19(2): 239	1978

fringensの分布と分離菌の Enterotoxin 産生能				
(14) Fluorometric Assay of Malonaldehyde in Autoxidized Oil	彼谷邦光	食品衛生学雑誌	18:431~438	1977.10
(15) Effect of Sodium Nitrite on the Destruction of Thiamine	彼谷邦光	Agri. Biol-Chem.	41:2055~2058	1977.10
(16) Formation of 3,4-Dihydro-2-hydroxy-4-ureidopyrimidine from Malonaldehyde and Urea	彼谷邦光	Agri. Biol-Chem.	42:171~172	1978.1
(17) 農村婦人に対するアンケート調査の考察	城石和子, 西野治身, 渡辺正男, (渋谷知一)	富山県農村医学研究会誌	8:96~102	1977.3
(18) Urine analysis for detection of cadmium-induced renal changes, with special reference to β_2 -microglobulin	城石和子, 穴山道子, 島田外美枝, 岩田 隆, 西野治身, (久保田憲太郎, T.Kjellström, M. Piscator, P. Evrin, O. Vesterberg)	J. Enu. Res.	13:407~424	1977
(19) Urinary β_2 -microglobulin excretion among people exposed to cadmium in the general environment	城石和子, (T.Kjellström, P. Evrin)	J. Enu. Res.	13:318~344	1977

編 集 委 員

委員長 山 崎 茂 一

委 員 渡 辺 護

石 倉 康 宏

水 上 英 一

城 石 和 子

富山県衛生研究所年報

昭和52年度(1977年)

1978年5月30日発行

発行 富山県衛生研究所
富山市大手町1-15
電話 富山(0764)24-4991

印刷 あけぼの企画
富山市曙町9-1
電話 富山(0764)33-3856

昭和52年度 富山県衛生研究所年報正誤表

頁	行	誤	正
22	左上12	対象症患	対象疾患
22	下5(表1)	$5 \times 10^8 / ml$	$5 \times 10^8 / ml$ 0.01ml
23	左下6	115℃3-5	115℃3~5分
23	右上4	スク機	クス機
24	上3(図2)	glucose → Glucose	G-1-PUT glucose → Glucose
24	上7(図2)	acid+Galactose	acid+NADPH
24	上11(題)	Beutler法	Beutler法
27	下2(表2)	流産胎	流産胎児
35	左下8	1972	1969
36	下線中(図8)	200 300	100 200
36	図8	説明脱落	上段黒点部コガタイエカ 下段白色部シナハマダラカ群
38	左下10	Cx.Pipies	Cx:pipiens
41	図3	天地逆	
43	右上7	Rress	Press
45	右上10	大阪系23代	大阪港系23代
45	左上18	1卵ずつ	1卵塊ずつ
45	下1(図1)	交系3系統	交雑系3系統
50	右上5	結果と調査	結果と考察
63	左上11	O.vovulus	O.volvulus
63	左上17	Simulum	Simulium
63	脚注	グアテマウ	グアテマラ
67	上2(表3)	脂体 ⁵⁾	脂肪体 ⁵⁾
67	上18(表4)	脂体 ⁶⁾	脂肪体 ⁶⁾
		卵胞率	保持率
78	下12(表2)	高校生の計脱落	129
101	左下12(図1)	3×10	3×10^4
137	左下4	倍から	4倍から
145	右上9	訪門先	訪問先
156	下3(表3)	ひらまき背肉	ひらまさ背肉
156	下8(表3)	いしまち	いしもち
167	左上7	1977年5年	1977年5月
172	左上7	D.tatura L.	D.Tatula L.
182	下3(表2)	♂	♂
189	左上14および21	D.Tatura L.	D.Tatula L.
210	左上3および6	除々に	徐々に
227	下4および11	J.Env. Res.	J.Env.Res.