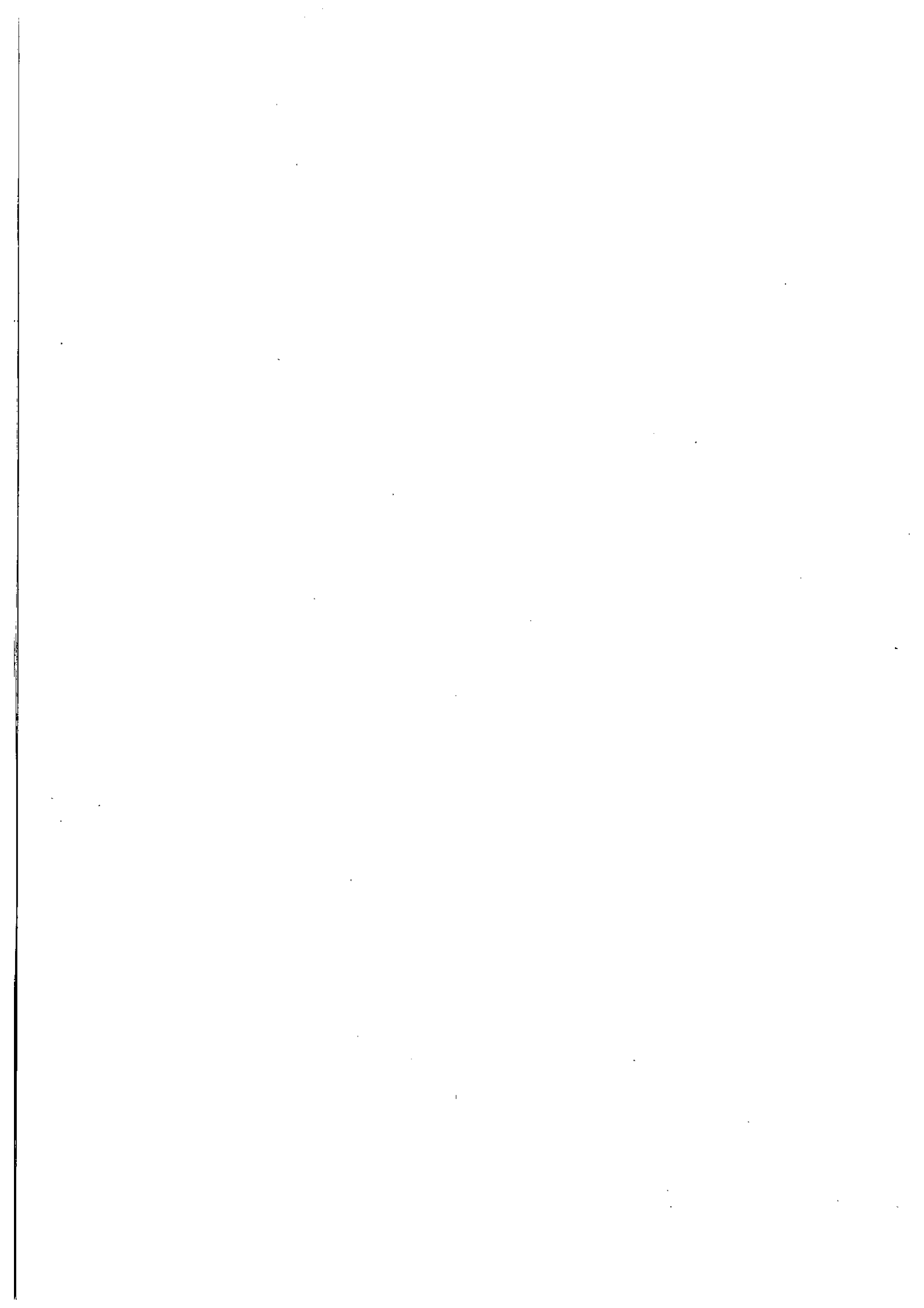


富山県衛生研究所年報

(平成14年度)

第26号

富山県衛生研究所



は じ め に

国は財政事情が悪化の一途をたどる状況の中でも科学研究費については、少なくともこれまで、充実策をとり続けています。それはひとえに科学技術立国を成し遂げなければわが国の行く末は暗いとの基本認識にもとづいています。その中で、地方の活性化、特色ある展開も意識されており、「富山医薬バイオクラスター」(文部科学省)の成立はその好例です。全国各候補地域との競争に競り勝ち、この「知的クラスター」に選定されるに至るまでの富山県のすべての関係の方々の多大のご努力に敬意を表します。同時に、協力機関に位置づけられた当衛生研究所にも相応の貢献が求められるものと自覚しています。

私たちは「地域の健康とくらしの安全を科学する」というミッションの下に活動していますが、そのためには、県への一層の支援のお願いと共に、国の科学研究費総額のうち最も大きな部分を占める文部科学省の支援はどうしても必要です。しかし、これまで同省の研究指定機関ではなかったということにより、その競争的資金を獲得するための土俵(研究費応募)にすら上れないでいました。しかし、当研究所は14年度、指定機関としての認定を受けることが出来、15年度分としていくつかの応募を行い、2件が採択されました。地方衛生研究所は全国に70以上設置されていますが、指定機関認定は大阪府、山梨県などに次いで5番目です。機関指定に至るには膨大な書類作成、資料集め、理論的検討など所内各位のなみなみならぬ努力があったことを記し、感謝します。

14年度には、これまでの所内規則の再点検、たとえば、「動物実験指針」の動物愛護と医学研究の調和についての今日的な見方にあわせての修正、加筆などの他に、研究における個人情報保護を中心とする「倫理指針」の策定、「組換えDNA実験指針」の策定などに着手すると共に、富山県の新方針に沿って、第三者による「研究評価システム」の策定も行いました。こうして平成14年度は当研究所としてさまざまな面でのソフトの整備、充実に注力したことになります。そのいずれもが、当研究所の時代に則した展開をはかるうえで重要な意味をもつことになるでしょう。

14年度末頃から重症急性呼吸器症候群(SARS)、いわゆる新型肺炎に向き合うことになりました。委細は次年度の年報にゆずるべきですが、風化しないうちにあえて一点のみ記しておきます。県厚生部、感染症指定病院、厚生センター、検疫所、消防関係など県内の各関係機関あげての真摯な取り組みがなされてきました。こうした事態においては、いたずらにパニックに陥らず、また、極端な楽観論にも陥らないことが基本的に重要です。そのためには、SARSの限られた情報を冷静に、科学的に整理、解釈する能力と、それにもとづき、現場の実情に則して感染拡大を防ぐ最も有効な手だてを採っていく必要があります。今回のSARSでは、各国の経験に鑑み、患者、感染者の早期発見と隔離、院内感染の防止などが鍵でした。しかし、筆者も含めてこの種の事態の経験も乏しく手さぐりでした。そのような状況において、富山医大の感染症専門医としての安岡彰助教授と当研究所のバイオセーフティ担当者との連携による助言、指導は大変有益でした。深く感謝します。SARSはとりあえず終息の気配を見せていますが、予断を許しません。ひきつづき、関係の皆様と共に、その対応に万全を期したいと思います。

本来ならば、各研究部の主要実績を列挙すべきですが、紙数に限りがあり割愛いたします。それぞれの研究報告を御覧いただければ幸いです。一言だけ加えるとすれば、当研究所には極めて新鮮かつ貴重な検体がたえず集積されます。大学とは比べものになりません。この素材を有効に利用し、もっともっと「健康とくらしの安全を科学する」べく最善の努力をしまいたいと存じます。御指導、御鞭撻のほどよろしくお願い致します。

平成15年7月

富山県衛生研究所長

永井美之

目 次

1. 運 営

(1) 沿革および組織機構	1
(2) 施設の概要	2
(3) 職 員 数	2
(4) 職 員 一 覧	3
(5) 予 算 概 要	5
(6) 各部の業務概要	14
(7) 検 査 状 況	26
(8) 講 師 派 遣	30
(9) 研 修 指 導	32
(10) 研 修 受 講	32
(11) 客員研究員等招へい	33
(12) セミナーの開催	33

2. 調査研究報告

先天性代謝異常等マススクリーニングの成果について（平成14年度の検査成績）	35
九曜雅子, 米田 豊, 前田多美子, 加藤丈士, 中嶋寿絵	
乾燥ろ紙血液中ガラクトースおよびアミノ酸の一斉HPLC分析法	48
米田 豊, 九曜雅子	
ヒト染色体に関する調査研究—血液, 骨髄液—（平成14年度）	55
林 美貴子, 本田幸子, 加藤丈士	
ヒト染色体に関する調査研究—羊水・流産胎児—（平成14年度）	62
本田幸子, 林 美貴子, 加藤丈士	
家屋に侵入越冬するカメムシの飛来生態	68
II. スコットカメムシの近年の飛来状況	
渡辺 護	
日本脳炎流行予測調査	74
渡辺 護, 長谷川澄代, 米道暁彦	

ポリオ流行予測調査	85
岩井雅恵, 中山 喬, 松浦久美子, 長谷川澄代, 安藤秀二, 永井美之, 遠藤京子, 田中桂子, 飛田忠嗣, 田中有易知, 宮田英喜	
インフルエンザ流行予測調査	92
松浦久美子, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 中山 喬, 安藤秀二, 永井美之, 田中佳子, 飛田忠嗣, 遠藤京子, 田中有易知, 宮田英喜	
ノーウォーク様ウイルス (NLV) による急性胃腸炎の集団発生について (2002年度)	100
長谷川澄代, 岩井雅恵, 松浦久美子, 中山 喬, 安藤秀二, 永井美之	
河川水や下水から分離されたポリオウイルス: VP1 領域と 3D 領域の遺伝子解析による	105
リコンビナントポリオウイルスの調査 松浦久美子, 石倉康宏, 永井美之, 吉田 弘, 堀江 均	
病原体を取り扱う職員の健康と安全管理に関する調査 (第 2 報)	111
安藤秀二, 永井美之	
1980~2002年に富山県でヒトおよび河川から分離されたサルモネラの薬剤耐性	115
磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 清水美和子, 香取幸治	
溶血レンサ球菌感染症流行予測調査	122
田中大祐, 香取幸治, 細呂木志保, 磯部順子, 木全恵子, 刑部陽宅, 永井美之, 田中桂子, 田中有易知	
高圧注入法-GC/MSによる, 海水中の低濃度有機スズ化合物の検出	127
大浦 徹, 大戸幹也, 松永明信	
女子中学生の骨密度と骨代謝指標についての 1 年後の追跡調査	130
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司	
中国・内モンゴル自治区草原地域におけるタン茶飲料中フッ素濃度について	136
新村哲夫, 張 焱, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 西野治身, 梶田悦子, 江藤真紀, 王 紅兵, 鏡森定信, 畢 力夫	
一般健常者における尿中アルキルリン酸の検出	140
中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄	
血清アディポネクチンと肥満指標, 血清脂質およびライフスタイルとの関連	144
田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄	

3. 資 料

Nuchal translucency を主訴とした羊水染色体分析の検討	149
本田幸子, 林 美貴子	
小核試験における幼若赤血球出現頻度の検討	152
林 美貴子, 本田幸子	
富山県における平成14年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	155
岩井雅恵, 中山 喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 松浦久美子, 永井美之	
漁港における腸炎ビブリオ調査 (平成14年)	157
刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 木全恵子, 香取幸治, 永井美之, 松澤留美子	
富山県における2002年の病原微生物検出情報	162
木全恵子, 清水美和子, 細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 永井美之	
屋外及び屋内プール水中の消毒副生成物について	167
健名智子, 大戸幹也, 高柳信孝, 松永明信	
富山湾の深層水の成分調査 (II)	171
高柳信孝, 大浦 敏, 齊藤行雄, 山本 敦, 小玉修嗣, 健名智子, 大戸幹也, 松永明信	
平成14年度食品衛生 (理化学) 検査機関の精度管理調査について	179
大戸幹也, 齊藤行雄, 松永明信, 坂森寛治	
平成14年度水道水質検査の精度管理事業について	183
健名智子, 高柳信孝, 松永明信	
女子中学生の血清中エストロジオール値と骨密度の関係	190
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司	
健常成人の尿中バイオピリン濃度について	192
堀井裕子, 新村哲夫, 張 淼, 鏡森定信	

4. 業 績

(1) 誌上発表	195
(2) 特別講演等	214
(3) 学会発表等	215
(4) 受賞, 学位授与, 資格取得等	221

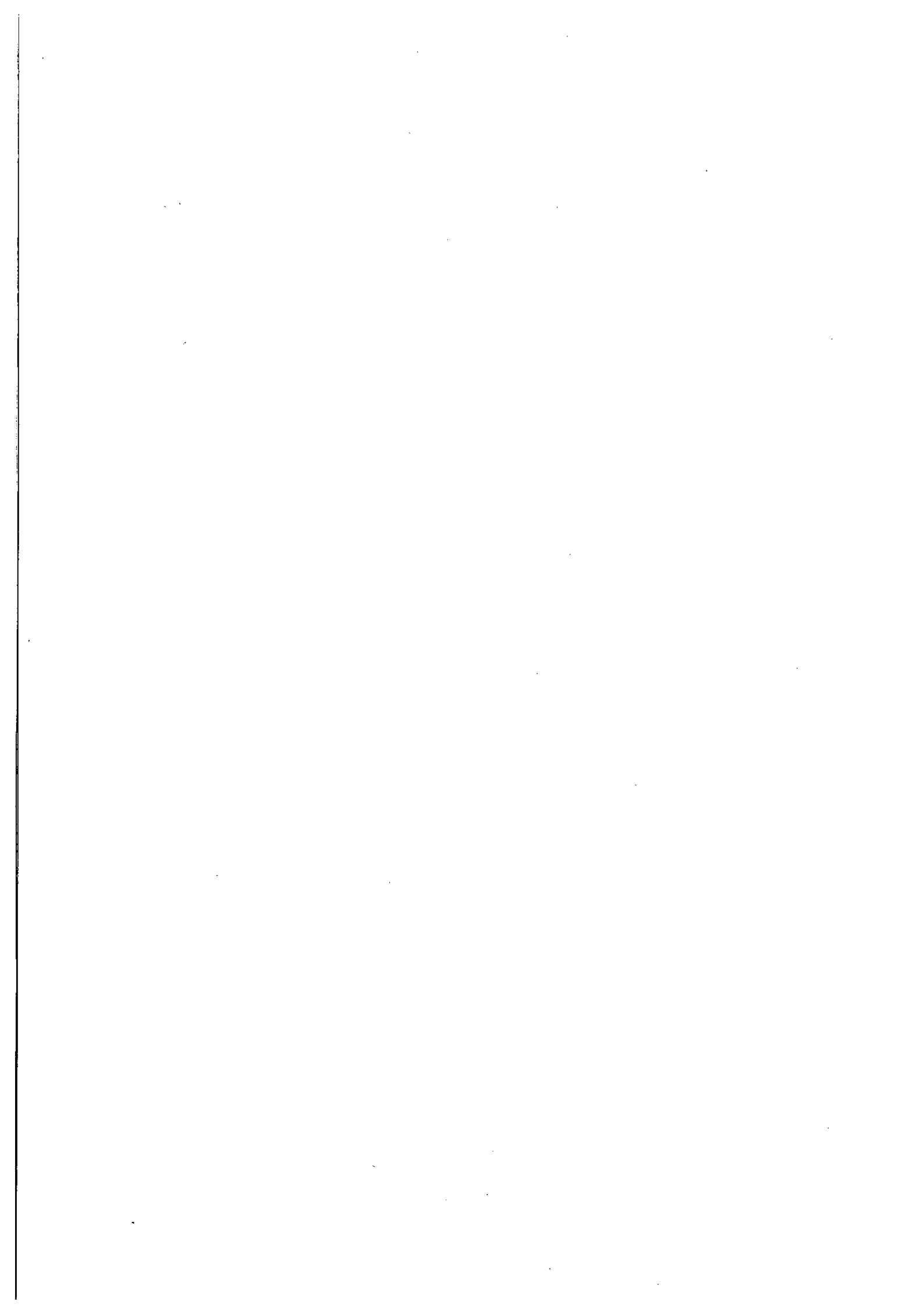
Reports

A Survey Report on the Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture (April 2002~March 2003)	35
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Tamiko MAEDA, Takeshi KATO and Hisae NAKAJAMA	
Simultaneous Analysis of Galactose and Amino Acids in Dried Blood Specimens by HPLC	48
Yutaka YONEDA and Masako KUYO	
Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells	55
Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA and Takeshi KATO	
Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells and Fetal cells	62
Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI and Takeshi KATO	
Notes on the Flight Behavior of Stink Bugs Invading Houses for Hibernation	
II. Flight Activity of <i>Menida scotti</i> in Recent Years.	68
Mamoru WATANABE	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2002.....	74
Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA and Akihiko YONEMICHI	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture	85
Masae IWAI, Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Shuji ANDO, Yoshiyuki NAGAI, Kyoko ENDO, Keiko TANAKA, Tadatsugu TOBITA, Yuichi TANAKA and Hideki MIYATA	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture	92
Kumiko MATSUURA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Takashi NAKAYAMA, Shuji ANDO, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA, Tadatsugu TOBITA, Kyoko ENDO, Yuichi TANAKA and Hideki MIYATA	
Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norwalk-like Virus(NLV) in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2002	100
Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI	
Characterization of Poliovirus Isolates from River Water and Sewage : Presence of Recombinant Polioviruses between the VP1 and 3D Regions	105
Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA, Yoshiyuki NAGAI, Hiromu YOSHIDA, Hitoshi HORIE	

Investigation on Health Management and Biosafety Control for the Staff Handling Pathogens (the 2nd Report)	111
Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI	
Drug Resistance of <i>Salmonella</i> Isolated from Human and River Water in Toyama Prefecture, 1980–2002	115
Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI, Miwako SHIMIZU and Kouji KATORI	
Epidemiological Surveillance of Hemolytic Streptococcal Infections in Toyama Prefecture	122
Daisuke TANAKA, Koji KATORI, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Yotaku GYOBU, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA and Yuichi TANAKA	
Detection of Organotin Compounds in Seawater by a High-pressure Injection GC/MS System	127
Takashi OHURA, Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA	
A One-year Follow-up Study on the Bone Mineral Density and Bone Metabolic Markers in Junior High School Girls	130
Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI	
Fluoride Concentration in Brick Tea Water in Grassland Area of Inner Mongolia, China	136
Tetsuo SHIMMURA, Miao ZHANG, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI, Harumi NISHINO, Etsuko KAJITA, Maki ETOH, Hongbing WANG, Sadanobu KAGAMIMORI and Lief BI	
Detection of Urinary Alkylphosphate in Healthy Adults	140
Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA and Tetsuo ARATANI	
Serum Adiponectin in Relation to Obese Indices, Serum Lipids and Lifestyle	144
Tomoko TANAKA Hirofumi NAGASE and Tetsuo ARATANI	

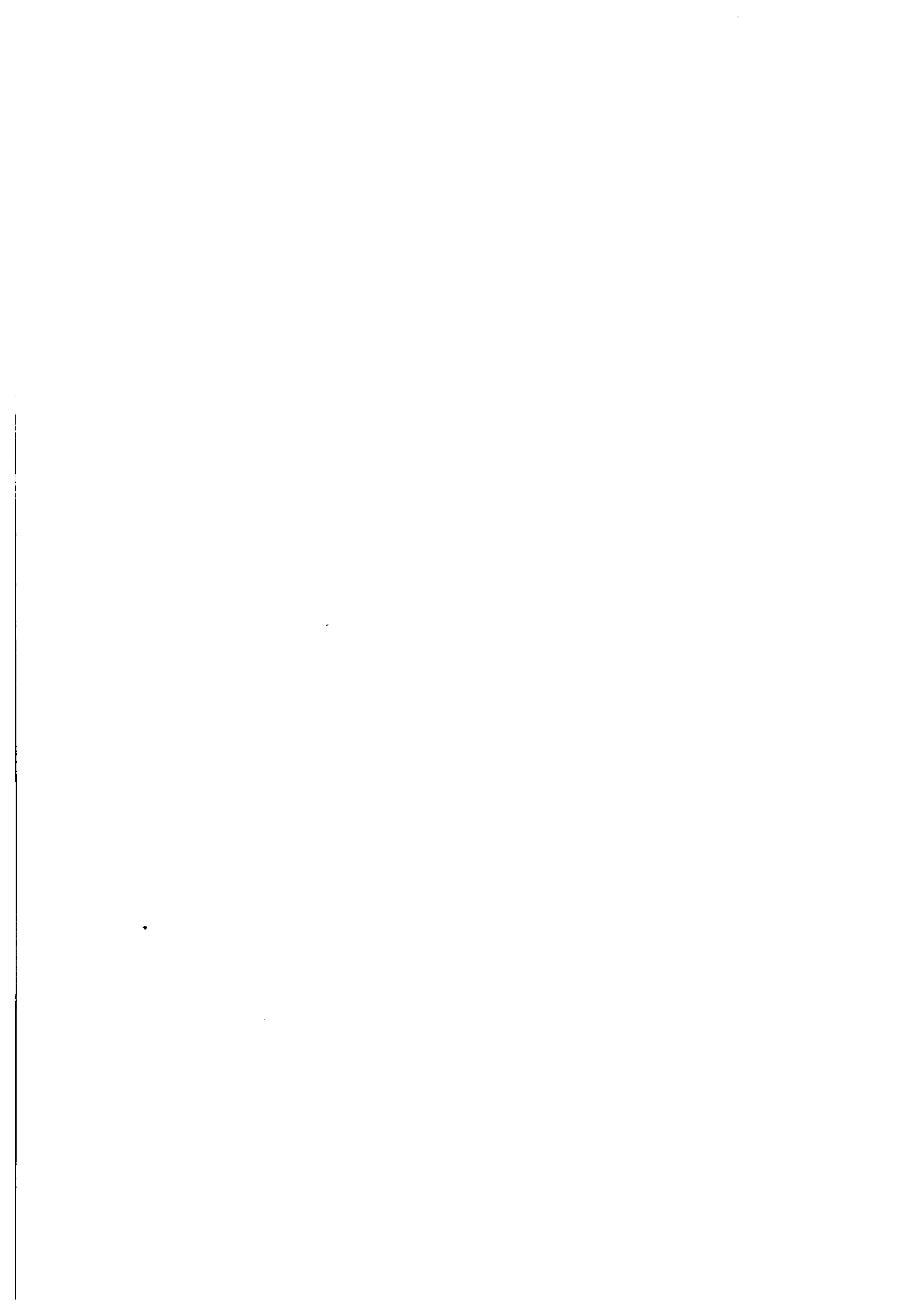
Notes

Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells with Fetal Nuchal translucency	149
Sachiko HONDA and Mikiko HAYASHI	
Studies on the Frequency of Young Erythrocytes in the Micronucleus Test	152
Mikiko HAYASHI and Sachiko HONDA	
Detection of Viruses and Rickettsiae from Infectious Diseases in Toyama Prefecture, April 2002 to March 2003	155
Masae IWAI, Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA, Shuji Ando, Kumiko Matsuura, Yoshiyuki NAGAI	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture	157
Yotaku GYOBU , Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Keiko KIMATA, Koji KATORI, Yoshiyuki NAGAI and Rumiko MATSUZAWA	
Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2002	162
Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Shiho HOSOROGI, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE and Yoshiyuki NAGAI	
Determination of Disinfection By-Products in Outdoor and Indoor Swimming Pool Waters	167
Tomoko KEMMEI, Mikiya OHTO, Nobutaka TAKAYANAGI and Akinobu MATSUNAGA	
Investigation of Components in Deep Sea Water of Toyama Bay (II)	171
Nobutaka TAKAYANAGI, Takashi OHURA, Yukio SAITO, Atushi YAMAMOTO, Shuji KODAMA, Tomoko KEMMEI, Mikiya OHTO and Akinobu MATUNAGA	
Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	179
Mikiya OHTO, Yukio SAITO, Akinobu MATSUNAGA and Kanji SAKAMORI	
External Quality Control of the Quantification of Lead, Chloride Ion and Nitrate-nitrogen in Water	183
Tomoko KEMMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and Akinobu MATSUNAGA	
Relationship between the Serum Estradiol Level and Bone Mineral Density in Junior High School Girls	190
Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI	
Urinary Biopyrrin Concentration in Healthy Adults	192
Yuko HORII, Tetsuo SHIMMURA, Miao ZHANG and Sadanobu KAGAMIMORI	



1. 運

營



1. 運 営

(1) 沿革および組織機構

昭和22年10月1日	富山県部設置条例の規定により衛生部が設置され、衛生試験検査を所管。
昭和23年1月1日	衛生部公衆衛生課が設置され、細菌検査所、衛生試験室を併置。
昭和23年4月7日	厚生省が「地方衛生研究所設置要綱」を提示。
昭和34年3月30日	旧研究所の庁舎が完成。
昭和35年3月28日	富山県衛生研究所設置条例が公布され、4月1日から職員9名の構成で発足。
昭和36年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、課・係制が設けられ職員17名に拡充強化（庶務係、細菌課、ウイルス血清課、食品衛生課、生活環境課）。
昭和37年11月30日	旧研究所の増築。
昭和38年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、所長代理制が設けられ、また、課名の一部（庶務係を庶務課に、ウイルス血清課をウイルス病理科に）を変更。
昭和39年5月18日	「地方衛生研究所設置要綱」改正。
昭和39年10月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査課を新設。
昭和43年7月10日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、「所長代理」制を「次長」制に変更。
昭和44年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により従来の課制を廃止し、部制を設置し部に主任研究員を配置（病理生化学部、微生物部、食品科学部、公害調査部）。
昭和46年4月15日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査部所管の業務が公害センターに移管され、また、各部の名称を変更（病理部、ウイルス部、細菌部、化学部、環境保健部）。
昭和51年9月10日	「地方衛生研究所設置要綱」が改正され、「公衆衛生情報の解析提供」が設置目的に追加。
昭和55年12月20日	研究所新庁舎小杉町中太閤山で建設着工。
昭和57年6月10日	小杉町中太閤山に新庁舎完成。
平成元年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、病理部をがん研究部に名称を変更。
平成4年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、庶務課を総務課に名称を変更。
平成12年7月1日	衛生研究所内に富山県感染症情報センターを設置。
平成14年9月4日	文部科学大臣から科学研究費補助金取扱規定第2条第4号の研究機関に指定。
平成15年5月28日	富山県衛生研究所倫理審査委員会を設置。
平成15年5月28日	富山県衛生研究所研究評価委員会を設置。

(2) 施設 の 概 要

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

(3) 職 員 数

（平成15年7月1日現在）

区 分	所・次長 部・課長	主 幹	主 幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主 任	主 任 研究員	再任用 主 任	研究員	主 任 業務技師	嘱 託	計
所 長	1											1
次 長	1											1
総 務 課	1			1		1				1	1	5
がん研究部	1				5		1					7
ウイルス部	所 長 事務取扱				2		1	1	2			6
細菌部	所 長 事務取扱				1		2		3		1	7
化 学 部	1		3		1		3					8
環境保健部	1	1			2		2		1			7
合 計	6	1	3	1	11	1	9	1	6	1	2	42

(4) 職 員 一 覧

(平成15年7月1日現在)

職 名	氏 名	当 所 勤 続 年 数	主 な 担 当 事 務
所 長	永 井 美 之	2.4	所内事務総括
次 長	坂 森 寛 治	1.4	所内事務の連絡調整及び調査研究の企画調整
総務課長 (出納員)	奥 沢 孝 志	0.4	人事, 予算, 出納員業務及び課内事務総括
副 主 幹 (会計員)	中 村 美千代	0.4	予算経理, 決算, 物品購入及び会計員業務並びに財産管理事務
主 任 (会計員)	清 田 今日子	5.4	給与, 旅費, 賃金の支給, 収入事務及び会計員業務
主任業務技師	高 田 宏	2.4	公用車の操車, 整備保全業務
嘱 託	谷 井 富 造	0.4	実験動物の飼育管理, 滅菌洗浄室の管理
がん研究部長	加 藤 丈 士	2.4	部内事務総括及びがんの疫学研究
副主幹研究員	渡 辺 護	34.6	衛生・不快害虫の検査研究及び防除対策に関する調査研究
〃	本 田 幸 子	32.1	染色体異常(羊水)の検査及び環境変異原物質の影響調査研究
〃	林 美貴子	32.9	染色体異常(血液)の検査及び先天異常の成因の調査研究
〃	米 田 豊	9.4	先天性代謝異常マススクリーニングの検査及び調査研究
〃	品 川 保 弘	13.3	がん発生要因の実験的調査研究
主任研究員	九 曜 雅 子	20.1	先天性代謝病の検査及び調査研究
ウイルス部長	所長事務取扱		部内事務の総括及び病原微生物の調査研究・指導
副主幹研究員	長谷川 澄 代	31.8	日本脳炎流行予測調査, 感染性胃腸炎・ウイルス性食中毒検査研究
〃	庄 司 俊 雄	25.3	感染症情報センターの運営, 患者発生情報解析
主任研究員	安 藤 秀 二	6.4	H I V検査, 動物由来感染症調査研究, リケッチア感染症調査研究
再任用主任	松 浦 久美子	0.4	インフルエンザ流行予測調査, 感染症発生動向調査病原体検査研究, 河川水のウイルス調査研究
研 究 員	小 原 真 弓	0.4	感染症発生動向調査病原体検査研究, 日本脳炎流行予測調査
研 究 員	岩 井 雅 恵	2.4	ポリオ流行予測調査, 感染症発生動向調査病原体検査研究, 河川水のウイルス調査研究

職 名	氏 名	当 所 勤 続年数	主 な 担 当 事 務
細菌部長	所長事務取扱		部内事務総括及び病原細菌の調査研究
副主幹研究員	綿 引 正 則	0.1	感染症の解析, 細菌検査法の開発, 病原細菌の生態に関する調査研究
主任研究員	磯 部 順 子	13.4	細菌性感染症の検査研究, 細菌性食中毒の原因究明及び食品の細菌学的検査研究
”	田 中 大 祐	11.4	呼吸器系病原細菌の調査研究, 原虫の検査, 感染症情報センターの運営
研 究 員	嶋 智 子	0.4	水, 医薬品及び環境細菌の検査研究, 細菌のDNAの研究
”	清 水 美和子	3.4	病原体検出情報の収集, 還元, 深層水に関する調査研究
”	木 全 恵 子	1.4	細菌の検査法と病原性の研究
嘱 託	刑 部 陽 宅	4.4	真菌の試験, 検査
化学部長	松 永 明 信	29.3	部内事務総括及び富山湾深層水の特性解明
主幹研究員	大 浦 徹	8.4	化学物質による食中毒の検査及び食品中の有害物質の調査研究
”	高 柳 信 孝	21.4	温泉の成分分析及び水道水中の有害物質の調査研究
”	齊 藤 行 雄	25.4	食品中の添加物及び残留農薬等の調査研究
副主幹研究員	山 本 敦	24.4	食品中の成分及び器具・容器・包装等の調査研究
主任研究員	小 玉 修 嗣	9.6	飲料水中の残留農薬及び農薬等の分解生成物の調査研究
”	健 名 智 子	19.4	飲料水中の揮発性有機化合物等の調査研究, 水質検査の精度管理
”	大 戸 幹 也	17.8	食品中の重金属及び家庭用品に関する調査研究
環境保健部長	荒 谷 哲 雄	1.4	部内事務総括, 農薬等生体中有害物質の調査研究
主 幹	長 瀬 博 文	1.4	カドミウム等環境化学物質の健康影響, 生活習慣病の疫学的調査研究, 深層水の海洋療法の調査研究
副主幹研究員	新 村 哲 夫	31.3	環境ホルモン等環境汚染の生体中微量有害物質の調査研究, 深層水分析・海洋療法の調査研究
”	田 中 朋 子	25.7	肥満体質遺伝子等生活習慣病の診断・予防の生化学的調査研究
主任研究員	中 崎 美峰子	18.3	農薬等環境変化に基づく生活習慣病発症要因の生化学的調査研究
”	堀 井 裕 子	16.3	骨粗しょう症等生活習慣病予防の生化学的調査研究, 神通川流域住民健康調査
研 究 員	中 山 恵理子	4.4	環境保健にかかわる検査

(5) 予 算 概 要

平成 14 年 度
予 算 概 要 (当初)

事業名	予算額	財 源 内 訳			事業内容
		使,手数料	受託事業	一般財源	
衛生研究所費	千円 85,613	千円 3,929	千円	千円 81,684	衛生研究所の運営, 維持管理, 試験検査等
試験研究費	13,129			13,129	調査研究 (15項目) 1 染色体に関する研究 2 突然変異原性に関する研究 3 疾病媒介ダニ, 昆虫類等の調査研究 4 ウイルス感染症の疫学的研究 5 ウイルスウォッチプログラム 6 リケッチアの感染免疫に関する研究 7 溶血レンサ球菌の生態に関する研究 8 河川水の微生物学的定点観測 9 病原性海水ビブリオに関する研究 10 細菌の病原遺伝子に関する研究 11 飲料水及び温泉に関する調査研究 12 食品中の成分及び添加物に関する調査研究 13 食品中の残留農薬及びその他の有害物質に関する調査研究 14 環境汚染物質の生態影響に関する調査研究 15 成人病予防に関する疫学的研究
設備充実費	7,000			7,000	試験研究及び検査用機械器具の更新等
感染症対策特別研究費	2,142			2,142	
がん等特別研究費	12,010		2,500	9,510	調査研究 (5項目) 1 がん発生の要因の実験的研究 2 水質基準成分及び食品規格成分の多成分一斉分析法の開発 3 骨粗しょう症の骨代謝指標による効率的な予防法の確立に関する研究 4 遺伝子解析による病原微生物の分子疫学的な研究 5 がん原物質と遺伝子の易損症性に関する研究
合 計	119,894	3,929	2,500	113,465	

平成14年度 歳入決算

款 項 目 節	決 算 額	備 考
	円	
使用料及び手数料	13,110,998	
手 数 料	13,110,998	
衛生手数料	13,110,998	
衛生研究所費	2,486,958	〔収入証紙 951,946 納入通知 1,535,012
環境衛生検査	10,624,040	〔収入証紙 2,472,120 納入通知 8,151,920
諸 収 入	2,537,558	
受託事業収入	2,500,000	
衛生研究所受託事業	2,500,000	
衛生研究所受託事業	2,500,000	
雑 入	37,558	
雑 入	37,558	
納付金	27,558	
雑 入	10,000	
合 計	15,648,556	

平成14年度 歳出決算

款	項	目	節	決算額	摘要
				円	
総務費				4,261,130	
	総務管理費			1,972,005	
		人事管理費		916,755	
			旅費	916,755	
		財産管理費		1,055,250	
			需用費	1,055,250	
	企画費			2,289,125	
		計画調査費		2,289,125	
			賃金	432,250	
			旅費	253,575	
			需用費	1,085,000	
			役務費	20,000	
			備品購入費	489,300	
			負担金補助及び交付金	9,000	
民生費				15,273,930	
	児童福祉費			15,273,930	
		児童福祉対策費		15,273,930	
			賃金	1,566,620	
			旅費	97,310	
			需用費	13,521,000	
			役務費	89,000	
衛生費				155,310,589	
	公衆衛生費			132,672,759	
		公衆衛生総務費		323,662	
			共済費	323,662	
		予防費		12,600,224	
			賃金	1,298,640	
			報償費	24,000	
			旅費	340,484	
			需用費	9,736,600	
			役務費	633,500	
			使用料及び賃借料	567,000	
		環境保健対策費		14,666,414	
			賃金	907,000	

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
			旅 費	265,794	
			需 用 費	4,055,000	
			諸 費	13,000	
			役 務 費	55,000	
			使用料及び賃借料	9,370,620	
		衛生研究所費		105,082,459	
			共 濟 費	767,357	
			賃 金	8,899,690	
			報 償 費	280,000	
			旅 費	3,849,802	
			需 用 費	61,043,000	
			諸 費	128,000	
			役 務 費	2,056,994	
			委 託 料	17,446,271	
			使用料及び賃借料	307,700	
			備 品 購 入 費	9,891,245	
			負担金補助及び交付金	374,000	
			公 課 費	38,400	
	環 境 衛 生 費			22,186,200	
		環境衛生総務費		12,414,400	
			賃 金	581,000	
			旅 費	223,600	
			需 用 費	10,416,000	
			役 務 費	15,000	
			委 託 料	1,092,000	
			負担金補助及び交付金	86,800	
		食品衛生指導費		9,623,935	
			賃 金	264,070	
			旅 費	325,965	
			需 用 費	8,800,000	
			役 務 費	10,000	
			委 託 料	123,900	
			使用料及び賃借料	100,000	
		環境衛生指導費		147,865	
			旅 費	46,865	
			需 用 費	101,000	

款	項	目	節	決算額	摘要
				円	
	保健所費			159,630	
		保健所費		159,630	
			共 済 費	159,630	
	公害防止費			292,000	
		公害防止対策費		292,000	
			需 用 費	292,000	
商 工 費				3,501,414	
	工 鉦 業 費			3,501,414	
		工鉦業総務費		3,501,414	
			賃 金	368,100	
			報 償 費	50,000	
			旅 費	785,584	
			需 用 費	2,074,000	
			諸 費	11,880	
			役 務 費	28,000	
			使用料及び賃借料	61,350	
			負担金補助及び交付金	122,500	
	合	計		178,347,063	

重要備品一覽

(購入価格100万円以上)

品名	購入年月日	数量	型式
等電点分画装置	49. 9. 4	1	KLB 8100
水銀分析計	50. 3. 31	1	島津 UV-201型
倒立型顕微鏡	50. 10. 30	1	日本光学 MD型
真空凍結乾燥機	50. 10. 31	1	アトモパック 卓上型NO2003型
クリオスタット	53. 1. 10	1	アメリカンオプチカル「ADクリオカット」840C型
赤外線分光光度計	54. 1. 26	1	日立 260-0613型
高速冷却遠心分離機	54. 11. 26	1	久保田
ガンマーカウンター	57. 9. 30	1	アロカ ARC-305
全自動コロニーカウンター	57. 9. 30	1	東海医理化 COP-1000
高速冷却遠心分離機	57. 9. 30	1	久保田 KR-20000T
超音波洗浄機	57. 9. 30	1	神明台 UD-2400FA
炭酸ガス培養装置	57. 9. 30	1	“ 3158型
“	57. 9. 30	1	ナプコ 5200型
赤外線放射温度計	57. 10. 20	1	三栄測器 6T53
ガスクロマトグラフ	57. 10. 12	1	島津 GC-7APrFFT型
ウサギ、マウス感染動物飼育装置	57. 10. 15	2	東洋理工 TAR-23改良型
データ処理装置	57. 10. 30	1	横河、ヒューレット、パッカード
ウサギ自動洗浄飼育機	57. 11. 12	1	日本ケージ、BAW309改良型
フラクションコレクター	57. 12. 21	1	ファルマシア・ジャパン FRARC
超低温槽	58. 3. 24	1	フォーマ 810型
超低温槽	58. 3. 24	1	フォーマ 8138型
炭酸ガス培養装置	58. 3. 31	1	フォーマ 3158型
酸素免疫システム	58. 3. 31	1	三光純薬 MR580 ミニオウオッシャー-2-315
炭酸ガス培養装置	59. 1. 10	1	フォーマ 3158型
超低温槽	59. 7. 16	1	“ 8319型
高速冷却遠心機	59. 9. 20	1	久保田 KP-20000T
ガスクロマトグラフ	59. 9. 28	1	島津 GC-7APFE
超低温槽	60. 8. 30	1	レブコ ULT-1490型
ガスクロマトグラフ	61. 9. 6	1	島津 GC-15APEF
分光光度計	61. 9. 6	1	島津 UV-160
パンチ&インデクサー	62. 8. 31	1	米国ファンダメンタルプロダクツ社製 MODEL VIIA
分光光度計	62. 9. 10	1	日立 U-2000

品名	購入年月日	数量	型式
原子吸光分光光度計	62. 9. 30	1	日立偏光ゼーマン Z-8000
デンストメーター	63. 7. 20	1	島津 二波フライングスポットスキャナーCS-9000
電気泳動装置	63. 10. 11	1	ファルマシア社ファーストシステム
高速液体クロマトグラフ	63. 10. 21	1	東ソ-CCP-8000
落射蛍光顕微鏡装置	1. 8. 11	1	オリンパス BHT-RFK-A2型
蛍光測定システム	1. 9. 8	1	島津 デンストメータ (CS-9000)用
フォトダイオードアレイ検出器	1. 9. 14	1	島津 SPD-M6A
遠心分離機用ローター	1. 11. 19	1	日立工機 スイングローターRPS50-2
純水製造装置	1. 12. 19	1	ミリポア ミリー-QSP
ガスクロマトグラフ	2. 3. 31	1	島津 GC-14APSC タンデムGC システム
分光光度計酵素反応システム	2. 9. 20	1	島津 UV-2200
高速液体クロマトグラフクラジェント装置	2. 9. 20	1	島津 LC-9A
ガスクロマトグラフ質量分析計	2. 11. 5	1	島津 GCMS-QP2000GF
超低温槽	2. 11. 6	1	レブコ ULT-2050
炭酸ガスインキュベーター	3. 2. 8	1	サンヨーフォマMIP-3193
スローモーション解析装置付ビデオ撮影記録機	3. 9. 30	1	ソニー
パルスフィールド電気泳動装置	3. 9. 30	1	バイオラッド CHEF-DR II
分光蛍光光度計	3. 11. 30	1	日本分光 FP-777
高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器	4. 3. 6	1	島津 RF-550
パラフィンブロック作製装置	4. 3. 12	1	サクラ精機 テイシュー・エンベンディング・コンソール#4596
クリーンベンチ	4. 3. 31	1	日立冷熱 CCV-1301EC 型
万能顕微鏡	4. 9. 30	1	オリンパス
ガスクロマトグラフ	4. 11. 30	1	島津 GC-14B
DNA 合成装置	4. 11. 30	1	ファルマシアLKB ジーンアッセンブラースペシャル
マイクロプレートウォッシャー	5. 3. 10	1	米国ダイナテック ウルトラウォッシャー II
紫外可視分光光度計	5. 3. 25	1	島津 UV-160A
濃縮導入装置	5. 3. 25	1	テクマー社 LSC-2000
パーズ&トラップ濃縮装置用自動試料注入装置	5. 11. 10	1	テクマー社 AQUA Tek 50
ガスクロマトグラフ質量分析計	5. 11. 30	1	島津 GC/MS QP-1100WA
高速液体クロマトグラフ	5. 12. 24	1	日立製作所 L-6300
デシントグラフ	6. 1. 20	1	アト- (株) プリントグラフ AE-6910型
超低温フリーザー	6. 2. 28	1	三洋電機 MDF-382AT

品名	購入年月日	数量	型式
高速冷却遠心機	6. 2. 28	1	久保田 MODEL 6800型
炭酸ガス培養装置	6. 8. 10	1	フォーマー MIP-3139型
花粉用画像解析及び計測システム	7. 1. 31	1	入力基盤 英国John Blishen Image Grabber24 SIMモジュール アドテック ADM-64M72F
高速液体クロマトグラフ用旋光度検出器	7. 3. 1	1	日本分光(株) OR-990型
高速冷却遠心分離機	7. 3. 7	1	久保田 MODEL 6800型
遺伝子導入装置及び解析装置	7. 3. 22	1	バイオラッド社
有機溶媒漏出防止装置	7. 4. 28	1	東京理化 CA-1100
液体クロマトグラフ用屈折率検出器	7. 5. 16	1	Shodex RI-7, OVEN AO-30C
落射蛍光顕微鏡	7. 6. 7	1	オリンパス光学工業 BX50-34-FLA型
超低温フリーザー	7. 6. 15	1	サンヨーMDF-493型
キャピラリー電気泳動システム	7. 9. 30	1	ヒューレットパッカー製
減圧遠心濃縮機	7. 10. 2	1	東京理化製
高速液体クロマトグラフ装置	7. 10. 13	1	ウオーターズ製
超低温フリーザー	7. 10. 13	1	サンヨーMDF-493型
感染症サーベイランスオンラインシステム	8. 3. 29	1	NEC PC-9821XT 16/R16
洗浄機	8. 3. 29	1	三光純薬製
オートダイリューター	8. 3. 29	1	三光純薬製 SGR250
超低温フリーザー	8. 8. 28	1	サンヨーMDF-592型
超低温槽	8. 10. 9	1	レブコ製 ULT-1786
原子吸光光度計	8. 11. 27	1	島津製作所製 AA-6700
染色体DNA電気泳動システム	8. 12. 26	1	バイオラッド社製 GS-700
マイクロプレートリーダー	9. 2. 26	1	コロナ社製 MTP-100F, MTP-120, カイロン社製
アミノ酸分析システム	9. 3. 14	1	日本分光製
ガスクロマトグラフシステム	9. 3. 17	1	島津製作所製
オートインジェクター	9. 7. 18	1	日本分光製 AS-950-10
落射蛍光顕微鏡	9. 8. 29	1	ニコン社製 E-600-D
画像処理装置	9. 10. 13	1	アビオ製フィルムレコーダー 他
サプレッサー型イオンクロマトグラフ	9. 11. 27	1	日本ダイオネックス社製 DX-500
蛍光式DNAシーケンサー	9. 12. 15	1	パーキンエルマー社製 310-1-T
ELISA測定システム	10. 2. 26	1	バイオラッド社製
液体クロマトグラフ用三次元検出器	10. 4. 30	1	島津製作所 SPD-M10AVP
高速液体クロマトグラフ	10. 6. 30	1	島津製作所 LC-VP

品名	購入年月日	数量	型式
高速液体クロマトグラフ用オートインジェクター	10. 7. 10	1	島津製作所 SIL-10ADVP
ガスクロマトグラフ	10. 8. 21	1	ヒューレットパッカード社製 HP6890型
データ処理装置	11. 3. 30	1	日本分光製 HPLCプロジェクターBORWIN
全自動化学発光システム	11. 3. 31	1	日本分光製ガリバー 1500シリーズ
フリーザー	11. 7. 29	1	レブコ ULT-2050-3
分光光度計	11. 9. 24	1	日立 U-3010
フリーザー	11. 9. 28	1	レブコ ULT-2050-3
細胞チェッカー	11. 10. 5	1	オリンパス CK40-32RPC
超低温フリーザー	11. 12. 14	1	三洋電機製 MDF-493型
マイクロウェーブ分解装置	11. 12. 22	1	アステック社製
高速液体クロマトグラフ装置	12. 6. 30	1	横河アナリティカルシステムズ社製 HP1100
マイクロプレートリーダー	12. 9. 13	1	日本バイオラッド
分離用超遠心機	12. 11. 30	1	日立CP100MX
パルスフィールド電気泳動装置	12. 12. 15	1	日本バイオラッドCHEF-DRⅢチラーシステム
透過型電子顕微鏡	13. 3. 5	1	日製産業(株) 日立H-7600形
落射型蛍光顕微鏡	13. 3. 15	1	オリンパスBX51-34-FL-2
高速液体クロマトグラフ装置のダイオードアレイ検出器	13. 9. 28	1	横河アナリティカルシステムズ社製
染色体分析制御装置	13. 11. 30	1	カールツァイス社製(イカロス)
染色体核型分析用画像処理システム	13. 11. 30	1	カールツァイス社製(イカロス)
大型フリーザー	14. 2. 15	1	SANYO MDF-U50V
ヘッドスペースオートサンプリャー付ガスクロマトグラフ	14. 6. 14	1	島津製作所 GC-17AAF
高速冷却遠心機	14. 8. 30	1	久保田 7700型
ガスクロマトグラフ(GC)ワークステーション	14. 9. 5	1	アジレントケミステーション G2070AJ
FISH画像処理システム	14. 9. 30	1	カールツァイス社製
インテリジェント紫外可視検出器	14. 9. 30	1	日本分光 UV-2077型

(平成15年3月31日現在)

(6) 各部の業務概要

がん研究部

〔行政および依頼検査〕

先天性代謝異常等マススクリーニング

平成14年度の検体総数は11,216件で、県内60か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検児は出生数の92.6%（里帰り分娩を含めると107.6%）であり、前年同様高い割合であった。検査項目は、フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の6疾患である。検査の結果、要精密検査として57人（フェニルケトン尿症疑い3人、メイプルシロップ尿症疑い3人、ガラクトース血症疑い2人、先天性甲状腺機能低下症疑い27人、先天性副腎過形成症疑い22人）がスクリーニングされ、クレチン症3人および良性高フェニルアラニン血症1人の患者が発見された。

染色体検査

平成14年度の検査受付件数は、血液88件、羊水75件、自然流産胎児18件の計181件で、うち、染色体異常を示したものは、血液7件（21トリソミー型ダウン症候群1件、ターナー症候群1件、均衡転座保因者5件）、羊水8件（18トリソミー症候群3件、21トリソミー型ダウン症候群2件、13トリソミー症候群1件、YYモザイク1件、逆位（8）1件）、流産胎児11件（ターナー症候群3件、21トリソミー型ダウン症候群1件、16トリソミー症候群1件、Cトリソミー1件、21・22各トリソミー1件、由来不明染色体2本過剰1件、均衡転座保因者由来不均衡2件、3:1分離による異常1件）の計26件であった。

染色体検査の依頼理由（主訴）は、血液では反復流産、羊水では高齢妊娠、流産胎児では流産を繰り返すが最も多かった。

衛生動物検査

行政検査として、日本脳炎流行予測事業の媒介蚊の発生調査を5ヵ所の畜舎で昨年に引き続き行った。14年度のコガタアカイエカの発生状況は定点「黒部」では増加したが、他の4定点では前年度よりも減少した。また、本県におけるダニ媒介性の感染症の浸淫状況を把握するために、県下5地点でダニの採集を行った。

この他、保健所依頼の食品混入昆虫など20件と、行政機関および各種事業所からの分類同定を合計して1,789件の検査を行った。

〔調査研究〕

がん発生要因に関する研究

胃癌発生背景要因の疫学的研究の結果に基づき、上水道及び自然水を溶媒とした培養液を用いた場合の種々の培養細胞の増殖に及ぼす影響を引き続き検討している。また、アフリカミドリザル腎組織由来VERO細胞を用い、染色体核型を指標とした変異原性の検出方法についての検討を継続している。

富山県における大腸がんの発生背景要因をさぐるための症例対照研究を実施している。平成14年度末までに、症例として男性78名（平均年齢66.4歳）、女性74名（平均年齢64.8歳）の合計152名について、面接聞き取り調査を実施した。

先天性代謝異常症等のマススクリーニング検査に関する研究

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による新生児マススクリーニングろ紙血液中のガラクトー

ス分析法の一部を改良することで、メチオニン (Met) , フェニルアラニン (Phe) およびロイシン (Leu) を含む17種類のアミノ酸を分離できた。本改良法はフェニルケトン尿症, マープルシロップ尿症, ホモシスチン尿症の他, 成人発症Ⅱ型シトルリン血症 (SLC25A13異常症) の確認にも応用可能であり, マスクリーニングの2次検査法として有用と考えられる。

遺伝子易損傷性に関する研究

培養酸素濃度がヒト培養細胞に及ぼす影響をアルカリングルゲル電気泳動法を用いて検討した。同様にジエチルステロールおよび炭酸リチウムについても検討した。いずれも単独では明らかなDNA損傷は観察されなかった。しかし, メチルメタンサルフォネートが誘発するDNA損傷を増強し, マイトマイシンCが誘発するDNA損傷の修復を阻害した。このことから, 被験物質が細胞におよぼす影響として, 細胞へのDNA損傷の蓄積が示唆された。

染色体に関する研究

通常の染色体分析では判定が困難な場合, さらにより正確で迅速な判断が求められた場合, FISH (fluorescence in situ hybridization) 法との併用が有効であり, その応用法を検討した。モザイク型の異常を疑われた例ではモザイクの割合を休止核を用いた分析法で簡便に判定できた。また, 不育症の夫婦では染色体異常が低頻度観察されることが多く, モザイクの見逃し, または培養による不分離についてFISH法を用い, 検討中である。

環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究

既存天然添加物・ナリンジン, カリソルトおよび植物性ステロールの安全性を調査するため, マウス末梢血を用いた小核試験法により, その変異原性を検討した。その結果, 有意な小核誘発頻度の上昇は認められなかった。

衛生動物に関する研究

イヨシロオビアブ (オロロ) の効果的な吸血被害阻止法としてのボックストラップによる誘殺について, 利賀村, 福光町および大山町で実用的な検討を行ったところ良好な成績が得られた。また, 家屋侵入性カメムシ (ヘクサンボ) に対して天然テルペン製剤の忌避・殺虫活性を前年度に引き続き実地試験で評価したところ, 実用が可能であることが示唆された。

ウ イ ル ス 部

〔行政および依頼検査〕

感染症発生動向調査における病原体検査および厚生センター等から依頼のあった検体についてウイルス分離検査を実施した。インフルエンザおよび呼吸器系疾患の200検体からは, A (H3) 型インフルエンザウイルス77株, B型インフルエンザウイルス51株が分離された。これらの検体の多くはインフルエンザ流行予測調査を兼ねており, 詳細については, 本年報に掲載されている流行予測調査の報告を参考にされたい。感染性胃腸炎では85件の依頼があり, このうち54件においてウイルスが検出された (SRSV44件, アデノウイルス1件, A群ロタウイルス9件)。なお, 感染性胃腸炎の集団発生7事例 (すべての事例でSRSVを検出) のうち3事例において, 無症状の施設関係者からもSRSVが検出された。食中毒の2事例においてもともにSRSVが検出された。無菌性髄膜炎では, 7例の検査依頼があり, 5例においてエコーウイルス13型が分離された。手足口病では28事例中26例においてコクサッキーウイルスA16型が分離された。麻疹では3例中1例において麻疹ウイルスが分離された。リケッチア関係では, 28例についてQ熱の病原体検出を行なったが, Q熱リケッチアは検出されなかった。

動物由来感染症実態調査

平成13年度から野生動物が関連する動物由来感染症の発生監視体制の確立を目的に、野生げっ歯類をモデル動物として調査を行っている。昨年度に引き続き、新たに捕獲した野生げっ歯類（アカネズミ82匹、ヒメネズミ8匹、ハタネズミ2匹、ハツカネズミ1匹、ドブネズミ6匹、その他げっ歯類5匹の計104匹）について腎症候性出血熱ならびにライム病の浸淫調査を行った。さらに旗ざり法により採取したマダニ類（シュルツェマダニ、ヤマトマダニ、フタトゲチマダニ、キチマダニ）についてPCRによりライム病ボレリアの検出を試みた。げっ歯類の耳介から直接DNAを抽出してのBorrelia属を標的としたPCR、腎症候性出血熱ならびにライム病ボレリアに対する抗体検出等のスクリーニングを終え、判定保留となったものを含めて精査検討中である。

HIV抗体検査

平成14年4月から平成15年3月までの1年間に131件の検体について抗体スクリーニングを行い、内2件について確認検査ならびにフォローアップを行ったが全て陰性であった。

感染流行予測調査

日本脳炎：日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生は、例年どおり8～9月に多くなる消長を示した。一方、県内産ブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有率は7月は5%、8月は2.5%であったのが、9月に41%に上昇し、さらに10月には84%になった。ウイルスの新鮮感染を示唆するIgM抗体保有ブタは9月に入って9頭（47%）、さらに10月に11頭（20%）も確認された。以上のように、昨年よりも全体としてコガタアカイエカの発生量が減少したにもかかわらず、昨年同様、富山県内への日本脳炎ウイルスの浸淫は、9月に始まり、少なくとも10月末までブタの間で感染が拡大した。これらの「日本脳炎ブタ情報」を富山県感染症情報センターのホームページに毎週掲載して県民に知らせた。

ポリオ：厚生労働省委託事業の感染源調査と県単独事業の感受性調査を実施した。感染源調査では、ポリオワクチン投与終了後2か月以上経過した時期（9月及び1月）に、0歳から6歳までの乳幼児59名から糞便を採取し、ウイルス分離検査を実施した。その結果、エコーウイルス22型が3株分離されたが、ポリオウイルスは分離されなかった。感受性調査（平成14年6～9月）は247名（0歳～82歳）の血清について、3種類のポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型に対して92.7%、2型では98.0%、3型に対しては72.9%であり、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から、本県においては、野生型ポリオウイルスの浸淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。

インフルエンザ：インフルエンザの予防と蔓延の防止のために、感受性調査（2002年6～9月）および感染源調査（2002年11～2003年4月）を実施した。感受性調査は247名（0～82歳）を対象としてAH1型、AH3型、B型のワクチン株およびB型の参考株（1株）に対するHI抗体を測定した。その結果、感染防御能があるとされているHI価40倍以上の保有率は、各々20.2%、22.33%、2.00%、1.6%と非常に低かった。この抗体保有状況より今シーズンも流行が予想され、県民へのインフルエンザ予防対策を呼びかけた。感染源調査では、前シーズンより2か月早い2002年11月よりインフルエンザ患者が発生し、2003年4月までの約6か月間の長期にわたり流行は継続した。この間の患者からAH3型とB型インフルエンザウイルスが検出され、2種類のウイルスによる混合流行であった。これらのインフルエンザ流行状況やウイルス検出状況についての「インフルエンザ情報」を、富山県感染症情報センターのホームページに毎週掲載して県民に知らせた。

〔調査研究〕

河川水、下水から分離されたポリオウイルスの遺伝子解析

河川水や下水から分離されたポリオウイルスについて、これまでに血清型に関わる VP1 領域や神経毒性に関与している 5'非翻訳領域の遺伝子解析、また一部の株については transgenic mice を用いた毒性試験を行なった。今年度は VP1 領域と 3D 領域の遺伝子解析を行ない、リコンビナントウイルスの存在を検討した。分離株は全てワクチン由来株であったが、これらの株の中には潜在的な神経毒性を有する変異株、さらにリコンビナント株も存在した。これらの解析結果や、2001年～2002年にハイチやドミニカで発生したワクチン株由来ウイルスによるポリオの流行事例等により、生ワクチン株（弱毒性株）の強毒性株への復帰が大きな問題であることが明らかとなった。WHO が主体となって実施している「ポリオ根絶」計画事業の最終段階では、生ワクチンの投与を不活化ワクチンへ切り替える方向で進められることとなった。

抗 *Coxiella burnetii* 抗体検出によるペットを介するヒトへの感染の可能性の検討

家庭においてペットとして飼育されているイヌ・ネコの血液を開業獣医師の協力により集めるとともに、県内の厚生センター（旧保健所）の協力の下その飼主の血液を集め、それぞれの抗 *Coxiella burnetii* 抗体について検討した。飼育ペットと飼主の保有する抗 *Coxiella burnetii* 抗体の力価には相関が見られず、ペットから飼主への *Coxiella burnetii* (Q熱) の感染はまれであることが示唆された。

SRSV による急性胃腸炎の集団発生事例

2002年4月から2003年3月までの1年間に発生した、ウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。2002年度中に調査したウイルス性急性胃腸炎の集団発生は7事例であった。その結果、7事例全てにおいて SRSV が検出された。夏期に急性胃腸炎の集団発生があった。夏期に起きた1事例と牡蠣関連の1事例以外からの事例で検出された SRSV の遺伝子型はすべてノーウォーク様ウイルス (NLV) の GII であった。牡蠣関連の事例では遺伝子型 NLV-G I と NLV-G II の両方が検出された。SRSV による急性胃腸炎の集団発生は冬期のみならず、年間を通してみられた。

富山県感染症マニュアル

ウイルス検査関係を執筆した「富山県感染症マニュアル」が、最終校正のうえ平成15年3月に発刊された。

〔富山県感染症情報センター〕

県内の感染症発生動向調査指定届け出機関60定点から、各所轄保健所へ毎週報告される患者発生数に基づいて全県の集計を行い、結果を国立感染症情報センターへ送信するとともに全国の集計結果を受け取り、県内関係医療機関に情報を還元した。平成14年1月から12月まで富山県平均定点あたり各週発生率第1位を占めた主な疾病は、1～2月、4～6月および8～12月は感染性胃腸炎、2～3月はインフルエンザ、6～8月はヘルパンギーナであった。富山県感染症情報センターでは、県内および全国の感染症発生動向の情報を速報あるいは週報の印刷物として関係医療機関へ毎週送付するとともに、インターネット上に開設した富山県感染症情報センターホームページで一般公開している。

細菌部

〔行政および依頼検査〕

感染症，食中毒

2類感染症：腸管感染症では，赤痢4件，チフス2件の発生があった。厚生センターから搬入された分離菌について血清型の確認を行い，更に病原遺伝子および薬剤感受性を調べた。赤痢菌の血清型はソンネI相（2株），フレキシネリ2a（1株），ボイド4（1株）で，ソンネとボイドの3株はすべて海外渡航歴のあるヒトからの分離であったが，フレキシネリは海外渡航歴無しの国内感染であった。渡航先はタイ，フィリピン，バリ島とすべて東南アジアであった。チフス菌は1996年以後の分離で，国立感染症研究所でのフェージ型別の結果はD-1および43であった。いずれも国内感染であった。

3類（腸管出血性大腸菌）感染症：平成14年度は感染事例が19件（36名）で，原因菌の血清型はO157：H7 10件（18名），O26：HNM 7件（16名），O111 1件（1名），O128：HNM 1件（1名）であった。感染経路および関連性を解明するため，分離菌の染色体DNA制限酵素切断パターンを調べたところ，5月に発生したO157による食中毒患者6名から分離された菌株は同一クローンであることが判明した。8月に砺波厚生センター管内で発生したO128：HNMによる感染症において，文献から変異型プライマーを合成し，*stx2*の変異型遺伝子 *stx2f*を保有する腸管出血性大腸菌であることをみいだした。

細菌性食中毒：平成14年度は細菌性食中毒が2件発生し，原因菌について生化学性状，毒素産生性および毒素遺伝子を調べた。腸管出血性大腸菌O157による食中毒については，分離菌の生化学性状とパルスフィールドゲル電気泳動によるDNAの遺伝子解析を行った。患者から分離された大腸菌はすべて同一のパターンを示した。ウエルシュ菌食中毒については，当所でカレーのルーからウエルシュ菌が分離されたが，エンテロトキシンを産生しない非病原性株であった。しかし，厚生センターで患者及び食品から分離されたウエルシュ菌についてその毒素産生性と遺伝子保有状況を調べたところ，従業員から分離された1株を除き，すべてエンテロトキシン遺伝子を保有していた。

生活衛生

食品検査：6～7月に清涼飲料水31件の成分規格試験を行った。すべての検体で大腸菌群陰性であった。また，食品の夏期一斉取締りの一環として，生食用魚介類（刺身等）36検体について腸炎ビブリオの定性，定量検査を行った。すべての検体が成分規格基準に合致していた。苦情食品4検体についても，成分規格，カビ等の検査を行った。スッポンがコレラにより汚染していた事実に基づいて厚労省が出した通達により，スッポンのふき取り検体7件についてコレラおよびナグビブリオの検査を実施した。すべて陰性であった。

海水浴場水検査：生活環境部および富山市の依頼で海水浴場水（8定点，のべ135検体）の糞便性大腸菌群数測定を行った。いずれも水質が良好な「AA」または「A」ランクで「適」であった。このうち33検体について腸管出血性大腸菌O157検索を行ったがすべて陰性であった。

水道水源水検査：はじめに，富山県内で水道源水として利用される河川水，湧水等123検体について汚染指標菌（大腸菌と嫌気性芽胞菌）の検査を行った。次に，指標菌のいずれかが陽性であった26検体についてクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検査を行った。結果はすべて陰性であった。

腸炎ビブリオ検査：平成8年度より始まった通称「VPマリン」事業として，6月から11月にかけて県内5漁港の海水（表層及び海底）の腸炎ビブリオを定期的に調べた。その結果，7～9月の海水中の腸炎ビブリオ数は，ほとんどの定点で100mlあたり $3\sim 1.5\times 10^3$ の範囲であった。

依頼検査：民間企業から依頼を受けた食品2件，海水4件，専用水道水1件について主に成分規格試験を実施した。

流行予測事業

溶連菌：県単独事業として保育所の園児における咽頭溶連菌保菌状況を平成15年1月に調査した。県東部の保育所園児45名では9名（20.0%）が菌陽性であった。検出菌9株は、A群T1型：2株、A群T22型：2株、A群T型別不能：2株、C群：1株、G群：2株であった。また、県西部の保育所園児40名では1名（2.5%）が菌陽性であり、検出菌1株はA群T型別不能であった。

病原細菌検出情報

県内10か所の病院と4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原菌検出数は、1,623株、前年比93%であった。最も多かったのは大腸菌の653株で、以下黄色ブドウ球菌616株、カンピロバクター169株、腸炎ビブリオ57株、サルモネラ56株の順であった。

【調査研究】

サルモネラ

富山市内と高岡市内を流れる河川水における分布調査とヒトから分離される菌株の収集解析を行った。富山市内河川水では、分離率17/48（35.4%）で、血清型S.NagoyaとS.Agamaが多く、高岡市内河川水では、分離率5/30（16.7%）で、昨年に引き続き血清型S.Nagoyaが多かった。一方、県内の病院、保健所で分離された菌では、血清型S.Enteritidis、S.Infantis、S.Agonaが多かった。

大腸菌

平成14年度富山県で新たに分離された腸管出血性大腸菌O128は市販のプライマーを用いたPCR法では検出できない*stx2f*保有菌であった。そこで変異型4種を含む全ての*stx2*保有株検出に対応できるプライマーを用いたPCR系の開発を試みている。また、EHECを迅速に同定することを目的としてEHECに特徴的な遺伝子を含む5種類の遺伝子を同時に検出するmultiplex PCR系の確立も行っている。これまでのところ、良い結果が得られている。

溶連菌

平成14年に県内2ヶ所の病院で分離された溶連菌を型別した。A群97株では、検出率が高いT型は、T3型31株（32.0%）、T4型20株（20.6%）、T25型17株（17.5%）、T1型10株（10.3%）であった。前年と比較して、T3型とT25型は増加し、T1型、T12型、T28型、TB3264型は減少していた。また、B群183株では、検出率が高い型は、NT6型、JM9型、Ib型、V型であった。

腸炎ビブリオ

平成14年6月から11月の期間、県内の5漁港の海水についてPCR法と免疫磁気ビーズ法によりTDH産生性腸炎ビブリオの分布を調べた。海水100検体のうち、36検体がTDH遺伝子陽性となった。また、TDH産生性のO3:K6を9検体から分離した。

【精度管理】

内部精度管理：富山県食品関係試験検査業務管理要綱に示される精度管理規定に基づき、県内4厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の7機関について、内部精度管理調査を行った。試料は当所で作成し、それぞれに配布した。調査項目は、牛乳の一般生菌数測定および生食用鮮魚類の腸炎ビブリオ数測定とした。なお、生食用魚介類はコンビーフ、スリミおよび一定量の腸炎ビブリオを混ぜた模擬食品とした。回答結果は、一般生菌数測定および腸炎ビブリオ数測定のいずれの項目についても、すべての機関で良好であった。

外部精度管理：前述の精度管理規定に基づき、外部精度管理調査に参加した。

化 学 部

〔行政および依頼検査〕

食品等の検査

添加物及び成分規格等：県内で生産されたミネラルウォーターの成分規格試験（混濁、沈殿物、ヒ素、鉛、カドミウムおよびスズ）、煮干し等魚介乾製品中の酸化防止剤（BHA、BHT）、魚肉ねり製品、漬物等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）、甘味料（サッカリン）及び生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）等の92検体（総項目数478）の検査を行ったところ、いずれも規格基準または使用基準に適合していた。

残留農薬：県内産主要農産物の玄米、キャベツ、なし、柿等の9種49検体及び輸入食品2検体について、食品衛生法に基づく個別分析法又は厚生労働省通知の残留農薬迅速一斉分析法で有機リン系（フェニトロチオン等）、含窒素系（フルトラニル等）、N-メチルカーバメート系（フェノブカルブ等）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（フサライド）の71農薬（77成分）、総項目数1,465について検査・調査した。玄米2検体からフェニトロチオンが0.02ppm（残留基準値0.2ppm）、フルトラニルが0.9ppm（2.0ppm）検出され、こまつな1検体からダイアジノンが0.01ppm（基準未設定）検出された。無登録農薬のカプタホール、シヘキサチンについては、なし及び柿、それぞれ1検体からカプタホールが検出された。また、中国産の冷凍ほうれんそう1検体からはシベルメトリンが0.20ppm（2.0ppm）、フェンバレレート0.06ppm（0.5ppm）検出された。

重金属等：富山湾産魚介類について、16魚種20検体（さけ、あじ等）の総水銀を測定したところ、すべての検体から検出され、濃度は0.02～0.28ppm（暫定的規制値0.4ppm）であった。また9魚種10検体のトリブチルスズオキシド（TBTO）、ジブチルスズオキシド、ジフェニルスズオキシド（いずれも規制値なし）を測定したところ、2魚種からTBTOが0.02ppm及び0.03ppm検出されたが、8検体はいずれも不検出（0.02ppm未満）であった。

家庭用品検査

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

水質検査

水質基準項目：WHOは飲料水の水質ガイドライン（1996）で鉛の基準値0.01mg/Lを勧告している。我国では平成15年度から、基準値が0.05mg/Lから0.01mg/Lに強化される。水道本管から家庭へ導水する給水管に旧来は鉛管が利用されてきた。現在でも鉛給水管を使用している場合には、鉛が停滞水へ溶出して水質基準を超えることが懸念されている。富山県内の鉛管を使用している水道水の鉛濃度実態調査を前年度から行っている。本年度は鉛管を使用している水道水41件の鉛濃度実態調査を行ったところ、停滞水では新基準値の0.01mg/Lを超えるものが14件あったが、停滞水を排出した後の流水では新基準値を超えるものは3件であり、調査時の基準0.05mg/Lを超えるものはなかった。あわせて行った鉄、亜鉛、銅、マンガンの溶出状況調査では、すべて基準を超えるものはなかった。また、金属濃度とその他の検査項目及び調査項目との相関を調べたところ、停滞水における停滞時間と鉄及び亜鉛の間に、また、鉛と亜鉛の間にそれぞれ有意な正の相関係数があり、昨年度と同様な傾向がみられた。飲用には滞留水の使用を避けること、十分に排出した後の流水の使用を心がけることが必要である。

監視項目：水道原水23検体及び浄水16検体について、亜硝酸性窒素、ウラン、モリブデン、ニッケルおよびトルエン等32項目（総項目数522）の検査を行った。消毒副生成物のジクロロ酢酸及びトリクロロ

酢酸が4検体から指針値の1/10程度検出され、他の項目はいずれも不検出であった。

井戸水のゴルフ場使用農薬：県内ゴルフ場周辺の井戸水について、平成14年5月（23件）および11月（23件）にゴルフ場使用農薬（シマジン等45成分）の検査（総項目数734）を行ったところ、いずれの井戸水からも農薬は検出されなかった。

温泉分析

中分析32件（新規分析1件、再分析17件、浴槽水14件）を行ったところ、温泉法第2条に適合するものは18件（浴槽水を除く）であり、そのうち16件は療養泉であった。泉質は、ナトリウム-塩化物泉、ナトリウム・カルシウム-塩化物泉・硫酸塩泉、単純酸性泉等であった。また温泉資源保護を目的として、温泉密集地域の14泉源の主要成分について、平成7年度から経年変化調査を行っているが、8年間で顕著な変化はなく、成分は安定していた。

〔調査研究〕

食品中の成分および添加物に関する調査研究

カテキン類は茶飲料に含まれる代表的なポリフェノール化合物である。カテキンは浸出直後の茶中では（+）-体として存在するのに対し、市販の茶飲料では（-）-体が主となる。この原因は、一般的には加熱工程による（-）-エピカテキンのエピ化と言われているが、これ以外にも、流通工程中の（-）-カテキンガレートの加水分解が関与していることを明らかにした。

イマザリルは防かび剤として柑橘類などにラセミ体で用いられている。輸入オレンジに残留するイマザリルのキラル選択性を明らかにすることを目的として、キャピラリー電気泳動を用いたイマザリルの光学分割法を確立し、使用実態を調査した。その結果、（-）-イマザリルは（+）-イマザリルに比べて分解されやすいことを明らかにした。さらに、防かび作用におけるイマザリルのキラル選択性についても検討中である。

食品中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

大量注入方式 GC/MS による農作物中114農薬の簡易迅速分析法

PTV（昇温気化方式試料注入口）インレット内のライナーにフェニルメチルシリコン化学結合型シリカを充填することで、大量注入（LVI）時の溶媒をスプリットして農薬を充填剤に保持後、効率よく GC/MS（SIM）で測定する方法を検討した。農産物から114農薬をアセトニトリル抽出後、抽出液の一部1mL（試料0.125-0.25g相当量）をミニカラム（GCBとPSAの積層カラム）のみで精製し、上記PTV-LVI方式 GC/MS（SIM）で測定したところ、6農薬を除く108農薬が分析可能であることを明らかにした。

飲料水および温泉に関する調査研究

富山県で定めている「プールの衛生管理指針」（平成13年9月改正）に従い、屋外プール95件、屋内プール21件について総トリハロメタン（揮発性消毒副生成物）の検査を行った。同時に、消毒副生成物として水道法の監視項目に含まれる不揮発性消毒副生成物であるジクロロアセトニトリル、抱水クロラール、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸についても調査した。その結果、屋外プールはいずれの測定項目についても屋内プールに比べて濃度が低かった。また、屋外プールでは、消毒副生成物総量に占める揮発性消毒副生成物（総トリハロメタン）の割合が屋内プールに比べて低い傾向がみられた。屋外プールのうち、表流水を水源とする水道水を使用するプールは、それ以外（地下水等を水源とする水を使用）のプールにくらべ消毒副生成物濃度が高い傾向がみられた。

日常の検査業務に適する簡便、迅速な多成分一斉分析法の開発

キャピラリー電気泳動法による光学異性体の分析：キャピラリー電気泳動法（CE）によるキラル分離

には、配位子交換や包接作用などの多くの分離モードが利用されてきたが、水系でのイオンペアモードを用いる方法は未だ報告されていない。この方法を確立できれば、これまでキラル分離が困難であった様々なイオン成分もキラル分析可能となることが期待される。今回、キラル分離剤としてよく用いられるものの中から(1R, 2R)-(-)-1,2-ジアミノシクロヘキササン(R-DACH)とD-, L-酒石酸の組合せを選択した。R-DACHをキラル分離剤としたイオンペアモード・CEにより、酒石酸のキラル分離が達成された。

偏光吸光度検出法(PPD)を利用した光学異性体の分析：蛍光分光光度計内にプリズムと位相差板を組み込むことで、蛍光検出円二色性(FDCC)が検出できることを既に報告したが、本光学系をHPLC用の三次元蛍光検出に適用することで、FDCC検出の可能性を追求した。三次元蛍光検出器では、グレーティングを高速で回転させているため、微妙な回転の不均一性が励起スペクトル上にartifact波を生成し、FDCC検出の妨害となった。このartifact波は、周期、位相が比較的安定していることより、波形処理として用いる微分法の特性を利用して除去できることを明らかにした。衛生化学領域への適用の可能性を検討中である。

富山湾深層水の特性解明に関する研究

成分分析と清浄性：入善町、富山県水産試験場および新エネルギー産業技術総合開発機構(水産試験場の取水海域に隣接して設置されている)がそれぞれ所有する3深層水揚水施設で揚水されている深層水の理化学的特性解明のため、主要成分・微量金属成分、揮発性有機化合物、農薬類、環境汚染物質等について調査を行った。

入善深層水は、主要成分・微量金属成分等の季節変動はほとんどなく、揮発性有機化合物、農薬類、環境汚染物質はすべての試料で不検出であった。3深層水の分析値を水産試験場深層水の前回調査の分析結果と比較したところ、ほとんど差異がみられなかった。汲み上げられている富山湾海洋深層水は清浄であり、水産分野だけでなく、非水産分野で食品の原材料や海洋療法等に安心して利用できるものと考えられる。

超微量有機成分：有機スズ化合物は1960年代から船底塗料、あるいは漁網の防汚剤として使用されてきた。しかし、1980年代になると有機スズ化合物が沿岸海域をひろく汚染し、ある種の生物に対してホルモン様作用を有することも指摘されている。一般に、内分泌攪乱物質は極めて低濃度でその作用を現すことから、脱塩や濃縮操作を加えて直接利用する海洋深層水についても濃度レベルの把握が必要であり、簡易で高感度な分析法を開発することが重要である。今回、海水を用いて直接エチル化した後、GC/MSに高圧注入し、トリブチルスズ、トリフェニルスズを0.03ng/lのオーダーで分析する方法を確立した。

硝酸塩の連続自動分析：富山県水産試験場に揚水されている深層水(滑川海洋深層水)について、硝酸塩濃度を1時間毎に連続自動分析する装置を独自に試作し、前年度から調査を継続してきた。本年度は入善海洋深層水活用施設に揚水されている深層水(入善海洋深層水)についても調査を開始した。本年度の調査で次のことが明らかになった。①独自に構築した連続自動分析装置は、長期間に渡って揚水されている海洋深層水中の硝酸塩の濃度推移を詳細に計測するためには、十分に実用的な装置である。②滑川及び入善海洋深層水中の硝酸塩濃度は、それぞれ24 μ M及び25 μ M程度で通常は推移するが、時々連動して減少すること。③濃度減少は海洋気象の影響を受けること。④硝酸塩濃度の減少が水温の上昇と見事に対応することを初めて実証したこと。⑤入善での硝酸塩濃度の減少に比べて、滑川での減少の程度は数倍大きいこと。⑥滑川の濃度変動の発生時刻と比較して、入善のそれは数時間以上遅れること。⑦平成15年1月下旬には、おおよそ10年に1度の大きな濃度変動を誘発する現象が富山湾で発生したこと。滑川及び入善深層水の硝酸塩濃度の計測調査を継続し、両施設の取水口付近での水温及び流向・流

速等の観測を行うことにより、硝酸塩濃度等を指標として、富山湾内での深層水の動態及びその要因の解明が期待されるものと考えられる。

〔精度管理調査〕

食品検査の精度管理：「富山県食品衛生検査業務管理要綱」の制定（平成10年12月）によって、平成11年度から県内の保健所等公立の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的とした精度管理調査を実施している。今年度は昨年度に引き続いて牛乳の成分規格試験について、酸度及び乳脂肪分項目と今年度新たに追加した比重の計三項目の調査を実施した。三項目ともいずれの機関でも、機関内及び機関間の変動係数はいずれも小さく、 $X-R$ 管理図や Z -スコア等から全機関が「充管理されている」と判断でき、良好な結果であった。酸度及び乳脂肪分項目では、機関内変動係数の平均値や機関内の測定値範囲の平均値が、ともにそれぞれ昨年度に比べて $1/2$ 以下に減少したほか、昨年度全機関平均値から最も離れた二機関が逆に最も近づいたこと、酸度項目で昨年度 R 管理図の UCL 管理線を超えた機関が R 値が $1/2$ 減少して管理線内に入ったこと等は、同項目を二年続けて実施したことにより、検査精度の向上が認められた。

水質検査の精度管理：富山県水道水質検査精度管理実施要領に基づく精度管理が、県内の水道水質検査を実施する10機関の参加により、平成14年度は鉛および硝酸性窒素、塩素イオンの3項目について実施され、当所は配布試料の調製・配布、報告値の集計・解析を行った。

鉛の精度管理は三年連続の実施であり、三年間連続して精度管理を行う中で、検査機関によっては操作内容の変更や分析機器の調整を行ったことにより、回収率（各機関の測定値の平均値/添加濃度）は79.6%（一昨年）→103%（昨年）→104%（本年）と変化し、室間変動係数（各機関の間の測定値のばらつき）は26.8%→15.3%→7.8%と減少し、分析精度は向上した。鉛の水道水質基準が従来の 0.05mg/L から 0.1mg/L 以下に強化されたが、すべての機関で定量下限値を新基準値の $1/10$ 以下に設定することができた。

市販ミネラル水を用いた硝酸性窒素及び塩素イオンの精度管理はそれぞれ2回目、3回目の実施となったが、今回は全測定機関がイオンクロマトグラフ法を用いての参加となった。結果は、両項目ともすべての機関の測定値が回収率（＝測定値/真の値：各機関の測定値の平均値とする） $0.9\sim 1.1$ となる範囲内に収まり、機関内・機関間のばらつきも小さく良好であった。

環 境 保 健 部

〔行政検査〕

カドミウム汚染地域住民健康調査（神通川流域住民健康調査）

1次検診：昭和54年度から実施してきた環境省（庁）委託の健康調査方式が、平成9年度から新しい方式に改められた。平成14年度は新方式に基づく調査を実施し、対象者2,487名中897名が1次検診を受診した。

精密検診：1次検診の結果、尿中 β_2 -ミクログロブリン濃度が 5.0mg/gCr 以上または尿蛋白定性陽性のもの169名が精密検診の対象となった。精密検診は指定医療機関である富山医科薬科大学附属病院、富山県立中央病院、富山市民病院の3医療機関で行われ、受診者133名の尿、血液について所定の検査を行った。

管理検診：イタイイタイ病要観察者に対して、経過観察中の管理検診対象者4名うち3名が受診し、該当する尿および血液検査を実施した。

イタイイタイ病認定申請に伴う検査：申請のあった5名について、該当する尿および血液検査を実施した。

[調査研究]

小児期から実行可能な骨粗鬆症予防法の確立に関する研究

骨粗鬆症の予防には、成長期の骨量獲得時期に最大骨量をより高くしておくことが重要である。そこで、平成13年度から、骨密度が急速に増える中学2年生女子を対象者とし、高校3年までの5年間の骨量増加と、身体的要因や環境要因との関係を明らかにする追跡調査を行っている。

平成14年度は、中学2年生から3年生にかけての1年間の骨密度変化と、それに関連する要因について解析を行った。対象者の橈骨骨密度は1年間で有意に増加した。骨密度変化率と体格変化率の関係から、初経発来直後において骨密度の増加は身長伸びが多いもので停滞し、初経1年後以上では成長にともなって骨密度が増加する結果を得た。初回時の骨代謝指標と骨密度変化率との関連では、初経後1年以上の群において骨形成指標のオステオカルシン、骨吸収指標のヒドロキシプロリン、ピリジノリン、I型コラーゲン架橋N-テロペプチドが骨密度変化率と正の相関を示し、骨代謝指標は骨密度増加の指標となる可能性が示唆された。骨密度変化率を初回時の生活習慣別で比較したところ、徒歩通学15分以上の群が自転車通学と徒歩通学15分未満群より、骨密度が有意に高く、毎日の運動が骨密度増加に有効であると考えられた。

フッ素化合物と骨代謝に関する疫学的研究

1996年～1998年の当所と富山医科薬科大学、内蒙古医学院の共同研究において、中国・内モンゴル自治区のフッ素暴露地域では、骨の破壊（骨吸収）の亢進状態にあることを見いだした。2003年8月、フッ素化合物の骨代謝への影響について明らかにするため、現地において再調査を行った。対象はフッ素暴露のある同自治区草原地域の閉経前の女性（40から50歳）と、20歳代の女性および対照として同年齢の都市と農村地域の女性である。調査内容は飲料水・タン茶中のフッ素濃度、X線・超音波測定装置による骨量測定および尿・血清中の生化学的骨代謝指標等である。これまでの測定から、草原地域の飲料水のフッ素濃度平均は2.58mg/l、水代わりに常飲されているタン茶浸出液のフッ素濃度平均は5.05mg/lと高値であり、飲料水に加えてタン茶飲料によるフッ素暴露が認められた。ひきつづきフッ素暴露と骨密度および骨代謝指標との関係について解析中である。超音波測定器によって対照とした日本若年女性と中国内モンゴルの同年齢女性の踵骨骨量を測定した。その結果、日本女性の方が高値を示した。その要因として、初経年齢が低年齢であることと中学校時の乳製品摂取習慣が選択された。

（本研究は、日本学術振興会外国人特別研究費による。）

環境汚染物質の生体影響に関する研究

有機リン系農薬の生体暴露に関する研究：有機塩素系農薬に比べて残留性が低いとされる有機リン系農薬について、農村地域居住者では、年間を通じて尿中代謝物であるアルキルリン酸が検出され、農薬散布時期には濃度の上昇がみられた。そこで今回は農村地域以外の居住者にも対象を広げ、一般健常者における尿中のアルキルリン酸濃度レベルを検討した。3月と8月の2回、一般健常者の早朝尿を採取してアルキルリン酸を測定したところ、ほとんどの検体からアルキルリン酸が検出され、2回ともすべて不検出の者はなかった。その濃度は、3月0.023（0.009～0.060） $\mu\text{M}/\text{mM}\text{Cr}$ 、8月0.016（0.007～0.038） $\mu\text{M}/\text{mM}\text{Cr}$ であり、調査時期による差はみられず、一般健常者において恒常的な暴露の可能性が考えられる。8月の調査で、“園芸をする”者の濃度は“しない”者に比べて高値を示し（ $p<0.05$ ）；農薬暴露の違いが考えられた。

内分泌攪乱化学物質に関する研究：内分泌攪乱作用が疑われているフタル酸エステル類のなかで、使

用量の最も多いフタル酸ジエチルヘキシルの尿中代謝物であるモノエステル体について、一般健常者の早朝尿を採取して測定したところ、ほとんどの対象者からわずかながら検出した。

肥満遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究

肥満症は遺伝素因と多様な環境因子が重なって引き起される多因子疾患である。肥満体質遺伝子の1つである $\beta 3$ -アドレナリンレセプター遺伝子変異の有無を、健常者34名について調べたところ、基礎代謝が低い節約型の遺伝子を有するものが10名(29.4%)であった。その変異の出現に男女差は認められなかったが、体脂肪率増加へのかかわり方に性差があることが示唆された。一方、肥満者では脂肪細胞由来生理活性物質であるアディポネクチンが低下することが知られている。同じ健常者を対象とし、血清アディポネクチンと血清脂質、体脂肪率、ライフスタイルとの関連を調べた。男性ではアディポネクチンと脂質、体脂肪率に関連が認められ、運動習慣のある者に高い傾向を示した。しかし、女性では体脂肪率、血清脂質、ライフスタイルと関連は認められなかった。

イタイイタイ病に関する研究

昭和60年度から平成8年度までに実施された神通川流域住民健康調査の尿、血液検査および問診票調査結果のとりまとめを行った。のべ受診者数約8千人の検査結果の集計および健康状況についての解析と検討を行った。受診者の中には、尿細管機能障害の指標である尿中 β_2 ミクログロブリン(MG)が高値を示す集団が認められた。その特徴として、受診時既に平均70歳代と高齢であることや、現住所居住年数や農業従事年数が長いことがあげられた。これらの集団の追跡可能者を調査したところ、腎・尿細管機能障害の骨代謝障害への影響のしかたが、腎機能の状態によって異なることが明らかになった。一方で、尿中 β_2 MGが低値を示す集団も存在し、それらの人々は受診時50歳代とまだ若かった。追跡可能者を検討した結果、尿中 β_2 MGには大きな変化を認めないことが明らかになった。

非水産分野における海洋深層水の利用に関する研究

濃縮海洋深層水を利用した浮遊浴および歩行浴に関する研究：これまでの富山湾の海洋深層水を用いた温浴による健康増進効果の検討から、深層水浴の温熱効果やリラックス効果、睡眠の質向上の知見を得た。今回は海洋深層水を逆浸透膜によって塩分濃度を約15%にした濃縮海洋深層水を使って、イスラエルの「死海」で海洋療法のひとつとして行われている浮遊浴を試み、その浮遊浴による心理的・生理的な効果について、他の温水による浮遊浴と比較検討した。あわせて濃縮深層水を用いた歩行浴の効果について検討した。海洋深層水および濃縮深層水の温水の浮遊浴によって、主観的なリフレッシュ度の有意な上昇がみられた。浮遊浴による客観的な指標として、自律神経系の活動度の測定では、深層水および濃縮水の浮遊浴前半で副交感神経の亢進がみられたが、後半では交感神経系の亢進がみられ、濃縮水にその傾向が顕著であった。視覚反応速度の指標とした視覚誘発電位の測定では、濃縮水で振幅が増加する傾向がみられた。これらは刺激作用によると考えられ、深層水や濃縮水のリラックス効果とともに強いリフレッシュ効果があると考えられた。若い男性での歩行浴では、明らかなリラクゼーション効果がみいだせなかった。

(富山医科薬科大学、滑川市との共同研究)

[夏休み子供科学研究室]

子供達に科学に接する機会を与え、自らの健康について考えるきっかけとすることを目的に、「測って分かる、あなたの健康」というテーマで企画した。小学生とその親16名が参加し、生命の源である骨について学習し、骨密度、体脂肪率、血圧などの測定に挑戦した。

(7) 検 査 状 況

() 内項目数

部 名	区 分	行 政 検 査	依 頼 検 査
が ん 研 究 部	先天性代謝異常検査	11,216 (67,296)	
	染色体検査	54 (54)	127 (127)
	衛生動物検査	1,639 (2,196)	150 (213)
	小 計	12,909 (69,546)	277 (340)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	647 (647)	
	血清学的検査	1,268 (3,087)	
	小 計	1,915 (3,734)	
細 菌 部	感染症にかかわる検査	458 (569)	
	食中毒にかかわる検査	67 (153)	
	食品検査	74 (112)	2 (12)
	水質検査	533 (1,082)	1 (2)
	小 計	1,132 (1,916)	3 (14)
化 学 部	食品にかかわる検査	187 (1,985)	24 (36)
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	1,016 (5,045)	24 (393)
	温泉分析	28 (560)	18 (540)
	小 計	1,246 (7,610)	66 (969)
環 境 保 健 部	カドミウム環境汚染に 関わる地域住民健康調査	1,038 (3,917)	
	小 計	1,038 (3,917)	

検 査 内 容

() 内項目数

が ん 研 究 部

[行政検査]		[一般依頼検査]	
1. 先天性代謝異常検査	11,216 (67,296)	1. 染色体検査	
2. 染色体検査		(1) 血液	55 (55)
(1) 血液	31 (31)	(2) 羊水	57 (57)
(2) 羊水	18 (18)	(3) 胎児	15 (15)
(3) 胎児	3 (3)		
(4) 胸水腹水	2 (2)		
3. 衛生動物等検査		2. 衛生動物等検査	
(1) 衛生・不快動物	1,608 (1,612)	(1) 衛生・不快動物	145 (207)
(2) 食品混入異物	16 (18)	(2) 食品混入異物	5 (6)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]		[一般依頼検査]	
1. 感染源検査			
(1) インフルエンザ	195 (195)		
(2) ポリオ	59 (59)		
(3) その他ウイルス	181 (181)		
(4) リケッチア, その他	187 (187)		
(5) 食中毒	25 (25)		
2. 血清学的検査			
(1) インフルエンザ	ヒト 250 (997)		
	ブタ 80 (240)		
(2) ポリオ	247 (741)		
(3) 日本脳炎	ブタ 340 (340)		
(4) エイズ	131 (133)		
(5) その他のウイルス	115 (219)		
(6) リケッチア, その他	105 (417)		

細 菌 部

[行政検査]		[一般依頼検査]	
1. 感染症にかかわる検査		1. 水質検査	
(1) 溶連菌	344 (344)	(1) 飲料水	1 (2)
(2) 結核菌	16 (16)		

(3) 腸管出血性大腸菌	44 (138)	2. 食品	2 (12)
(4) 赤痢菌	5 (10)		
(5) チフス菌	1 (2)		
(6) レジオネラ菌	46 (57)		
(7) MRSA	2 (2)		
2. 食中毒にかかわる検査			
(1) サルモネラ	36 (72)		
(2) 病原大腸菌	13 (26)		
(3) ウェルシュ菌	18 (55)		
3. 食品検査			
(1) 収去検査	67 (98)		
(2) 苦情食品	7 (14)		
4. 水質検査			
(1) 海水	104 (112)		
(2) 海水浴場	168 (201)		
(3) 河川水	66 (132)		
(4) 水道水源水	149 (397)		
(5) 深層水	46 (240)		

化 学 部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査	
(1) 食品成分および添加物	92 (478)
(2) 残留農薬	55 (1,459)
(3) 重金属類	40 (50)
(4) 容器包装	0 (0)
2. 家庭用品検査	
(1) メチルアルコール	5 (5)
(2) テトラクロロエチレンおよび トリクロロエチレン	5 (10)
(3) デイルドリン	5 (5)
3. 水質検査	
(1) 水質基準項目	137 (1,190)
(2) 監視項目	39 (522)
(3) ゴルフ場使用農薬	22 (341)
(4) その他	818 (2,992)
4. 温泉分析	28 (560)

[一般依頼検査]

1. 食品にかかわる検査	
(1) 食品成分および添加物	24 (36)
2. 水質検査	
(1) ゴルフ場使用農薬	24 (393)
3. 温泉分析	
(1) 中分析	18 (540)

環 境 保 健 部

[行政検査]

[一般依頼検査]

1. カドミウム環境汚染に関わる地域住民健康調査

(1) 神通川流域住民健康調査

1次検診 尿検査 897 (1,794)

精密検診 尿, 血液検査 133 (1,995)

(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診

尿, 血液検査 3 (48)

(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査

尿, 血液検査 5 (80)

(8) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
微生物学	庄 司 俊 雄	厚生連高岡看護専門学校 看護学科	平14. 4～9 週1回	厚生連高岡 看護専門学校
たばこの害	新 村 哲 夫	富山短期大学禁煙教育	平14. 6. 27	富山短期大学
微生物学	安 藤 秀 二	富山市医師会看護専門学校 准看護科	平14. 6～9 週1回	富山市医師会 看護専門学校
吸光分光分析等	山 本 敦	富山大学理学部 「分析化学特論」	平14. 7. 3	富 山 大 学 部 理 学 部
電気泳動分析等	小 玉 修 嗣	富山大学理学部 「分析化学特論」	平14. 7. 4	富 山 大 学 部 理 学 部
昆虫とは昆虫のからだと 変態	渡 辺 護	きらめきエンジニア事業	平14. 9. 10	富 山 市 立 古 沢 小 学 校
昆虫とは昆虫のからだと 変態	渡 辺 護	きらめきエンジニア事業	平14. 9. 12	富 山 市 立 古 沢 小 学 校
光学純度及び光学活性物質の 新規測定法とその応用	山 本 敦	星薬科大学 「基盤薬学特論Ⅱ」	平14. 9. 13	星 薬 科 大 学
ウイルス性食中毒について	長谷川 澄 代	平成14年度第3回調理員 研修会	平14. 9. 20	富 山 市 役 所
衛生試験法中の食品成分 試験法の解説	山 本 敦	金沢大学 薬学部 衛生薬学Ⅲ	平14. 10. 29	金 沢 大 学 部 薬 学 部
公衆衛生学	長 瀬 博 文	富山県総合衛生学院第一 看護学科講義	平14. 10. 30 ～12. 11	富 山 県 総 合 衛 生 学 院
食品添加物をめぐる話題	小 玉 修 嗣	金沢大学 薬学部 「環境衛生化学」	平14. 11. 6	金 沢 大 学 部 薬 学 部

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
アトピーと住まいのダニ	渡 辺 護	中部保健所アトピー相談会	平14. 11. 19	中部保健所
エクセルを使った保健統計処理	長 瀬 博 文	高岡厚生センター管内栄養士研修会	平14. 12. 18	高岡総合庁舎 502号室
ウイルスの特性について	安 藤 秀 二	富山県消防学校 救急科救急標準課程	平14. 12. 13	富 山 県消防学校
健やか親子21ホームページ活用のワークショップ	長 瀬 博 文	山梨県母子保健研修会	平14. 12. 24	山 梨 大 学 医 学 部
住民の意見をもとに、地域母子保健課題を把握する体験とデータベース活用法の取得研修	長 瀬 博 文	砺波厚生センター管内母子保健計画研修会	平15. 1. 20 ～21	砺波地域職業訓練センター
住民の意見をもとに、地域母子保健課題を把握する体験とデータベース活用方法の取得研修	長 瀬 博 文	第6回伊賀地域健やか親子21の推進のためのセミナー	平15. 2. 20	皇 學 館 大 學 社会福祉学部 名 張 学 舎
プレゼンテーションの進め方	長 瀬 博 文	富山県総合衛生学院保健学科講義	平15. 3. 26	富 山 県 総 合 衛 生 学 院

(9) 研 修 指 導

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
高岡厚生センター 中山恵理子 新川厚生センター 上野 美穂 富山市保健所 橋本 妙子	平14. 9. 24~27	柿中の残留農薬の分析	化 学 部
ホワイト食品工業(株) 岩崎 修一	平14. 10. 7~11	食中毒原因菌の検出同定法	細 菌 部
(株)環研 常川 直香 辻 小百合	平15. 1. 20~31	レジオネラ菌およびその他細菌類の試験法の習得	細 菌 部
富山市保健所 森岡 誠二	平15. 1. 22~23	魚介類中の有機スズ化合物の分析	化 学 部

(10) 研 修 受 講

受講者氏名	研 修 期 間	研 修 内 容	研 修 機 関	講師所属氏名
磯 部 順 子	平14. 6. 3 ~6. 7	平成14年度新興再興感染症技術研修	国立保健医療科学院 (東京都)	国立感染症研究所 情報センター 伊藤 健一郎 他
米 田 豊	平14. 7. 4 ~7. 5	先天性代謝異常症等検査技術者研修会 ガラクトース血症スクリーニング	母子愛育会総合母子保健センター (東京都)	日本マス・スクリーニング学会技術部会 福士 勝 他
磯 部 順 子 田 中 大 祐	平14. 7. 11 ~7. 12	衛生微生物技術協議会第23回研究会	奈良県新公会堂 (奈良県)	国立感染症研究所 所長 吉倉 廣 他
本 田 幸 子 林 美 貴 子	平14. 8. 24 ~8. 25	第9回臨床細胞遺伝学セミナー	日本人類遺伝学会 (神奈川県)	東京医科歯科大学 池内 達郎 他
渡 辺 護	平14. 10. 27 ~11. 3	家屋侵入性カメムシの駆除法の習得	酪農学園大学 (北海道)	酪農学園大学 環境昆虫学 教授 佐々木 均
岩 井 雅 恵	平14. 10. 29 ~11. 29	平成14年度国立保健医療科学院特別課程ウィルスコース	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 感染症情報センター 第6室長 西尾 治 他
安 藤 秀 二	平14. 11. 23	平成14年度公衆衛生講習会(中部地区):動物由来感染症講習会	ユアーズホテルフクイ (福井県)	厚生労働省健康局 結核感染症課 課長補佐 中嶋 建介
安 藤 秀 二	平15. 1. 8 ~1. 10	第13回 HIV 技術研修会	国立感染症研究所 (東京都)	神奈川県衛生研究所 ウイルス部長 今井 光信 他
安 藤 秀 二 田 中 大 祐	平15. 2. 18 ~2. 19	厚生省希少感染症診断技術研修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 所長 吉倉 廣 他
安 藤 秀 二 岩 井 雅 恵 田 中 大 祐	平15. 2. 18 ~2. 19	平成14年度希少感染症診断技術講習会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 ウイルス第一部長 倉根 一郎 他
安 藤 秀 二 渡 辺 護	平15. 2. 20 ~2. 21	平成14年度ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会・第37回ベストフォーラム	新潟市民芸術文化会館 (新潟県)	新潟大学医学部 教授 関川 弘雄 他

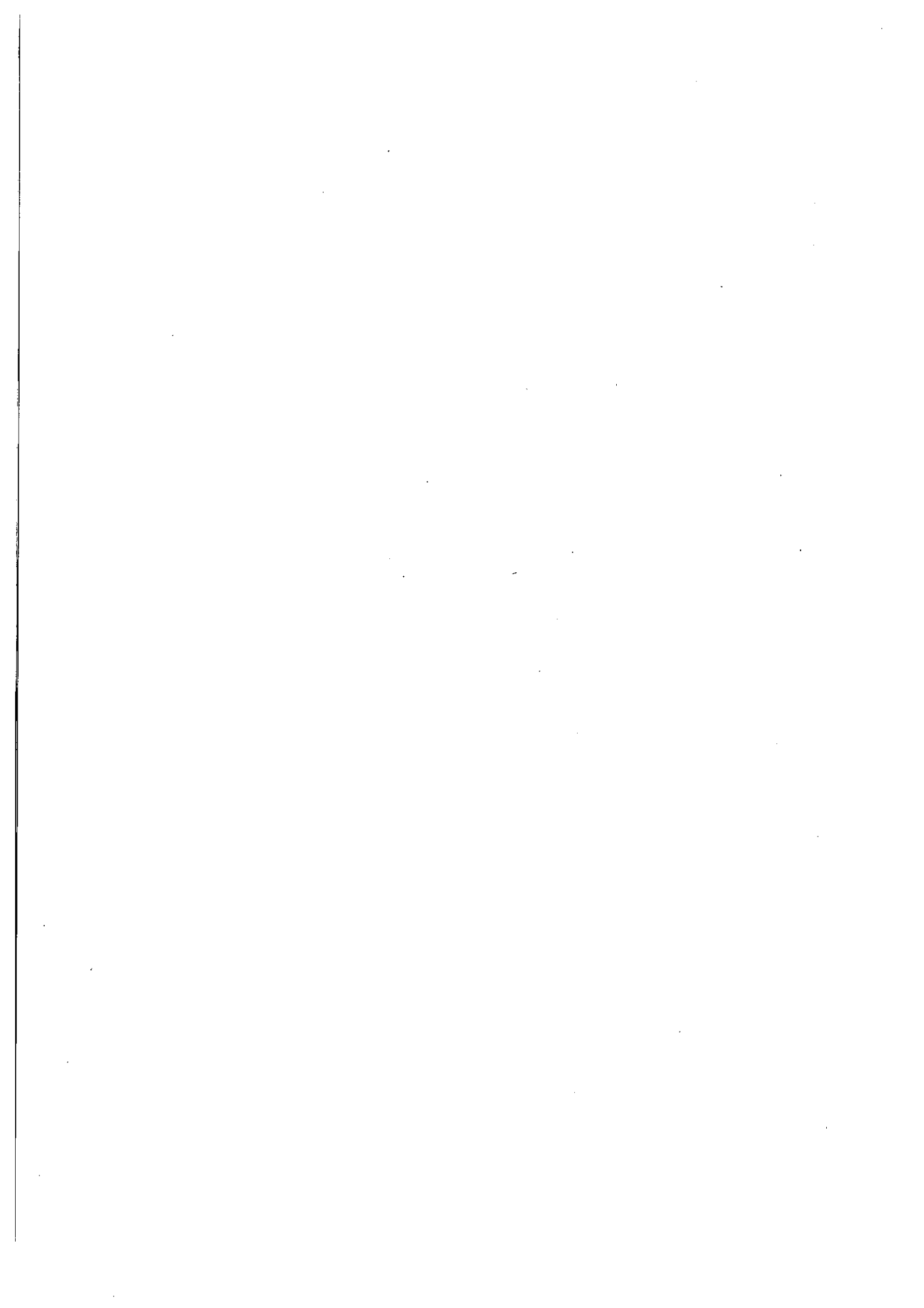
(11) 客員研究員等招へい

客員研究員氏名	所属職名	招へい期間	指導内容
遠藤 卓郎	国立感染症研究所 原生動物室長	平14. 9. 5 ～9. 6	レジオネラの生態について
西尾 治	国立感染症研究所 感染症情報センター 第6室長	平14. 12. 5 ～12. 6	小型球形ウイルスによる食中毒
張 焱	日本学術振興会 外国人特別研究員 (環境保健部在籍)	平14. 3. 25 ～平16. 3. 24	研究課題名 フッ素化合物と骨代謝に関する疫学的研究

(12) セミナーの開催

衛生研究所, 薬事研究所, 環境科学センター 3研究機関合同セミナー

演 題	講師氏名	所属職名	年 月 日
小型球形ウイルス (SRSV) による食中毒について	西尾 治	国立感染症研究所 情報センター第6室長	平14. 12. 6
PCB分解技術	松永 充史	(独) 国立環境研究所 循環資源・廃棄物試験評価研究室 流動研究員	平15. 2. 12



2. 調 查 研 究 報 告



先天性代謝異常等マス・スクリーニングの成果について (平成14年度の検査成績)

九 曜 雅 子 米 田 豊 前 田 多 美 子
加 藤 丈 士 中 嶋 寿 絵¹

A Survey Report on the Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism,
Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture
(April 2002~March 2003)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Tamiko MAEDA,
Takeshi KATO and Hisae NAKAJAMA¹

要 旨 平成14年度の検体総数は11,216件で、スクリーニングの結果、クレチン症3人および良性高フェニルアラニン血症1人の患者が発見された。これで、スクリーニング開始当初から現在までの患者数は、代謝異常症が26年間で38人（フェニルケトン尿症4人、メイプルシロップ尿症1人、ヒスチジン血症33人）、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）が23年間で88人、先天性副腎過形成症が14年間で12人となった。その他の疾病については、現在までに、良性高フェニルアラニン血症9人、チロジン血症2人、グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）異常症1人が発見されている。

先天性代謝異常マス・スクリーニングは、昭和52年4月に厚生省母子保健事業の一環として導入され、都道府県および政令市が主体となり、代謝異常症の早期発見、早期治療により心身の障害を未然に防止するという目的で実施されてきた。検査費用は平成13年度から一般財源化され、所要の財源は地方交付税措置されている [1]。

富山県では、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、先天性代謝異常マス・スクリーニングを実施しており、引き続き、検査料公費負担で、フェニルケトン尿症等6疾病を対象に検査を行った。

実 施 方 法

1. 対象疾病

フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、クレチン症、先天性副腎過形成症の6疾病を対象とした。

2. 対象者

県内で出生した新生児のうち、保護者がこの検査を希望した者を対象とした。

3. 検査期間

本報では、平成14年4月より、平成15年3月までの検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血された濾紙血液を用いた。

(2) 検査方法

①アミノ酸代謝異常症

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により、濾紙血中のフェニルアラニン、ロイシンおよびメチオニン測定した。なお、HPLCはカラムスイッチング-逆相イオンペアード法 [2] で行った。

②ガラクトース血症

Microplate・酵素法 (バイエルメディカル社製キット「GAL-R」使用) により、濾紙血中のガラクトースを測定した。ガラクトースの抽出には、トランスファープレートを使用する改良法 [3] を用いた。また、全検体について Beutler 法 (ロシュ・ダイアグノスティックス社製キット「ガラクトセミア・テスト」使用) により Galactose-1-phosphate uridyl transferase 活性の有無を検査した。なお、Beutler 法の判定用濾紙は Watman DE81 [4] を使用した。

③先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)

ELISA (栄研化学社製キット「クレチン TSH ELISA II」使用) を用い TSH (Thyroid stimulating hormone) 値の測定を行った。

④先天性副腎過形成症

ELISA (バイエルメディカル社製キット「エンザプレート Neo-17 α -OHP」使用) を用い 17- α -OHP (17- α -hydroxy progesterone) 値の測定を行った。

(3) 検体のサンプリング

Guthrie法等で使用していた PUNCH INDEXER MODEL VIA (ファンダメンタル社) を Microplate 法に 응용 [5] し、検体をサンプリングした。

(4) 判定基準

表 1 に示した。

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

(5) データ処理

検査検体の受付事務処理、検査結果の報告、月報集計、年度集計などのデータ管理は、当所で開

表 1. 判 定 基 準

対象疾病	検査法	測定物質	判 定 基 準 値	
			疑陽性	緊急に精密検査を要する
フェニルケトン尿症	HPLC	Phenylalanine	≥ 2.0 mg/dl	
ホモシスチン尿症	HPLC	Methionine	≥ 1.0 mg/dl	
メイプルシロップ尿症	HPLC	Leucine	≥ 3.0 mg/dl	≥ 7.0 mg/dl
ガラクトース血症	Microplate 酵素法	Galactose (Gal)	≥ 3.0 mg/dl	Gal 3.0 mg/dl以上で ポイトラー法で蛍光の ない場合
	ポイトラー法	Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	蛍光のない場合	
先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)	ELISA	Thyroid-Stimulating Hormone(TSH)	≥ 8 μ U/ml	≥ 30 μ U/ml
先天性副腎過形成症	ELISA	17- α -hydroxy progesterone(17- α -OHP)	直接法 ≥ 10 ng/ml 抽出法 ≥ 3.5 ng/ml	直接法 10 ng/ml 以上で 何らかの症状がある場合 抽出法 ≥ 10 ng/ml

発した動的データ管理システム [6] を用いた。

結 果

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、11,216件で、県内60か所の医療機関（おもに産婦人科医院）より送付されてきたものである。

図1に検査の流れと検査件数の概要を示した。

今年度の出生数は9,766人であり、初回検体数10,506件（人）から計算すると受検率は107.6%となるが、初回検体のうち県内在住者は9,042人、県外在住者は1,464人であることから、いわゆる「里帰り分娩」を含めない受検率は92.6%であった。また、県内在住者が他県で受検するケースも考えられるため、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

初回検体のうち9,988件（95.1%）は正常と判

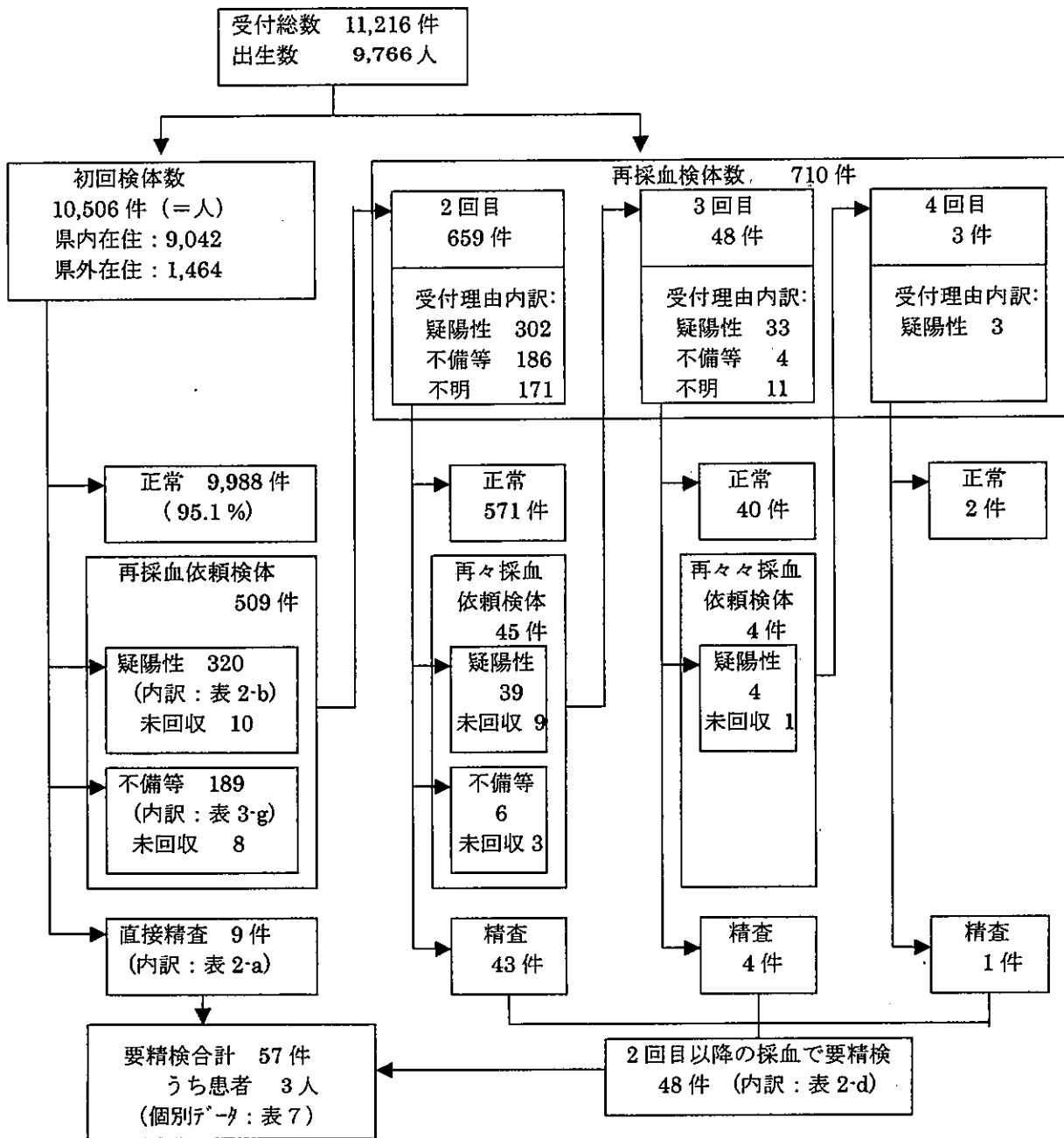


図1. 検査の流れおよび検査件数の概要

定されたが、320件 (3.0%) は疑陽性のため、189件 (1.8%) は不備検体等疑陽性以外の理由で再採血を依頼した。また、9件 (0.1%) は初回検査で直ちに精密検査が必要 (直接精査) と判定された。

再採血検体として受付した710件 (6.3%) のうち、48件 (6.8%) は要精検と判定され、直接精査分と合わせ、計57件が要精検と判定された。

(2) 疑陽性による再採血

表2に疾患別の疑陽性による再採血依頼数を示した。再採血率は代謝異常症4疾患で0.38%、クレチン症は1.49%および副腎過形成症は1.42%となり、合計3.28%であった。なお、現在再採血率の目安は代謝異常症4疾患で0.5%程度、クレチン症は0.5~1.0%、副腎過形成症は0.3~0.5%で6項目合わせて2%程度が適当とされている [7]。今年度は特に副腎過形成症の再採血率が高いが、これは、測定用キットの標準血液濾紙の値の設定方法が変わったためにカットオフ値付近の検体が増加したことによるものである。

また、1検体で2疾患が同時に疑陽性となった検体が5件あり、それらはクレチン症と副腎過形成症が2件、ガラクトース血症とクレチン症、ガラクトース血症とメイプルシロップ尿症、クレチン症とメイプルシロップ尿症の同時疑陽性がそれぞれ1件ずつであった。

再採血検体 (2回目以降の採血検体) で疑陽性となった43件のうち、1回目と2回目が違う項目で疑陽性の検体は3件で、初回はいずれも副腎過形成症で疑陽性、2回目の疑陽性項目はクレチン症が2件、メイプルシロップ尿症が1件であった。

なお、初回検体で副腎過形成症の疑いにより疑陽性となった130件のうち51件 (39.2%) が低出生体重児 (2,000g以下) であった。

再採血を依頼した件数は合計363件で、そのうち、平成15年5月末現在343件が再採血され、その回収率は94.5%であった。再採血を依頼しても1か月以上検体を送られてこない場合は再依頼しているが、疑陽性で再採血依頼し、回収できなかった症例のうち死亡例1件、病院で検査が2件あり、その他の未回収検体はすべてNICUや小児科からの検体であり、医療機関で追跡されていると思われる。

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表3に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示した。初回検体で、3日以内に採血された検体が4件、血液が不足している検体が12件、採血後日数が経ち過ぎている検体が16件 (最長13日) あった。

日数のかかった検体は1月に集中しているが、年末年始のように長期の休みとなる場合には、採血医療機関に対し、事前に文書で検体の取り扱い

表2. 疑陽性による再採血依頼数および要精検検体数の内訳

採血回数	初回			2回目以降 要精検数 (d)	総受付検体	
	直接精査 (a)	疑陽性による 再採血依頼数 (b)	再採血率 (%) (c)		疑陽性 総件数 (e)	要精検合計 [患者数] (f)=(a)+(d)
フェニルケトン尿症	0	7	0.07	3	7	3
ホモシスチン尿症	0	0	0.00	0	1	0
メイプルシロップ尿症	0	10	0.10	3	11	3
ガラクトース血症	0	22	0.21	2	23	2
クレチン症	6	156	1.48	21	167	27[3]
副腎過形成症 (うち低体重)	3	130(51)	1.24	19	159	22
合計 (うち2疾患重複数)	9	325(5)	3.09	48	368(5) (月別:表4)	57[3]

の指導を通知しており、これらの検体は、休み期間中冷蔵保存されていたと思われた。しかし、なかには、毎回送付せずに数件まとめて送付している機関で、検体を冷蔵庫の中で保管したまま送付し忘れたものもあった。

また、低出生体重児のため、体重が2,500gに達した時か、1か月時のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼した検体（低体重検体）が126件、このうち哺乳不良が11件であった。哺乳不良のみの検体は31件であった。

疑陽性以外の理由で再採血を依頼した検体の総数は195件で、このうち回収できたのが184件（回収率94.4%）であった。

(4) 月および年度別推移並びに全国結果との比較
検査実施状況の月別比較、年度推移並びに全国

表3. 疑陽性以外の理由による再採血依頼数

不備理由	初回検体 (g)	総受付検体 (h)
3日以内に採血	4	4
血液不足	12	12
古い	16	19
哺乳不良	31	32
低体重、哺乳不良	11	12
低体重	115	116
合計	189	195

集計との比較をそれぞれ表4、表5および表6に示した。

なお、全国集計は、特殊ミルク情報 [8, 9, 10] より数を訂正し引用した。富山県における現在までの患者発見率は、検査対象の代謝異常症が1/7,800、クレチン症が1/3,000、副腎過形成症が1/12,600である。全国の患者発見率と比較すると、クレチン症の発生頻度が有意に高いといえる (P<0.05)。

2. 要精密検査者の検査結果

今年度の疑陽性人数は、代謝異常症が42人、クレチン症が167人、先天性副腎過形成症が159人であり、そのうち、それぞれ8人、27人、22人に精密検査の必要が認められた。なお、初回検査で精密検査が必要と認められた9人のうち6人はクレチン症、他の3人は先天性副腎過形成症の疑いで直接精査と判定された。

表7に要精密検査者の検査状況と結果をまとめた。患者と診断されたのは、クレチン症の症例5、26および27の3人であった。その他の疾病として、良性高フェニルアラニン血症1人が発見された。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで3人、メイプルシロップ尿症の疑いで3人、ガラクトース血症の疑

表4. 月別検査実施状況

年月	平成14年										平成15年			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受付検体総数 (件)	911	1,044	845	1,034	979	954	981	914	827	1,027	846	854	11,216		
内訳	初回検査数 (件)	854	996	787	969	932	894	923	848	766	963	788	786	10,506	
	再採血総数 (件)	57	48	58	65	47	60	58	66	61	64	58	68	710	
	再採血内訳	2回目	49	45	57	62	47	55	55	61	57	61	50	60	659
		3回目	6	3	1	3	0	5	3	5	3	3	8	8	48
4回以上		2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	
疑陽性件数 (要精検)	フェニルケトン尿症	0	0	0	2(1)	0	0	1	0	0	2(1)	1	1(1)	7(3)	
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	
	メイプルシロップ尿症	0(2)	0	1	0	0	0	1(1)	1	1	2	2	3	11(3)	
	ガラクトース血症	1	0	4	3(1)	2	1	2	2(1)	0	4	1	3	23(2)	
	クレチン症	12(1)	16(3)	6(1)	12(1)	16(1)	17(1)	11(4)	11(5)	11(3)	25(4)	10	20(3)	167(27)	
	副腎過形成症	8(2)	5(1)	9(2)	14(2)	11(1)	9(1)	8(1)	21(3)	14(5)	10	26(2)	24(2)	159(22)	
計	21(5)	21(4)	20(3)	31(5)	29(2)	27(2)	24(6)	35(9)	26(8)	43(5)	40(2)	51(6)	368(57)		

いで2人が要精密検査となった。フェニルケトン尿症の症例2は鑑別診断の結果、良性高フェニルアラニン血症と診断された。

(2) クレチン症

診断名のついた例について、検査の結果および経過を示す。

表5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区 分 期 間	受付総数 (件)	検 査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数 (人)			要精検数 (人)		
					代 謝 異常症	ルチン症	副 腎 過形成症	代 謝 異常症	ルチン症	副 腎 過形成症
昭和52年度 ～54年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	-	-	6(4)	-	-
昭和55年度 ～63年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	-	75(27)	130(25)	-
平成元年度 ～6年度	68,956	64,398	61,473	104.7	1,130	958	440	53(7)	174(24)	107(7)
平成7年度	11,502	10,718	9,945	107.8	171	218	95	3(0)	37(3)	20(0)
平成8年度	11,857	11,001	10,270	107.1	262	145	100	4(0)	28(3)	18(1)
平成9年度	11,746	10,907	10,235	106.6	274	142	128	24(0)	25(1)	12(2)
平成10年度	11,639	10,918	10,126	107.8	172	127	83	28(0)	20(6)	14(1)
平成11年度	11,592	11,011	10,173	108.2	51	101	84	4(0)	16(9)	11(0)
平成12年度	11,531	10,930	9,983	109.5	35	107	117	7(0)	18(6)	13(1)
平成13年度	11,574	10,907	10,050	108.5	53	139	135	7(0)	36(8)	12(0)
平成14年度	11,216	10,506	9,766	107.6	42	167	159	8(0)	27(3)	22(0)
計	313,683	295,181	288,615	-	4,263*	2,945	1,341	219*(38**)	511(88)	229(12)

() は 対象疾病患者数
 *, **: 昭和52年度～平成5年度分のヒスチジン血症の数(疑陽性137人, 要精検39人, 患者33人)を含む
 **: この他に対象疾病以外の患者12人あり(良性高フェニルアラニン血症9人, チロジン血症2人, G6PD異常症1人)

表6. マスクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区 分 期 間	富 山 県		全 国	
	平成14年度	昭和52年度～平成14年度	昭和52年度～平成13年度	
受 検 者 数	10,506 人	295,181 人	32,114,038 人	
患者数, 発見率 疾病名	患 者 発見率 (人)	患 者 発見率 (人)	患 者 発見率 (人)	患 者 発見率
フェニルケトン尿症	0	4 1/ 73,800	409 1/ 78,500	
ホモシスチン尿症	0	0	171 1/ 187,800	
ヒスチジン血症	-	33 1/ 6,000 ¹⁾	2,200 1/ 9,600 ²⁾	
メイプルシロップ尿症	0	1 1/ 295,200	63 1/ 509,700	
ガラクトース血症	0	0	907 1/ 35,400	
ク レ チ ン 症	3 1/ 3,500	88 1/ 3,000 ³⁾	7,283 1/ 4,000 ⁴⁾	
先天性副腎過形成症	0	12 1/ 12,600 ⁵⁾	1,045 1/ 16,500 ⁶⁾	

1)昭和52年度～平成5年度 受検査数 197,180人
 2)昭和55年度～平成14年度 受検査数 266,731人
 3)平成元年度～平成14年度 受検査数 151,296人
 4)昭和52年度～平成4年度 受検査数21,119,892人
 5)昭和54年度～平成13年度 受検査数28,782,520人
 6)昭和63年度～平成13年度 受検査数17,233,276人

表7. 要精密検査者の検査状況と結果 (1)

疾病名	症例	患者性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等	
フェニルアラニン血症	1	女	H14.7.10	7.15	5	Phe 2.06 mg/dl 2.01	異常なし	
				7.22	12	Phe 2.61 mg/dl 2.485 2.28		
	2*	女	H14.12.24	1.4	11	Phe 2.11 mg/dl 2.06	良性高フェニルアラニン血症	
				1.15	22	Phe 2.4 mg/dl 2.58 2.305		
	3	女	H15.3.17	3.22	5	Phe 2.44 mg/dl 2.15	異常なし（一過性軽度高フェニルアラニン血症）	
				3.28	11	Phe 2.77 mg/dl 3.03 2.09		
メイプルシロップ尿症	1	男	H14.3.8	3.14	6	Leu 1.86 mg/dl	メイプルシロップ尿症の疑い	
				3.25	17	Leu 3.59 mg/dl 3.02		
				4.1	24	Leu 3.02 mg/dl 3.28 3.61		
	2	男	H14.3.17	3.22	5	Leu 2.94 mg/dl 3.395	メイプルシロップ尿症の疑い	
				4.3	17	Leu 3.86 mg/dl 3.64 4.11		
	3	男	H14.10.8	10.15	7	Leu 3.12 mg/dl 3.07	異常なし	
				10.22	14	Leu 3.53 mg/dl 3.44 3.10		
	ガラクトース血症	1	女	H14.7.4	7.9	5	Gal 3.46 mg/dl 3.8	異常なし
					7.17	13	Gal 3.66 mg/dl 3.42 3.485	
2		男	H14.11.4	11.11	7	Gal 8.54 mg/dl 8.51	経過観察中	
				11.18	14	Gal 9.63 mg/dl 9.48 8.78		
クレチン症	1	女	H14.4.5	4.10	5	TSH 16.1 μ U/ml 16.4	一過性高TSH血症	
				4.18	13	TSH 10.3 μ U/ml 11.85 11.7		
	2	男	H14.5.2	5.7	5	TSH 10.0 μ U/ml 9.3	一過性高TSH血症の疑い	

表7. 要精密検査者の検査状況と結果 (2)

疾病名	症例	患者性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	2	男	H14.5.2	5.11	9	TSH 9.85 μ U/ml 9.7	一過性高TSH血症の疑い
	3	男	H14.4.16	5.8	22	TSH 19.9 μ U/ml 20.05	新生児一過性高TSH血症の疑い
				5.22	36	TSH 82.5 μ U/ml 88.0	
	4	男	H14.5.20	5.25	5	TSH 27.95 μ U/ml 30.6	一過性高TSH血症
	5*	女	H14.6.15	6.20	5	TSH 50.9 μ U/ml 66.45	クレチン症
	6	男	H14.7.4	7.9	5	TSH 32.9 μ U/ml 37.65	クレチン症の疑い
	7	女	H14.8.7	8.11	4	TSH 45.4 μ U/ml 38.95	甲状腺機能低下症または一過性高TSH血症の疑い
	8	男	H14.8.17	8.22	5	TSH 8.3 μ U/ml 9.1 7.2	一過性高TSH血症
				8.30	13	TSH 12.2 μ U/ml 13.15 12.90	
	9	男	H14.9.20	9.25	5	TSH 12.3 μ U/ml 12.45 9.5	経過観察中
				10.2	12	TSH 16.5 μ U/ml 16.8 18.05	
	10	女	H14.9.23	9.28	5	TSH 13.8 μ U/ml 9.85 8.75	一過性高TSH血症
				10.7	14	TSH 9.0 μ U/ml 8.6 10.68	
	11	女	H14.10.4	10.9	5	TSH 18.5 μ U/ml 17.0	経過観察中
10.18				14	TSH 10.2 μ U/ml 11.45 10.2		
12	女	H14.10.4	10.9	5	TSH 10.8 μ U/ml 8.85	経過観察中	
			10.17	13	TSH 14.8 μ U/ml 11.6 13.4		
13	男	H14.10.18	10.23	5	TSH 12.85 μ U/ml 9.70 13.25	一過性高TSH血症	
			10.30	12	TSH 9.0 μ U/ml 9.2 9.1		
14	男	H14.10.30	11.4	5	TSH 166.1 μ U/ml	一過性高TSH血症	

表7. 要精密検査者の検査状況と結果 (3)

疾病名	症例	患者	性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	15		男	H14.10.28	11.2	5	TSH 12.6 μ U/ml 14.05	一過性高TSH血症または軽度先天性甲状腺機能低下症
					11.8	11	TSH 29.4 μ U/ml 28.55 24.2	
	16		女	H14.11.8	11.13	5	TSH 9.4 μ U/ml 11.8	新生児一過性高TSH血症
					11.20	12	TSH 9.6 μ U/ml 10.95 9.8	
	17		男	H14.11.13	11.18	5	TSH 13.4 μ U/ml 13.15	経過観察中
					11.25	12	TSH 14.7 μ U/ml 14.1 14.75	
	18		女	H14.11.17	11.22	5	TSH 9.8 μ U/ml 11.9	一過性高TSH血症
					11.29	12	TSH 36.7 μ U/ml 33.65 31.85	
	19		男	H14.11.22	11.26	4	TSH 10.9 μ U/ml 10.35	一過性高TSH血症の疑い
					12.4	12	TSH 9.0 μ U/ml 8.8 8.35	
	20		女	H14.11.24	11.29	5	TSH 11.35 μ U/ml 9.8	経過観察中
					12.6	12	TSH 17.55 μ U/ml 15.3 16.6	
	21		女	H14.12.23	1.8	16	TSH 8.5 μ U/ml 10.0	一過性高TSH血症の疑い
					1.16	24	TSH 8.9 μ U/ml 10.85 9.75	
	22		女	H15.1.2	1.7	5	TSH 12.7 μ U/ml 10.0	一過性甲状腺機能低下症の疑い
					1.15	13	TSH 16.4 μ U/ml 16.05 15.5	
	23		女	H15.1.21	1.26	5	TSH 71.9 μ U/ml 63.55	一過性高TSH血症の疑い
	24		男	H15.1.20	1.25	5	TSH 10.4 μ U/ml 9.2	異常なし
					1.29	9	TSH 11.1 μ U/ml 15.55 9.2	
	25		女	H15.2.22	2.26	4	TSH 11.0 μ U/ml 10.2 8.3	一過性高TSH血症の疑い
					3.6	12	TSH 10.2 μ U/ml 10.35 9.85	
	26	*	男	H15.3.2	3.8	6	TSH 9.0 μ U/ml 9.8	

表7. 要精密検査者の検査状況と結果 (4)

疾病名	症例	患者	性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	26		男	H15.3.2	3.13	11	TSH 20.8 μ U/ml 22.25 21.15	クレチン症
	27*		女	H15.3.2	3.7	5	TSH 10.9 μ U/ml 11.3	クレチン症 (ホルモン合成障害疑い)
					3.17	15	TSH 25.4 μ U/ml 28.15 22.85	
先天性副腎過形成症	1		男	H14.3.13	3.19	6	17-OHP 5.6 ng/ml 17-OHP 3.8 ng/ml 直接法 5.4 抽出法	異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2888 g
					3.30	17	17-OHP 9.2 ng/ml 17-OHP 5.7 ng/ml 直接法 7.75 抽出法 8.2	
					4.5	23	17-OHP 8.1 ng/ml 17-OHP 4.9 ng/ml 直接法 8.85 抽出法 8.9	
					4.9	27	17-OHP 7.5 ng/ml 17-OHP 5.1 ng/ml 直接法 9.2 抽出法	
	2	女	H14.4.2	4.8	6	17-OHP 7.9 ng/ml 17-OHP 5.1 ng/ml 直接法 8.35 抽出法	異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2720 g	
				4.15	13	17-OHP 6.55ng/ml 17-OHP 3.55ng/ml 直接法 5.6 抽出法		
	3	女	H14.4.27	5.7	10	17-OHP 13.25ng/ml 17-OHP 8.0 ng/ml 直接法 11.2 抽出法	異常なし 在胎週数 33 週 生下時体重 2121 g	
				5.13	16	17-OHP 8.9 ng/ml 17-OHP 5.4 ng/ml 直接法 10.0 抽出法 8.7		
	4	男	H14.3.31	5.19	49	17-OHP 6.1 ng/ml 17-OHP 4.65ng/ml 直接法 6.2 抽出法	経過観察中 在胎週数 31 週 生下時体重 1384 g	
				5.31	61	17-OHP 5.1 ng/ml 17-OHP 4.9 ng/ml 直接法 5.95 抽出法 5.75		
	5	女	H14.6.10	6.18	8	17-OHP 4.9 ng/ml 17-OHP 3.7 ng/ml 直接法 6.2 抽出法	経過観察中 在胎週数 34 週 生下時体重 1978 g	
				6.24	14	17-OHP 5.1 ng/ml 17-OHP 3.75ng/ml 直接法 4.8 抽出法 4.95		
	6	女	H14.6.27	7.4	7	17-OHP 26.4 ng/ml 17-OHP 9.60ng/ml 直接法 26.0 抽出法	異常なし 在胎週数 31.4 週 生下時体重 1930 g	
7.11				14	17-OHP 14.8 ng/ml 17-OHP 5.15ng/ml 直接法 15.5 抽出法 15.4			
7	男	H14.7.15	7.21	6	17-OHP 8.3 ng/ml 17-OHP 5.4 ng/ml 直接法 7.6 抽出法	異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2622 g		
			7.29	14	17-OHP 6.8 ng/ml 17-OHP 3.75ng/ml 直接法 6.5 抽出法			

表7. 要精密検査者の検査状況と結果 (5)

疾病名	症例	患者	性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等
							7.05	
先天性副腎過形成症	8	男	H14.8.20	8.26	6	17-OHP 13.85ng/ml 直接法 11.6	17-OHP 6.0 ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 37 週 生下時体重 2535 g
				8.28	8	17-OHP 11.0 ng/ml 直接法 13.45	17-OHP 6.7 ng/ml 抽出法	
	9	男	H14.7.20	8.1	12	17-OHP 8.1 ng/ml 直接法 8.35	17-OHP 5.7 ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1258 g
8.12				23	17-OHP 3.7 ng/ml 直接法 3.6	17-OHP 2.5 ng/ml 抽出法		
9.10				52	17-OHP 7.6 ng/ml 直接法 8.05	17-OHP 4.2 ng/ml 抽出法		
	10	女	H14.10.1	10.6	5	17-OHP 30.4 ng/ml 直接法 31.1	17-OHP 10.65ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 38 週 生下時体重 3154 g
	11	女	H14.11.8	11.18	10	17-OHP 95.15ng/ml 直接法 81.2	17-OHP 57.9 ng/ml 抽出法	異常なし (胎児副腎の影響か) 在胎週数 39 週 生下時体重 1180 g
	12	男	H14.11.5	11.11	6	17-OHP 4.1 ng/ml 直接法 4.45	17-OHP 3.55ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 38 週 生下時体重 3345 g
				11.16	11	17-OHP 5.6 ng/ml 直接法 6.85 6.65	17-OHP 3.85ng/ml 抽出法	
	13	男	H14.11.9	11.26	17	17-OHP 36.45ng/ml 直接法 32.9	17-OHP 18.7 ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 31 週 生下時体重 1720 g
	14	男	H14.11.21	11.27	6	17-OHP 13.9 ng/ml 直接法 13.6	17-OHP 11.4 ng/ml 抽出法	未熟児に伴う高17-OHP血症 在胎週数 30 週 生下時体重 1710 g
				11.30	9	17-OHP 10.25ng/ml 直接法 10.65 9.4	17-OHP 7.7 ng/ml 抽出法	
	15	男	H14.11.19	11.25	6	17-OHP 7.5 ng/ml 直接法 8.25	17-OHP 4.2 ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 37 週 生下時体重 2895 g
				11.29	10	17-OHP 5.6 ng/ml 直接法 6.3 6.2	17-OHP 3.75ng/ml 抽出法	
	16	女	H14.11.15	11.20	5	17-OHP 4.3 ng/ml 直接法 4.2	17-OHP 3.55ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2530 g
				12.2	17	17-OHP 5.8 ng/ml 直接法 5.7 4.9	17-OHP 4.6 ng/ml 抽出法	
	17	男	H14.12.10	12.15	5	17-OHP 7.7 ng/ml 直接法 7.65	17-OHP 4.85ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 37.3 週 生下時体重 2744 g
				12.20	10	17-OHP 8.7 ng/ml 直接法 8.95 10.05	17-OHP 6.55ng/ml 抽出法	
	18	女	H14.11.22	12.2	10	17-OHP 18.7 ng/ml	17-OHP 11.55ng/ml	超低出生体重児のため

表7. 要精密検査者の検査状況と結果 (6)

疾病名	症例	患者	性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等	
							直接法 20.05 抽出法	経過観察 在胎週数 26 週 生下時体重 744 g	
先天性副腎過形成症	18		女	H14.11.22	12.24	32	17-OHP 43.3 ng/ml 17-OHP13.45ng/ml 直接法 48.9 抽出法	超低出生体重児のため 経過観察 在胎週数 26 週 生下時体重 744 g	
	19		女	H14.12.18	12.24	6	17-OHP 13.6 ng/ml 17-OHP 7.9 ng/ml 直接法 11.85 抽出法	極小未熟児出生による 胎児副腎の存在に伴う 17-OHP上昇 在胎週数 29 週 生下時体重 1198 g	
						1.15	28		TSH 9.25 μ U/ml 17-OHP 1.3 ng/ml 9.2 抽出法
						1.23	36		TSH 2.3 μ U/ml 17-OHP 2.5 ng/ml 2.8 直接法
						2.13	57		17-OHP 6.1 ng/ml 17-OHP 5.3 ng/ml 直接法 7.05 抽出法
	20		男	H15.2.5	2.10	5	17-OHP 6.4 ng/ml 17-OHP 4.2 ng/ml 直接法 8.1 抽出法	異常なし 在胎週数 34 週 生下時体重 2182 g	
						2.25	20		17-OHP 5.0 ng/ml 17-OHP 4.15ng/ml 直接法 5.8 抽出法
	21		女	H15.2.6	2.11	5	17-OHP 9.9 ng/ml 17-OHP 3.6 ng/ml 直接法 9.65 抽出法	異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2720 g	
						3.10	32		17-OHP 8.3 ng/ml 17-OHP 4.05ng/ml 直接法 8.5 抽出法 9.85
	22		女	H15.2.9	2.14	5	17-OHP 10.2 ng/ml 17-OHP 8.25ng/ml 直接法 12.05 抽出法	異常なし 在胎週数 27 週 生下時体重 1008 g	
3.11						30	17-OHP 19.5 .ng/ml 17-OHP11.35ng/ml 直接法 22.05 抽出法 23.35		

<症例5> 日齢5の初回検査で、TSH値が30 μ U/ml以上で直接精査となった。小児科での検査の結果、TSH470 μ U/ml, FT₄0.2ng/dl, FT₃1.85pg/mlで、患者と診断され、治療が開始された。

<症例26> 日齢11の再検査で TSH 値が上昇していたため要精密検査となった。小児科での検査の結果 TSH45.4 μ U/ml, FT₄0.72ng/dlで、甲状腺機能低下症と診断された。なお、甲状腺エコーでは、正常位置に甲状腺が確認されている。

<症例27> 日齢15の再検査で TSH 値が上昇していたため要精密検査となった。日齢30の小児科での検査の結果 TSH 28.0 μ U/ml, FT₄1.2ng/dl, FT₃3.7pg/mlで、甲状腺機能低下症と診断された。甲状腺エコーで、正常位置に甲状腺が確認されている。

(3) 副腎過形成症

要精検となった12人のうち2,000g以下の低出生体重児は10人であった。そのうち1,000g以下の極小未熟児は1人であった。

3. 精度管理

精度管理センターから毎月10件づつ送付されてくる精度管理検体については、アミノ酸、ガラクトース、TSH、17-OHPの異常検体は全てカットオフ値以上で拾い上げられており、見逃しはなかった。また、事務処理上の記入もれ、記入間違いもなかった。

考 察

当所では、新生児マス・スクリーニングの結果

要再検査となり再採血された検体については、初回検体同様に全項目を検査している。それは、スクリーニングで発見される患者は、同じ疾患でも様々な病態があり、それぞれ違った経過をたどり、検査の結果も決して同じではない。スクリーニングの初回検査でいずれかの項目が異常値を示す場合は、その項目に限らず何らかの異常が隠れている可能性があり、この検体については正常とはいえないと考え、それが真の異常であるのかどうかを確認するために再採血検体で再検査すると判断しているからである。しかし、施設によっては疑陽性による再検査の場合は、疑陽性項目のみ検査しているところもある。望月ら [11] は、再採血検体を全項目検査したことにより、遅発型クレチン症を発見したと報告しており、また、対象疾患ではないがスクリーニングで偶然発見される SLC25A13異常症（成人発症Ⅱ型シトルリン血症）（発病率 1/100,000）では、マス・スクリーニングの結果が、2項目同時疑陽性や初回と2回目で違った項目が疑陽性となることが特徴的との報告 [12, 13] がある。平成12年度に本県で発見された SLC25A13異常症も特徴的なスクリーニング結果であった。今年度は、2項目同時疑陽性や初回と2回目で違った項目が疑陽性となる検体が8例あったが、いずれも患者ではなかった。遅発型や対象疾患外とは言っても発見できる可能性がある場合には、できる限り検査するべきと考える。

そのためには、これらの症例にも対応できるスクリーニングシステムの構築が必要であり、当所では17種のアミノ酸を分離できる HPLC を用いた2次検査システムの開発を行っている [14]。

文 献

1. 厚生労働省雇用均等・児童家庭局長（2001）. 雇発第170号.
2. 米田 豊, 九曜雅子（2001）. 富山衛研年報, 平成12年度, 48-53.
3. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊（1991）. 日本マス・スクリーニング学会誌, 1 (1), 211-212.
4. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三（1980）. 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
5. 米田 豊（1998）. インターネットURL, <http://homepagel.nifty.com/screening/punch.htm>
6. 米田 豊（1999）. 富山衛研年報, 平成10年度, 54-57.
7. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿（1998）. 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement 2, 73-81.
8. 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生省児童家庭局母子保健課（2000）. 特殊ミルク情報, 36, 107-109.
9. 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課（2001）. 特殊ミルク情報, 37, 99-101.
10. 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課（2002）. 特殊ミルク情報, 38, 96-98.
11. 望月孝一, 西田俊朗, 望月 弘, 甲田直也, 山口修一（1999）. 日本マス・スクリーニング学会誌, 9 (2), p63.
12. 小林圭子, 佐伯武頼（2001）. 日本マス・スクリーニング学会誌, 11 (3), 17-22.
13. 大浦敏博, 虻川大樹, 相川純一郎, 坂本 修, 飯沼一字, 田澤雄作, 小林圭子, 佐伯武頼（2001）. 日本マス・スクリーニング学会誌, 11 (3), 23-27.
14. 米田 豊, 九曜雅子（2002）. 日本マス・スクリーニング学会誌, 12 (1), 11-18.

乾燥ろ紙血液中ガラクトースおよびアミノ酸の一斉HPLC分析法

米田 豊 九曜雅子

Simultaneous Analysis of Galactose and Amino Acids in Dried Blood Specimens
by HPLC

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

要 旨 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による新生児マススクリーニングろ紙血液中のガラクトース分析法の一部を改良することで、ガラクトースとアミノ酸の一斉分析が可能であることを確認した。アミノ酸分析に用いる試験溶液はガラクトース分析用の残液を用い、HPLCカラムおよび移動相はガラクトース分析と共通のものを用いた。アミノ酸はHPLCインジェクターの自動ラベル化機能によりo-フタルアルデヒド (OPA) で蛍光標識しHPLCに供した。ガラクトース分析に用いる移動相は酸性溶液であるため、OPA標識アミノ酸の蛍光は移動相中では減衰するが、カラム出口でアルカリ溶液を注入することで、高感度検出が可能であった。また、OPA標識アミノ酸は移動相中のカウンターイオンであるテトラ-n-ブチルアンモニウムヒドロゲンスルフェート (TBA) によりODSカラムに良好に保持され、メチオニン (Met)、フェニルアラニン (Phe) およびロイシン (Leu) を含む17種類のアミノ酸を分離できた。本法は同一の試験溶液と装置でアミノ酸とガラクトースの一斉分析が可能であり、アミノ酸代謝異常症およびガラクトース血症マススクリーニングの2次検査に有用と考えられる。

新生児のアミノ酸代謝異常症マススクリーニング検査法として、1次検査ではガスリー法、マイクロプレート酵素法および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が、2次検査ではHPLCが主に用いられている。2次検査法としてのHPLCではMet, Phe, Leuのみならず、多種のアミノ酸を定量でき、アミノ酸代謝の全体像を把握できる検査法を用いることが望ましいと考えられるが、スクリーニング検査施設では、精密検査施設と異なり、より簡易で効率的な検査法を用いることも必要である。多種のアミノ酸の定量が可能な2次検査法としては、すでにAQCプレカ

ラム法 [1] が報告されている。先に、我々はガラクトースのHPLC検査法を報告 [2, 3] したが、そのガラクトース分析で調製した試験溶液を、そのままアミノ酸の2次検査に用い、また同時にHPLC装置も共用することが可能ではないかと考え検討を行った。

実 験 方 法

1 装置

前報 [3] の装置にアルカリ溶液送液ポンプを1

台追加した Fig. 1 に示す装置を用いた.

2 試薬

o-フタルアルデヒド (OPA) および 2-メルカプトエタノール (2ME) は和光純薬工業製生化学用を, N-アセチル-L-システイン (NAC) は同社製特級品を, エタンチオール (ET) は同社製一級品を用いた. また, 3-メルカプトプロピオン酸 (3MP) は同仁化学製試験研究用を用いた. なお, テトラ-n-ブチルアンモニウムヒドロゲンスルフェート (TBA) は東京化成工業製, アミノ酸標準溶液 H 型は和光純薬工業製を用い, その他の試薬は前報 [3] に準じた.

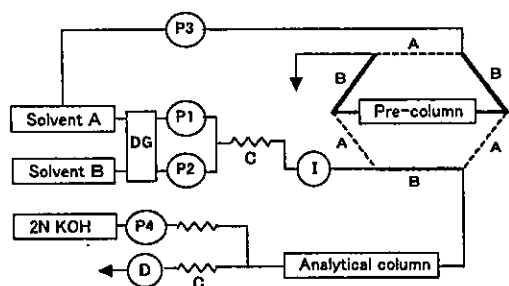


Fig. 1 Flow diagram of HPLC system

DG; Degasser, P1,P2,P3,P4; Pump,
C; Mixing coil, I; Auto injector,
D; Fluorescence detector

水酸化カリウム-ホウ酸溶液: ホウ酸12.3gおよび水酸化カリウム12.0gを水1Lに溶解して用いた.

OPA溶液: OPA50mgを水酸化カリウム-ホウ酸溶液-エタノール (1:1)25mlに溶解した. この溶液を5ml分取し, 2-ME 50 μ lを加えて用いた.

5nmol/ml アミノ酸標準液: 2.5 μ mol/ml アミノ酸標準溶液H型50 μ lおよび2.5 μ mol/mlシトルリン(Cit)含有0.1N塩酸溶液50 μ lに1%酢酸ナトリウム溶液を加えて全容を25mlとした.

なお, マイクロプレート酵素法のアミノ酸標準血液ろ紙はバイエルメディカル社製エンザプレート HCU-F, MSUD-R および PKU-R に添付の標準血液ろ紙を用いた.

3 HPLC条件

Table 1 に示す方法により調製したガラクトース分析用試験溶液の残液20 μ lをアミノ酸分析に用いた. HPLC条件は分析カラム, カラム温度, 移動相A液およびB液の組成は前報 [3] のガラクトース分析法と同一の条件で行った. すなわち, 分析用カラムは Develosil ODS-UG-5 4.6mm i.d. \times 100mmを用い, カラム温度40 $^{\circ}$ C, 移動相のA液はアセトニトリル-B液 (1:1)を, B液は5mM TBA含有100mMリン酸緩衝液 (pH2.0)

Table 1 Procedure for analysis of galactose and amino acid

Specimen	Dried blood paper (1/8 inch ϕ x 1)	
Fixation of pigment	Solution for fixation 10 μ l	
	37 $^{\circ}$ C, 30min	
Ultra sonic extraction	Solution for extract 100 μ l (Alp. Solution 5 μ l ※)	
	10min	
	Galactose	Amino Acid
Phosphohydrolysis (※ if necessary)	(Ambient, 30 min ※)	—
Pre-column Reaction	Extract solution 50 μ l ABA solution 50 μ l	Extract solution 20 μ l
	80 $^{\circ}$ C, 30min or 37 $^{\circ}$ C, 90min	OPA solution 20 μ l auto labeling by Injector
HPLC	10 μ l	10 μ l

を用いた。また、蛍光検出条件は励起波長340nm、検出波長450nm (GAIN10) とし、アルカリ溶液混合用ミキシングコイルは内径0.5mm、長さ1mのステンレス管を用いた。なお、溶出条件はTable 2に示した。

結 果

1 ガラクトース分析とポンプ制御

ガラクトース分析は前法 [3] に準じた。但し、HPLC装置にアルカリ溶液送液ポンプを追加したため、ガラクトース分析時には、このポンプを停止させる必要がある。HPLC制御ソフトウェア「Borwin-HSS」では、3台の送液ポンプの制御はグラジエント機能により行えるが、追加したアルカリ溶液送液ポンプはこの機能では制御できないため、コントロールユニットを介して「Borwin-HSS」からON-OFF制御を行った。なお、アルカリ溶液送液ポンプを追加したことによるガラクトース分析への影響は認められなかった。

2 アミノ酸分析条件の検討

2.1 SH化合物の選択

OPAとアミノ酸の反応に用いるSH化合物として3MP, ET, NACおよび2MEを用いて検討を行った。いずれのSH化合物を用いた場合でも、Met, Val, Phe, IleおよびLeuの溶出順は、この順である傾向は共通していた。3MPを用いて生成されるOPA標識アミノ酸は安定とさ

れている [4] が、我々の検討では顕著な安定性は認められなかった。また、反応速度は他のSH化合物を用いた場合と比較し遅い傾向が認められた。しかし、ThrとGluを分離できる長所を有していた。ETは感度面で劣っていた。NACはSH化合物特有の臭気が弱く扱いやすい特徴があるが、単一のアミノ酸に対し複数のピークを生ずる場合があった。2MEはThrとGluの分離は不良であったが、その他の際立った問題点は認められなかった。以上のことから、2MEを採用した。

2.2 OPA溶液中のエタノールおよび界面活性剤濃度

OPA溶液の調製は、通常OPAを少量のエタノールに溶解後、アルカリ溶液で希釈した水溶液が用いられる。しかし、オートインジェクターの自動ラベル化機能を用いる場合、試験溶液とOPA溶液との混合は空気を注入する方法で行なわれるため、混合後、試料容器内に気泡が残りやすい。そこで、OPA溶液中のエタノール濃度を高くすることで、気泡の残留を防ぐことを試みた。エタノール濃度が70%以上では、OPA溶液が白濁し、また、反応液のアルカリ度も低下するため、エタノール濃度は50%とした。また、Lysの蛍光増強剤として用いるBrij35等の界面活性剤の添加 [5] は気泡を生じやすくするため使用しなかった。

2.3 自動ラベル化条件の検討

自動ラベル化に必要な試験溶液量、OPA溶液量、反応時間について検討した。オートインジェ

Table 2 Time program for pump and column selection unit

Time(min)	Galactose	Amino Acid			
		0.0~	15.0~	30.0~	35.0~ 40.0
Pump 1,2	※	Mobile phase solution A %			
		20 to 60% 1.5ml/min	60% 2.0ml/min	100% 1.5ml/min	20% 1.5ml/min
Pump 3	※	Stop			
Pump 4	Stop	2N KOH solution 0.3ml/min			
Column Selection Unit	※	Position B			

※ described in literature 3)

クターにセットするサンプル容器として容量300 μ lのポリプロピレン製ディスポーザブル容器を用いた場合、試験溶液20 μ l、OPA溶液20 μ lを混合し、その10 μ lを注入する方法が良好であった。なお、オートインジェクターの各溶液セット位置は装置メーカーのマニュアルでは、試験溶液、反応液1、反応液2をセットする位置および反応を行うための混合用容器のセット位置が定められている。しかし、本法では試験溶液を、直接、混合位置にセットしたサンプル容器に入れ、OPA溶液は反応液1の位置にセットした。すなわち、本来、試験溶液をセットする位置および反応液2をセットする位置には何もセットしない方法により、サンプル容器の省略化を図った。アミノ酸の大半はOPA溶液を添加後、直ちに反応するが、オートインジェクター内部を冷却しているため、反応が完結するには10分間以上を要した。しかし、反応時間が一定であれば、定量精度に大きな影響はないと考え、反応時間は1分間とした。また、混合用空気の吹き込み量は100 μ l、その注入速度は100 μ l/secとした。

3 再現性

5nmol/mlアミノ酸標準液を連続20回HPLCに注入し、合計800分間の連続分析を行って、繰返し分析におけるバラツキを観察した。ピーク面積のバラツキはTable 3に示すように変動係数で2.1から3.6%のバラツキが得られた。また、ろ紙血液を用いた場合の再現性を調べるため、マイクロプレート酵素法用の標準血液ろ紙で陽性基準値近辺の濃度（表示値はHCU、PKUおよびMSUD用の順に2.3、2.3および2.5mg/dl）のアミノ酸を含有する血液ろ紙を繰返し8回測定し再

Table 3 Reproducibilities of amino acid peak area
n=20

CV(%)		CV(%)		CV(%)	
Asp	2.1	Asp	2.6	Val	2.4
Arg	2.5	Thr+Glu	2.3	Phe	2.1
Ser	2.9	Ala	2.7	Ile	2.5
Cit	2.5	Tyr	2.6	Leu	2.1
Gly	3.1	Met	2.1	Lys	3.6

現性を求めた。その結果、定量値±標準偏差はそれぞれMet 1.57±0.07, Phe 2.05±0.09およびLeu 2.02±0.07であり、再現性は変動係数で上記の順に4.4, 4.2および3.5%の値が得られ精度良く分析可能なことが示された。

4 検量線

5nmol/mlアミノ酸標準液を、1%酢酸ナトリウム溶液を用いて、4, 3, 2および1nmol/mlとなるよう希釈し、これらの標準液を用いて検量線を作成した。その結果、いずれのアミノ酸もほぼ原点を通る良好な直線性が得られた。そのうち、マス・スクリーニング対象項目であるMet, PheおよびLeuの検量線をFig. 2に示した。また、標準血液ろ紙を用い、主要アミノ酸について、当所でアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの一次検査に用いているHPLC法 [6] と本法による定量値との相関並びに定量範囲を調べた。その結果はFig. 3-1, 3-2 および3-3に示すように、Met, Phe および Leu 共、両HPLC法間に高度の相関が認められ、相関係数は順に0.995, 0.999 および0.999であった。なお、血液ろ紙中の定量範囲は少なくともMet 0.3-17.5, Phe 0.2-18.9 および Leu 0.2-16.7 mg/dlであることを確認した。

5 クロマトグラム

5nmol/mlアミノ酸標準液、正常新生児のろ紙血液30検体を用いて試験溶液を調製後、それらを

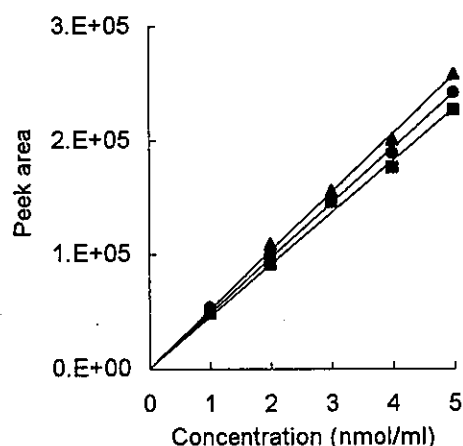


Fig. 2 Calibration curves of amino acids

▲ Met ● Phe ■ Leu

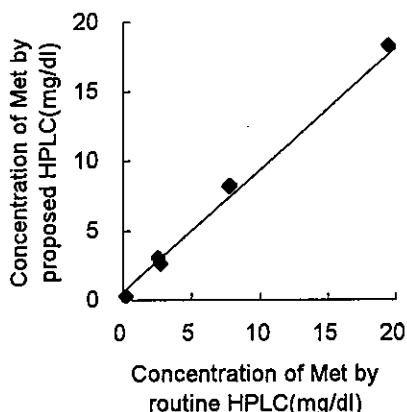


Fig. 3-1 Correlation of concentration in standard discs for HCU between routine and proposed HPLC method

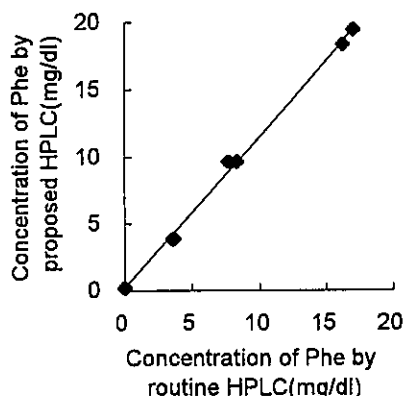


Fig. 3-2 Correlation of concentration in standard discs for PKU between routine and proposed HPLC method

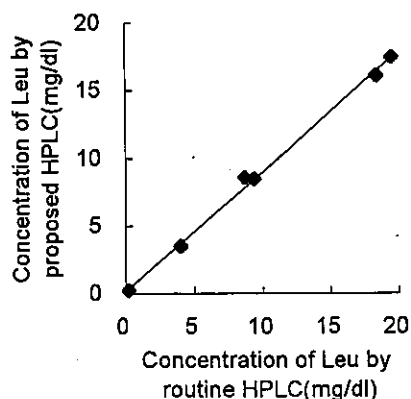


Fig. 3-3 Correlation of concentration in standard discs for MSUD between routine and proposed HPLC method

混合したプール試験溶液, ブランク溶液としてアルカリフォスファターゼ (Alp) を添加した抽出用溶液のクロマトグラムを Fig. 4 に示した. Thr と Glu は同一位置に溶出され, 標準液では14種類のアミノ酸が分離され, 標準液には添加しなかった Asn, Trp および Orn のピークも分離可能であり合計17種類のアミノ酸を分離できた. なお, Gal-1-P を含む総ガラクトースの定量のために抽出液に添加する Alp は本法のアミノ酸定量を妨害しなかった. また, ブランク溶液中にはセロビオースの蛍光標識に用いた2-アミノ安息香酸 (ABA) の過剰試薬が混入している. ABA のピークはシステムピーク (ピークNo.2) と同位置に溶出された. なお, Fig.4 にはフェニルケトン尿症 (PKU) および SLC25A13 異常症 (成人発症Ⅱ型シトルリン血症: CTLN2) の患者のクロマトグラムも併せて示した. なお, CTLN2 の患者は日令23でガラクトースが40.9 mg/dl と高かったため乳糖除去ミルクを本試料の採取1日前から使用している. これらのクロマトグラムから, PKUでは Phe が11.7mg/dl と増加し, CTLN2 では Arg 5.3, Cit 8.8, Thr (+Glu) 4.1, Tyr 10.7, Met 9.2, Val 4.1, Phe 4.2およびLys 7.0mg/dl で, これらのアミノ酸の増加が認められた. また, 両患者共, ガラクトースのHPLC分析ではガラクトースは検出されなかった.

考 察

アミノ酸の逆相HPLC分析においてはアミノ酸単独ではカラムへの保持が弱いため, 通常イオンペアード法が用いられる. この場合, 一般にはアミノ酸をペンタンスルホン酸塩などのアニオンとイオン対を形成させ, 分離後ポストカラム法[7]で検出が行われる. また, OPAプレカラム法ではイオン対を形成させずにOPA標識アミノ酸をそのままの状態で分離する方法 [4, 8, 9, 10] が用いられる. 本法ではOPA標識アミノ酸をカチオンであるTBAとイオン対を形成させて分離する

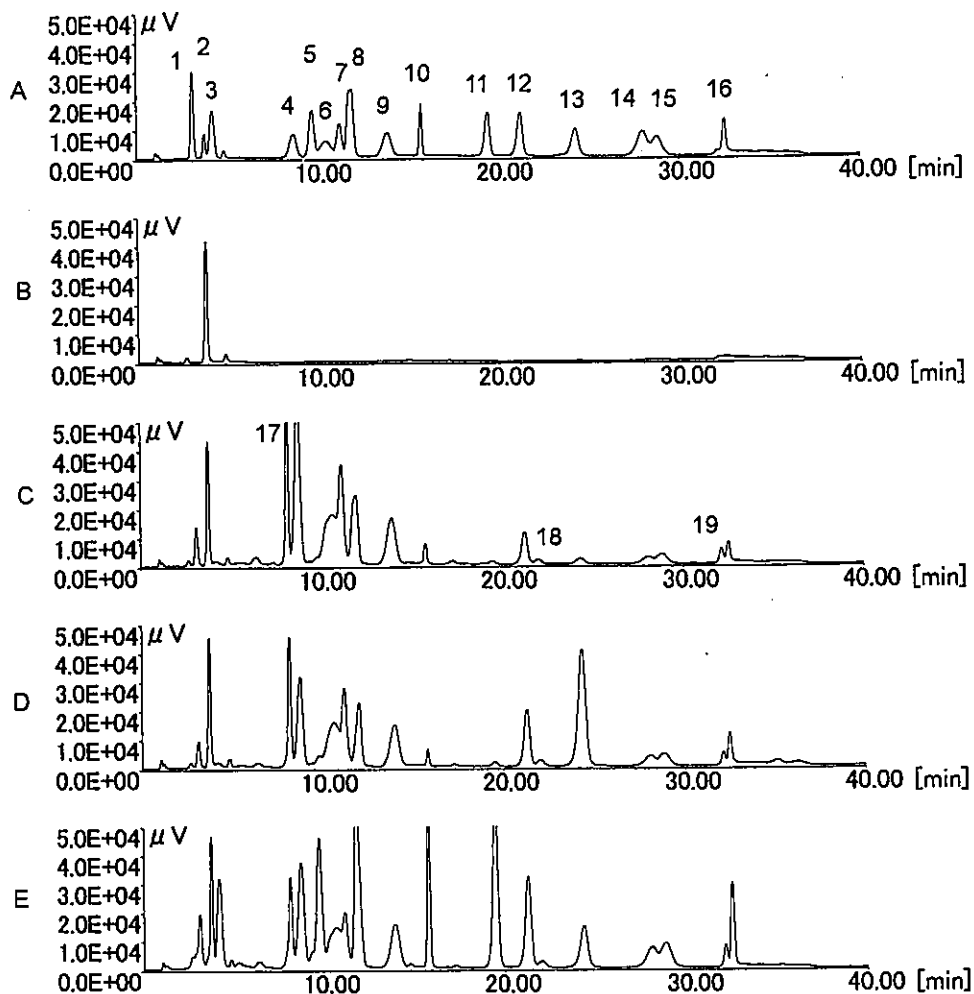


Fig. 4 Chromatograms of standard solution (A), blank solution (B), normal blood (C) and blood of patient with PKU (D) and adult-onset type II citrullinemia (E)

1;His, 2;System peak, 3;Arg, 4;Ser, 5;Cit, 6;Gly, 7;Asp, 8;Thr+Glu, 9;Ala, 10;Tyr, 11;Met, 12;Val, 13;Phe, 14;Ile, 15;Leu, 16;Lys, 17;Asn, 18;Trp, 19;Orn

点が、従来の方法と異なっている。そのため、特有のクロマトグラムが得られ、また、特徴的なこととして、GlyやAlaのピーク幅に比較し、それらのピークより遅く溶出するTyrやMetのピーク幅が狭い現象が観察された。なお、移動相のpHを上げることでGlyおよびAlaのピーク形状をよりシャープにすることは可能であったが、本法ではガラクトース分析とアミノ酸分析に用いる移動相を共通化することに重点を置いた。OPAを用いるアミノ酸のプレカラム法の問題点として、OPA標識アミノ酸は必ずしも安定ではない [11]

点が挙げられる。そこで、オートインジェクターの自動ラベル化機能を用いて、反応温度および反応時間を一定に保ったところ、精度良く分析できた。本法はガラクトースとアミノ酸との一斉分析を目的としたため、HPLC装置はカラムスイッチングに対応できる装置を用いた。しかし、アミノ酸のみの分析ではカラムスイッチングは必要としないため、よりシンプルな機器構成でも分析が可能である。なお、本アミノ酸分析法では、Met、PheおよびLeu以外のアミノ酸も分析対象となるため、尿素サイクル異常症やガラクトースと多

種のアミノ酸が同時に増加すると報告 [12] されているCTLN 2等のアミノ酸代謝異常を伴う疾患の検査法としても有用と考えられる。

文 献

1. 山口昭弘, 田上泰子, 福士 勝, 小田浩道, 藤田 晃三 (1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 (1), 21-28.
2. 米田 豊, 九曜雅子 (2001). 日本マス・スクリーニング学会誌, 11 (3), 53-60.
3. 米田 豊, 九曜雅子 (2001). 日本マス・スクリーニング学会誌, 11 (3), 61-68.
4. Godel H., Graser T. (1984). *J.Chromatogr.* 297, 49-61.
5. Benson J.R., Hare P.E. (1975). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72, 619-622.
6. 米田 豊, 九曜雅子 (2001). 富山衛研年報, 平成12年度, 48-53, 2001.
7. 米田 豊, 九曜雅子 (1999). 日本マス・スクリーニング学会誌, 9 (3), 43-55.
8. Hill D. W., Walters G. H., Wilson T. D. et al. (1979). *Anal.Chem.* 51, 1338-1341.
9. Hill D., Burnworth L., Skea W., Pfeifer R. (1982). *J.Liq.Chromatogr.* 5, 2369-2393.
10. Moretti F., Birarelli M., Carducci C. et al. (1990). *J.Chromatogr.* 511, 131-136.
11. Simons S. S. Jr, Johnson D. F. (1976). *J. Am. Chem. Soc.* 98, 7098-7099.
12. 松浦 里, 内藤悦雄, 伊藤道德ほか (2001). 日本マス・スクリーニング学会誌, 11 (2), 57.

ヒト染色体に関する調査研究—血液，骨髓液— (平成14年度)

林美貴子 本田幸子 加藤丈士

Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA and Takeshi KATO

要旨 平成14年度の受付数は血液88人であった。これらの検査依頼の背景として、流産等の不育症夫婦、羊水検査・流産胎児検査の異常に伴う両親、低身長、ダウン症候群の疑い等であった。そのうち7人に染色体異常が発見された。発見された染色体異常の内訳はダウン症候群1人、ターナー症候群1人と均衡転座保因者5人（流産の原因検索のうち2人と自然流産胎児の原因検索のため、両親の検査を行い発見された3人）であった。また、昭和48年度から、平成14年度までに検査を行った実人数1,844人中、1,817人が検査可能で、そのうち247人に染色体異常が発見され、異常率は13.6%になった。また、今年度の傾向としてFISH法を用いた判定、確認検査が多かった。

遺伝子診断やFISH (fluorescent *in situ* hybridization) 法の発達により、顕微鏡下での染色体分析と分子レベルでのDNA解析との間の溝はほぼ埋まったといわれている。しかし、ヒト集団における染色体異常の発生予防はまだ困難であり、かつゲノム全体像把握のためには染色体分析は必須であり、その需要は減少しないと考えられている。

現在、染色体検査は先天異常児や発達遅滞児の確定診断、習慣流産を含む不育症の夫婦の原因検索、出生前診断、流産胎児、白血病の診断や上記理由の家族等がその対象となっている。最近、生殖障害の研究の発達が著しく、体外受精・胚移植 (IVF-ET) や顕微授精、卵細胞質内精子注入法 (ICSI) などの生殖補助医療技術 (Assisted Reproductive Technology; ART) による妊娠が増加しているが、その中でも不成功を繰り返す不育症に対する染色体検査が増加している。

当所では先天異常の発生原因を追求し、その発生の減少を目的として30年間染色体検査を行ってきた。ここに平成14年度の結果とともに過去30年間の結果をまとめた。

実施方法

各病院から送られてきた末梢血液（ヘパリン採血）を3～4日間培養し、通常の方法により、染色体標本作製したが、その方法は既報 [1] のとおりである。一部の検体ではメソトレキセート (MTX) による細胞培養同調法を併用し、高精度分染法 [2] を行った。

染色体核型分析は中期分裂像5個以上とし、観察細胞数は20個以上とした。しかし、モザイク型ターナー症候群の疑いの場合は100個以上の細胞を観察した。

FISH 法は VYSIS 製プローブを用い、前川らの方法に準じた [3, 4].

平成14年度の検査依頼数は88件で、全て県内の病医院からの依頼であり、その依頼病院内訳を表1に示した.

結 果

1. 平成14年度

平成14年度の依頼数は血液86人と胎児胸水1人・胎児腹水1人の計88人であった。依頼理由と染色体異常の有無等については表2に示したが、依頼理由の多くは不育症（反復流産・不妊症・子宮内胎児死亡）であった。そのうち染色体異常は7人

表1. 医療施設別依頼内訳（昭和48～平成14年度）

病 院 名	年 度	
	H14	S48～H14
県立中央病院	41	1,027
富山赤十字病院	16	322
富山医科薬科大学	10	114
高志学園	0	92
富山市民病院	4	86
氷見市民病院	0	32
厚生連高岡病院	0	24
富山保健所	0	17
砺波総合病院	2	17
富山逡信病院	0	9
済生会高岡病院	3	9
高岡市民病院	8	8
国立富山病院	0	8
黒部市民病院	3	7
済生会富山病院	0	6
社会保険高岡病院	0	2
富山労災病院	0	2
厚生連滑川病院	0	2
小杉保健所	0	1
他(県外分含)	1	87
計	88	1,872

であり（表3）、異常率は8.0%になった。流産を主訴とした（2～4回）夫婦61人（30組夫婦と妻のみ1人）中5人に染色体異常が発見された（症例1～5）.

症例1. 既往 流産2回

夫46,XY,t(9;17)(q34.1;q21)

妻46,XX

症例2. 既往 流産2回

夫46,XY,t(11;14)(p15.5;q13.1)

妻46,XX

症例3. 既往 流産2回 [5]

発端者：胎児（2回目の流産）

46,XY,der(14)t(14;20)(q24;q13.1)pat.

父46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)

母46,XX

症例4. 既往 流産3回 [5]

発端者：胎児（3回目の流産）

46,XY,der(14)t(14;20)(q24;q13.1)pat.

父46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)

母46,XX

症例5. 既往 生産1, 流産3回 [5, 6]

発端者：胎児（3回目の流産）

47,XX,der(14;21)(q10;q10),+16,+21

父46,XY

表2. 依頼理由別内訳（平成14年度）

依 頼 理 由	検 査 数	判 定 数	異 常 数
不育症			
流産を繰り返す	61	61	5
ART対象者	8	8	0
子宮内胎児死亡	4	4	0
低身長	3	3	1
ダウン症候群の疑い	1	1	1
Potter症候群	1	1	0
血小板減少症	1	1	0
水頭症	1	1	0
胎児胸水	1	1	0
胎児腹水	1	1	0
家族			
(発端者に染色体異常あり)			
羊水検査の確認のため	4	4	0
(発端者に染色体異常なし)			
Potter症候群の両親	2	2	0
計(人)	88	88	7

母45,XX,der(14;21)(q10;q10)

正常変異とされる9番染色体逆位は流産を4回経験した2組の夫婦中、ともに夫の方に発見された。また、ART後の流産を主訴とした4組の夫婦には染色体異常は発見されなかった。

低身長を主訴とした3例のうち、1例が47,XXX/45,X(6:4)のモザイク型ターナー症候群であった(表3,症例6)。現在12歳の女兒であり、4歳時、染色体検査で47,XXXと指摘されていた(他施設)が、臨床像から、ターナー症候群が疑われ、FISH法を含めた再検査となった。培養血液細胞の結果からは染色体検査、FISH法ともにほぼ同様の結果を得た。しかし、皮膚組織の培養細胞からは47,XXXの細胞がほぼ100%の結果が得られた。

ダウン症候群を疑われた1人はトリソミー型ダウン症候群であった(表3・症例7)。特異的な顔貌(両眼隔離,眼裂斜位,エピカンサス(内眼角ぜい皮),鞍鼻,硬口蓋高位,舌突起),心奇形,短頸,短指,第5指内わんおよび哺乳不良が認められ,父40歳,母37歳の第3子であった。

その他の主訴ではいずれも染色体異常は発見されなかった。

2. 昭和48年度～平成14年度

検査開始当初からの受付件数は血液1,811件と骨髄液59件の計1,870件になったが、白血病等による血液・骨髄液の重複,他の病院からの再検査による重複を除くと実人数は血液1,790人と骨髄

液54人の計1,844人であった。そのうち、検査可能であった1,817人中247人に染色体異常が発見されたため、染色体異常率は13.6%になった(表4)。依頼理由のうち、最も多いものは流産を繰り返す夫婦であり、そのうち、判定可能であった729人中33人に染色体異常が発見され、その異常率は4.5%、夫婦単位にすると365組中32組で約8.8%、つまり、約11組に1組の割合で染色体異常があった(表4)。検査受付時の流産歴を調査したところ、2～3回が最も多く、また、流産回数が多くなるにしたがって染色体異常発見率も上昇した。表5にその核型を示したが、均衡転座24人、ロバートソン転座6人、逆位保因者1人、トリプルX1人とマーカー染色体保有者1人であった。男性では均衡転座が殆どであったが、女性ではロバートソン転座の割合が男性よりも多かった。また、染色体異常が発見されたのは、男性・女性ほぼ同数であり、従来報告[7]されているような男性1:女性2ということはない。

最近の生殖補助医療技術(ART)の発展はめざましいが、その成功率はまだ30%以下ともいわれている現状であり、着床不成功等による反復流産の依頼が増加してきている。そのような場合、染色体異常が隠れていると指摘されている[7]が、当所で行った中では染色体異常は発見されなかった。また、全染色体異常の内訳については、表6に示した。

表3. 染色体異常の内訳(平成14年度)

症例 No.	主訴・主要症状	核型	診断名
1	流産2回	46,XY,t(9;17)(q34.1;q21)	均衡転座保因者(夫)
2	流産2回	46,XY,t(11;14)(p15.5;q32.1)	均衡転座保因者(夫)
3	流産2回(胎児46,XY,der(14))	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	均衡転座保因者(夫)
4	流産3回(胎児46,XY,der(14))	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	均衡転座保因者(夫)
5	生産1回+流産3回 (胎児47,XX,der(14;21),+16,+22)	45,XX,der(14;21)(p10;q10)	均衡転座保因者(妻)
6	ターナー症候群	47,XXX/45,X(6/4)	モザイク型ターナー症候群
7	ダウン症候群	47,XY,+21	ダウン症候群
8	流産4回+羊水(46,XY,inv(9))	46,XY,inv(9)(p11;q13)	正常変異(9番逆位)夫
9	生産1回+流産4回	46,XY,inv(9)(p11;q13)	正常変異(9番逆位)夫

表4. 染色体検査結果一覧(実人数) 昭和48~平成14年度

依頼理由	依頼検査数	検査判定数	染色体異常	その他*	染色体異常の主な核型
血液の依頼理由内訳					
①不妊症	840	839	33	16	
流産を繰り返す	730	729	33	15	均衡転座保因者,ターナー症候群
不妊症	96	96	0	1	
子宮内胎児死亡	14	14			
②児の異常疑い	321	314	139	2	
ダウン症候群の疑い	131	129	104		21トリソミー
先天奇形	106	101	11		r(D),2pトリソミー等
発育不良・発育遅延	50	50	2	2	9pトリソミー
18トリソミー症候群の疑い	16	16	15		18トリソミー
猫なき症候群の疑い	6	6	1		5p部分モノソミー
13トリソミー症候群の疑い	4	4	4		13トリソミー
副腎性器症候群の疑い	4	4	1		14トリソミー
ブラザー・ウィー症候群の疑い	4	4	1		15トリソミー
③白血病等	46	41	9	0	
白血病	41	36	6		Ph染色体等
ファンコニー貧血	4	4	2		切断,キ'ャップ 45,X/46,XX
色素性乾皮症	1	1	1		モザイク型クラインフェルター症候群
④性染色体異常の疑い	137	135	30	5	
無月経	36	36	3		45,X/46,XX等
ターナー症候群の疑い	32	32	16	5	r(X), i(Xp)等
低身長	33	33	1		
半陰陽	13	11	3		45,X/46,XY, 46,XY/46,XX
臍欠損・鎖臍	7	7	0		
生理不順	3	3	1		45,X/46,XX
クラインフェルター症候群の疑い	7	7	6		47,XXY
他の性染色体異常の疑い	6	6	0		
⑤家族	279	279	14	1	
染色体異常有り	162	162	14		均衡転座保因者等
染色体異常無し	117	117	0	1	
⑥出生前診断	14	14	1	0	
胎児異常の疑い(胎児血液等)	14	14	1		18トリソミー
⑦その他	153	149	6	1	
心臓病	10	10	1		45,X/46,XX
脆弱X症候群の疑い	4	4	0		
その他	139	135	5	1	均衡転座保因者等
血液の小計	1,790	1,771	232	25	
骨髄液の依頼理由内訳					
①白血病等	54	46	15	0	Ph染色体等
骨髄液の小計	54	46	15	0	
合計(人)	1,844	1,817	247	25	

*:9番逆位染色体(正常変異)および睾丸女性化症候群

表5. 流産を繰り返す夫婦中染色体異常のあった33例の核型と既往歴

No.	核型	検査時既往歴
夫		
①	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	流産2
②	46,XY,t(1;4)(q11;p15.2)	流産2
③	46,XY,t(1;7)(q45;q11)	流産3
④*	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産1・流産6・妊娠中
⑤	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産1・流産3
⑥	46,XY,inv(9)(p11q13),t(4;10)(q31;q25)	流産3
⑦	46,XY,t(4;15)(q12;q24)	流産2
⑧	46,XY,t(4;18)(q31.3;q21.3)	流産2
⑨	46,XY,t(5;16)(p13;p13)	生産2・流産3
⑩	46,XY,t(8;14)(p11;q32)	流産4
⑪	46,XY,t(8;15)(q11.2;q15)	流産3
⑫	46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)	流産4
⑬	46,XY,inv(8)(p21q24.2)	流産4
⑭	46,XY,t(9;17)(q34.1;q21)	流産2
⑮	46,XY,t(11;14)(p15.5;q32.1)	流産2
⑯	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産4
⑰	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産2
妻		
①	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産1・流産2・妊娠中
②*	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産1・流産6・妊娠中
③	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産1・死産1・流産3・妊娠中
④	45,XX,der(13;21)(q10;q10)	流産2
⑤	45,XX,der(14;21)(q10;q10)	生産1・流産3
⑥	46,XX,t(1;15)(q42;q26)	流産2
⑦	46,XX,t(3;4)(p13;p16)	流産3
⑧	46,XX,t(3;10)(q29;q22)	流産3
⑨	46,XX,t(3;13)(q25;q11.2)	流産4
⑩	46,XX,t(3;21)(q27;q11.2)	流産2
⑪	46,XX,t(4;15)(q33;q15)	生産3・流産2
⑫	46,XX,t(7;20)(p23.1;q11.2)	流産3
⑬	46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)	流産2・死産1
⑭	46,XX,t(10;18)(q23;q11.2)	流産3
⑮	47,XXX	流産2・胎児死亡1
⑯	47,XX,+mar	流産2

*:夫婦

表6. 染色体異常の内訳

考 察

染色体異常	人数
1. 常染色体異常	
①ダウン症候群	104
(トリソミー型)	(98)
(モザイク型)	(3)
(転座型)	(3)
②18トリソミー症候群	15
(トリソミー型)	(12)
(モザイク型)	(2)
(転座型)	(1)
③13トリソミー症候群	6
(トリソミー型)	(2)
(モザイク型)	(1)
(転座型)	(2)
(部分トリソミー)	(1)
④13リング症候群	2
⑤9pトリソミー症候群	2
⑥2p部分トリソミー	2
⑦猫なき(5pモノソミー)症候群	1
⑧7p部分トリソミー-7q部分モノソミー	1
⑨11p部分トリソミー	1
⑩プラター・ウイー症候群	1
⑪由来不明部分過剰	6
⑫均衡転座保因者	45
⑬逆位保因者	3
⑭ファンコニー貧血	1
⑮白血病	21
⑯悪性腫瘍がある	1
小計(人)	212*
2. 性染色体異常	
①ターナー症候群	23
(モノソミー型)	(5)
(モザイク型)	(18)
②クラインフェルター症候群	7
(トリソミー型)	(6)
(モザイク型)	(1)
③トリプルX	2
④半陰陽	3
小計(人)	35**
合計(人)	247

*;全体に占める異常率 11.7%(212/1,817)

**;全体に占める異常率 1.9%(35/1,817)

FISH法の簡便性、正確性からその使用頻度は増加の一途であり、ターナー症候群のようにモザイク例が多い場合、非常に有用であった。臨床像から、検査結果(他施設で行った)を疑問視された、症例6(表3)はモザイク型のターナー症候群であった。しかし、念のため、血液と皮膚組織の両方で染色体分析を行ったところ、血液と皮膚組織ではその結果が異なっていたため、細胞分裂中の細胞しか判定できない染色体分析と比較し、休止核でもX染色体が何個あるか確認できる利便性のあるFISH法を用いモザイクの確認を行った。染色体分析は約100個の観察が限界であるが、FISH法を用いた休止核では1,000個以上観察することが容易であることから、モザイク割合が正確に判定できたと思われた。また、症例3, 4(表3)の場合、保因者血液の染色体分析ではその染色体異常が判定できたが、流産胎児細胞では細胞の特性もあり、分析が困難であったため、FISH法を併用し、核型分析を行うことができた。また、さらに、我々は染色体検査を行ったなかで、約18%の検体に *de novo* と思われた染色体異常(主に数的異常)を観察した。この低頻度ながら観察される染色体異常について、その由来を検討する必要があると考えられた。

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

文 献

1. 林美貴子, 本田幸子, 大江浩, 北村敬(2001). 富山衛研年報, 24, 56-60.
2. Yunis, J.J., Sawyer, R. and Ball, D.W. (1978). Chromosoma, 67, 293-307.
3. 前川雅彦, 新宅香織, 山下達夫(1997). 臨床FISHプロトコール, 79-84.
4. 林美貴子, 本田幸子, 大江浩, 北村敬(1999). 富山衛研年報, 22, 58-66.

平成15年10月1日

5. 本田幸子, 林美貴子, 加藤丈士 (2002). 富山衛研
年報, 26, 62-67.
6. 林美貴子, 本田幸子, 佐竹紳一郎, 脇博樹 (2002).

第23回北陸先天異常研究会抄録集, 10.

7. De Braekeleer MD, Dao TN (1990). Hum. Reprod.,
5, 519-528.

ヒト染色体に関する調査研究 —羊水・流産胎児— 平成14年度

本田幸子 林美貴子 加藤丈士

Chromosome Analyses of Amniotic
Fluid Cells and Fetal cells

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI and Takeshi KATO

要 旨 平成14年度の羊水および流産胎児の染色体の検査は、受付件数が羊水75件、流産胎児18件で、昭和49年度からの累計件数は、羊水1,254件、流産胎児222件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が、羊수에 8件 (47,XX,+13 47,XX,+21 47,XY,+21 47,XY,+18:(3件) 46,XY/47,XYY 46,XY,inv(8)(p21q24)pat), 流産胎児に11件 (47,XY,+C 47,XX,+16 47,XX,+21 48,XY,+21,+22 48,XY,+M,+M 46,XY,der(14)t(14;20)(q24;q13.1)(2件) 47,XX,der(14;21)(q10;q10)mat,+16,+21 45,X(3件)) みられた。今年度までの累計件数では羊水で61件、流産胎児で90件の異常がみられている。染色体検査依頼の理由(主訴)は、羊水では高齢妊娠、胎児に異常が疑われる、染色体異常児出産既往等が、流産胎児では流早産既往等が多かった。

当所において染色体検査は、昭和48年度から血液による検査が始まり、49年度からは羊水、さらに50年度からは自然流産胎児、絨毛等が加わり、検査が行われてきた。ここに平成14年度の羊水、流産胎児の検査結果とともに今年度までの累計結果もあわせて報告する。

実 施 方 法

1. 羊水

染色体標本作成は、羊水15ml以上を静置後、沈殿した細胞に培養液を加え、再浮遊し、1検体につきシャーレ2枚以上になるようにし、炭酸ガス

培養を行った。

培養方法、染色体標本作成方法等の詳細は表1および既年報 [1] に従った。染色は通常のギムザ染色およびGバンド分染を行い、必要により、Cバンド法による分染やクロモゾームペインティング法等のFISH法を施行した。1検体につき10個以上の中期核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

2. 自然流産胎児

検体はおもに、流産胎児の皮膚組織、および流産胎児の付属物である絨毛組織等であった。方法等は既年報 [1] にしたがった。

これらの組織をハサミで細切し、シャーレの上に並べ、培養液を添加し、炭酸ガス培養を行った。

倒立顕微鏡下で細胞の増殖状況を観察しながら、適当な時期に培養液の交換を行った。培養液の組成や染色体標本作製等は羊水細胞と同様の方法（表1）で行い、色体分析を行った。

今年度染色体分析の結果、下記の染色体異常8件（症例1～8）がみられた。今年度までの異常累計数は61件であり、その異常率は5.0%となった。

結果および考察

1. 羊水

今年度の染色体検査受付総数は75件で、すべて富山県内の医療施設からの依頼であった（表2）。染色体分析はすべて可能であった。検査開始時から平成14年度までの検査受付総数1,254件のうち分析可能数は1,208件で、その分析率は96.3%になった。今年度および検査開始の昭和49年度から今年度までの累積検査数、結果等はそれぞれ表3、表4に示した。

〈症例1〉

年齢・妊婦：39歳
夫：39歳
羊水採取時の妊娠週数：16週
主訴・依頼理由：高齢妊娠
既往歴・他：生産児3人（1人血管奇形で2週に死亡）
分析結果：47,XX,+18
経過・予後等：流産

〈症例2〉

年齢・妊婦：25歳

表1. 染色体標本作成法（羊水）

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

表2. 染色体検査依頼病院（羊水・流産胎児）

（平成14年度）

病 院	羊水	流産胎児	計
富山県立中央病院	18	3	21
済生会高岡病院	18	2	20
富山医科薬科大学	10	2	12
富山赤十字病院	6	4	10
黒部市民病院	7		7
富山市民病院	5	2	7
高岡市民病院	2	5	7
砺波総合病院	5		5
厚生連高岡病院	3		3
菅田産婦人科医院	1		1
計	75	18	93

表3. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (平成14年度)

依頼理由 (主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	42	1	
35-39歳	23	1	47, XY, +18(症例1)
40歳以上	19	0	
胎児異常の疑い	14	4	
Nuchal translucency	7	3	47, XY, +21(症例2) 47, XX, +13(症例3) 47, XY, +18(症例4)
多発奇形	2	0	
Cystic hygroma	1	0	
発育遅延	1	1	47, XX, +21(症例5)
胎児胸水・腹水	1	0	
胎児水腫	1	0	
水頭症	1	0	
染色体異常児妊娠・出産既往	9	1	
前子ダウン症候群	5	0	
前子トリソミー症候群(+18・+22)	2	1	46, XY/47, XYY(症例6)
構造異常	2	0	
羊水過多・過少	3	1	47, XY, +18(症例7)
習慣性流産	3	0	
逆位染色体保因者	1	1	46, XY, inv(8)(p21q24)pat(症例8)
前胎児が異常(Cystic hygroma)	1	0	
親類にダウン症がいる	1	0	
トリプルマーカー高値の精査	1	0	
計	75	8	

表4. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (昭和49年～平成15年3月)

依頼理由 (主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	694	679	14	47, (+18):2件 47, XX, +13/46, XX 47, (+21):5件 47, XY, +21/48, XY 46, XX, -18p 47, XXY 47, XXX 45, XY, t(13:14)mat 47, XY, 18
染色体異常児妊娠出産既往	184	179	4	47, XX, +G:2件 47, XY, +E 46, XY/47, XYY
胎児異常の疑い	117	111	19	45, X:2件 47, XX, +13 47, (+18):6件 47, (+21):5件 47, XX, +M 69, XXY 47, XXY 46, XY, del(4) 46, XY, der(20)t(9:20)mat
前子・胎児が異常(染色体異常除く)	52	47	1	47, XX, +21
親類にダウン症や障害児等がいる	48	47	0	
羊水過多・羊水過少	42	39	8	47, XY, +E 47, XX, +D 46, XX, iso psu dic(18) 47, XY, +21:2件 47, XY, +13 47, (+18):2件
転座型染色体保因者	28	27	12	45, XY, t(14:21) 46, XY, t(D:G) 46, XX, t(1:12) 46, XX, t(7:11) 46, XX, inv(3) 46, XX, t(2:17) 45, XX, t(13:15):2件 46, XY, inv(7) 45, XY, t(13:14) 46, XY, t(14:21) 46, XY, inv(8)
流産・死産既往	22	20	2	69, XXX 46, XX, t(5:6)
本人の強い希望	13	13	1	46, XY/45, X
体外受精・顕微授精	9	9	0	
血中アルファプロテイン等の異常	6	6	0	
近親婚	4	3	0	
風疹に感染	4	4	0	
トキソプラズマ症の疑い	2	2	0	
その他	16	13	0	
不明	13	9	0	
計	1254	1208	61	

平成15年10月1日

夫 : 28歳
羊水採取時の妊娠週数: 18週
主訴・依頼理由: 胎児後頸部に浮腫
Nuchal Translucency 5mm
既往歴・他: 生産児2人, 人口流産1回
分析結果: 47,XY,+21
経過・予後等: 不明

〈症例3〉

年齢・妊婦: 38歳
夫 : 47歳
羊水採取時の妊娠週数: 16週
主訴・依頼理由: 胎児後頸部に浮腫
Nuchal Translucency 5mm
既往歴・他: 初妊娠
分析結果: 47,XX,+13
経過・予後等: 不明

〈症例4〉

年齢・妊婦: 39歳
夫 : 42歳
羊水採取時の妊娠週数: 16週
主訴・依頼理由: Nuchal Translucency
既往歴・他: 生産児1人
分析結果: 47,XY,+18
経過・予後等: 流産

〈症例5〉

年齢・妊婦: 41歳
夫 : 42歳
羊水採取時の妊娠週数: 29週
主訴・依頼理由: 胎児発育遅延
既往歴・他: 自然流産1回
分析結果: 47,XX,+21
経過・予後等: 不明

〈症例6〉

年齢・妊婦: 39歳
夫 : 40歳
羊水採取時の妊娠週数: 15週
主訴・依頼理由: 前胎児22トリソミー症候群

既往歴・他: 生産児1人, 自然流産3回
分析結果: 46,XY/47,XY
経過・予後等: 不明

〈症例7〉

年齢・妊婦: 30歳
夫 : 29歳
羊水採取時の妊娠週数: 33週
主訴・依頼理由: 羊水過多
既往歴・他: 初妊娠
分析結果: 47,XY,+18
経過・予後等: 不明

〈症例8〉

年齢・妊婦: 24歳
夫 : 24歳
羊水採取時の妊娠週数: 15週
主訴・依頼理由: 逆位染色体保因者(夫).
既往歴・他: 生産児1人, 自然流産4回
分析結果: 46,XY,inv(8)(p21q24)pat
経過・予後等: 不明

検査依頼の理由として一番多いのは高齢妊娠の42件で, 受付総数の56%にあたる. その年齢は35歳から45歳で, 前年度まで見られた34歳以下は見られず, 特に今年度は40歳以上が多くなり, 45%を占めた. このうち1件にトリソミー型の染色体異常がみられた(症例1). 症例1のように, 母親の加齢とともに, ダウン症等の染色体異常の発生率が高くなることはよく知られている. 今年度みられた8件の異常のうち, 理由・主訴は別として, 5件が38~41歳のいわゆる高齢となっている. 検査開始から, 今年度までに当所においてみられた染色体異常61件のうち, 高齢妊娠を主訴としているのは14件で23%となる.

次に多いのは, 胎児に奇形等の異常が疑われるという理由で14件の依頼があり, そのなかの4件に異常がみられた. その内訳は, 7件が胎児にNuchal translucency (NT) の肥厚がみられたという理由であり, そのうち3件に異常がみられた(症例2, 症例3, 症例4). その異常はダウン

症候群, 13トリソミー症候群と18トリソミー症候群であった。また胎児発育遅延であった1件にもダウン症候群の異常がみられた(症例5)。最近の超音波診断の進歩により, 胎児の状況がよく診られるようになった。特に, 妊娠10~14週胎児のNTの肥厚が異常の判断の指標として採用され, トリプルマーカー検査より正確ともいわれるようになってきている[4]。当所においても近年この依頼が増加しているが, 詳細については別報に記載した[5]。そのほか, 多発奇形が2件, 胎児胸水・腹水, Cystic hygroma, 胎児水腫, 水頭症がみられるという理由でそれぞれ1件あったが, 染色体異常はみられなかった。

次は, 以前に染色体異常児(両親由来ではない染色体異常)を出産・妊娠した経験者からの9件の依頼であった。前児の異常の内訳は, ダウン症候群5件, 18トリソミー症候群, 22トリソミー症候群がそれぞれ1件, 構造異常2件(add9, del18?)であった。このうち前児22トリソミー症候群の症例6に再び性染色体モザイク(XY/XYY)の異常がみられた。数的異常の再発例は検査開始以来4例目(2.2%)である。

「羊水過多・過少」, 「習慣性流産」という理由でそれぞれ3件依頼があり, そのうち羊水過多に18トリソミーの異常がみられた(症例7)。

構造異常である逆位染色体保因者の依頼は, 親と全く同じ逆位保因者と判明した(症例8)。

そのほか「前胎児にcystic hygroma等の異常があった」, 「親類にダウン症児がいる」, 「トリプルマーカー高値のため」が各1件で, 異常はみられなかった。

最近の遺伝子診断技術の急激な進歩に伴い, 高精度分染法やクロモゾームペインティング法, FISH法等の技術を導入して分析精度を上げるよう対処している。しかし, 分析機器の更新の必要性や試薬の高価格等の問題もあり早急には対応できないこと, さらに出生前診断としての羊水等の染色体検査には, 母親細胞混入の危険性があること, 培養細胞を分析していること, 微細な染色体異常やモザイク症がすべて把握されるわけではないこと, 染色体異常が発見されてもほとんどが治

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

2. 自然流産胎児

今年度, 受付総数は18件で, すべて分析可能であった。平成14年度および検査開始時から平成14年度までの検査依頼病院, 理由, 結果等を表2, 表5, 表6に示した。今年度は18件中11件(61%)に染色体異常がみられた。全年度では48%となった。

検査理由で一番多かったのは, 過去にも流産をしたことがあるための12件で, そのうち9件に異常があった。この内訳は, 数的異常が6件(ターナー症候群2件, 21トリソミー型ダウン症候群1件, 16トリソミー症候群1件, Cトリソミー1件, 21, 22各トリソミー1件), 均衡転座保因者である親由来の構造異常が3件(不均衡転座型2件, 3:1分離等による異常1件)である。流産の回数は2~5回であった。過去の流産胎児の染色体異常の有無については未調査のため, 再発かどうかは不明である。また今回の流産時点の年齢は25歳~38歳(平均31.8歳)で, 数的異常を持つ症例では平均32.8歳で, 年齢との関係についても明らかではない。

初めての流産5件中, 子宮内胎児死亡の3件には, 由来不明染色体2本過剰の染色体異常が1件みられた。他の2件のうち1件がターナー症候群であった。

流産した胎児に頸部リンパ腫のあった1件に異常はみられなかった。

依頼された流産胎児の週数は6週から38週にわたっていた。

自然流産胎児の染色体異常の頻度が高いことは一般に認められている。染色体異常の発生頻度は, 研究材料, 収集方法, 研究方法による違いで開きはあるものの, 池内[6]は46.1%と報告しており, 当所の結果も全年度で, 48.1%となり, ほぼ一致

表5. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (平成14年度)

依頼理由 (主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
流早産経験者	12	9	
流早産 2回目	2	1	46, XY, der (14)t(14;20)(q24;q13.1)pat
3回目	6	5	45, X(2件) 47, XX, +21 46, XY, der (14)t(14;20)(q24;q13.1)pat 47, XX, der (14;21)(q10;q10)mat, +16, +21
4回目	1	0	
5回目	3	3	47, XY, +C 47, XY, +16 48, XY, +21, +22
流早産 (初)	5	2	
子宮内胎児死亡	3	1	48, XY, +M, +M
流産	2	1	45, X
流産胎児に頸部リンパ腫がある	1	0	
計	18	11	

表6. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (昭和50年～平成15年3月)

依頼理由 (主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型等
過去にも流早産をした	108	91	55	45, X:6件 47, (+3):2件 47, (+16):8件
初めての流早産(原因不明)	43	35	12	69, XXX:3件 47, XY, +18 45, X
流産胎児に奇形等があった	34	31	10	69, XXY 47, (+18):2件 45, X:3件
体外受精・顕微授精	14	13	6	47, XX, +13 47, XY, +20
親が染色体異常	7	5	3	46, XY, der (4)t(4;15)
胞状奇胎	6	6	0	
羊水検査で染色体異常があった	3	2	2	47, XX, +13/46, XX 47XY, +21/46, XY
前子が染色体異常	2	2	2	48, XX, +15, +16
前子が多発奇形	1	1	0	
羊水過少	1	1	0	
妊娠中に風疹に罹った	1	0		
理由不明	2	0		
計	222	187	90	

している。

当所における分析数がまだ少ないため、確たる結論には至っていないが、この検査を続けていくことにより、今後の妊娠指導、治療方針の決定や、遺伝相談の資料として母子医療に役立つものと考えている。

謝辞：ここに発表しました症例の検体採取や調査にご協力をいただきました、各医療施設の関係者の方々に深謝いたします。

文 献

1. 本田幸子, 林美貴子, 大江浩, 北村敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 54-60.
2. 福嶋義光, 涌井敬子 (1996). 臨床染色体診断法 (古庄敏行編), 207-231 金原出版.
3. 林美貴子, 本田幸子, 加藤丈士 (2002). 富山衛研年報, 25, 62-67.
4. 佐藤孝道 (2001). 臨床検査, 45(2), 161-166, 医学書院.
5. 本田幸子, 林美貴子, 加藤丈士 (2003). 富山衛研年報, 26, 62-67.
6. 池内達郎 (1999). 遺伝子・染色体検査学 (奈良信雄編), p131-135 医歯薬出版.

家屋に侵入越冬するカメムシの飛来生態

II. スコットカメムシの近年の飛来状況

渡 辺 護

Notes on the Flight Behavior of Stink Bugs Invading Houses for Hibernation.

II. Flight Activity of *Menida scotti* in Recent Years.

Mamoru WATANABE

要 旨 1995年から立山山麓家族旅行村において、悪臭不快害虫の家屋侵入性カメムシの飛来生態の観察を行っている。これらの成績から、スコットカメムシの飛来数には年変動が存在することが判っていたが、2002年はそれまでに観察されたことが無いほど極端に少なくなった。そこで、その原因を「気象要因の影響」とであると仮定し解析を試みた。その結果、2002年は例年よりも1ヶ月も早い10月下旬に初雪を記録し、スコットカメムシの飛来最盛期にあたる11月上旬前後の気温が著しく低く推移したことが判った。すなわち、越冬飛来を前に低温に曝され、生理的に飛行が出来なくなったか、または降雪の物理的影響で飛行が出来なかったことが、越冬飛来数が顕著に少なくなった原因と考えられた。

富山県の山間地では毎年秋にクサギカメムシとスコットカメムシの多量飛来による悪臭に悩まされている。筆者は1989年以来これらカメムシの家屋への侵入を阻止する方法を調査研究し、実践的な方法を提案して来た [1~3]。一方で、カメムシの飛来生態には不明な点が多い、とくに越冬飛来量は年により変動がみられるが、その原因となるメカニズムについては明らかになっていない [4]。ところで、2002年の富山県立山山麓家族旅行村でのスコットカメムシの飛来は、調査中から例年に比べ著しく少ないと感じていた。そこで、1998年から2002年までのスコットカメムシの飛来数と隙間トラップ潜み数を比較して、飛来数の多少を明らかにするとともに、飛来数を減少させた原因の一つと推定される、気温の推移を検討したので報告する。

調査地と調査方法

調査地：富山県上新川郡大山町花きり「立山山麓家族旅行村」(標高550~625m)の中にある公衆便所を併設した職員休憩所(8.1×6.3m, 平均壁高3.0m)とパークゴルフ場管理棟(7.2×5.4m, 平均壁高3.8m)において、その壁面に飛来するカメムシ類を9月下旬から、飛来が観られなくなる12月上旬まで、ほぼ毎週午後3時前後に観察した。

調査方法：両建物の壁面に止まっているカメムシを壁の方位別に見とり法によって全数記録することで行った。さらに、30×60cm, 厚さ5mmのベニア板を、隙間3mmで5枚重ねた隙間トラップを、各方位の壁面の下に地面と接して、各1台ずつ建物の壁に立掛けて設置した。このトラップは翌春のカメムシの越冬覚醒飛行まで、積雪期間

を除いて定期的に観察した。

結果と考察

図1の上段に、職員休憩棟におけるスコットカメムシの壁への飛来止り数を年度別に示した。各年度とも11月第1週に最も飛来数が多く、1998年165個体、1999年134個体、2000年830個体、2001年948個体であったのに対して、2002年はわずか

に2個体であった。一方、隙間トラップ潜み数は(図1の下段)11月第2週か、3週に最大になり、1998年44個体、1999年174個体、2000年831個体、2001年は1,755個体に達したのに対し、2002年は11月4週の17個体が最大であった。

同様に図2の上段に、パークゴルフ場管理棟でのスコットカメムシの成績を示した。職員休憩棟と同じ様に、壁飛来止り数は11月第1週に最も多く、1998年714個体、1999年148個体、2000年996個体、2001年412個体であったのが、2002年はわ

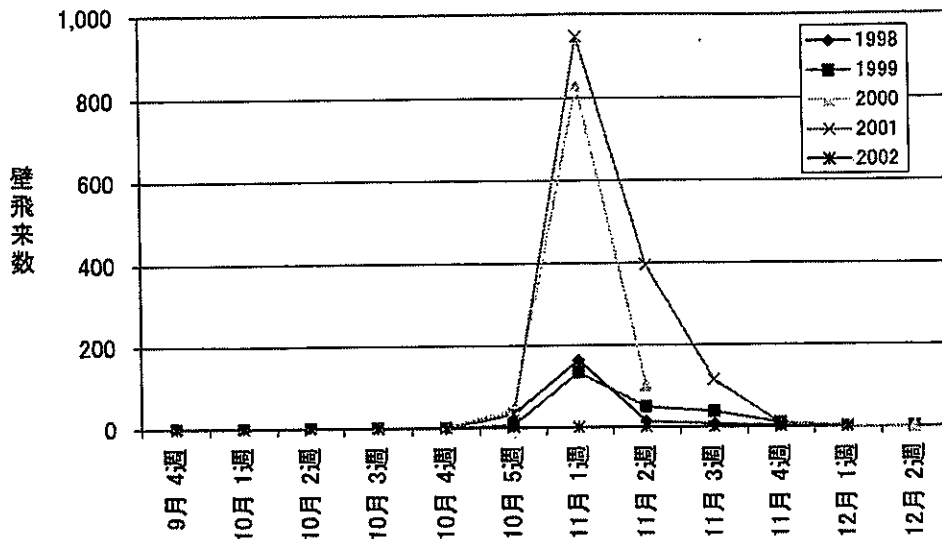


図1-1 スコットカメムシの職員休憩棟壁への飛来数

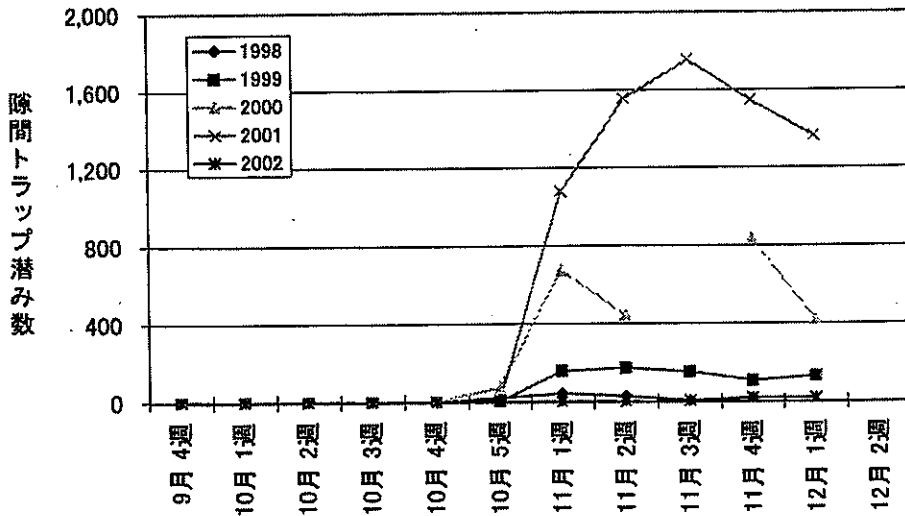


図1-2 スコットカメムシの職員休憩棟隙間トラップ潜み数

ずかに1個体のみであった。隙間トラップ潜み数は(図2の下段)11月第1週か、2週に最大になり、1998年262個体、1999年82個体、2000年82個体、2001年は158個体に対し、2002年は11月第1週の17個体が最大であった。

両方の建物はお互いに目視することが出来、直線距離で約100mしか離れていないが、壁への飛来数および隙間トラップへの潜み数の年度変化には大きな違い見られる。例えば、休憩棟では2001年が飛来数、潜み数とも最も多く、次いで2000年であったのに対し、管理棟では飛来数は2000年-1998年、潜み数では1998年-2001年の順に多くなっ

た。しかし、両建物とも2002年の飛来数、潜み数とも顕著に少ない点では一致しており、この年に飛来数を抑制させる大きな要因の存在が示唆される。家屋侵入越冬性のカメムシの飛来数の多寡は、夏季の繁殖数(個体群サイズ)と地形・景観および飛来時の気象条件などが関与していると推察される。2002年の夏季の繁殖数は、気温や雨量など気象要因の推移から、極端に少なくなったとは考えられない。その証拠として、この家族旅行村から約10km山に入った標高1,160mの有峰地域の10月24日のスコットカメムシの飛来数は、2001年と変わらない程度の飛来が観察されている(この地

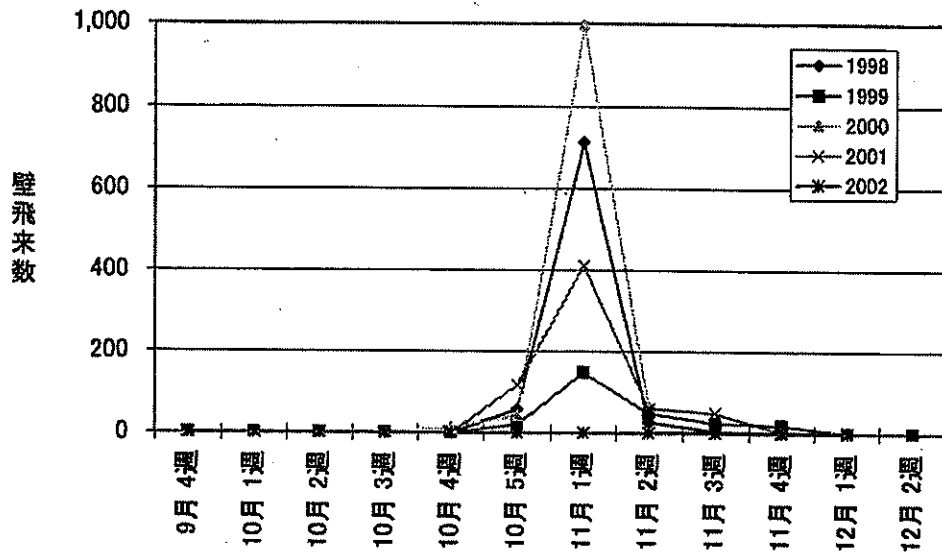


図2-1 スコットカメムシのパークゴルフ場管理棟壁への飛来数

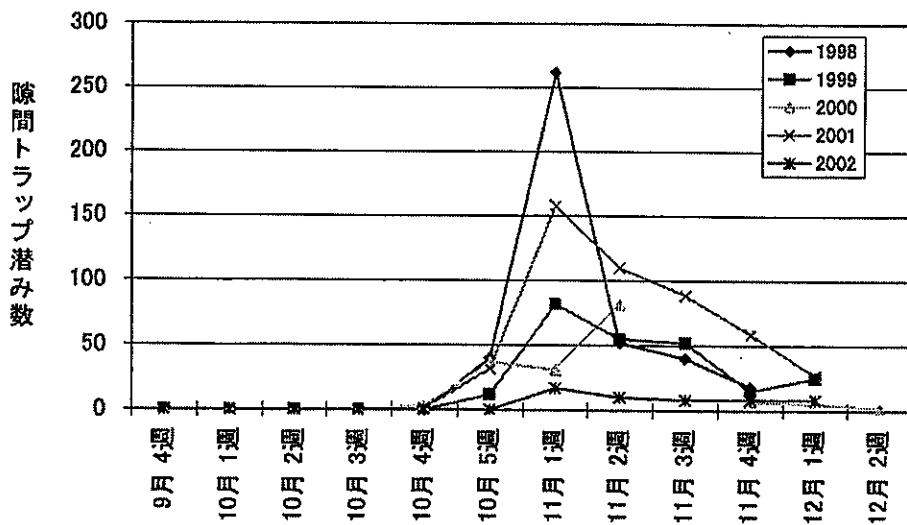


図2-2 スコットカメムシのパークゴルフ場管理棟隙間トラップ潜み数

域では例年10月下旬が飛来の最盛期になる [5]). また、繁殖場所(樹種)が異なるが、同時に家屋などに飛来するクサギカメムシの、家族旅行村への飛来数は2002年がとくに顕著に少ないという成績は得られていない(図3, 4).

以上のことから、家族旅行村でスコットカメムシの飛来・潜みが少なかったのは、飛来が最盛期を迎える11月上旬 [5], もしくはその直前に、飛

来を妨げる決定的な要因が働いたと考えられる。それが例年よりも1ヶ月も早い10月29日の降雪と推定した。そこで客観的に判断するために、家族旅行村事務所で計測している最高、最低気温から単純平均気温を求め(最高気温+最低気温/2), 1998年から2002年の9~11月を図示したのが図5である。2002年は10月28日から明らかに低温傾向を示し、それは11月17日まで続いた。この間、家

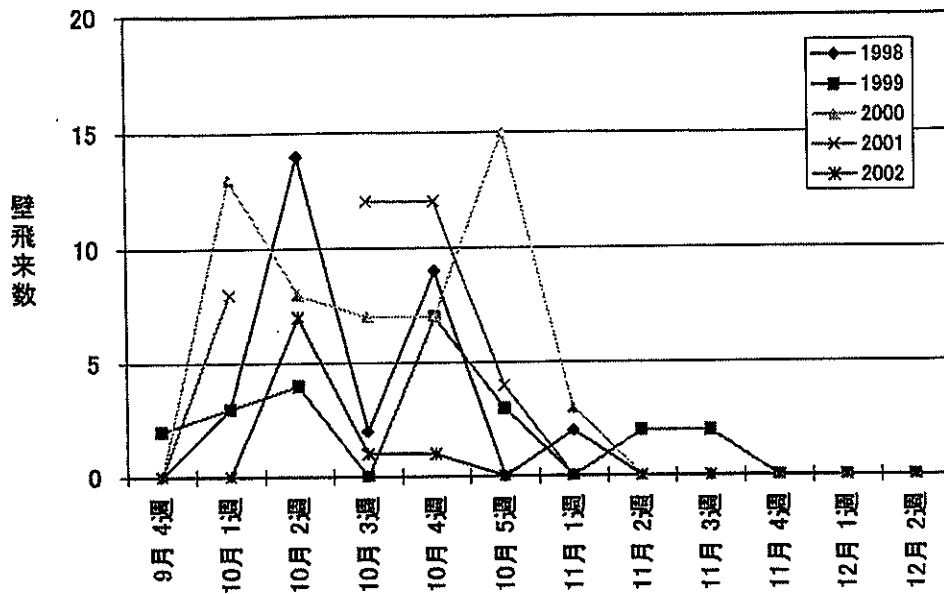


図3-1 クサギカメムシの職員休憩棟壁への飛来数

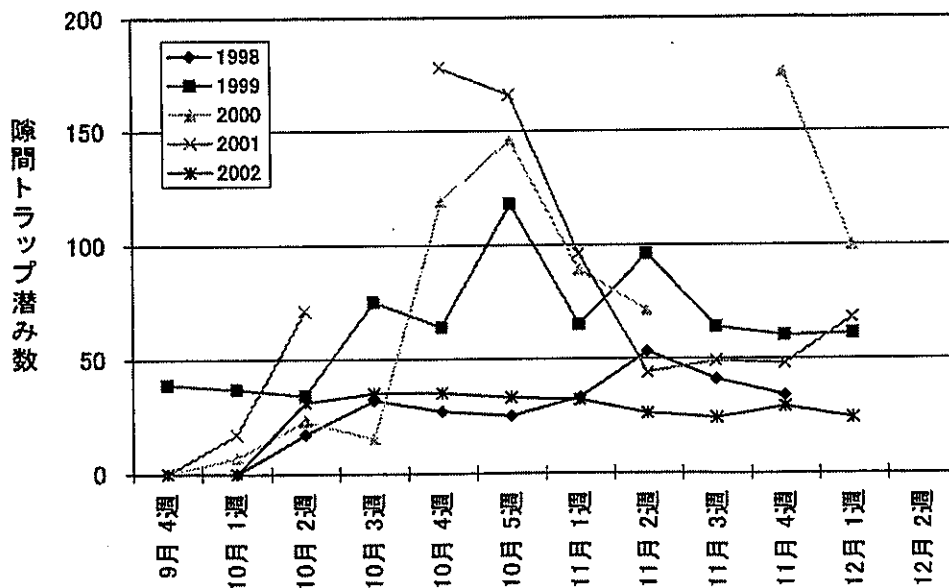


図3-2 クサギカメムシの職員休憩棟隙間トラップ潜み数

族旅行村では29日に10cm, 11月4日2cm, 5日15cm, 9, 10日に10cm, 14日に2cmの降雪が記録された。当然, スコットカメムシの繁殖場所である標高1,100~1,300mの稜線部(ブナ・ミズナラ林)にも降雪があり, 一部は溶けずにそのまま根雪になった。この積雪・低温がスコットカメムシの飛行を抑制し, 結果的に越冬飛来数が激減した最大の原因と思われる。

この飛来抑制は当然, 越冬量にも影響し, 2003年春の職員休憩棟での越冬数は2002年春のそれと比較すると1/300以下であった(表1)。2003年秋の飛来数は基本的には夏期間の繁殖に大きく依存するが, 産卵数が比較的少ないスコットカメムシでは, 越冬覚醒数の300倍に増加するのは難しいと考えられ, 2003年秋の飛来数は2001年秋の飛来数よりも少なくなると推定される。

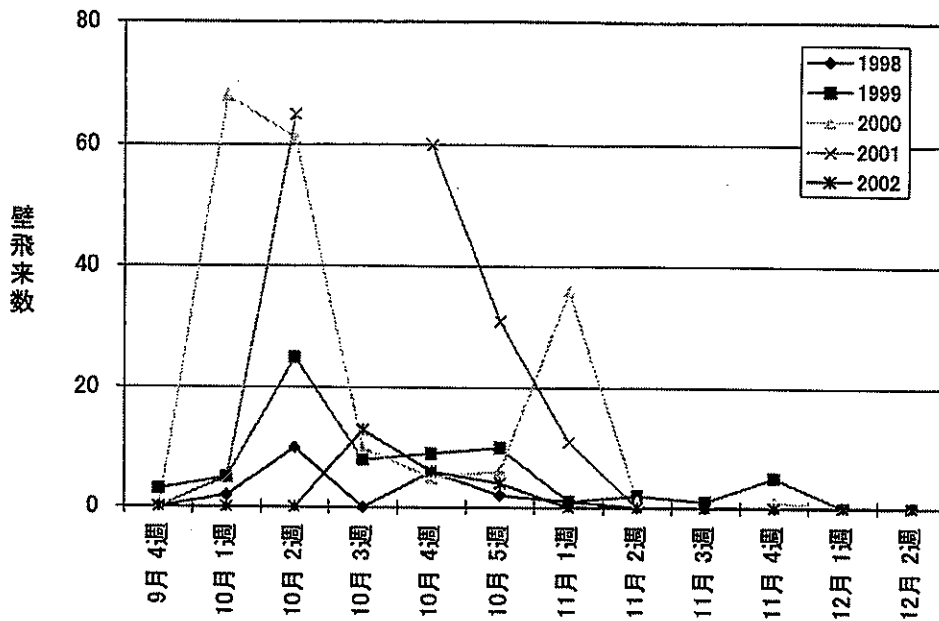


図4-1 クサギカメムシのパークゴルフ管理棟壁への飛来数

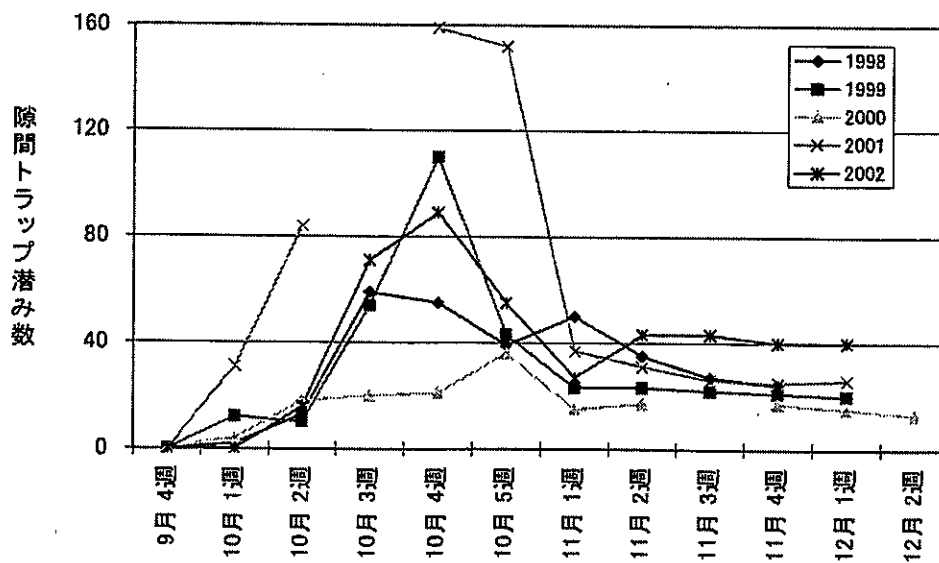


図4-2 クサギカメムシのパークゴルフ管理棟隙間トラップ潜み数

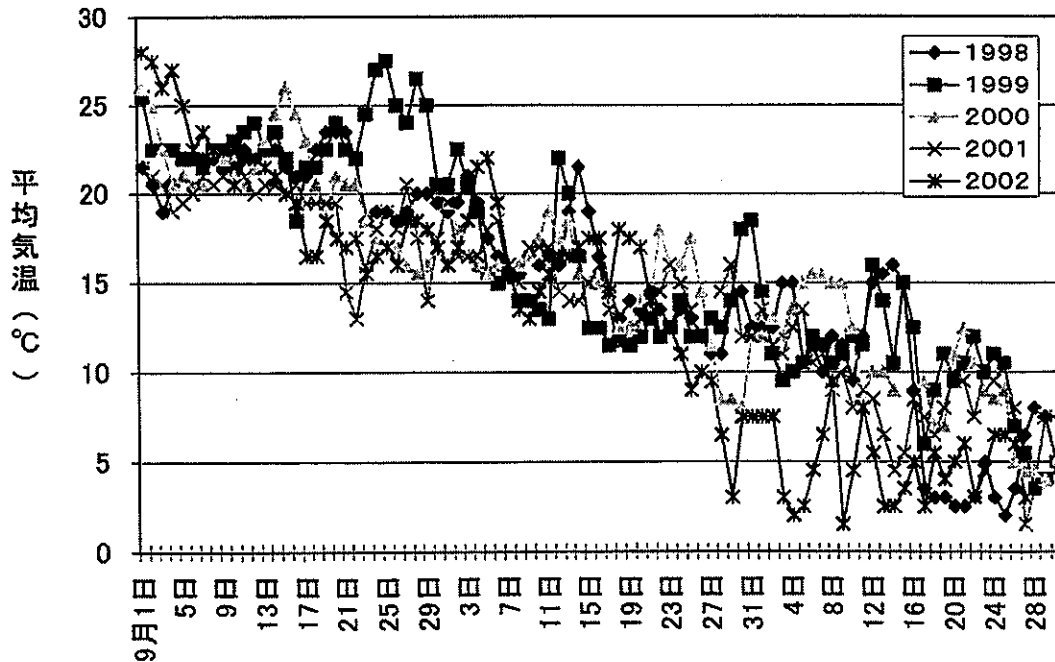


図5 家族旅行村における9～11月の単純平均気温の年度比較

表1 越冬覚醒時のスコットカメムシの壁止り数とトラップ潜み数および室内越冬数

2002年	壁止り数	潜み数	越冬数	2003年	壁止り数	潜み数	越冬数
4月12日	4	2,064	-	4月10日	0	雪	-
4月19日	18	278	3,123♂6,377♀	4月18日	0	6	-
4月26日	9	230	69♂1,130♀	4月28日	0	4	-
5月9日	4	43	46♂1,613♀	5月2日	0	3	18♂11♀
5月16日	0	0	5♂134♀	5月7日	1	0	3♂5♀
				5月14日	0	0	0
		計	3,243♂9,254♀			計	21♂16♀

* 職員休憩棟での観察。2001年越冬時のトラップ潜み数は1,365個体、2002年は17個体。

* 越冬数=2002年は4月18日、2003年は5月1日にアースレッドを噴出、その後部屋内に落下した個体数。

* 2002年4月12日のトラップ潜み個体は計数後、全数回収した。

謝辞：カメムシの観察場所を快く提供され、さらに気象観測データの利用を快諾された、立山山麓家族旅行村の伊藤保忠村長はじめ職員の皆様に感謝いたします。

文 献

1. 渡辺 護, 荒川 良, 品川保弘, 小浜卓司, 小菅喜昭 (1994), ベストロジー学会誌, 9(1), 17-21.
2. 渡辺 護, 荒川 良, 品川保弘, 岡沢孝雄 (1994), 衛生動物, 45(4), 311-317.
3. 渡辺 護, 荒川 良, 品川保弘, 小浜卓司, 小菅喜昭 (1995), ベストロジー学会誌, 10(1), 27-31.
4. 渡辺 護, 品川保弘 (1999), 富山衛研年報, 22, 74-79.
5. 渡辺 護 (2001) ヘクサンボの家屋侵入被害阻止に関する研究. pp. 111, 富山県衛生研究所・富山県厚生部薬務食品課.

日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川澄代 米道 暁彦¹

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in 2002

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA
and Akihiko YONEMICHI¹

要 旨 平成15年度の豚における日本脳炎HI抗体保有推移は、9月第2週から2ME感受性が認められ、日本脳炎患者が発生した平成9年（1997年）の状況と似ていた。しかし、ウイルスを媒介する蚊の発生量と発生消長は1997年と異なり、おそらくそれが大きな要因になって、日本脳炎に罹患する県民がいなかったと推定された。すなわち、コガタアカイエカの発生量が1997年に比べ、富山大井以外の定点で明らかに少なく、しかも発生のピークが盛夏期ではなく8月第4週から9月第3週にずれ込んだことで、日本脳炎ウイルスを保有したコガタアカイエカに刺される機会が、極めて少なかったことが示唆された。

富山県では平成9年（1997年）9月に、15年ぶりに日本脳炎患者が氷見市で確認され、その背景に富山県におけるコガタアカイエカの多発生傾向とウイルスの侵入・拡大があったことが指摘された [1]。このようにコガタアカイエカの発生状況と、日本脳炎ウイルスの侵入とが連係する事態になれば、患者発生は今後も起こりうると懸念される。そこで、患者の発生を未然に防ぐことを目的に、2001年に引き続き日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生状況と、ウイルスの侵入動態を2002年6月から10月にかけて監視した。その結果について報告する。

I. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りである。「3.

大山東黒牧」は1998年から新たに開始した定点であり、「1. 黒部荻生」は1998年に、「2. 上市湯上野」は1994年に畜舎を変更移動した定点である。「4. 富山大井」は1989年から、「5. 小矢部金屋本江」は1981年から同一の牛舎である。調査期間、調査方法は2001年までと同じで、「富山大井」と「大山東黒牧」は6月1日から9月30日まで、ライト・トラップ（東京エース製）による連日捕集を、他の3定点は6月中旬から9月末まで、基本的に毎週水曜日にトラップを一晩点灯することで行った。なお、前2定点では畜舎管理者が、毎朝トラップ捕集ケージの捕獲物をクロロホルムで麻酔した後、捕獲物を全て70%エタノールの入ったポリ瓶に移し、それを筆者らが20日毎に回収して捕集された蚊類を選び出し分類した。後3定点は毎週木曜日に捕集ケージを交換・回収して、検査

1. 富山県健康課

室に持ち帰り蚊類を選別して計数した。

2. 調査結果および考察

表2に、2002年の各調査定点における毎週水曜日の蚊全体の捕集成績を示した。各調査定点において7月第3～5週にコガタアカイエカが増加したが、その後減少し8月第4週から再び増加する消長を示し、結局、8月第4週～9月第3週に大きなピーク、7月第3～8月第3週に小さなピークを形成する2峰性の発生活消長を描いた。年間捕集数は「富山大井」が最も多く、最も少なかった「大山東黒牧」の77倍に達した。両定点は直線距離で2kmしか離れていない。表1に示したように、「大山東黒牧」は周囲に水田が全く無い丘陵地にあることが、コガタアカイエカの少ない捕集数に関連したと思われる。「上市湯上野」も丘陵の斜面にあることで、2番目に捕集数が少ないと思われる。

表3に1991年からのコガタアカイエカの定点別捕集総数を示した。富山県において患者の発生が確認された1997年の捕集数と比べると、「富山大井」以外は2002年の捕集数が明らかに少ない。とくに、「小矢部」の減少が顕著であり、牛の飼養数が3頭に減ったことが影響したと推定された。「黒部」は1997年以来年々捕集数が減少傾向にあっ

たが、2002年は前年の1.5倍に増加し、2001年よりも捕集数が増加した唯一の定点であった。

以下、各定点別に捕集結果を述べる。

〔1. 黒部荻生〕は「黒部植木」から移動して5年目になる。捕集数は2001年よりも増加した(表3)。しかし、日最高捕集数は、2001年9月19日の417個体に対し、8月28日の315個体に減少した。発生活消長曲線は8月28日に大きな山、7月31日に小さな山を形成する年2峰型であり、2001年の1峰型と異なった。

〔2. 上市湯上野〕年間捕集数は前年の1/5、1,288個体に減少した。しかも、日最高捕集数も2001年9月19日の2,784個体に対し、8月28日の227個体と1/10以下に減少した。発生活消長曲線は7月第3週から増減を繰り返し、8月第4週に最高に達する複雑な消長を示した(表2)。

〔3. 大山東黒牧〕この定点は後述の「富山大井」から、直線距離で約2kmしか離れていない丘陵地の稜線上に位置する(標高162m、標高差90m)。また、そのほぼ中間に幅50mほどの熊野川が流れ、それに沿って水田が広がっている。定点牛舎に最も近い水田でも300m離れている。その間の標高差50mの斜面は竹林、雑木林、杉植林地などである。また、牛舎の周辺には畑地、杉植林、雑木林や民家および教育施設がある。これら

表1. 日本脳炎媒介 コガタアカイエカ捕集定点の概要 (平成14年度, 2002年)

番号	地点名	類別	地点の概要
1	黒部荻生	豚舎	黒部市荻生、南進所有、肥育豚90頭、親豚30頭。 平野部水田・畑作地帯、南西側に幅10mほどの黒瀬川、北東側に養魚場がある。
2	上市湯上野	牛舎	上市町湯上野、稲場栄伸所有。乳牛48頭、和牛20頭。 水田地帯はずれの丘陵地、背面は杉植林地/雑木林。 西100mに厩舎あり、北東、東100mに水田、北300mに上市川。
3	大山東黒牧	牛舎	大山町東黒牧上野、畔田茂所有。乳牛30頭。 丘陵稜線部、周辺は大学などの教育機関と雑木林、民家が点在する。水田は半径300mの範囲には無い。
4	富山大井	牛舎	富山市大井、合田初男所有。乳牛24頭、子牛4頭。 平野部水田地帯、北側200mに新興住宅街がある。 南東1kmに熊野川。近くには他畜舎は無い。
5	小矢部金屋本江	牛舎	小矢部市金屋本江、西田芳夫所有。乳牛1頭、和牛2頭。 平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎は無い。 西500mに宮川。

表2-1. 4定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数(平成14年, 2002年)

調査日	1. 黒部					2. 上市				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.12	0	16	14	0	30	0	10	1	1	12
19	0	70	3	0	73	0	33	2	0	35
26	0	47	5	0	52	0	7	2	0	9
7.3	0	49	3	0	52	1	39	1	1	42
10	0	97	5	0	102	0	58	0	0	58
17	0	113	4	0	117	1	53	1	2	57
24	0	202	2	0	204	0	126	13	0	139
31	0	252	5	0	257	0	63	1	0	64
8.7	0	94	2	0	96	0	42	5	0	47
14	0	103	1	0	104	0	138	3	0	141
21	0	65	1	0	66	0	71	0	0	71
28	0	315	0	0	315	0	227	1	0	228
9.4	0	252	1	0	253	1	137	2	0	140
11	0	166	0	0	166	1	87	0	0	88
18	0	292	1	0	293	0	173	0	0	173
25	0	54	1	0	55	0	24	0	0	24
計	0	2,187	48	0	2,235	4	1,288	32	4	1,328

調査日	3. 大山東黒牧					4. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.12	0	25	0	2	27	0	690	9	0	699
19	0	8	0	1	9	0	1,499	16	0	1,515
26	0	7	0	2	9	0	507	0	0	507
7.3	0	11	0	3	14	0	6,285	25	0	6,310
10	0	5	0	0	5	0	1,598	14	1	1,613
17	1	28	0	0	29	0	2,055	30	1	2,086
24	0	7	0	1	8	0	5,960	105	0	6,065
31	0	7	0	0	7	0	3,575	0	0	3,575
8.7	0	25	0	0	25	0	546	0	0	546
14	1	210	0	0	211	0	3,615	15	0	3,630
21	0	34	0	1	35	0	5,679	0	0	5,679
28	0	151	0	0	151	0	3,145	0	0	3,145
9.4	0	117	0	0	117	0	5,335	20	0	5,355
11	2	64	0	1	67	5	9,475	0	0	9,480
18	0	68	0	1	69	0	10,300	0	0	10,300
25	0	35	0	1	36	0	1,871	0	1	1,872
計	4	802	0	13	819	5	62,135	234	3	62,377

As=シナハマダラカ、Ct=コガタアカイエカ、Cp=アカイエカを表し、その他はこれら3種以外の蚊を表す。

2. 上市と4. 富山大井のその他はオオクロヤブカであり、3. 大山東黒牧のそれはヤマトヤブカとヒトスジシマカである。

表2-2. 5 定点（畜舎）における蚊雌成虫の捕集数（平成14年, 2002年）

調査日	5. 小矢部				
	As	Ct	Cp	その他	計
6.12	0	65	2	0	67
19	0	52	2	0	54
26	0	27	2	0	29
7. 3	0	55	2	0	57
10	1	65	2	0	68
17	0	85	2	0	87
24	2	145	3	0	150
31	0	172	0	0	172
8. 7	0	9	0	0	9
14	0	48	0	0	48
21	0	24	2	0	26
28	0	86	3	0	89
9. 4	3	285	2	0	290
11	2	130	0	0	132
18	0	66	3	0	69
25	1	16	2	0	19
計	9	1,330	27	0	1,366

As=シナハマダラカ、Ct=コガタアカイエカ、Cp=アカイエカを指す。

の環境状況が、調査定点5か所の中でコガタアカイエカの捕集数が最も少ない原因と思われる。

表4に連日捕集成績を示した。日最大捕集は9月2日の306個体であった。2001年の日最大捕集は9月15日の691個体であり[2]、ピークは2002年の方が約2週間早かった。年間捕集数は前年の76%、7,979個体に減少したが、その原因は9月の捕集数が減少した事に起因すると考えられる。「富山大井」とは連日捕集数で1/58（表3）、日最大捕集数で1/69（表4）と少なく、それは牛舎周辺にコガタアカイエカの発生源になる水田が無いことが原因と思われる（表1）。

[4. 富山大井] 表4に連日捕集成績を示した。調査当初は2001年よりも捕集数が多く[2]、それは7月下旬まで続いた。しかし、下旬以降は2001年よりも少ない傾向が9月末まで続いた。日最大捕集数は9月3日の21,260個体であり、2001年の8月30日、25,170個体よりも5日遅いピーク

表3. 5 定点における近年のコガタアカイエカ雌成虫の捕集数変動

年度	定 点 名						
	1. 黒部	2. 上市	3. 大山東黒牧		4. 富山大井		5. 小矢部
1991	1,702	14,322	-	-	7,640	51,218	4,318
1992	1,968	5,025	-	-	9,998	59,735	5,992
1993	642	1,100	-	-	8,827	72,509	5,093
1994	13,655	3,527	-	-	26,275	169,307	94,055
1995	6,398	1,790	-	-	26,247	161,391	21,751
1996	2,034	1,562	-	-	36,305	275,957	7,683
1997	7,054	1,466	-	-	23,743	172,373	45,250
1998	6,250	5,620	1,843	11,814	96,196	657,900	31,158
1999	1,954	2,676	1,319	11,379	52,436	344,498	27,944
2000	1,181	2,965	965	9,147	67,757	495,004	19,477
2001	1,443	6,574	1,819	10,433	78,846	504,862	12,877
2002	2,187	1,288	802	7,979	62,135	465,957	1,330

注. a. 6月中旬から9月末までの、毎週水曜日にライトトラップ一晩捕集による成績。
 b. 富山大井、大山東黒牧の右側の数値は、6月1日から9月30日までの連日捕集による成績。
 c. 1.黒部は1998年に、2.上市は1994年に定点の場所(畜舎)を変更した。
 3. 大山東黒牧は1998年から調査開始。 5.小矢部は飼養牛の頭数が3頭に減少した。

の形成であった [2]. 2002年は8月～9月の発生が少なく、それが2002年よりも年間の捕集数が92%に減少した原因と思われる (表3).

[5. 小矢部金屋本江] 年間捕集数は2001年の10.3%, 1,330個体に減少し、この減少傾向は1998年から続いている (表3).

この減少幅は調査を行っている5定点の中で最も大きく、また他の定点はこの5年間増減を繰り返しているに対し、この「小矢部」定点だけは

1997年から毎年減少が続いている。この原因の一つに牛舎での牛の飼養数の減少が考えられる。すなわち、この定点では1998年に40頭を越える乳牛が飼養されていたが、年々減少し、2002年には和牛2頭、ホルスタイン1頭になった。さらに、隣接した水田が畑地に転用されたことも大きな要因になっていることが示唆される。

1990年代後半のコガタアカイエカの発生消長は、

表4-1. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成14年, 2002年)

調査日	3. 大山東黒牧					4. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6月1日	0	198	0	1	199	0	3,955	35	0	3,990
2	0	196	1	4	201	0	509	2	0	511
3	0	23	0	1	24	0	1,033	21	0	1,054
4	0	58	2	1	61	0	346	1	0	347
5	2	30	0	1	33	0	850	42	0	892
6	0	92	0	1	93	0	593	13	0	606
7	0	0	0	0	0	0	896	14	0	910
8	0	2	0	0	2	0	998	35	0	1,033
9	0	2	0	1	3	0	188	2	0	190
10	0	0	0	0	0	0	567	9	0	576
11	0	-	-	-	0	0	611	12	0	623
12	0	25	0	2	27	0	690	9	0	699
13	0	6	1	2	9	0	264	25	0	289
14	0	17	2	2	21	0	923	4	0	927
15	0	1	0	0	1	0	454	0	1	455
16	0	13	0	2	15	0	1,960	25	2	1,987
17	0	8	1	0	9	0	724	32	0	756
18	0	11	0	1	12	0	717	8	0	725
19	0	8	0	1	9	0	1,499	16	0	1,515
20	1	30	2	3	36	0	2,875	25	0	2,900
21	0	16	0	3	19	0	1,988	16	0	2,004
22	0	22	0	0	22	0	2,520	48	0	2,568
23	0	11	0	3	14	0	119	0	0	119
24	0	8	0	2	10	0	252	0	0	252
25	0	14	2	0	16	0	1,365	11	0	1,376
26	0	7	0	2	9	0	507	0	0	507
27	-	-	-	-	-	0	1,310	0	0	1,310
28	0	26	0	1	27	0	709	0	0	709
29	0	1	0	0	1	0	3,623	25	0	3,648
30	0	60	0	2	62	0	1,295	10	0	1,305
計	3	885	11	36	935	0	34,340	440	3	34,783

注. -印はトラップの故障等による欠測したことを示す.

※その他にはオオクロヤブカ, キンイロヤブカ, ヤマトヤブカなどが含まれる.

平成15年10月1日

8月上旬に多くなる盛夏発生型、さらに9月中旬にも多くなる初秋追加型であったが、今年度の発生型は7月中下旬に小さな山、8月下旬～9月上旬に大きな山を形成する、これまでとは逆の消長曲線を示した。この原因については、現時点では明確にできないが、1つには今年度の降雨状況が影響している事が推定される。すなわち、6月、

8月に雨が少なく、7月に多かったこと(表5)が、8月中旬からのコガタアカイエカを増加させた原因と思われる、それが9月中旬まで続いたためと思われる。他に、水田環境が水張り休耕田＝「調整水田」などに变化したことや、殺虫剤の変更などが複合的に関係していることが推定される。

表4-2. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績(平成14年, 2002年)

調査日	3. 大山東黒牧					4. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
7月1日	0	8	0	1	9	0	484	0	0	484
2	0	84	5	1	90	0	771	0	0	771
3	0	11	0	3	14	0	6,285	25	0	6,310
4	0	61	0	1	62	0	1,089	0	0	1,089
5	0	36	0	1	37	5	9,635	0	0	9,640
6	0	42	0	0	42	0	245	0	1	246
7	-	-	-	-	-	0	2,747	0	0	2,747
8	0	6	0	0	6	0	3,600	15	0	3,615
9	0	15	0	0	15	5	6,100	0	0	6,105
10	0	5	0	0	5	0	1,598	14	1	1,613
11	0	14	3	1	18	0	1,201	5	0	1,206
12	2	50	2	2	56	0	7,105	60	0	7,165
13	0	13	0	0	13	5	3,800	36	0	3,841
14	0	26	0	0	26	0	1,865	25	0	1,890
15	0	47	0	0	47	0	1,765	15	0	1,780
16	0	33	0	0	33	0	1,925	10	0	1,935
17	1	28	0	0	29	0	2,055	30	1	2,086
18	0	36	0	1	37	-	-	-	-	-
19	0	47	0	0	47	0	6,510	85	1	6,596
20	0	12	0	2	14	0	1,995	40	0	2,035
21	0	33	1	1	35	0	6,945	80	0	7,025
22	0	27	0	0	27	0	1,007	27	0	1,034
23	0	22	0	0	22	0	7,570	30	0	7,600
24	0	7	0	1	8	0	5,960	105	0	6,065
25	0	28	0	0	28	0	11,580	75	0	11,655
26	0	69	1	1	71	0	3,770	80	0	3,850
27	0	56	0	1	57	0	3,775	120	0	3,895
28	0	28	0	0	28	0	1,114	13	0	1,127
29	0	33	0	0	33	0	787	30	0	817
30	0	33	0	0	33	0	658	5	0	663
31	0	7	0	0	7	0	3,575	0	0	3,575
計	3	917	12	17	949	15	107,516	925	4	108,460

注. 表4-1の脚注を参照.

II. 豚血清の日本脳炎HI抗体保有調査

1. 調査対象と検査方法

7月9日から10月29日までの4か月間、毎週火曜日に富山食肉総合センターに搬入される生後6か月の県内産（主として小矢部市と氷見市）の豚を対象として毎回20頭から血液を採取して、日本脳炎の抗体保有状況を調査した。抗体価の測定は

例年のごとく伝染病流行予測検査術式 [3] に従った。被検血清はアセトン処理を2回行い、非特異的赤血球凝集（HA）抑制物質を除去し、市販の日本脳炎ウイルス JaGAr 01 株（デンカ生研）を抗原として、赤血球凝集抑制反応（HI）で抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、反応はマイクロタイター法で行った。

表4-3. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績（平成14年, 2002年）

調査日	3. 大山東黒牧					4. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8月1日	0	20	0	1	21	1	1,027	21	0	1,049
2	0	32	0	0	32	0	695	3	0	698
3	-	-	-	-	-	0	274	0	0	274
4	0	12	0	1	13	0	839	0	0	839
5	0	17	0	0	17	0	632	5	0	637
6	0	15	0	0	15	0	351	2	0	353
7	0	25	0	0	25	0	546	0	0	546
8	0	22	0	0	22	0	1,038	0	0	1,038
9	0	22	0	0	22	0	1,255	0	0	1,255
10	0	47	0	1	48	0	223	0	0	223
11	0	125	0	0	125	0	8,560	0	0	8,560
12	1	100	1	0	102	0	6,661	0	0	6,661
13	0	33	0	0	33	0	1,631	2	0	1,633
14	1	210	0	0	211	0	3,615	15	0	3,630
15	0	222	0	1	223	0	2,640	10	0	2,650
16	1	104	0	0	105	0	2,480	10	0	2,490
17	0	39	0	0	39	0	2,320	0	0	2,320
18	0	231	0	0	231	0	2,230	5	0	2,235
19	0	68	0	2	70	0	9,980	0	0	9,980
20	0	69	0	0	69	0	3,795	0	0	3,795
21	0	34	0	1	35	0	5,679	0	0	5,679
22	0	33	0	2	35	0	857	0	0	857
23	0	97	0	0	97	0	702	0	0	702
24	1	60	0	0	61	0	6,575	0	0	6,575
25	0	64	0	0	64	0	14,455	0	5	14,460
26	0	200	0	3	203	0	3,390	10	0	3,400
27	0	112	0	1	113	0	3,140	0	0	3,140
28	0	151	0	0	151	0	3,145	0	0	3,145
29	0	185	0	0	185	1	1,710	0	0	1,711
30	0	267	0	0	267	0	5,110	0	0	5,110
31	-	-	-	-	-	0	9,130	0	0	9,130
計	4	2,616	1	13	2,634	2	104,685	83	5	104,775

注. 表4-1の脚注を参照.

平成15年10月1日

2. 調査結果および考察

採血日と HI 抗体価の測定結果を表 6 に示した。豚の採血は例年毎週20頭づつ13回行っていたが、本年は10月に入っても新鮮感染の豚が認められたため10月末まで採血を行い合計17回になった。

最初の採血日の7月9日に陽性豚3例（抗体価10倍2例，40倍1例）が確認された。40倍の豚の

2-ME感受性は疑陽性であった。その後7月23日に陽性豚が1頭出現したが抗体価は10倍であった。8月に入って、20日に陽性豚が2頭出現したが、何れも抗体価は10倍であった。9月3日に陽性豚が7頭（保有率35%）に増加したが抗体価は全て10倍であった。しかし、9月10日の陽性豚7頭の内、抗体価320倍以上が2頭みられ、1頭は2-ME

表4-4. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績（平成14年，2002年）

調査日	3. 大山東黒牧					4. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
9月1日	0	293	0	0	293	0	2,840	10	0	2,850
2	0	306	0	0	306	0	12,720	0	0	12,720
3	0	194	0	0	194	0	21,260	0	0	21,260
4	0	117	0	0	117	0	5,335	20	0	5,355
5	0	221	0	0	221	0	8,850	0	0	8,850
6	4	198	0	1	203	0	5,445	0	0	5,445
7	0	165	1	0	166	5	10,800	0	0	10,805
8	1	139	0	0	140	0	12,400	0	0	12,400
9	0	151	0	1	152	0	6,230	0	0	6,230
10	1	145	0	1	147	0	10,938	0	0	10,938
11	2	64	0	1	67	5	9,475	0	0	9,480
12	2	109	0	0	111	0	9,600	0	0	9,600
13	0	5	0	0	5	0	7,500	0	0	7,500
14	3	259	0	2	264	0	9,975	0	0	9,975
15	0	102	0	2	104	5	12,675	0	0	12,680
16	0	82	0	0	82	0	11,220	0	0	11,220
17	0	93	0	0	93	0	8,195	0	0	8,195
18	0	68	0	1	69	0	10,300	0	0	10,300
19	0	102	0	0	102	0	9,375	0	0	9,375
20	0	43	0	0	43	0	8,490	0	0	8,490
21	0	73	2	0	75	0	3,425	0	0	3,425
22	0	57	0	0	57	0	3,170	0	5	3,175
23	0	5	0	0	5	0	2,730	0	0	2,730
24	0	7	0	2	9	1	1,800	0	1	1,802
25	0	35	0	1	36	0	1,871	0	1	1,872
26	0	6	0	1	7	0	1,049	0	0	1,049
27	0	104	0	0	104	0	1,777	2	0	1,779
28	2	91	0	1	94	0	1,609	0	0	1,609
29	0	130	0	4	134	0	2,980	10	0	2,990
30	0	61	0	0	61	5	3,835	0	0	3,840
計	15	3,425	3	18	3,461	21	217,869	42	7	217,939

注. 表4-1の脚注を参照.

感受性で新鮮感染が確認された。さらに、9月17日には陽性豚が8頭(40%)になり、抗体価40倍以上の7頭の内3頭が2-ME感受性であった。9月25日には陽性豚がさらに増加して11頭(55%)になり、そのうち5頭が2-ME感受性であった。10月1日には陽性豚は19頭(95%)となり、抗体価160倍以上の11頭の内4頭が2-ME感受性で、新鮮感染が確認された。このため例年では13回で、調査を終了する時期であったが、10月末まで継続することにした。10月8日には抗体保有率は100%になり、抗体価160倍以上の13頭の内5頭が新鮮感染であった。10月15日の抗体保有率は95%、抗体価160倍以上の11頭の内3頭が2-ME感受性疑陽性であった。その後、10月22日には抗体保有率は55%に低下したが、抗体価640倍以上の7頭の内4頭が2-ME感受性疑陽性であった。最終回の10月29日には抗体保有率は75%と再び上昇し、抗体価160倍以上の11頭の内2頭が2-ME感受性であった。

以上の成績を、昨年と比較すると2001年は9月11日に抗体価の高い豚が出現し、それ以降2-ME感受性である新鮮感染の豚が10月初めまで確認された。2002年も同様に9月10日に抗体価の高い豚が現れ、それ以降、新鮮感染の豚が採血最終回の10月28日まで出現した。このことから2002年は2001年と同じく、一昨年(2000年)よりも一週間遅く日本脳炎ウイルスが富山県内に侵入したと推定され、10月一杯豚の間に感染が拡大していったと考えられる。これらの状況は、日本脳炎患者が発生した1997年と近似しており、日本脳炎患者が発生しやすい危険な状況と思われたが、幸いにも患者の発生はなかった。

「まとめ」

2002年の豚のHI抗体保有推移は、2000年同様日本脳炎患者が発生した1997年(平成9年)の状況と似ていた。しかし、ウイルス媒介蚊の発生量と発生消長は1997年と異なり、それが大きな要因

表5. 富山県における近年の気象要因の変動(富山気象台)

比較因子	月	年 度										平年値
		1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	
平均気温 (°C)	5	15.7	17.9	16.6	16.3	17.6	18.6	17.6	17.6	18.9	16.9	16.7
	6	19.7	20.7	19.3	21.0	21.5	20.7	20.9	21.4	21.1	21.1	20.5
	7	23.2	26.9	25.0	25.1	24.8	25.2	24.9	27.0	27.0	26.4	24.6
	8	23.3	29.1	27.7	26.0	26.4	25.5	27.7	28.1	26.4	27.2	26.0
	9	20.4	23.3	21.0	21.0	21.4	23.3	24.5	23.5	21.6	22.5	21.6
日照時間 (hrs)	5	204.9	214.6	160.1	212.1	167.8	207.0	224.9	184.8	201.4	170.6	200.9
	6	100.1	154.8	105.9	117.3	162.5	86.5	137.3	148.4	111.6	177.4	152.3
	7	100.2	195.4	122.1	192.2	136.3	130.9	134.5	232.7	234.7	170.1	165.7
	8	102.0	285.9	232.4	226.4	199.8	101.6	201.8	271.8	203.7	207.1	200.4
	9	112.5	(156)	129.2	150.4	95.5	125.5	129.9	151.0	134.0	144.9	133.9
降水量 (mm)	5	180.5	(55)	103.0	126.0	197.5	245.5	132.5	48.5	105.0	231.0	124.8
	6	179.0	50.0	116.5	305.0	143.0	135.0	247.0	197.0	281.5	117.5	196.9
	7	283.0	29.5	536.5	60.5	325.0	161.5	88.0	65.0	108.0	363.0	241.9
	8	328.0	18.0	176.0	149.0	129.5	630.5	155.0	39.5	230.5	63.5	176.6
	9	243.5	208.5	80.5	159.0	213.0	303.0	424.5	287.0	206.5	210.5	233.1

注. 1. 日本気象協会富山支部発行の「富山県気象月報」もしくは富山地方気象台の「富山県の気象概況」からデータを引用した。
 2. ()内の数値は欠測があったことを示し、参考に伏木気象台のデータを引用した。

で日本脳炎に罹患する県民がいなかったと考えられた。すなわち、コガタアカイエカの発生量が1997年に比べ明らかに少なく、しかも発生ピークが9月中旬にずれ込んだことで、涼しさが増し日本脳炎ウイルスを保有したコガタアカイエカに刺される機会が、極めて少なかったことが示唆さ

れた。

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

表6. 平成14年度豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況（2002年）

検体 採取日	抗体価								2-ME 感受性 陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月9日	17 (85)	2 (10)		1 (5)					0
16	20 (100)								
23	19 (95)	1 (5)							
30	20 (100)								
8月6日	20 (100)								
13	20 (100)								
20	18 (90)	2 (10)							
27	20 (100)								
9月3日	13 (65)	7 (35)							
10	13 (65)	5 (25)					1 (5)	1 (5)	1/2 (50)
17	12 (60)	1 (5)		1 (5)			1 (5)	5 (25)	3/7 (42.9)
24	9 (45)	1 (5)				1 (5)	4 (20)	5 (25)	5/10 (50)
10月1日	1 (5)	3 (15)	4 (20)			1 (5)	3 (15)	8 (40)	4/12 (33.3)
8		5 (25)	2 (10)			1 (5)	2 (10)	10 (50)	5/13 (38.5)
15	1 (5)	6 (30)	2 (10)			2 (10)	3 (15)	6 (30)	0/11
22	9 (45)	3 (15)	1 (5)					7 (35)	0/7
29	5 (25)	4 (20)				1 (5)	2 (10)	8 (40)	2/11 (18.2)
計	217 (63.8)	40 (11.8)	9 (2.6)	2 (0.6)		6 (1.8)	16 (4.7)	50 (14.7)	20/74 (27.0)

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

文 献

1. 渡辺 護, 長谷川澄代, 品川保弘, 上村 清, 田中桂子, 浦田祐子, 川越久美子, 藤崎啓子, 広明秀一 (1998). 富山衛研年報, 21, 90-103.
2. 渡辺 護, 長谷川澄代, 高田ちはる (2002). 富山衛研年報, 25, 74-83.
3. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室 (1986). 伝染病流行予測検査術式, 57-80, 東京.

ポリオ流行予測調査

岩井雅恵 中山 喬 松浦久美子 長谷川澄代
安藤秀二 永井美之 遠藤京子¹ 田中桂子²
飛田忠嗣³ 田中有易知⁴ 宮田英喜⁵

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture

Masae IWAI, Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA,
Shuji ANDO, Yoshiyuki NAGAI, Kyoko ENDO¹, Keiko TANAKA²,
Tadashi TOBITA³, Yuichi TANAKA⁴ and Hideki MIYATA⁵

要 旨 平成14年度ポリオ流行予測調査として、厚生労働省委託事業の感染源調査と県単独事業の感受性調査を実施した。感染源調査は、ポリオワクチン接種後2カ月以上経過した時点で、0歳から6歳までの乳幼児59名から糞便を採取し、ウイルス分離を実施した。その結果、エコーウイルス22型が3株分離されたが、ポリオウイルスは分離されなかった。

感受性調査は、全年齢層を対象として採血し、247名（0歳～82歳）の血清についてポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。ポリオウイルス各型に対する抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型が92.7%、2型が98.0%、3型が72.9%であった。年齢区分別では、1型および2型は各年齢区分とも70%以上を示したが、3型は0～1歳の12.5%から40～49歳の100%まで、年齢区分でばらつきが見られた。また、抗体保有者の平均抗体価は、1型は112.7倍、2型が98.9倍、3型では19.2倍であった。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業のひとつとして国からの依頼を受け、昭和38年から毎年実施している調査である。本年度も昨年同様感染源調査のみの委託であった。

富山県で実施した過去20年間の感染源調査において分離されたポリオウイルスは、1983年度にポリオウイルス1型が1株、1992年度に同3型が1株、1999年度に同2型が1株、2001年度に同2型

が2株、分離されている。しかしこれら5株ともワクチン由来のウイルスであり、野生型ポリオウイルスは分離されなかった。一方、富山県民のポリオウイルスに対する抗体保有率は、1型、2型、3型ともポリオの流行を十分に阻止しうる免疫保有状況であった。しかし、3種類のポリオウイルスすべてに対する抗体を保有している人は県民の約4分の3であり、約4人に1人は少なくとも1種類またはそれ以上の抗体を保有していないという状況も変わっていない。

1. 高岡厚生センター 2. 新川厚生センター 3. 中部厚生センター 4. 砺波厚生センター
5. 富山市保健所

世界保健機関 (WHO) によるポリオ根絶作戦により、世界のほとんどの地域でポリオウイルスが駆逐されているが、インドやアフリカなどの一部には依然として野生型ポリオが存在する [1]。海外からのポリオウイルス侵入に対する監視体制に加えて、集団免疫による感染防御のみならず、個人レベルでの感染防御も視野に入れて、県民の抗体保有状況を把握することは重要である。ポリオウイルスに対する抗体の保有状況を把握するための感受性調査は、富山県単独事業で実施した。両調査結果を合わせて報告する。なお、本調査のため被験者から検体を採取する場合、本調査の主旨およびプライバシーの保護に対する適切な予防措置が行われることなどについて説明した後、承諾の得られた者について検査を行うこととした。

I 感染源調査 調査および検査方法

新川厚生センター管内および砺波厚生センター管内の健康な乳幼児を対象に、砺波地区は春期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成14年9月に、新川地区は秋期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成15年1月に、調査を実施した。検体採取計画は、検査対象年齢区分0～1歳、2～3歳、4～6歳で、男女を問わず各区分20名、計60名を予定したが、採取された検体は0～6歳合計で59名であった。また、各厚生センターや保健所において検査対象者のポリオワクチン接種歴などを調査した。

ウイルスの検索は「感染症流行予測調査事業検査術式」[2] に準じて行った。採取した糞便からEagle-MEM 培養液 (日水製薬KK) で約10%乳剤を作製し、3,000回転30分、10,000回転30分の遠心を行った上清に抗生物質を加え、ウイルス分離材料とした。分離用細胞としてはVero細胞およびMA-104細胞を使用し、細胞変性効果を指標としてウイルス分離検査を実施した。分離したウイルスについては、ポリオウイルスプール抗血清 (デンカ生研KK)、エコーウイルスプール抗血清

(デンカ生研KK)、エコーウイルスプール抗血清 (EP95) (エンテロウイルスレファレンスセンター) および型特異抗血清 (国立感染症研究所、デンカ生研KK) を用いた中和反応を行い、ウイルスの種類と型を同定した。

結果および考察

本年度は、砺波厚生センター管内の小矢部市で0歳児9名、新川厚生センター管内の黒部市で0歳～6歳児50名の合計59名から採取された糞便についてウイルス分離検査を行なった。その結果、0歳男児1名からエコーウイルス22型が1株、0歳女児2名からエコーウイルス22型が2株、合計3株のウイルスが分離され、分離率は5.1%であった (Table 1)。

全国的に、エコーウイルス22型の分離報告は少なく、感染しても軽症あるいは不顕性感染で終わるものと考えられる。

II 感受性調査 調査および検査方法

平成14年6月から9月にかけて、高岡、新川、中部、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、乳児から成人まで合計247名 (0～82歳) について採血と予防接種歴の調査が行われた。

中和抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[2] に準じて行った。被験血清をEagle-MEM 培養液で4倍希釈し、56℃30分間非働化した後、その50 μ lを96穴マイクロプレート上で2倍階段希釈した。希釈血清それぞれに、100 TCID₅₀/50 μ lとなるように調製した弱毒セビンウイルス50 μ lを加えてよく混和し、37℃、3時間および4℃一晩の中和反応を行った。中和後、Vero細胞浮遊液 (1～2 \times 10⁵細胞/ml) を100 μ lずつ加え、37℃、5%CO₂の条件下で培養した。ウイルスによる細胞変性効果を1週間観察し、中和抗体価を測定した。抗原として使用した弱毒

セービンウイルスは、1型、2型、3型とも、昭和59年度に国立感染症研究所から分与され、当研究所において Vero 細胞で7代継代したものである。

結果および考察

ポリオウイルス各型に対する中和抗体価の保有状況をウイルス型別、年齢区分別にまとめて Table 2 に示した。抗体価4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が98.0% (242/247) で最も高く、次いで1型が92.7% (229/247) を示し、3型は最も低く72.9% (180/247) であった。これらの結果は昨年度の調査結果とほとんど同様であり、いずれの型に対しても集団免疫として十分な抗体保有状況であった。各年齢区分の抗体保有率をみると、1型では、0～1歳群が75.0%で最も低く、次いで30～39歳群が77.8%、その他の年齢群は全て80%以上であった。2型では、全ての年齢区分において90%以上の保有率であった。一方、3型は0～1歳が12.5%、10～14歳では55.2%、

15～19歳は56.3%、25～29歳では61.9%であり、100%を示した年齢群は40～49歳のみで、年齢区分によって抗体保有率にばらつきが認められた。抗体保有者の平均抗体価（幾何平均）は、1型では30～39歳の44.5倍から0～1歳の724.1倍までを示し全年齢平均は112.7倍であった。2型は60歳以上の37.0倍から2～3歳の425.6倍までを示し平均抗体価は98.9倍であった。一方、0～1歳群を除く年齢群における平均抗体価は9.5倍から29.4倍までを示し、全年齢の平均抗体価は19.2倍であり、1型、2型と比べて低かった。

Table 3 にワクチン接種歴別の抗体保有状況を示した。1型と2型のワクチン接種者全体の各抗体保有率は、各々94.4% (118/125)、100.0% (125/125) であり、また、1回のみワクチン接種でも十分な抗体獲得率を示している。しかし、3型の場合ワクチン接種者全体の陽性率は65.6% (82/125)、1回接種者では25.0% (3/12) にとどまり、1型、2型と比べて低かった。これらの結果も過去の調査結果と同様であり、3型ワクチンでは2回接種は不可欠であると考えられた。

各個人レベルの型別抗体保有状況を年齢区分別

Table 1. Virus isolation from feces of children

Area	Age (Year)	No. of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates * Echo22
			No.	(%)	
Kurobe	0	0	-	-	
	1	8	0	0	
	2	3	0	0	
	3	15	0	0	
	4	0	-	-	
	5	6	0	0	
	6	18	0	0	
	Subtotal	50	0	0	
Oyabe	0	9	3	33.3	3
	1	0	-	-	
	2	0	-	-	
	3	0	-	-	
	4	0	-	-	
	5	0	-	-	
	6	0	-	-	
	Subtotal	9	3	33.3	3
Total		59	3	5.1	3

Date of Surbey : Kurobe; Jan.20～22, 2003. Oyabe; Sep.11～12, 2002.

* : Echo 22 ; Echovirus type22

Table 2. Distribution of neutralizing antibodies against poliovirus by age groups

Type1														
Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate(%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	8	2	0	0	0	0	0	0	0	3	3	6	75.0	724.1
2~3	16	1	0	0	0	0	0	1	1	3	10	15	93.8	707.5
4~6	18	0	0	0	0	0	2	0	6	4	6	18	100	406.4
7~9	13	0	0	0	0	0	0	3	2	2	6	13	100	460.2
10~14	29	0	0	0	1	1	5	5	12	3	2	29	100	178.9
15~19	16	0	0	2	1	3	4	1	0	4	1	16	100	83.0
20~24	23	3	2	1	1	3	1	8	2	0	2	20	87.0	73.5
25~29	21	4	1	2	2	2	4	1	4	0	1	17	81.0	56.6
30~39	27	6	1	5	3	1	3	4	2	1	1	21	77.8	44.5
40~49	23	1	0	0	2	4	7	4	1	1	3	22	95.7	96.4
50~59	27	0	2	1	3	6	8	4	2	1	0	27	100	47.0
60~	26	1	2	2	1	4	10	3	3	0	0	25	96.2	47.2
Total	247	18	8	13	14	24	44	34	35	22	35	229	92.7	112.7
(%)		7.3	3.2	5.3	5.7	9.7	17.8	13.8	14.2	8.9	14.2	92.7		

Type2														
Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate(%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	8	0	1	0	1	0	1	1	0	2	2	8	100	139.6
2~3	16	1	0	0	0	0	1	2	2	5	5	15	93.8	425.6
4~6	18	0	0	0	0	0	2	6	5	3	2	18	100	228.1
7~9	13	0	0	0	0	0	2	3	4	2	2	13	100	242.7
10~14	29	0	0	2	1	1	9	7	7	1	1	29	100	100.8
15~19	16	0	0	0	1	5	3	4	3	0	0	16	100	72.9
20~24	23	0	0	0	1	2	7	6	6	1	0	23	100	106.8
25~29	21	0	1	2	0	1	4	7	4	0	2	21	100	95.1
30~39	27	0	1	3	2	4	3	8	4	1	1	27	100	67.4
40~49	23	0	2	3	3	1	4	4	2	0	4	23	100	64.0
50~59	27	2	0	0	5	5	3	6	1	3	2	25	92.6	84.4
60~	26	2	2	2	7	4	3	2	1	3	0	24	92.3	37.0
Total	247	5	7	12	21	23	42	56	39	21	21	242	98.0	98.9
(%)		2.0	2.8	4.9	8.5	9.3	17.0	22.7	15.8	8.5	8.5	98.0		

Type3														
Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate(%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	8	7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	12.5	512.0
2~3	16	4	1	2	3	2	3	1	0	0	0	12	75.0	24.0
4~6	18	5	2	1	2	5	3	0	0	0	0	13	72.2	22.0
7~9	13	3	1	1	4	2	2	0	0	0	0	10	76.9	19.7
10~14	29	13	5	4	5	2	0	0	0	0	0	16	55.2	9.5
15~19	16	7	2	2	2	2	1	0	0	0	0	9	56.3	13.7
20~24	23	5	2	3	4	4	3	2	0	0	0	18	78.3	22.6
25~29	21	8	5	2	3	1	1	1	0	0	0	13	61.9	11.6
30~39	27	10	3	6	4	0	2	2	0	0	0	17	63.0	14.7
40~49	23	0	2	2	7	5	5	1	1	0	0	23	100	25.9
50~59	27	2	2	2	5	7	6	3	0	0	0	25	92.6	29.4
60~	26	3	2	7	5	8	0	0	1	0	0	23	88.5	16.5
Total	247	67	27	32	44	38	26	10	2	1	0	180	72.9	19.2
(%)		27.1	10.9	13.0	17.8	15.4	10.5	4.0	0.8	0.4	0.0	72.9		

に検討した (Table 4). 1型, 2型, 3型すべての型に対する抗体を保有している人は, 被験者全体では68.0% (168/247) であったが, 0~1歳は12.5% (1/8), 25~29歳群は47.6% (10/21)

であった. 0~1歳群8名のうち7名はワクチン接種回数が0または1回であり, 今後ワクチンの追加接種を受ける機会があるが, 25~29歳群では定期接種による抗体獲得の機会はない. 一方, 全

Table 3. Positive rate of neutralizing antibodies by history of vaccination

Type1													
Age group (years)	No. of sera	Times of vaccination								No vaccination		Unknown	
		Three times		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	8					6/6	100			0/1	0	0/1	0
2~3	16			15/15	100					0/1	0		
4~6	18			17/17	100							1/1	100
7~9	13			13/13	100								
10~14	29			24/24	100	3/3	100	2/2	100				
15~19	16	1/1	100	11/11	100	1/1	100	2/2	100			1/1	100
20~24	23			4/4	100							16/19	84.2
25~29	21	1/1	100	3/4	75.0			2/4	50.0			11/12	91.7
30~39	27							4/7	57.1	1/1	100	16/19	84.2
40~49	23					1/1	100	7/8	87.5	1/1	100	13/13	100
50~59	27					1/1	100			2/2	100	24/24	100
60~	26									3/4	75.0	21/22	95.5
Total	247	2/2	100	87/88	98.9	12/12	100	17/23	73.9	8/10	80.0	103/112	92.0
						118/125	94.4%						

Type2													
Age group (years)	No. of sera	Times of vaccination								No vaccination		Unknown	
		Three times		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	8					6/6	100			0/1	0	1/1	100
2~3	16			15/15	100					0/1	0		
4~6	18			17/17	100							1/1	100
7~9	13			13/13	100								
10~14	29			24/24	100	3/3	100	2/2	100				
15~19	16	1/1	100	11/11	100	1/1	100	2/2	100			1/1	100
20~24	23			4/4	100							19/19	100
25~29	21	1/1	100	4/4	100			4/4	100			12/12	100
30~39	27							7/7	100	1/1	100	19/19	100
40~49	23					1/1	100	8/8	100	1/1	100	13/13	100
50~59	27					1/1	100			2/2	100	22/24	91.7
60~	26									4/4	100	21/22	95.5
Total	247	2/2	100	88/88	100	12/12	100	23/23	100	8/10	80.0	109/112	97.3
						125/125	100%						

Type3													
Age group (years)	No. of sera	Times of vaccination								No vaccination		Unknown	
		Three times		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	8					1/6	16.7			0/1	0	0/1	0
2~3	16			12/15	80.0					0/1	0		
4~6	18			12/17	70.6							1/1	100
7~9	13			10/13	76.9								
10~14	29			16/24	66.7	0/3	0	0/2	0				
15~19	16	0/1	0	7/11	63.6	0/1	0	1/2	50.0			1/1	100
20~24	23			3/4	75.0							15/19	78.9
25~29	21	0/1	0	3/4	75.0			2/4	50.0			8/12	66.7
30~39	27							5/7	71.4	1/1	100	11/19	57.9
40~49	23					1/1	100	8/8	100	1/1	100	13/13	100
50~59	27					1/1	100			2/2	100	22/24	91.7
60~	26									4/4	100	19/22	86.4
Total	247	0/2	0	63/88	71.6	3/12	25.0	16/23	69.6	8/10	80.0	90/112	80.4
						82/125	65.6%						

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

Table 4. Distribution of neutralizing antibodies against each type of poliovirus

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Type1&2	Type2&3	Type1&3	Type1,2&3(%)
0~1	8	0	0	2	0	5	0	0	1(12.5)
2~3	16	1	0	0	0	3	0	0	12(75.0)
4~6	18	0	0	0	0	5	0	0	13(72.2)
7~9	13	0	0	0	0	3	0	0	10(76.9)
10~14	29	0	0	0	0	13	0	0	16(55.2)
15~19	16	0	0	0	0	7	0	0	9(56.3)
20~24	23	0	0	1	0	4	2	0	16(69.6)
25~29	21	0	0	1	0	7	3	0	10(47.6)
30~39	27	0	0	4	0	6	2	0	15(55.6)
40~49	23	0	0	0	0	0	1	0	22(95.7)
50~59	27	0	0	0	0	2	0	2	23(85.2)
60~	26	0	1	0	0	2	1	1	21(80.8)
Total (%)	247 (100)	1 (0.4)	1 (0.4)	8 (3.2)	0 (0)	57 (23.1)	9 (3.6)	3 (1.2)	168 (68.0)

型抗体陰性者は3歳児1名(0.4%)で、ワクチン接種歴は無かった。上記以外の78名(31.6%)は3種類のウイルスのうち1種または2種のウイルスに対する抗体を持っていなかった。

本調査の結果、検査した血清の32.0%が3種類の型のうち、いずれかの型に対する抗体を保有していないことが明らかになった。インドやアフリカなどの一部には依然として野生型ポリオの感染が発生している。これらポリオ常在国から野生株ポリオウイルスの侵入の可能性を否定できず、ポリオウイルスに対する監視は続けなければならない。また、父親がポリオワクチン接種児からの二次感染によりポリオ麻痺を発症した事例 [3] に見られるように、ポリオワクチン接種を受けた小児から排泄される、毒性復帰株に感染する可能性は考慮しておかなければならない。さらに、2000年夏にハイチ、ドミニカ共和国において、他のエンテロウイルスと遺伝子組換えを起こしたワクチン由来ポリオウイルス1型によるポリオ患者集団発生が報告されている [4]。この地域ではワクチン接種率が低下しており、高い集団免疫状況を保つことの重要性が示唆される。現在のわが国では、ポリオウイルス野生株の自然感染がないために、ワクチンでしか抗体を獲得する機会がない。したがって、ワクチン接種年齢を過ぎても抗体を獲得

できなかった人は、特に、海外渡航時や育児に携わる期間には注意が必要であると考えられた。

ま と め

感染源調査：平成15年1月、平成14年9月に、それぞれ新川厚生センター管内、砺波厚生センター管内における健康な乳幼児59名を対象に調査し、エコーウイルス22型が3株分離され、ポリオウイルスは分離されなかった。

感受性調査：0歳から82歳までの247名の血清について、ポリオウイルス(弱毒セービンウイルス)に対する中和抗体価を測定した。抗体価4倍以上の抗体保有率は1型92.7%、2型98.0%、3型72.9%であった。また、平均抗体価(幾何平均)は1型112.7倍、2型98.9倍、3型19.2倍を示し、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から、本県においては、野生型ポリオウイルスの侵淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。

平成15年10月1日

謝 辞

本調査を実施するに当たり、検体採取にご協力いただいた保育所、学校、病院、その他関係各位に感謝いたします。

文 献

1. WHO. Weekly epidemiological record (2003), No.17, 78, 138-144.
2. 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所流行予測調査事業委員会（平成14年6月）. 感染症流行予測調査事業検査術式，1 - 8.
3. 国立感染症研究所，厚生労働省健康局結核感染症課編（2001）. 病原微生物検出状況月報，22，63.
4. Olen Kew, Victoria Morris-Glasgow, Mauricio Landaverde et al. (2002), Sience, 296, 356-359

インフルエンザ流行予測調査

松浦久美子 岩井雅恵 長谷川澄代 中山 喬
 安藤秀二 永井美之 田中佳子¹ 飛田忠嗣²
 遠藤京子³ 田中有易知⁴ 宮田英喜⁵

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Takashi NAKAYAMA,
 Shuji ANDO, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA¹, Tadatsugu TOBITA²,
 Kyoko ENDO³, Yuichi TANAKA⁴ and Hideki MIYATA⁵

要 旨 インフルエンザ流行前の時期における富山県住民の抗体保有状況（2002年6～9月）と豚の抗体保有状況（2002年7～9月）の調査、およびインフルエンザ様患者からのウイルス検出を試みた。その結果、以下の成績を得た。

1. インフルエンザ流行前における富山県住民247名の HI 価10倍以上の抗体保有率は、ワクチン株の A/New Caledonia/20/99(H1N1) 株, A/Panama/2007/99(H3N2) 株および B/Shangdong/07/97株(ビクトリア系統株), そして参考株の B/Shenzhen/407/2001株(山形系統株) に対して、各々41.7%, 59.1%, 19.4%, 19.0%であった。感染防御能があると考えられている HI 価40倍以上の抗体保有率は、各々20.2%, 22.3%, 2.0%, 1.6%と低く、今シーズンも流行の可能性が示唆された。豚における A/HK/9-1-1(H5N1) 株, A/pa/Chiba/1/97(H9N2) 株および A/turkey/Wisconsin/66(H9N2) 株に対する10倍以上の抗体保有率は0%であった。

2. インフルエンザ患者は前シーズンより約2ヶ月早い11月から発生し始め、4月までの長期間にわたりインフルエンザが流行した。その間に「集団かぜ」が12月に1小学校、1月中旬より多くの施設で発生し、3月上旬まで県内各地で発生した。休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が延べ34施設でとられ、届け出累積患者数は936名であった。

3. 患者の検体から A(H3) 型インフルエンザウイルスが75株、B型インフルエンザウイルスが39株検出され、今シーズンのインフルエンザは2種類のウイルスによる混合流行であった。これらの分離株についてワクチン株に対する抗血清との反応性を調べた結果、分離株のなかにはワクチン株の抗原性とずれていると考えられる株（ホモの HI 価より8倍以上低い値を示す株）が存在した。

1. 新川厚生センター 2. 中部厚生センター 3. 高岡厚生センター 4. 砺波厚生センター
 5. 富山市保健所

本調査は、インフルエンザウイルスに対する集団免疫の現況把握（感受性調査）及びウイルスの検索（感染源調査）等を行い、インフルエンザ流行の予測ならびに予防に資することを目的とした。厚生労働省健康局結核感染症課が主体となって、全国の地方衛生研究所等が協力して実施した。感受性調査は、インフルエンザ流行前の時期における人のインフルエンザウイルス抗体保有状況と、新型インフルエンザの出現を想定して豚におけるインフルエンザウイルス抗体保有状況を調べた。感染源調査は、インフルエンザ様患者についてウイルスの検出を試みた。これらの結果について報告する。

I 感受性調査

調査および検査方法

1. 調査期間

人の感受性調査：2002年6月～9月

豚の感受性調査：2001年7月～9月

2. 調査対象

人血清は県内住民の247名（0～82歳）から採取し、豚血清は富山食肉総合センターに搬入された県内産豚（生後6ヶ月）から80検体を採取した。

3. 検査方法

「伝染病流行予測調査検査術式」（昭和61年発行）に従いインフルエンザウイルス HI 抗体価を測定した。抗体価は血清希釈1:10より測定し、血清希釈倍数のみで表示した（WHO方式）。抗原は人では A/New Caledonia/20/99(H1N1) 株、A/Panama/2007/99(H3N2) 株、B/Shangdong/07/97株および B/Shenzhen/407/2001株を用い、豚では A/HK/9-1-1(H5N1) 株、A/pa/Chiba/1/97(H9N2) 株および A/turkey/Wisconsin/66(H9N2) 株を用いた。これらの抗原のうち New Caledonia 株、Panama 株、Shangdong 株はデンカ生研製、その他は国立感染症研究所より分与された。New Caledonia 株、Panama 株および Shangdong 株は今年度のワクチン株である。

結果および考察

1. 人のインフルエンザ感受性調査

年齢群別検体数は0～4歳：27例、5～9歳：28例、10～14歳：29例、15～19歳：16例、20～29歳：44例、30～39歳：27例、40～49歳：23例、50～59歳：27例、60歳以上：26例で、合計247検体である。これらの検体について、Aソ連型（H1N1）、A香港型（H3N2）、B型ウイルスに対するHI抗体を調べ、HI価が10倍以上と40倍以上の抗体保有率を年齢群別に示すと Fig. 1 のようであった。40倍以上の抗体は感染防御能があると考えられ、有効感染防御免疫の指標とみなされている。

A/New Caledonia/20/99(H1N1) 株に対する抗体保有率：本株は前シーズン（2001.1～2001.4）の流行株であり、今シーズンのワクチン株として用いられた。この株に対するHI価10倍以上の抗体保有率は41.7%（103/247）、40倍以上は20.2%（50/247）であった。年齢群別にみると、10倍以上の抗体保有率は5～19歳群では62.5～86.2%と高かったが、他の年齢群では低かった（14.8～39.1%）。40倍以上の保有率は、5～19歳群（31.3～48.3%）以外の年齢層では低い（0.0～18.5%）。

A/Panama/2007/99(H3N2) 株に対する抗体保有率：本株は前シーズンの流行株であり、今シーズンのワクチン株として用いられた。この株に対するHI価10倍以上の抗体保有率は59.1%（146/247）、40倍以上は22.3%（55/247）であった。年齢群別にみると、10倍以上の保有率は0～4歳群と50～59歳群以外の年齢群で比較的高かった（47.8～100.0%）。40倍以上の保有率は、5～9歳群と15～19歳群では高い（56.3～60.7%）が、その他の年齢群では低い保有率（3.7～27.6%）を示した。

B/Shangdong/07/97株に対する抗体保有率：前シーズンの流行株の多くは、ワクチンに用いられていた B/Johannesburg/5/99株（山形系統の株）とは遺伝的に異なる系統に属するビクトリア系統の株であったため、B/Shangdong/07/97株（ビクトリア系統の株）が今シーズンの流行予想

株と選定され、ワクチンとして用いられた。この株に対する HI 値10倍以上の抗体保有率は19.4% (48/247), 40倍以上は2.0% (5/247) で、抗体保有者は少ない。年齢群別にみると10倍以上の保

有率は、20~29歳群のみが比較的高い (47.7%) が、他の年齢群では低かった (0.0~25.9%)。40倍以上は全年齢群で非常に低い保有率 (0.0~6.9%) を示した。

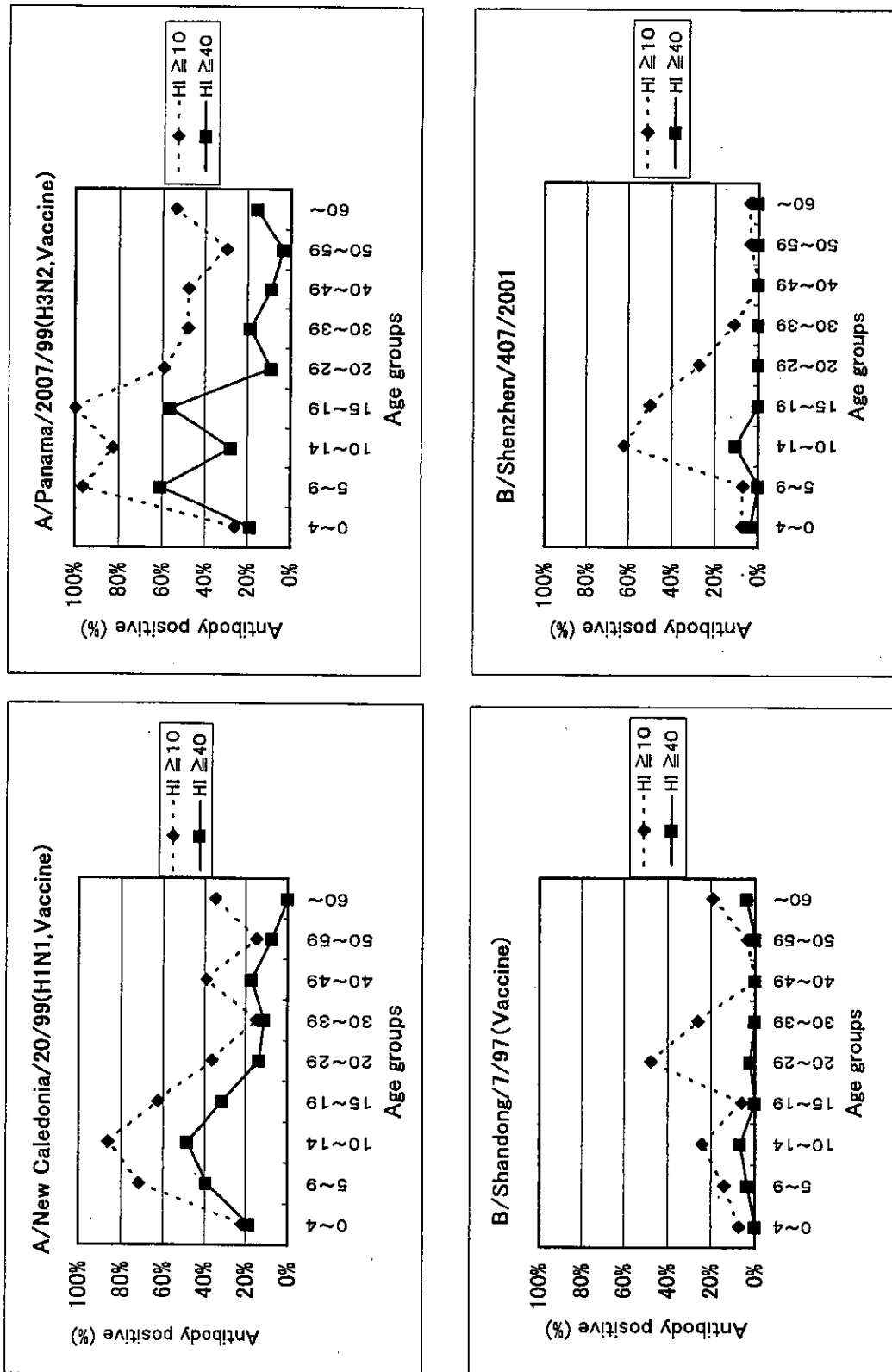


Fig. 1. Prevalence of influenza virus antibodies in age groups (June~September 2002)

平成15年10月1日

B/Shenzhen/407/2001 株に対する抗体保有率：本株は山形系統の株である。前シーズン（2002年）はほとんど流行しなかった株であるが、山形系統の株は2001年までの流行の主流を占めた株のため、参考株として調査対象となった。この株に対するHI価10倍以上の抗体保有率は19.0%（47/247）、40倍以上の保有率は1.6%（4/247）で、B/Shangdong/07/97株に対する抗体保有率とほぼ同じであり、抗体保有者は少なかった。年齢群別にみると、10倍以上の抗体保有率は10～19歳群では50.0～62.1%を示したが、他の年齢群では0.0～27.3%と低い。40倍以上の保有率は非常に低く、最も抗体保有率が高かった10～14歳群でも10.3%と低かった。

以上の結果より、インフルエンザ流行前の時期における富山県住民のインフルエンザウイルスに対するHI抗体保有率（HI抗体価40倍以上）は、AH1型、AH3型に対して5～19歳の年齢群では各々31.3～48.0%、27.6～60.7%、その他の年齢群では10%台以下の低い状況であった。この抗体保有状況は昨シーズンと大きな変化が認められなかった。一方、B型に対するHI抗体価40倍以上の抗体保有率は極めて低く、ほとんどの人が感染防御抗体を保有してないことが明らかになった。これらの住民抗体保有状況から今シーズンも流行の可能性が推測された。

2. 豚のインフルエンザ感受性調査

新型インフルエンザウイルスの出現を想定して、豚における抗体保有状況を調べた。豚血清80検体についてA/HK/9-1-1(H5N1)株、A/HK/1073/99(H9N2)株およびA/turkey/Wisconsin/66(H9N2)株に対するHI抗体を調べた結果、抗体価は全て10倍未満であり、豚の間ではこれらのウイルス株による流行はなかったと推測される。豚の月齢は6ヶ月と若い豚が対象であったために、抗体保有率が0%になった可能性もある。

II 感染源調査

調査および検査方法

1. 調査期間

2002年11月～2003年4月

2. 調査対象

定点観測として、正木医院（福光町）、宗玄医院（高岡市）、二本垣医院（黒部市）、坂本小児科医院（富山市）および池田内科医院（上市町）の協力により、インフルエンザ様疾患の患者を調査した。「集団かぜ」については5施設の患者について調べ、そのほかインフルエンザの関連が疑われた脳症患者や依頼検体についても検査した。

3. 検査方法

1) インフルエンザウイルスの検出

ウイルス分離は咽頭ぬぐい液をMDCK細胞に接種して行い、分離されたウイルスの同定は、国立感染症研究所から分与された抗A/New Caledonia/20/99(H1N1)株血清、抗A/Moscow/13/98(H1N1)株血清、抗A/Panama/2007/99(H3N2)株血清、抗B/Shangdong/07/97株血清、B/Kagoshima/11/2002株血清および抗B/Hiroshima/23/2001株血清を用いて行った。一部の検体についてはインフルエンザウイルスの遺伝子検出も試みた。

結果および考察

1. インフルエンザ様疾患の発生状況

インフルエンザ患者の発生は、前シーズンより約2ヶ月早い11月上旬から発生し、12月中旬には定点医療機関当たりの患者数は1.00人となり、流行シーズンに入った。12月16日には1小学校で「集団かぜ」が発生した。1月に入り患者数は急激に増加、ピークは第4週（1月20日～1月26日）で、定点医療機関当たりの患者数は44.66人であった。この頃より「集団かぜ」が多くなり、3月上旬まで県内の各地で発生した。休校、学年または学級閉鎖などの措置が合計34施設でとられ、届け

られた累積患者数は936人であった。インフルエンザ患者の発生は4月上旬頃に終息した。

2. インフルエンザウイルスの検出状況

2002年11月から4月までに採取した定点観測146検体, 「集団かぜ」(5施設) 24検体, 脳症患者1検体および依頼2検体で, 合計173検体について

インフルエンザウイルスの検出を試みた成績をTable 1に示す。

定点観測では, 今冬初のインフルエンザウイルスは2002年11月13日に発病した患者検体からA(H3)型が分離された。その後, B型が1月5日に発病した患者検体から分離され, 4月上旬までの検体よりA(H3)型が67株, B型が30株分

Table 1. Virological examination of patients with influenza-like diseases

Health Center	Sampling station	No. of patients	Virus detection			
			Throat swab			
			Date of sampling	No. of samples	No. of isolates	Type
Tonami	Masaki internal clinic	62	2002.Nov.14 ~2003.Apr.2	62	36 11	A(H3) B
Takaoka	Shougen clinic	21	2002.Dec.24 ~2003.Mar.14	21	7 5	A(H3) B
Niikawa	Nihongaki clinic	17	2003.Jan.1.14 ~2003.Mar.13	17	6 1	A(H3) B
Tyubu	Ikeda internal clinic	16	2002.Dec.25 ~2003.Mar.24	16	9 5	A(H3) B
Toyama	Sakamoto pediatric clinic	30	2003.Jan.6 ~2003.Mar.14	30	9 8	A(H3) B
Niikawa	Go junior high school (Epidemic case)	5	2002.Dec.17~18	5	1 ¹⁾	B
Tyubu	Fu junior high school (Epidemic case)	6	2003.Jun.20	6	6	A(H3)
Tonami	Fu junior high school (Epidemic case)	6	2003.Jan.17~24	6	6	B
Takaoka	Ko junior high school (Epidemic case)	5	2003.Feb.19	5	3	B
Toyama	Fu junior high school (Epidemic case)	2	2003.Feb.24~25	2	2	A(H3)
Tonami Toyama Niikawa	Toyama Prefecture Hospital et al	3 ²⁾	2002.Nov.12 ~2003.Mar.3	3	0	
Total		173		173	75 39+1 ¹⁾	A(H3) B

- 1) Gene of influenza B virus was detected by RT-PCR
2) One patient had clinical symptom with encephalopathy

離された。

「集団かぜ」では5施設の患者検体24件について調べた結果、2施設の8検体からA(H3)型、2施設の9検体からB型が分離され、残りの1施

設ではウイルスは分離されなかったが、1検体よりRT-PCR法によりB型のHA遺伝子が検出された。

脳症患者や依頼検査では、病院における迅速診

Table 2. HI titers of reference antisera against influenza A isolates and reference strains

	Strain/isolate	HI titer of ¹⁾			Strain/isolate	HI titer of		
		Anti-A/New Caledonia /20/99(H1N1) 1280	Anti-A/Moscow /13/98(H1N1) - 2)	Anti-A/Panama /2007/99(H3N2) -		Anti-A/New Caledonia /20/99(H1N1) 1280	Anti-A/Moscow /13/98(H1N1) 320	Anti-A/Panama /2007/99(H3N2) -
1	A/Toyama/29/2002	-	-	640	-	-	640	
2	A/Toyama/30/2002	-	-	320	-	-	160	
3	A/Toyama/31/2002	-	-	320	-	-	160	
4	A/Toyama/32/2002	-	-	320	-	-	320	
5	A/Toyama/33/2002	-	-	320	-	-	320	
6	A/Toyama/34/2002	-	-	640	-	-	160	
7	A/Toyama/35/2002	-	-	320	-	-	160	
8	A/Toyama/36/2002	-	-	320	-	-	160	
9	A/Toyama/37/2002	-	-	320	-	-	160	
10	A/Toyama/38/2002	-	-	320	-	-	160	
11	A/Toyama/39/2002	-	-	320	-	-	160	
12	A/Toyama/40/2002	-	-	320	-	-	640	
13	A/Toyama/41/2002	-	-	320	-	-	640	
14	A/Toyama/42/2002	-	-	640	-	-	1280	
15	A/Toyama/43/2002	-	-	640	-	-	160	
16	A/Toyama/1/2003	-	-	320	-	-	160	
17	A/Toyama/2/2003	-	-	320	-	-	80	
18	A/Toyama/3/2003	-	-	640	-	-	160	
19	A/Toyama/4/2003	-	-	640	-	-	80	
20	A/Toyama/5/2003	-	-	320	-	-	80	
21	A/Toyama/6/2003	-	-	320	-	-	80	
22	A/Toyama/7/2003	-	-	320	-	-	80	
23	A/Toyama/8/2003	-	-	320	-	-	80	
24	A/Toyama/9/2003	-	-	640	-	-	320	
25	A/Toyama/10/2003	-	-	640	-	-	320	
26	A/Toyama/11/2003	-	-	320	-	-	320	
27	A/Toyama/12/2003	-	-	320	-	-	640	
28	A/Toyama/13/2003	-	-	640	-	-	160	
29	A/Toyama/14/2003	-	-	640	-	-	320	
30	A/Toyama/15/2003	-	-	320	-	-	320	
31	A/Toyama/16/2003	-	-	320	-	-	320	
32	A/Toyama/17/2003	-	-	320	-	-	160	
33	A/Toyama/18/2003	-	-	320	-	-	640	
34	A/Toyama/19/2003	-	-	320	-	-	320	
35	A/Toyama/20/2003	-	-	320	-	-	320	
36	A/Toyama/21/2003	-	-	320	-	-	320	
37	A/Toyama/22/2003	-	-	320	-	-	320	
38	A/Toyama/23/2003	-	-	320	-	-	320	

1): Reference antigens and antisera were supplied from National Institute of Infectious Diseases

2) -: HI titer < 10

断キットでの検査でインフルエンザ A 型抗原陽性の患者からの検体であったが、ウイルス分離および RT-PCR による遺伝子の検出はできなかった。

合計173検体中75検体より A(H3) 型, 39検

体より B 型株が分離された。これらの分離株に対するインフルエンザ標準抗血清の HI 価を Table 2, 3 に示す。A(H3) 型株はモルモット血球と、B 型株はニワトリ血球と高い凝集性を示したので、A(H3) 型株は0.5%モルモット血球、

Table 3. HI titers of reference antisera against influenza B isolates and reference strains

Strain/isolate	HI titer of ¹⁾		
	Anti-B/Shandong /07/97	Anti-B/Kagoshima /11/2002	anti-B/Hiroshima /23/2001
B/Shandong/07/97(Victoria-lineage)	160	- 2)	-
B/Kagoshima/11/2002(Victoria-lineage)	-	5120	-
B/Hiroshima/23/2001(Yamagata-lineage)	-	-	320
1 B/Toyama/1/2003	20	2560	-
2 B/Toyama/2/2003	40	640	-
3 B/Toyama/3/2003	20	2560	-
4 B/Toyama/4/2003	20	2560	-
5 B/Toyama/5/2003	20	2560	-
6 B/Toyama/6/2003	20	2560	-
7 B/Toyama/7/2003	20	2560	-
8 B/Toyama/8/2003	20	2560	-
9 B/Toyama/9/2003	20	2560	-
10 B/Toyama/10/2003	20	2560	-
11 B/Toyama/11/2003	40	2560	-
12 B/Toyama/12/2003	20	2560	-
13 B/Toyama/13/2003	20	2560	-
14 B/Toyama/14/2003	20	2560	-
15 B/Toyama/15/2003	40	320	-
16 B/Toyama/16/2003	40	320	-
17 B/Toyama/17/2003	10	1280	-
18 B/Toyama/18/2003	10	1280	-
19 B/Toyama/19/2003	20	2560	-
20 B/Toyama/20/2003	20	2560	-
21 B/Toyama/21/2003	40	320	-
22 B/Toyama/22/2003	10	640	-
23 B/Toyama/23/2003	20	320	-
24 B/Toyama/24/2003	10	1280	-
25 B/Toyama/25/2003	20	320	-
26 B/Toyama/26/2003	20	320	-
27 B/Toyama/27/2003	20	2560	-
28 B/Toyama/28/2003	20	160	-
29 B/Toyama/29/2003	20	2560	-
30 B/Toyama/30/2003	20	2560	-
31 B/Toyama/31/2003	20	320	-
32 B/Toyama/32/2003	20	640	-
33 B/Toyama/33/2003	20	320	-
34 B/Toyama/34/2003	20	1280	-
35 B/Toyama/35/2003	20	320	-
36 B/Toyama/36/2003	20	320	-
37 B/Toyama/37/2003	-	-	80
38 B/Toyama/38/2003	20	2560	-
39 B/Toyama/39/2003	10	160	-

1): Reference antigens and antisera were supplied from National Institute of Infectious Diseases
2) -: HI titer < 10

B型株は0.5%ニワトリ血球を用いてHI価を測定した。A(H3)型の分離株(75株)に対する抗A/Panama/2007/99(H3N2)株血清のHI価は80~1280倍(ホモ:640倍)であり、Panama株(ワクチン株)と8倍低いHI価を示した株が6株認められた。B型の分離株(39株)のうち、1株を除いた38株に対する抗B/Shangdong/07/97株血清、B/Kagoshima/11/2002株血清および抗B/Hiroshima/23/2001株血清のHI価は、それぞれ10~40倍(ホモ:160倍)、160~2560倍(ホモ:520倍)、<10倍(ホモ:320倍)を示した。HI価に変動が認められるが、Shangdong株やKagoshima株すなわちビクトリア系統株の抗血清に反応し、これら38株はビクトリア系統の株に属すると判断される。しかし、ワクチン株のShangdong株のHI価より8倍以上低いHI価を示す株が多数存在し、分離株の抗原性はワクチン株とずれている可能性がある。残りの1株(B/Toyama/37/2003)はShangdong株やKagoshima株の抗血清とは反応せず、抗B/Hiroshima/23/2001株血清にHI価80倍(ホモ:320倍)を示し、山形系統株と考えられる。分離株の抗原性については、さらに多くの抗血清との反応性や遺伝子解析の成績による分析が必要である。

以上の検査結果より、調査した173名中A(H3)型感染者が75名、B型感染者が40名確認され、今シーズンは6ヶ月間の長期にわたり、2種類のインフルエンザウイルスによる混合流行であった。全国的にもA(H3)型とB型ウイルスによるインフルエンザがほとんどで、A(H1)型による患者は1例(滋賀県、3月)確認されたのみであった[1, 2]。

インフルエンザ流行の規模やウイルス型はシーズンごとに変動し、1990年から2000年春までの流行では、A(H3)型による流行が主流を占めた。

その間にA(H1)型が数年おきに加わり、あるいはB型による流行が隔年おきにA(H3)型流行に引き続き発生する傾向が見られた[3]。その後の2000/2001年、2001/2002年はA(H1)型、A(H3)型、B型の3種類の混合流行(同時流行)、今シーズンはA(H3)型とB型の2種類の混合流行となった。一方、2003年2月、3月にはトリインフルエンザがヒトへ感染したA(H5N1)型、A(H7N7)型の症例が発生した[4, 5]。特にオランダで発生したA(H7N7)型インフルエンザでは、82人からウイルスが検出され、死亡例とヒト→ヒトの感染も確認されている。従来のブタ体内での組換えによる新型ウイルスの出現という機構に加え、A(H5N1)型のようなトリ強毒型のトリ→ヒト感染、さらにこの種ウイルスのヒト→ヒト感染への進化の可能性を考慮するとインフルエンザ予測事業は複雑なものとなる。世界的レベルでの人獣共通感染という観点もふまえた発生動向調査による監視が重要である。

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

文 献

1. 厚生労働省健康局結核感染症課(2003). インフルエンザ様疾患発生報告(第24報).
2. 国立感染症情報センター(2003). 病原微生物検出情報(No.279), 24, 111.
3. 奥野良信(2001). 小児感染免疫, 13, 355-358.
4. WHO(2003). Weekly epidemiological record, 78, 57-58, 65-66.
5. Eurosurveillance Editorial Office(2003). Euro surveillance Weekly, 7, No.11, No.13, No.17.

ノーウォーク様ウイルス (NLV) による 急性胃腸炎の集団発生について (2002年度)

長谷川澄代 岩井雅恵 松浦久美子
中山 喬 安藤秀二 永井美之

Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norwalk-like Virus (NLV)
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2002

Sumiyo HASEGAWA, Masae Iwai, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA,
Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI

要 旨 2002年4月から2003年3月までの1年間に検査したウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。

1. ウイルス性の急性胃腸炎の集団発生が7件あった。これらは全てがノーウォーク様ウイルス (Norwalk-like Virus:NLV) 感染によるものであった。
2. 夏期に起きた1事例と牡蠣関連の1事例以外からのNLVの遺伝子型はすべてGⅡであった。
3. 夏期に起きた1事例からのNLVの遺伝子型はGⅠであった。
4. NLVによる急性胃腸炎の集団発生は冬期のみならず年間を通してみられた。
5. 牡蠣関連の1事例では、GⅠとGⅡの両方の遺伝子型が検出された。

近年、非細菌性の食中毒の主な病原因子としてNLVが注目されている。NLVの感染はウイルスに汚染された2枚貝(特に牡蠣等)を生で食べることによるものが多い。しかし、牡蠣等が関与しない場合も少なくない。このような感染例は牡蠣を原因とする事例に比べ発生数は少ないが、一事例の感染者数は多くその規模が大きい。これは、NLVに感染している見かけ上健康な不顕性感染者あるいは軽い症状を呈している患者の手指を介するなどの経路で、食品がウイルス汚染され、感染源となったとも考えられる。NLVは、『食中毒』の原因ウイルスのひとつとして知られ

ている一方で、『感染症』ウイルスとしての性質もある。乳幼児の急性胃腸炎はNLVによるものが多く、ほぼ年間を通してNLVの感染が認められる[1]。また介護施設などで、NLV感染者の吐物や糞便で汚染され手指などを介してヒトからヒトへ直接伝播したと考えられる事例の報告がいくつかある[2, 3]。

材料と方法

(1) 対象事例および検査材料

2002年4月～2003年3月までの間に発生した感染性胃腸炎の集団発生は表1に示した7事例であった。検体の採取と疫学的調査は各事例の管轄保健所、厚生センターで実施した(表1)。

(2) ウイルスの検出方法

糞便からのウイルスの検索は電子顕微鏡観察

(EM法)と昨年と同じく[4]「ウイルス下痢症研究会」で開発したノーワークウイルス検出ELISAキットを用いて行った。また一部ではあるが、患者糞便からRT-PCR法で、ウイルス遺伝子の検出を試みた。牡蠣からのNLVの検出は「ウイルス下痢症診断マニュアル」に準じたRT-PCR法で行った。

表 1. 富山県において SRSV (NLV) が検出された集団感染性胃腸炎事例

No.	発生時期	発生地区・状況 詰 / 人数	検体	NLV 陽性例	電顕法		ELISA法		PCR法			
					(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I+II)	
1	2002.4.7	高師 家族内 6人	詰 糞便: 2	2	2	2	2	2				NT
2	2002.5.12	高師 中学校 2年生体験学習(金) 姓・姓 49/103	詰 糞便: 14	14	14	14	14	14				NT
3	2002.6.20	高師 祭り オードブル	詰 糞便: 8	7	3/3	7	7					NT
			総員 糞便: 3	1	1/3	1	1					
(陽性数/検査数)												
4	2002.8.5	高師 研修施設 会館	詰 糞便: 6	2	2/3	2	2					2(2)
			総員 糞便: 7	1	1/1	1	1					
(陽性数/検査数)												
5	2003.1.3	高師 特別養老施設 入所者・職員 15/189 (有症者/在籍者)	詰 糞便: 7	6	6	5	5					3(3)
6	2003.2.3	入籍 飲食店 5人グループ 牡蠣	詰 糞便: 5	5	5	3	3					2(1 1)
			総員 糞便: 2	2	2	1	1					0
			牡蠣(1パック): 6	0								
7	2003.3.13	高師 弁当 35/211 (有症者/利用者)	詰 糞便: 21	15	NT	6	6					14(14)
			総員 糞便: 9	3	NT	2	2					1(1)

結果および考察

表1に示した2002年度のNLVの集団感染事例7事例のうち1事例だけカキ関連の感染であると考えられた。以下、事例ごとに概要を述べる。

事例No.1: 2002年4月9日、富山市保健所に富山赤十字病院の内科医師から富山市内の焼肉店で飲食をした1グループ3家族6名のうち2名が「嘔吐」、「腹痛」、「下痢」を訴えて受診したとの報告があった。調査の結果、4月6日、焼肉屋で20時～24時に1グループ(3家族6名)が喫食し、4月7日0時頃から症状を呈し、6名(10歳代1名、20～30歳5名)が医療機関を受診した事が判った。食中毒疑いで調査したところ、患者発生はこのグループだけであった。問題のグループのうちの1家族の11か月の子供が、飲食1時間後に店のテーブルの前で嘔吐をし、病院に運ばれる途中で店の個室の入り口や、運ばれた車の中で嘔吐をしていることが判った。更に、この家族内で喫食していないものも発症していることが判った。感染源はこの患児と考えられ、この患児と父親(患者)の糞便2件が採取された。2名からNLVが検出された。この事例の感染源は11か月の子供の吐物であると考えられ、患者の吐物で汚染された手指を介して直接ヒトからヒトへ感染が、拡大した事例であると考えられた。

事例No.2: 2002年5月13日、高岡厚生センター小杉支所より管内のS中学校2年生が11日から12日にかけて「下痢」、「嘔吐」の症状を訴えて中には入院している生徒もいるとの連絡が入った。調査の結果4月9、10の両日、金沢市宿泊体験学習を行った2年生と先生ら103人のうちほぼ半数にあたる49人が、下痢や嘔吐の症状を呈しているとの事であった。患者14名(中学2年生12名、先生2名)の糞便が13日～15日にかけて採取された。14名からNLVが検出された。一方、金沢市保健所でも食中毒を疑い調査が行なわれ、その結果、生徒が宿泊したホテルの調理従業者6人のうち3人からNLVが検出された。これらの従業者は症状を呈しながら調理に従事していたとの事であ

た。この事例は感染者の糞便で汚染された手指を介して食品が汚染され、この食品を食べる事により感染したと考えられた。

事例No.3: 2002年6月21日に高岡厚生センターから管内の祭り(19日)に参加した短大生らが20日深夜から21日の早朝にかけて「嘔吐」、「下痢」、「腹痛」を訴えて高岡市内の病院で手当てを受けているとの情報が入った。調査の結果、患者は23人で何れも祭りのイベントに参加した後、慰労会でオードブルを食べていることが判った。早速患者8名と店の従業員3名の糞便が21日から22日にかけて採取された。検査の結果、患者8名中7名からNLVが検出された。更に従業員3名のうち1名からもNLVが検出された。聞き取り調査の結果、NLV陽性の従業員は17日以前に感染性胃腸炎を発症していた孫のオムツ交換などして17日頃から胃腸の調子が悪くなっていたとのことであった。この事例はNLV感染者の糞便で汚染された手指を介して食品が汚染され、この食品を食べる事により感染したと考えられた。

事例No.4: 2002年8月13日、中部健所八尾支所より富山市の肢体不自由児父母の会が合宿で、8月3日(土)に婦中町のA施設に宿泊し、5日に参加者のうち5～8名が「下痢」、「嘔吐」、「吐き気」の症状を呈し、3名が通院しているとの連絡が入った。調査の結果、8月3、4日の宿泊者は137名(利用グループ19)であったが、患者が出たのはこのグループだけであった。参加者42名中10名が発症していることが判った。そこで患者と従業員の糞便が採取された。患者6名の糞便は8月13日～14日に、従業員10名(調理人:7名、接客:3名)の糞便が15日に採取された。検査の結果患者6名のうち2名からNLVが検出された。従業員(調理人)1名からNLVが検出された。ELISA法とRT-PCR法で、患者、調理人何れもグループIであることがわかった。本事例はNLV感染者が調理に関わるときに、食品を汚染させてこの食品を食べた人が発症したと考えられた。

事例No.5: 2003年1月7日、高岡厚生センターに「特別養護老人施設D」の入所者及び職員約20名が、「下痢」、「嘔吐」、「発熱」の食中毒症状

を呈し、うち7名がT総合病院を受診しているとの情報がいった。調査の結果、2002年12月28日から2003年1月7日にかけて当該施設の入所者81名、調理従事者9名及び職員99名合計189名のうち、入所者9名及び職員6名の計15名が食中毒症状を呈していた事が判明した。患者の発生は一階フロアに集中しており、この施設にある調理場の調理従事者9名は全て健康であるとの事だった。早速、患者7名（入所者3名、介護士3名、相談員1名）の糞便が7日～8日に採取された。検査の結果、6名からNLVが検出された。その内訳は入所者3名、職員3名であった。表には示さなかったが、糞便を採取した患者7名のうち5名から急性期と回復期の対血清も採取した。患者の急性期と回復期の血清について患者糞便を粗精製してNLV抗原として免疫電子顕微鏡法（IEM法：Kapikianら [5] が行ったウイルス粒子と患者血清を用いたIEMで得られた凝集像の評価、すなわちウイルス抗原への抗体付着量を0～+4の五段階評価を行いペア血清で一段以上の差異が認められた場合、有意な抗体上昇と認める）で患者のNLVに対する抗体を測定した。その結果、糞便中にウイルスを確認できなかった1名を除いて他の患者は急性期と回復期で有意な抗体の上昇が認められ、NLVの感染が血清学的にも裏付けられた。このウイルスはELISA法とRT-PCR法でグループⅡであることが判った。患者の発生状況は、12月28日に職員1名が発症し、年が明けて1月2日に入所者1名、4日には2名（職員1、入所者1）、5日には4名（職員2、入所者2）、6日には5名（職員1、入所者5）、7日には職員1名が発症していた。本事例は、最初の患者である職員が発端と考えられたが、この職員に関しては調査ができず、感染源・感染経路を特定する事は出来なかった。

事例No.6：2003年2月1日に新川厚生センター管内の飲食店で2月1日夕方牡蠣料理を食べたグループ5名が2月3～4日に「下痢」、「吐気」、「発熱」の症状を呈した事例である。患者5名と従業員2名の糞便と牡蠣1パック（同一ロットではない）が搬入された。検査の結果、ELISA法

で患者3名、従業員1名が陽性であった。PCR法で患者2名からそれぞれG1とG2が検出された。牡蠣からは検出されなかった。本事例はNLVに汚染された牡蠣を食べることによりNLVに感染したと考えられたが、感染源を特定する事は出来なかった。

事例No.7：2003年3月13日、高岡厚生センター管内においてR弁当業者から配食されている弁当が原因と思われる食中毒患者が多数発生しているとの情報が入った。調査の結果、該当の弁当屋が配達している12カ所の配達先のうち7カ所で患者が発生していた。患者が出ている6カ所の配達先の患者合計21名と弁当屋従業員9名の糞便が14日～15日に採取された。ELISA法とRT-PCR法で患者21名中15名がNLV陽性と判断され、従業員9名中1名が陽性と判断された。このウイルスはグループⅡであることが判明した。本事例の患者の発生は3月12、13日に集中していることから、このことから食品が、同時期にNLVによって汚染されたと考えられた。しかし聞き取り調査で、患者でもT会社の従業員は3月4日に発病し、同じT会社の従業員が3月10日に発症していることが判った。この事から本事例の全ての患者が弁当が原因と判定することは困難であった。

NLV感染による感染性胃腸炎は毎年冬期を中心に発生をしている。富山県感染症発生動向調査によれば、本年度も昨年同様感染性胃腸炎の患者の報告数は多く感染症の患者報告数の第一位を占めていた。今回報告した7事例は4月から3月にかけて発生しており、年間を通して県内に感染性胃腸炎が多発していた時期と一致していた。更にNo.4の事例のように夏季のNLVによる感染性胃腸炎の集団発生を確認した。NLVの感染力は強く、保育所や介護施設（事例5）のような集団生活を行う施設では、大きな集団発生を引き起こす可能性のあることが示唆された。

NLVの感染経路はNLVに汚染された2枚貝の喫食による場合の他、患者の汚物を介した接触感染等が考えられている。我々は、NLVに感染して、症状が治まってもNLVが1カ月以上にわ

たり糞便中に排泄されていることを報告した [6]. 小野ら [7] は学校給食従事者 (健康者) 190名の糞便を年間を通してNLV 遺伝子の検出を行ったところ4.7%の割合で年間を通じて検出されたと報告している.この事から, NLV に感染後, 無症状のヒトや, 発症後回復したヒトが, 長期にわたりNLV を糞便中に排泄し続け, 感染源となりうる可能性が十分に示唆された. これからのNLV 対策には, 食中毒に対する注意を強化していく事が大切と考えられた. 更に, 感染症発生動向調査情報による感染性胃腸炎の患者発生状況を監視し, 食中毒と感染症の両方で進めていく必要があると考えられた.

謝 辞

検体採取等にご協力いただきました富山市保健所, 高岡厚生センター, 中部厚生センター八尾支所, 高岡厚生センター小杉支所, 高岡厚生センター氷見支所, 新川厚生センターの関係者各位に感謝します.

文 献

1. 長谷川澄代, 舘 一矩, 北村 敬 (1999). 富山衛研年報, 178-182.
2. 斉藤博之, 八柳 潤, 佐藤広康, 宮島嘉道, 鈴木紀行, 森田盛大 (1997). 病原微生物検出情報, 月報, 6, 5-6.
3. 入谷展弘, 勢戸祥介, 春木孝祐, 浅香策雄 (1998). 病原微生物検出情報, 月報, 1,3.
4. 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 安藤秀二, 永井美之 (2000). 富山衛研年報, 23, 113-117.
5. Kapikian A.Z., Wyatt R.G., Dolin R., Thornhill T.S., Kalica A.R., Chanock R.M. (1972). J.Virol., 10, 1075-1081.
6. 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 安藤秀二, 石倉康宏 (2001). 富山衛研年報, 24, 110-115.
7. 小野哲郎, 小河正雄, 塚本伸哉 (2000). 大分県衛生環境研究センター年報, 28, 21-23.

河川水や下水から分離されたポリオウイルス：VP1領域と3D領域の 遺伝子解析によるリコンビナントポリオウイルスの調査

松浦久美子 石倉康宏 永井美之
吉田弘¹ 堀江均²

Characterization of Poliovirus Isolates from River Water and Sewage : Presence
of Recombinant Polioviruses between the VP1 and 3D Regions

Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA, Yoshiyuki NAGAI,
Hiromu YOSHIDA¹, Hitoshi HORIE²

要旨 河川水および下水から分離されたポリオウイルス株について、VP1領域と3D領域の塩基配列をもとにして、リコンビナントウイルスの存在を調べた。69分離株のうち17株(24.6%)がリコンビナントウイルスであった。血清型別ごとにVP1領域と3D領域の塩基配列を検討すると、1型の14株にはリコンビナントはなかった。2型の25株のうち2株がリコンビナント株で、[VP1:2型+3D:3型]の組み合わせであった。3型の28株では、15株がリコンビナント株となっており、[VP1:3型+3D:1型]が4株と[VP1:3型+3D:2型]が11株であった。ポリオウイルスはリコンビネーションが起きるウイルスであることは知られているが、調べた分離株にも確認され、特に3型(血清型)では53.6%と高い率で起きていた。

WHOが掲げているポリオ根絶計画は、最初の計画(2000年根絶)より遅れているが、多数の国では野生株によるポリオは根絶された。2002年に野生株が分離されたのは、7カ国(インド、ナイジェリア、パキスタン、アフガニスタン、ニジェール、ソマリア、ザンビア)で発生したポリオ症例とエジプトでの環境サーベイランスからである[1]。しかし、2000年、2001年に、ポリオワクチン由来ウイルス(VDPV)によるポリオ流行がハイチ、ドミニカ共和国、フィリピンで発生した[2, 3]。日本では流行はないが、平均すると毎年約1例の割合でワクチン由来株による患者が見ら

れている[4]。これらのことを踏まえ、VDPVの根絶も重要な課題となってきた。ハイチ等で流行したVDPVの遺伝子解析の結果では、VP1領域は1型であるが、非構造蛋白質領域はポリオウイルスの塩基配列との相同性は低く、他のエンテロウイルスとのリコンビナントウイルスであると考えられると報告された[3]。

我々は、これまでに河川水や下水から分離されたポリオウイルスについて、血清型に関わるVP1領域と神経毒性に関与している5'非翻訳領域の遺伝子解析、また一部の株についてはTransgenic miceを用いた毒性実験を行った。その結果、分

1. 国立感染症研究所 2. 日本ポリオ研究所
1. National Institute of Infectious Diseases 2. Japan Poliomyelitis Research Institute

離株は全てワクチン由来株であったが、これらの株の中には変異株が存在し、潜在的な神経毒性を有することが判明した [5-13]. 今回は、VP1 領域と 3D 領域についての遺伝子解析により、リコンビナントウイルスの検討を行った。

GGGGTGAAGGAACCAGC3'である [15]. ABI PRISM 310 Genetic Analyzer にて、増幅 PCR 産物の塩基配列 (291bp) をダイレクトシーケンス法によって解読した。

結 果

材 料 と 方 法

1. ポリオウイルス株

分離株の分離方法は、前報告の記載どおりである [14]. 標準株として弱毒型のワクチン株 (F113株, F207株, F313株) および 1 型強毒株の Mahoney 株 (ワクチン株の親株) を使用した。

2. 遺伝子解析

分離株の VP1 領域については前報告の実験成績による [6, 7, 9]. 非構造蛋白質領域の中の Polymerase をコードしている 3D 領域 (position, 1 型6086-6376 ; 2 型6085-6375 ; 3 型6077-6367) は、プライマー UC8 と UG7 を用いて RT-PCR 法で増幅した。プライマー UC8 は 5'GATGTCTCTCTTCTTCTTCCC 3', UG7 は 5'TTTGAA

69分離株について、血清型別ごとに VP1 と 3D 領域の塩基配列を標準株の配列と比較した結果を Table 1, 2, 3 に示す。

1 型14株は F113 (Sabin 1 型) と比較すると、point mutation は認められたが VP1 領域は98.6%以上、3D 領域は99.3%以上の相同性を示し、リコンビナントウイルスはなかった。3D 領域において 2 株 (G4-2, G4-12) が、position 6203 に弱毒型の Sabin 1 型株の塩基 (C) から強毒型の Mahoney 株と同じ塩基 (T) に置換しており、revertant が見られた。この 2 株は Transgenic mice による神経毒性の実験で陽性、また 5' 非翻訳領域の神経毒性に関与する塩基 (480 : A+525 : C) を 89.3~92.1% 含み、強毒性の株であった

Table 1. Genomic features of serotype 1 poliovirus strains isolated from sewage

Isolate/ strain	Capsid, serotype		Neurovirulence		Polymerase	Recombinant
	VP3-VP1 region		5'nqn-coding region		3D region	
	position 2422-2860		position 480 Sa: G, Ma: A position 525 Sa: U, Ma: C		position 6086-6376	
	PCR-RFLP, Sequencing		MAPREC 480: A+525:C(%)	LD50(Log)	PCR-RFLP, Sequencing	
G4-2	type I, mutation: 3(2456,2743,2795)*	**89.3		**1.69	type I, mutation: 1(6203)	(-)
G4-12	type I, mutation: 2(2743, 2795)	**92.1		**1.79	type I, mutation: 1(6203)	(-)
G3-11	type I, mutation: 2(2737, 2774)	**91.8			type I, mutation: 2(6295, 6346)	(-)
G17-21	type I, mutation: 0	**93.7		**1.97	type I, mutation: 0	(-)
G18-5	type I, mutation: 2(2728,2795)	*93.8			type I, mutation: 0	(-)
G26-11	type I, mutation: 1(2743)	**93.7			type I, mutation: 0	(-)
G28-3	type I, mutation: 4(2545,2743,2749,2795)	**83.1			type I, mutation: 0	(-)
G28-9	type I, mutation: 6(2451,2608,2776,2795, 2815,2839)	**92.8			type I, mutation: 0	(-)
G42-7	type I, mutation: 1(2795)	**90.2			type I, mutation: 0	(-)
G4-16	type I, mutation: 3(2466,2795,2854)		0.79		type I, mutation: 0	(-)
G16-1	type I, mutation: 0		0.37	>3.84	type I, mutation: 0	(-)
G16-2	type I, mutation: 0				type I, mutation: 0	(-)
G16-6	type I, mutation: 1(2602)		0.97		type I, mutation: 0	(-)
G35-10	type I, mutation: 0		0.48	3.3	type I, mutation: 0	(-)
Mahoney	type I, mutation: 8(2438,2545,2585,2741, 2749,2762,2775,2795)	**81.1			type I, mutation: 2(6143, 6203)	
F113 Sabin	type I		0.81	2.62	type I	

* Mutation : isolate was compared with strain Sabin

** Virulent type

[11, 13]. しかし, この position 6203 に塩基置換が起きていない 6 株 (G3-11, G17-21, G26-11, G28-3, G28-9, G42-7) も強毒性の株であった. このことは, 6203 における revertant の塩基置換は, 弱毒, 強毒に大きな役割を果していないことを示すと考えられる.

2 型 27 株のうち 25 株では, F207 (Sabin 2 型) の塩基配列と高い相同性 (VP1 領域, 3D 領域とも 99.3% 以上) を示した. 2 株は VP1 領域が 2 型, 3D 領域が F313 (Sabin 3 型) の塩基配列というリコンビナントウイルスであった.

3 型 28 株では, 13 株は F313 (Sabin 3 型) の塩基配列と高い相同性 (VP1 領域 99.1% 以上, 3D 領域 100% 一致) を示したが, 15 株がリコンビナントウイルスであった. リコンビナト率は 53.6% (15/28) と高かった. VP1 領域 3 型-3D 領域 1

型の組み合わせが 4 株, VP1 領域 3 型-3D 領域 2 型の組み合わせが 11 株である. 3 型と 1 型とのリコンビナント 4 株のうち 3 株では, 3D 領域の position 6203 の塩基が T (Sabin : C, Mahoney : T) に置換し, revertant であった. この 3 株は 5' 非翻訳領域の遺伝子解析において強毒性の株であった. しかし, 3 型の神経毒性に關与する遺伝子は 5' 非翻訳領域における position 472 の塩基で, one point mutation (弱毒性 : U, 強毒性 : C) で起きることが確認されており, 3 型 28 株のうち 15 株 (リコンビナント 4 株も含む) が強毒性の株であった [8, 10]. 従って, リコンビナント 3 株での position 6203 の revertant による病原性への關与について, このデータからは明らかとならなかった.

Table 2. Genomic features of serotype 2 poliovirus strains isolated from river water and sewage

Isolate/ strain	Capsid, serotype	Polymerase	Recombinant
	VP3-VP1 region	3D region	
	position 2424-2862	position 6085-6375	
	PCR-RFLP, Sequencing	PCR-RFLP, Sequencing	
O2-1	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
O18-1	type 2, mutation: 1 (2546)*	type 2, mutation: 1 (6180)	(-)
O41-1	type 2, mutation: 1 (2576)	type 2, mutation: 0	(-)
G3-15	type 2, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(+) Sabin 2+3
G4-4	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G4-9	type 2, mutation: 1 (2597)	type 2, mutation: 1 (6129)	(-)
G4-13	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G4-17	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G15-8	type 2, mutation: 1 (2520)	type 2, mutation: 0	(-)
G16-3	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 1 (6246)	(-)
G17-13	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G17-15	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G17-24	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G18-2	type 2, mutation: 3 (2537,2566+2568)	type 2, mutation: 0	(-)
G18-10	type 2, mutation: 1 (2790)	type 2, mutation: 1 (6201)	(-)
G18-13	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G19-5	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 1 (6252)	(-)
G20-10	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 1 (6237)	(-)
G20-18	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 1 (6237)	(-)
G25-6	type 2, mutation: 1 (2687)	type 2, mutation: 0	(-)
G25-7	type 2, mutation: 1 (2687)	type 2, mutation: 0	(-)
G26-3	type 2, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(-)
G27-14	type 2, mutation: 2 (2547,2634)	type 3, mutation: 0	(+) Sabin 2+3
G39-8	type 2, mutation: 1 (2550)	type 2, mutation: 0	(-)
G40-4	type 2, mutation: 2 (2548,2820)	type 2, mutation: 0	(-)
G41-2	type 2, mutation: 1 (2626)	type 2, mutation: 0	(-)
G42-21	type 2, mutation: 1 (2468)	type 2, mutation: 0	(-)
F207 Sabin	type 2	type 2	

* Mutation : isolate was compared with strain Sabin

考 察

分離株について VP1 領域と 3D 領域の塩基配列を検討した結果、リコンビナント株が17株 (17/69, 24.6%) 存在した。ポリオウイルスがリコンビネーションを起こすことは知られている [3, 15, 16, 17, 18, 19]。なかでも2000年~2001年にかけて、ハイチやドミニカ共和国で発生したポリオ流行の VDPV 遺伝子の解析を行うと、VP1 領域はポリオ1型で、非構造蛋白質領域はポリオウイルスの塩基配列との相同性が低く、他のエンテロウイルスとのリコンビナントウイルスであると考えられている [3]。そして、1998年末から1999年初頭に投与された OPV に由来するウイルス株が、1.5~2.5年ほど同地域で伝播した可能性が高いことが Sabin 1 の変異率とウイルス分離率

から推測された。リコンビネーションの由来ウイルスはまだ不明であるが、分子系統的にポリオウイルスと最も近縁なグループの C 群エンテロウイルスのкокサッキー A11, A13, A21 などではと推察され、リコンビネーションの病原性などへの意義についてもまだ不明である。

今回調べたウイルス株には、このような非ポリオウイルスとのリコンビネーション株はなかった。しかし、24.6%のリコンビネーション株が認められ、特に3型では約54%もリコンビナントであることは注目される。我が国のポリオ型別抗体保有状況 [20] をみると、3型の抗体保有率や平均抗体価は1型や2型に比べて低い、これは3種混合によるワクチン投与後、腸管内での3型の増殖が1型や2型より弱く、また遅いためと推測される。3型のリコンビナント率が高いのは、このことが

Table 3. Genomic features of serotype 3 poliovirus strains isolated from river water and sewage

Isolate/ strain	Capsid, serotype	Polymerase	Recombinant
	VP3-VP1 region	3D region	
	position 2419-2851	position 6077-6367	
	PCR-RFLP, Sequencing	PCR-RFLP, Sequencing	
S9-2	type 3, mutation: 2 (2637,2776)*	type 2, mutation: 1 (6264)	(+) Sabin 3+2
S25-1	type 3, mutation: 2 (2592)	type 3, mutation: 0	(-)
I42-1	type 3, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(-)
G2-19	type 3, mutation: 1 (2535)	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+1
G2-24	type 3, mutation: 1 (2535)	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G3-8	type 3, mutation: 1 (2785)	type 3, mutation: 0	(-)
G3-13	type 3, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G3-14	type 3, mutation: 1 (2637)	type 3, mutation: 0	(-)
G3-16	type 3, mutation: 1 (2785)	type 3, mutation: 0	(-)
G4-18	type 3, mutation: 3 (2637,2674,2790)	type 1, mutation: 1 (6203)	(+) Sabin 3+1
G4-19	type 3, mutation: 2 (2479,2637)	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G5-1	type 3, mutation: 4(2636,2713,2790,2815)	type 1, mutation: 1 (6203)	(+) Sabin 3+1
G17-4	type 3, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(-)
G17-6	type 3, mutation: 1 (2636)	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G17-7	type 3, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(-)
G17-8	type 3, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(-)
G17-10	type 3, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(-)
G17-11	type 3, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G17-14	type 3, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(-)
G19-4	type 3, mutation: 1 (2560)	type 3, mutation: 0	(-)
G19-14	type 3, mutation: 1 (2636)	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G22-3	type 3, mutation: 0	type 3, mutation: 0	(-)
G25-8	type 3, mutation: 0	type 1, mutation: 0	(+) Sabin 3+1
G25-10	type 3, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G27-3	type 3, mutation: 2 (2637,2790)	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
G27-9	type 3, mutation: 1 (2535)	type 3, mutation: 0	(-)
G28-1	type 3, mutation: 0	type 1, mutation: 1 (6203)	(+) Sabin 3+1
G40-7	type 3, mutation: 0	type 2, mutation: 0	(+) Sabin 3+2
F313 Sabin	type 3	type 3	

* Mutation : isolate was compared with strain Sabin

反映されたと考えられる。Furioneら [15] や Guillotら [16] のワクチン関連の患者の調査および Cuervo [17] によるワクチン投与者の調査では、2型や3型で多くのリコンビナント株が分離され、次のようなことが報告されている。リコンビネーションの部位はウイルス株によってまちまちで、非構造蛋白質領域の中のいろいろな領域で起きている。リコンビナントはワクチン弱毒株が強毒株への reversion, そして natural evolution のメカニズムの一つである。他のエンテロウイルスと同時感染した場合、それとのリコンビナントウイルスが地域に常在してゆく可能性がある。

3D領域が1型である株の中には、position 6203で Sabin 1型株の塩基 (C) から強毒株の Mahoney株と同じ塩基 (T) に置換した株 (5株) が見つかった。この revertant の塩基置換は以前から注目されており、病原性との関連性が示唆されていた [15]。しかし、この置換が起きていない株でも強毒株が認められ、position 6203の塩基置換のみが神経毒性復帰に関わるとは考えにくいことが示唆された。

我々が環境水から分離したワクチン由来株には変異株が存在し、潜在的な神経毒性を有することを明らかにしたこと、ハイチやドミニカで神経毒性の復帰した VDPV による流行が起きたこと、等は生ワクチンを主体とするポリオ根絶計画の戦略に大きなインパクトを与え、今後の計画に問題点を提起した。ポリオ根絶確認の一つの指標として環境中のサーベイランス調査の導入 [21]、根絶の最終段階では不活化ワクチン (IPV) に切り替える方向で進められることとなった。日本では、弱毒ポリオウイルスの Sabin 株の IPV が開発され、現在製造承認申請中とのことである [4]。

文 献

1. 遠田耕平 (2002). 臨床とウイルス, 30, 323-328.
2. Clarks.T. (2001). Nature, 409, 278-280.
3. 清水博之 (2002). 臨床とウイルス, 30, 329-335.
4. 橋爪杜 (2002). 臨床とウイルス, 30, 336-346.
5. 松浦久美子, 石倉康宏, 長谷川澄代, 中山喬, 安藤秀二, 北村敬 (1998). 富山衛研年報, 21, 117-119.
6. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村敬 (1999). 富山衛研年報, 22, 91-96.
7. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村敬 (2000). 富山衛研年報, 23, 108-112.
8. 松浦久美子, 石倉康宏, 北村敬, 吉田弘, 堀江均 (2001). 富山衛研年報, 24, 106-109.
9. Matsuura K., Ishikura M., Yoshida H., Nakayama T., Hasegawa S., Ando S., Horie H., Miyamura T. and Kitamura T. (2000). Appl. Environ. Microbiol. 66, 5087-5091.
10. Yoshida H., Horie H., Matsuura K. and Miyamura T. (2000). THE LANCET. 356, 1461-1463.
11. Horie H., Yoshida H., Matsuura K., Miyazawa M., Ota Y., Nakayama T., Doi Y. and Hashizume S. (2002). Appl. Environ. Microbiol. 68, 138-142.
12. Yoshida H., Horie H., Matsuura K., Kitamura T., Hashizume S. and Miyamura T. (2002). J.Gen. Virol. 83, 1107-1111.
13. Horie H., Yoshida H., Matsuura K., Miyazawa M., Wakabayashi K., Nomoto A. and Hashizume S. (2002). J.Med.Virol. 68, 445-451.
14. 松浦久美子, 石倉康宏, 長谷川澄代, 中山喬, 森田修行, 北村敬 (1997). 富山衛研年報, 20, 114-119.
15. Furione M., Guillot S., Otelea D., Balanant J., Candrea A. and Crainic R. (1993). Virology. 196, 199-208.
16. Guillot S., Caro V., Cuervo N., Korotkova E., Combiesco M., Persu A., Aubert - Combiescu A., Delpeyroux F. and Crainic R. (2000). J.Virol. 74, 8434-8443.
17. Cuervo N. S., Guillot S., Romanenkova N., Combiescou M., Aubert - Combiescu A., Seghier M., Caro V., Crainic R. and Delpeyroux F. (2001). J. Virol. 75, 5740-5751.
18. Georgopoulou A. and Markoulatos P. (2001).

- Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 20, 792-799.
19. Marturano J. and Fiore L. (2002). J. Clin. Microbiol. 40, 316-317.
20. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所
- 感染症情報センター (2001). 感染症流行予測調査報告書 平成11年度, 6-39.
21. Centers for Disease Control and Prevention (2003). M.M.W.R. 152, 252-255.

病原体を取り扱う職員の健康と安全管理に関する調査（第2報）

安藤 秀二 永井 美之

Investigation on Health Management and Biosafety Control
for the Staff Handling Pathogens (the 2nd Report)

Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI

要 旨 平成14年9月、全国の地方衛生研究所75施設を対象に、病原体等の安全な取り扱いを示した管理規程等の有無を含め、「病原体等の取り扱いにおける職員の健康管理に関するアンケート調査」を実施し、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成11年4月1日施行）以前の調査（平成10年9月実施）と比較した。回答率は97%（73/75施設）であった。

回答のあった地方衛生研究所73施設のうち、調査研究を行ううえで病原体等の取扱い規程等を適応している施設は全体の55%（40施設、前回28施設40%）、感染事故対応をマニュアル化している施設は34%（25施設、前回21施設30%）であった。取り扱う感染症を対象にした職員の健康診断や抗体検査を未実施の施設は、それぞれ59%（43施設、前回40施設57%）、34%（25施設、前回27施設39%）、「ワクチン未接種」との回答がなお3施設からよせられた。新しい対象疾患や業務の増加、人員や予算の削減も重なっている状況の中で、他の項目も含め前回調査からわずかの改善がみられた。しかし、地方衛生研究所における病原体等を取扱う職員的环境にはいまだ多くの改善点が残されている。

平成11年4月の感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（以下「法律」）の施行以来、感染症をとりまく状況は大きく変化し、地方衛生研究所（以下「地研」）は、その中で地域における専門機関として病原体の関係する様々な危機管理に対応することを求められている。また地域保健法の指針により地研の機能強化の必要性も指摘されている。しかしながら、近年の財政問題などから、ハードおよびソフトの両面で十分な対応がなされているか不明である。一方、遅れていた大学などでも病原体の取り扱いのルール作りも進み始め、現在ではバイオセーフティのみならず、病原体の盗難などに備えて施設への出入り

のチェック強化などセキュリティの面でも衛研をはるかに越えた安全対策が施されつつある。我々は法律施行前の平成10年にバイオセーフティに関する地研の取り組み状況をアンケート調査した(1)。今回、法律施行前後の状況を比較検討し、地研の検査・研究の現場において問題が発生する前に取り組むべき改善点等を明らかにする事を目的に再度調査を行った。

アンケート実施方法

平成14年9月、年度当初に全国協議会会員であっ

た地研75施設（前回73地研）を対象に、「病原体等の取り扱いにおける職員の健康管理に関するアンケート調査」を実施した。調査内容は、前回と同様に、病原体等の安全な取り扱いをまとめた管理規程等の有無、病原体を取り扱う職員の事故管理、健康管理（健康診断、抗体検査、予防接種）、教育、関連予算等14項目に関して行った（前回の回答用紙を送り、変更点を加筆修正）。さらに追加設問として、前回調査時点からの変更点（人員、組織構成、予算、施設・設備状況その他）、「変更された」または「変更されない」ことによる問題点を自由記載で回答を求めた。

結 果

平成14年4月1日現在で全国協議会に登録されていた全国の地研75施設を対象にアンケート調査を実施し、73施設（97%）から回答を得た。

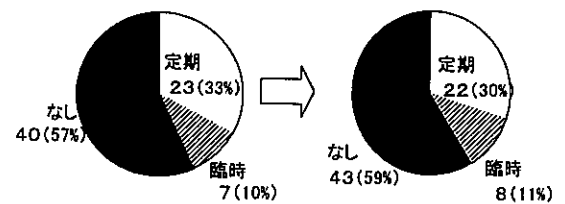
1. 健康管理に関する設問

検査、調査・研究で取り扱う感染症、業務上感染の可能性のある疾患を対象にした職員の健康診断や抗体検査を実施していない施設は、それぞれ59%（43施設、前回40施設57%）、34%（25施設、前回27施設39%）、「ワクチン未接種」との回答が今回も3施設（前回4施設）からよせられた（図1）。抗体検査は、前回と同様B型肝炎のみを検査している施設がもっとも多く34施設（47%、前回32施設39%）、業務内容にあわせて、C型肝炎、HIV、結核、HFRS、エキノコックス、トキソプラズマ等の抗体検査を行っている施設は14施設（19%、前回11施設16%）であった（図1B）。ワクチン接種もB型肝炎ウイルスのみがもっとも多く55施設（75%）、B型肝炎に加え業務に合わせて必要な予防接種を行う施設が前回の5施設から15施設に増加した（図1C）。

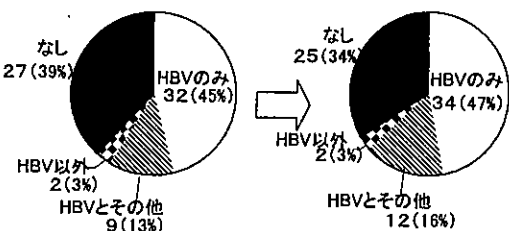
2. バイオセーフティに関する教育と管理に関する設問

施設運営において病原体等の取り扱いに関して

A. 感染症に関する健康診断の実施



B. 抗体検査



C. ワクチン接種

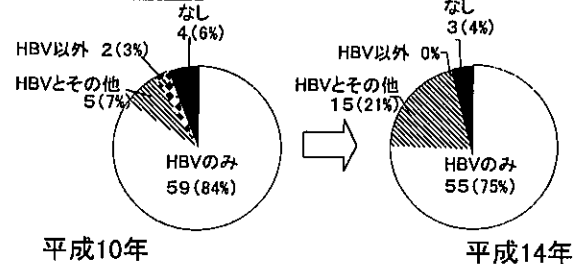


図1. 健康管理の各項目における実施状況

規程等を持っている施設は全体の55%（40/73）と前回40%（28/70施設）から増加した。また感染事故対応マニュアルは前回の21施設30%から25施設34%とわずかに増加した。安全教育訓練の実施は31施設42%（前回24施設34%）であった（図2）。

3. バイオセーフティ関連の予算措置

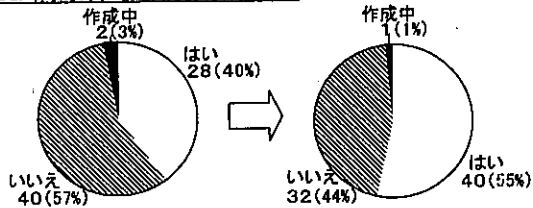
バイオセーフティに関する予算が措置されている施設は、平成10年度調査の35施設（50%）から40施設（55%）に増加した。

4. 追加設問（変更点と問題点）

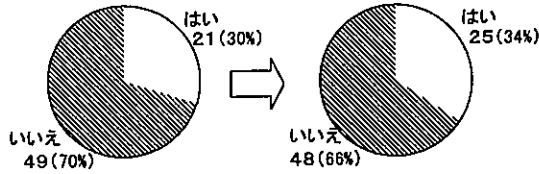
追加設問に対する回答と調査票の人員構成の修正を集約したところ、人員増18施設、人員減26施設、変更無し29施設であった。人員増の施設の内10施設は、保健所や環境公害部門等との統合・組織改編であり、実質担当職員減がみられた。

回答があった施設の内、機能強化等を理由にして予算増が9施設ある一方、財政難による予算減

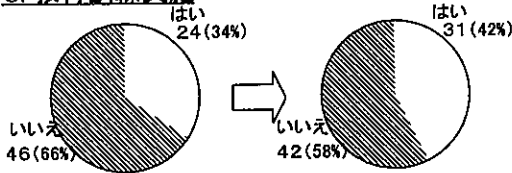
A. 病原体取扱規則の有無



B. 感染症事故対策マニュアルの有無



C. 教育訓練実施



平成10年

平成14年

図2. バイオセーフティ教育と安全管理

も6施設であった。また「施設の老朽化」、「組織の再編統合」等の理由により、23施設が施設の新設・改修を実施していた(30.7%)。

追加設問2(自由記載)の「変更された」または「変更されない」ことによる問題点では、人間的、予算的な削減ならびに不足が多く施設であげられている(表1)。

考 察

平成10年に実施した(1)と同様にバイオセーフティに関する地研の取り組み状況を再度調査した。平成11年4月の法律施行前と後の状況を比較検討し、今後取り組むべき問題点を明らかにすることを試みた。回答率は97%であった。

平成10年度から平成14年度調査の間に、地研で病原体を取り扱う上での健康対策は若干改善されてきている。職員の取り扱う病原体に合わせてB型肝炎とともにその他の病原体についても実施し

表1. 追加設問(問題点)

- 定例人事異動により、技術の維持等に問題が生じる傾向にある。
 - 人的、予算的不足。
 - 感染症法施行の検査対象疾患の増加、バイオテロ、食中毒等、レジオネラ事件など突発的な事件事故、遺伝子学的解析の要求など作業量が増加に対し、増員もなく慢性的な人員不足と予算不足に陥っている。
 - 1つの事業に多くの担当で行うことの混乱。
 - 実験動物が必要な場合、緊急時に対応できない。
 - 現在問題は発生していないが、健康危機発生時の対応が危惧される。
 - 危機の更新がおくれ、故障が多い。
 - P3レベル実験室の未設置。
 - 一般部局との人事異動のため、人員確保ができない。
 - バイオセーフティ対策。
 - 人員減による危機管理対策の困難。
 - 新規採用停止による検査技術伝承問題。
 - 安全設備が不十分ため炭疽菌などP3レベルの検査が不可能。
 - 行政担当課と離れたため、検体搬入や事務連絡に時間がかかるなどの問題。
 - 危機を購入しても人員が足りず、十分活用できない。
 - 大規模食中毒や感染症が発生した場合、現行の人員では対応困難。
 - 施設の改修・新設ができないため、根本的なバイオハザード対策を実施できない。
- など・・・

ている施設が、抗体検査については9施設から12施設、ワクチン接種が5施設から15施設へと増加していることは、病原体を取り扱う上での職員の免疫状況の把握の重要性が認識されつつあることを示している。しかしながら、健康診断の実施率や大部分の施設で抗体検査やワクチン接種の対象がB型肝炎のみであることは変わらない。

病原体を取り扱う上での安全管理体制や教育訓練については、いずれの項目も前回調査時点より改善している。しかしながら、バイオテロの発生により病原体の管理が厳重になっているにもかかわらず、最も改善が見られた病原体取り扱い規則の有無についても、規則を持つ施設が73施設中40施設にとどまり、感染事故対応マニュアルを合わせ持つ施設はさらに限られている。改善されるべき問題がなお多く残されている。

問題点の自由記載では、人員や予算の増減などから、改善状況の遅れとともに施設間の格差も広がりがつあることが明らかである。検査対象疾患の増加、従来検査に加えて新しい解析方法の増加、緊急時の健康危機管理における作業量の増加に対し、わずかな人員では対応が困難であると危惧されることにつながっている。また地方行政組織の中での定期人事異動や人員削減により技術水準の維持等にも問題が生じる傾向みられ、さらに予算的な制約がバイオセーフティ対策における大きな障害となっている。これらの問題は、財政難ばかりでなく、厚生省通知等による地研の機能強化が示されているものの、地研の法的裏付けがないことが一因と考えられる。

これらの状況を改善するためには、各自治体を横断する施設間の協力体制の構築、「RI」のように予算根拠となる制度が必要である。また、多く

の地研がモデルとしてきた国立感染症研究所の病原体等安全管理規程(2)は、予算、人員のいずれからも地研で実施するには現実的ではないため、各地研の実態に合わせて準用できる規程のモデルも必要である。さらに、国立保健医療科学院(旧公衆衛生院)が実施する地研職員の卒後研修であるウイルス・細菌コースの様にバイオセーフティ対策の体系的な教育制度が望まれる。

平成11年の法律施行以来、新興・再興感染症対策、食中毒を含む感染症事象の広域化、大規模化、多様化、バイオテロの現実化など感染症を取り巻く状況は劇的に変化した。平成14年度の本調査実施以降もSARS、ウエストナイル熱の侵入監視、天然痘テロ対策などをはじめ感染症に関する様々な危機管理が叫ばれ、地研の保健衛生における科学的・技術的中核としての役割と責任はより重くなっている。この状況のなかで、地研におけるバイオセーフティ体制の確立は一つの機能強化でもあり、将来にわたっても重要である。

謝 辞

アンケートにご協力頂いた全国の地方衛生研究所関係者各位に深謝いたします。

参 考 文 献

1. 安藤秀二, 北村敬. 富山県衛生研究所年報(1999), 22, 122-127.
2. 国立感染症研究所. 国立感染症研究所病原体等安全管理規程(2003)

1980～2002年に富山県でヒトおよび河川から分離された サルモネラの薬剤耐性

磯部 順子 田中大祐 細呂木志保
清水美和子 香取幸治

Drug Resistance of Salmonella Isolated from Human and
River Water in Toyama Prefecture, 1980–2002

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

要 旨 1980年から2002年までの23年間に富山県内でヒトおよび河川から分離された主要な血清型のサルモネラについて、薬剤感受性試験を行い、以下の結果を得た。

1. 1980～2002年の23年間に富山県でヒトおよび河川から高頻度に分離された *Salmonella* Typhimurium, S.Paratyphi B, S.Enteritidis, S.Typhi, S.Infantis の薬剤耐性頻度はそれぞれ順に116/241株 (48.1%), 32/258株 (12.4%), 304/668株 (44.1%), 6/105株 (5.7%), 24/150株 (16.0%) であった。S.Typhimurium, S.Enteritidis および S.Infantis では耐性菌の頻度は2000～2002年の分離菌が1980～1999年の分離菌より高かったが、S.Typhi では23年間耐性を示す菌はほとんど認められなかった。S.Enteritidis では、分離数が増加した1989年から耐性菌が出現し、1989年～2002年の14年間における耐性菌の頻度はヒト由来で58.4%、河川由来で47.6%と高かった。
2. S.Typhimurium, S.Typhi および S.Infantis ではヒト由来と河川由来で耐性菌の頻度に大きな違いはみられなかった。それに対し S.Paratyphi B の耐性菌の頻度はヒト由来に比べ河川由来の方が低かった。また、S.Enteritidis の耐性菌の頻度は、23年間全体の平均ではヒト由来に比べ河川由来の方が低かったが、1989年以降の平均では由来による違いは見られなかった。
3. 薬剤耐性パターンは S.Typhimurium では37パターン認められ、ABPC, CP, KM, SM, TCの5薬剤耐性が最も多かった。S.Enteritidis では13パターン認められたが、その多くはSM単剤耐性であった。また、S.Paratyphi B では11パターン、S.Typhi では3パターン、S.Infantis では7パターン認められた。

厚生労働省食品保健部の食中毒統計 [1] によると、2001年に発生したサルモネラによる食中毒は、細菌性食中毒の第1位となっている。また、その患者数は2001年には全体の32%を占め、第2位の腸炎ビブリオのおよそ1.6倍と多い。このようにサルモネラは依然として公衆衛生上最も重要な食中毒原因菌の一つとなっている。われわれはこれまで富山県における環境のサルモネラ汚染とヒトのサルモネラ感染症との関連性等を調査してきた [2]。一方、近年 MRSA に代表されるように、多剤耐性菌の増加が医療の現場で問題となっており、サルモネラも例外ではない。そこで今回、サルモネラ腸炎の治療等に資するため、過去23年の間に富山県内で分離された菌株について薬剤感受性試験を実施した。結果について報告する。

調査定点および方法

1. 供試菌株

1980～2002年の間に、富山県内の医療機関および厚生センター（旧保健所）でヒトから分離され、衛生研究所に集められたサルモネラと、富山市内および高岡市内の河川から分離されたサルモネラの内、分離頻度の高い5血清型のサルモネラ *S.Typhimurium*, *S.Paratyphi B*, *S.Enteritidis*, *S.Typhi*, *S.Infantis*、計1,861株について薬剤感受性試験を実施した。これらの菌株の内、富山市内の河川由来菌は1980～2002年の間に既報 [3,4] のとおり分離され、高岡市内の河川由来菌は1989～2002年の5年間に高岡市の千保川、和田川、新祖父川、広谷川、地久子川の5河川で分離された。

2. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) の抗菌薬ディスク感受性実施基準に基づき、センシディスク (BBL) を用いて実施した。供試薬剤は Chloramphenicol (CP), Tetracycline (TC), Streptomycin (SM), Kanamycin (KM), Colistin (CL), Nalidixic 酸 (NA), Cephalothin (CF), Gentamicin (GM), Aminobenzyl penicillin (ABPC) の9薬剤である。

結果と考察

1980～2002年に富山県でヒトおよび河川から分離されたサルモネラの内、菌株数が多い5血清型 *S.Typhimurium*, *S.Paratyphi B*, *S.Enteritidis*, *S.Typhi*, *S.Infantis* について薬剤感受性を調べた結果を表1と図1-1～5に示した。表1ではヒトから分離された菌株は同一フォーカス（集団）分離菌の場合すべて掲載した。一方、図1-1～5は耐性菌の動向をより理解しやすくするため、表1を図で表したが、ここでは家族内感染を含む同一フォーカスからの分離菌を1株として示した。

まず耐性菌の頻度を血清型別に比較すると、*S.Typhimurium* で116/241株 (48.1%) と最も高く、次に *S.Enteritidis* の304/668株 (44.1%)、*S.Paratyphi B* の32/258株 (12.4%) の順に高かった。次に菌の分離時期を1980年代 (1980～1989年)、1990年代 (1990～1999年)、そして2000～2002年と大きく分けて耐性菌の頻度を年代別に比較すると、*S.Typhimurium*, *S.Enteritidis* および *S.Infantis* では2000～2002年の分離菌の方がそれ以前の分離菌より、耐性頻度は著しく高かった。*S.Enteritidis* について詳細をみると、1980から1988年までの1981年を除く9年間、耐性菌はほとんどみられなかった。しかし、全国的に分離数が増加した1989年から耐性菌がみられるようになり、1989～2002年の14年間に分離された *S.Enteritidis* の耐性頻度はヒト由来で平均58.4%、河川由来で47.6%に達した。ただし、1989から2002年を更に1989～1996年と1997～2002年に分けると、図1-3にみられるように耐性菌の頻度は前半の8年間は高い傾向であり、1997年以降はそれよりやや低い状態から高い状態へ推移する傾向であった。*S.Typhimurium* については、ヒト、河川由来ともに多くの年次で耐性菌が認められたが、分離数が減少してきた2000～2002年には耐性菌の頻度が90%と高かった。それに比べ、*S.Paratyphi B* では年次とともに分離株数、耐性株数が減少し、2000～2002年には菌は分離されなかった。また、*S.Infantis* の耐性菌の頻度はヒト、河川由来ともに年代を追うごとに高くなった。

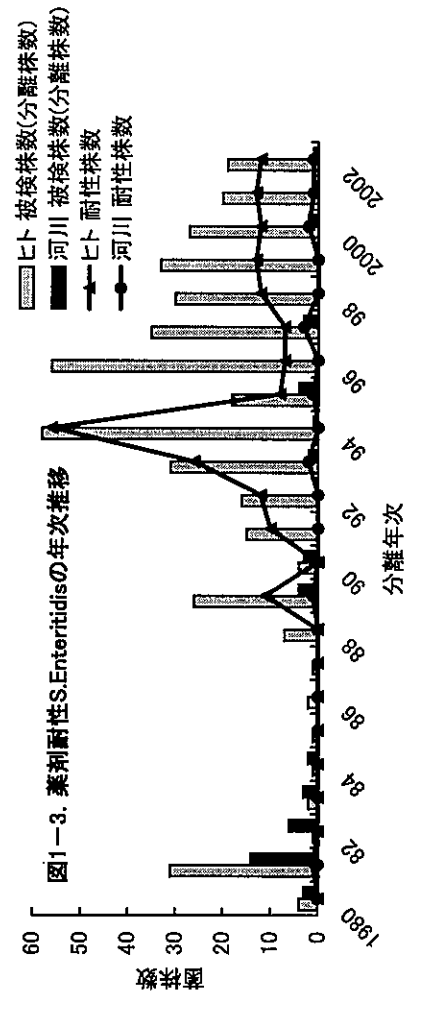
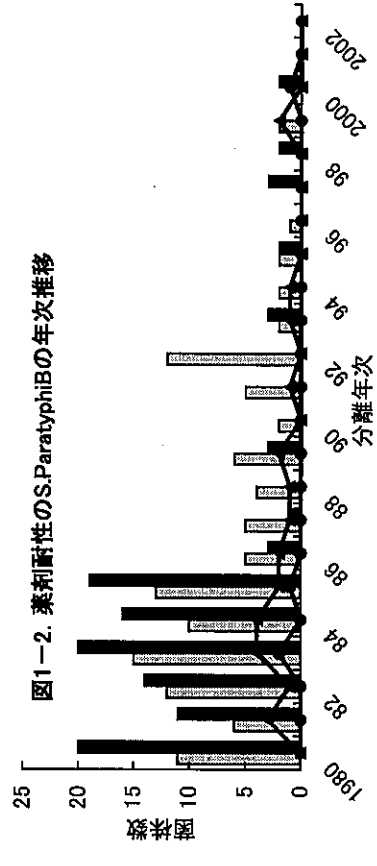
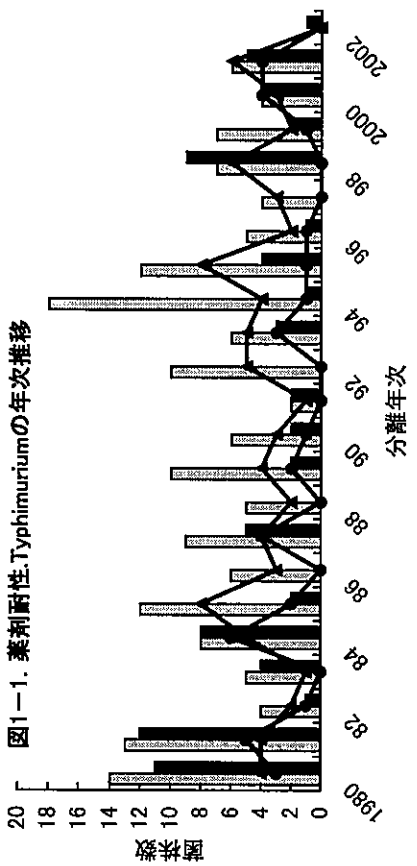
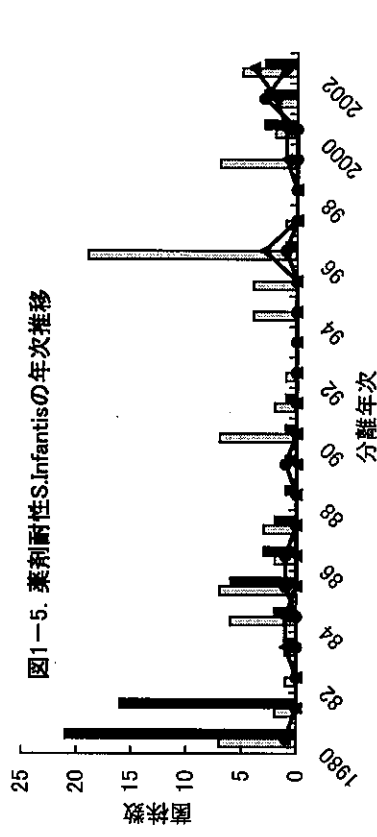
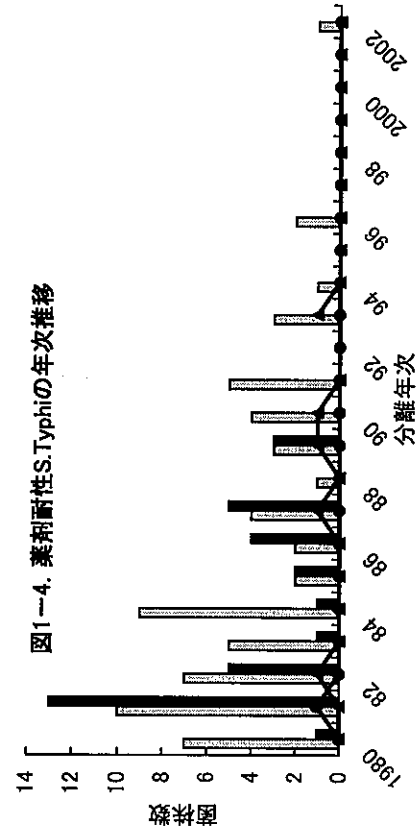
表1. ヒトおよび河川由来の主要血清型サルモネラの年次別薬剤耐性菌頻度

血清型名	年次	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	小計	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	小計	2000	2001	2002	小計	合計
ヒト由来	耐性菌株数 ⁰⁾	4	2	1	6	8	3	4	2	4	34	3	1	6	5	2	8	2	8	2	3	5	2	37	3	6	9	80
	分離菌株数 ²⁰⁾	13	4	5	8	12	6	9	5	10	72	7	2	13	6	18	9	4	4	3	8	80	4	6	0	10	162	
	耐性菌頻度(%)	30.8	50.0	20.0	75.0	66.7	50.0	44.4	40.0	47.2	42.9	50.0	46.2	83.3	11.1	88.9	50.0	75.0	55.6	25.0	46.3	75.0	100	100	100	90	49.4	
河川由来	耐性菌株数	0	5	1	0	6	2	0	4	0	2	20	0	0	0	3	1	1	1	1	0	0	1	7	4	4	1	9
	分離菌株数	11	12	1	4	8	2	0	5	0	2	45	2	2	0	3	1	4	1	0	9	2	24	4	5	1	10	78
	耐性菌頻度(%)	0	41.7	100.0	0.0	75.0	100.0	80.0	100.0	80.0	100.0	44.4	0.0	0.0	100.0	100.0	25.0	100.0	0.0	0.0	50.0	29.2	100.0	80	100	90.0	45.8	
ヒト由来	耐性菌株数	0	4	1	4	2	2	1	1	2	21	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	5	7	0	0	0	0	28
	分離菌株数	11	7	12	16	11	13	5	5	22	6	108	2	5	12	2	2	2	1	0	0	5	31	0	0	0	0	139
	耐性菌頻度(%)	0	57.1	8.3	25.0	36.4	15.4	40.0	20.0	4.5	33.3	19.4	0.0	20.0	0.0	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	22.5	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20.1
S.ParatyphiB由来	耐性菌株数	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	分離菌株数	20	11	14	20	16	19	3	1	0	3	107	0	0	0	0	3	0	2	0	3	2	0	10	0	0	0	117
	耐性菌頻度(%)	0	0	0	10.0	0	5.3	0	0	0	2.8	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.6
ヒト由来	耐性菌株数	0	1	0	0	0	0	0	0	0	10	11	0	10	13	35	135	8	7	14	21	250	12	16	11	39	300	
	分離菌株数	4	38	1	1	1	3	1	7	26	83	4	16	20	40	135	19	56	40	39	39	408	33	26	19	78	569	
	耐性菌頻度(%)	0	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	38.5	13.3	0.0	62.5	65.0	87.5	100.0	42.1	12.5	17.5	35.9	53.8	61.3	38.4	61.5	57.9	50.0	52.7
S.Enteritidis由来	耐性菌株数	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	2	1	1	10
	分離菌株数	3	15	6	3	2	0	0	0	4	33	3	0	2	1	4	0	3	0	3	0	0	0	13	2	1	1	4
	耐性菌頻度(%)	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	1.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	39.5	100.0	100.0	100.0	20.0
ヒト由来	耐性菌株数	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	5
	分離菌株数	7	10	9	5	9	2	3	4	1	3	53	5	3	0	3	1	0	2	0	0	0	16	0	0	1	1	70
	耐性菌頻度(%)	0.0	0.0	11.1	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	0.0	33.3	5.7	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.5	0.0	0.0	0.0	0.0	7.1
S.Typhi由来	耐性菌株数	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	分離菌株数	1	13	5	1	1	2	4	5	0	3	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35
	耐性菌頻度(%)	0.0	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.9
ヒト由来	耐性菌株数	1	0	0	1	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	1	5	1	2	4	7	15	
	分離菌株数	11	2	1	1	6	7	2	3	0	0	33	7	2	2	0	0	4	19	1	0	7	42	2	2	5	9	84
	耐性菌頻度(%)	9.1	0.0	0.0	100.0	16.7	0.0	0.0	0.0	8.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	15.8	0.0	14.3	11.9	50.0	100.0	80.0	77.8	17.9		
S.infantis由来	耐性菌株数	1	0	0	0	1	1	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	1	4	9
	分離菌株数	21	16	0	1	2	6	3	2	1	2	54	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	9	66
	耐性菌頻度(%)	4.8	0.0	0.0	0.0	16.7	33.3	0.0	0.0	50.0	7.4	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	33.3	0.0	100.0	33.3	44.4	13.0

1)薬剤に耐性を示した菌株数

2)分離株数

3)耐性株数/分離株数(百分率)



耐性菌の頻度を由来別にみると、S.Typhimuriumではヒト由来の場合1980年を除くすべての年で耐性菌が分離され、23年間に分離された菌の耐性頻度は11.1%~100%（平均49.4%）であった。また、河川由来の場合には、該菌が分離されなかった4年間を除く19年間に分離された菌の耐性頻度は平均45.6%で、由来による大きな違いはみられなかった。次にS.Enteritidisについてみると、23年間の間に分離されたヒト由来菌の耐性頻度は52.7%であるのに対して、河川由来菌の耐性頻度は20.0%と、ヒト由来で高かった。しかし、1989~2002年の14年間に限定すると、ヒト由来で58.4%、河川由来で47.6%と、由来による差は認められなかった。S.Paratyphi Bについてみると、耐性頻度はヒト由来に比べ河川由来で低く、その差は他の血清型に比べ大きかった。河川由来で耐性頻度が低い理由は不明である。S.Typhiについてはヒトおよび河川由来のいずれにおいても耐性菌はほとんど認められなかった。

表2にS.Typhimurium、S.Enteritidis、S.Paratyphi Bの耐性パターンを由来別、年代別に示した。この表中の耐性菌株数は図1と同様同一フォーカスの場合には1株のみ表示した。調べた5血清型のサルモネラにおいて耐性パターンは48通り認められた。S.Typhimuriumにおいては23年間に37通りの耐性パターンが認められたが、5~7種類の薬剤に耐性を示す菌株が33株と最も多かった。なかでもABPC、CP、KM、SM、TCの5剤耐性株が最も多かったが、さらにCL、NAを加えた合計7剤耐性菌も1株認められた。

分離株数が最も多かったS.Enteritidisについては13通りの耐性パターンが認められた。松下らの報告[5]と同様、何らかの薬剤に耐性を示した菌株のほとんど(206/211株, 97.6%)がSM単剤またはSMを含む2~5剤に耐性であった。SM耐性菌の多くはSM単剤耐性であったが、2000~2002年にはSM、TCの2剤耐性菌の増加がみられた。S.Paratyphi Bについては13通りの耐性パターンが認められた。多く(17/31株, 54.8%)は単剤耐性で、中でもTC単剤耐性が多かった。これらの結果は、血清型によりその耐性パター

ンに特徴があるとする金子[6]の報告を裏付けている。

近年、多剤耐性のMRSAやVREなどが医療の現場で問題になっている。サルモネラにおいてはファージ型 difintive type 104いわゆるDT104と呼ばれる多剤耐性のサルモネラが欧米で流行し、わが国でもDT104の分離菌数は1994年頃より増加している[7]。また、米国では市販のひき肉から分離されたサルモネラの内84%が1剤以上、53%が3剤以上の薬剤に耐性であったことやニューキノロン剤NFLXに高度耐性菌の分離が報告されている[8, 9]。本調査では、富山県内においてヒトから分離されるサルモネラの薬剤耐性菌の頻度は年次とともに高くなっていることが明らかになった。また、S.Typhimuriumでは高度(7剤)耐性菌が認められた。これらの事実は近年サルモネラに薬剤耐性菌が多くなっていることを示している。サルモネラ腸炎は食中毒の原因の1~2位を占める等、少なくない。耐性菌は治療において抗菌薬の選択に大きく影響することから、サルモネラの薬剤耐性の動向については、今後も監視し、治療に役立てる必要がある。

文 献

1. 厚生省生活衛生局食品保健課, 食品衛生研究(2002). 52, 117-203.
2. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 清水美和子, 香取幸治(2002), 富山衛研年報, 25, 103-110.
3. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 井山洋子(1996). 富山衛研年報, 19, 111-116.
4. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保(1998). 富山衛研年報, 21, 133-140.
5. 松下 秀, 河村真保, 高橋正樹, 横山敬子, 小西典子, 柳川義勢, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角 聖(2001). 感染症学雑誌, 75, 116-123.
6. 金子通治(1995). 感染症学雑誌, 69, 1294-1301.
7. 国立感染症研究所編, 病原微生物検出情報(2000). 8, 1-3.
8. David G.White, Shaohua Zhao, Robert Sudler,

平成15年10月1日

Sherry Ayers, Sharon Friedman, Sheng Chen, Patrick F. McDermott, Shawn McDermott, David D.Wagner and Jianghong Meng(1981). The New England Journal of Medicine, 345, 18, 1147-1154.

9. 松下 秀, 小西典子, 有松真保, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角 聖, 森田耕司, 金森政人, 工藤泰雄 (2000). 感染症学雑誌, 74, 345-352.

溶血レンサ球菌感染症流行予測調査

田中大祐	香取幸治	細呂木志保
磯部順子	木全恵子	刑部陽宅
永井美之	田中桂子 ¹	田中有易知 ²

Epidemiological Surveillance of Hemolytic Streptococcal Infections in Toyama Prefecture

Daisuke TANAKA, Koji KATORI, Shiho HOSOROGI,
Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Yotaku GYOBU,
Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA¹ and Yuichi TANAKA²

要旨 溶血レンサ球菌感染症流行予測を目的として、富山県内で分離された患者由来溶血レンサ球菌の血清型および保育所園児の本菌保菌状況を調べた。その結果、以下の成績を得た。

1. 2002年(平成14年)に県内2病院において患者から分離された溶血レンサ球菌はA群97株、B群183株であった。A群で検出率が高いT型は、順にT3型(31株, 32.0%), T4型(20株, 20.6%), T25型(17株, 17.5%), T1型(10株, 10.3%)であった。前年と比較して、T3型とT25型が増加し、T1型、T12型、T28型、TB3264型が減少していた。また、B群で検出率が高い型は、順にNT6型(76株, 41.5%), JM9型(28株, 15.3%), Ib型(22株, 12.0%), V型(16株, 8.7%)であった。

2. 2003年1月に富山県内の東西2ヶ所(黒部市、小矢部市)の保育所の園児を対象に、咽頭溶血レンサ球菌保菌状況を調べた。黒部市の保育所では45名中9名(20.0%)が菌陽性であった。9名から検出された9株の内訳は、A群6株(T1型2株、T22型2株、T型別不能2株)、C群1株、G群2株であった。一方、小矢部市の保育所では40名中1名(2.5%)が菌陽性で、検出菌はA群T型別不能であった。

富山県では、1993年(平成5年)に、一福祉施設で溶血レンサ球菌(溶連菌)による感染症の流行があった[1]。このような溶連菌による感染症の流行を事前に予測し、未然に防いだり、流行の拡大を阻止することを目的として、患者から分離された溶連菌について血清型を調べるとともに、

保育所園児の保菌状況調査を行ってきた。ここでは、平成14年度に行った調査結果を報告する。

1. 新川厚生センター 2. 砺波厚生センター

I 患者由来株の血清型調査

材料と方法

被検菌は富山県内2か所の公立病院で患者から分離された溶連菌を用いた。A群のT型別およびB群の型別は、それぞれの型別用抗血清（デンカ生研）を用いてスライド凝集反応により行なった。

結果および考察

2002年に分離されたA群97株のT型別結果をTable 1に示した。検出率が高いT型は、T3型(31株, 32.0%), T4型(20株, 20.6%), T25型(17株, 17.5%); T1型(10株, 10.3%)の順であった。菌分離は1~3月に多かった。

1990~2002年の13年間に分離されたA群1258株のT型別分布をTable 2に示した。検出率が高いT型は、順にT12型(249株, 19.8%), T1型(206株, 16.4%), T4型(201株, 16.0%), T3型(106株, 8.4%), T28型(94株, 7.5%)であった。また、T1型, T4型, T12型, T28型, TB3264型の菌は10年以上連続して検出されたが、T2型, T3型, T6型, T25型の菌の検出は年次による変動が大きかった。このようなT型による菌分離頻度の年次変動は、全国集計でも報告されている[2]。2002年は前年と比較して、特にT3型とT25型が増加し、T1型, T12型, T28型, TB3264型が減少していた。T3型とT25型の菌による患者が県内で増加していたと思われる。

2002年に分離されたB群183株の型別結果をTable 3に示した。検出率が高い型は、NT6型76株(41.5%), JM9型28株(15.3%), Ib型22株(12.0%), V型16株(8.7%)であった。

Table 1. Monthly Distribution of T Types of Clinical Group A Streptococci in 2002

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1	3	1	2	1			1	1	1				10	10.3
T-2	1												1	1.0
T-3	3		11	2	4	3	1		3	1	1	2	31	32.0
T-4	5	4	1		1	5	1			1	2		20	20.6
T-6				1									1	1.0
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11													0	0.0
T-12	1	1					3						5	5.2
T-13	1		1										2	2.1
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25	2	3		4	2			2			1	3	17	17.5
T-28		1	1			1							3	3.1
T-B3264		3					1						4	4.1
T-Imp. 19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypeable											2	1	3	3.1
Total	16	13	16	8	7	9	7	3	4	2	6	6	97	100.0

Table 2. T Type Distribution of Clinical Group A Streptococci between 1990 and 2002

Year	T type														28 B3264	Imp. 19	5/27/44	14/49	UT**	Total
	1	2	3	4	6	8	9	11	12	13	18	22	23	25						
1990	14*		1	26	8				3	22	1			16	3			23	118	
1991	20			20		1	3	4	51	1				12	15			9	138	
1992	21		14	19		1	2	2	6	3	4			4	15		2	13	102	
1993	18		21	18		2	1	2	14					6	6			9	97	
1994	12		17	14		1		1	34		2			7	3			6	97	
1995	8		12	19				1	9					5	3			4	61	
1996	7	31	2	4			1	2	11	1				5	7			8	79	
1997	32	18		4	9		2	2	15	1			2	9	2			6	100	
1998	9	13	1	10	22				25	1			3	5	1			5	95	
1999	5	4		3	3		1	1	28	2			3	5	3			3	58	
2000	18	1		9					17	4			7	8	10			3	77	
2001	32	2	7	35	1	1	3	2	12		1	1	11	9	11		3	8	139	
2002	10	1	31	20	1				5	2			17	3	4			3	97	
Total	206	71	106	201	44	6	10	19	249	15	8	1	0	43	83	0	3	2	1258	
*No. of Isolates																				
**Untypeable																				
16.4% 5.6% 8.4% 16.0% 3.5% 0.5% 0.8% 1.5% 19.8% 1.2% 0.6% 0.1% 0.0% 3.4% 7.5% 6.6% 0.0% 0.2% 0.2% 7.7% 100.0%																				

Table 3. Monthly Distribution of Types of Clinical Group B Streptococci in 2002

Type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a		1	1			2	1	2	1	1	2	1	12	6.6
I b	2			3	4	1	1	3	1	3		4	22	12.0
II	1		1					2					4	2.2
III	1	1	1	2	1	2		1	2	1	1		13	7.1
IV													0	0.0
V	1	3	4	1	3	1		1		1	1		16	8.7
NT6	5	8	8	3	3	3	9	7	5	3	11	11	76	41.5
JM9	2	1	3	2	1	4	3	1	4	4	2	1	28	15.3
7271					1		1						2	1.1
Untypeable		1				2	2			1	3	1	10	5.5
Total	12	15	18	11	13	15	17	17	13	14	20	18	183	100.0

II 保育所園児における保菌状況調査

調査対象および検査方法

調査は県内の東西2ヶ所の保育所で行った。県東部の黒部市M保育所では、平成15年1月21日に、2～6歳の園児45名を、県西部の小矢部市T保育所では、平成15年1月23日に、3～6歳の園児40名を保護者から承諾を得て対象とした。園児の咽頭両側をぬぐった綿棒は血液寒天平板へ直接塗抹した後、SEB培地に投入した。直接塗抹した血液寒天平板は37℃で一夜培養した後、溶血コロニーを釣菌し、常法[3]に従い溶連菌の検査を行った。群別はストレプトLA「生研」(デンカ生研)を用いた感作ラテックス凝集反応にて行い、A群のT型別及びB群の型別は患者由来株の調査と同様に行った。SEB培地は37℃で一夜増菌培養後、その一白金耳を血液寒天平板に塗抹した。その後は直接塗抹の場合と同様に検査を行った。

結果および考察

平成14年度の調査における保育所の園児の溶連菌保菌状況をTable 4に示した。黒部市内の保

育所の園児では45名中9名(20.0%)が菌陽性であった。この保菌率は例年と比較してやや高かった。検出菌9株の型別結果は、A群6株(T1型2株、T22型2株、T型別不能2株)、C群1株、G群2株と様々であった。年齢別では、5歳と6歳の児童からの検出率が高かった。菌陽性者のうち感冒様症状を示していたのはわずか1名で、他は無症状であった。

小矢部市の保育所では40名中1名(2.5%)のみが菌陽性で、検出菌はA群T型別不能であった。菌陽性者に、感冒様症状は認められなかった。

今年度の調査では、保育所園児から分離されたA群溶連菌のT型はT1、T22、T型別不能であり、その中で患者由来株で検出率が高かったT型と同じものはT1型の2株のみであった。患者由来株と保育所園児由来株の菌型に密接な関連は認められず、患者由来株では検出率が低いT22型やT型別不能の菌を健康な保育所園児が潜在的に保菌していた。患者および健康者の両面から調査を継続することによって、溶連菌による感染症流行の背景についての知見が得られると考えられる。

謝辞：本調査にご協力頂いた病院、保育所の関係各位に感謝いたします。

Table 4. Isolation of Hemolytic Streptococci from Throat swabs of children

Place of nursery schools	Age (yr)	No. of children examined	Positive		serogroup and serotype of isolates		No. of isolates
			No.	%			
Kurobe	2	3	0	0.0			0
	3	19	2	10.5	C		1
					G		1
	5	6	2	33.3	A	T22	1
					G		1
	6	17	5	29.4	A	T1	2
					A	T22	1
				A	TUT*	2	
	Subtotal	45	9	20.0			9
Oyabe	3	8	0	0.0			0
	4	15	1	6.7	A	TUT*	1
	5	16	0	0.0			0
	6	1	0	0.0			0
	Subtotal	40	1	2.5			1
Total		85	10	11.8			10

*T untypeable

文 献

1. 刑部陽宅, 田中大祐, 細呂木志保, 磯部順子, 井山洋子, 児玉博英, 南部厚子, 小川寿人, 平田久美子, 飯田恭子(1993). 富山衛研年報, 212-214.
2. 国立感染症研究所編 (2000). 病原微生物検出情報月報, 21巻11号, 240-241.
3. 日本公衆衛生協会編 (1987). 微生物検査必携 細菌・真菌検査 第3版, F2~F30

高圧注入法—GC/MSによる、海水中の 低濃度有機スズ化合物の検出

大浦 徹 大戸 幹也 松永 明信

Detection of Organotin Compounds in Seawater
by a High-pressure Injection GC/MS System

Takashi OHURA, Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA

要 旨 有機スズ化合物は1960年代から船底塗料,あるいは漁網の防汚剤として使用されてきた。しかし,1980年代になると有機スズ化合物が沿岸海域をひろく汚染し,ある種の生物に対してホルモン様作用を有することも指摘されている。

一般に,内分泌攪乱物質は極めて低濃度でその作用を現すことから,脱塩や濃縮操作を加えて直接利用することが考えられる海洋深層水についても,簡易で高感度な分析法を開発することが重要である。

今回,海水を直接エチル化した後,GC/MSに高圧注入し,TBT,TPTを0.03ng/lのオーダーで検出する検査法について検討したので報告する。

有機スズ化合物は1960年代から船底塗料,あるいは漁網の防汚剤として使用されてきた。しかし,1980年代になると有機スズ化合物が沿岸海域をひろく汚染し水生生物に蓄積されていることが世界的に確認された。また,有機スズ化合物はある種の生物に対してホルモン様作用を有することも指摘された。これらを背景として,1990年「化学物質の審査および製造に関する法律」(化審法)において,トリブチルスズオキシド(TBTO)が第1種特定化学物質,TBT13種類とトリフェニルスズ(TPT)7種類が第2種特定化学物質に指定された。その後,各種船舶,漁網等への使用自粛により,環境中の有機スズ化合物濃度が緩やかに低下していることが報告されている。しかし,内分泌攪乱作用は極めて低濃度で出現することから,脱塩や濃縮操作を加えて利用することが考えられる海洋深層水を対象として,簡易で高感度の分析

法を検討することは極めて重要である。

環境水中の有機スズ化合物の分析法については,環境庁のマニュアルに示された,サロゲートを加えてヘキサンで抽出し,臭化プロピルマグネシウムでプロピル化してGCまたはGC/MSで測定する方法[1]。試料をpH5に調製し,テトラエチルホウ素ナトリウムで直接エチル化し,GC/MSで測定する岩村らの方法[2],エチル化後,PTVを装備したGCで大量の試料溶液を注入し,各成分を分離した後,ICP/MSで測定し高感度化する方法[3]などがある。今回,直接エチル化後,GC/MSに高圧注入して高感度化する方法を検討したので報告する。

材料及び実験方法

1. 試薬

標準物質：トリブチルスズクロリドはアルドリッチ製を，トリフェニルスズクロリドは関東化学製を使用した。

内部標準物質：トリブチルスズ-d27，トリフェニルスズクロリド-d15は林純薬製を使用した。

ヘキサン，アセトン，メタノールは和光純薬の残留農薬分析用を用いた。

水はRO膜，イオン交換により精製した18 MΩ/cm²の超純水を用いた。

2. 標準溶液の調製

各標準品10mgを秤とり，ヘキサン100mlに溶かして100μg/mlの標準原液を調製した。各標準原液から1mlを正確に分取し，メタノール25mlに溶かし，4μg/mlの混合標準液を調製した。用時メタノールで希釈し，0.1μg/mlとして用いた。

内部標準溶液も同様に，操作して混合内部標準溶液を調製した。検量線作成用に，メタノールで希釈して0.1μg/mlに，また，試料溶液の調製には5ng/mlとして用いた。

3. GC/MS装置及び分析条件

GC・MS；島津製 QP-5050AにオートインジェクタAOC-20iを接続して用いた。

カラム；DB-5ms φ 0.25mm×30m

膜厚 0.25 μm

カラム温度；

初期温度60°C (2min) - (20°C/min) - 130°C - (10°C/min) - 280°C(2min)

注入口温度； 280°C

インターフェース温度； 280°C

キャリアーガス； He 1.6ml/min

注入モード；スプリットレス高圧注入

350kPa 1min

注入量； 6μl

定量，確認に用いた質量数はリテンションタイムとともに Table 1. に示した。

Table 1. Ions used for quantification and confirmation

	Rt	M/Z	
		quantification	confirmation
TBT	10.87	255.10	253.10 251.11
TPT	21.48	351.15	349.15 247.16
TBT-d27	10.66	318.40	316.40
TPT-d15	21.21	366.30	364.30

5. 試験溶液の調製

岩村らの方法に準じて行った。すなわち，海水1Lを分液ロートにとり，酢酸バッファー2ml，内部標準液0.4mlを加え，さらに，1%テトラエチルホウ素ナトリウム溶液1mlを加え，攪拌して10分静置した。ヘキサン100ml，50mlで抽出し，抽出液はロータリエバポレータを用い，35°C以下で約5mlに濃縮した。さらに小型試験管に移し，窒素ガスで0.2mlに濃縮して試料とした。

6. 検量線の作成

検量線作成標準溶液は，次により調製した。3%食塩水50mlを100ml比色管にとり，混合標準液を段階的に加え，100ng/ml混合内部標準液0.5ml加えた。さらに，酢酸バッファー1ml，1%テトラエチルホウ素ナトリウム溶液0.5mlを加え，ヘキサン10mlで10分間震とう抽出した。この溶液6μlを注入し，各々の安定同位体を内部標準として検量線を作成した。検量線は Fig 1. に示した。SN比を5として，定量限界は0.03ng/lとした。

結果と考察

<試験溶液の調製>

環境庁の方法等では環境水のTBT，TPTを分析する場合，ヘキサン抽出液を濃縮後，フロリジルカラムで精製を行っているが，今回，比較的きれいな深層水，あるいは沖合の海水を対象にする

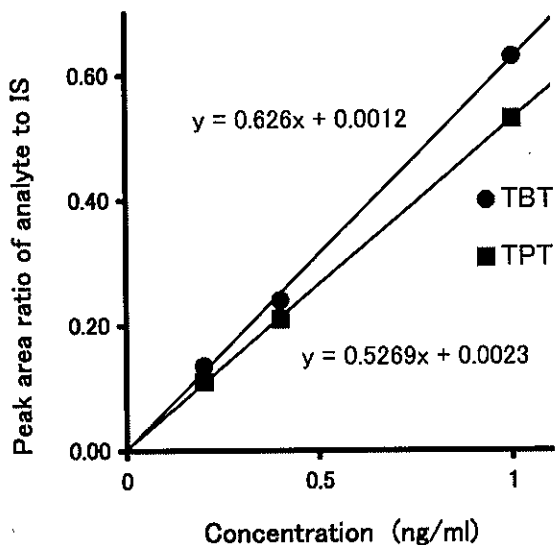


Fig 1. Calibration curves of TBT and TPT

ことから、フロリジルカラムを省略することで迅速化が可能と考え省略について検討した。滑川沖で採水した表層海水を用いて検討した結果、GC/MS法から得られたTIC, SIMともにクロマトグラム上での差は認められなかった。以後、フロリジルカラムによる精製を省くこととした。

<GC高圧注入の検討>

高圧注入法は、主にスプリットレス注入法において、試料の気化体積を小さくし、注入量を増大させるために試料注入時の一定時間カラム入り口圧力を分析中より高くする方法である。

今回、この方法を採用するためオートサンプラーと高圧注入法の再現性について検討した。4 ng/mlの標準液を用い、通常の注入量1μlから順次注入量を増やして注入可能な試料の量を検討した。注入量6μlまでは良好であったが、8μlを超えるとクロマトグラム上にリーディングの現象が顕著になったので、注入量を6μlとした。6μl注入時における再現性は5回連続注入におけるSDはTBTにおいて0.08, TPTにおいて0.07と良好な結果であった。

<添加回収試験>

超純水1lに食塩30gを溶かした擬似海水を用いてTBT, TPT各々, 5ng/l, 1ng/l, 0.1ng/lの添加回収試験を各々5回行った。結果はTable 2.

に示した。

Table 2. Recovery of TBT and TPT

	Added (ng/l)	Found (ng)	Recovery	SD
TBT	5.0	4.63	92.7%	0.106
	1.0	1.20	119.6%	0.069
	0.1	0.12	115.0%	0.080
TPT	5.0	4.80	96.1%	0.140
	1.0	1.22	122.4%	0.060
	0.1	0.12	121.8%	0.035

n=5 : using artificial seawater

0.1ng/l添加においてTBTが115%, TPTが121%とほぼ満足できる結果であった。また, SDにおいても0.08, 0.035と良好な結果であった。

4. 実試料への適用

本県、滑川市沖で採水した海水4件について本法を適用した結果は、TBTは0.25~0.50ng/l, TPT nd~0.06ng/lであった。池田らの行った調査結果[4]と近い値であった。

文 献

1. 環境庁水質保全局編 「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」
2. 岩村幸美, 門上希和夫, 陣矢大助, 花田喜文, 鈴木學, (1999). BUNSEKI KAGAKU Vol.48, No.6, 555-561
3. Hiroaki, T., Akira, M., (2001). J. Environ. Monitoring, Vol.3, 627-634
4. 池田久美子, 南卓志, 山田久, 小山次朗 (2002). 環境科学, Vol.11, No.1, 105-114

女子中学生の骨密度と骨代謝指標についての 1年後の追跡調査

堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子
長瀬博文 荒谷哲雄 山上孝司¹

A One-year Follow-up Study on the Bone Mineral Density
and Bone Metabolic Markers in Junior High School Girls

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA,
Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI¹

要旨 中学2年生女子の橈骨骨密度を1年間追跡調査し、骨密度変化と関連する要因を検討し、以下の結果を得た。

1. 中学2年生女子の橈骨骨密度は1年間で有意に増加した。
2. 初経後1年以上群では初経後の経過年数が短いもので骨密度の増加率が高かった。
3. 骨密度変化率と体格との関連では、初経後1年未満群では身長変化率と負の、1年以上群では体重変化率と正の相関を示した。このことから、初経発来直後は骨密度の増加は身長伸びが多いもので停滞し、初経1年後以上では成長に伴って骨密度が増加すると考えられた。
4. 初回時の骨代謝指標と骨密度変化率との関連では、初経後1年以上群において骨形成指標のオステオカルシン、骨吸収指標のヒドロキシプロリン、ピリジノリン、I型コラーゲン架橋N-テロペプチドが骨密度変化率と正の相関を示し、骨代謝指標は骨密度増加の指標となる可能性が示唆された。
5. 骨密度変化率を初回時の生活習慣別で比較したところ、通学時間と関連があり、徒歩通学15分以上群では自転車通学群、徒歩通学15分未満群よりも骨密度の増加率が有意に高く、歩行のような軽い運動であっても毎日実施することが骨密度の増加にとって有効であると考えられた。

骨粗鬆症は閉経後の女性に多く発生する疾患であるが、その予防には、成長期の骨量獲得時期に最大骨量をより高くしておくことが重要である。そこで我々は、成長期の骨量増加に寄与する要因を明らかにすることを目的に、県内女子中学生を

対象に発育や日常生活の状況、さらに生活習慣の変化が骨密度および骨代謝に及ぼす影響についての調査を行っている。今回は中学2年生から3年生にかけての1年間の骨密度変化とそれに関連する要因について解析を行った。

1. 北陸予防医学協会

対象および方法

対象者は富山県内の3校の中学2年生女子である。これらについて中学2年生時に初回調査を実施し、1年後の中学3年生時に追跡調査を実施した。

調査内容は初回時、1年後ともに、骨密度および骨代謝指標の測定、身体計測、生活習慣についてのアンケート調査、歩数測定を実施した。骨代謝指標は初回時は骨形成指標として、血清中の骨型アルカリファスファターゼ (BAP)、インタクトオステオカルシン (OC)、 γ カルボキシグルタミン酸残基含有オステオカルシン (GlaOC)、骨吸収指標として早朝尿中のI型コラーゲン架橋N-テロペプチド (NTX)、ピリジノリン (PYD)、デオキシピリジノリン (DPD)、ヒドロキシプロリン (Hyp) を測定し、1年後はBAP, PYD, DPD, Hyp を測定した。各項目の測定方法およびアンケートの詳細は前報 [1] に記した。また1年後は、1年間の運動習慣およびカルシウムを含む食品の摂取習慣の変化についてのアンケート調査を追加した。骨密度、身長、体重、骨代謝指標の1年間の変化率は(初回時-1年後)/初回時値 $\times 100$ として求めた。

対象者には事前に本調査についての説明を文書により行い、受診者と保護者から承諾書を得た。

解析にあたっては、骨密度および骨代謝指標の測定、アンケート調査を初回時、1年後ともに実

施できたもののうち、1年以内に骨折経験があるものと骨代謝に影響を与えるような疾患のあるものを除いた133名を対象とした。

統計的検定は、平均値にはt検定または一元配置分散分析によって行い、多重比較はBonferroniの方法を用いた。相関の検討にはPearsonの相関係数を用いた。

結 果

対象者の体格、骨密度、骨代謝指標測定値について

表1に身長、体重、骨密度、骨代謝指標測定値の中学2年生時(以下初回時)、中学3年生時(1年後)の値およびそれらの変化率を示した。1年後は身長、体重、骨密度ともに有意に高値を示した。骨密度変化率は平均で7.2% (0.026g/cm²)、最低-10.7%、最高29.0%であった(図1)。骨代謝指標は骨形成、骨吸収の両指標ともに初回時に比べて1年後は低下した。

骨密度変化率と初経、体格、骨代謝指標、生活習慣との関係

初回時の初経発来後の経過年数(以下初経後年数)と骨密度変化率との間には $r=-0.169$ ($p<0.1$)の負の傾向がみられた。さらに初経後年数別でみると、初経後年数が1年未満のものを除いた初経後1年以上群において $r=-0.193$ ($n=119$, $p<0.05$)

表1 初回時、1年後の身長、体重、骨密度、骨代謝指標とその変化率

	人数	初回時		1年後		初回時と 1年後の比較	変化率(%)	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差		平均	標準偏差
身長 (cm)	133	157.1	± 5.0	158.2	± 5.1	$p<0.001$	0.7	± 0.5
体重 (kg)	133	49.4	± 6.9	52.4	± 7.2	$p<0.001$	6.1	± 5.0
骨密度 (g/cm ²)	133	0.364	± 0.050	0.390	± 0.052	$p<0.001$	7.2	± 5.9
BAP (BLU)	133	3.2	± 1.4	2.2	± 0.8	$p<0.001$	-28.7	± 12.6
OC (ng/ml)	132	35.3	15.8	—	—	—	—	—
GlaOC (ng/ml)	132	10.2	4.3	—	—	—	—	—
NTX [#] (nM BCE/mMCr)	133	134.0	(1.91)	—	—	—	—	—
PYD [#] (nmol/mmolCr)	133	67.5	(1.43)	48.6	(1.35)	$p<0.001$	-26.2	± 15.7
DPD [#] (nmol/mmolCr)	133	12.2	(1.54)	9.1	(1.42)	$p<0.001$	-23.1	± 19.5
Hyp [#] (mg/gCr)	133	80.9	(1.50)	64.3	(1.42)	$p<0.001$	-18.1	± 21.3

幾何平均と幾何標準偏差

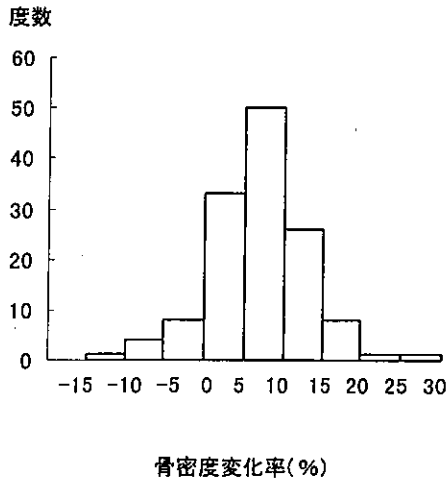


図1 骨密度変化率の度数分布

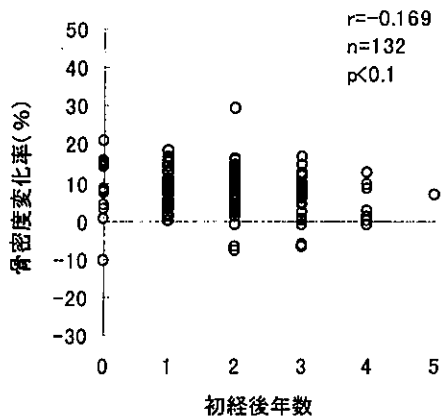


図2 初経後年数と骨密度変化率との関係

と有意な負の相関があった(図2)。

初回時の身長、体重およびそれらの変化率と骨密度変化率との関連を検討した。初回時の身長、体重とは関連がみられなかった(表なし)。変化率との間では(表2)、体重変化率が骨密度変化率と正の相関を示した。先に骨密度変化率は初経後年数との関連がみられたため初経後年数別でみると、初経後1年未満群と1年以上群で異なった関連がみられ、初経後1年未満群では身長変化率が骨密度変化率と有意な負の相関を示した($r = -0.798, p < 0.001$)。一方、1年以上群では体重変化率が正の相関を示し($r = 0.241, p < 0.05$)、身長変化率とは有意ではないものの正の傾向を示した。1年以上群では体重が12.3kg(24.2%)減少したものが1名いたが、それを除いても骨密度変化率と体重増加率には有意な正相関があった($r = 0.198, p < 0.05$)。

初回時の骨代謝指標と骨密度変化率との関連を検討したところ(表3)、全体ではOC、NTX、Hypと正の相関があった。初経後年数別では、初経後1年未満群ではBAPが骨密度変化率と負の、1年以上群ではOC、NTX、PYD、Hypが正の有意な相関を示した。骨代謝指標の変化率と骨密度変化率には有意な関連はみられなかった(表なし)。

表2 骨密度変化率と体格変化率との相関

	全体(133人)	初経後年数	
		1年未満(14人)	1年以上(119人)
	r	r	r
身長変化率	-0.01	-0.80 p<0.001	0.16 p<0.1
体重変化率	0.24 p<0.01	0.30	0.24 p<0.01

表3 骨密度変化率と初回時の骨代謝指標との相関

	人数	全体		初経後年数		1年以上	
		人数	r	人数	r	人数	r
BAP	133	0.00	ns	14	-0.60 p<0.05	119	0.15 ns
OC	132	0.21	p<0.05	14	0.22 ns	118	0.21 p<0.05
GlaOC	132	0.00	ns	14	-0.52 p<0.1	118	0.13 ns
NTX	133	0.21	p<0.05	14	-0.08 ns	119	0.26 p<0.01
PYD	133	0.13	ns	14	-0.53 p<0.1	119	0.20 p<0.05
DPD	133	0.12	ns	14	-0.46 ns	119	0.18 p<0.1
Hyp	133	0.19	p<0.05	14	-0.40 ns	119	0.28 p<0.01

対象者の初回時の各生活習慣要因別に骨密度変化率を比較した(表4)。月経の状況、ダイエットの有無別では骨密度変化率に差はみられなかった。睡眠時間の違いで骨密度変化率に差がみられたが、各群間では有意な差はみられなかった。運動との関連では、現在の運動クラブ実施回数、普段の活動性、1日平均歩数の違いで骨密度変化率に差はなかったが、現在の通学方法で差がみられ、徒歩通学で15分以上群の骨密度増加率が有意に高かった。次に牛乳摂取頻度、納豆摂取頻度、食品摂取頻度数、食習慣点数別で骨密度変化率を比較したが差はなかった(表5)。

さらにアンケートで初回時から1年間の運動や栄養摂取習慣の変化の有無を調査したところ、体を動かすようになったものは19人、カルシウムを含む食品を摂るようになったものは20人、その内、両方するようになったものは7人であった。変化

の有無別で骨密度変化率を比較したが差はみられなかった。

考 察

成長期における骨密度の獲得に関連する要因を明らかにすることを目的に、女子中学生を対象とした追跡調査を行っている。1年間の追跡では、骨密度の平均値は有意に増加し、中学2年生ではまだ最大骨密度に達していないと考えられた。個々の値をみると、骨密度が初回時に比べて減少したものが13名みられた。その中には体重が12.3kgも減少したものがみられ、骨密度減少者には何らかの問題点があるのかもしれない。今後これらの骨密度がさらに減少傾向を示すのか、その推移を調査する必要があると思われる。

表4 月経状況および身体活動状況別骨密度変化率

項目	カテゴリー	人数	平均	標準偏差	
生理	毎月ある	106	7.2 ± 5.9		
	2ヶ月に1回以下	11	7.0 ± 3.7	ns	
ダイエットをしたことがあるか	ある	21	7.2 ± 5.1		
	ない	112	7.2 ± 6.1	ns	
睡眠時間	7時間未満	20	10.2 ± 6.7		
	7時間以上8時間未満	72	6.9 ± 5.1		
	8時間以上	41	6.3 ± 6.6	p<0.05	
テレビまたはテレビゲームの時間	2時間未満	11	7.9 ± 3.9		
	2時間以上3時間未満	34	7.7 ± 5.7		
	3時間以上4時間未満	44	6.0 ± 5.5		
	4時間以上	43	7.8 ± 7.0	ns	
現在運動クラブ回数	0回	39	7.4 ± 6.6		
	週に7回未満	34	7.5 ± 5.3		
	週に7回以上	53	7.3 ± 5.7	ns	
ふだん体をよく動かすか	よく動かす	85	6.9 ± 5.7		
	あまり動かさない	47	7.8 ± 6.4	ns	
体を動かすことが好きか	すき	115	7.4 ± 6.1		
	きらい	18	6.0 ± 5.2	ns	
1日平均歩数	1万歩未満	12	4.5 ± 6.0		
	1万歩以上2万歩未満	78	7.3 ± 6.0		
	2万歩以上	43	7.8 ± 5.7	ns	
現在通学方法、時間	自転車	104	6.7 ± 5.5		
	徒歩 15分未満	8	4.6 ± 7.7	* * p<0.05	
	徒歩 15分以上	16	11.2 ± 4.1		

ns 有意差なし
* p<0.05

骨密度変化率と初経との関係では、初経後の年数が短いもので骨密度の増加率が高い傾向があり、初経発来直後の初経後1年未満を除くと有意な負の相関があった。初回時調査では初経後年数が短いもので骨密度が低かったことから、そのようなものの増加率が高かったと考えられる。

体格については、初経後年数1年未満群では身長変化率と骨密度変化率に負の相関があった。高橋らは、10歳代の男女における骨強度と年間成長率の年齢変化について、身長の成長率が急増し、骨強度の増加が停滞する時期があると述べている[2]。1年未満群は1年間の身長の伸びが平均2.3cm(1.1~4.3cm)と1年以上群(平均0.9cm)に比べ大きく、身長の伸びが多かったものでは骨密度増加が停滞したと推測される。一方、1年以

上群では骨密度は体重や身長増加と正相関し、体の成長とともに増加すると考えられる。

骨代謝指標は将来の骨密度変化を予測できる可能性があるといわれ、中高年女性について検討されているが[3][4]、若年者についての報告は少ない。今回骨代謝指標と1年間の骨密度変化率との関連を検討した結果では、初経後1年未満群では骨密度変化率と負の、1年以上群では正の相関を示した。また、骨代謝指標はその後の身長の伸びと正の相関を示すことをこれまでに報告しており[5]、今回の対象者でも1年未満群、以上群ともに骨代謝指標は身長変化率と正の相関があった。1年未満群では骨代謝指標が高かったものは身長が大きく伸びたが、先に述べたように身長が伸びたものは骨密度の増加が停滞し、そのために骨代

表5 食品摂取頻度および食習慣別骨密度変化率

項目	カテゴリー	人数	平均	標準偏差
現在の1日牛乳摂取量	200ml未満	6	11.2	± 3.2
	200ml以上400ml未満	64	7.5	± 6.1
	400ml以上600ml未満	41	6.4	± 5.9
	600ml以上	22	6.8	± 6.0 ns
納豆摂取	週に1回以上	13	5.1	± 4.9
	月に1回以上	71	7.2	± 6.5
	ほとんど食べない	48	7.7	± 5.3 ns
食品摂取頻度点数 ¹	4~6	19	9.4	± 4.1
	7~9	93	6.9	± 6.3
	10~12	20	6.3	± 5.5 ns
食習慣点数 ²	1~2	6	6.8	± 2.5
	3~4	25	8.3	± 7.3
	5~6	49	6.9	± 6.8
	7~8	48	7.1	± 4.8 ns

1 乳製品、大豆製品、海草、小魚摂取頻度点数の合計
 毎日食べる=3、週1回以上=2、ほとんど食べない=1

2 食習慣点数の合計

- 多様な食品を食べるようにしているか (はい=1、いいえ=0)
- 夕食の時間は決まっているか (はい=1、いいえ=0)
- 一人で食事をすることが多いか (はい=0、いいえ=1)
- ファーストフード・インスタント食品を週2回以上食べるか (はい=0、いいえ=1)
- 食事の好き嫌いが多いか (はい=0、いいえ=1)
- 間食で夕食が食べられないことがあるか (はい=0、いいえ=1)
- 朝食を食べるか (毎日食べる=1、時々食べる・全く食べない=0)
- 夜食を食べるか (毎日・時々食べる=0、全く食べない=1)

ns 有意差なし

平成15年10月1日

謝指標と骨密度変化率に負の相関があったと考えられる。一方、1年以上群では骨代謝指標は身長変化率に加えて、骨密度変化率とも正相関を示し、骨密度増加の予測指標となる可能性が示唆された。

生活習慣要因で骨密度変化率と関連がみられたのは徒歩通学であった。徒歩通学15分以上群の平均通学時間は16分（片道）、1日約30分で運動量としては多くないが、毎日継続することが骨密度増加に有効であると考えられる。初回時調査で骨密度と関連があった運動クラブや牛乳摂取量と骨密度変化率とは関連がみられなかった。中学生は成長が著しく、今回の結果でも初経や体重増加と骨密度増加に関連がみられた。このように成長が骨密度の変化に影響するため、この1年間の観察では生活習慣の影響が骨密度増加に現われにくいかもしれない。また、1年間の運動、栄養摂取の変化の有無について調査したが、習慣が変化した人数は少なく、また習慣の変化で骨密度変化率にも差はみられなかった。対象者は今年度中学校を卒業しこれから生活に変化があると予想され、今後さらに追跡調査し、生活習慣と骨密度との関連について検討したいと考えている。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力いただいた各中学校の教諭、養護教諭ならびに生徒のみなさん、教育委員会の関係各位に対し、心から感謝いたします。

文 献

1. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 山上孝司 (2002). 富山衛研年報, 25, 155-161.
2. 高橋香代 (2002). Osteoporosis Japan, 10, 395-399.
3. 五來逸雄 (2002). Osteoporosis Japan, 10, 262-266.
4. 伊木雅之, 秋葉 隆, 西野治身, 松本俊夫, 鏡森定信, 香川芳子, 松崎俊久, 米島秀夫, 丸茂文昭 (2002). Osteoporosis Japan, 10, 270-273.
5. 西野治身, 堀井裕子, 田中朋子, 山上孝司, 松倉知晴, 鏡森定信 (1999). 日本公衆衛生雑誌, 46, 47-60.

中国・内モンゴル自治区草原地域における タン茶飲料中フッ素濃度について

新村哲夫 張 森 長瀬博文 荒谷哲雄
西野治身¹ 梶田悦子² 江藤真紀²
王 紅兵³ 鏡森定信³ 畢 力夫⁴

Fluoride Concentration in Brick Tea Water
in Grassland Area of Inner Mongolia, China

Tetsuo SHIMMURA, Miao ZHANG, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI,
Harumi NISHINO¹, Etsuko KAJITA², Maki ETOH²,
Hongbing WANG³, Sadanobu KAGAMIMORI³ and Lief BI⁴

要 旨 先に、中国・内モンゴル自治区における未閉経女性の調査において、骨吸収の亢進がみられる草原地域で、尿中フッ素濃度が高く、飲料水のフッ素汚染がみられることを報告した。今回は、草原地域におけるフッ素暴露状況把握のため、同地域の20から50歳の女性85名を対象に、同地域で水代わりに常飲されているタン茶浸出液のフッ素濃度調査を行った。内モンゴル草原地域のタン茶浸出液のフッ素濃度は、平均5.05mg/l（範囲2.4～10.9mg/l）であり、飲料水の平均2.58mg/l（範囲0.9～5.9mg/l）に比べ高かった。中国の他地域や日本で市販されているお茶類のフッ素濃度は、0.3～1.1mg/lであり、上記タン茶や飲料水に比べて、はるかに低い値であった。タン茶の茶葉を使った浸出実験により、タン茶浸出液と飲料水のフッ素濃度の差は、使用する茶葉（タン茶）に由来するものと考えられた。このことから、内モンゴル草原地域においては、飲料水の汚染とともに、タン茶の飲用によるフッ素暴露の影響が懸念された。

先に我々は、中国・内モンゴル自治区における未閉経女性の調査において、骨吸収の亢進がみられる草原地域で、尿中フッ素濃度が高く、飲料水のフッ素汚染がみられることを報告した [1, 2].

今回は、草原地域におけるフッ素の暴露状況を把握するため、飲料水以外の汚染源を探る目的で、同地域において水代わりに常飲されているタン茶

浸出液（発酵させて固めた独特の茶を煎じたもの）についてフッ素濃度の調査を行ったので報告する。

対象および方法

調査対象としたのは、先に報告した中国・内モ

1. 富山県赤十字血液センター 2. 名古屋大学・医・保健学科
3. 富山医科薬科大学・医・保健医学 4. 中国内蒙古医学院

ンゴル自治区の草原地域に居住する40から50歳の女性（以下、中年女性）43名と新たに対象とした20から33歳の女性（以下、若年女性）42名の合計85名である。各自から飲料水およびタン茶浸出液を収集した。対照として、内モンゴル自治区内の都市および農村地域から同年齢の女性が常用する水道水（それぞれ1水源）と、タン茶ではない市販のお茶5種類を収集した。調査は2002年8月に実施した。あわせて、お茶飲料のフッ素濃度レベルを把握するため、日本で缶入りやペットボトル入りで市販されているお茶類（清涼飲料水）20種類を収集した。

茶葉から浸出液へのフッ素の移行を明らかにする目的で、浸出実験を行った。使用した茶葉は2種類のタン茶および日本産の緑茶、ほうじ茶である。沸騰した蒸留水100mlに1gから3gの茶葉を入れ、1分間かき混ぜたのち茶葉を取り除いた。同種、同重量の茶葉で、浸出液を3本ずつ作製し、冷まして試験液とした。

これらのフッ素濃度をイオン電極法で測定した[3-5]。精度管理にはNIST 2671aのFluoride in Freeze-Dried Urineを用いた。

結 果

飲料水中のフッ素濃度の測定結果を、それを常用する若年女性と中年女性に分けて、Fig. 1に示した。内モンゴル自治区の草原地域における飲料水のフッ素濃度は、中年女性平均2.56mg/l（範囲0.9～5.9mg/l）、若年女性平均2.62mg/l（範囲1.1～5.4mg/l）であった。今回は中年女性のみについて調査を行っており、今回の調査で若年女性の飲料水にも同レベルのフッ素汚染があることが確認された。前回1998年の中年女性について報告した平均値3.03mg/lと比べると、やや低い値を示したが、都市や農村地域（0.2～0.3mg/l）に比べて高く、草原地域における飲料水のフッ素汚染が継続しているものと考えられた。

お茶浸出液のフッ素濃度の測定結果をFig. 2に示した。草原地域で飲用されているタン茶浸出

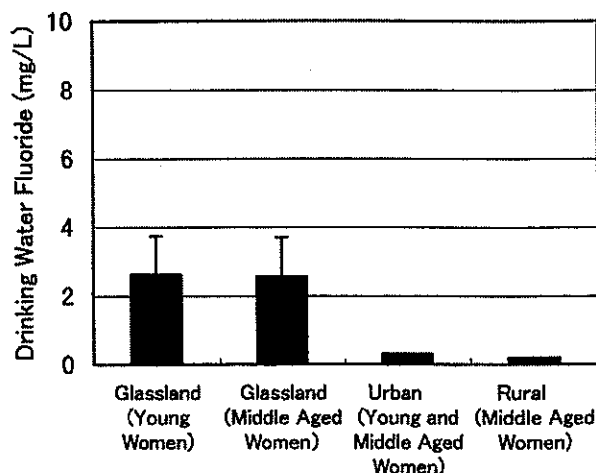


Fig. 1. Fluoride Concentration in Drinking Water

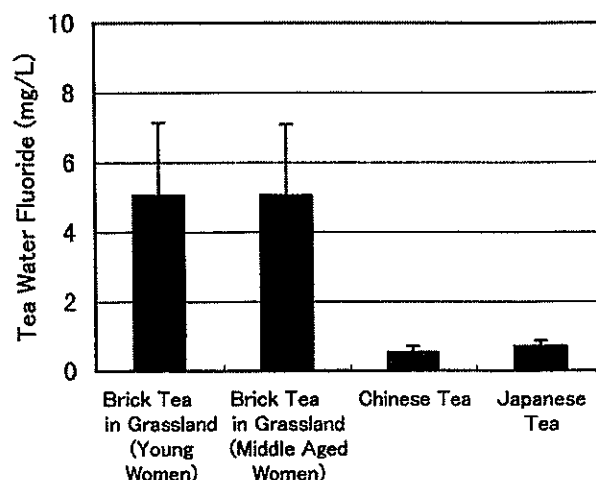


Fig. 2. Fluoride Concentration in Brick Tea or Tea Water

液のフッ素濃度は、中年女性平均5.05mg/l（範囲2.6～10.9mg/l）、若年女性平均5.05mg/l（範囲2.4～10.9mg/l）であり、年代の違いによる差は見られなかった。草原地域のタン茶浸出液のフッ素濃度は、飲料水に比べ平均2.47mg/l高かった。このタン茶浸出液のフッ素濃度を評価するため、中国・内モンゴルの都市や農村地域のお茶飲料の調査をする必要があるが、草原地域以外ではこのタン茶の飲用習慣はみられない。そこで、比較対照のため市販されているお茶類を収集した。そのフッ素濃度を測定したところ平均値0.53mg/l（範囲0.3～0.7mg/l）であった。また、日本で飲まれているお茶類と比較するため、清涼飲料水として市販されているお茶類を収集して測定したと

ころ、平均値0.71mg/l（範囲0.3~1.1mg/l）であった。これらの中国の他地域や日本のお茶飲料に比べてタン茶浸出液は異常に高い値であった。

Fig. 3は、草原地域における飲料水とタン茶浸出液中のフッ素濃度の関係をみたもので、両者の間に有意な正の相関がみられ、飲料水の高いものはタン茶浸出液も高かった。

つぎに、タン茶の茶葉からどれだけのフッ素が浸出液に移行するのかを明らかにするため、浸出実験を行った。その結果を、Fig. 4に示す。2種類のタン茶の浸出液中フッ素濃度は、使用した茶葉の量に依存して高くなり、緑茶やほうじ茶に比べていずれの茶葉の量においても2倍以上に高い濃度であった。タン茶のなかでは、とくに湖北省産のものが、湖南省産に比べ高濃度を示した。

考 察

先に報告したように中国・内モンゴルの草原地域の飲料水中フッ素濃度は高く、今回の調査によって飲料水のフッ素汚染が広範囲にあることが確認された。内モンゴルの草原地域では、飲料水の微生物学的な汚染をおそれて生水を飲まず、沸騰した飲料水にタン茶を入れ、その浸出液を常飲している。タン茶というのは中国の湖南省や湖北省で作られる、発酵させてレンガのように堅く固めた独特のお茶である。このタン茶浸出液のフッ素濃度を測定したところ、他地域や日本のお茶飲料（清涼飲料水）のフッ素濃度に比べ高く、飲料水濃度を考慮しても明らかに高値を示した。

このタン茶浸出液と飲料水のフッ素濃度の差は、使用する茶葉（タン茶）に由来するのではないかと考えられた。そこで、それを確かめるため、市販されている茶葉と沸騰した蒸留水を用いて、実際に飲用に供されているように浸出実験を行った。その結果、タン茶の茶葉から浸出液にフッ素が移行し、浸出液中のフッ素濃度が高濃度になることが確認された。

お茶類にフッ素が含まれていることは、すでに報告されており [6]、今回の市販されているお茶

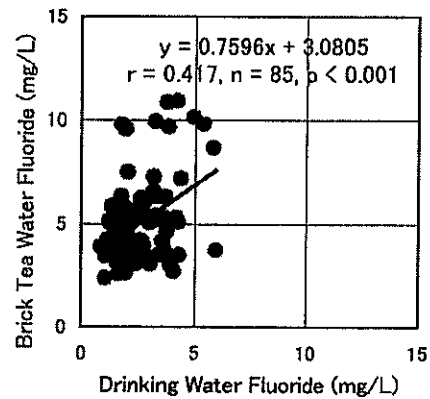


Fig. 3. Relationship between Fluoride Concentrations in Drinking Water and in Brick Tea Water in Glassland of Inner Mongolia, China

類（清涼飲料水）の調査において、わが国の飲料水の基準である 0.8mg/l を超えるものがいくつか見られた。また、浸出実験に使用したほうじ茶と緑茶を比べると、緑茶の浸出液の方がフッ素濃度は高かった。図には示していないが、緑茶では低温（60~80℃）よりも高温（100℃）の蒸留水を使った方が浸出液のフッ素濃度が高かった。そのことから、緑茶を大量に使って高温で煎じた場合には、浸出液中のフッ素濃度が高くなることがわかった。しかしながら、タン茶浸出液はそれらのフッ素濃度に比べてはるかに高かった。今回浸出実験に使用したタン茶の茶葉は内モンゴル草原地域で市販されているものであるが、生産地は中国の湖南省や湖北省である。何故、タン茶のフッ素濃度が高いのか明らかでないが、湖南省や湖北省はフッ素の汚染地域とされている。

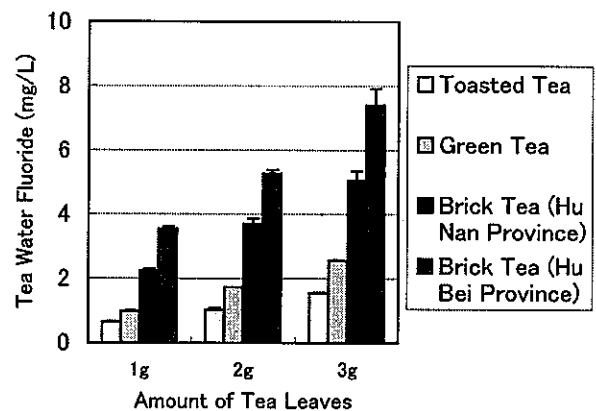


Fig. 4. Fluoride Concentration of Tea Leaves Extracts in 100ml of Boiled Distilled Water

最近、中国の内モンゴル以外の地域で、タン茶の飲用地域であるチベットで、フッ素による骨障害（いわゆる骨フッ素症）の報告がされている[7]。チベットでは飲料水のフッ素汚染はなく、汚染源としてはタン茶以外に考えられないとされており、タン茶飲用習慣を持つ中国の他地域における健康への影響について調査を行う必要があると思われる。内モンゴルの草原地域は、先に我々が明らかにしたように、飲料水のフッ素汚染がみられたが、それに加えて今回明らかになったタン茶浸出液の常飲によるフッ素の複合暴露の影響について検討する必要がある。

今回の調査によって、日本産のお茶にも少なからずフッ素が含まれており、一部には高いものもあることが明らかとなった。フッ素については至適な応用や摂取によって歯科領域のう蝕予防効果があることが報告されている[8]。また最近、緑茶の飲用が骨粗鬆症の予防に効果があるのではないかとの疫学調査報告[9]もあり、低濃度のフッ素を含有するお茶の服用による骨など健康面への影響についても検討する必要があると考えられる。

文 献

1. 西野治身, 梶田悦子, 伊木雅之, 畢 力夫, 劉 仲玉, 鏡森定信 (1999). 富山衛研年報, 22, 152-157.
2. 新村哲夫, 西野治身, 田中朋子, 中崎美峰子, 伊木雅之, 梶田悦子, 劉 仲玉, 張 森, 鏡森定信, 畢 力夫 (2000). 富山衛研年報, 23, 184-186.
3. 角田文男 (1978). 生化学実験法 (三浦義彰編), p.337-340, 文光堂.
4. 上水試験方法 (1993). 厚生省生活衛生局水道環境部監修, p.163-173, 日本水道協会.
5. Itai, K. and Tsunoda, H. (2001). Clinica Chimica Acta 308, 163-171.
6. 松浦新之助, 国分信英 (1972). フッ素の研究, p.46-63, 東京大学出版会.
7. Cao, J., Zhao, Y., Liu, J., Xirao, R., Danzeng, S., Daji, D. and Yan, Y. (2003). Food and Chemical Toxicology 41, 535-542.
8. 飯塚喜一 (1998). フッ化物応用と健康, 日本口腔衛生学会フッ化物応用研究会編, p.3-11, (財)口腔保健協会.
9. Muraki, S., Yamamoto, S., Ishibashi, H., Horiuchi, T., Hosoi, T., Suzuki, T., Orimo, H. and Nakamura, K. (2003). Bone 32, 5 (Supplement), S86.

一般健常者における尿中アルキルリン酸の検出

中崎美峰子 新村哲夫 荒谷哲雄

Detection of Urinary Alkylphosphate in Healthy Adults

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Tetsuo ARATANI

要 旨 有機リン系農薬の暴露指標として、一般健常者の尿中アルキルリン酸を3月と8月の2回測定したところ、ほとんどの検体からアルキルリン酸が検出され、2回ともすべて不検出の者はなかった。尿中アルキルリン酸濃度は、3月0.023 (0.009~0.060) $\mu\text{M}/\text{mM}\text{Cr}$ 、8月0.016 (0.007~0.038) $\mu\text{M}/\text{mM}\text{Cr}$ であり、調査時期による差は見られず、一般健常者において恒常的な有機リン剤暴露の可能性が示唆された。“園芸をする”者のアルキルリン酸濃度は“しない”者に比べて高値を示し ($p < 0.05$)、農薬などに接する機会の有無との関連が示唆された。

有機リン系農薬は、主に殺虫剤として、農業用だけでなく一般家庭用としても広く用いられている。有機リン剤にはアルキルリン酸エステル型のものが多く、それらに共通の代謝物である尿中のアルキルリン酸は、有機リン系農薬の暴露指標として用いられる [1-3]。われわれは、農村地域居住者の追跡調査から、農薬散布作業に関わらなくても、尿中にアルキルリン酸が年間を通して検出され、農薬散布時期には濃度の上昇がみられたことを報告した [4]。そこで今回は農村地域以外の居住者にも対象を広げ、一般健常者における尿中のアルキルリン酸濃度レベルを把握し、居住環境や時期の違いによる検出状況を明らかにすることを目的に、調査を行った。

対象と方法

対象は、20歳代から60歳代の平日日中勤務者で、調査協力の依頼に対して同意が得られた、ボラン

ティア32名 (男18名、女14名) である。調査時期は、農薬の使用が少ない時期と多い時期として3月と8月を設定し、それぞれ1回早朝尿を採取した。調査前1週間の農薬使用の有無、居住環境、農作業の有無などに関するアンケート調査を合わせて行った。

農薬代謝物としては、アルキルリン酸のうち、ジメチルリン酸 (DMP) とジメチルチオリン酸 (DMTP) を、既報 [5] に従い、ガスクロマトグラフィーで分析した。

代謝物濃度は対数正規分布に近い分布を示したので、統計解析には対数変換した値を用いた。また、代謝物を検出できなかった者については、検出限界の2分の1の値 (0.003mg/l) を尿中濃度とし、モル濃度に換算後クレアチニン補正をした。居住環境などの違いによる尿中アルキルリン酸レベルの比較には、DMPとDMTPとの合計を用いた。

結果および考察

Table 1 に 3 月, 8 月の代謝物検出状況を示した。DMP, DMTP とも検出されなかった者は, 3 月に 2 人 (男 1, 女 1), 8 月に 3 人 (男 2, 女 1) あったのみで, 2 回の調査すべてが不検出の者はいなかった。代謝物ごとの検出率は, いずれの調査時でも DMTP の検出率が高かった (3 月 $p < 0.01$, 8 月 $p < 0.05$)。また, 検出率に男女差はなく, 調査時期による違いもみられなかった。

対象者の居住地により「市街地」, 「郊外」, 「農村地帯」に分けて代謝物検出率を比較したところ, 3 群の間に差は認められなかったが, 3 月の調査では「農村地帯」の DMP 検出率が「市街地+郊外」よりも高い傾向にあり ($p < 0.1$), 8 月の調査

では「市街地」の DMP 検出率が「郊外+農村地帯」に比べて高い傾向にあった ($p < 0.1$)。

尿中アルキルリン酸濃度の分布を Fig. 1 に示した。最高値は 3 月の $0.258 \mu\text{M}/\text{mMCr}$ であり, 8 月には $0.1 \mu\text{M}/\text{mMCr}$ を超えたものはなかった。幾何平均値 (SD 範囲) は 3 月が $0.023 (0.009 \sim 0.060) \mu\text{M}/\text{mMCr}$, 8 月が $0.016 (0.007 \sim 0.038) \mu\text{M}/\text{mMCr}$ であり, 8 月がむしろ低いようであるが, 有意差はなかった。以前行った農村地域に居住する女性の 15 ヶ月間の追跡調査 [4] では, 延べ 61 回の測定で, 最高値は 0.145, 平均値は $0.027 (\mu\text{M}/\text{mMCr})$ であったので, 今回の結果はそれよりもやや低いと考えられた。Table 2 には各代謝物濃度を男女別に示した。3 月の調査では女性の DMP+DMTP が男性に比べてやや高値で

Table 1. Detection Frequency of Urinary Alkylphosphate

	March		August	
	DMP	DMTP	DMP	DMTP
Male (n=18)	10(56.3)	17(94.4)	10(56.3)	14(77.8)
Female (n=14)	8 (57.1)	13(92.9)	8 (57.1)	13(92.9)
urban area (n=12)	6 (50.0)	11(91.7)	9 (75.0)	10(83.3)
suburban area (n=12)	5 (45.5)	10(90.9)	4 (36.4)	9 (81.8)
rural area (n=8)	7 (87.5)	8 (100)	4 (50.0)	7 (87.5)

DMP; dimethylphosphate, DMTP; dimethylthiophosphate

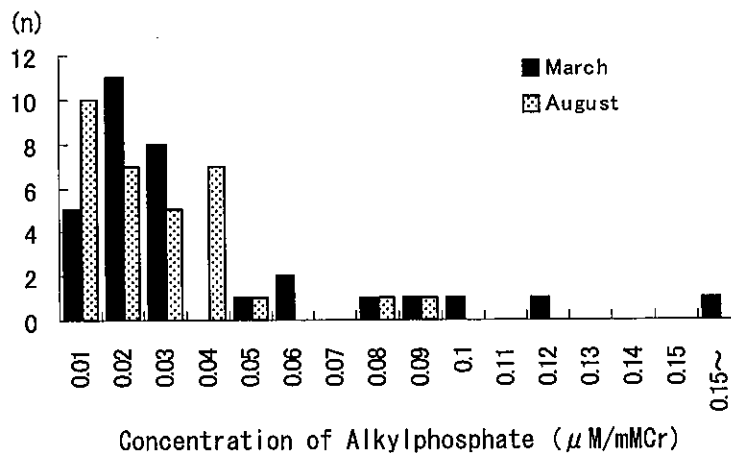


Fig. 1. Histogram of Urinary Alkylphosphate Concentrations

Tble 2. Urinary Concentrations of Dimethylphosphate and Dimethylthiophosphate

		March			August		
		DMP#	DMTP#	DMP+DMTP#	DMP#	DMTP#	DMP+DMTP#
male (n=18)	mean	0.005	0.011	0.017	0.005	0.007	0.015
	s.d.	2.75	2.46	2.28			
female (n=14)	mean	0.009	0.019	0.032	0.006	0.010	0.017
	s.d.	4.58	2.88	2.91			

Geometric mean and standard deviation ($\mu\text{M}/\text{mM Cr}$)

+ $p < 0.1$

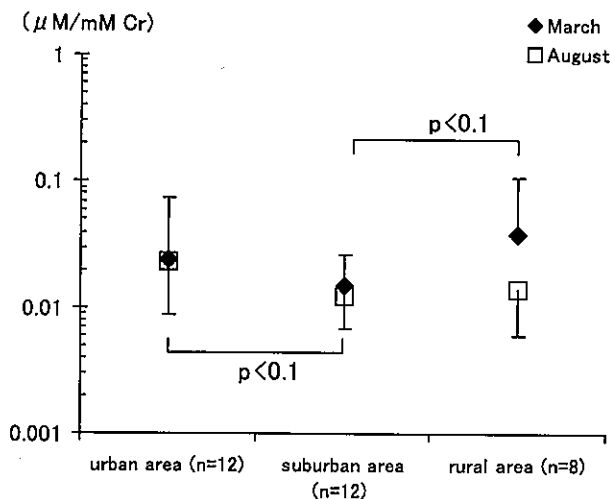


Fig. 2. Urinary Alkylphosphate Levels in each Residential Area

あったが ($p < 0.1$), 8月の調査では男女差はみられなかった。3月と8月の比較では、男女とも調査時期の違いによる差はみられず、農薬の使用時期である8月が高いことはなかった。

対象者の代謝物濃度を居住地域別にみたところ (Fig. 2), 一元配置分散分析の結果では、3月、8月とも居住地域による代謝物濃度の差はみられなかった。群間の比較では、3月は「農村地帯」が「郊外」に比べてやや高く、8月は「市街地」が「郊外」に比べてやや高い傾向にあった (それぞれ $p < 0.1$)。

次に、調査前1週間以内の殺虫剤等使用の有無、農薬散布作業の近くを通ったか、園芸をするか、農作業をするかといった条件ごとに代謝物濃度を

比較した (Table 3)。1週間以内に殺虫剤を使用したものは6人あったが、使用の有無と代謝物濃度との関連はみられなかった。ただし、この内ジメチルリン酸型の農薬使用が明らかでない2人では、代謝物濃度は0.033, 0.045 $\mu\text{M}/\text{mM Cr}$ と、平均値の2倍以上の高値を示した。また、8月の調査で、「園芸をする」者の方が「園芸をしない」者比べて有意に高値を示した ($p < 0.05$)。このことは、「園芸をする」者は「園芸をしない」者比べて、植物や土壌に残留した薬剤等により、暴露を受ける機会が多いことを示唆するとも考えられる。

尿中のアルキルリン酸を有機リン系農薬の暴露指標に用いた報告としては、農業者や防疫作業員など、職業的な暴露がある人を対象とした調査がみられる [1-3]。今回われわれは、職業的な暴露のない一般健康者を対象として調査を行った。その結果、アルキルリン酸が2回ともすべて不検出の者は1人もおらず、一般健康者においても、尿中にアルキルリン酸がごく微量ながら、季節を問わず排泄されていると考えられた。

農業に限らず、衛生害虫やネズミの駆除、街路樹や公園の植栽などの防除にも、農薬が使用されている。また、最近輸入加工食品の残留農薬が問題になったように、食品を介しても農薬を摂取する可能性があり、恒常的に微量の農薬暴露を受けているのかもしれない。

今回の調査は、農薬使用の多い時期と少ない時期を選んで実施したが、代謝物検出率や濃度レベ

Table 3. Comparison of Urinary Alkylphosphate Levels by Conditions of Exposure to Pesticide

		n	March		August	
			G.M.	S.D.	G.M.	S.D.
Use of pesticide in the latest week	yes	6	-	-	0.019	1.791
	no	26	-	-	0.015	2.500
Nearly pass by dusting field	yes	16	-	-	0.019	2.301
	no	16	-	-	0.014	2.404
Gardening	yes	14	0.023	2.109	0.023	2.084
	no	18	0.022	3.119	0.012	2.410
Agricultural work	yes	4	0.024	1.871	0.021	1.694
	no	28	0.022	2.797	0.016	2.449

* p<0.05

ルに時期による違いはみられなかった。また、農薬等に接する機会のある者の代謝物濃度が高い傾向がみられたが、居住環境との関連は明らかではなく、さらに検討する必要があると思われた。アメリカの調査で、通常食物を摂っている者では、有機農産物を摂っている者に比べて尿中アルキルリン酸が6~9倍高いという報告[6]があり、今後は尿中アルキルリン酸と食生活習慣との関連についても検討していきたい。

文 献

1. 斎藤 勲, 久永直美, 竹内康浩, 小野雄一郎, 岩田全充, 舛田和比古, 五藤雅博, 松本忠雄, 深谷幸生, 奥谷博俊, 関次郎, 古池保雄 (1984). 産業医学, 26, 15-21.
2. 奥野俊博, 逸見希子, 村山ヒサ子 (1987). 兵庫県立衛生研究所研究報告, 22, 63-68.
3. 須永匡彦, 吉田宗弘, 上田照子, 高坂祐夫, 円藤陽子, 安井一清, 林 真矢, 吉川日出男, 橋本美知子, 原 一郎 (1989). 日衛誌, 44, 763-770.
4. 中崎美峰子, 西野治身, 大浦栄次 (2000). 日農医誌, 49, 142-145.
5. 城石和子, 西淵富蔵, 堀井裕子, 新村哲夫, 大浦栄次, 川口京子, 寺中正昭 (1990). 富山衛研年報, 13, 177-182.
6. Curl CL, Fenske RA, Elgethun K (2003). Environ Health Perspect, 111 (3), 377-382.

血清アディポネクチンと肥満指標, 血清脂質 およびライフスタイルとの関連

田中 朋子 長瀬 博文 荒谷 哲雄

Serum Adiponectin in Relation to Obese Indices, Serum Lipids and Lifestyle

Tomoko TANAKA Hirofumi NAGASE and Tetsuo ARATANI

要 旨 健康な男女の血清アディポネクチンを測定し, 血清脂質, 体脂肪率, ライフスタイルとの関連を調べた. 男性では脂質, 体脂肪率と関連が認められ, 運動習慣のある者に高い傾向を示した. しかし, 女性では血清アディポネクチンと体脂肪率, 血清脂質, ライフスタイルと関連は認められなかった.

近年, 脂肪細胞は単なるエネルギー貯蔵臓器ではなく種々の生理活性物質を分泌する内分泌細胞としての機能を持っていることが明らかになり, 注目を集めている. 脂肪細胞から分泌される生理活性物質は総称してアディポサイトカインと呼ばれ, レプチンや腫瘍壊死因子 (TNF- α) などが知られている [1]. 中でも, 脂肪組織でのみ作られ血中に高濃度に存在するアディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるにも係わらず動脈硬化抑制作用や, インスリン感受性を高め, 血糖値を下げる効果があるとされている [1]. また, 内臓脂肪蓄積により低値を示すことも知られている [2]. これらのことから, アディポネクチンの測定は生活習慣病の予防に有用ではないかと期待されている. しかし, その解析は糖尿病, 高脂血症等の生活習慣病患者に集中しており一般成人についての報告はまだ少ない. そこで, 健康成人を対象とし, アディポネクチンと血清脂質, 体脂肪率, ライフスタイルとの関連を検討した.

対象と方法

対象は健康なボランティア28名 (男性18名, 女性10名) であり, 調査は平成14年3月 (以下初回時) と15年3月 (追跡時) の2回実施した. 測定項目は生化学指標として血清アディポネクチンの他に総コレステロール (Tchol), HDLコレステロール (HDLchol) を測定し, 動脈硬化指数 (AI) = $\{(Tchol - HDLchol) / HDLchol\}$ を算出した. 体脂肪率はインピーダンス法体脂肪計 (HBBFオムロン社製) により測定した. アディポネクチンはELISAキット (大塚製薬製) により, Tchol, HDLchol は自動分析装置 (バイエルメディカ社製 OPERA) により測定した. 自記式アンケートにより, 肥満と関連すると思われる生活習慣と病歴調査をおこない高脂血症, 糖尿病, 高血圧症を有するものを除いた. 調査にあたり, 疫学調査に関する倫理指針に準拠し, 事前に検査の目的, プライバシーの保護についての説明を文書と口頭で行い書面による承諾を得た.

表1 身体状況と生化学検査結果

		男性(n=18)		女性(n=10)		男女間の比較	
		初回時	追跡時	初回時	追跡時	初回時	追跡時
		平均値±S.D.	平均値±S.D.	平均値±S.D.	平均値±S.D.		
年齢	歳	50.8±8.4	—	40.5±9.5	—		
身長	cm	169.2±5.8	—	159.2±5.4	—	***	***
体重	kg	66.9±8.1	67.4±9.1	54.8±6.9	56.1±9.1	***	***
BMI		23.4±2.5	23.5±2.9	21.6±2.6	22.1±3.4		
体脂肪率	%	22.1±3.4	22.2±4.5	27.5±3.6	27.9±4.8	***	***
アディポネクチン	μg/ml	9.4±4.92	10.2±4.72	12.6±4.7	12.6±4.5		
Tchol	mg/dl	203±26.8	216±39.6	194±31.7	203±25.6		
HDLchol	mg/dl	54±9.7	54±12.3	72±15.9	70±10.2	**	**
AI		2.9±0.90	3.1±1.04	1.8±0.83	2.0±0.57	**	**

：p<0.01*：p<0.001

結 果

初回時の身体状況、生化学指標を表1に示した。身長、体重は男性が高値を示し、BMIに性差はなかった。体脂肪率は女性が高かった。体脂肪率が男性の25%以上、女性の30%以上を軽度肥満とするとそれぞれ、4名(22%)、1名(10%)が該当した。しかし、男性の30%以上、女性の35%以上を中等度以上の肥満とすると該当者は認められなかった。

アディポネクチンの平均値は男性9.4±4.9μg/ml(Max.19.4μg/ml, Min.2.7μg/ml)、女性12.6±4.7μg/ml(Max.18.4μg/ml, Min.4.2μg/ml)であり明らかな男女差は認められなかった。脂質はTcholに性差は認められなかったが、HDLcholは女性が高く、AIは男性が高値を示した。体脂肪率に性差があること、脂質に違いが認められることから以後の解析は男女別に行った。

アディポネクチンと身体状況、生化学指標との関連をみたところ(表2)、男性では体脂肪率、AIと負の相関が認められ、HDLcholと正の相関を示した。しかし、女性では関連は認められなかった。男性について体脂肪率により、軽度肥満者と非肥満者を比較すると(表3)、軽度肥満者のTcholは高値を示した。

ライフスタイルとして次の3項目とアディポネクチンとの関連を検討した(表4、男性のみ)。

1. 間食の有無(あり、なし)、2. 腹一杯食べるか(はい、いいえ)、3. 運動習慣の有無(週3回以上、週3回未満)。その結果、男性では運動習慣有りではアディポネクチンが高い傾向を示し、他に、Tchol、AIが有意に低く、HDLcholは高い傾向を示した。しかし、体脂肪率に違いは認められなかった。男性の他のライフスタイルによる違いは認められなかった。女性ではライフスタイルの違いによる生化学指標、体脂肪率に差は認め

表2 アディポネクチンと身体状況・血清脂質との相関

	男性(n=18)	女性(n=10)
年齢	-0.400 ⁺	0.150
身長	0.139	-0.030
体重	-0.036	-0.130
BMI	-0.120	-0.138
体脂肪率	-0.531*	-0.070
Tchol	-0.248	-0.400
HDLchol	0.532*	0.427
AI	-0.564*	-0.521

*:p<0.05, +:p<0.1

表3 体脂肪率別生化学指標(男性)

		25%未満 n=14	25%~30% n=4
アディポネクチン	μg/ml	10.2±5.2	6.7±2.8
Tchol	mg/dl	195±22	231±24 *
HDLchol	mg/dl	54±10.6	53±6.0
AI		2.7±0.9	3.4±0.7

*: p<0.05

表4 ライフスタイル別アディポネクチンと体脂肪率, 血清脂質 (男性)

		運動習慣		毎日の間食		腹一杯食べる	
		あり(n=4)	なし(n=14)	あり(n=6)	なし(n=12)	はい(n=9)	いいえ(n=9)
年齢	歳	51.8±12.6	50.5±7.5	53.5±5.2	49.4±9.5	51.3±10.0	50.2±7.1
体脂肪率	%	20.5±4.5	22.8±3.2	20.4±1.9	23.0±3.7	21.9±3.6	22.3±3.5
アディポネクチン	μg/ml	12.8±5.1	8.2±4.5	8.7±5.29	9.8±4.92	9.6±6.0	9.2±3.91
Tchol	mg/dl	173±10.2	212±23.6	204±19.7	203±30.6	201±31.8	204±22.7
HDLchol	mg/dl	61.0±4.2	51.7±9.9	53.0±12.6	54.2±8.5	52.4±9.7	55.1±10.0
AI		1.85±0.35	3.20±0.77	3.1±1.13	2.8±0.81	3.0±1.09	2.8±0.71

** : p<0.01, + : p<0.1

られなかった。

アディポネクチン, 血清脂質, 身体状況について, 初回時と1年後の追跡時を対応のあるt検定を行ったところ(表1), 男女ともアディポネクチン, 血清脂質, 身体状況に有意な変化はみられなかった。さらに, ライフスタイルが1年間で変化したかを調べたところ, 各ライフスタイルごとに1~2名の変化がみられた(表なし)。しかし, ライフスタイルが変化した例数は少なくそれらと身体状況, 生化学指標の変化を検討することはできなかった。

考 察

アディポネクチンについての研究は生活習慣病患者に限られたものが多く, 正常レベル, 性差, 加齢の影響等についての基礎的な報告は少ない。今回, アディポネクチンについての基礎データを得ることを目的に, 本調査を実施したが, 例数が少ないことや肥満傾向を有するものが含まれているなどの問題もあり, さらにデータの蓄積をはかる予定である。

アディポネクチンと体格との関連について, 体重, BMIとは男女とも関連が認められなかった。一方, 体脂肪率とアディポネクチンの関連は男性にのみ認められた。アディポネクチンは脂肪細胞由来のサイトカインであるためBMIとは関連せず体脂肪率とのみ関連が認められたのではないかと考えられる。しかし, 体脂肪率の測定はインピーダンス法により身体全体の体脂肪量を推定するものであり, その脂肪分布部位を反映してはいない。成人女性の体脂肪分布は皮下脂肪が多く, 男性で

は内臓に脂肪が沈着しやすいと言われている [3]。アディポネクチンは内臓脂肪の蓄積により低値を示すことから [2], 皮下脂肪の多い女性では体脂肪率と関連がみられなかったのに対し, 内臓脂肪が多い男性にのみ関連が認められたのではないかと推察される。いずれにせよ, この男女間の違いが脂肪分布部位の違いによるものとするならば, 内臓脂肪の測定は重要と考えられる。これまで, 体脂肪を皮下脂肪と内臓脂肪に分け正確に測定するには腹部のCTスキャンによる方法しかなかった。しかし, 近年, ウェスト位置で微弱電流を流す腹部インピーダンス法による簡易型の内臓脂肪測定装置の開発が進んでおり [4], 利用可能ではないかと期待している。

他の生化学指標との関連について, 男性では, アディポネクチン低値は血清HDLchol低値, AIの高値と関連が認められた。従来からHDLcholやAIは動脈硬化のリスクを知る指標である。アディポネクチンも同様に有効な指標の一つとなるであろう。

ライフスタイルとの関連について, 男性では運動習慣を有する者は体脂肪率に違いは見られないものの, HDLcholとともにアディポネクチンも高い傾向にあり, 運動の効果を反映しているのではないかと考えられる。

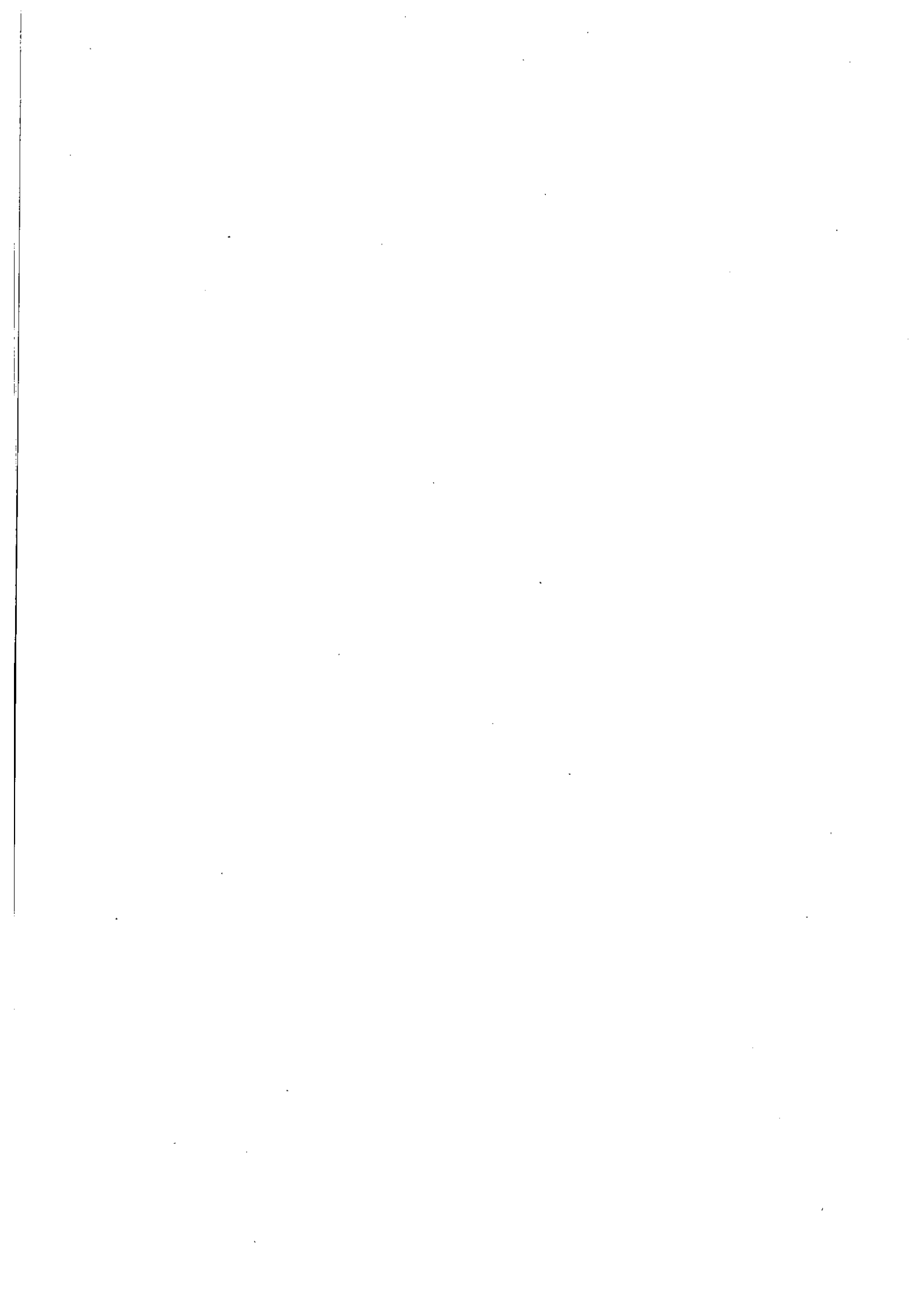
追跡結果について, アディポネクチン測定の意義の1つとして内臓脂肪の増減により可逆的に変動することがあげられている [5]。そこで, 1年間の追跡調査により体脂肪率, 脂質の変動やライフスタイルの変化との関わりを調査したが, 期間内では, 体脂肪率, 生化学指標とも明らかな変化はみられなかった。さらに, ライフスタイルについても1年間の変化は少なく, アディポネクチン

平成15年10月1日

値の変動とどのように係わるかを検討するには至らなかった。今後、さらに本調査を継続し、体脂肪率、脂質、ライフスタイルの変化とアディポネクチンとの関連を検討したいと考えている。

文 献

1. 下村伊一郎, 舟橋 徹, 木原進士, 松沢佑次 (2002). 内分泌糖尿病科, 14. 361-366.
2. 木原進士 (2002). Bio Clinica, 17, 134-138.
3. 安部 孝, 福永哲夫 (1995). 日本人の体脂肪と筋肉分布, 55-57 (杏林書院).
4. 恩田智彦, 方嶋充弘, 山口 亨 (2002). Bio Clinica, 17, 148-151.
5. 松下美加, 萩原康二, 小片絵里, 東田寿子, 岩崎裕明, 川村光信, 宮崎 滋 (2002). 肥満研究, 8 (Suppl). 167.



3. 資 料



Nuchal translucency を主訴とした羊水染色体分析の検討

本田 幸子 林 美貴子

Chromosome Analyses of Amniotic
Fluid Cells with Fetal Nuchal translucency

Sachiko HONDA and Mikiko HAYASHI

妊娠10～14週の胎児の後頸部にみられる超音波透過性の高い部分が Nuchal translucency (NT) と呼ばれている。この NT が厚くなるほど染色体異常等の確立が高くなるといわれ、一般には 3 mm がカットオフ値とされている。

当所においても、NT を主訴とした羊水染色体分析の依頼数は、検体数が少ないながらも増加傾向が認められた。そこで、その検査状況、結果等をまとめ、検討した。

平成9年度に初めて NT と考えられる後頸部肥厚という主訴が1件みられ、検査開始以来平成10年度まで772件中1件の受付であった。11年度に NT という主訴が初めて記載されるようになり、3件の依頼があった。その後、12年度からは5件、8件、7件と表1、2のとおり検査が依頼されている。また13年度からは NT の測定値の記載もされるようになり、14年度までに24件受け付けた。総受付数1254件の1.9%となるが、14年度でみると9.3%になり、高齢妊娠の56%、染色異常児妊

娠・出産既往の12%に続いている。

NT 関連の依頼24件のうち異常がみられたのは7件で、異常率は29.2%と高い確率となった。核型異常の内訳(表3)は、ダウン症候群(21トリソミー症候群)3件、18トリソミー症候群2件、13トリソミー症候群、9p部分トリソミー各1件であった。

NT を主訴とした依頼者の年齢と異常の関係、NT の肥厚と異常との関係については表4、5にそれぞれ表したが、まだ例数が少なく、相関性、傾向などは不明である。

最近の超音波診断の進歩により、胎児の状況がよく診られるようになり、特に、妊娠10～14週胎児の NT の肥厚が異常の判断の指標として採用され、3 mm がカットオフ値となっている。しかし NT 自体がまだ一般的に理解されていないうえ、測定方法にも差があるといわれている。

最近の Nicolaidis ら [1] や Shipp ら [2] の報告によると、NT が 7 mm では染色体異常がみら

表1 NT を主訴とした年度別染色体分析状況

期 間	総受付数	NT 受付数	(%)	異常数	(%)
昭和 49 年度から平成 10 年度	972	1	(0.1)	0	
平成 11 年度	64	3	(4.7)	0	
平成 12 年度	60	5	(8.3)	1	(20.0)
平成 13 年度	83	8	(9.6)	3	(37.5)
平成 14 年度	75	7	(9.3)	3	(42.9)
昭和 49 年度から平成 14 年度	1254	24	(1.9)	7	(29.2)
平成 11 年度から平成 14 年度	282	23	(8.2)	7	(30.4)

表2 NT主訴検体の一覧

年度	母体年齢	主訴	異常の核型
昭和9年度	22	後頸部肥厚	
平成11年度	34	後頸部浮腫	
	29	後頸部肥厚	
	27	NT	
平成12年度	26	NT	
	26	後頸部浮腫	47,XX,+18
	19	NT	
	32	NT	
	28	後頸部のう胞	
平成13年度	36	NT	
	36	NT	47,XX,+21
	29	NT	
	41	頸部 Cyst	47,XX,+21
	36	NT	
	34	NT=3.9mm	
	33	NT=3 mm	
	28	NT=3.6mm	46,XY,der(20)t(9;20)(p13;q13)mat
平成14年度	31	NT=5.6mm	
	25	NT=5mm	47,XY,+21
	39	NT	47,XY,+18
	31	NT	
	22	NT	
	38	NT=5mm	47,XX,+13
	27	NT=5mm	

表3 異常核型の種類

異常核型	件数
21トリソミー	3
18トリソミー	2
13トリソミー	1
9p部分トリソミー	1
計	7

表5 NTの肥厚

染色体異常有り		
3.6 mm		+9p
5 mm		+21
5 mm		+13
染色体異常無し		
3 mm		
3.9 mm		
5 mm		
5.6 mm		

表4 NTを主訴とした依頼者の母体年齢

表4 NTを主訴とした依頼者の母体年齢			
	件数	年齢	平均年齢
NT依頼	24	19~41歳	30.5歳
染色体異常有り	7	26~41歳	33.3歳
染色体異常なし	17	19~36歳	29.2歳

平成15年10月1日

れない場合でも、その35.6%に他の何らかの異常がみられたことを報告している。また特に心臓疾患がみられることが多く、突然の子宮内胎児死亡との関係があるのではないかと述べ、NTがそもそもどうして現れるのかもまだ解明されていないようであるが、心臓機能と特に関係しているのではないかと報告している。

今回の報告では、まだ例数が少なく、まったく結論らしいことは言えないが、今後、NTを主訴とする依頼が増加することも考えられる。またNTは少なくとも、トリプルマーカーよりは正確に胎児の異常を反映しているのかも知れない [3]。NTの厚さと異常率との関係は、今後の測定の普及や正確さが向上することにより、明確になり、また染色体異常以外の先天異常が解明されるかもしれない。但し、日常的に行われている超音波診断にはインフォームドコンセント等の適切な指導と遺伝相談が必要と考えられる。

謝 辞

ここに発表しました症例の検体採取や調査にご協力をいただきました、各医療施設の関係者の方々に深謝いたします。

文 献

1. K. H. Nicolaides, V. Heath and S. Cicero (2002) Prenatal Diagnosis, 22, 308-315.
2. T.D. Shipp and B.R. Benacerraf (2002) Prenatal Diagnosis, 22, 296-307.
3. 佐藤孝道 (2001). 臨床検査, 45 (2), 161-166, 医学書院.

小核試験における幼若赤血球出現頻度の検討

林 美貴子 本田 幸子

Studies on the Frequency of Young Erythrocytes in the Micronucleus Test

Mikiko HAYASHI and Sachiko HONDA

小核 (MN) 試験法は突然変異原性物質検出法としてよく知られている。被験物質投与後、細胞分裂を経た細胞 (幼若赤血球) を指標とすることから、細胞分裂指数 (幼弱赤血球頻度) が低下した場合、MN 試験を行う意味がないと考えられている。しかし、この幼弱赤血球出現頻度については、まだ、詳しく研究されていない現状である。今回、我々は3種類の既存食品添加物を用いた試験を行い、MN 試験としては陰性の結果を得た [1]。その際、調査した幼弱赤血球出現頻度について検討した。

継続的に24時間、48時間、72時間後に採血した。

3. 観察方法

標本作製法は既報に従った [2]。観察方法はアクリジン・オレンジ塗布スライドガラス上に固定した血液標本を蛍光顕微鏡グリーンフィルター下、1,000倍で観察、カラー写真撮影した。マウス毎に2枚以上の写真を撮影し、プリントした写真上で赤血球および幼弱赤血球数を計数した。観察細胞数は各マウス毎に200個から800個とした。幼弱赤血球頻度は (幼弱赤血球/赤血球+幼弱赤血球) ×100 (%) で求めた。検定はt検定による。

材料および方法

1. 被験物質および投与量
 - ① 酵素処理ナリンジン (苦味料); マウス体重当り, 0, 0.5, 1, 2mg/g
 - ② カリソルトF (調味料); マウス体重当り, 0, 0.125, 0.25, 0.5mg/g
 - ③ 植物ステロール (乳化剤); マウス体重当り, 0, 0.5, 1, 2mg/g
 - ④ マイトマイシンC (陽性対照; MMC); マウス体重当り, 0.001mg/g

2. マウスおよび投与方法

4~6週齢の ddY 系オスマウスを各群5匹使用した。被験物質は各2回 (0時間、24時間) 投与した。その詳細については前報 [1] に記載した。投与直前を0時間とし、各マウスの尾部より、

結果および考察

投与量は毒性がない限り、最高量を2mg/gとされる。そのため、酵素処理ナリンジンと植物性ステロールはそれに従ったが、カリソルトFは予備実験により、0.5mg/gを最高量とした [1]。しかし、カリソルトFの0.5mg/g群では24~48時間間に1匹死亡したため、4匹での実験となった。

各被験物質投与後の幼弱赤血球頻度 (%) について、表1、図1に示した。この実験における3被験物質間内の各個体別にみた幼弱赤血球頻度は3.0~10.7%であった。また、各群の平均では4.5~7.1%であった。3被験物質のどの群間においても、幼弱赤血球頻度に有意な差はなかった。また、陽性対照のMMC群では幼弱赤血球頻度の有意な低下が観察された。しかし、通常のMN試験

表1. 3被験物質による小核試験における幼弱赤血球頻度

被験物質・投与量	mg/g	投与後時間	動物数	幼若赤血球頻度(平均±SD)	
酢素処理ナリンジン	0	0	5	5.7±1.1	
		24	5	7.1±1.1	
		48	5	6.2±1.1	
		72	5	5.6±1.4	
	0.5	0	5	5.9±1.2	
		24	5	5.8±2.0	
		48	5	5.0±0.2	
		72	5	6.7±2.4	
	1	0	5	5.4±1.7	
		24	5	5.2±1.0	
		48	5	5.7±0.8	
		72	5	6.4±1.6	
	2	0	5	6.2±2.3	
		24	5	5.9±0.9	
		48	5	5.5±1.4	
		72	5	6.6±1.1	
マイトマイシンC	0.001	0	5	5.0±0.5	
		24	5	5.0±1.1	
		48	5	2.9±0.9 *	
		72	5	2.4±1.4 *	
カリソルトF	0	0	5	6.4±1.6	
		24	5	4.6±1.1	
		48	5	5.9±1.1	
		72	5	6.0±0.6	
	0.125	0	5	5.5±1.6	
		24	5	5.1±1.0	
		48	5	5.5±1.1	
		72	5	5.5±0.9	
	0.25	0	5	5.3±1.0	
		24	5	5.3±0.9	
		48	5	5.7±2.0	
		72	5	5.4±1.3	
	0.5	0	4	5.1±1.4	
		24	4	5.1±1.7	
		48	4	5.3±1.4	
		72	4	5.2±1.4	
	マイトマイシンC	0.001	0	5	5.6±1.0
			24	5	5.5±1.6
			48	5	4.0±0.6
			72	5	1.6±1.3 **
植物性ステロール	0	0	5	5.4±1.8	
		24	5	5.7±0.2	
		48	5	5.9±1.2	
		72	5	5.1±1.5	
	0.5	0	5	5.3±1.1	
		24	5	6.0±0.8	
		48	5	5.9±1.9	
		72	5	5.9±2.3	
	1	0	5	6.6±1.5	
		24	5	5.5±1.0	
		48	5	5.8±1.1	
		72	5	7.0±2.9	
	2	0	5	5.6±1.7	
		24	5	4.5±0.4	
		48	5	5.9±1.2	
		72	5	5.4±1.1	
	マイトマイシンC	0.001	0	5	5.0±1.1
			24	5	3.6±0.6
			48	5	3.5±1.1
			72	5	2.3±0.8 **

* ;p<0.05

** ;p<0.01

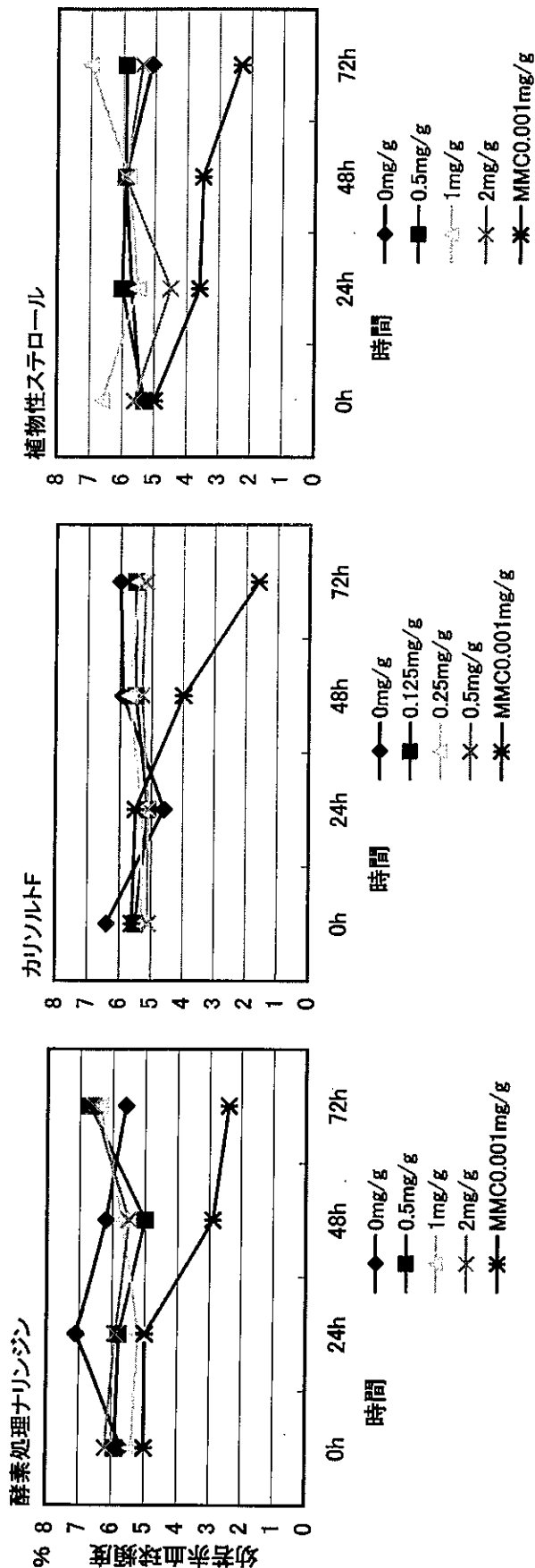


図1. 各被験物質投与後の幼若赤血球頻度

では48時間の成績を判定基準とするため、大きな問題はないと考えられ、今回の3被験物質を使用したこの投与量での小核試験は妥当なものと考えられた。

アクリジン・オレンジ染色標本では幼若赤血球と赤血球の区別が容易であり、幼若赤血球出現頻度における観察数は200個で十分ではないかと言われている [3] が、今回、1,000倍で撮影し、プリント写真からできるだけ多く計数した。スライドグラスにより、細胞の大きさに差があり、見やすい・見難いなどの差があった。細胞の大きさに差が生じる原因についてはわからないが、今後は視野を大きく捉える600倍での観察も必要ではないかと推測された。

まとめ；アクリジン・オレンジ超生体染色法を用いた、マウス末梢血による小核試験を行い、全赤血球に対する幼若赤血球の頻度を検討した。その結果、3種類の既存食品添加物を使った試験では全赤血球に対する幼若赤血球の頻度は4.5~7.1%の範囲内にあり、正常範囲内と考えられた。また、マイトマイシンCを投与した陽性対照では全赤血球に対する幼若赤血球の頻度が有意に低下した。

この報告は厚生労働省の既存食品添加物関連の研究費によった。

文 献

1. 田中憲穂ら (2003). 平成14年度既存添加物に関する遺伝毒性調査, 1-15, 財団法人食品薬品安全センター.
2. 本田幸子, 林美貴子 (2002). 富山衛研年報, 25, 163-166.
3. 林 真 (1999). 小核試験, 91-93, サイエントテスト社.

富山県における平成14年度のウイルス およびリケッチア検出状況

岩井雅恵 中山 喬 長谷川澄代
安藤秀二 松浦久美子 永井美之

Detection of Viruses and Rickettsiae from Infectious Diseases
in Toyama Prefecture, April 2002 to March 2003

Masae IWAI, Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA,
Shuji Ando, Kumiko Matsuura, Yoshiyuki NAGAI

平成14年度に実施した感染症発生動向調査事業、感染症流行予測調査事業、行政依頼検査、一般依頼検査および調査研究におけるウイルスおよびリケッチアの検出結果を報告する。検査の実施方法は、臨床症状に応じ常法によって行った。

平成14年度に受け付けた被験者は440症例、検体別では糞便201、咽頭拭い液241、髄液12、水疱内容物3、血液28の他、食材（カキ）2の計487検体であった。このうち、被験者440症例中239例からウイルスが検出された。

以上の成績を疾患別、患者別に表に示し、若干の解説を加えた。（表1）

インフルエンザおよび呼吸器疾患：平成14年度、県内の定点病院および集団発生の当該保健所から200件の検査依頼があった。昨シーズン（2001/2002）終期の平成14年4月にA（H3）型インフルエンザウイルス2株、B型インフルエンザウイルス4株が分離された。6月の17症例はかぜ様疾患の集団発生であり、B型インフルエンザウイルス8株が分離された。今シーズン（2002/2003）のインフルエンザ流行期に入って、平成14年11月から平成15年3月の間にA（H3）型インフルエンザウイルス75株、B型インフルエンザウイルス38株分離された。また12月の集団発生患者からはB型インフルエンザウイルス遺伝子が検出された。

今シーズンの特徴は、2種類のウイルスによるインフルエンザが発生し、流行の規模は中規模で昨シーズンに比較し流行の立ち上がりが早かったことである。詳細については、本年報に掲載されているインフルエンザ流行予測調査の報告を参照されたい。

感染性胃腸炎：集団発生7事例を含む85例の検査依頼があった。このうちの44人から小型球形ウイルス（SRSV）が検出された。SRSVは、国際ウイルス命名委員会によって決められたノロウイルス（NV、旧ノーウォーク様ウイルス；NLV）、サボウイルス（SV、旧サッポロ様ウイルス；SLV）らを含む。現在、食中毒や感染性胃腸炎でSRSVとして検出されるウイルスは大部分がNVである。平成15年1月から3月にかけて、9人からA群ロタウイルスが検出された。平成14年11月に1人からアデノウイルスが検出された。また、集団発生7事例（すべての事例でSRSVのみが検出）のうち4事例（平成14年8月、平成15年2月、3月の事例）関連で無症状の施設関係者からSRSVが検出された。平成14年5月、平成15年2月の集団発生事例の原因と考えられた食材（カキ）からはSRSVは検出されなかった。

食中毒：食中毒として扱った2事例のうち、平成14年5月の事例では、14症例中14例にSRSV、

表1. 平成14年度 疾患別、月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

臨床診断名	検出病原体	H14					H15					合計		
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月		2月	3月
インフルエンザ 及び呼吸器疾患	(被験者数)	14		[17]					3	[28]	[54]	[54]	30	200
	インフルエンザA(H3N2)	2						1	14	[31]	[20]		9	77
	インフルエンザB	4		[8]						[1] ^{*5}	[13]	[11]	14	51
感染性胃腸炎	(被験者数)	[4]	[2]			[16] ^{*3}		5	2	[13]	[10] ^{*3}	[33] ^{*3}		85
	SRSV	[4]	[2]			[3] ^{*3}		4	2	[6]	[5] ^{*3}	[18] ^{*3}		44
	アデノ							1						1
	A群ロタ										3	3	3	9
食中毒	(被験者数)		[14]	[11]										25
	SRSV		[14]	[8]										22
無菌性髄膜炎	(被験者数)			5	1							1	1	8
	エコー13			4	1									5
手足口病	(被験者数)			7	15	1			4			1		28
	コクサッキーA16			7	15	1			2			1		26
麻疹	(被験者数)		3											3
	麻疹ウイルス		1											1
無症状 (ポリオ流行予測調査)	(被験者数)						9				50			59
	エコー22						3							3
その他疾病 ^{*1}	(被験者数)	3		3	3	1	3	9 ^{*4}	4	1	1	3	1	32
症例合計	(被験者数)	21	19	43	19	18	12	9	16	31	118	69	65	440
	病原体検出者数	10	17	26	16	4	3		8	17	53	40	44	239
食材 ^{*2}	(検体数)		1									1		2

*1: その他疾病: 脳炎4例(4月に1例, 6月に1例, 2月に2例)を除く28例はQ熱疑い例

*2: カキ

*3: 無症状の施設関係者を含む。

*4: 無症状家族を含む。

*5: PCRによる検出。

[]は集団発生事例を含む。

6月の事例では11症例中8例においてSRSVが検出された。

無菌性髄膜炎: 6月、7月に7件の検査依頼があり、このうち5件からエコーウイルス13型が分離された。

手足口病: 県内の定点病院からの検査依頼28例のうち26例からコクサッキーウイルスA16型が分離された。コクサッキーウイルスA16型は、平成14年度に全国の手足口病患者から分離されたウイルスの大部分を占めている。

麻疹: 5月の麻疹患者3例中1例から麻疹ウイルスが1株分離された。ウイルス分離陰性検体も含め、3例ともに急性期麻疹IgM抗体が上昇していた。3例の患者の年齢は9ヶ月～4歳、ワクチン接種歴は無かった。

無症状: ポリオ流行予測調査事業により、0～

6歳までの健康な乳幼児59例を対象にウイルス検索を行い、3名からエコーウイルス22型3株が分離された。詳細については本年報ポリオ流行予測調査の報告を参照されたい。

その他疾病: Q熱疑い28例からは、リケッチアは検出されなかった。脳炎患者の検査依頼が4月に1例、6月に1例、2月に2例あったが、ウイルスは分離されなかった。

ウイルス分離検査は結果判明までに時間がかかり、当該患者の臨床診断に間に合わない場合も多いものの、今後の感染症発生動向を知るうえで重要な資料となります。ご多忙の中でウイルスおよびリケッチア検出の意義をご理解、ご協力いただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深くお礼申し上げます。

漁港における腸炎ビブリオ調査（平成14年）

刑部陽宅 細呂木志保 磯部順子 田中大祐
木全恵子 香取幸治 永井美之 松澤留美子¹

Vibrio parahaemolyticus Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Keiko KIMATA,
Koji KATORI, Yoshiyuki NAGAI and Rumiko MATSUZAWA¹

1970年代、富山県では、年間12～20件の食中毒が発生していた。原因別では、腸炎ビブリオ食中毒が特に夏に多かった。県厚生部では、食中毒防止を目的とし、従来の飲食店等に対する衛生指導に加え、毎年夏に、啓蒙的意義も含め県民に対しマスコミ等を通じた食中毒注意報を出すことを含めた事業を1980年代に開始した。衛生研究所では、事業の一部である食中毒注意報の科学的根拠を得ることを目的として、また、衛生指導や腸炎ビブリオ食中毒予防の基礎資料とすることを目的として、1981年より毎年6月～11月にかけて魚や海水における腸炎ビブリオの分布調査を担当し、行政当局へその成績を報告してきた。1980年から1995年までの16年間は県内産の魚の腸炎ビブリオ数を調べ、1996年からは、検査対象を魚から漁港の海水、海泥に移し、事業名：VP マリンとして、毎年、漁港における腸炎ビブリオの動向を調べてきた。VP マリン事業では、病原性のある腸炎ビブリオは耐熱性溶血毒（TDH）産生性であることから、近年のDNA技術の進歩によってもたらされたPCR法による *tdh* 遺伝子検査を導入し、また、従来、海水や魚からの検出が困難とされてきた病原性のあるTDH産生性腸炎ビブリオを重要な血清型 O3:K6 に限ってではあるが、免疫ビーズ法で効率的に検出する手技を考案し [1]、これ

を事業に取り入れ、本菌食中毒発生の背景を明らかにする目的も調査に加えた。

これまでに得られた成績は富山県衛生研究所年報等 [1-5] に示した。ここでは、平成14年6～11月の間、県内の5大漁港海水について腸炎ビブリオ数、*tdh* 遺伝子、TDH産生性腸炎ビブリオを調べた結果について報告する。

材料および方法

調査定点：県内の魚市場を併設している5漁港（A, B, C, D, E）を定点とし、各漁港では、併設市場前を検体採取場所とした。

調査期間：調査は平成14年、6月～9月の間は隔週ごとに、10月と11月は月の月上旬に1回実施した。
検体採取：表層と底層の海水を採取した。前者は柄杓で、後者はハイロート採水器で水深2m付近を採取した。検体は県厚生センターと富山市保健所が採取し、検査は採取後、4時間以内に衛生研究所が行った。

腸炎ビブリオ数の測定：前報 [2] に示した食塩ポリミキシンブイオン培地（SPB）を用いたMPN3本法によった。

海水の塩分濃度の測定：赤沼式比重計を用いて測

定した [3].

tdh 遺伝子の検出：前報 [3] によった.

TDH 産生性腸炎ビブリオの分離：前報 [1] に示した免疫磁気ビーズ法により、血清型 O3:K6 と O4:K68 を対象として実施した.

結果と考察

平成14年6月～11月の間、各漁港定点において海水中の腸炎ビブリオ数を測定した。結果は表1に示した。いずれの漁港においても、腸炎ビブリオ数は前年 [4] と同様6月初旬から下旬にかけ

て、0～10個/100mlと多くなかった。しかし、海水温度が20℃から27℃付近になる7月から8月にかけて次第に増加し、8月から9月の間は多くの漁港で100ml 当り100個以上になることが少なくなかった。その後、10月に入ると、菌数の低下は少しみられたが、11月初旬、なお、7～43個/100ml認められた。過去の調査では、12月には、水温が低くなり検出される例は少なかった。平成14年も同様と思われる。著者らは前報 [5] で漁港市場前海中の腸炎ビブリオ数は表層より下層で多いこと等から本菌は底泥中で増殖しているとした。今回の調査でも、上層より下層で菌数が多い例が多かったが、前報 [5] に示したほどその

表1 漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数の月別変動

		第1回	第2回	第3回	第4回	第5回	第6回	第7回	第8回	第9回	第10回
		6月10日	6月25日	7月8日	7月22日	8月5日	8月19日	9月9日	9月24日	10月7日	11月5日
A	表層V.p	<3*	3.6	4.3×10 ¹	7.3×10 ¹	1.1×10 ¹	9.0×10 ¹	7.0	2.3×10 ¹	2.0×10 ¹	7.0
	水温(℃)	18.0	15.0	20.5	18.0	21.0	22.0	19.0	17.6	19.0	9.4
	塩分(‰)	8.8	8.6	9.3	4.5	8.9	11.3	6.0	8.3	7.5	5.1
	底層V.p	<3	3.6	2.1×10 ¹	1.5×10 ¹	1.5×10 ²	9.3×10 ¹	2.1×10 ¹	2.1×10 ¹	2.1×10 ¹	1.5×10 ¹
	水温(℃)			22.0	24.0	27.0	26.0	26.0	23.4	22.0	16.0
	塩分(‰)	30.9	33.9	32.5	21.6	29.0	34.3	30.2	31.6	32.6	31.0
B	表層V.p	9.1	<3	<3	1.1×10 ¹	2.3×10 ¹	4.0	<3	9.0	9.1	9.0
	水温(℃)	22.0	19.8	25.0	24.0	27.0	26.0	27.0	23.3	21.5	12.5
	塩分(‰)	27.9	32.5	24.8	14.2	18.0	29.4	29.0	33.6	29.5	26.4
	底層V.p	1.1×10 ¹	<3	3.6	3.6×10 ¹	21.×10 ²	7.0	9.3×10 ¹	2.1×10 ¹	9.1×10 ¹	9.0
	水温(℃)			24.0	25.0	28.0	26.0	27.0	23.5	23.0	14.5
	塩分(‰)	33.1	33.3	34.7	28.6	30.0	33.0	31.5	33.0	33.3	30.3
C	表層V.p	3.6	<3	2.1×10 ¹	3.5×10 ¹	4.3×10 ²	2.3×10 ¹	9.3×10 ²	6.0	<3	1.6×10 ¹
	水温(℃)	21.0	20.0	25.0	26.0	26.0	26.0	25.0	22.0	22.0	14.0
	塩分(‰)	29.9	26.3	27.8	19.8	30.4	26.7	27.0	30.3	33.3	25.2
	底層V.p	3.6	3.6	7.3	1.5×10 ¹	1.5×10 ¹	1.5×10 ¹	1.5×10 ²	7.0	3.6	4.3×10 ¹
	水温(℃)	21.0	21.0	22.0	24.0	26.0	27.0	27.0	23.5	22.0	17.0
	塩分(‰)	33.9	32.6	33.7	32.4	32.8	18.5	33.4	33.2	34.5	33.8
D	表層V.p	<3	7.3	3.6	7.3	3.0	9.0×10 ¹	4.3×10 ²	3.0	3.6×10 ¹	2.0×10 ¹
	水温(℃)	21.0	19.0	23.0	24.0	27.0	27.0	25.0	22.0	22.0	17.0
	塩分(‰)	34.8	28.3	35.4	33.2	34.9	33.9	34.9	32.6	34.5	34.2
	底層V.p	<3	4.3×10 ¹	3.0	9.1	9.1	9.0×10 ¹	1.1×10 ¹	4.0	1.5×10 ²	2.1×10 ¹
	水温(℃)	20.0	19.0	23.0	24.0	26.0	27.0	26.0	21.5	22.0	17.0
	塩分(‰)	34.6	29.3	34.6	33.6	34.2	33.8	34.9	32.7	34.4	34.2
E	表層V.p	7.3	6.2	1.1×10 ¹	9.1×10 ¹	9.1×10 ¹	7.0×10 ¹	1.5×10 ²	1.5×10 ²	3.6	4.3×10 ¹
	水温(℃)	23.6	22.0	24.4	26.9	27.7	26.7	27.0	24.7	23.2	17.1
	塩分(‰)	29.9	32.9	26.6	21.3	31.8	23.9	28.9	32.8	35.4	32.1
	底層V.p	1.5×10 ¹	2.1×10 ¹	1.1×10 ¹	9.1×10 ¹	2.8×10 ¹	4.6×10 ²	1.5×10 ³	1.5×10 ²	9.1×10 ¹	7.0
	水温(℃)	22.8	22.2	22.1	25.1	27.2	26.9	27.6	24.7	23.1	18.1
	塩分(‰)	32.0	33.2	27.8	32.9	35.1	23.8	34.5	33.0	35.0	33.2

*：海水100ml 中の *V.parahaemolyticus* 数 (MPN 法により測定した)

差が大きくなかった点については、下層水の採取法が関係しているのではないと思われる。

平成14年、漁港に出現した腸炎ビブリオ数を評価するため、平成8～13年の菌数（全漁港の7年間、各月の菌数の対数値の平均）、あるいは富山県において本菌食中毒発生数が多かった平成10年の菌数（全漁港各月の菌数の対数値の平均）と比較した。図1に示したごとく、平成14年の菌数レベルは食中毒が多かった平成10年と比較して著しく低く、また、過去7年間の平均値と比較しても

少し低かった。一方、富山県における平成14年の本菌食中毒発生数も0件と例年と比較しても少なかった。平成14年には、漁港海水における腸炎ビブリオ数と食中毒発生数がともに少なかったことは興味深い。漁港における腸炎ビブリオ濃度と食中毒発生の関連性の程度は後述する TDH 産生性腸炎ビブリオの動向も含め、更に調査を継続し明確にする必要がある。

表2には漁港海水からの *tdh* 遺伝子と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6, O4:K68 検出状況を示

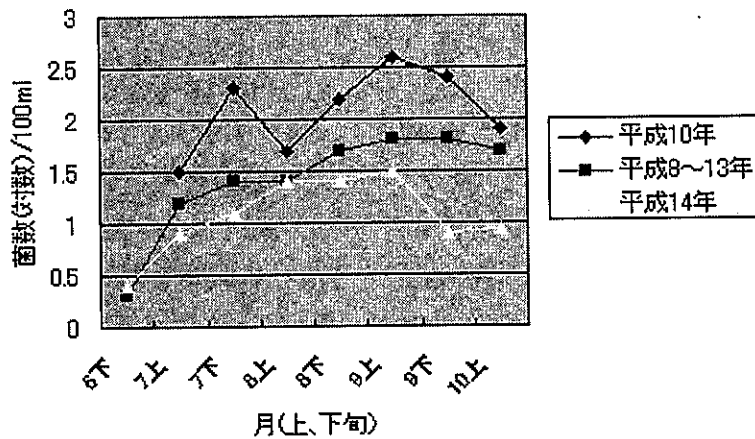


図1. 漁港における年別腸炎ビブリオの推移

表2 漁港海水からの月別 *tdh* 遺伝子検出と TDH 産生性腸炎ビブリオの分離

漁港	<i>tdh</i> 遺伝子 TDH産生菌	第1回 6月10日	第2回 6月25日	第3回 7月8日	第4回 7月22日	第5回 8月5日	第6回 8月19日	第7回 9月9日	第8回 9月24日	第9回 10月7日	第10回 11月5日
A	<i>tdh</i> 遺伝子	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2*
	V.P;O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	0/1	1/1	N.E	N.E	N.E	N.E**
	V.P;O4:K68	N.E	N.E	N.E	N.E	0/1	0/1	N.E	N.E	N.E	N.E
B	<i>tdh</i> 遺伝子	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/2
	V.P;O3:K6	N.E	N.E	N.E	0/2	1/2	1/2	0/2	0/2	0/2	N.E
	V.P;O4:K68	N.E	N.E	N.E	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	N.E
C	<i>tdh</i> 遺伝子	0/2	0/2	0/2	0/2	2/2	1/2	1/2	2/2	1/2	0/2
	V.P;O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	0/2	0/1	1/1	1/2	0/1	N.E
	V.P;O4:K68	N.E	N.E	N.E	N.E	0/2	0/1	0/2	0/2	0/1	N.E
D	<i>tdh</i> 遺伝子	0/2	0/2	0/2	1/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2	0/2
	V.P;O3:K6	N.E	N.E	N.E	0/1	1/2	1/2	2/2	0/2	0/1	N.E
	V.P;O4:K68	N.E	N.E	N.E	0/1	0/2	0/2	0/2	0/2	0/1	N.E
E	<i>tdh</i> 遺伝子	0/2	0/2	2/2	1/2	0/2	1/2	0/2	1/2	0/2	0/2
	V.P;O3:K6	N.E	N.E	0/2	0/1	N.E	0/1	N.E	0/1	N.E	N.E
	V.P;O4:K68	N.E	N.E	0/2	0/1	N.E	0/1	N.E	0/1	N.E	N.E
合計	<i>tdh</i> 遺伝子	0/10	0/10	2/10	4/10	5/10	7/10	5/10	7/10	4/10	0/10
	V.P;O3:K6	N.E	N.E	0/2	0/4	2/5	3/7	3/5	1/7	0/4	N.E
	V.P;O4:K68	N.E	N.E	0/2	0/4	0/5	0/7	0/5	0/7	0/4	N.E

* 陽性数/検査数.

** : 検査しなかった.

した。tdh 遺伝子は6月には検出されなかった。平成11~14年までの4年間の調査でも6月に検出されなかった。富山県においては、少なくとも1981年からの22年間、6月に本菌による集団食中毒は記録されていない。腸炎ビブリオは6月に漁港海水に出現するが、病原性を有する tdh 遺伝子保有菌は認められないため、集団食中毒は6月に発生しなかったのではないかと推定される。

しかしながら、7月にはいると、tdh 遺伝子は5箇所の漁港の内、1箇所の漁港で、下旬には、3箇所の漁港で検出され、さらに8月には、すべての漁港で表層あるいは下層、いずれかの海水で検出され、9月にも、ほとんどの漁港で検出された。7~9月の検出率は32/60 (53%) と高かった。海水からの TDH 産生性の腸炎ビブリオの分離は PCR 法によって tdh 遺伝子が検出された検体についてのみ実施しているが、その理由は著者らが平成11年に採取した漁港海水すべてについて tdh 遺伝子検出と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出を同時に行ったとき、表3に示すごとく TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 は32検体中 PCR 法で tdh 陽性の16検体からのみ検出され、PCR 陰性

の16検体から検出されなかった事実に基づいている。平成14年の調査において、tdh 遺伝子陽性の36検体について TDH 産生菌を調べると、7月初旬から9月にかけて、9検体から TDH 産生性の O3:K6 が分離され、O4:K68 は検出されなかった(表2)。近年、全国的には血清型 O3:K6 による食中毒発生数が最も多く、東京都では O3:K6 の次に O4:K68 による食中毒が1998年に多かった [6] とされているが、今回の調査からすれば、O4:K68 については、今後 O3:K6 に代って流行する疫学的背景はないように思われる。先に著者ら [5] は漁港に分布する腸炎ビブリオは捨てられた魚などにより有機物が多くなった底泥で増殖し、その中には、病原性を有する TDH 産生菌が認められるとし、漁港の海水を魚市場、漁船の魚槽、更には魚体の洗浄に使用することは適当でないと言及したが、平成14年度の検査結果も同様のことを示している。富山県では、7~10月、自然現象として、多くの漁港海水に病原性を有する腸炎ビブリオが認められるので、この間、腸炎ビブリオ食中毒予防対策は欠かせない。富山県内の多くの大きな漁港では、平成14年より使用する海水の殺菌装置が取り付けられた。このことによって、本菌食中毒が減少するかについて注目したい。

漁港海水1000mlに分布する全腸炎ビブリオに占める TDH 産生菌の割合は平成10年に A と B 漁港で調べたところ、全腸炎ビブリオ数が $2.1 \times 10^3 \sim 2.3 \times 10^2$ に対して TDH 産生性 O3:K6 の数が3.4であった [1]。この割合は漁港により、また月次、年次によりどのように変化するかをより明らかにするため、平成14年度に行った調査成

表3 漁港海水からの tdh 遺伝子検出と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 分離との関係

		TDH ⁺ 菌分離		計
		+	-	
tdh 遺伝子 検出	+	8	8	16*
	-	0	16	16
	計	8	24	32

* 検体数

表4 漁港海水からの腸炎ビブリオ数別 tdh 遺伝子検出率

漁港	海水中の腸炎ビブリオ数 (100ml 当り)			
	0~9	10~99	100~1500	合計
A	0/7*	1/12	1/1	2/20 (10%)
B	5/12	6/7	1/1	12/20 (60%)
C	3/10	2/7	2/3	7/20 (35%)
D	5/11	3/7	2/2	10/20 (50%)
E	0/4	3/11	2/5	5/20 (25%)
合計	13/44 (30%)	15/44 (34%)	8/12 (67%)	36/100 (36%)

* tdh 遺伝子陽性数 / 検体数

平成15年10月1日

績から各漁港海水中における腸炎ビブリオ濃度別 *tdh* 遺伝子検出率を求めた。その結果、表4に示したごとく、*tdh* 遺伝子検出率は漁港 A と E では、10～25%、B と D では、50～60%と後者で高く、漁港による差が認められた。表には示さなかったが、平成11年から平成13年までの成績でも、検出率は漁港 A、E より漁港 B、D において高かった。漁港 B、D は漁港 A、E に較べ水揚げ量が多く海水の濁度は肉眼で高い。漁港 B と D では、その漁港海水が魚に接しないような対策が他の漁港より必要であろう。一方、漁港海水中の腸炎ビブリオ数と *tdh* 遺伝子検出の関係を見ると、菌数が100/100mlを超えると、*tdh* 検出率は8/12(67%)と明らかに高いが、菌数が0～10/100mlと10～100/100mlでは、検出率がそれぞれ30、34%と両者に相違は認められなかった。表示しなかったが、TDH 産生性菌 O3:K6 分離率も同様に、腸炎ビブリオ総数が100/100ml以上の場合には、高かったが、0～10/100mlと10～100/100mlでは、両者に有意差を認めなかった。このような結果は腸炎ビブリオ数が100/100ml以上と多い場合には、TDH 産生菌の占める割合も高い傾向であるが、菌数が多いことは必ずしも TDH 産生菌の存在を示さないこと、また、菌数が100/100ml以下と少ない場合には、全腸炎ビブリオ数と TDH 産生菌数は平行しないことを示している。

謝 辞

本調査にご協力いただいた富山県食品生活衛生課および各厚生センター、保健所の関係各位に感謝いたします。

文 献

1. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村 敬 (2000). 日食微誌, 17, 5-10.
2. 細呂木志保, 田中大祐, 平田清久, 磯部順子, 刑部陽宅, 城石将幸, 長沢憲嗣 (1997). 富山衛研年報, 20, 184-186.
3. 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 香取幸治, 刑部陽宅, 竹内 崇, 富田良一 (2001). 富山衛研年報, 24, 171-174.
4. 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 香取幸治, 刑部陽宅, 永井美之, 竹内 崇 (2002). 富山衛研年報, 25, 179-182.
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 田中大祐, 清水美和子, 磯部順子, 永井美之 (2002). 日食微誌, 19, 113-117.
6. 国立感染症研究所編 (1999). 病原微生物検出情報 20, 167.

富山県における2002年の病原微生物検出情報

木全恵子 清水美和子 細呂木志保¹
田中大祐 磯部順子 永井美之

Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2002

Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Shiho HOSOROGI¹,
Daisuke TANAKA, Junko ISOBE and Yoshiyuki NAGAI

我々は県内10か所の公立病院検査室、4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所を定点として病原細菌の検出情報を収集している。2002年1月から12月までの検出情報を検出材料別及び菌種別に集計し、表に示した。厚生センター、富山市保健所、衛生研究所で検出された病原細菌は、ほとんどが糞便材料由来であった。また、公立病院検査室で分離された黄色ブドウ球菌については、メチシリン耐性ブドウ球菌（MRSA）の割合を本文中に示した。

表中の○で囲んだ数字は食中毒、家族内発生などの同一フォーカス由来の分離株が含まれることを示している。また、（ ）内の数字は海外旅行者数の再掲である。

【糞便】分離株総数は1,623株で前年比93%と減少していた。そのうち最も多かったのは大腸菌653株であるが、前年比94%であった。腸管出血性大腸菌（EHEC/VTEC）は34株で、内訳は血清型 O157が16株、O26が16株で、O111が1株、O128が1株であった。この O128は EHEC 血清型において検出されることの少ない稀な血清型であった。次に多かったのは黄色ブドウ球菌616株（そのうち MRSA は57%）であり、前年比104%であった。カンピロバクターも169株であり、前年比118%と微増した。サルモネラは56株で、前

年比48%と減少していた。検出されたサルモネラのうち血清型 O9 が66%を占めた。腸炎ビブリオは57株で前年比90%と減少していた。ウェルシュ菌は11月に集団食中毒が発生したため、前年度に続き44株と多く分離された。

2類感染症では、赤痢菌が3株分離され、その内訳は *S. flexneri* 1株、*S. sonnei* 2株であった。*S. flexneri* は海外渡航歴のない患者、*S. sonnei* 2株はそれぞれタイ旅行歴とフィリピン旅行歴のある患者からの分離であった。

【穿刺液】分離株総数259株、前年比85%で、黄色ブドウ球菌（MRSA は45%）、大腸菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌などが多く分離された。

【髄液】分離株総数20株、前年比118%で、黄色ブドウ球菌（内 MRSA は83%）、インフルエンザ菌、肺炎球菌が分離された。

【血液】分離株総数692株、前年比120%で、大腸菌、黄色ブドウ球菌（MRSA は62%）、コアグラゼ陰性ブドウ球菌が多く分離された。また、2類感染症として、腸チフス菌1株が海外渡航歴のない患者から分離された。本県では腸チフス患者の発生は6年ぶりであった。

【咽頭および鼻咽喉】分離株総数2,067株、前年比131%で、インフルエンザ菌、肺炎球菌、A群溶連菌が多く分離された。

1. 富山県立中央病院

平成15年10月1日

【喀痰，気管吸引液および下気道】分離株総数5,940株，前年比91%で，黄色ブドウ球菌（MRSAは65%），緑膿菌が特に多く，肺炎桿菌，インフルエンザ菌，肺炎球菌なども多く分離された。

【尿】分離株総数6,575株，前年比99.8%で，最も分離株数が多い検査材料であった。大腸菌，腸球菌，緑膿菌，コアグララーゼ陰性ブドウ球菌が特に多かったが，黄色ブドウ球菌（MRSAは70%），肺炎桿菌，*Candida albicans*なども多かった。

【陰部尿道頸管擦過（分泌）物】分離株総数2,176株，前年比101%で，*Candida albicans*が特に多く，その他にB群溶連菌などが分離された。なお，*Chlamydia trachomatis*，*Trichomonas vaginalis*は抗原検出による。

謝辞：県内10か所の公立病院と4か所の富山県厚生センター，富山市保健所の検査担当各位に感謝致します。

月別・菌種別の病原微生物検出状況（2002年）

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Salmonella</i> Typhi													
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													
<i>Salmonella</i> O4								1		3	1		5
<i>Salmonella</i> O7							1	2					3
<i>Salmonella</i> O8					1			2					3
<i>Salmonella</i> O9	2			1	4	4	2	12	3	1	5	3	37
<i>Salmonella</i> その他							2	2		1			5
<i>Salmonella</i> 群不明									1			2	3
<i>Yersinia enterocolitica</i>		1		2	1		1				1		6
<i>Y. pseudotuberculosis</i>													
<i>Vibrio cholerae</i> O1													
<i>Vibrio cholerae</i> O139													
<i>Vibrio cholerae</i> O1,139以外					1			1					2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>					1		13	23	16	1			54
<i>Vibrio fluvialis</i>							1						1
<i>Vibrio mimicus</i>													
<i>Aeromonas</i>	1		1	2		3	4	3	2	1			17
<i>Plesiomonas shigelloides</i>					1					1			2
<i>Campylobacter</i>	15	12	8	13	10	21	18	17	9	18	12	16	169
<i>Staphylococcus aureus</i>	39	50	48	53	57	61	51	49	52	60	46	50	616
<i>Clostridium perfringens</i>		2						1					44
<i>Clostridium botulinum</i>											(4)		
<i>Bacillus cereus</i>													
<i>Entamoeba histolytica</i>													
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性			1		1					1	3	1	7
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	5	2	5	6	2	3	6	10	12	6		4	61
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	31	38	39	28	31	43	32	36	23	22	44	35	402
<i>Escherichia coli</i> BHEC/VTEC					(9)	(3)	(10)	5	1	1	(5)		34
<i>Escherichia coli</i> その他、不明	15	10	10	15	8	13	18	14	14	15	6	11	149
<i>Shigella</i>										2(1)		1(1)	3(2)
合計	108	115	112	120	127	151	159	178	133	131	164	123	1623

注：（ ）内は海外旅行者分再掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。

2) 分離材料：穿刺液（胸水、腹水、関節液など）

<i>Escherichia coli</i>	8	4	4	4	2	5	3	2	5	2	4	5	48
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2	2	1	4	3		2	3	2	2	8	30
<i>Haemophilus influenzae</i>													
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	2	5	2	2	1		1	4	1	2	5	30
<i>Mycobacterium</i> spp.													
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	4	5	7	6	10	9	7	1	4	4	5	74
<i>Staphylococcus</i> コカセラセ陰性	4	5	4	2	5	2	5	6		4	1	2	40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>						1		1	1				3
<i>Anaerobes</i>	5	2	1	2		3	3	2	3	3	3	7	34
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合計	35	19	21	18	19	25	20	21	17	16	16	32	259

平成15年10月1日

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	2						1	1		1	1		6
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Listeria monocytogenes</i>							2						2
<i>Staphylococcus aureus</i>			2		1						2	1	6
<i>Streptococcus, B</i>													
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			1	1	1	1				1		1	6
合計	2	0	3	1	2	1	3	1	0	2	3	2	20

4) 分離材料：血液

<i>Escherichia coli</i>	17	12	16	17	21	24	24	23	21	11	13	13	212
<i>Salmonella Typhi</i>											1		1
<i>Salmonella Paratyphi A</i>													
<i>Salmonella spp.</i>		1			1			1	1				4
<i>Haemophilus influenzae</i>	1						1	1		1	2		6
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	4	4	3	3	4	4	6	4	2	4	4	45
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	13	10	15	16	18	24	20	17	11	16	16	188
<i>Staphylococcus コアガラセ⁻陰性</i>	7	11	15	15	15	7	29	26	23	8	8	13	177
<i>Streptococcus, B</i>				2	1	1	1	2			1		8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	5	2	4	1	1	1	2		3	3	10	33
<i>Anaerobes</i>	2	1	1		1	1	3		2	3		4	18
合計	43	47	48	56	59	56	87	81	68	39	48	60	692

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

<i>Bordetella pertussis</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	65	86	78	72	89	61	75	33	30	50	80	113	832
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Streptococcus, A</i>	54	79	89	61	47	58	42	16	12	35	38	36	567
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	39	46	52	61	57	58	44	22	33	72	86	98	668
<i>C. diphtheriae</i>													
合計	158	211	219	194	193	177	161	71	75	157	204	247	2067

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	5	2	1	4	5	2	4	6	1	3	2	36
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	73	62	62	78	80	59	92	73	75	77	68	55	854
<i>Haemophilus influenzae</i>	52	55	55	59	52	41	47	31	29	41	37	38	537
<i>Legionella pneumophila</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	83	80	109	102	94	86	108	108	107	106	69	71	1123
<i>Staphylococcus aureus</i>	215	249	240	231	235	210	248	215	202	209	202	197	2653
<i>Streptococcus, A</i>		3	4	1	5		5			4	3	2	27
<i>Streptococcus, B</i>	19	22	21	19	20	14	17	11	13	13	22	17	208
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	47	42	37	57	53	37	48	30	33	38	32	39	493
<i>Anaerobes</i>					1		1	1					3
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>											6		6
合計	490	518	530	548	544	452	568	473	465	489	442	421	5940

7) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	165	153	191	175	167	194	204	183	176	190	169	151	2118
<i>Enterobacter</i> spp.	16	16	12	11	26	19	21	16	25	31	11	16	220
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	39	45	33	32	34	25	30	37	45	42	40	34	436
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	4	2	7		5	4	6	8	6	6	6	57
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67	61	55	61	67	74	105	101	86	89	57	58	881
<i>Staphylococcus aureus</i>	49	61	45	51	42	35	54	44	51	66	51	66	615
<i>Staphylococcus</i> コウラセ' 陰性	72	55	80	64	68	66	90	74	65	63	65	55	817
<i>Enterococcus</i> spp.	113	94	88	99	91	72	117	92	82	90	90	91	1119
<i>Candida albicans</i>	23	14	16	24	39	23	30	42	26	33	24	18	312
合計	547	503	522	524	534	513	655	595	564	610	513	495	6575

8) 分離材料：陰部尿道頭管擦過(分泌物)

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	5	9	1	4	7		12	18	17	13	8	8	102
<i>Streptococcus</i> , B	33	22	35	38	32	37	42	32	32	28	33	49	413
<i>Chlamydia trachomatis</i>	12	13	9	12	18	18	21	14	20	15	12	12	176
<i>Ureaplasma</i>										5			5
<i>Candida albicans</i>	98	111	96	123	140	121	159	137	132	123	127	113	1480
<i>Trichomonas vaginalis</i>													
合計	148	155	141	177	197	176	234	201	201	184	180	182	2176

Staphylococcus aureus

		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
糞便	MRSA	22	29	30	30	29	41	20	25	31	33	29	34	353
	MSSA	17	21	18	23	28	20	31	24	21	27	17	16	263
	未検査													
	件数	39	50	48	53	57	61	51	49	52	60	46	50	616
穿刺液	MRSA	7	3	3	4	3	2	2	4		1	2	2	33
	MSSA	5	1	2	3	3	8	7	3	1	3	2	3	41
	未検査													
	件数	12	4	5	7	6	10	9	7	1	4	4	5	74
髄液	MRSA			1		1						2	1	5
	MSSA			1										1
	未検査													
	件数			2		1						2	1	6
血液	MRSA	9	6	6	8	11	12	16	12	12	5	10	9	116
	MSSA	3	7	4	7	5	6	8	8	5	6	6	7	72
	未検査													
	件数	12	13	10	15	16	18	24	20	17	11	16	16	188
呼吸器	MRSA	136	155	160	150	149	142	167	146	146	138	117	127	1733
	MSSA	79	94	80	81	86	68	81	69	56	71	85	70	920
	未検査													
	件数	215	249	240	231	235	210	248	215	202	209	202	197	2653
尿	MRSA	38	41	32	39	33	21	34	34	37	34	34	51	428
	MSSA	11	20	13	12	9	14	20	10	14	32	17	15	187
	未検査													
	件数	49	61	45	51	42	35	54	44	51	66	51	66	615
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査													
	件数													

屋外及び屋内プール水中の消毒副生成物について

健名 智子 大戸 幹也 高柳 信孝 松永 明信

Determination of Disinfection By-Products
in Outdoor and Indoor Swimming Pool Waters

Tomoko KEMMEI, Mikiya OHTO,
Nobutaka TAKAYANAGI and Akinobu MATSUNAGA

屋内プール水において、殺菌の目的で使用される塩素とプール水中の有機物との反応により生成するハロゲン化消毒副生成物が高濃度で検出されることが報告されている [1, 2, 3, 4]。これらの中で特に抱水クロラール、ハロ酢酸類のような不揮発性のハロゲン化消毒副生成物の占める割合が高く、揮発性のトリハロメタン類の割合は低いとも報告されている。

「遊泳用プールの衛生基準」が平成13年7月に改訂され、総トリハロメタンの水質基準が暫定目標値としておおむね0.2mg/L以下が望ましいと定められ、また同年8月「学校環境衛生の基準」も改訂され同様の水質基準が設定された。これに伴い、富山県で定めている「プールの衛生管理指針」も同年9月に改正され、遊泳用プール、学校プール共に総トリハロメタンを毎年一回以上（6月から9月までの時期）測定し、その水質基準は暫定目標値として0.2mg/L以下であることと定められた。

平成14年7月に県内の厚生センター（旧保健所）において依頼を受けたプール検査のうち、総トリハロメタン（TTHM）について当所において一括して検査を行なった。その内訳は屋外プール95件、屋内プール21件の計116件である。

屋外プールは、おおよそ毎年6月下旬に使用を開始し、使用期間は9月上旬までの約3ヶ月間である。屋内プールが年間を通じて使用し屋内とい

う閉鎖された空間にあると異なり、屋外プールは使用期間が短く開放系である。

今回、プールの総トリハロメタンの検査を行なうに際し、不揮発性の消毒副生成物として、水道監視項目に含まれるジクロロアセトニトリル（DCN）、抱水クロラール（CH）、ジクロロ酢酸（DCA）、トリクロロ酢酸（TCA）についても測定し、屋外プールと屋内プールにおけるハロゲン化消毒副生成物を比較した。

材料および方法：試料は、屋外プール95件（うち学校プール85件、遊泳用プール10件）、また屋内プール21件（うち学校プール5件、遊泳用プール16件）の計116件である。

各化合物の測定は、「上水試験方法2001年版」[5]に準じて行った。

結果及び考察

屋外プール95件、屋内プール21件について、測定項目ごとの濃度分布をTable 1に示す。総トリハロメタンの最高濃度は屋外プール0.058mg/L、屋内プール0.106mg/Lであった。屋外プールではほとんどのプール（85%）において暫定目標値0.2mg/Lの1/10である0.02mg/L以下であった。屋内プールでは0.02mg/L以下のプールは全体の40%未満であった。ジクロロアセトニトリルにつ

いて、屋外プールでは半数以上が不検出で、すべてのプールにおいて0.02mg/L以下であった。屋内プールでは77%のプールが0.02mg/L以下であり0.06mg/Lを超えるものはなかった。抱水クロラール、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸について、屋外プールでは約9割のプールは0.06mg/L以下であった。屋内プールでは0.06mg/L以下のプールは抱水クロラールで53%、ジクロロ酢酸で79%、

トリクロロ酢酸では58%で、どの項目も濃度分布の幅が広く、0.1mg/Lを超えるものが抱水クロラールで1件、ジクロロ酢酸で3件、トリクロロ酢酸で5件あった。

検出された件数について、測定項目ごとに屋外プールおよび屋内プールそれぞれの平均値及び標準偏差を求めTable 2に示した。屋外プールのどの測定項目の平均値も屋内プールのその1/2

Table 1. Distribution of Disinfection By-Products in Outdoor and Indoor Pools

Data Range (mg/L)	TTHM		DCN		CH		DCA		TCA	
	Out	In	Out	In	Out	In	Out	In	Out	In
N.D.	4		54	3	24	3	6	1	4	1
~0.02	78	10	41	15	43	3	44	8	39	7
~0.04	10	8		4	12	4	24	5	33	4
~0.06	3	3		1	9	3	11	5	13	2
~0.08		1			4	3	6	1	5	
~0.10					2	5	3			4
~0.12		1				1	1	1	1	1
~0.14					1					2
~0.16										
~0.18										1
~0.20								1		1
~0.22								1		
~0.30						1				

N.D. : not detected (mg/L)

TTHM: <0.001 DCN: <0.002 CH: <0.002 DCA: <0.003 TCA: <0.003

Table 2. Summary of Analytical Results of Outdoor and Indoor Pools (mg/L)

	TTHM	DCN	CH	DCA	TCA
Outdoor Pools (n=95)					
n	91	41	71	89	91
average	0.011	0.005	0.025	0.029	0.028
SD	0.011	0.003	0.027	0.024	0.020
Indoor Pools (n=21)					
n	21	19	19	21	21
average	0.031	0.016	0.067	0.050	0.066
SD	0.024	0.012	0.053	0.053	0.055

Table 3. Comparison of 2 Groups of Outdoor Pools by their Raw Water (mg/L)

	TTHM	DCN	CH	DCA	TCA
GroupA : Raw Water of Pool is Tap Water made from River Water (n=35)					
n	32	21	30	33	35
max	0.058	0.014	0.122	0.115	0.119
average	0.016	0.005	0.031	0.040	0.042
SD	0.014	0.003	0.032	0.027	0.021
GroupB : expect GroupA (n=60)					
n	59	20	41	56	56
max	0.058	0.015	0.099	0.099	0.064
average	0.008	0.004	0.020	0.022	0.019
SD	0.008	0.004	0.022	0.019	0.013

から1/3の値であった。今回当所でプール水を測定した7月においては、屋外プールの使用開始からひと月以内であり、さらに屋外プールでは蒸発等による水の補給がなされるため、長期にわたって水を循環使用する屋内プールにくらべ低い値を示したものと考えられる。

屋外プールのうち、プール水として表流水を原水とする水道水を用いているプールをグループA、それ以外をグループBとし、測定項目ごとに最大値、平均値及び標準偏差を求めTable3に示した。グループBにおいては地下水、もしくは地下水や湧水等を原水とする水道水をプール水として用いている。グループBではどの項目においても0.1mg/Lを超えるものはなく、平均値についても最高でジクロロ酢酸の0.022mg/Lであった。これに対し、グループAでは総トリハロメタン、抱水クロラール、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸についてグループBの1.5から2倍の平均値を示した。屋外プールにおいては、蒸発等による水の補給が必要であり換水率が高いため、その水質はプール原水に依存するところが多いものと考えられる。表流水は地下水等に比べ有機物をより多く含むため、これを水源とする水道水をプール原水とするプールでは消毒副生成物生成量が多いものと考えられる。

測定した消毒副生成物の総量を総消毒副生成物量とし、これに占める総トリハロメタンの割合

(%)の分布を屋外、屋内プール別にTable4に示した。屋外、屋内プールともその割合が10~20%の検体が半数を占めたが、その平均は屋外プール17%、屋内プール23%と屋内プールの方が高かった。屋外プールは開放系であること、またトリハロメタンは紫外線によって分解されるので、屋外プールにおけるトリハロメタンの消毒副生成物の総量に占める値は屋内プールに比べ低いものと考えられた。

富山県内の屋外プール95件、屋内プール21件に

Table 4. Distribution of TTHM/Total By-Products (%) of Outdoor and Indoor Pools (mg/L)

TTHM/ Total (%)	Outdoor	Indoor
	n	n
0	3	
~10	26	1
~20	44	10
~30	12	6
~40	4	2
~50	4	1
~60		
~70		1
~80		
~90		
~100	2	
Sum	95	21

ついて総トリハロメタン、ジクロロアセトニトリル、抱水クロラール、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸の測定を行ったところ、どの測定項目についても屋外プールは屋内プール水にくらべ濃度が低かった。また、屋外プールでは消毒副生成物総量に占める総トリハロメタンの割合が屋内プールにくらべ低かった。屋外プールのうち、表流水を水源とする水道水をプール原水とするプールはそれ以外のプールにくらべ消毒副生成物濃度が高かった。

雅彦, 三谷一憲 (2002). 名古屋市衛研報, 48, 57-60.

2. 村上恭子, 高橋佐紀子, 滝本法明, 小沢喬志郎, 佐野 健 (1999). 秋田衛研年報, 43, 49-55.
3. 古田義朗, 吉牟田博子, 池田嘉宏, 船津丸貞幸, 森屋一雄, 梅崎信孝 (1997). 佐賀衛研所報, 23, 49-56.
4. 古田義朗, 吉牟田博子, 池田嘉宏, 船津丸貞幸, 森屋一雄 (1998). 佐賀衛研所報, 24, 43-51.
5. 日本水道協会 (2001). 上水試験方法.

文 献

1. 鈴木昌子, 大野裕之, 青山大器, 中島重人, 岩間

富山湾の深層水の成分調査（Ⅱ）

高柳 信孝 大浦 徹 齊藤 行雄 山本 敦 小玉 修嗣
 健名 智子 大戸 幹也 松永 明信

Investigation of Components in Deep Sea Water
of Toyama Bay (II)

Nobutaka TAKAYANAGI, Takashi OHURA, Yukio SAITO
Atushi YAMAMOTO, Shuji KODAMA, Tomoko KEMMEI,
Mikiya OHTO and Akinobu MATUNAGA

富山県では、昭和60年度から深層水利用の取り組みが開始され、平成6年度の「非水産分野における深層水利用の具体化に関する調査」報告書において、富山県が優先的に取り組むべき事業が示された。このうちのいくつかの事業の共通課題として「深層水の成分・清浄性の評価研究」が挙げられた。著者らは、平成8年から10年まで、富山県水産試験場の深層水取水施設で採水された深層水の主要成分・微量金属成分等、揮発性有機化合物、農薬類、環境汚染物質等について調査し、理化学的に清浄であることを報告した [1]。その後、入善町が平成13年秋に、新エネルギー産業技術総合開発機構（NEDO）が平成14年12月に、それぞれ新たな深層水取水施設の本格稼動を開始したのを機に、富山県水産試験場深層水を含めた3深層水の調査を行った。近年、深層水の健康飲料等食品への利用が増加しているため、調査は、前回の検査項目の他に、食品衛生法に掲げられた「飲用適の水」の要件に係る項目およびミネラルウォーター類原料適合要件に係る項目を追加して行った。

材料および方法

調査試料；入善深層水については、原水（揚水ポ

ンプ直前で採水）、大口原水（大口原水給水栓にて採水）、小口原水（原水を50 μ および5 μ のフィルターおよびAUF膜でろ過したもので、小口原水給水栓にて採水）、脱塩水（小口原水を逆浸透膜で処理したもので、透過脱塩水給水栓にて採水）、濃縮水（小口原水を逆浸透膜で処理したもので、濃縮水給水栓にて採水）の5種類の水について調査した。水産試験場深層水については、原水（深層水受水槽に流入する直前で採水）、小口原水（深層水受水槽から配水された深層水で、分水施設小口分水給水栓にて採水）の2種類の水について調査した。NEDDO深層水については、原水（揚水施設揚水ポンプ直前で採水）を調査した。

調査期間；入善深層水は、平成13年8月～平成15年2月、水産試験場深層水およびNEDDO深層水は、平成14年2月～平成15年2月であり、採水日および調査項目は表1に示した。

検査項目および検査方法等；主要成分・微量金属成分等（表2のとおりで、株ゼオン高岡分析センターに分析依頼）、揮発性有機化合物（21項目、前報参照）、農薬類（37項目、前報参照）、環境汚染物質（16項目、前報参照）

表 1. 採水日及び調査項目

採水年月日	試料の種類	調査内容						
		主要成分等(1)	主要成分等(2)	揮発性化合物(1)	揮発性化合物(2)	農薬類(1)	農薬類(2)	環境汚染物質
H13.8.30	入善深層水	○						
H13.11.27	入善深層水	○						
H14.2.6	入善深層水	○						
	入善深層水大口		○					
	入善深層水小口		○					
	入善深層水脱塩		○					
	入善深層水濃縮		○					
	入善深層水濃縮		○					
	水産試験場深層水小口		○					
	水産試験場深層水		○					
H14.5.21	入善深層水		○					
	入善深層水小口		○					
	入善深層水脱塩							
	入善深層水濃縮							
H14.7.24	入善深層水		○					
H14.8.29	入善深層水				○			
	入善深層水小口				○			○
	入善深層水脱塩							
	入善深層水濃縮							
H14.12.4	入善深層水		○					
	入善深層水小口		○					
	入善深層水脱塩							
	入善深層水濃縮							
	水産試験場深層水小口		○					
	NEDO深層水		○					
H15.2.5	入善深層水		○					
	入善深層水小口		○					○
	入善深層水脱塩							
	入善深層水濃縮							
	水産試験場深層水小口		○					
	NEDO深層水		○					
	NEDO深層水		○					

注) 主要成分等(1)：主要成分及び微量金属成分等(表-2中の全項目)
 主要成分等(2)：主要成分及び微量金属成分等(表-2中のNo.1~42)
 揮発性化合物(1)：揮発性有機化合物(水道法基準項目16項目)
 揮発性化合物(2)：揮発性有機化合物(水道法監視項目5項目)
 農薬類(1)：農薬類(水道法基準項目3項目)
 農薬類(2)：農薬類(水道法監視項目でオキソロン体を含め15項目およびゴルフ場使用農薬19項目)
 ○印は調査実施を示す

表2. 主要成分・微量金属成分等の分析項目及び分析方法

No.分析項目	単位	分析方法	定量下限値	基準値(指針値)		
				水道法 ^{a)}	飲用適の水 ^{b)}	ミネラルウォーター ^{c)}
1 溶存酸素	DO	mg/L ینگラー・アジ化ナトリウム変法	0.1			
2 全有機炭素	TOC	mg/L JIS K 0101.20.1(TOC計)	0.5			
3 全窒素	T-N	mg/L JIS K 0102.45.4(ベロキソニ硫酸カリウム分解、Cu・Cd還元法)	0.05			
4 アンモニア性窒素	NH ₄ ⁺ -N	mg/L JIS K 0102.42.1及び42.2(蒸留-イットフェノール青吸光度法)	0.05			
5 硝酸性窒素	NO ₃ ⁻ -N	mg/L JIS K 0102.43.2.3(銅・ホトミチウム還元法)	0.05	10以下	10以下	10以下
6 亜硝酸性窒素	NO ₂ ⁻ -N	mg/L JIS K 0102.43.1.1(ナフチルエチレンジアミン吸光度法)	0.02			
7 溶性珪酸	SiO ₂	mg/L JIS K 0101.44.1(吸光度法)	0.1			
8 全磷	P	mg/L JIS K 0102.46.3.1(ベロキソニ硫酸カリウム分解法)	0.003			
9 無機体炭素	HCO ₃ ⁻ -C	mg/L JIS K 0101.25.2(TOC計)	1			
10 塩素イオン	Cl ⁻	mg/L JIS K 0102.35.1(硝酸銀滴定法)	10	200以下	200以下	
11 ナトリウム	Na	mg/L JIS K 0101.47.4(イオンクロマトグラフ法)	10	200以下		
12 マグネシウム	Mg	mg/L イオンクロマトグラフ法	10			
13 硫酸イオン	SO ₄ ²⁻	mg/L JIS K 0101.42.4(イオンクロマトグラフ法)	10			
14 カルシウム	Ca	mg/L JIS K 0101.15.2.1(キレート滴定法)	1			
15 カリウム	K	mg/L JIS K 0101.48.3(イオンクロマトグラフ法)	1			
16 臭素イオン	Br ⁻	mg/L JIS K 0101.34.2(イオンクロマトグラフ法)	10			
17 ストロンチウム	Sr	mg/L ICP-MS法(200倍希釈)	0.1			
18 ホウ素	B	mg/L JIS K 0102.47.1(チレンブルー吸光度法)	0.5	(1以下)		30以下
19 フッ素	F	mg/L JIS K 0102.34.1(ランタン・トリチウムリンゴリウム吸光度法)	0.1	0.8以下	0.8以下	2以下
20 リチウム	Li	mg/L ICP-MS法(200倍希釈)	0.1			
21 ルビジウム	Rb	mg/L ICP-MS法(200倍希釈)	0.1			
22 ヨウ素イオン	I ⁻ , IO ₃ ⁻	mg/L Br酸化-I ₂ ⁻ 吸光度法	0.02			
23 モリブデン	Mo	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002	(0.07以下)		
24 亜鉛	Zn	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002	1.0以下	1.0以下	5以下
25 ヒ素	As	mg/L JIS K 0102.61.2(水素化物発生原子吸光法)	0.0005	0.01以下	0.05以下	0.05以下
26 アルミニウム	Al	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002			
27 鉄	Fe	mg/L JIS K 0102.57.3(FLAA法)	0.002	0.3以下	0.3以下	
28 バリウム	Ba	mg/L ICP-AES法	0.005			1以下
29 バナジウム	V	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002			
30 ニッケル	Ni	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002	(暫定0.01以下)		
31 クロム	Cr	mg/L JIS K 0102.65.1.3(FLAA法)	0.0002	Cr ⁶⁺ 0.05以下	Cr ⁶⁺ 0.05以下	Cr ⁶⁺ 0.05以下
32 マンガン	Mn	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002	0.05以下	0.3以下	2以下
33 セレン	Se	mg/L JIS K 0102.67.2(水素化物発生原子吸光法)	0.0002	0.01以下		0.01以下
34 コバルト	Co	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002			
35 ゲルマニウム	Ge	mg/L ICP-MS法(200倍希釈)	0.01			
36 銅	Cu	mg/L キレックス濃縮-FLAA法	0.00004	1.0以下	1.0以下	1以下
37 スズ	Sn	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002			
38 鉛	Pb	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002	0.05以下	0.1以下	0.05以下
39 水銀	Hg	mg/L JIS K 0102.66.1.1(還元気化-原子吸光法)	0.00004	0.0005以下	0.0005以下	0.0005以下
40 カドミウム	Cd	mg/L キレックス濃縮-ICP-MS法	0.00002	0.01以下	0.01以下	0.01以下
41 pH	-	JIS K 0102.12.1(ガラス電極法)	-	5.8~8.6	5.8~8.6	
42 水温	℃	JIS K 0102.7.2	-			
43 シアン	mg/L	吸光度法	0.01	0.01以下	0.01以下	0.01以下
44 COD	mg/L	過マンガン酸カリウムによる消費酸素測定	0.5			
45 カルシウム、マグネシウム(硬度)	mg/L	滴定法		300以下	300以下	
46 蒸発残留物	mg/L	重量法		500以下	500以下	
47 フェノール類	mg/L	吸光度法	0.005	0.005以下	0.005以下	
48 陰イオン界面活性剤	mg/L	吸光度法	0.02	0.2以下	0.5以下	
49 味		官能法		異常でないこと	異常でないこと	
50 臭気		官能法		異常でないこと	異常でないこと	
51 色度	度	比色法		5以下	5以下	
52 濁度	度	積分球式光電光度法	0.1	2以下	2以下	
53 有機リン	mg/L	固相抽出-GC (FPD)法	0.004		0.1以下	
54 硫化物	mg/L	吸光度法	0.04			0.05以下

a) 水道法基準項目の基準値、()内は同法監視項目の指針値

b) 食品衛生法「飲用適の水」の基準値

c) 食品衛生法「ミネラルウォーター」の基準値

結果および考察

1. 主要成分・微量金属成分等

各試料の分析結果を表3に示した。なお、水産試験場深層水原水の前回の分析結果(平成8年から10年に行った隔月計12回の分析の平均値のみ)も合わせて示した。

(1) 入善深層水

主要成分(1mg/L以上のもので、No.9~19)の季節変動を図1に示した。変動係数の一番高い成分(No.9無機体炭素)でも8.8%であり、極めて安定していることが分かった。

中間濃度成分(概ね0.001mg/L~1mg/Lのもので、No.20~28)の季節変動を図2に示した。リチウム、ルビジウムおよびヨウ素イオンは変動係数10%未満と安定しており、他の成分も変動係数は10%以上ではあるものの、分析値のオーダーで見ればほぼ安定していると考えられる。

微量金属成分(概ね0.0001mg/L~0.001mg/Lのもので、No.29~40)の季節変動を図3に示した。ただし、セレン、ゲルマニウム、スズおよびカドミウムは、いずれの調査日においても不検出であったので含まれていない。変動係数はすべて20%以上と高く、また検出されなかった調査日もあるが、定量下限付近での分析であることを考慮すれば、ほぼ安定しているものと思われる。

栄養塩類関連成分(No.3~8)の季節変動を図4に示した。ただし、アンモニア性窒素および亜硝酸性窒素はいずれの調査日においても不検出であったので含まれていない。溶性珪酸の変動係数は12.8%とやや高かったが、他はすべて10%未満であり、ほぼ安定していることが分かった。なお、全窒素の約9割が硝酸性窒素であり、硝化がかなり進んでいることが分かった。

入善深層水の取水位置と水産試験場深層水のそれとの距離は約20kmである。また、深度はそれぞれ384mおよび321mで若干差がある。そこで、入善深層水原水の分析結果と水産試験場深層水原水の前回の分析結果を比較した。[平均値の差の検定](危険率1%)を行ったところ、主要成分では平均値に差は認められなかった。中間濃度成

分では亜鉛およびアルミニウムに、微量成分ではマンガンに差が認められ、いずれも入善深層水の方が低濃度であった。これらの差が深層水そのものの差なのか、あるいは配管等に由来するものかは現在のところ不明であり、今後の検討課題としたい。栄養塩類関連成分については、近年、短時間あるいは短期間での変動があることが報告[2-5]されているので、これらの成分の比較は省略した。その他、溶存酸素、全有機炭素およびpHには差が認められなかった。全体的に見れば、両者にはほとんど差がないものと考えられる。

(2) 水産試験場深層水小口原水およびNEDO深層水原水

水産試験場深層水の取水位置と、NEDO深層水のそれとの距離は約100mである。後者の深度は333mである。これらの深層水の分析値についても、水産試験場深層水原水の前回の分析値と比較した。水産試験場深層水小口原水およびNEDO深層水原水の調査期間中の分析回数は2回だけなので、水産試験場深層水原水の前回の分析値との比較は、各々の分析値の平均値の比の値によった。

水産試験場深層水小口原水の分析値の平均値(a)と水産試験場深層水原水の前回の分析値の平均値(c)の比の値(a/c)を調べたところ、主要成分では、比の値は0.96~1.04(平均1.00)となり、両深層水の平均値はほとんど一致した。

中間濃度成分では、比の値は0.29~1.16(同0.86)となり、分析値のオーダーレベルで見れば、両深層水の平均値は同程度と考えられる。

微量金属成分のうちの検出された成分では、比の値は0.31~1.25(同0.71)となった。定量下限付近での分析であることを考慮すれば、両深層水の平均値は同程度と考えてよいと思われる。

その他、溶存酸素およびpHの比の値はそれぞれ1.36、1.01であり、両深層水の平均値は同程度と考えられる。また、全有機炭素の比の値は2.09である。この成分の分析値は、以前の調査でも変動が大きく(変動係数55.5%)、この比の値についての現時点での評価は困難であり、今後さらに動向を調査検討する必要があると考えられる。

表3. 主要成分・微量金属成分等の分析結果

No.	分析項目	単位	入善深層水原水			入善深層水 小口原水
			平均	SD	CV(%)	
			(No. 1~42, n=7) (No. 43~54, n=3)			
1	溶存酸素	DO mg/L	7.0	0.3	4.5	9.3
2	全有機炭素	TOC mg/L	2.3	0.6	26.8	2.8
3	全窒素	T-N mg/L	0.39	0.03	7.6	0.37
4	アンモニア性窒素	NH ₄ ⁺ -N mg/L	<0.05			<0.05
5	硝酸性窒素	NO ₃ ⁻ -N mg/L	0.35	0.02	5.0	0.37
6	亜硝酸性窒素	NO ₂ ⁻ -N mg/L	<0.02			<0.02
7	溶性珪酸	SiO ₂ mg/L	2.9	0.4	12.6	3.0
8	全燐	P mg/L	0.059	0.004	6.3	0.057
9	無機体炭素	HCO ₃ ⁻ -C mg/L	28	2	8.8	27
10	塩素イオン	Cl ⁻ mg/L	19,243	151	0.8	19,200
11	ナトリウム	Na mg/L	10,786	90	0.8	10,900
12	マグネシウム	Mg mg/L	1,304	11	0.9	1,330
13	硫酸イオン	SO ₄ ²⁻ mg/L	2,683	29	1.1	2,720
14	カルシウム	Ca mg/L	407	15	3.7	410
15	カリウム	K mg/L	383	8	2.0	400
16	臭素イオン	Br ⁻ mg/L	66	0	0.7	68
17	ストロンチウム	Sr mg/L	8.2	0.3	4.0	6.9
18	ホウ素	B mg/L	4.9	0.3	6.2	3.6
19	フッ素	F mg/L	1.2	0.1	6.8	1.1
20	リチウム	Li mg/L	0.20	0.02	8.8	0.17
21	ルビジウム	Rb mg/L	0.13	0.01	8.1	0.10
22	ヨウ素イオン	I ⁻ , IO ₃ ⁻ mg/L	0.07	0.00	7.3	0.07
23	モリブデン	Mo mg/L	0.0070	0.0022	31.4	0.0039
24	亜鉛	Zn mg/L	0.0015	0.0003	18.1	0.0008
25	ヒ素	As mg/L	0.0022	0.0005	22.8	0.0023
26	アルミニウム	Al mg/L	0.0016	0.0008	47.9	0.0003
27	鉄	Fe mg/L	0.020	0.008	40.0	0.032
28	バリウム	Ba mg/L	0.009	0.004	48.8	<0.005
29	バナジウム	V mg/L	0.00085	0.00025	29.8	0.00064
30	ニッケル	Ni mg/L	0.00046	0.00013	28.8	0.00053
31	クロム	Cr mg/L	0.0008	0.00028	35.4	<0.0002
32	マンガン	Mn mg/L	0.00045	0.00021	47.3	0.00002
33	セレン	Se mg/L	<0.0002			<0.0002
34	コバルト	Co mg/L	0.00003	0.00001	40.8	0.00003
35	ゲルマニウム	Ge mg/L	<0.01			<0.01
36	銅	Cu mg/L	0.00014	0.00005	37.8	0.00044
37	スズ	Sn mg/L	<0.00002			<0.00002
38	鉛	Pb mg/L	0.00008	0.00005	66.1	0.00003
39	水銀	Hg mg/L	<0.00004			<0.00004
40	カドミウム	Cd mg/L	0.00004	0.00003	66.1	<0.00002
41	pH	—	7.6	0.1	1.8	7.6
42	水温	°C	4.9	2.3	47.4	7.9
43	シアン	mg/L	<0.01			<0.01
44	COD	mg/L	0.8			0.6
45	カルシウム、マグネシウム等(硬度)	mg/L	6,430			6,500
46	蒸発残留物	mg/L	38,000			38,000
47	フェノール類	mg/L	<0.005			<0.005
48	陰イオン界面活性剤	mg/L	<0.02			<0.02
49	味		塩味			塩味
50	臭気		異常なし			異常なし
51	色度	度	0			0
52	濁度	度	<0.1			<0.1
53	有機りん	mg/L	<0.004			<0.004
54	硫化物	mg/L	<0.04			<0.04

表3のつづき

No.	入善深層水 脱塩水	入善深層水 濃縮水	水産試験場深層水 小口原水平均(a) (No. 1~54, n=2)	NEDO深層水 原水平均(b) (No. 1~42, n=2) (No. 43~54, n=1)	水産試験場深層水 原水H8~H10の 平均(c) (No. 1~42, n=12)	(a)/(c)	(b)/(c)
1	11.3	7.9	10.3	7.4	7.6	1.36	0.98
2	1.2	3.0	3.5	3.2	1.7	2.09	1.91
3	<0.05	0.66	0.38	0.39	0.31		
4	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		
5	<0.05	0.66	0.35	0.35	0.26		
6	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02		
7	<0.02	4.2	2.8	2.8	2.5		
8	<0.003	0.088	0.055	0.058	0.056		
9	1	38	27	26	26	1.04	1.00
10	46	28,400	19,300	19,400	19,333	1.00	1.00
11	26	15,700	10,850	10,850	10,725	1.01	1.01
12	3	1,940	1,320	1,315	1,304	1.01	1.01
13	4	3,940	2,695	2,685	2,636	1.02	1.02
14	1	600	400	410	412	0.97	1.00
15	1	540	365	350	374	0.98	0.94
16	0	99	67	66	66	1.02	1.00
17	0.0	11.0	7.8	7.7	8.1	0.96	0.94
18	1.6	6.7	4.6	5.1	4.7	0.98	1.07
19	<0.08	1.5	1.2	1.2	1.1	1.01	1.06
20	<0.0005	0.27	0.18	0.18	0.19	0.94	0.94
21	<0.0005	0.18	0.12	0.12	0.13	0.92	0.96
22	<0.02	0.09	0.08	0.07	0.06	1.16	1.08
23	<0.00002	0.0045	0.0059	0.0079	0.0053	1.12	1.49
24	0.0001	0.0008	0.0012	0.0015	0.0022	0.55	0.67
25	0.0008	0.0029	0.0020	0.0020	0.0025	0.81	0.79
26	0.0009	0.0002	0.0022	0.0029	0.0073	0.29	0.39
27	0.009	0.023	0.021	0.023	0.018	1.14	1.25
28	<0.005	0.0060	0.008	0.012	0.010	0.83	1.19
29	<0.00002	0.00063	0.00070	0.00060	0.00099	0.70	0.61
30	0.00007	0.0021	0.00045	0.00031	0.00053	0.84	0.59
31	<0.0002	0.0006	<0.0002	<0.0002	0.0007		
32	0.00003	0.00017	0.00041	0.00049	0.0013	0.31	0.37
33	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002		
34	<0.00002	0.00007	0.00003	0.00003	0.00004	0.64	0.64
35	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		
36	<0.00004	0.00011	0.00008	0.00025	0.00013	0.63	1.95
37	<0.00002	<0.00002	<0.00002	<0.00002	<0.00002		
38	<0.00002	<0.00002	0.00004	0.00007	0.00003	1.25	2.03
39	<0.00004	<0.00004	<0.00004	<0.00004	<0.00004		
40	<0.00002	<0.00002	0.00003	0.00003	0.00005	0.60	0.60
41	5.8	7.5	7.7	7.8	7.6	1.01	1.03
42	11.6	12.0	5.3	3.8	2.9	1.83	1.31
43	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01			
44	<0.5	1.5	0.9	1.0			
45	13	9,490	6,460	6,400			
46	82	55,000	38,000	39,000			
47	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005			
48	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02			
49	無味	塩味	塩味	塩味			
50	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし			
51	0	0	0	0			
52	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			
53	<0.004	<0.004	<0.004	<0.004			
54	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04			

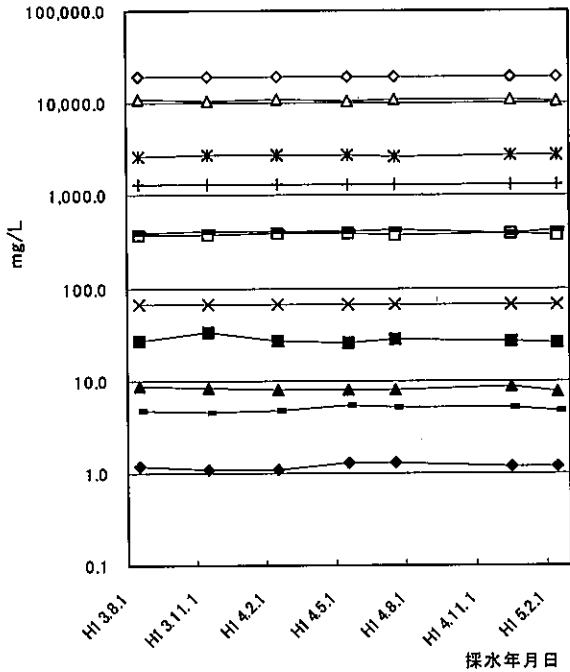


図1. 入善深層水の主要成分の季節変動

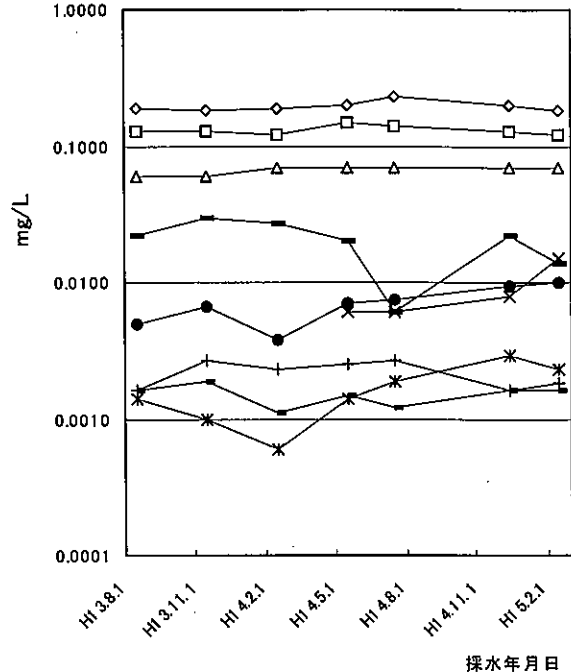
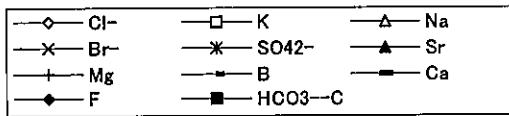


図2. 入善深層水の間中濃度成分の季節変動

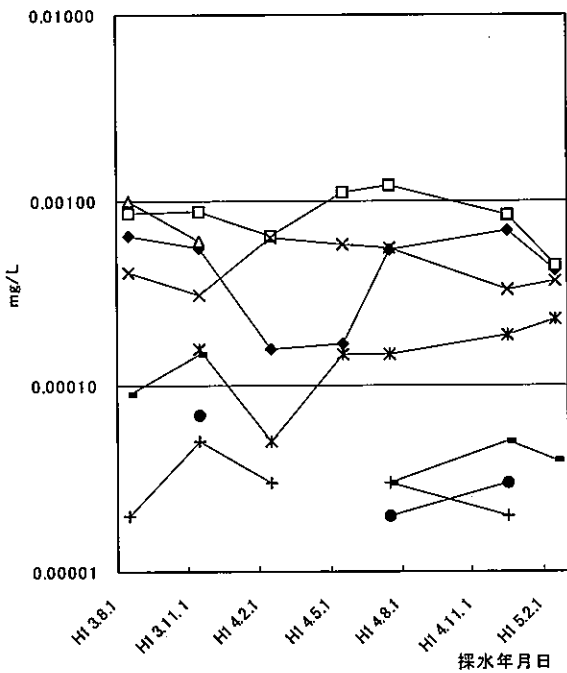
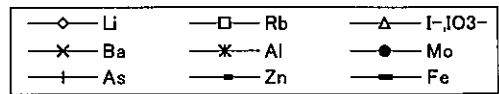


図3. 入善深層水の微量金属成分の季節変動

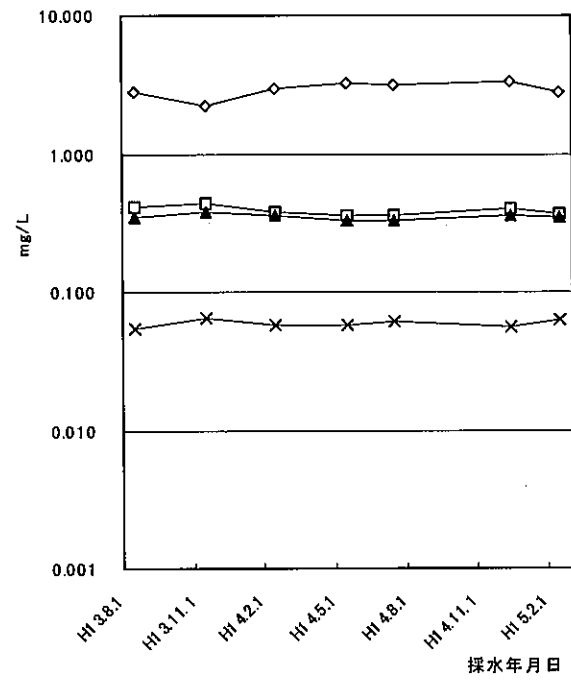
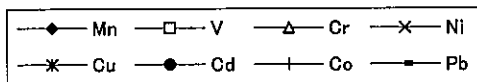
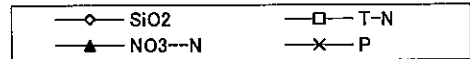


図4. 入善深層水の栄養塩類の季節変動



以上の結果から、全体的に見れば、水産試験場深層水小口原水の分析値の平均値と水産試験場深層水原水の前回の分析値の平均値には、ほとんど差がないと考えられる。

一方、NED 深層水の分析値の平均値 (b) についても、水産試験場深層水小口原水と同様に比の値 (b/c) を調べたところ、主要成分では0.94～1.07 (平均1.00)、中間濃度成分では0.39～1.49 (同0.97)、微量金属成分では0.37～2.03 (同0.97) であった。その他、溶存酸素、pH および全有機炭素の比の値はそれぞれ0.98、1.03、1.91であった。以上の結果から、NEDO 深層水の分析値の平均値も、水産試験場深層水原水の前回の分析値の平均値とほとんど差がないと考えられる。

(3) 飲用、食品への使用

No. 43～54は、飲用あるいは食品への使用を考慮して追加した検査項目である。入善深層水の5種類の水、水産試験場深層水小口原水およびNEDO 深層水の分析結果を、水道法あるいは食品衛生法の基準値等と比較してみると、脱塩水以外は、塩素イオン、ナトリウム、フッ素、硬度および蒸発残留物が水道法水質基準値を超えていた。また、すべての試料でホウ素が水道法監視項目の指針値を超えていた。このうちフッ素およびホウ素は健康に関する項目であるが、食品衛生法の「ミネラルウォーター」の基準値は超えておらず、その他は水道水（飲料水）が有すべき性状に関連する項目である。以上のことから、主要成分・微量金属成分等でみる限り、食品の原材料として使用しても支障ないものと考えられる。

2. 揮発性有機化合物・農薬類・環境汚染物質

入善深層水原水、水産試験場深層水小口原水およびNEDO 深層水原水は、揮発性有機化合物21項目、農薬類37項目、環境汚染物質16項目のすべてについて検査した。また、入善深層水の大口原水、小口原水、脱塩水および濃縮水は、揮発性有機化合物21項目および農薬類3項目のみについて、水産試験場深層水原水は揮発性有機化合物16項目、農薬類3項目のみについて検査した。いずれの採水日の試料においてもこれらの有機成分は不検出（定量下限値未満）であった。すなわち、これらの有機成分に関しても水道法および食品衛生法の基準値または指針値（関係法令参照）を超えておらず、食品の原材料として使用しても支障ないものと考えられる。

文 献

1. 高柳信孝, 大浦 敏, 齊藤行雄, 山本 敦, 小玉修嗣, 健名智子, 大戸幹也, 松永明信 (1999). 富山衛研年報, 22, 209-214.
2. 深見公雄, 松本 純, 門田 司, 中野雄也, 西島敏隆 (2000). 海深研, 1 (1), 27-31.
3. 木下淳司, 近 磯晴, 宮原 司 (2002). 海深研, 3 (1), 7-13.
4. 豊田孝義, 中島利光, 黒山順二 (1998). 海洋深層水利用研究会高知大会講演要旨集, 24-25
5. Watanabe, M., Ohtsu, J and Ohtsuki, A. (2000). J. Oceanography, 56, 553-558.

平成14年度食品衛生（理化学）検査機関の 精度管理調査について

大戸 幹也 齊藤 行雄 松永 明信 坂森 寛治

Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice
in Toyama Prefecture

Mikiya OHTO, Yukio SAITO, Akinobu MATSUNAGA and Kanji SAKAMORI

本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱に基づき、平成11年度から県内の公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を実施している [1]。今年度は、昨年度 [2] に引き続いて牛乳の成分規格試験について実施し、新たに比重試験を加え、酸度、乳脂肪分を合わせた3項目の調査を行った。検査機関から送られた検査結果を集計・解析し、評価を行った結果を報告する。

調 査 方 法

- (1)実施期間：平成14年1月27日～2月14日（測定期間：平成14年1月27日～1月31日）。
- (2)対象および調査項目：昨年度に同じ。ただし比重項目を追加。
- (3)検査試料：試料配布日（1月27日）に購入した同一ロットの市販牛乳（品質保持期限：平成14年2月1日、紙パック200mL包装品）
- (4)測定方法及び検査結果等の処理：各検査機関で各調査項目をそれぞれ標準作業書に従って5回の併行測定した結果（比重は小数点以下4桁まで、酸度は小数点以下3桁まで、乳脂肪分は小数点以下2桁まで求めるもの）について、検査経過の記録等と合わせて当所で解析した。

結 果

(1) 比重

比重の集計結果をまとめて表1に示した。各検査機関の測定平均値（ \bar{x} 値）の最大値は1.03302、最小値は1.03182、その平均値（全機関平均値： $\bar{\bar{x}}$ 値）±標準偏差（SD）は、 1.03235 ± 0.000522 であった。機関間の変動係数（CV）（ \bar{x} 値のばらつき）は、0.0506%と比較的小さい値が得られ、機関間のばらつきは小さかった。各機関内の併行測定におけるCV（機関内CV）は0.00433～0.0210%の範囲にあった。

仮に $\bar{\bar{x}}$ 値である1.03235を真値とした場合、最も \bar{x} 値が低い機関の誤差率（真値に対する誤差の百分率）は-0.052%、最も \bar{x} 値が高い機関の誤差率は0.065%であり、それぞれその絶対値の値は小さく、「良好」であった。 \bar{x} -R管理図 [3, 4] を作成して図1に示したが、 \bar{x} 管理図においては、全ての機関の \bar{x} 値が $\bar{\bar{x}}$ 値から $\pm 2 \times SD$ の範囲内にあり、「良好」であった。R管理図からは、B機関のR値が高い傾向であったが、全ての機関が上方管理限界（UCL）以内であり、問題はなかった。また、全ての機関のzスコアの絶対値は2以内であり、全機関が「充分管理されている」と判断できた。

(2) 酸度 (乳酸重量%)

酸度の集計結果をまとめて表2に示した。検査機関の \bar{x} 値の最大値は0.1200(%), 最小値は0.1068(%), \bar{x} 値 \pm SDは, 0.1137(%) \pm 0.00526(%), 変動係数(CV%)は, 4.62%, 各機関の機

表1. 比重集計結果

検査機関名	測定平均値 (%)	変動係数 (%)	測定値範囲 (%)
A	1.03182	0.00811	0.0002
B	1.03202	0.0210	0.0005
C	1.03208	0.00433	0.0001
D	1.03218	0.0106	0.0003
E	1.03300	0.00968	0.0002
F	1.03302	0.00810	0.0002
平均値	1.03235	0.01031	0.00025
標準偏差(SD)	0.000522	—	—
変動係数(CV%)	0.0506	—	—

表2. 酸度集計結果

検査機関名	測定平均値 (%)	変動係数 (%)	測定値範囲 (%)
A	0.1068	0.78	0.002
B	0.1092	0.77	0.002
C	0.1132	0.40	0.001
D	0.1140	0.88	0.002
E	0.1192	0.70	0.002
F	0.1200	0	0.000
平均値	0.1137	0.59	0.0015
標準偏差(SD)	0.00526	—	—
変動係数(CV%)	4.62	—	—
昨年度(A~F)			
平均値	0.1129	1.33	0.0037
SD	0.00680	—	—
CV%	6.00	—	—

表3. 乳脂肪分集計結果

検査機関名	測定平均値 (%)	変動係数 (%)	測定値範囲 (%)
A	3.940	1.39	0.10
B	3.994	0.49	0.05
C	4.000	0	0.00
D	4.004	0.49	0.04
E	4.028	0.90	0.08
F	4.084	0.28	0.03
平均値	4.008	0.59	0.05
標準偏差(SD)	0.0471	—	—
変動係数(CV%)	1.174	—	—
昨年度(A~F)			
平均値	4.071	1.24	0.108
SD	0.106	—	—
CV%	2.60	—	—

関内 CV は0.88%の範囲内にあり, 小さくかつ良好な値と考えられた。誤差率については, \bar{x} 値である0.1137(%), を真値とした場合, 各機関の誤差率は-6.1%から5.5%にあり, \pm 10%の範囲内にあり「良好」と評価できた。z-スコアについても全ての機関が2以内であり「良好」と評価できた。

\bar{x} -R管理図を図2に示した。 \bar{x} 管理図から, 検査機関全ての \bar{x} 値が \bar{x} 値から $\pm 2 \times SD$ の範囲内にあって, 管理状態は「良好」と判断できた。またR管理図からも, 全ての機関のR値はUCL以内であり, 管理状態は「良好」と判断できた。

ところで, 昨年度報告値を再集計し今年度の結果と比較した。昨年度の集計値をまとめて表2に示したが, \bar{x} 値 \pm SDが0.1129 \pm 0.00680(%), 機関間のCVは, 6.00%であった。今年度は昨年度より, \bar{x} 値の機関間SDが0.0015(%), 減少し, 機関間のCVは, 1.38%減少した。また機関内CVについてもその平均は, 0.74%の減少(昨年度1.33%, 今年度0.59%), 機関内測定値範囲についてもその平均は, 0.0022(%), 減少した[昨年度0.0037(%), 今年度0.0015(%)]. 更に図2には, 昨年度からの値の変化も示したが, \bar{x} 管理図では, 昨年 \bar{x} から最もはずれた三機関全ての \bar{x} 値が \bar{x} 値に近づいた。また, R管理図では, 昨年度UCL管理線を超えたD機関は, 今年度はR値が1/2減少して管理限界範囲内に収まった。これらの点は, 各検査機関の検査習熟度が上昇した結果を反映したものと考えられた。

(3) 乳脂肪分

乳脂肪分の集計結果をまとめて表3に示した。検査機関の \bar{x} 値の最大値は4.084(%), 最小値は3.940(%), \bar{x} \pm SDは, 4.008 \pm 0.0471(%), 機関間のCVは, 1.17%と比較的小さい値が得られ, 機関間のばらつきは小さかった。各機関内の併行測定における機関内CVは, 1.39%の範囲内にあり, 小さくかつ良好な値と考えられた。誤差率については, \bar{x} 値である4.008(%), を真値とした場合, 各機関の誤差率は-1.7%~1.9%の範囲内にあり, \pm 10%の範囲内にあり「良好」と評価できた。z-スコアについても全ての機関が2以

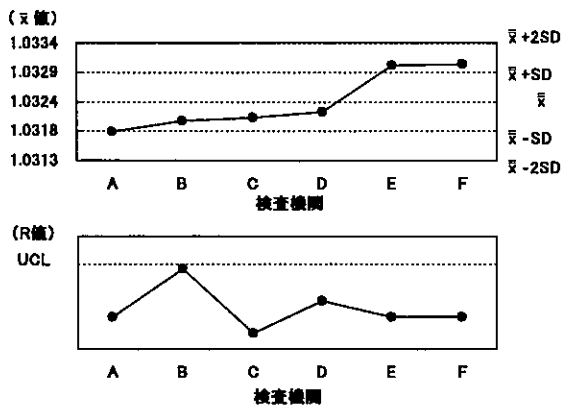


図1. 比重の \bar{x} -R 管理図

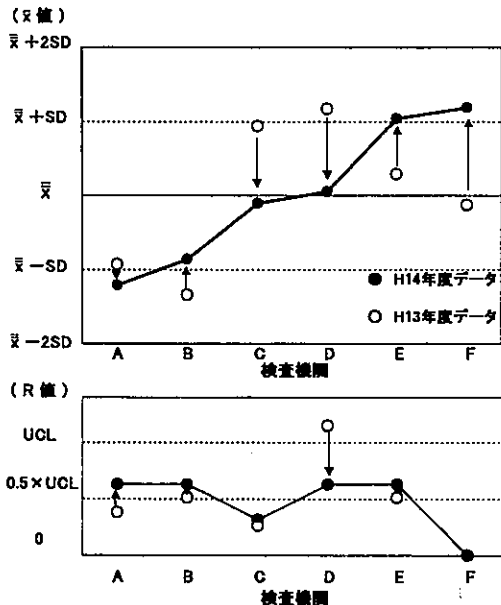


図1. 酸度の \bar{x} -R 管理図

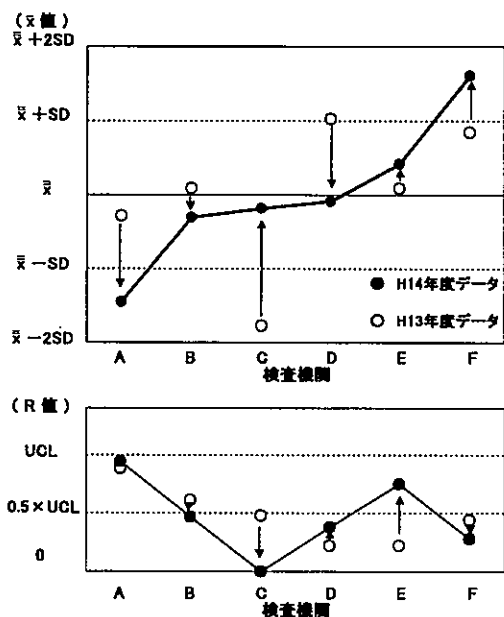


図3. 乳脂肪分の \bar{x} -R 管理図

内であり「良好」と評価できた。

\bar{x} -R管理図を図3に示した。 \bar{x} 管理図では、検査機関全ての \bar{x} 値が、 \bar{x} 値から $\pm 2 \times SD$ の範囲内にあり、R管理図では、検査機関全てのR値がUCL以内であり、管理状態は「良好」と判断できた。

酸度と同様に昨年度の結果と比較した。昨年度の集計値をまとめて表3に示したが、 \bar{x} 値 $\pm SD$ は $4.071 \pm 0.106(\%)$ 、機関間のCVは、2.60%であった。 \bar{x} 値の機関間SDは0.059(%)減少して1/2以下に、機関間のCVについても1.43%減少して同じく1/2以下となった。また機関内CVについてもその平均は、0.65%減少した[昨年度1.24%、今年度0.59%]。更に図3に昨年度からの値の変化も示したが、 \bar{x} 管理図では、昨年度最も \bar{x} 値から外れた二機関が今年度は最も \bar{x} 値に近づく結果が得られた。R管理図では、見かけ上大きな変化は見られていないが、6機関中5機関のR値が減少しており、 \bar{R} 値は昨年と比較すると約1/2に減少した[昨年度0.108、今年度0.050]。以上のこれらの点は各検査機関の検査習熟度が上昇した結果を反映したものと考えられた。

全検査機関の管理状況は、調査した全ての項目で「良好」である結果が得られた。検査員の異動(6人中3人)により検査経験年数の平均が3年から2年に減少したが、酸度と乳脂肪分の結果は、今年度の成績の方が良好であった。今年度は、調査の前に検査器具の洗浄方法や検査実施上の留意点等の質問が当所に多く寄せられた。各検査機関の検査精度向上への意識や姿勢が良好な成績を引き出したものと考えられた。このように精度管理を同じ項目で2年続けることは、検査習熟度を上げ、検査精度向上の効率性につながるものと考えられた。今回の調査は、試験操作上の基本作業も多く、他の衛生試験に関する精度の向上にも大きく寄与しているものと考えられた。

文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食第1,229号. 平成10年12月16日
2. 齊藤行雄, 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2001). 富山衛研年報, 189-193.
3. 日本水道協会 (2001). 上水試験法解説編. p19-29.
4. 日本規格協会 (1994). JIS Z 9021

平成14年度水道水質検査の精度管理事業について

健名 智子 高柳 信孝 松永 明信

External Quality Control of the Quantification of Lead,
Chloride Ion and Nitrate-nitrogen in Water

Tomoko KEMMEL, Nobutaka TAKAYANAGI
and Akinobu MATSUNAGA

富山県水道水質検査精度管理実施要領に基づく精度管理が、平成14年度は鉛および硝酸性窒素、塩素イオンの3項目について実施された。当所は配布試料の調製、参加機関の報告値の集計および解析を担当した。今回、その結果をまとめたので報告する。

調査方法

- (1)実施時期：平成15年1月17日～1月31日
- (2)参加機関：水道事業体1機関，水道用水供給事業体2機関，水道法第20条に規定する指定検査機関1機関，5保健所及び当所の計10機関で，県内の水道水質検査を実施する全機関が参加した。
- (3)検査項目：鉛および硝酸性窒素，塩素イオン
- (4)配布試料：鉛測定用試料は市販ミネラル水に鉛標準液及び超高純度硝酸（1Lにつき10ml）を添加して25L調製し，あらかじめ酸洗した2Lポリ瓶に小分けして配布した。この試料における鉛の濃度範囲は0.003～0.030mg/Lであると明示した。また硝酸性窒素及び塩素イオン測定用試料として1.5Lペットボトルを1本配布した。この試料における硝酸性窒素の濃度範囲は0.1～2.0mg/L，塩素イオンの濃度範囲は1.0～30.0mg/Lであると明示した。
- (5)検査方法及び検査結果：検査は日常の検査業

務と同じ方法を用い5回の併行測定を行うこととした。検査結果は鉛については小数点以下4桁，硝酸性窒素については小数点以下2桁，塩素イオンについては小数点以下1桁で記載することとした。

結 果

(1) 鉛

鉛については，県内の水質検査全10機関のうち7機関が参加し，またこのうち1機関が2通りの方法を使用し報告したことから，8検査機関として統計処理を行った。このうち検査方法としてフレイムレス原子吸光光度法を用いた機関は3機関，ICP法を用いた機関は2機関，ICP-MS法を用いた機関は3機関であった。

各機関から小数点以下4桁で報告された5回の併行測定値より，平均値を小数点以下4桁まで求め，各機関の測定値とした。この測定値を，小さい方から順に並べTable 1に示した。Table 1には測定結果のほか，測定方法，機器分析にかかる際の試料溶液と標準溶液の硝酸濃度等を併記した。

全機関の測定値の平均値±標準偏差は0.0104±0.00081mg/Lであった。この値からGrubbsの異常値検定（危険率5%）を行ったところ棄却される機関はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数は0.5～9.5%とすべての機関に

Table 1. Summary of Quantification of Lead

Laboratory No.	Concentration (mg/L) Mean value of 5 runs	CV(%)	Recovery ^{a)}	Method ^{b)}	Internal Standard	Pretreatment	HNO ₃ (v/v%) ^{c)} Sample	Standard
1	0.0098	1.9	0.94	ICP	○	10-fold concentration	10	10
2	0.0098	1.9	0.94	FLAA (peak area)		matrix modifier addition	1	1
3	0.0099	0.6	0.95	ICPMS	○	—	1	1
4	0.0101	0.9	0.97	ICPMS	○	—	1	1
5	0.0102	2.6	0.98	ICP		10-fold concentration	10	10
6	0.0103	0.5	0.98	ICPMS	○	—	1	1
7	0.0115	9.5	1.10	FLAA (peak height)		2-fold dilution + matrix modifier addition	2	1
8	0.0119	2.2	1.14	FLAA (peak area)	○	5-fold dilution + matrix modifier addition	0.2	0.2
Number of lab.	8	8	8					
Max(mg/L)	0.0119	9.5	1.14					
Min(mg/L)	0.0098	0.5	0.94					
Average(mg/L)	0.0104	2.51	1.000					
SD(mg/L)	0.00081	2.93	0.078					
CV(%)	7.8	—	—					

a) Recovery = Concentration/Average

b) FLAA : Flameless Atomic Absorption Spectrometry

ICP : Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry

ICPMS : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

c) HNO₃ concentration in solution provided for analysis

において10%未満であった。全機関の測定値の変動係数（室間変動係数）は7.8%と10%を下回っていた。

鉛については3年連続の精度管理である [1, 2]。今年度も、あらかじめ鉛濃度が0.001mg/L 未満であることを確認した市販ミネラル水に鉛標準液を添加し調製した。今年度用いた市販ミネラル水はマグネシウム1.7mg/L、カルシウム14.4mg/L、ナトリウム6.8mg/Lを含む。鉛濃度が0.010mg/Lになるよう鉛標準液を添加したが、測定値の平均値0.0104mg/Lは調整濃度の104%であった。

鉛の \bar{x} -R 管理図を Fig. 1 に示す。すべての機関の測定値は平均値±2標準偏差の範囲内に収まっていた。R 管理図において、機関No.7が UCL（上方管理限界）を超えていた。

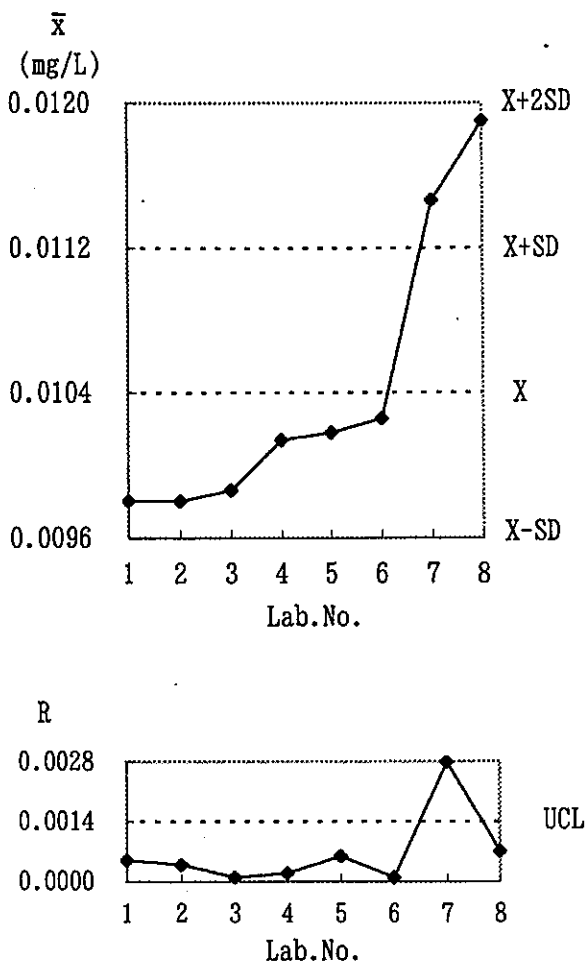


Fig. 1. \bar{x} -R Chart of Lead
 X: Average
 SD: Standard Deviation
 UCL: Upper Control Limit

鉛における z スコアの順位を Fig. 2 に示す。すべての機関において、|z-スコア|はすべて2未満で、「満足」と評価された。

測定値の平均値0.0104mg/を真の値と仮定し、回収率（=測定値/真の値）を求めると、Table 1 に示す通り、良好と判断される0.9~1.1となる範囲（0.0094~0.0114mg/L）に含まれた機関はNo.1-6の6機関であった。

報告された全測定値を検査方法ごとにまとめた結果を Table 2 に示す。ICP-MS 法による測定値の回収率が0.97、ICP 法による測定値の回収率が0.96であったのに対し、フレームレス原子吸光度法による測定値の回収率は1.06と高かった。

鉛の精度管理を振り返ってみる (Table 3) と、一昨年度は測定値の平均値の調製濃度に対する割合が79.6%と低く、また室間変動係数は26.8%と高かった。昨年度はフレームレス原子吸光度法を用いた機関がすべてマトリックス修飾剤（市販パラジウムマトリックス修飾剤）を使用したことにより、全体として調製濃度に対する割合は103%と改善されたが、室間変動係数は15.3%と10%を超えていた。これは、フレームレス原子吸光度法を用いる機関のうちデータ処理においてピーク高さ法を用いる機関の回収率が高いこと、物理干渉の影響により ICP 法を用いる機関の回収率が低かったことが原因と考えられた。

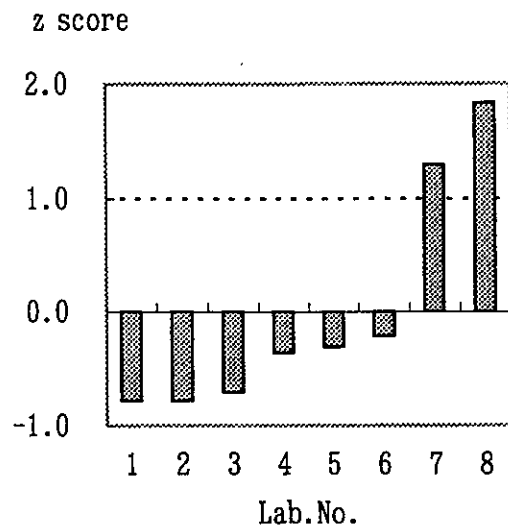


Fig. 2. Z-score Order of Lead

Table 2. Quantification of Lead by Three Different Methods

Method	Number of Data	Average (mg/L)	SD (mg/L)	CV (%)	Recovery
FLAA	15	0.0111	0.00112	10.2	1.06
ICP	10	0.0100	0.00030	3.0	0.96
ICPMS	15	0.0101	0.00018	1.8	0.97

FLAA:Flameless Atomic Absorption Spectrometry

ICP :Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry

ICPMS :Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

Table 3. Transition of the External Quality Control of Lead

year	2000	2001	2002
Number of Laboratories	10	10	8
Prepared Concentration (:P) (mg/L)	0.028	0.018	0.010
Average Concentration (:A) (mg/L)	0.0223	0.0186	0.0104
P/A (%)	79.6	103	104
Reproducibility CV (%)	26.8	15.3	7.8

今年度はICP法を用いる機関において、ICPにかける際の試料と標準液の硝酸濃度を等しく調整したことにより、全体として調製濃度に対する割合は104%、室間変動係数は7.8%と分析精度は向上した。しかし、フレイムレス原子吸光光度法を用いた機関のうち2機関(機関No. 7, 8)が回収率として良好と判断される0.9~1.1となる範囲を超えた。

昨年度の結果よりフレイムレス原子吸光光度法においてマトリックス修飾剤を添加した場合、データ処理においてピーク高さ法を用いると回収率が高くなると考えられるが、機関No. 7の用いている測定機器はピーク面積法に対応していない機種であった。機関No. 8はピーク面積法を用いていたが回収率は高い値を示した。この機関においては検体を5倍希釈して測定しているが、その検量線範囲が狭く更にブランクの応答値が高いため、

濃度の低い検体の測定に際し影響がでたものと考えられる。

(2) 硝酸性窒素及び塩素イオン

硝酸性窒素及び塩素イオンについては、県内の水質検査全10機関が参加し、すべての検査機関が検査方法としてイオンクロマトグラフ法を用いていた。

硝酸性窒素については各機関から小数点以下2桁で報告された5回の併行測定値より平均値を小数点以下2桁まで求め、塩素イオンについては各機関から小数点以下1桁で報告された5回の併行測定値より平均値を小数点以下2桁まで求め、それぞれ各機関の測定値とした。これらの測定値を、小さい方から順に並べ硝酸性窒素についてはTable 4に、塩素イオンについてはTable 5に示した。

硝酸性窒素の全機関の測定値の平均値±標準偏

Table 4. Summary of Quantification of Nitrate-nitrogen

Laboratory	Concentration (mg/L) Mean value of 5runs	CV(%)	Recovery (= Concentration/Average)
A	1.40	0.4	0.96
B	1.42	0.6	0.98
C	1.46	0.4	1.00
D	1.46	1.0	1.00
E	1.46	0.6	1.00
F	1.47	0.0	1.01
G	1.47	0.3	1.01
H	1.48	0.3	1.01
I	1.48	0.0	1.01
J	1.50	0.4	1.02
Number of lab.	12	12	10
Max(mg/L)	1.50	1.0	1.02
Min(mg/L)	1.40	0.0	0.96
Average(mg/L)	1.46	0.39	1.00
SD(mg/L)	0.027	0.29	0.019
CV(%)	1.9	—	1.9

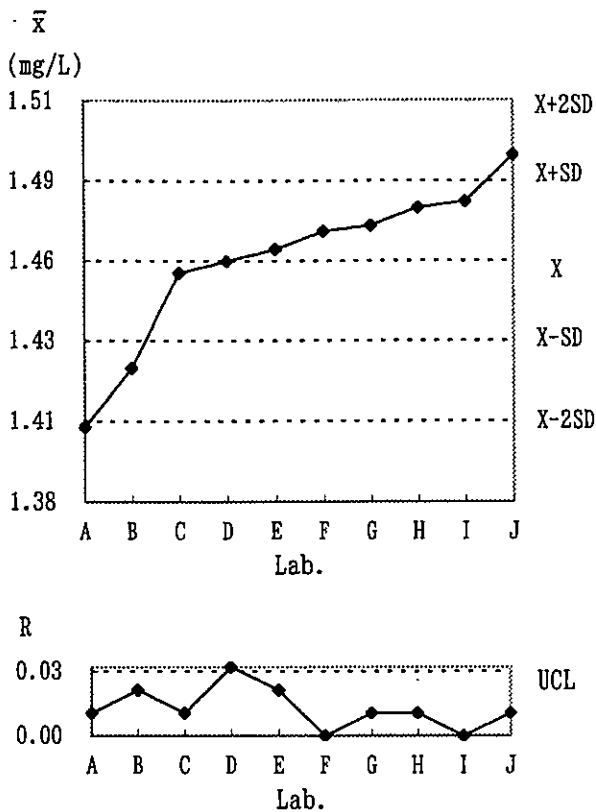


Fig. 3. \bar{x} -R Chart of Nitrate-nitrogen
 X: Average
 SD: Standard Deviation
 UCL: Upper Control Limit

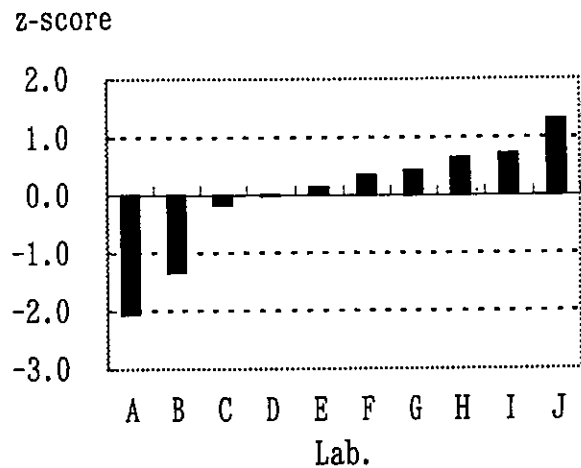


Fig. 4. Z-score Order of Nitrate-nitrogen

差は 1.46 ± 0.027 mg/Lであり、Grubbsの異常値検定(危険率5%)の結果、棄却される値はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数は、0.0~1.0%とすべて10%未満であった。室間変動係数は1.9%と10%を下回っており、機関内・機関間ともにばらつきは小さかった。

硝酸性窒素の \bar{x} -R管理図をFig. 3に示す。機関Aの測定値が平均値 ± 2 標準偏差の範囲(1.41~1.51mg/L)をはずれていた。R管理図においてUCL(上方管理限界)を超える機関が1機関(機関D)あった。硝酸性窒素におけるzス

Table 5. Summary of Quantification of Chloride Ion

Laboratory	Concentration (mg/L) Mean value of 5runs	CV(%)	Recovery (= Concentration/Average)
a	12.56	0.7	0.92
b	13.12	0.6	0.96
c	13.48	0.3	0.99
d	13.54	0.1	0.99
e	13.70	0.0	1.01
f	13.80	0.5	1.01
g	13.80	0.0	1.01
h	13.80	0.0	1.01
i	14.00	0.0	1.03
j	14.46	0.4	1.06
Number of lab.	10	10	10
Max(mg/L)	14.46	0.7	1.06
Min(mg/L)	12.56	0.0	0.92
Average(mg/L)	13.63	0.27	1.00
SD(mg/L)	0.511	0.28	0.038
CV(%)	3.8	—	3.8

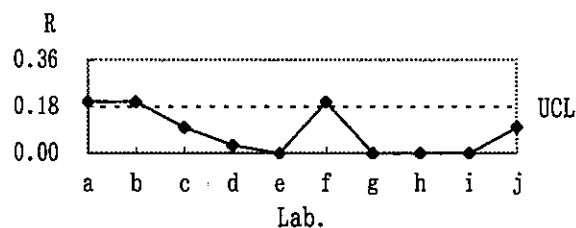
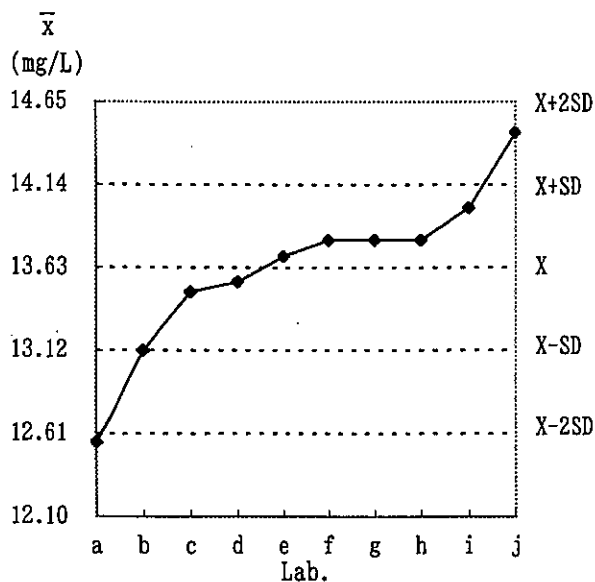


Fig. 5. \bar{x} -R Chart of Chloride Ion
 X: Average
 SD: Standard Deviation
 UCL: Upper Control Limit

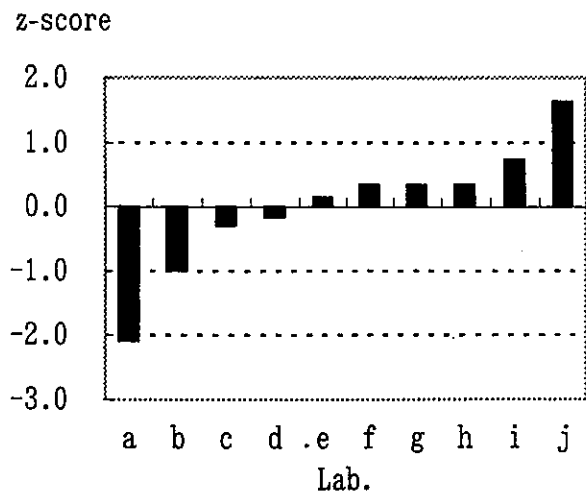


Fig. 6. Z-score Order of Chloride Ion

コアの順位を Fig. 4 に示す。機関 A を除いた機関は $|z|$ は 2 未満で「満足」と評価された。

硝酸性窒素の測定値の平均値1.46mg/L を真の値と仮定した場合の回収率が0.9~1.1である範囲(1.31~1.61mg/L) をはずれた機関はなかった。

塩素イオンの全機関の測定値の平均値±標準偏差は13.63±0.511mg/Lであり、Grubbsの異常値検定(危険率5%)の結果、棄却される値はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数は、0.0~0.7%とすべて10%未満であった。

室間変動係数は3.8%と10%を下回っており、機関内・機関間ともにばらつきは小さかった。

塩素イオンの \bar{x} -R 管理図を Fig. 5 に示す。機関 a の測定値が平均値 ± 2 標準偏差の範囲 (12.61~14.65mg/L) をはずれていた。R 管理図において機関 a, b, f の 3 機関が UCL (上方管理限界) を超えていた。塩素イオンの z スコアの順位を Fig. 6 に示す。機関 a を除いた機関は $|z|$ は 2 未満で「満足」と評価された。

塩素イオンの測定値の平均値 13.63mg/L を真の値と仮定した場合の回収率が 0.9~1.1 である範囲 (12.27~14.99mg/L) をはずれた機関はなかった。

各機関から報告された硝酸性窒素及び塩素イオンの検査結果は概ね良好であるといえる。

硝酸性窒素及び塩素イオン、両者の測定値の関係を硝酸性窒素における順位にあわせて Fig. 7 に示す。硝酸性窒素における機関 A と塩素イオ

ンにおける機関 a は同一機関で、ともに平均値 ± 2 標準偏差の範囲を外れていた。何らかの系統的誤差要因があるものと思われる。

考 察

今年度の水道水質検査精度管理のうち、鉛については 3 年連続して精度管理を実施する間に、検査機関によっては操作内容の変更や分析機器の調整を行ったことより、各機関の測定値の平均値の調製濃度に対する割合が 79.6%→103%→104%、室間変動係数が 26.8%→15.3%→7.8% と共に改善され、分析精度は向上した。平成 14 年厚生労働省令第 43 号により、鉛の係る水質基準が 0.01mg/L 以下であることに改正され、平成 15 年 4 月 1 日から施行された。前処理として試料を濃縮している機関もあったが、実試料に換算すると、すべての機関で定量下限値を新基準値の 1/10 以下に設定することができた。

また硝酸性窒素及び塩素イオンについては、イオンクロマトグラフ法を用いる分析の精度管理となったが、結果は、すべての機関の測定値が回収率 0.9~1.1 となる範囲内に収まり、機関内・機関間のばらつきも小さく良好であった。

文 献

1. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (2001). 富山衛研年報, 24, 195-200.
2. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (2002). 富山衛研年報, 24, 194-199.
3. 日本水道協会 (2001). 上水試験法解説編. p324.

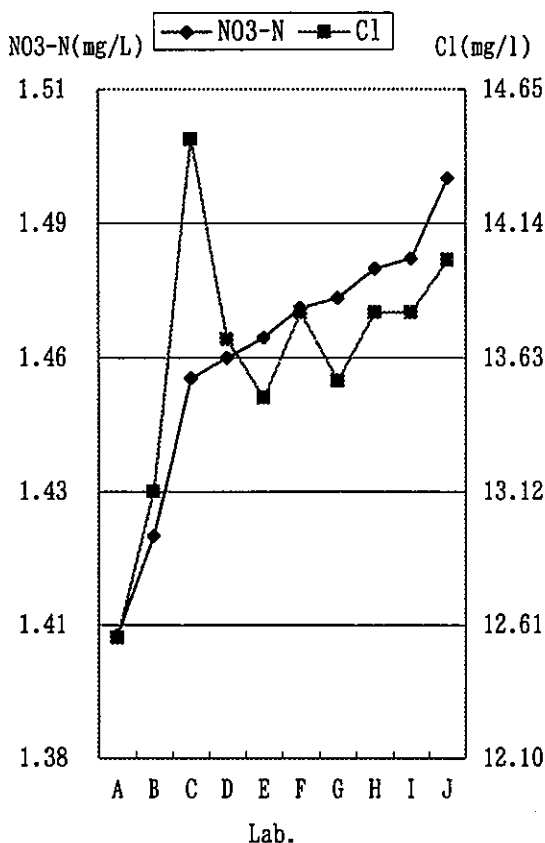


Fig. 7. The Relationship between Nitrate-nitrogen and Chloride Ion measured by Ionchromatography

女子中学生の血清中エストラジオール値と骨密度の関係

堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子
 長瀬博文 荒谷哲雄 山上孝司¹

Relationship between the Serum Estradiol Level and Bone Mineral Density
 in Junior High School Girls

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA,
 Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI¹

女性ホルモンのエストロゲンは骨形成促進と骨吸収抑制の2つの作用を持ち、その分泌低下が閉経後女性の骨密度低下に関与するといわれている[1]。女性ホルモンの分泌が始まる思春期は骨密度が増加する時期であり、女子中学生について我々が調査した結果では、骨密度は初経後の経過年数が長いもので高値であった。そこで、思春期における女性ホルモンと骨密度との関連を検討するために血中エストラジオールを測定した。

対象および方法

対象者は富山県内の中学2年生女子である。骨密度の測定はDXA法(DTX-200 OSTEOMETER社製)により非きき腕の橈骨遠位部を測定した。血中エストラジオール(以下E2)はELISA法(DRG Estradiol EIA)で測定した。アンケートで初経発来の有無および発来の年・月、月経の状況、最近の月経開始日を調査した。対象者には事前に本調査についての説明を文書により行い、受診者と保護者から承諾書を得た。解析に際しては、1年以内に骨折経験があるものと骨代謝に影響を与えるような疾患のあるものを除いた141名を対

象とした。

結果および考察

図1にE2の度数分布を示した。分布は対数正規に近い分布を示したため、以下の解析は対数変換した値を用いた。E2の最低値は5.0pg/ml、最高値は177.7pg/mlで、幾何平均値は33.7pg/ml(幾何標準偏差1.91)であった。

初経発来の有無でE2を比較したところ、差は

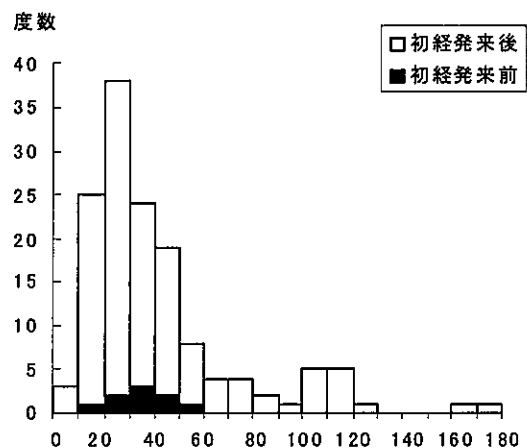


図1 血中エストラジオールの度数分布

1. 北陸予防医学協会

表1 初経発来有無別血中エストラジオール値
(pg/ml)

初経発来	人数	平均 [#]	標準偏差 [#]
あり	132	33.7	1.94
なし	9	32.8	1.46

幾何平均、幾何標準偏差

表2 生理後日数別血中エストラジオール値
(pg/ml)

生理後日数	人数	平均 [#]	標準偏差 [#]
0~14日	50	30.0	1.88
15~28日	29	40.8	1.89

* p<0.05

幾何平均、幾何標準偏差

表3 血中エストラジオールと初経後年数、骨密度との相関

生理後日数	初経後年数		骨密度	
	人数	r	人数	r
全体	132	0.10 ns	141	0.05 ns
0~14日	50	0.20 ns	50	0.22 ns
15~28日	29	-0.10 ns	29	-0.13 ns

みられなかった(表1)。清水らは、6~17歳の女子のE2値は、年齢とともに増加し、11歳以降では月経発来者は未発来者より高値であり、成人の卵胞期初期の値に近いことを報告している[2]。今回、初経発来者と未発来者のE2の平均値に有意な差はなかったが、発来者では未発来者に比べ高値を示すものがみられた(図1)。

性成熟期における女性では月経周期で血中E2値は変化し、排卵の直前にピークを示すこと、排卵の前約2週間(月経開始から排卵まで)の卵胞期では、排卵後約2週間(排卵から月経開始まで)の黄体期より低い値を示すことが知られている

[4]。そこで、対象者のうち生理が毎月あると答えたものについて、月経開始からの日数で0~14日(卵胞期に相当)群と15~28日(黄体期に相当)群にわけ、E2を比較した(表2)。その際、E2が130pg/ml以上の高値を示すものは、排卵の直前のピーク値に相当する可能性があるのを除いた。その結果、E2は0~14日群に比べて15~28日群が有意に高値を示し、E2に月経周期が影響していると考えられた。

次に、E2と初経後の経過年数(初経後年数)および骨密度との関連を検討した(表3)。E2は初経後年数、骨密度のいずれとも有意な相関はなかった。さらに、月経開始日からの日数別(0~14日群、15~28日群)で検討したが、いずれの群でも関連はみられなかった。守分らは、4~16歳の男女について、E2は男女ともに骨密度と正相関があったことを報告し、E2が小児期においても骨密度と関連すると述べている[3]。しかし、我々の結果ではE2は骨密度と関連がみられず、初経発来後の女子中学生ではE2は月経周期による変動が大きいものと思われる。

文 献

1. 茶木 修, 水口弘司(1997). CLINICAL CALCIUM, 7, 881-886.
2. 清水幸子, 大久保和俊, 栗原広行, 矢内原巧(1995). 日本臨床, 53, 553-565.
3. 守分 正, 田中弘之, 清野佳紀(2001). Osteoporosis Japan, 9, 645-649.
4. 堺 章(1995). 目でみるからだのメカニズム, p105, 医学書院

健常成人の尿中バイオピリン濃度について

堀井裕子 新村哲夫 張 淼 鏡森定信¹

Urinary Biopyrrin Concentration in Healthy Adults

Yuko HORII, Tetsuo SHIMMURA, Miao ZHANG and Sadanobu KAGAMIMORI¹

バイオピリンは胆汁中の色素であるビリルビンが活性酸素により酸化分解されて産生される物質である。バイオピリンは、種々の病態における酸化ストレスの程度を反映することや [1], 精神的なストレス時に上昇し、ストレス度の指標になる可能性があることが報告されている [2]。今回我々は、健常成人について朝と夕方の尿中バイオピリンを測定し、日内の変化を調査した。さらに、夜勤者について測定し、日勤者との比較を行った。

した。尿中バイオピリンは ELISA 法 (Biopyrrin EIA Kit, シノテスト社製) で測定し、クレアチニンで濃度を補正した。尿中バイオピリン濃度は対数正規に近い分布を示したので、解析には対数変換値を用いた。対象者には事前に本調査についての説明を文書により行い、文書による承諾を得た。

結果および考察

対象および方法

対象者 1. 日勤者: 男性 18 人 (34~62 歳, 平均 51.5 歳), 女性 15 人 (24~59 歳, 平均 44.5 歳)。尿検体は朝 (起床後) と夕方の 3~5 時頃 (勤務後) に採取した。対象者 2. 夜勤者: 男性 9 人 (27~50 歳, 平均 38.9 歳)。尿検体は朝の 9~10 時頃 (勤務後) と夕方の 2~7 時頃 (起床後) に採取

した。表 1 に日勤者の尿中バイオピリン濃度を男女別で示した。男女間で比較すると、朝、夕方ともに、性差はみられなかった。朝と夕方の濃度を比較すると、男女共に夕方が有意に高い値であった。

尿中バイオピリンと年齢の相関係数を表 2 に示した。男性ではバイオピリンと年齢に関連はみられなかったが、女性では朝、夕方ともに負の傾向がみられた。

表 1 日勤者の尿中バイオピリン濃度

	単位 ($\mu\text{mol/gCr}$)			
	男 (18人)		女 (15人)	
	幾何平均	幾何標準偏差	幾何平均	幾何標準偏差
朝 (起床後)	1.78	1.68	1.45	1.71
夕方 (勤務後)	2.25	1.44	2.39	1.84

対応のある t 検定 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

1. 富山医科薬科大学保健医学

表2 尿中バイオピリン濃度と年齢との相関係数
(日勤者)

	相関係数			
	男(18人)		女(15人)	
朝 (起床後)	-0.19	ns	-0.64	p<0.05
夕方 (勤務後)	0.08	ns	-0.49	p<0.1

ns 有意な相関なし

表3 夜勤者の尿中バイオピリン濃度

	単位 (μmol/gCr)		
	男(9人)		
	幾何平均	幾何標準偏差	
朝 (勤務後)	2.29	1.44]**
夕方 (起床後)	1.46	1.78	

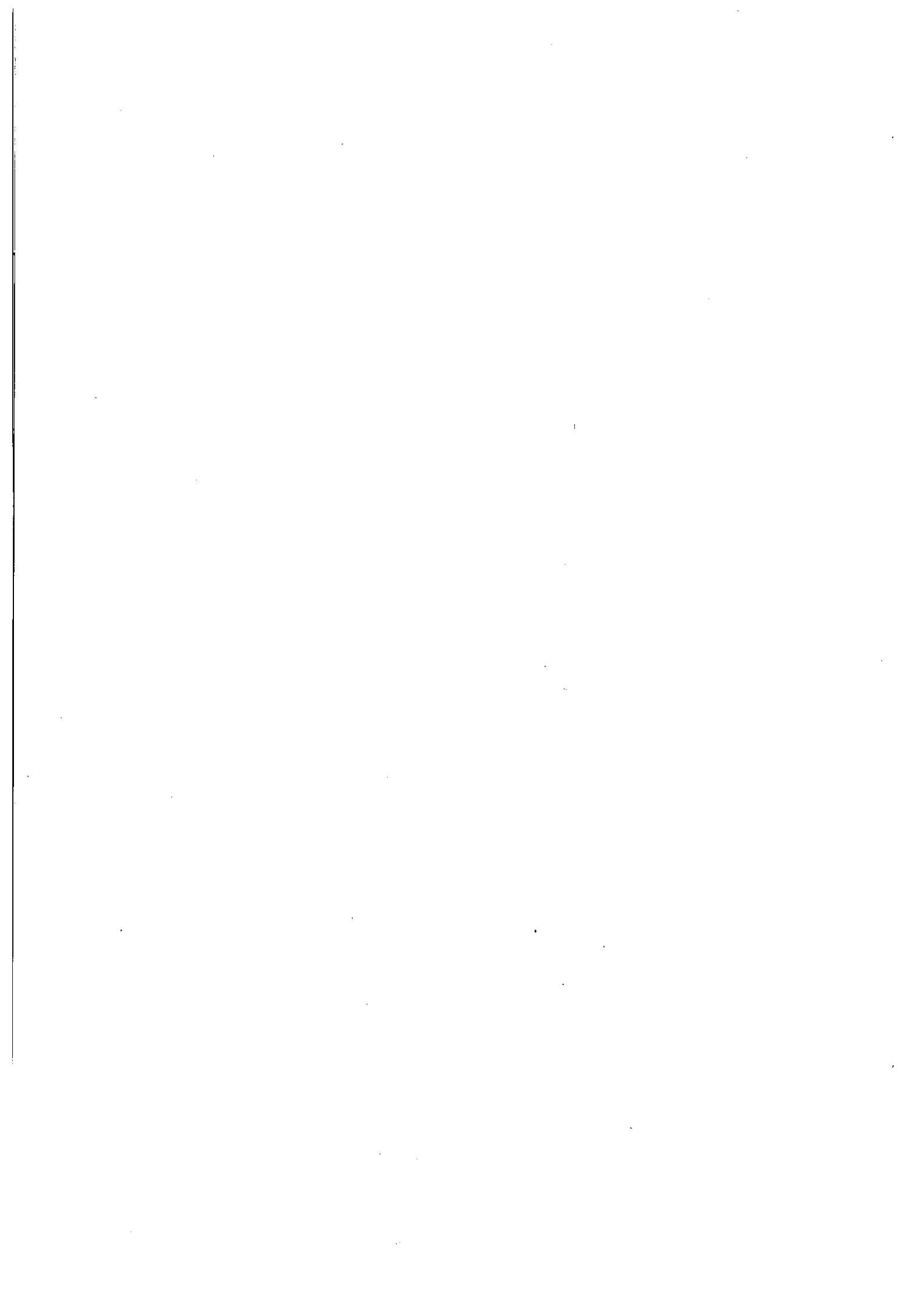
対応のあるt検定 ** p<0.01

バイオピリンは代謝活性が高いほど多く産生され、代謝は加齢に伴って低下するためにバイオピリンの尿中への排泄が低下すると報告されている[1]。今回の結果においても、女性については加齢で尿中バイオピリン値が低下する傾向がみられた。また、男女共に夕方が朝に比べて高い値を示し、日中に活動することによってバイオピリンが産生され、尿中への排泄が増加したと思われる。

表3に夜勤者の尿中バイオピリン濃度を示した。朝と夕方を比較すると、夕方のほうが有意に低い値であり、日勤者とは朝と夕方濃度の関係が逆転していた。夜勤者の値を男性日勤者と比較すると、朝の濃度には有意差はないものの夜勤者が高い傾向にあり、夕方は夜勤者が有意に低値であった(p<0.05)。しかし、起床後(日勤者の朝と夜勤者の夕方)、勤務後(日勤者の夕方と夜勤者の朝)どうしを比較すると、両者の間で尿中バイオピリン濃度に差はみられなかった。このことから、日勤者と夜勤者で夕方濃度に違いがみられたのは、日勤者では朝から夕方にかけて、夜勤者では夕方から朝にかけて勤務するという身体活動の時間帯の違いにより、バイオピリンが産生される時間が異なっていたためと考えられた。

文 献

1. 高橋伯夫(1999). 日本臨床, 57, 124-127.
2. 竹園三穂, 塩地 出, 津田友秀, 芳村 一, 山岡昌之, 山口登喜夫, 中島 熙(1998). 産業衛生学雑誌, 40, 557.



4. 業 績

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表

[原 著]

- 1) An efficient and versatile mammalian viral vector system for major histocompatibility complex class I/peptide complexes

Kawana-Tachikawa A*, Tomizawa M*, Nunoya J*, Shioda T*, Kato A*, Nakayama EE*, Nakamura T*, Nagai Y, Iwamoto A*.

J. Virol. 76, 11982-11988, 2002

We report a Sendai virus (SeV) vector system for expression of major histocompatibility complex (MHC) class I/peptide complexes. We cloned the extracellular domain of a human MHC class I heavy chain, HLA-A*2402, and human beta-2 microglobulin (beta2m) fused with HLA-A*2402-restricted human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) cytotoxic T-lymphocyte (CTL) epitopes (e-beta2m) in separate SeV vectors. When we coinfect nonhuman mammalian cells with the SeVs, naturally folded human MHC class I/peptide complexes were secreted in the culture supernatants. Biotin binding peptide sequences on the C terminus of the heavy chain were used to tetramerize the complexes. These tetramers made in the SeV system recognized specific CD8-positive T cells in peripheral blood mononuclear cells of HIV-1-positive patients with a specificity and sensitivity similar to those of MHC class I tetramers made in an *Escherichia coli* system. Solo infection of e-beta2m/SeV produced soluble e-beta2m in the culture supernatant, and cells pulsed with the soluble protein were recognized by specific CTLs. Furthermore, when cells were infected with e-beta2m/SeV, these cells were recognized by the specific CTLs more efficiently than the protein pulse per se. SeV is nonpathogenic for humans, can transduce foreign genes into nondividing cells, and may be useful for immunotherapy to enhance antigen-specific immune responses. Our system can be used not only to detect but also to stimulate antigen-specific cellular immune responses.

- 2) Rapid phenotypic assay for human immunodeficiency virus type 1 protease using in vitro translation

Iga M*, Matsuda Z*, Okayama A*, Sugiura W*, Hashida S*, Morishita K*, Nagai Y, Tsubouchi H*.

J. Virol. Methods 106, 25-37, 2002

A rapid in vitro phenotyping method for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) protease was developed. In this system, both HIV-1 protease and substrates are prepared using a rabbit reticulocyte based coupled in vitro transcription/translation system. The activity of protease is evaluated by the amount of cleaved substrate measured by ELISA. In this system, wild-type protease derived from strain HXB2 was specifically inhibited in a dose-dependent manner by the protease inhibitors, indinavir and nelfinavir. Three drug-resistant proteases carrying a single mutation, D30N, L90M, and V82F, were analyzed in the absence of the inhibitors. Reflecting their impaired fitness, they exhibited decreased protease activity compared with the wild type. The apparent protease activity was greater for a Gag-Pol substrate encompassing the Gag-protease-reverse transcriptase junctions than for a substrate only covering the Gag region. Using the Gag-Pol substrate as the target, the indinavir-resistant mutant V82F was evaluated further. V82F showed 9-fold resistance to its cognitive protease inhibitor, indinavir; however, it manifested only moderate (2-fold) resistance to a non-cognitive inhibitor, nelfinavir. This simple and rapid method may be useful for phenotyping of drug-resistant HIV-1 protease as well as for screening new inhibitors of HIV-1 protease.

- 3) The long noncoding region of the human parainfluenza virus type 1 F gene contributes to the read-through transcription at the M-F gene junction

Bousse T*, Matrosovich T*, Portner A*, Kato A*, Nagai Y, Takimoto T*.

J. Virol. 76, 8244-8251, 2002

Sendai virus (SV) and human parainfluenza virus type 1 (hPIV1) have genomes consisting of nonsegmented negative-sense RNA in which the six genes are separated by well-conserved intergenic (IG) sequences and transcriptional start (S) and end signals. In hPIV1-infected cells, transcriptional termination at the M-F gene junction is ineffective; a large number of M-F read-through transcripts are produced (T. Bousse, T. Takimoto, K. G. Murti, and A. Portner, *Virology* 232:44-52, 1997). In contrast, few M-F read-through transcripts are detected in SV-infected cells. Sequence analysis indicated that the hPIV1 IG and S sequences in the M-F junction differ from those of SV. Furthermore, the hPIV1 F gene contains an unusually long noncoding sequence. To identify the cis-acting elements that prevent transcriptional termination at the M-F junction, we rescued recombinant SV (rSVhMFjCG) in which its M-F gene junction was replaced by that of hPIV1. Cells infected with rSVhMFjCG produced an abundance of M-F read-through transcripts; this result indicated that the hPIV1 M-F junction is responsible for inefficient termination. When one or both of the IG and S sites in rSVhMFjCG were replaced by those of SV, the efficiency of transcriptional termination increased but not to the level observed in wild-type SV-infected cells. Deletion of most of the long noncoding region of the hPIV1 F gene in rSVhMFjCG in addition to the mutations in IG and S signals resulted in efficient termination that was equivalent to the level observed in wild-type virus-infected cells. Therefore, the long noncoding sequence of the hPIV1 F gene contains

cis-acting element(s) that affects transcriptional termination. Our evaluation of the effect of inefficient transcriptional termination on viral replication in culture revealed that cells infected with rSVhMFjCG produced less F protein than cells infected with wild-type SV and that assembly of the recombinant SV in culture was less efficient. These phenotypes seem to be responsible for the extended survival of mice infected with rSVhMFjCG.

4) Recombinant Sendai virus-mediated gene transfer into adult rat retinal tissue: efficient gene transfer by brief exposure

Ikeda Y*, Yonemitsu Y*, Sakamoto T*, Ishibashi T*, Ueno H*, Kato A*, Nagai Y, Fukumura M*, Inomata H*, Hasegawa M*, Sueishi K*.

Exp Eye Res. 75, 39-48, 2002

To determine the usefulness of recombinant Sendai virus (SeV) for ocular gene transfer, the authors characterized SeV-mediated gene transfer to the retinal tissue of adult rats via subretinal injection. Recombinant SeV encoding the lacZ gene achieved frequent transgene expression in the retinal pigment epithelium (RPE) (mean=38.76%), while gene transfer to other retinal cells was rare. These findings are similar to those of previous reports using adenoviruses. Peak reporter gene expression of SeV in cultured RPE cells was similar to that of adenovirus at the same titer; however, SeV achieved high levels of expression after a brief vector-cell contact time, while adenovirus required over 3hr for efficient gene transfer. This finding was also observed in vivo following a brief SeV filling in the subretinal space, and may therefore provide a clinical advantage in avoiding retinal damage due to prolonged detachment. The observed SeV-mediated gene expression in the rat retina was transient. The initial phase of the decrease in luciferase activity could be prevented by daily eye drops of dexamethasone, suggesting that the corticosteroid-sensitive host reaction may affect early clearance of the virus. The late decline of transgene expression (2 weeks) was inhibited by the immunosuppressant, cyclosporin A, in a dose-dependent manner, suggesting that the cytotoxic T-lymphocyte response may be important in this phase. This work represents the first report of SeV-mediated gene transfer to ocular tissue, and identifies recombinant SeV as a new tool for studies of retinal gene transfer and gene therapy.

5) An improved method for recovery of F-defective Sendai virus expressing foreign genes from cloned cDNA

Hirata T*, Iida A*, Shiraki-Iida T*, Kitazato K*, Kato A*, Nagai Y, Hasegawa M*.

J.Virol. Methods. 104, 125-133, 2002

An improved system is described to recover non-transmissible Sendai virus that lack the envelope fusion (F) gene from cloned cDNA. The system (1) used plasmids that expressed the F and the HN viral envelope proteins, as well as the plasmids that expressed the viral NP, P, and L proteins as helper plasmids for recovery, and (2) overlaid packaging cells that expressed the F protein. With this improved system, we have succeeded in recovery of F-defective Sendai virus expressing two foreign proteins, and expression vectors that do not contain the EGFP reporter gene. This system may provide the basis for constructing recombinant F-defective Sendai virus for preventing and treating human diseases in the form of vaccines and vectors for gene therapy.

6) Recombinant Sendai viruses expressing different levels of a foreign reporter gene

Tokusumi T*, Iida A*, Hirata T*, Kato A*, Nagai Y, Hasegawa M*.

Virus Res. 86, 33-38, 2002

Sendai virus (SeV) is an enveloped virus with a nonsegmented negative strand RNA genome. The recovery of infectious virus from cDNA and generation of recombinant SeV carrying a foreign gene at the promoter proximal position has been demonstrated. In this study, we constructed a series of recombinant SeVs carrying a reporter human secreted alkaline phosphatase (SEAP) gene at each viral gene junction or the 5' distal end in order to measure the expression level of the foreign gene. We demonstrated that there was a gradient in the reporter gene expression level that depended on location, due to the polarity of transcription. In contrast, the growth and final titers of these recombinant viruses showed an opposite gradient to the foreign gene expression level. This suggests the potential for matching therapeutic gene expression level to individual therapy programs by changing the position of the foreign gene when SeVs are used as vectors for human gene therapy.

7) The amino-terminal half of Sendai virus C protein is not responsible for either counteracting the antiviral action of interferons or down-regulating viral RNA synthesis

Kato A*, Ohnishi Y*, Hishiyama M*, Kohase M*, Saito S*, Tashiro M*, Nagai Y.

J. Virol. 76, 7114-7124, 2002

The Sendai virus C proteins, C', C, Y1, and Y2, are a nested set of independently initiated carboxy-coterminal proteins translated from a reading frame overlapping the P frame on the P mRNA. The C proteins are extremely versatile and have been shown to counteract the antiviral action of interferons (IFNs), to down-regulate viral RNA synthesis, and to promote virus assembly. Using the stable cell lines expressing the C, Y1, Y2, or truncated C protein, we investigated the region

responsible for anti-IFN action and for down-regulating viral RNA synthesis. Truncation from the amino terminus to the middle of the C protein maintained the inhibition of the signal transduction of IFNs, the formation of IFN-stimulated gene factor 3 (ISGF3) complex, the generation of the anti-vesicular stomatitis virus state, and the synthesis of viral RNA, but further truncation resulted in the simultaneous loss of all of these inhibitory activities. A relatively small truncation from the carboxy terminus also abolished all of these inhibitory activities. These data indicated that the activities of the C protein to counteract the antiviral action of IFNs and to down-regulate viral RNA synthesis were not encoded within a region of at least 98 amino acids in its amino-terminal half.

8) Primary replication of a recombinant Sendai virus vector in macaques

Kano M*, Matano T*, Kato A*, Nakamura H*, Takeda A*, Suzuki Y*, Ami Y*, Terao K*, Nagai Y.

J. Gen. Viral. 83, 1377-1386, 2002

An efficient antigen expression system using a recombinant Sendai virus (SeV) has been established recently and its potential to induce resistance against immunodeficiency virus infections in macaques has been shown. SeV replication has been well characterized in mice, the natural host, but not in primates, including humans. Here, primary SeV replication was investigated in macaques. After intranasal immunization with a recombinant SeV expressing simian immunodeficiency virus Gag protein, SeV-Gag, robust gag expression was observed in the nasal mucosa and much lower but significant levels of gag expression were observed in the local retropharyngeal and submandibular lymph nodes (LN). Expression peaked within a week and lasted at least up to 13 days after immunization. SeV-Gag was isolated from nasal swabs consistently at day 4 but not at all at day 13. Gag expression was undetectable in the lung as well as in remote lymphoid tissues, such as the thymus, spleen and inguinal LN, indicating that the spread of the virus was more restricted in macaques than in mice. SeV-specific T cells were detectable in SeV-immunized macaques at day 7. Finally, no naive macaques showed significant levels of anti-SeV antibodies in the plasma, even after living in a cage together with an acutely SeV-infected macaque for 5 weeks, indicating that SeV transmission from SeV-infected macaques to naive ones was inefficient. None of the SeV-immunized macaques displayed appreciable clinical manifestations. These results support the idea that this system may be used safely in primates, including humans.

9) Angiogenic gene therapy for experimental critical limb ischemia: acceleration of limb loss by overexpression of vascular endothelial growth factor 165 but not of fibroblast growth factor-2

Masaki I*, Yonemitsu Y*, Yamashita A*, Sata S*, Tanii M*, Komori K*, Nakagawa K*, Hou X*, Nagai Y, Hasegawa M*, Sugimachi K*, Sueishi K*.

Circ. Res. 17, 966-973, 2002

Recent studies suggest the possible therapeutic effect of intramuscular vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transfer in individuals with critical limb ischemia. Little information, however, is available regarding (1) the required expression level of VEGF for therapeutic effect, (2) the related expression of endogenous angiogenic factors, including fibroblast growth factor-2 (FGF-2), and (3) the related adverse effects due to overexpression of VEGF. To address these issues, we tested effects of overexpression of VEGF165 using recombinant Sendai virus (SeV), as directly compared with FGF-2 gene transfer. Intramuscular injection of SeV strongly boosted FGF-2, resulting in significant therapeutic effects for limb salvage with increased blood perfusion associated with enhanced endogenous VEGF expression in murine models of critical limb ischemia. In contrast, VEGF165 overexpression, 5-times higher than that of baseline on day 1, also strongly evoked endogenous VEGF in muscles, resulting in an accelerated limb amputation without recovery of blood perfusion. Interestingly, viable skeletal muscles of either VEGF165- or FGF-2-treated ischemic limbs showed similar platelet-endothelial cell adhesion molecule-1-positive vessel densities. Maturation of newly formed vessels suggested by smooth muscle cell actin-positive cell lining, however, was significantly disturbed in muscles with VEGF. Further, therapeutic effects of FGF-2 were completely diminished by anti-VEGF neutralizing antibody *in vivo*, thus indicating that endogenous VEGF does contribute to the effect of FGF-2. These results suggest that VEGF is necessary, but should be delicately regulated to lower expression to treat ischemic limb. The therapeutic effect of FGF-2, associated with the harmonized angiogenic effects seen with endogenous VEGF, provides important insights into therapeutic angiogenesis.

10) Protective effect of interleukin-4 -589T polymorphism on human immunodeficiency virus type 1 disease progression: relationship with virus load

Nakayama EE*, Meyer L*, Iwamoto A*, Persoz A*, Nagai Y, Rouzioux C*, Delfraissy JF*, Debre P*, McIlroy D*, Theodorou I*, Shioda T*; SEROCO Study Group.

J. Infect. Dis. 185, 1183-1186, 2002

The interleukin (IL)-4 -589T allele bears a single nucleotide polymorphism at position -589 upstream from the open-reading frame of the IL-4 gene. To determine the influence of this allele on human immunodeficiency virus (HIV) type 1 disease, disease progression and serum virus load were assessed by IL-4 genotype in 427 white patients with known seroconversion dates who were followed in the French SEROCO cohort between 1988 and 1996. Serum virus load was 0.20 log lower during the 6-24-month plateau phase after seroconversion in patients with IL-4 -589T than in those without this allele ($P=0.02$). Kaplan-Meier analysis survival curves showed a slower progression to clinical AIDS in carriers of IL-4 -589T ($P=0.04$). Adjustment for early serum virus load greatly diminished the strength of this association. These results suggest that IL-4 -589T protects against HIV-1

平成15年10月1日

disease progression by reducing virus load.

- 11) Interference between D30N and L90M in selection and development of protease inhibitor-resistant human immunodeficiency virus type 1

Sugiura W*, Matsuda Z*, Yokomaku Y*, Hertogs K*, Larder B*, Oishi T*, Okano A*, Shiino T*, Tatsumi M*, Matsuda M*, Abumi H*, Takata N*, Shirahata S*, Yamada K*, Yoshikura H*, Nagai Y.

Antimicrob. Agents Chemother. 46, 708-715, 2002

We studied the evolutionary relationships between the two protease inhibitor (PI) resistance mutations, D30N and L90M, of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). The former is highly specific for nelfinavir resistance, while the latter is associated with resistance to several PIs, including nelfinavir. Among patients with nelfinavir treatment failure, we found that D30N acquisition was strongly suppressed when L90M preexisted. Thus, D30N/L90M double mutations not only were detected in a very limited number of patients but also accounted for a minor fraction within each patient. In the disease course, the D30N and L90M clones readily evolved independently of each other, and later the D30N/L90M double mutants emerged. The double mutants appeared to originate from the D30N lineage but not from the L90M lineage, or were strongly associated with the former. However, their evolutionary pathways appeared to be highly complex and to still have something in common, as they always contained several additional polymorphisms, including L63P and N88D, as common signatures. These results suggest that D30N and L90M are mutually exclusive during the evolutionary process. Supporting this notion, the D30N/L90M mutation was also quite rare in a large clinical database. Recombinant viruses with the relevant mutations were generated and compared for the ability to process p55gag and p160pol precursor proteins as well as for their infectivity. L90M caused little impairment of the cleavage activities, but D30N was detrimental, although significant residual activity was observed. In contrast, D30N/L90M demonstrated severe impairment. Thus, the concept of mutual antagonism of the two mutations was substantiated biochemically and functionally.

- 12) Alteration of Sendai virus morphogenesis and nucleocapsid incorporation due to mutation of cysteine residues of the matrix protein

Sakaguchi T*, Uchiyama T*, Huang C*, Fukuhara N*, Kiyotani K*, Nagai Y, Yoshida T*.

J. Virol. 76, 1682-1690, 2002

The matrix (M) protein of Sendai virus (SeV) has five cysteine residues, at positions 83, 106, 158,

251, and 295. To determine the roles of the cysteine residues in viral assembly, we generated mutant M cDNA possessing a substitution to serine at one of the cysteine residues or at all of the cysteine residues. Some mutant M proteins were unstable when expressed in cultured cells, suggesting that cysteine residues affect protein stability, probably by disrupting the proper conformation. In an attempt to generate virus from cDNA, SeV M-C(83)S, SeV M-C(106)S, and SeV M-C(295)S were successfully recovered from cDNA, while recombinant SeVs possessing other mutations were not. SeV M-C(83)S and SeV M-C(106)S had smaller virus particles than did the wild-type SeV, whereas SeV M-C(295)S had larger and heterogeneously sized particles. Furthermore, SeV M-C(106)S had a significant amount of empty particles lacking nucleocapsids. These results indicate that a single-point mutation at a cysteine residue of the M protein affects virus morphology and nucleocapsid incorporation, showing direct involvement of the M protein in SeV assembly. Cysteine-dependent conformation of the M protein was not due to disulfide bond formation, since the cysteines were shown to be free throughout the viral life cycle.

13) Fibroblast growth factor-2 determines severity of joint disease in adjuvant-induced arthritis in rats

Yamashita A*, Yonemitsu Y*, Okano S*, Nakagawa K*, Nakashima Y*, Irisa T*, Iwamoto Y*, Nagai Y, Hasegawa M*, Sueishi K*.

J. Immunol. 168, 450-457, 2002

Rheumatoid arthritis (RA), a systemic inflammatory disease of unknown etiology, mainly affects synovial joints. Although angiogenic growth factors, including fibroblast growth factor-2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF), may play a critical role in the development and progression of RA joint disease, little information is now available regarding their exact role in initiation and/or progression of RA. In this study, we show that both polypeptides were up-regulated in the rat joint synovial tissue of an adjuvant-induced model of arthritis (AIA), as well as human subjects with RA. FGF-2 overexpression via Sendai virus-mediated gene transfer significantly worsened clinical symptoms and signs of rat AIA, including hind paw swelling and radiological bone destruction, as well as histological findings based on inflammatory reaction, synovial angiogenesis, pannus formation, and osteocartilaginous destruction, associated with up-regulation of endogenous VEGF. FGF-2 gene transfer to non-AIA joints was without effect. These findings suggested that FGF-2 modulated disease progression, but did not affect initiation. Reverse experiments using anti-FGF-2-neutralizing rabbit IgG attenuated clinical symptoms and histopathological abnormalities of AIA joints. To our knowledge, this is the first report indicating direct in vivo evidence of disease-modulatory effects of FGF-2 in AIA, as probably associated with endogenous VEGF function. FGF-2 may prove to be a possible therapeutic target to treat subjects with RA.

平成15年10月1日

14) The nasal epithelium as a factory for systemic protein delivery

Griesenbach U*, Cassady RL*, Ferrari S*, Fukumura M*, Muller C*, Schmitt E*, Zhu J*, Jeffery PK*, Nagai Y, Geddes DM*, Hasegawa M*, Alton EW*.

Mol. Ther. 5, 98-103, 2002

We have previously shown that recombinant Sendai virus (SeV) produces efficient in vivo airway epithelial gene transfer. The ability to produce therapeutic levels of circulating proteins following noninvasive gene transfer would have widespread clinical application. Here, we compared nose, lung, and skeletal muscle for the ability to produce circulating levels of the secreted mouse antiinflammatory cytokine interleukin-10 (IL10) following SeV-mediated gene transfer. High levels of serum IL10 were obtained from each site with a potency order of lung > nose > muscle for a given viral titer. Serum levels from each site were within the likely required range for anti-inflammatory effects. The combination of a high-efficiency gene transfer agent (SeV) and sites that can be assessed noninvasively (nose or lung) may circumvent several current challenges to gene therapy.

15) 乾燥ろ紙血液中ガラクトースおよびアミノ酸の一斉HPLC分析法

米田 豊, 九曜雅子

日本マス・スクリーニング学会誌 12(1)11-18(2002).

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による新生児マススクリーニングろ紙血液中のガラクトース分析法の一部を改良することで、ガラクトースとアミノ酸の一斉分析が可能であることを確認した。アミノ酸分析に用いる試験溶液はガラクトース分析用の残液を用い、HPLCカラムおよび移動相はガラクトース分析と共通のものを用いた。アミノ酸はHPLCインジェクターの自動ラベル化機能により α -フタルアルデヒド (OPA) で蛍光標識しHPLCに供した。ガラクトース分析に用いる移動相は酸性溶液であるため、OPA標識アミノ酸の蛍光は移動相中では減衰するが、カラム出口でアルカリ溶液を注入することで、高感度検出が可能であった。また、OPA標識アミノ酸は移動相中のカウンターイオンであるテトラ- n -ブチルアンモニウムヒドロゲンスルフェート (TBA) によりODSカラムに良好に保持され、メチオニン (Met)、フェニルアラニン (Phe) およびロイシン (Leu) を含む17種類のアミノ酸を分離できた。本法は同一の試験溶液と装置でアミノ酸とガラクトースの一斉分析が可能であり、アミノ酸代謝異常症およびガラクトース血症マススクリーニングの2次検査に有用と考えられる。

16) 千葉県のアブ(双翅目アブ科)

稲岡 徹*, 渡辺 護

千葉生物誌, 52(1)1~14(2002.7)

千葉県のアブ相を, 県内13ヶ所での採集による調査, 国内各地の博物館・研究機関などの保存されている標本調査, 文献検索により調べた。採集による調査ではシロフアブ, ヤマトアブが県内全域で圧倒的に多いことがわかった。この他にウシアブ, キスジアブ, アカウシアブ, キンイロアブ, ホルバートアブ, キノシタシロフアブ, マツモトアブの合計9種が得られた。標本調査により以下の7種が千葉県での分布が確認された。クロキンメアブ(クロメクラアブ), ヨスジキンメアブ(ヨスジメクラアブ), イシハラアブ, フタスジアブ, ニッポンシロフアブ, ギシロフアブ, ハタケヤマアブ。文献上記録はあるが直接標本による確認が出来なかった種類として, シロスネアブ, ヒメアブ, キンメアブ(メクラアブ), ハセガワキイロアブ, アカアブ, イナウシアブ, マツザワアブ, ヒメキスジアブの8種がある。このうち極めて特徴的な外見を持つシロスネアブを除いては, 誤同定の可能性があり, 千葉県に分布すると断定するには, 今後の採集を待つ必要があると考える。

17) 二酸化炭素添加ボックストラップのイヨシロオビアブに対する誘引効果

渡辺 護

ペストロジー学会誌, 17(1)15-20(2002.6)

7月中旬から9月下旬までの毎週6日間, 計50日間のCO₂無添加連続捕獲の場合ボックストラップ2台で11,718個体, キャノピトラップ2台で4,779個体のアブ類が捕獲された。同一期間の毎週1日, 計10日間のCO₂添加捕獲の場合, ボックストラップ1台で14,634個体, キャノピトラップ1台で10,751個体のアブ類が捕獲された。以上のことなどから, イヨシロオビアブを主体とするアブ類の捕獲にはCO₂が誘引効果を発揮することが明確に示唆された。

18) テルペン製剤の飛翔性昆虫に対する忌避効果

斉藤嘉廣*・平林桂介*・麻柄 隆*・渡辺 護

夜間に飛翔性昆虫の飛来が顕著なリゾートペンションで, テルペン製剤を壁に噴霧することで, それら昆虫類の飛来を阻止できるかについて実験を行った。その結果, 飛来数を対照家屋に比べ5~10%に減少させることが出来た。

平成15年10月1日

19) 漁港における腸炎ビブリオの分布

刑部陽宅, 細呂木志保, 田中大祐, 清水美和子, 磯部順子, 永井美之

日本食品微生物学会雑誌 Vol.19, No.3, 113-117, 2002.

A study of the ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in the aquatic environment of Toyama Bay was carried out in late summer during the period from 1996 to 2000. The results were as follow. 1) *V. parahaemolyticus* counts in sea water were, in general, $0-10^2/100$ -ml at the beach, $10^{1-3}/100$ ml in bigger fishing ports with fish markets and $10^{1-2}/100$ ml in a river estuary. While *V. parahaemolyticus* counts in earth were $< 30/100$ g in beach sand, $10^{2-3}/100$ g in sediment of fishing ports, and $10^{3-5}/100$ g in mud of the river estuary. 2) *V. parahaemolyticus* in fishing ports appeared less frequently in surface water than in bottom water in near fish markets, but this pattern was reversed near the harbor entrance. 3) The *tdh* gene was detected from all four big fishing ports examined. 4) TDH-producing *V. parahaemolyticus* O3 : K6 multiplied from 0.2/g to 1.0×10^8 /g in sediment of fishing ports autoclaved at 25°C for 24 hours.

These results show that *V. parahaemolyticus* in the sea water of fishing ports multiply in sediment and mud, and that sea water from fishing ports should not be used for washing of fish, from the standpoint of food hygiene.

20) Molecular epidemiology of group A streptococci T serotype 1

Daisuke Tanaka, Yotaku Gyobu, Junko Isobe, Shiho Hosorogi, Miwako Shimizu, Koji Katori, Yoshiyuki Nagai, Yuichi Fuchi*, Jun Yatsuyanagi*, Shioko Saito*, Jun Kudaka* and Shinichi Nakamura*

Jpn. J. Infect., 55(3), 89-90, 2002.

Group A streptococcus (GAS) serotype T1/M1 has been commonly associated with streptococcal infections in Japan. We examined the PFGE patterns of T1 GAS strains from four geographically distant areas in Japan during 1983-1998, with a view to clarify the communicability of the organisms. The *speA*-positive clone of serotype T1/M1 GAS strains spread in Japan during 1989-1990 and replaced the *speA*-negative clone in various areas of Japan.

21) Dissemination of the phage-associated novel superantigen gene *speL* in recent invasive and noninvasive *Streptococcus pyogenes* M3/T3 isolates in Japan

Tadayoshi Ikebe*, Akihito Wada*, Yoshishige Inagaki*, Kumiko Sugama*, Rieko Suzuki*, Daisuke Tanaka, Aki Tamaru*, Yoshihiro Fujinaga*, Yoshiaki Abe*, Yoshikata Shimizu*,

Haruo Watanabe* and the Working Group for Group A Streptococcus in Japan

Infect. Immunol., 70(6), 3227-33, 2002.

In Japan, more than 10% of streptococcal toxic shock-like syndrome (TSLS) cases have been caused by *Streptococcus pyogenes* M3/T3 isolates since the first reported TSLS case in 1992. Most M3/T3 isolates from TSLS or severe invasive infection cases during 1992 to 2001 and those from noninvasive cases during this period are indistinguishable in pulsed-field gel electropherograms. The longest fragments of these recent isolates were 300 kb in size, whereas those of isolates recovered during or before 1973 were 260 kb in size. These 260- and 300-kb fragments hybridized to each other, suggesting the acquisition of an about 40-kb fragment by the recent isolates. The whole part of the acquired fragment was cloned from the first Japanese TSLS isolate, NIH1, and its nucleotide sequence was determined. The 41,796-bp fragment is temperate phage Φ NIH1.1, containing a new superantigen gene *speL* near its right attachment site. The C-terminal part of the deduced amino acid sequence of *speL* has 48 and 46% similarity with well-characterized erythrogenic toxin SpeC and the most potent superantigen, SmeZ-2, respectively. None of 10 T3 isolates recovered during or before 1973 has *speL*, whereas all of 18 M3/T3 isolates recovered during or after 1992 and, surprisingly, *Streptococcus equi* subsp. *equi* ATCC 9527 do have this gene. Though plaques could not be obtained from Φ NIH1.1, its DNA became detectable from the phage particle fraction upon mitomycin C induction, showing that this phage is not defective. A horizontal transfer of the phage carrying *speL* may explain the observed change in M3/T3 *S. pyogenes* isolates in Japan.

22) *emm* typing of group A streptococcus clinical isolates: identification of dominant types for throat and skin isolates

Daisuke Tanaka, Yotaku Gyobu, Hirohide Kodama*, Junko Isobe, Shiho Hosorogi, Yuko Hiramoto, Tadahiro Karasawa* and Shinichi Nakamura*

Microbiol. Immunol., 46(7), 419-23, 2002.

T and *emm* types were determined for group A streptococci isolated from patients with various infections during 1990-1999 in Toyama Prefecture, Japan. Out of 906 isolates, 872 isolates were divided into 20 T serotypes, and 34 isolates were T nontypeable (TNT). T12, T1, and T4 were dominant among 699 throat isolates; on the other hand, T11, T28, TB3264, and TNT were dominant among 80 skin isolates. The *emm* types of 190 isolates were determined following specific PCR amplification and sequencing of the products. Twenty T serotypes were divided into 34 T type/*emm* type combinations. Thirty-four TNT isolates were divided into 14 *emm* types, in which *emm*58 was the most common (38%). Among 82 throat isolates randomly selected, predominant T types T12, T1, and T4 isolates were of the respective same numbers in *emm* type. T11/*emm*89, T28/*emm*28, TB3264/*emm*13w, and TNT/*emm*58 were predominant among 80 skin isolates. *emm*-type distribution

平成15年10月1日

observed in the present study was that usually reported in the western world. To our knowledge, 3 T/*emm* is a novel combination. These results show that *emm* typing allows the characterization of group A streptococci from various sources.

23) Phylogenetic Analysis of Spotted Fever Group Rickettsiae Isolated from Ticks in Japan

Mitsuhiro Ishikura, Hiromi Fujita*, Shuji Ando, Kumiko Matsuura, Mamoru Watanabe

Microbiol. Immunol., 46, 241-247, 2002.

Eight spotted fever group (SFG) rickettsiae isolated from ticks in Japan were classified by phylogenetic analysis based on the nucleotide sequences of both the citrate synthase-encoding gene (*gltA*) and 190-kDa antigen-encoding gene (*rOmpA*). In the phylogenetic tree of *gltA*, strains DT-1 and FLA-1 isolated from the *Dermacentor taiwanensis* and *Haemaphysalis frava* ticks, respectively, were placed as *Rickettsia japonica*, and strains IO-1, IO-2, IO-25, IM-1 and IP-2 from genus *Ixodes* ticks were placed as *Rickettsia helvetica*. Strain AT-1 isolated from the *Amblyomma testudinarium* belonged to the cluster including *Rickettsia akari*, *Rickettsia australis* and *Rickettsia felis*. In the phylogenetic tree of the *rOmpA*, strains DT-1 and FLA-1 were placed as *R. japonica*, and strain AT-1 belonged to the cluster including *Rickettsia cooleyi* and the symbiont of *Ixodes scapularis*. The *rOmpA* fragments of 5 *Ixodes* isolates could not be amplified by PCR. The present study showed that strains DT-1 and FLA-1 were genotypically identical to *R. japonica*, and 5 *Ixodes* isolates were associated with the *R. helvetica*. Based on previous genotypic and antigenic data, and the phylogenetic analysis presented here, strain AT-1 should be considered as a new species among SFG rickettsiae.

24) Prevalence of vaccine-derived polioviruses in the environment

Hiromu Yoshida*, Hitoshi Horie*, Kumiko Matsuura, Takashi Kitamura, So Hashizume*,
Tatsuo Miyamura*

J. Gen. Virol., 83, 1107-1111, 2002.

A survey of poliovirus in river and sewage water was conducted from October 1993 to September 1995 in Toyama Prefecture, Japan. In this study, 25 isolates differentiated as type 2 vaccine-derived polioviruses (VDPVs) were characterized using mutant analysis by PCR and restriction enzyme cleavage (MAPREC) to estimate the ratio of 481-G revertants correlated to neurovirulence in a virus population. Of these isolates, 23 (92%) comprised between 44 and 96% 481-G revertants by MAPREC. The other two isolates had revertant percentages close to the 0.6% of the attenuated reference strain. It was presumed that these 23 isolates would be variant with potential

neurovirulence by MAPREC analysis. Of the 23 isolates, three were isolated from river water. Moreover, our results by MAPREC showed that type 2 poliovirus was phenotypically more variable than type 1 (69%) or type 3 (55%), as determined in previous studies. The prevalence of virulent-type VDPVs in river and sewage water suggested that the oral poliovaccine itself had led to wide environmental pollution in nature. To terminate the cycle of virus transmission in nature, the ecology of VDPVs should be studied further. A hygiene programme, inactivated poliovirus vaccine immunization and well-maintained herd immunity may play key roles in reducing the potential risk of infection by virulent VDPVs.

25) Isolation of Vaccine-Derived Type 1 Polioviruses Displaying Similar Properties to Virulent Wild Strain Mahoney From Sewage in Japan

Hitoshi Horie*, Hiromu Yoshida*, Kumiko Matsuura, Miwako Miyazawa*, Kemgo Wakabayashi*, Akio Nomoto*, So Hashizume*

J. Med. Virol., 68, 445-451, 2002.

Type 1, 2, and 3 vaccine-derived polioviruses were isolated from a sewage disposal plant located downstream of the Oyabe River in Toyama Prefecture, Japan, between October 1993 and September 1995. Neurovirulence was analyzed in 13 type 1 vaccine-derived strains, using mutant analysis by polymerase chain reaction and restriction enzyme cleavage (MAPREC). Nine strains (69%) were estimated to have marked neurovirulence. Some of the neutralizing antigenic sites, temperature sensitivity, and plaque-forming ability of two virulent vaccine-derived poliovirus strains were similar to Mahoney strain. The neutralizing activity of human sera obtained after oral poliomyelitis vaccine (OPV) administration against one of the virulent vaccine-derived polioviruses was examined. Although all human sera showed sufficient neutralizing activity for the prevention of poliomyelitis by vaccine-derived poliovirus strains, a lower titer than that against Sabin type 1 strain was observed. Vaccination against virulent vaccine-derived poliovirus will be effective. However, the environmental presence of viruses that have properties similar to those Mahoney strain is a threat. The introduction of inactivated poliovirus vaccine (IP), and well-maintained herd immunity, together with reinforced environmental surveillance is important for the final phase of the polio eradication program by the World Health Organization (WHO).

26) Fluorescence-detected circular dichroism by modulated beam in the wavelength axial direction

Atsushi Yamamoto, Shuji Kodama, Akinobu Matsunaga, Hiroyuki Nakazawa*, Kazuichi Hayakawa*

Enantiomer, 7, 225-229, 2002.

平成15年10月1日

蛍光検出円二色性 (FDCCD) が通常の蛍光分光光度計で測定可能な新規光学系を開発した。従来の FDCCD 測定は、市販の CD 分光計を利用して時間軸方向の変調波を使って行なわれてきた。今回、蛍光光度計の励起光側光軸にプリズムと位相差板を組み込むことで、波長軸方向の変調波を作成し、励起スペクトル上の FDCCD 波を検出することに成功した。本法を発蛍光性光学活性物質であるカテキンを使って評価した。

27) Enantioselective analysis of thiobencarb sulfoxide produced by metabolism of thiobencarb by hydroxypropyl- γ -cyclodextrin modified micellar electrokinetic chromatography

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga, Kazumasa Okamura*, Ryoichi Kizu*, Kazuichi Hayakawa*

J. Sep. Sci., 25, 1055-1062, 2002.

Cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography was applied to the enantioseparation of thiobencarb sulfoxide, which is produced by S-oxygenation of thiobencarb, an herbicide, using γ -cyclodextrin together with sodium dodecyl sulfate. Factors affecting chiral resolution and migration time of thiobencarb sulfoxide were studied. The optimum running conditions were found to be 20 mM phosphate-5 mM borate buffer (pH 8.5) containing 60 mM hydroxypropyl- γ -cyclodextrin and 100 mM sodium dodecyl sulfate with an effective voltage of +20 kV at 20 °C using direct detection at 220 nm. Under these conditions, resolution (R_s) of racemic thiobencarb sulfoxide was approximately 1.7. Thiobencarb was treated with a rat liver microsomal fraction containing cofactors (known as S9mix). The ratio between (+)- and (-)-thiobencarb sulfoxide was found to be 15:85. It was also found that the ratio between (+)- and (-)-thiobencarb sulfoxide produced in soil spiked with thiobencarb was 3:7. These results indicated marked enantioselectivities for these metabolisms. The activities of thiobencarb, (+)- and (-)-thiobencarb sulfoxides on 5 α -dihydrotestosterone- and 17 β -estradiol-induced transcriptions were also investigated. Whereas thiobencarb and (+)-thiobencarb sulfoxide did not show any activities, (-)-thiobencarb sulfoxide showed significant anti-estrogenic and anti-androgenic activities, suggesting that thiobencarb sulfoxide can act as both an enantioselective anti-estrogen and an enantioselective anti-androgen.

28) Nontransmissible virus-like particle formation by F-deficient sendai virus is temperature sensitive and reduced by mutations in M and HN proteins

Inoue M*, Tokusumi Y*, Ban H*, Kanaya T*, Tokusumi T*, Nagai Y, Iida A*, Hasegawa M*.

J. Virol. 77, 3238-3246, 2003

The formation of nontransmissible virus-like particles (NTVLP) by cells infected with F-deficient Sendai virus (SeV/deltaF) was found to be temperature sensitive. Analysis by hemagglutination

assays and Western blotting demonstrated that the formation of NTVLP at 38 degrees C was about 1/100 of that at 32 degrees C, whereas this temperature-sensitive difference was only moderate in the case of F-possessing wild-type SeV. In order to reduce the NTVLP formation with the aim of improving SeV for use as a vector for gene therapy, amino acid substitutions found in temperature-sensitive mutant SeVs were introduced into the M (G69E, T116A, and A183S) and HN (A262T, G264R, and K461G) proteins of SeV/deltaF to generate SeV/M(ts)HN(ts)deltaF. The use of these mutations allows vector production at low temperature (32 degrees C) and therapeutic use at body temperature (37 degrees C) with diminished NTVLP formation. As expected, the formation of NTVLP by SeV/M(ts)HN(ts)deltaF at 37 degrees C was decreased to about 1/10 of that by SeV/deltaF, whereas the suppression of NTVLP formation did not cause either enhanced cytotoxicity or reduced gene expression of the vector. The vectors showed differences with respect to the subcellular distribution of M protein in the infected cells. Clear and accumulated immunocytochemical signals of M protein on the cell surface were not observed in cells infected by SeV/deltaF at an incompatible temperature, 38 degrees C, or in those infected by SeV/M(ts)HN(ts)deltaF at 37 or 38 degrees C. The absence of F protein in SeV/deltaF and the additional mutations in M and HN in SeV/M(ts)HN(ts)deltaF probably weaken the ability to transport M protein to the plasma membrane, leading to the diminished formation of NTVLP.

[報 告]

1) 既存天然添加物等の変異原性を中心とした安全性研究

林 真*, 本田幸子, 林美貴子

厚生科学研究費, 厚生科学特別研究事業「既存天然添加物等の変異原性を中心とした安全性研究」平成13年度総括・分担研究報告書, 11-32, 2002.

天然食品添加物の安全性確保の一環として, 既存天然添加物(コメヌカ抽出物)の遺伝毒性試験を実施した。マウスを用いて, 小核試験法にて解析したが, *in vivo*での遺伝毒性は認められなかった。

2) 蚊類の発生要因の解析(2)シナハマダラカ; 疾病媒介昆虫の侵入・移動分散の監視・防御に関する研究

安居院宣昭*, 渡辺 護, 長谷川澄代

厚生労働科学研究費補助金「新興・再興感染症研究事業」平成14年度総括・分担研究報告書, 162-190.

富山県における日本脳炎媒介蚊調査成績の中からシナハマダラカを抜き出し, この種の発生年変動を明らかにして, その要因を解析した。その結果, 幼虫の発生源である水田・溜池などの分布と畜舎の分布, さらに休息場所や越冬場所になる林・茂みの存在が重要と推察され, それに殺虫剤の撒布, 気象要因が加わることで, 発生消長と発生数が決定されると考えられた。

3) 蚊類の発生要因の解析(3)コガタアカイエカの発生と豚 HI 抗体保有推移との関係; 疾病媒介昆虫の侵入・移動分散の監視・防御に関する研究

安居院宣昭*, 渡辺 護, 長谷川澄代

厚生労働科学研究費補助金「新興・再興感染症研究事業」平成14年度総括・分担研究報告書, 191-201.

富山県で1965年から継続調査が行われている豚における日本脳炎 HI 抗体保有調査成績と, 1968年から調査を行っているコガタアカイエカの発生調査成績とを比較検討して, HI 抗体保有の推移がコガタアカイエカの発生消長と連動するかを検討した。その結果, 抗体保有が高い年度は, コガタアカイエカの発生数が多く, 豚における日本脳炎の感染・拡大に, コガタアカイエカの多発生が関与していることが明らかに示された。

4) 東海・北陸地方4地方衛生研究所による腸管出血性大腸菌 O26を用いたパルスネットのための予備試験

主任研究者：渡辺治雄*，分担研究者：田中大祐，研究協力者：松本昌門*，板垣道代*，倉本早苗*

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「パルスフィールドゲル電気泳動法（Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE）の標準化及び画像診断を基盤とした分散型システムの有効性に関する研究」平成14年度総括・平成12～14年度総合研究報告書，p.139-151, p.308-322, 2002.

東海・北陸地方4地方衛生研究所で腸管出血性大腸菌 O26 について PFGE を実施し，画像解析を行った。その結果，PFGE 機種の一貫性，適切な菌液濃度（1 ブロックあたり約 5.0×10^7 ）及びブロックの厚さ（約0.7mm）によって PFGE 画像の質が改善されることなどが明らかとなった。O26 は O157 と同様の条件を用いて PFGE が可能であり，O157 と同等の遺伝子レベルでの多様性を有していることからパルスネットは O26 にも応用可能であることが示唆された。

5) 野生げっ歯類における動物由来感染症病原体の浸淫状況の把握

平成13年度動物由来感染症情報分析体制整備事業結果報告書，分担執筆（ウイルス部），富山県厚生部，2002.

平成13年度より，野生げっ歯類における動物由来感染症（腎症候性出血熱，ライム病など）の調査を行い，野生動物を対象とした調査体制の構築を試みた。

6) 取り組みのデータベース改良に向けての取り組み

知ろう・語ろう・考えよう！健やか親子21 自由集会報告書

主任研究者：山縣然太郎*，分担研究者：松浦賢長*，山中龍宏*，近藤直司*，中村 敬*，谷原真一*，研究協力者：豊嶋英明*，玉腰浩司*，長瀬博文，中村和彦*，武田康久*，水谷隆史*，近藤尚己*，山田七重*，葉袋淳子*

平成14年度厚生労働科学研究（子ども家庭総合研究事業）「地域における新しいヘルスケア・コンサルティングシステムの構築に関する研究」報告書，p.21-40, p.41-53, 2003

平成15年10月1日

[著書・総説・解説]

1) 新生児スクリーニングにおける高速液体クロマトグラフィーを用いたアミノ酸分析法の進歩

米田 豊

日本マス・スクリーニング学会誌, 12(3)5-14(2002).

2) アブ類, アブ刺咬症, アブ幼虫刺咬症

渡辺 護

医学大辞典p.42,43,44. 医学書院, 東京, 2003. 3.1

3) 心身症的愁訴を有する不登校

梶原荘平, 斎藤万比古, 田中英高, 樋口重典, 長瀬博文

心身症診断・治療ガイドライン(監修;西間三馨)共和企画, 東京, 198-223, 2002

(2) 特別講演等

- 1) Paramyxovirus replication and pathogenesis. Reverse genetics advances understanding.

Yoshiyuki Nagai

Plenary Session: Pathogenesis of viral infections, XIIth International Congress of Virology, July 30, 2002, Paris.

- 2) Revising and revitalizing the tale of Sendai virus by reverse genetics

Yoshiyuki Nagai

Keynote lecture: The Awaji International Forum on Infection and Immunity, August 24, 2002, Awaji, Hyogo.

- 3) 環境中からのポリオウイルス検出と解析.

松浦久美子, 吉田 弘*

第12回国立感染症研究所シンポジウム

平成14. 5. 21, 国立感染症研究所(東京都)

- 4) 富山県における腸炎ビブリオの生態と食中毒

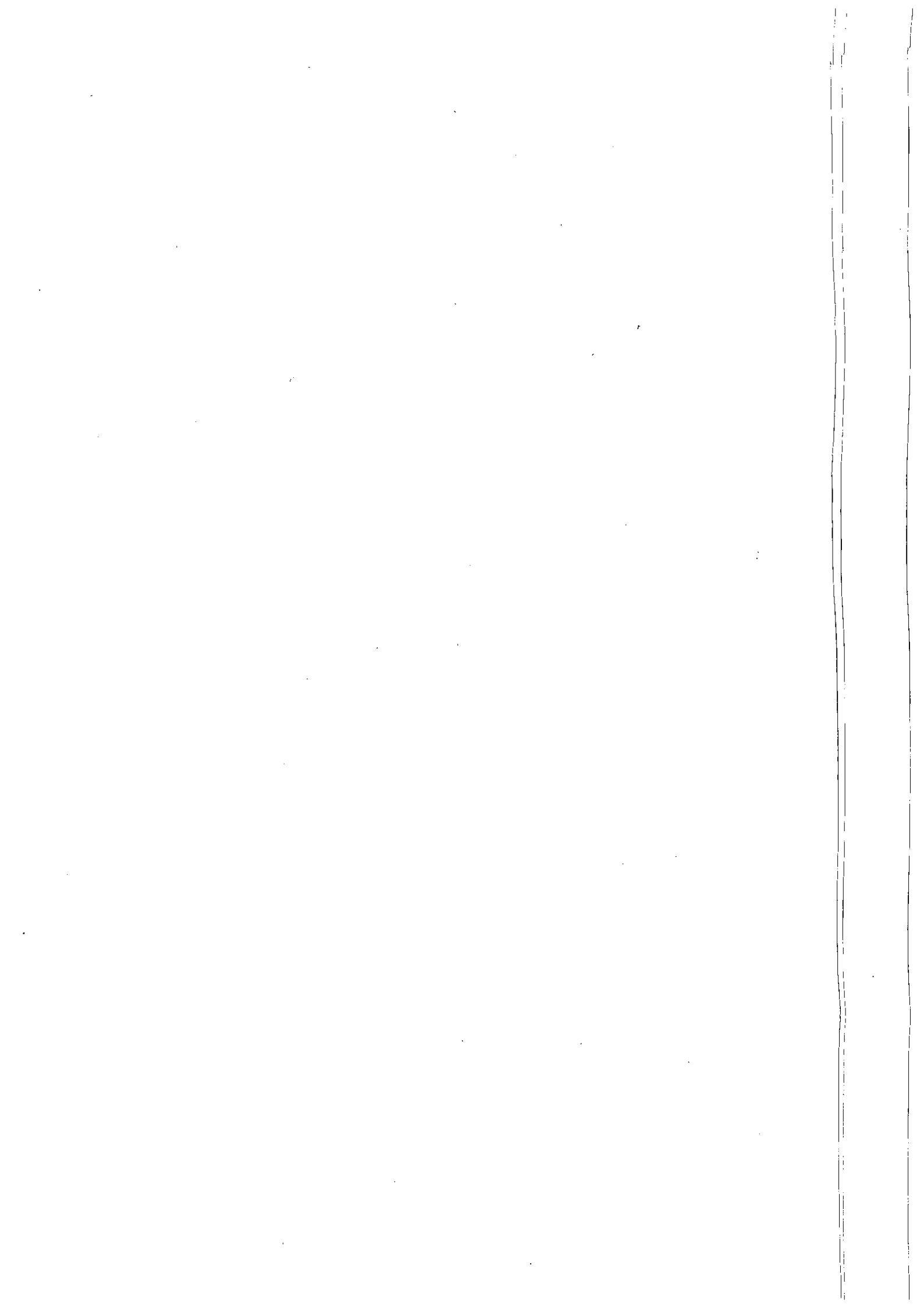
刑部陽宅

第19回環境殺菌分野事例研究会(主催: 日本防菌防黴学会)

平14. 11. 1, 富山県民会館(富山市)

(3) 学 会 発 表 等

- 1) ボックストラップでイヨシロオビアブを捕る
渡辺 護
第54回日本衛生動物学会, アブ研究班例会, 平14. 4. 1, 東京
- 2) 群馬県神津牧場のアブ, 4種トラップでの捕獲数と種構成の相違
渡辺 護
第54回日本衛生動物学会, アブ研究班例会, 平14. 4. 2~3, 東京
- 3) 日本におけるA群溶血レンサ球菌サーベイランス, 1996-2000
池辺忠義*, 山井志朗*, 鈴木理恵子*, 磯部順子, 田中大祐, 田丸亜貴*, 片山 淳*, 藤永良博*,
帆足喜久雄*, 渡辺治雄*
第75回日本細菌学会総会, 平14. 4. 4~6, 横浜市
- 4) 健康者のエンテロトキシン産生ウエルシュ菌の保菌状況について
田中大祐, 磯部順子, 細呂木志保, 中村信一*
第76回日本感染症学会, 平14. 4. 11~12, 東京都
- 5) The dissemination of the novel superantigen gene *speL* in M3/T3 *Streptococcus pyogenes* isolates in Japan.
Ikebe, T.*, Miyoshi-Akiyama, T.*, Wada, A.*, Kato, H.*, Inagaki, Y.*, Sugama, K.*, Suzuki, R.*,
Tanaka, D., Tamaru, A.*, Fujinaga, Y.*, Abe, Y.*, Shimizu, Y.*, Uchiyama, T.* and Watanabe,
H.*
6th ASM Conference on Streptococcal Genetics, April 14-17, 2002, Asheville, U.S.A.
- 6) 海洋深層水温浴のリラックス作用及び睡眠への影響に関する研究 —交代勤務者における海洋深層水
温浴の夜明け睡眠への影響—
新村哲夫, 鏡森定信*
非水産分野深層水利用研究(平成13年度)
報告会, 平14. 5. 13, 富山市
- 7) 富山県におけるコガタアカイエカの発生状況, 1969-2001年の成績
渡辺 護
北陸病害動物研究会, 平14. 6. 29, 富山市
- 8) A群レンサ球菌T型別血清(デンカ生研)に含まれない*emm58*型別のT型別血清の作製について
田中大祐, 刑部陽宅, 磯部順子, 細呂木志保, 香取幸治, 永井美之, 中村信一*
第35回レンサ球菌感染症研究会, 平14. 6. 29, 大阪市



編 集 委 員

委 員 長 荒 谷 哲 雄
委 員 中 村 美 千 代
林 美 貴 子
長 谷 川 澄 代
嶋 智 子
高 柳 信 孝
長 瀬 博 文

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成14年度 (2002)

2003年10月1日 発行

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所

〒939-0363

富山県射水郡小杉町中太閤山17-1

電 話 (0766) 56-5506

F A X (0766) 56-7326

印 刷 中央印刷株式会社

富山市下奥井1-4-5

電 話 (076) 432-6572

