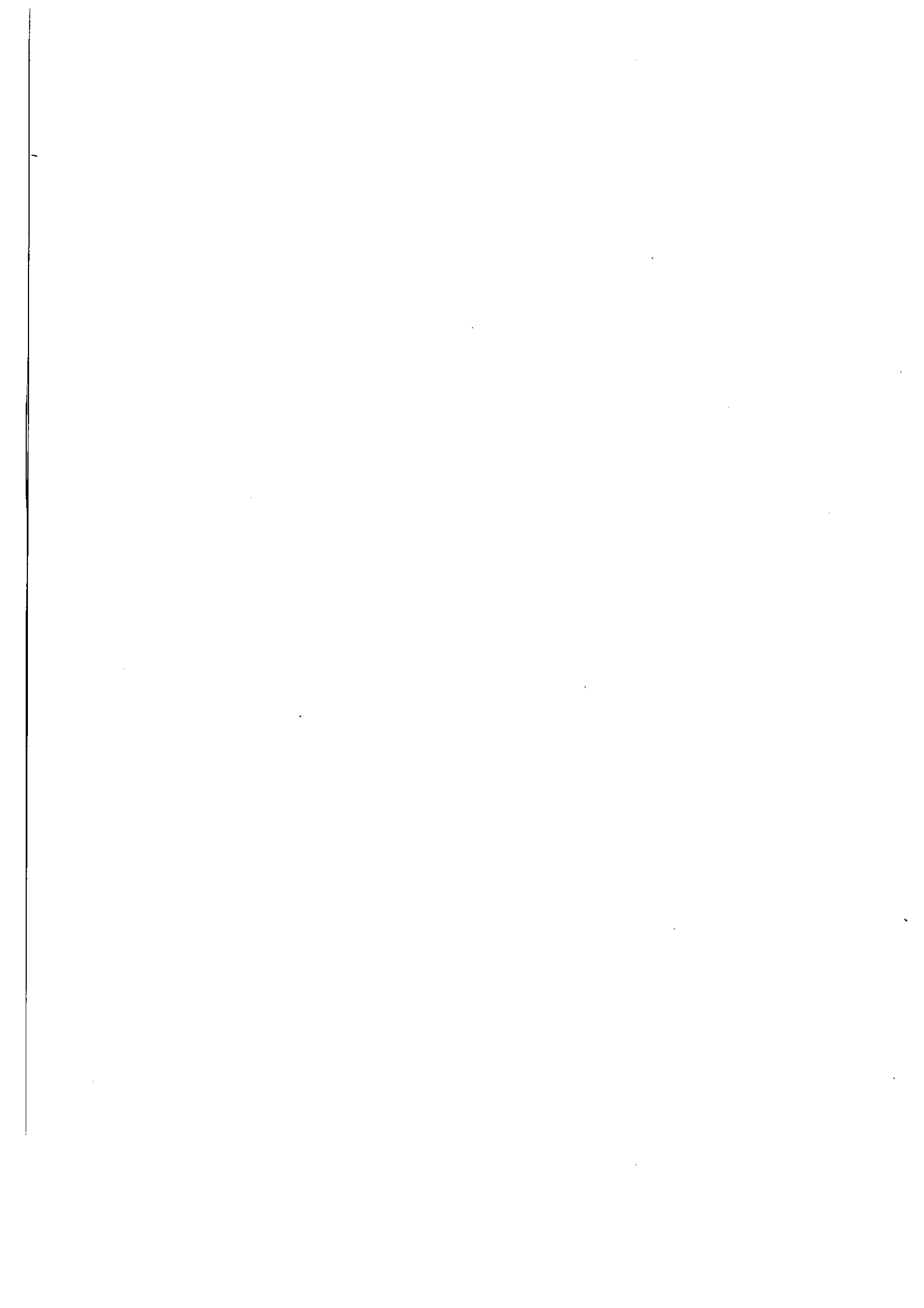


富山県衛生研究所年報

(平成15年度)

第27号

富山県衛生研究所



は じ め に

重症急性呼吸器症候群（SARS）と高病原性鳥インフルエンザに翻弄された1年でした。県レベルでは第1回 SARS 対策連絡会議（平成15年4月11日）を皮切りに、SARS 行動計画（暫定案）の発表、研修会（医療従事者のガウンテクニックなど）、講演会、砺波医療圏 SARS 対応訓練などを次々と実施し、当所では、これらのとりくみの成功のために、ウイルスの専門家、バイオセーフティの専門家などとして、全力を傾注すると共に、本来の業務である SARS ウイルス検査体制の構築を行いました。WHO の終息宣言（7月5日）以降も SARS の再興に備えての「入院受入機関（4病院）会議」「外来受入医療機関（21病院）会議」「SARS 対応連携訓練（富山市）」などに全面的に協力しました。年明け早々の鳥インフルエンザのアウトブレイクに関して、数々の対策会議に専門家として助言を行うと共にヒト感染の発生に備えて検査体制を構築しました。今後もこのふたつの感染症の再燃、再興は十分に予想されます。実際、1997年に香港でヒトへの深刻な健康被害をもたらした高病原性鳥インフルエンザウイルスは、その後、年と共に、ほ乳類で増殖しやすいように、遺伝子レベルで変化を遂げているとの観察もあり、より大規模なヒトでのアウトブレイクが心配されています。加えて西ナイルウイルスのわが国への侵入は時間の問題だとの見方もあります。当所の検査体制の一層の充実をはからなければなりません。

本年度から研究評価制度を導入しました。当所の研究が自己満足的なものではなく、科学技術、効率、県民のニーズなどの観点から他者の評価に耐えうるものなのかどうかを検証するためです。今回は、まず、すべての研究課題（34課題）についてそれぞれの担当者から説明をうけ、所内で一定の評価を行いました。その上で、特に有意義である、特にミッション性が高い、と評価された9課題についてあらかじめ委嘱した外部有識者の方々に評価をお願いしました。実際、それぞれの課題に対して鋭い指摘と建設的な提言がおこなわれ、これまでのとり組みを反省し次の一步を踏み出す上で大いに参考になりました。換言すれば、外部評価は衛生研究所自体が自己変革をとげる上でも必須であるといえます。多忙な評価委員の方々の真摯な評価に心から感謝する次第です。

ヒトの材料を用いた研究についてはその倫理面における妥当性を外部委員により判断していただくための倫理委員会も今年はじめて開催しました。これも自己変革の一貫です。10課題について研究の設計と実行の両面について極めて適切なコメントをいただきました。委員の方々に厚くお礼申し上げる次第です。

以上、本年度は「外からの危機への対応」と「内からの自己変革の努力」の両面において全く新しい経験をすることとなりました。これらを踏まえ、一層の充実努めたいと思っています。引き続き御指導、御鞭撻をお願いする次第です。

平成16年7月

富山県衛生研究所長

永井美之

目 次

1. 運 営

(1) 沿 革	1
(2) 施設 の 概 要	2
(3) 組 織 及 び 業 務	2
(4) 職 員 数	3
(5) 職 員 一 覧	3
(6) 予 算 及 び 決 算	4
(7) 重 要 備 品	5
(8) 各 部 の 業 務 状 況	6
(9) 検 査 状 況	17
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金	19
(11) 講 師 派 遣	19
(12) 研 修 指 導	21
(13) 研 修 受 講	21
(14) 客 員 研 究 員	22
(15) セ ミ ナ ー の 開 催	22

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15年度の検査成績）	23
九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 中嶋寿絵	
アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングで検出される未知ピークの LC/MS 及び酵素反応による同定	34
米田 豊, 九曜雅子	
17- α -hydroxyprogesterone の ELISA 法における反応温度の影響	40
九曜雅子, 米田 豊	
ヒト染色体に関する調査研究—血液, 骨髄液—（平成15年度）	46
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15年度）	51
本田幸子, 林 美貴子, 加藤丈士	
日本脳炎流行予測調査	56
渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道暁彦	

富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査	68
渡辺 護, 安藤秀二, 出村尚子, 城石将幸, 小原真弓, 長谷川澄代, 松澤留美子, 小林睦生	
ポリオ流行予測調査	78
岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 安藤秀二, 小原真弓, 永井美之, 番留忠司,	
田中桂子, 飛田忠嗣, 田中有易知, 瀧波賢治	
インフルエンザ流行予測調査	84
安藤秀二, 松浦久美子, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 永井美之, 田中桂子,	
飛田忠嗣, 番留忠司, 田中有易知, 宮田英喜	
富山県において1981年から2003年の期間に手足口病患者から分離されたコクサッキー	91
ウイルスA16型及びエンテロウイルス71型の VP1 領域の遺伝子解析	
岩井雅恵 松浦久美子 棚辺今日子 安藤秀二 永井美之	
富山県内河川のウイルス汚染に関する定点観測 (2002年~2003年)	101
岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之, 吉田 弘	
ウイルス性胃腸炎の集団発生について (2003年度)	106
長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 安藤秀二, 永井美之	
2003年度に発生した感染性胃腸炎から検出されたノロウイルスの遺伝子解析	112
小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 安藤秀二, 松浦久美子, 永井美之	
富山湾滑川沖の深度別生菌数調査	116
香取幸治, 磯部順子, 嶋 智子, 木全恵子, 田中大祐, 刑部陽宅, 南條暢聡, 松永明信,	
綿引正則, 永井美之	
鮮魚からの腸炎ビブリオの <i>tdh</i> 遺伝子検出	121
刑部陽宅, 嶋 智子, 田中大祐, 木全恵子, 磯部順子, 香取幸治, 綿引正則, 永井美之	
富山県における腸炎ビブリオ食中毒発生と魚の汚染度および気象との関係	124
刑部陽宅, 磯部順子, 田中大祐, 永井美之	
富山県における腸炎ビブリオ食中毒の発生と漁港海水における腸炎ビブリオの分布との関連性	129
刑部陽宅, 細呂木志保, 嶋 智子, 田中大祐, 木全恵子, 香取幸治, 磯部順子,	
綿引正則, 永井美之	
溶血レンサ球菌感染症流行予測調査	138
田中大祐, 香取幸治, 綿引正則, 磯部順子, 嶋 智子, 木全恵子, 刑部陽宅, 永井美之	
田中桂子, 田中有易知	
中国・内モンゴル若年女性におけるフッ素曝露の骨量および骨代謝に及ぼす影響	142
新村哲夫, 張 焱, 西野治身, 中崎美峰子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 畢 力夫,	
梶田悦子, 江藤真紀, 賈 光, 王 紅兵, 鏡森定信	

3. 資 料

富山県における平成15年度のウイルス検出状況	149
岩井雅恵, 長谷川澄代, 松浦久美子, 安藤秀二, 小原真弓, 永井美之	
富山県における2003年の病原微生物検出情報	152
木全恵子, 嶋 智子, 田中大祐, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之	
農産物中の残留農薬調査	156
齊藤行雄, 大浦 敏, 松永明信	
温泉利用施設における浴槽水と源泉の成分調査	160
高柳信孝, 健名智子	
平成15年度食品衛生(理化学)検査の精度管理調査について	163
齊藤行雄, 大戸幹也, 松永明信, 坂森寛治	
平成15年度水道水質検査の精度管理事業について	167
健名智子, 高柳信孝, 松永明信	
β_3 アドレナリン受容体遺伝子多型およびライフスタイルが肥満の進行に与える影響について	172
田中朋子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 松倉知晴	
女子高校生の骨密度と生活習慣との関連	174
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	

4. 業 績

(1) 誌上発表	177
(2) 特別講演等	192
(3) 学会発表等	193
(4) 受賞, 学位授与, 資格取得等	199
(5) 知的所有権	199

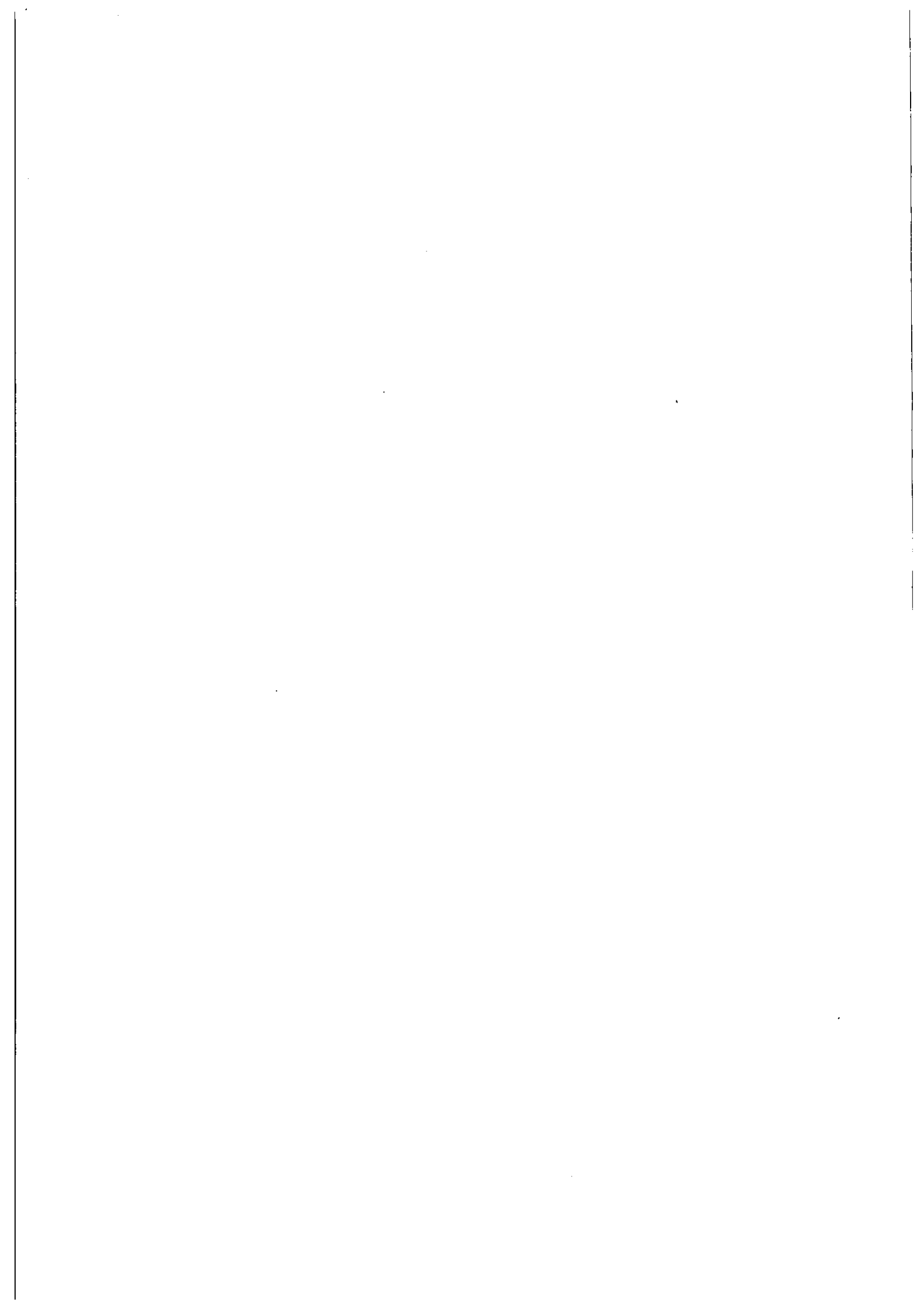
Reports

A Survey Report on the Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture (April 2003~March 2004)	23
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takeshi KATO and Hisae NAKAJIMA	
Identification of Unknown Peaks Detected by High Performance Liquid Chromatography for Mass-screening of Disorders of Amino Acid Metabolism	34
Yutaka YONEDA and Masako KUYO	
Influence of Temperature on the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of 17- α -hydroxyprogesterone	40
Masako KUYO and Yutaka YONEDA	
Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells	46
Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA and Takeshi KATO	
Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells and Fetal cells	51
Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI and Takeshi KATO	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2003	56
Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA and Akihiko YONEMICHI	
Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2003	68
Mamoru WATANABE, Shuji ANDO, Naoko DEMURA, Masayuki SHIROISHI, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Rumiko MATSUZAWA and Mutsuo KOBAYASHI	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture	78
Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Shuji ANDO, Mayumi OBARA, Yoshiyuki NAGAI, Tadashi BANDOME, Keiko TANAKA, Tadashi TOBITA, Yuichi TANAKA and Kenji TAKINAMI	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2003-2004	84
Shuji ANDO, Kumiko MATSUURA, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA, Tadatsugu TOBITA, Chuuji BANDOME, Yuichi TANAKA and Hideki MIYATA	
Nucleotide Sequence Analysis for the VP1 of Coxsackievirus A16 and Enterovirus 71 Strains Isolated from Patients with Hand Foot and Mouth Disease in Toyama Prefecture during 1981-2003	91
Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Kyoko TANABE, Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI	
Epidemiological Surveillance for Viral Pollution of Rivers in Toyama Prefecture from 2002 to 2003	101
Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Yoshiyuki NAGAI and Hiromu YOSHIDA	

Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2003	106
Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae Iwai, Kumiko MATSUURA, Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI	
Genotyping of Noroviruses from Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2003	112
Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Syuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI	
Bacterial Viable Cell Counts by Depth in Toyama Bay	116
Koji KATORI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Daisuke TANAKA, Yotaku GYOBU, Nobuaki NANJO, Akinobu MATSUNAGA, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	
Detection of <i>tdh</i> Gene of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> from Sea Fish	121
Yotaku GYOBU, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Koji KATORI, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	
Relation of the Incidence of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Food Poisoning to the Bacterial Contamination Levels of Fish and Weather in Toyama Prefecture.....	124
Yotaku GYOBU, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA and Yoshiyuki NAGAI	
Relationship between the Incidence of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Food Poisoning and the Distribution of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> in Seawater of Fishing Ports in Toyama Prefecture	129
Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Keiko KIMATA, Koji KATORI, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	
Epidemiological Surveillance of Hemolytic Streptococcal Infections in Toyama Prefecture	138
Daisuke TANAKA, Koji KATORI, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Yotaku GYOBU, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA and Yuichi TANAKA	
Influence of Fluoride on Bone Mass and Bone Metabolism in Inner Mongolian Young Women.....	142
Tetsuo SHIMMURA, Miao Zhang, Harumi NISHINO, Mineko NAKAZAKI, Yuko HORII, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI, Bilifu Qi, Etsuko KAJITA, Maki Eto, Guang Jia, Hongbing WANG and Sadanobu KAGAMIMORI	

Notes

Virus Detection from Patients Specimens in Toyama Prefecture in the Fiscal year 2003	149
Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA, Shuji ANDO, Mayumi OBARA and Yoshiyuki NAGAI	
Surveillance of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2003	152
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	
Detection of Pesticide Residues in Agricultural Products	156
Yukio SAITO, Takashi OHURA and Akinobu MATSUNAGA	
Investigation of Chemical Ingredients in Spring Baths and Source of the Springs	160
Nobutaka TAKAYANAGI and Tomoko KEMMEI	
Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	163
Yukio SAITO, Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA and Kanji SAKAMORI	
On the External Quality Control of the Quantification of Chromaticity, Turbidity and Trihalomethanes in Water	167
Tomoko KEMMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and Akinobu MATSUNAGA	
Influence of β_3 Adrenoceptor Gene Polymorphism and Lifestyle on Body Weight Gain in Healthy Men	172
Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Tomoharu MATSUKURA	
Relationship between Bone Mineral Density and Lifestyle-related Factors in Senior High school Girl Students	174
Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI	



1 運 営

(1) 沿 革

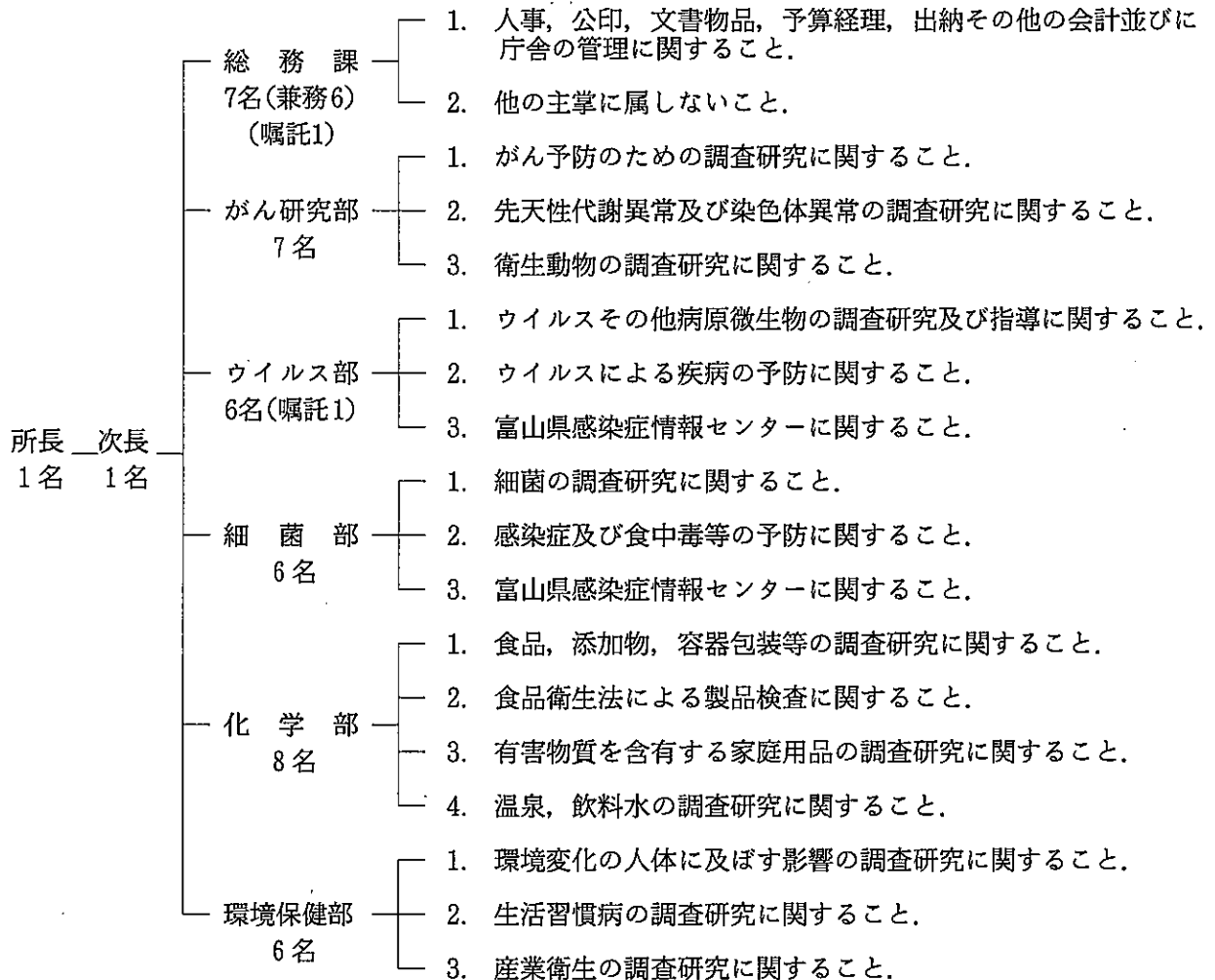
- 昭和22年10月1日 富山県部設置条例の規定により衛生部が設置され、衛生試験検査を所管。
- 昭和23年1月1日 衛生部公衆衛生課が設置され、細菌検査所、衛生試験室を併置。
- 昭和23年4月7日 厚生省が「地方衛生研究所設置要綱」を提示。
- 昭和33年3月30日 旧研究所の庁舎が完成。
- 昭和35年3月28日 富山県衛生研究所設置条例が交付され、4月1日から職員9名の構成で発足。
- 昭和36年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、課・係制が設けられ職員17名に拡充強化（庶務係、細菌課、ウイルス血清課、食品衛生課、生活環境課）、旧研究所の増築。
- 昭和38年4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）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 文部科学省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、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 棟	〃 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
RI 排 水 庫	〃	26.65
排 水 処 理 庫	〃	13.57
渡 り 廊 下	鉄 骨 建	40.50
機 械 室	鉄骨造平屋建	39.24
合 計		3,479.01

(3) 組織及び業務

(平成16年4月1日)



(4) 職 員 数

(平成16年4月1日)

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	研究員	主任 業務技師	嘱 託	計
所 長	1										1
次 長	1										1
総 務 課	1(注1)			2(注1)		2(注1)			1(注2)	1	7
がん研究部	1				5		1				7
ウイルス部	所 長 事務取扱				2			3		1	6
細菌部					1		2	3			6
化学部	1		3				3	1			8
環境保健部	1	1			2		2				6
合 計	6	1	3	2	10	2	8	7	1	2	42

*総務課の(注1)は環境科学センター・薬事研究所を兼務, (注2)は環境科学センターを兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成16年4月1日)

所 属	職 名	氏 名	所 属	職 名	氏 名
衛生研究所	所 長	永 井 美 之	ウイルス部	嘱 託	松 浦 久 美 子
	次 長	坂 森 寛 治		部 長	所長事務取扱
総 務 課	総務課長(兼)	奥 沢 孝 志	細菌部	副主幹研究員	綿 引 正 則
	副 主 幹(兼)	中 村 美 千 代		主任研究員	磯 部 順 子
	副 主 幹(兼)	梶 原 孝 志		〃	田 中 大 祐
	主 任(兼)	山 崎 系 子		研 究 員	嶋 智 子
	主 任(兼)	宮 本 伊 津 子		〃	清 水 美 和 子
	主任業務技師(兼)	青 木 豊		〃	木 全 恵 子
	嘱 託	谷 井 富 造		化学部	部 長
部 長	加 藤 丈 士	主 幹 研 究 員	大 浦 徹		
副主幹研究員	渡 辺 護	〃	高 柳 信 孝		
〃	本 田 幸 子	〃	齊 藤 行 雄		
〃	林 美 貴 子	主 任 研 究 員	小 玉 修 嗣		
〃	米 田 豊	〃	健 名 智 子		
主任研究員	品 川 保 弘	〃	大 戸 幹 也		
がん研究部	主任研究員	九 曜 雅 子	研 究 員	中 山 恵 理 子	
	部 長	所長事務取扱	環境保健部	部 長	荒 谷 哲 雄
	副主幹研究員	長谷川 澄 代		主 幹	長 瀬 博 文
	〃	庄 司 俊 雄		副主幹研究員	新 村 哲 夫
	研 究 員	堀 元 栄 詞		〃	田 中 朋 子
	研 究 員	小 原 真 弓		主 任 研 究 員	中 崎 美 峰 子
	研 究 員	岩 井 雅 恵		〃	堀 井 裕 子

(6) 予算及び決算

平成15年度予算概要(当初)

事業名	予算額	財源内訳			備考
		使用料 手数料 (千円)	受託事業 (千円)	一般財源 (千円)	
衛生研究所費	115,511	3,955		111,556	所の運営、維持管理、試験検査等 調査研究 試験研究及び検査用機械器具
試験研究費	13,066			13,066	
設備充実費	6,790			6,790	
感染症対策特別研究費	2,142			2,142	
がん等特別研究費	12,510		3,000	9,510	調査研究
合計	150,019	3,955	3,000	143,064	

平成15年度 歳入・歳出決算

(歳入)

科目	決算額(円)	備考
衛生手数料	11,298,017	衛生研究所費4,522,157 環境衛生検査 6,775,860
衛生研究所受託事業	3,000,000	
納付金	88,212	
雑入	136,380	
合計	14,522,609	

(歳出)

科目	決算額(円)	備考
人事管理費	4,605,672	嘱託職員の雇用
財産管理費	824,250	庁舎修繕
管理諸費	287,755	海外技術研修員の実務研修
計画調査費	2,309,760	富山湾の海洋科学基礎研究・客員研究員
児童福祉対策費	14,632,850	先天性代謝異常検査
公衆衛生総務費	130,159	共済費
予防費	14,121,244	感染症関連調査
環境保健対策費	14,033,330	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	93,982,843	試験検査・研究及びそれに伴う維持管理
環境衛生総務費	14,982,360	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	6,383,010	食品安全対策検査
環境衛生指導費	100,000	家庭用品検査
保健所費	712,913	リハビリテーション調査研究
医務総務費	164,425	職員のワクチン
公害防止対策費	292,000	海水浴場細菌検査
鉦工業総務費	3,492,161	海洋深層水研究・科学技術振興事業
合計	171,054,732	

(7) 重要備品一覧

品名	型式	購入年月
分光光度計	島津製作所 UV-2200	H 2. 9
分光光度計	日立製作所 U-3010	H11. 9
分光光度計	島津製作所 UV-180A	H 5. 3
分光蛍光光度計	日本分光 FP-777	H 3.11
ガスクロマトグラフ	島津製作所 QP-5000	H 9. 3
ガスクロマトグラフ	ヒューレットパッカード HP-6890	H10. 8
ガスクロマトグラフ	Agilent 6890N	H15. 6
ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC-14B	H 4.11
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-2000	H 2.11
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-1100WA	H 5.11
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L-6300	H 5.12
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ	H 7.10
高速液体クロマトグラフ	島津製作所 LC-9A	H 2. 9
高速液体クロマトグラフ	島津製作所 LC-VP	H10. 6
高速液体クロマトグラフ	ヒューレットパッカード Agilent 1100	H12. 6
液体クロマトグラフ・質量分析装置	waters Quattro micro API システム	H15.12
全自動ニンヒドリン法アミノ酸分析システム	日本分光	H 9. 3
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネックス DX-500	H 9.11
キャピラリー電気泳動システム	ヒューレットパッカード	H 7. 9
全自動ゲル浸透クロマトグラフ	O.I.ANALYTICAL AP-512	H11. 3
高速液クロ用オートインジェクター	島津製作所 SIL-10ADV	H10. 7
マイクロウェーブ分解装置	アステック MARS 5	H11.12
原子吸光光度計	島津製作所 AA-6700	H 8.11
マイクロプレートリーダー	BIO-RAD Benchmark	H12. 9
分離用超遠心機	日立製作所 CP 101 MX	H12.11
高速冷却遠心機 (マルチパーパス)	久保田 6800	H 6. 2
遠心濃縮機	東京理科製 CVE-100	H 7.10
デンストグラフ	アトー株式会社 プリントグラフ AE-6911	H 6. 1
透過型電子顕微鏡	日立製作所 H-7600	H13. 3
落射蛍光顕微鏡	オリンパス光学工業	H13. 3
落射蛍光顕微鏡	ニコン	H 9. 8
オートダイリユーター	三光純薬 SGR251	H 8. 3
洗浄器	三光純薬 (マイウオッシャーオートII)	H 8. 3
マイクロプレートウォッシャー	米国ダイナテック (ウルトラウオッシャーII)	H 5. 3
DNA合成装置	ファルマシア ジーンアッセンプラースペシャル	H 4.11
蛍光式DNAシーケンサー	パーキンエルマー 310-1-TI	H 9.12
染色体DNA電気泳動解析システム	解析システム:GS-700 解析ソフト:モレキュラアナリストRFLP	H 8.12
遺伝子導入装置	バイオラド社 (ジーンパルサー)	H 7. 3
ELISA測定システム	BIO-RAD社	H10. 2
定量PCR (遺伝子増幅機器)	ABI PRISM 7000 Sequence	H15.10
二次元電気泳動装置	アマシャムバイオサイエンス Multiphor II	H15. 9
キャピラリー型遺伝子解析システム	ABI PRISM 3100	H16. 3

(平成16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15年度の検体総数は11,046件で、県内52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93.9%（里帰り分娩を含めると109.1%）であり、前年同様高い割合であった。検査対象疾患は、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46人（フェニルケトン尿症疑い2人、メイプルシロップ尿症疑い1人、ガラクトース血症疑い5人、先天性甲状腺機能低下症疑い25人、先天性副腎過形成症疑い13人）がスクリーニングされ、クレチン症の患児4人が発見された。

染色体検査

平成15年度の検査受付件数は、血液89件、羊水58件、自然流産胎児25件の計172件で、うち、染色体異常を示したものは22件であり、その内訳は血液2件（21トリソミー型ダウン症候群1件、Langer-Giedion症候群1件）、羊水3件（21トリソミー型ダウン症候群1件、均衡転座+21トリソミー型ダウン症候群1件、t(9;20)由来不均衡転座1件）、流産胎児17件（ターナー症候群・8トリソミー症候群・16トリソミー症候群・22トリソミー症候群各2件、9トリソミー症候群・15トリソミー症候群・18トリソミー症候群・21トリソミー症候群各1件、7トリソミー+20トリソミー1件、3倍体2件、均衡転座保因者由来不均衡転座2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における媒介蚊の発生調査を昨年5カ所の畜舎に加え、本年度は2カ所の畜舎を追加して調査を行った。15年度のコガタアカイエカの発生状況は定点「上市」では顕著に増加したが、「大山東黒牧」では減少し、他の定点では前年度と同程度の捕集数であった。また、本県におけるダニ媒介性感染症の浸淫状況を把握するために、県下7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の同定検査16件と、行政機関および各種事業所依頼の分類同定検査2,619件を行った。

〔調査研究〕

がん発生要因に関する研究

緑茶多飲の健康への寄与が注目される一方で、都道府県別一人あたりの緑茶消費量と、胃がん等の消化器系がんの発生頻度とが必ずしも正の相関を示さないことから、茶の生物学的意味を検証する目的で、煎茶抽出物添加による培養細胞への影響を検討した。浮遊性細胞と接着性細胞では、浮遊性細胞での増殖抑制が、より低濃度で認められた。接着性細胞では、接着前添加の方が接着後添加よりも増殖抑制がかかりやすいことから、接着性自体への影響もわかかわれた。染色体核型レベルでの影響を検討中である。

富山県における大腸がんの発生背景要因をさぐるため症例および対照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法に関する研究

先天性アミノ酸代謝異常症のマス・スクリーニングは高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により1検体11分間を要する方法で行っている。この方法で得られるクロマトグラム上にはX1及びX2の2種の未知ピークが出現する。特にX2はLCの更なる迅速化を試みた場合、メチオニンの定量を妨害するため、迅速化の障害要因となっている。しかし、当該未知ピークが同定できれば、新生児マス・スクリーニング上、有意義な物質である可能性もある。この度、当所にLC-タンデム質量分析器（LC/MS/MS）が導入されたことから、これら未知ピークの同定を試みた。その結果、X1は還元型グルタチオン、X2は酸化型グルタチオンと同定できた。従って、X1及びX2の定量によるグルタチオンレダクターゼ欠損症の診断への応用が示唆された。また、迅速LC法開発への手掛かりが得られた。

遺伝子易損傷性に関する研究

DNA 損傷を直接に観察できるアルカリシングルゲル電気泳動法（コメット法）を用いて、マウスを用いた *in vivo* 試験法およびヒト胎児培養細胞を用いた *in vitro* 試験法で検討した。マウスにタバコ煙を強制吸入させ、タウリン事前投与による効果を検討したところ、増強効果が観察された。また、培養中の酸素濃度が培養細胞におよぼす影響およびジェチルスチルベステロール、炭酸リチウムの添加培養がおよぼす影響を検討したところ、いずれも単独では明らかな DNA 損傷は観察されなかったが、陽性対照であるメチルメタンスルフォネートが誘発する DNA 損傷を増強し、陰性対照であるマイトマイシンC が誘発する DNA 損傷の修復を阻害した。このことから、ジェチルスチルベステロールおよび炭酸リチウム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やより正確な判断が求められた場合、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法と併用し分析を検討した。微細欠失を疑われた症例について欠失部分近傍の DNA プロブの FISH 法を用い判定に成功した。また、習慣流産夫婦では低頻度の数的染色体異常が観察されるため、低頻度モザイク・培養による不分離の可能性について FISH 法を用い、引き続き検討中である。

突然変異原性に関する研究

小核試験は染色体異常のなかの染色体切断を指標とした試験法として確立されている。しかしどの部位で切断が起きているのかは今の小核試験では特定することはできない。この試験に FISH 法を導入することができれば、新たな試験法も考えられる。そのための基礎的試験を検討している。

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、利賀村と福光町において実用的な検討を行ったところ良好な成績が得られた。本年度から開始した感染症媒介蚊の、民家とカラスのねぐら近くにおける発生実態調査では、調査定点の設置環境により、捕集される蚊種に明確な相違が認められた。また、1968年以來調査を継続してきた日本脳炎ウイルス媒介蚊、コガタアカイエカの調査成績をまとめ、発生数の年変化とその変動要因、さらに豚における HI 抗体陽性率との関係について検討を行い、興味ある結果を得た。

【夏休み子供科学研究室】

新生児マス・スクリーニング検査の重要性を認識し、先天性代謝異常の疾患について理解を深めてもらおうと、『赤ちゃんの「生まれつきの病気」を見つける検査をしよう』というテーマで企画したところ、高校生9名の参加があった。今回は、先天性代謝異常の疾患のうち、糖代謝異常症であるガラクトース血症のスクリーニング検査をとり上げた。参加者には、濾紙血液中のガラクトースと酵素活性を測定し、多検体の中から人為的に作成した異常検体を発見することに挑戦してもらった。

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105検体からは、A(H3)型インフルエンザウイルス69株、B型インフルエンザウイルス1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。咽頭結膜熱、ウイルス性脳炎、発疹症、SARS 疑い（可能性例、疑い例にはあたらない）の検査依頼をそれぞれ1件ずつ受けたが、ウイルスは検出されなかった。感染性胃腸炎では115件の依頼があり、このうち59件においてウイルスが検出された（ノロウイルス Genogroup I ; NV G I 2件、ノロウイルス Genogroup II ; NV G II 47件、アデノウイルス1件、A群ロタウイルス6件、NV G II+A群ロタウイルス1件、NV G II+C群ロタウイルス2件）。食中毒では7事例38件の検査を行い、そのうち3事例から NVG IIが14件検出された。無菌性髄膜炎では10症例の検査依頼があり、4例においてエコーウイルス6型が、1例においてコクサッキーウイルス B3型が分離された。手足口病では9症例中3例においてエンテロウイルス71型（EV71）が、1例において EV71+ポリオウイルス2型が、1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、2例についてQ熱の抗体検査を行ったが、急性期と回復期を比較し4倍以上の抗体価上昇は見られなかった。

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。15年度に捕獲した野生げっ歯類（アカネズミ18匹、ヒメネズミ5匹、ハタネズミ1匹、スミスネズミ8匹、ドブネズミ16匹、その他3匹）51匹について腎症候性出血熱及びライム病の浸淫調査を行った。抗体検査では、腎症候性出血熱に対する抗体は全て陰性、ライム病に対する抗体は1例が陽性であった。さらに旗ざり法により採取したダニ類（シュルツェマダニ31個体、ヤマトマダニ56個体、ヤマトチマダニ7個体）についてライム病ボレリアの遺伝子検出を試みたところ、10個体からボレリア遺伝子が検出された。14年度のダニ検体と合わせて遺伝子解析を行ったところ、ダニの種類とボレリアの遺伝子型との関連性が見られた。

さらに15年度からは、国内に侵入が懸念されるウエストナイル熱等を含む蚊媒介性感染症対策として、県内における蚊の生息状況の調査を開始した。その結果アカイエカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカが捕集され、環境により蚊の数・種類に相違がみられた。

これらの研究は、がん研究部と共同で行った。

HIV 抗体検査

平成15年4月から平成16年3月までの1年間に172件の検体について抗体スクリーニングを行ったが全て陰性であった。

感染症流行予測調査

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、6月から徐々に増え、9月初めにピークを迎える消長を示した。一方、県内産ブタの日本脳炎に対する抗体陽性率は7月は6.3%、8月は5%で、9月は34%に増加した。10月は12.5%であった。ウイルスの新鮮感染を示す IgM 抗体保有ブタは、9月に1頭確認されたのみであった。すなわち、今年度の日本脳炎ウイルスの浸淫は9月に見られ、10月までは続かなかった。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：野生型ポリオウイルスの侵入監視や集団免疫の現状把握をもって感染予防に役立てるため、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査：平成16年1月、平成15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0歳から4歳までの健康な乳幼児66名から糞便を採取し、ウイルス分離検査を実施した。その結果、ポリオウイルスは分離されなかった。

感受性調査：平成15年6～9月に、0歳から73歳までの204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96.6%、2型100%、3型83.3%であった。また、平均抗体価（幾何平均）は1型167.2倍、2型136.5倍、3型32.4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浸淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。しかし、いずれかの型の抗体を保有していない人が18.6%おり、ポリオウイルス常在地から

のウイルス侵入警戒、海外渡航や育児従事にあたっての注意が必要である。

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（2003年6～9月）および感染源調査（2004年1～5月）を実施した。感受性調査は204名（0～71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30.39%、50.98%、5.88%、9.80%で、A型が比較的高かったのに対し、B型は非常に低かった。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か月遅い2004年1月よりインフルエンザ患者が発生し、2004年4月上旬までの約4か月間にわたり流行は継続した。この間の患者から主にAH3型インフルエンザウイルスが検出され、B型インフルエンザウイルスの検出は、流行終了期に1検体から検出された。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】

ウイルスウォッチプログラム

富山県内河川のウイルス汚染に関する定点観測を2002年4月から2003年3月まで実施し、この調査で検出されたウイルスの同定を行った。富山県における河川水のウイルス汚染実態調査は1979年から断続的に（第1回1979～1981、第2回1983～1985、第3回1993～1995、第4回2002～2003）実施している。これまでの調査で、富山県内の河川は多種類の腸管系ウイルスで汚染されていること、検出されたウイルスはほとんどヒト由来であることを報告してきた。今回、第4回目の調査を行った結果、ウイルス検出率は調査の回を追うごとに低くなっていることがわかった。しかし、同時期にヒトの社会で流行していたウイルスが河川水からも検出されるなど、河川はまだまだ汚染されていることが確認された。

急性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2003年4月から2004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。2003年度中に調査したウイルス性急性胃腸炎の集団発生は10事例であった。これらのうち8事例がノロウイルス：Norovirus=NV（カリシウイルスの命名変更に伴いノーウォーク様ウイルス=NLVをNVと改めた）感染によるものであった。他の2事例はC群ロタウイルス（Rota C）、A群ロタウイルス（Rota A）によるものであった。NVによるものはすべて遺伝子型がNV Genogroup II（GII）であった。老人保健施設での発生が3事例（NVによるものが2件、Rota Aによるものが1件）あった。これらは食品媒介ではなく介護人の手指が感染者の汚物で汚染されてヒトからヒトへ伝播したと考えられた。NV集団発生8事例中、6事例の遺伝子配列がそれぞれ100%の一致率を示し、この6事例の集団発生は、それぞれ1種類のウイルス由来である可能性が高いことがわかった。また、異なる事例同士の遺伝子配列が一致した例が存在し、時期的に同じ型のウイルスが流行し、別の集団発生や散発例を起こしている可能性が示唆された。

【富山県感染症情報センター】

富山県感染症情報センターでは、感染症発生動向調査実施要領に基づき、全数把握感染症については各管内の全医療機関から、定点把握感染症については県内延べ67定点医療機関から各厚生センターおよび富山市保健所へ、週報および月報として報告されたデータを集計し、中央感染症情報センターへ送信した。

また、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機関へ毎週送付するとともに、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。

平成15年1月～12月まで富山県定点あたり各週発生率第1位を占めた主な疾患は、1～2月はインフルエンザ、3～6月および9～12月は感染性胃腸炎、7～8月はヘルパンギーナであった。

平成15年11月5日付けで感染症法が改正され、対象疾患が増えたが、従来のオンラインシステムに加え、FAX等で国へ報告することで対応した。

さらに、本年度は、過去5年分のデータを盛り込んだ「富山県感染症発生動向調査事業報告書」を作成し、関係機関に配布した。

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3件、パラチフスA3件、コレラ1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ネI相(2株)で、1株はパプアニューギニアへ旅行した人から、1株は海外渡航歴のない人からの分離であった。パラチフスA菌はそれぞれインドネシア、中国およびネパールといずれも東南アジアへ渡航歴のあった人から分離された。パラチフスA菌について、国立感染症研究所でのフェージ型別の結果は、1, UT および4であった。コレラ菌はエルトルコレラO1稲葉型で、平成9年以降の患者発生であった。PCR法にてコレラトキシン遺伝子を確認した。

3類(腸管出血性大腸菌)感染症：平成15年度は感染事例が13件(16名)で、原因菌の血清型はO157 9件(11名)、O26 2件(3名)、O128 1件(1名)、OUT 1件(1名)であった。このうち2件は家族内感染であった。8月に砺波厚生センター管内で発生した腸管出血性大腸菌OUT:H16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。また、12月に高岡厚生センター管内で発生した腸管出血性大腸菌O157:H7はO157特有のβ-グルクロニダーゼ遺伝子変異を持たない稀な腸管出血性大腸菌であることが塩基配列の解析から判明した。

細菌性食中毒：平成15年度は細菌性食中毒が15件(富山市3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。6月に発生した3件の腸炎ビブリオによる食中毒はいずれも血清型O3:K6であった。カンピロバクターによる食中毒は4件発生し、分離菌の生化学性状検査および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。3事例の原因菌はいずれも*C.jejunii*と同定され、PFGEパターンも同一であったが、1事例の原因菌は、*C.jejunii*および*C.coli*両菌種と同定され、PFGEパターンは9型と多様であった。また、これら分離菌の血清型別は、2事例はLior4およびTCK12と同一であったが、2事例では血清型は同一でなく、多様性を示した。ウェルシュ菌食中毒1件(富山市、4月)については、菌株の血清型が市販血清では型別不能であった為、東京都健康安全研究センターに依頼したところ、血清型TW54型であることが分かった。平成16年1～3月の富山市での食中毒疑いでは、患者から分離されたウェルシュ菌のPFGEパターンを調べ、数種類に分けられたことなどから、本菌は食中毒の原因ではないと判断された。

生活衛生

食品検査：6～7月に清涼飲料水36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)35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。その他、サルモネラが検出された施設で製造された未殺菌液卵についてサルモネラ属菌を検査したが、サルモネラは検出されなかった。

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160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」ランクであった。このうち40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：「水道におけるクリプトスポリジウム対策の暫定方針」に基づき、富山県内で水道源水として利用される河川水、湧水等124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。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)の腸炎ビブリオ数を定期的に調べた。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 $<3\sim 4.6\times 10^2$ の範囲であり、昨年と較べ少ない傾向であった。

依頼検査：民間企業から依頼を受けた食品(ます寿司、ナチュラルチーズ等)計6検体、26項目について検査を実施した。

感染症流行予測調査

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16年1～2月に調査した。県東部の保育所園児28名では3名(10.7%)が溶連菌陽性であった。検出菌3株は、A群T4型1株、B群Ib型1株、G群

1株であった。また、県西部の保育所園児49名では11名(22.4%)が溶連菌陽性であり、検出菌はA群T12型10株、G群1株であった。

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、1,713株、前年比106%であった。最も多かったのは黄色ブドウ球菌652株で、以下、大腸菌の650株、カンピロバクター228株、腸炎ビブリオ83株、サルモネラ67株の順であった。

【調査研究】

サルモネラ

県内の病院、厚生センターでヒトから分離された菌株の収集解析を行った。2003年1月～12月までに当所に送付された菌株は29株で、昨年に引き続き、減少傾向にある。血清型別の結果、分離菌は12血清型で、なかでも*S.Enteritidis*, *S.Typhimurium*が多かった。

大腸菌

平成15年度富山県で新たに分離された腸管出血性大腸菌OUTは市販のプライマーを用いたPCR法では検出できない*stx2f*保有菌であり、腸管出血性大腸菌が通常保有している病原因子をほとんど保有していなかった。そこでHep-2細胞を用いてこの菌株の細胞接着能の解析を試みている。また、昨年度に引き続き変異型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、及び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15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109株では、検出率が高いT型は、T3型(22株, 20.2%), T1型(20株, 18.3%), T12型(11株, 10.1%), T25型(11株, 10.1%)であった。前年と比較して、T1型とT12型が増加し、T3型、T4型、T25型が減少していた。B群208株で検出率が高い型は、NT6型、Ib型、JM9型であった。また、A群溶連菌食中毒株について*emm*型と各種病原因子遺伝子保有状況を調べたところ、特定の菌型には集中しないことが示唆された。

腸炎ビブリオ

平成15年6月から11月までの期間、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、45検体がTDH遺伝子陽性となった。また、TDH産生性のO3:K6を2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模擬食品中の赤痢菌検出とした。なお、模擬食品は赤痢菌が陰性であることを確認した豆腐に赤痢菌および環境水培養液を接種して、各機関にそれぞれ5検体を配布した。回答結果は、一般生菌数測定については、すべての機関で良好であった。赤痢菌の検出の回答結果は、5検体中3検体についてはすべての機関で同一であり良好であったが、2検体については結果にバラツキがあった。その原因として、PCR法の実施の有無、SOPの変更、赤痢菌に対する知識等が考えられた。いずれの施設においても何らかの検査手順に対する検討が必要であるという結果であった。調査後、検討会を開催し、これらの結果について解析および今後の課題等について議論した。

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。

【レファレンスセンター事業】

衛生微生物協議会、希少感染症研究事業の溶連菌感染症の東海・北陸支部レファレンスセンターとして活動した。A群溶連菌のT型別については、愛知県衛生研究所(15株)、当所(97株)、合計112株の結果を報告した。また、東海北陸地区で発生した5例の劇症型溶連菌感染症例やB群溶連菌183株の型別結果についても報告した。

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、漬け物等の保存料（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78検体（総項目数350）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、こまつな等の9種21検体について、厚生省通知の残留農薬迅速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）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（ディルドリン等）、N-メチルカーバメート系（フェノブカルブ等）の76農薬（89成分）を調査した。ねぎ2検体からはダイアジノン、シベルメトリンが検出され、えだまめ1検体からはイプロジオン、カルバリルが検出され、ぶどう1検体からはアセフェート、ダイアジノン、イプロジオン、カルバリルが検出された。検出量は基準値の1/10程度であった。その他の検体はいずれの農薬も不検出であった。

重金属等：富山湾産魚介類について、17魚種20検体（さば、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0.01～0.35ppm（暫定的規制値0.4ppm）であり、0.35ppm検出された検体のメチル水銀（暫定的規制値0.3ppm）は0.26ppmであった。また10魚種10検体のトリブチルスズオキシド、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、すべての検体でいずれの化合物も検出されなかった（定量限界0.02ppm）。

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：「とやまの名水」については昭和61年2月に55箇所が選定され、水質保全意識の高揚に役立ってきた。しかしながら、一部の名水から大腸菌群が検出されるなど衛生面で問題も見受けられており、平成14年には「とやまの名水」衛生管理マニュアルが策定された。「とやまの名水」の環境保全や衛生管理・飲用対策の基礎資料とするために、平成15年度から水質調査等を行っている。飲用されている14箇所の名水について、水道法の基準項目及びおいしい水指標（カルシウム、マグネシウム、カリウム、溶性ケイ酸、硫酸）並びに重炭酸、アルミニウムの分析を行ったところ、いずれの名水の水質も 理化学的には清浄であり、飲用上の問題点は見られなかった。

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2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15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740）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23件（新規分析1件、再分析12件、浴槽水10件）、小分析1件（新規分析）を行ったところ、温泉法第2条に適合するものは13件（浴槽水を除く）であり、そのうち12件は療養泉であった。泉質は、ナトリウム・カルシウム-塩化物泉、ナトリウム-硫酸塩・塩化物泉、単純硫酸泉等であった。また温泉資源保護を目的として、温泉密集地域の15泉源（平成15年度1泉源追加）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、9ヵ年で顕著な変化はなく、各成分濃度及び温度等は安定していた。

〔調査研究〕

食品中の成分および添加物に関する調査研究

キムチは乳酸菌が大きくかかわる発酵食品である。乳酸菌発酵では乳酸が主要成分であり、乳酸にはD-体と

L-体の光学異性体が存在する。両者は酸味の性質や代謝速度が異なることが知られている。キムチの発酵にかかわる乳酸菌の特性を明らかにする目的で、キムチから30数種類の乳酸菌を単離し、それぞれの乳酸菌についてD-及びL-乳酸の生成能を比較検討した。本研究は韓国・延世大学と共同で行っており、データの解析中である。

イマザリルは防カビ剤として柑橘類などにラセミ体で用いられている。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により、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作用を検討したところ、(+)-イマザリルの方が(-)-イマザリルに比べて4~8倍効果的なことがわかった。現在、その原因を検討中である。

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

マイクロウェーブ装置を用いた羊毛製品中のディルドリン迅速分析法の開発：ディルドリンは防虫加工剤として羊毛製品に用いられてきたが、約30年前に有害性が確認されて、製造が禁止となった難分解性物質である。羊毛製品には再生羊毛原料も使われており、その残留が懸念されるため、残留基準が設定されている。そこで、羊毛製品のディルドリン検査の省力化のため、マイクロウェーブ抽出法を用いた簡便な分析法を開発した。公定法に比べて、本法では分析時間が1/3に短縮され、使用する有機溶媒量も少なくなり、検査業務に適した方法と考えられる。

飲料水および温泉に関する調査研究

温泉利用施設における浴槽水と源泉との成分比較調査：温泉利用施設では源泉を浴用に供する際に加水、循環ろ過、加温などの処置が行われているとの指摘があることから、これらの行為の実態及び源泉と浴槽水の成分濃度の差異の現状把握のため調査を行った。39源泉とその浴槽水の分析結果から、源泉と浴槽水の成分濃度の変化に影響を与えるのは加水行為と推定された。源泉と浴槽水との泉質を比較したところ、泉質が異なるものがみられた。また、源泉が温泉の定義に適合しても、浴槽水では適合しないものもあった。それらの変化は加水行為やガス成分の揮散等に起因すると考えられた。温泉の適正な利用を図るために、関係機関による行政的な指導が行われている。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)によるキラル分離は、配位子交換を用いた方法が20年前に発表されて以来、様々な方法が報告されてきた。しかし、配位子交換の原理に基づくキラル分離は銅イオンを中心イオンとして、主にDL-アミノ酸を対象化合物としてきた。本研究においては、配位子交換の中心イオンとしてホウ酸イオンも利用可能であることをみだした。その結果、本法によるキラル分離の対象となる化合物は従来の配位子交換法の場合とは異なり、配位子交換の原理を広範な領域への利用の展開を可能にするものである。今回は配位子として陽イオン性の(S)-3-アミノ-1,2-プロパンジオールを用いてホウ酸と錯体を形成させ、1,3-ジオール構造をもつパントテン酸のキラル分離が達成された。本法をさらに有意義なものとするため、ジオール構造を有する様々な化合物についての応用を検討している。

蛍光検出円二色性測定に基づくカテキン等の光学異性体の分析：通常、蛍光分光光度計に安価な素子を組み込むことで、波長軸方向変調型の蛍光検出円二色性測定が可能であることをすでに報告した。しかし、本法を高速液体クロマトグラフに適用したところ、検出器に依存する正弦波様の人工波が新たに発生して分析が妨害された。このため、グリッド型の偏光子を組み込み、さらに微分処理に基づく波形の平滑化を行うことにより、人工波を除去することができ、カテキン等の光学異性体分析が可能となった。

富山湾深層水の特異性に関する研究

成分分析と清浄性：入善町及び滑川市が揚水する海洋深層水の理化学的特異性解明のため、平成14年度に引き続き主要成分・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。入善及び滑川海洋深層水は、ともに主要成分・微量金属成分濃度等の季節変動はほとんどなく、安定していた。また、揮発性有機化合物、農薬類及び環境汚染物質等はすべて不検出であった。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(食品の原材料や海洋療法等)にも安心して利用できるものと考えられる。

超微量有機成分：①有機スズ化合物 昨年に続き、検出感度を約10倍上げて調査を行った。深度別(3~700m)20試料についての各有機スズ化合物の検出頻度はモノブチルスズ 16/20、ジブチルスズ 15/20、トリブチルスズ 7/20、モノフェニルスズ 1/20であった。各化合物について深度依存性は認められず、季節による変動も認められなかった。なお、これら化合物の濃度レベルは、日本海表層水での汚染調査の報告結果とほぼ同じレベルの値であった。②ヘキサクロシクロヘキサン 極めて微量ながら検出されたヘキサクロシクロヘキサン(HCH)について、昨年度の深度300mまでの調査に加えて深度700mまで濃度分布調査を行った。300mまでは深度の増大に伴っ

て濃度の上昇傾向がみられたが、300m以深では濃度は一定であることが確認できた。HCH濃度の鉛直分布パターンは硝酸塩（栄養塩）のそれと類似することが判明した。

硝酸塩の連続自動分析：独自に構築した2台の硝酸塩連続自動分析装置を用いて、滑川市及び入善町に揚水されている富山湾海洋深層水の硝酸塩濃度を1時間毎に計測する調査を継続している。両深層水中の硝酸塩濃度は通常は一定であること、時々数時間の差を保って連動して減少すること、濃度減少と水温上昇が対応すること、深度の浅い滑川では変化の程度が大きいこと等は前年度に報告した。滑川での2年半の調査結果を年度別に（季節毎に）比較すると、硝酸塩濃度の減少パターンが微妙に変わっており、冬の季節風や夏の台風等の天候、気圧配置、海洋気象が深層水に何らかの影響を及ぼしていることが推定された。

本年度は、両深層水揚水地点沖合い及び富山湾の湾央2箇所の洋上で深度別に海水の採取と水温の計測を行い、水温と硝酸塩濃度の深度分布調査を実施した。300m以深では採水地点が異なっても、同深度では水温及び硝酸塩濃度は概ね一致することが明らかになった。揚水されている深層水の硝酸塩濃度が安定している時には、300mまでは深度の増大に伴って硝酸塩濃度は25 μ Mまで増加し、300-350m以深では硝酸塩濃度は一定であり、水温も一定であった。しかしながら、揚水深層水の硝酸塩濃度の減少期は、深度の増大に伴って500-600m程度まで硝酸塩濃度は増加し、水温も減少した。安定期と減少期における硝酸塩濃度の深度分布曲線（パターン）の濃度差は、250-350m域では大きく、それ以深では深度の増大に伴って小さくなり、600mでは濃度差は見られなかった。滑川の揚水深度は321mであり、入善のそれは384mである。入善に比較して約60m浅いことが、滑川で揚水されている深層水の硝酸塩濃度の変化が大きいことに反映していると考えられる。

【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年度から県内の厚生センター等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、にんじん中の農薬試験について実施し、有機リン系農薬であるクロルピリホス及びマラチオンの2項目を調査した。各機関の分析数値は、X-R管理図から残留農薬試験の管理ラインである添加量の70%（LCL）から120%（UCL）の範囲内に入り、R値及び \bar{x} -スコアに関しても全て「良好」であったことから、全検査機関が「充分管理されている」と判断できる結果であった。GPC法、アセトニトリル分配法及び告示法の3方法による測定値に及ぼす影響を解析したところ、最終試験溶液中の着色状況からGPC法、アセトニトリル分配法及び告示法の順にマトリックス量が増加し、このマトリックス効果により水溶性の高いマラチオンでは特に分析値が高くなる傾向を示した。GPC法、アセトニトリル分配法を用いた場合に、添加量に近い測定数値が得られることがわかった。各機関がこのような検査技術情報を提供及び共有することにより、検査精度の向上に寄与すると考えられる。

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15年度は色度・濁度およびトリハロメタンについて実施され、当所は配布試料の調製・配布、報告値の集計・解析を行った。

色度・濁度については、試料として環境水を使用した。試料と同時に標準液を配布し、これより色度1度、濁度1度の標準水溶液をそれぞれ調製して、これらについても試料と同様に報告を受けた。色度では1機関に測定上の不備がみられたが、9機関については室内・室間変動係数ともに小さく、また色度1度標準水溶液測定における回収率も0.9~1.1の範囲内にあり、良好な結果が得られた。濁度では使用する市販濁度標準液にメーカー間の差が見られ、配布した標準液と同じメーカーの標準液を用いて検量線を作成していた9機関については、室内・室間変動係数ともに小さく、また濁度1度標準水溶液測定における回収率も0.9~1.1の範囲内にあった。来年度から濁度の標準液がポリスチレン系粒子混濁液に変更されることから、来年度も引き続き濁度の精度管理を行う予定である。トリハロメタンについては、超純水に市販ヘッドスペース・ガスクロ法用トリハロメタン標準溶液を添加し試料とした。各トリハロメタンの機関内のばらつきは小さかったが、機関間のばらつきが大きかった。標準溶液の調製方法や検量線の作成範囲等の差異が測定値に影響を与えるためと推定される。

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15年度は、対象者2,447名中882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-マイ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173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129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3名全員が受診し、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1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15年度は、高校1年生となった生徒の骨密度変化と、それに関連する要因について解析を行った。骨密度はこれまでの2年間と同様、体重と正の有意な相関を示し、初経発来後の経過年数が長い群ほど高い傾向を示した。骨密度は体重と第二性徴の要因に加え、小学・中学時における運動の実施と現在の牛乳摂取とに関連が示され、これらの習慣が女子高校生においても高い骨量に有効であることが確認された。しかし、高校生になると運動クラブ活動率が37%に、牛乳摂取が1日平均140mlとなり、いずれも以前の半分に減少している。この減少は成長期の骨密度増加にマイナスに働くと予測され、ライフスタイルと今後の骨密度の変化との関連に注目している。

中国・内モンゴル若年女性におけるフッ素曝露の骨量および骨代謝に及ぼす影響に関する研究

1996年から1998年の3年間、当所と富山医科薬科大学、内モンゴル自治区の草原地域の未閉経中年女性の尿中骨吸収マーカーが異常に高く、その地域の飲料水中のフッ素濃度が高いことをみだした。さらに、草原地域で飲用されているタン茶浸出液中のフッ素濃度が高いことを報告した。

2002年8月、同地域におけるフッ素曝露が若年女性において、骨や骨代謝へどのような影響を及ぼすかを明らかにするため、草原地域女性37名および対照として都市地域女性45名を対象とする調査を行った。草原地域の若年女性においても、飲料水、常飲されているタン茶浸出液および尿中フッ素濃度が高値であり、同地域におけるフッ素曝露を確認した。現地での超音波およびX線による骨密度の測定で、同地域若年女性の骨量指標が対照地域に比し低かった。中年女性に加え、若年女性においても骨形成マーカー、各種の尿中骨吸収マーカーのいずれも上昇していた。この結果から、同地域でみられた骨量の減少や骨吸収の亢進はフッ素曝露と関連すると考えられる。これまで報告されてきたフッ素による骨芽細胞刺激による骨の過形成とは異なる病態の存在が示唆された。

（本研究は、日本学術振興会外国人特別研究費による。）

肥満遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究

健常男性（平均年齢50.9歳、34～62歳）18名を対象とし、成人後の肥満の進行と β 3-アドレナリン受容体（ β 3AR）遺伝子多型および運動習慣の関連を検討した。体重および体脂肪率を初回時（平成14年3月）と1年後、2年後の3回測定し、アンケートにより病歴の他20歳頃の体重、20歳頃の運動の有無を調査した。全対象者の初回時、1年後、2年後の身体状況については、いずれも2年間で有意な変化は認められなかった。 β 3AR遺伝子多型は正常型13名、節約型5名であった。両型について、初回時、1年後、2年後の身体状況を比較したところ、BMIに違いは認められなかった。しかし、体脂肪率はいずれも節約型が高い傾向を示した（各々 $p < 0.1$ ）。その2年間の変化をみると両型とも有意な変化はなかった。次に20歳頃の運動習慣とその後の継続状況から、運動群継続群（5名）、運動中断群（5名）、非運動群（8名）としたところ、20歳BMIについては運動継続群が非運動群に比し高い傾向を示したが（ $p < 0.1$ ）、年平均BMI変化量は運動中断群が運動継続群に比べ高い傾向を示し（ $p < 0.1$ ）、運動の中断が肥満の進行に影響している可能性が示された。

環境汚染物質の生体影響に関する研究

環境汚染物質の一般住民における暴露レベルを把握し、リスク評価に資するデータを蓄積するため、有機リン農薬やフタル酸エステルについての尿中代謝物のモニタリングを行い、生活環境の違いとの関連を検討している。一般住民での半年間の追跡調査では、尿中から有機リン農薬代謝物が継続して低レベル検出され、月間の変動は少なかった。追跡を継続中である。

イタイイタイ病に関する調査研究

昭和60年度から平成8年度に神通川流域住民健康調査（県単独実施分）を受診した延べ7,926人の尿および血液検査結果と問診票を集計し、近位尿細管機能や骨代謝等の検査データについて、解析と検討を行った。その結果、①初診時尿中 $\beta 2$ -マイクログロブリン（ $\beta 2$ -MG；近位尿細管機能の検査指標）は、比較的若年層では低値、高齢者では高値の傾向を示した。②問診票項目の検討から、尿中 $\beta 2$ -MG高値に影響を及ぼす要因としては、年齢のほか指定地域の居住年数、農業従事年数があった。また、昭和54から59年度に実施された昭和51年方式による尿検査で異常を指摘された者のうち、追跡可能であった282人について、平均9.7年間の経過観察から、③腎機能が概ね正常であった者では、尿中 $\beta 2$ -MGの変化は骨代謝と直接関連していないことが明らかになった。④さらに、腎機能低下の所見が見られた者では、尿中 $\beta 2$ -MGの変化は骨代謝と関連せず、血清リンの低下を介して骨代謝に変化をきたすことが示唆された。

濃縮海洋深層水を利用した浮遊浴に関する研究

濃縮した海洋深層水を用いて浮遊浴を行い、リフレッシュ・リラックス効果の検討を行った。

その1：2003年7-8月、「滑川市海洋深層水フェア-2003」塩分濃度30%に濃縮した海洋深層水による浮遊浴体験が特設プールで行われた。期間中、男女計86名（平均年齢 44.7 ± 15.1 歳）を対象に、15分間の浮遊浴の前後にストレス度・リフレッシュ度アンケート調査および背部（菱形筋部位）と頸部の筋硬度測定を行った。ストレス感・リフレッシュ感アンケートの平均スコアは浮遊前に比べ浮遊後に有意に上昇を示し、右背部の筋硬度は浮遊後に有意に低下した。

その2：20代の男女10名を対象とした。海洋深層水を塩分濃度15%および30%に濃縮し、 36°C および 39°C に温め、15分間浮遊した。浮遊中および前後に、リフレッシュ度、筋硬度、自律神経系の活動度を測定した。対照として、水道水での補助具による浮遊浴および床に横たわった場合と比較した。濃縮浮遊浴によって、リフレッシュ度の上昇がみられたが、温浴の種類による違いを明らかにできなかった。菱形筋部位の硬度では、 39°C で低下傾向がみられ、塩分濃度15%（ 39°C ）で有意な低下がみられた。浮遊中に副交感神経系の活動度が相対的に高くなる傾向がみられたが、温浴の種類による違いは明らかでなかった。浮遊浴によって健康増進効果を得るための条件について更なる検討が必要である。

（富山医科薬科大学、滑川市との共同研究）

リハビリテーション調査研究事業

脳卒中患者情報システムにより公的病院を退院した脳卒中患者（平成10年度）を対象に、実施されている保健指導や福祉サービスの説明状況や提供状況、ならびに患者の自立状態等の日常生活の状況を追跡調査した。これらの情報を用いて、脳卒中患者の自立度への関連要因、そしてその改善や悪化の経年的変化とそれらに関係する要因の検討を行い、次の結果を得た。①自立群の改善や非自立群の改善・悪化に寄与する要因として、発症から退院までの期間、発作回数、合併症、自立度得点、聴覚障害等が上げられた。②退院時に福祉サービスの説明をした群が福祉サービスの説明していない群と比べて、自立度の改善率が高い傾向、または悪化率が低いという傾向が認められた。③福祉サービスの利用が自立度に対して好ましい方向に作用していることが窺いしれた。今後、介護保険制度が導入された後の脳卒中患者の自立度改善又は悪化への影響要因を検討する。

（厚生労働省地域保健特別推進事業・富山県厚生部健康課）

(9) 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	11,046 (66,276)	
	染色体検査	46 (46)	126 (126)
	衛生動物検査	2,493 (2,508)	126 (171)
	小 計	13,585 (68,830)	252 (297)
ウイルス部	感染源検査	579 (579)	
	血清学的検査	1,119 (2,489)	
	小 計	1,698 (3,068)	
細菌部	感染症にかかわる検査	526 (598)	
	食中毒にかかわる検査	165 (371)	
	食品検査	91 (143)	6 (26)
	水質検査	636 (1,619)	
	小 計	1,418 (2,731)	6 (26)
化学部	食品にかかわる検査	174 (2,370)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	976 (5,582)	78 (649)
	温泉分析	25 (450)	14 (407)
	小 計	1,190 (8,422)	92 (1,056)
環境保健部	カドミウム環境汚染にかかわる 地域住民健康調査	1,015 (3,763)	
	小 計	1,015 (3,763)	

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	11,046 (66,276)	1. 染色体検査	
2. 染色体検査		(1) 血液	56 (56)
(1) 血液	32 (32)	(2) 羊水	50 (50)
(2) 羊水	8 (8)	(3) 胎児	20 (20)
(3) 胎児	5 (5)		
(4) 胸水腹水	1 (1)	2. 衛生動物等検査	
3. 衛生動物等検査		(1) 衛生・不快動物	89 (129)
(1) 衛生・不快動物	2,480 (2,492)	(2) 食品混入異物	37 (42)
(2) 食品混入異物	13 (16)		

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	115 (115)		
(2) ポリオ	66 (66)		
(3) その他ウイルス	180 (180)		
(4) リケッチア, その他	183 (183)		
(5) 食中毒	35 (35)		
2. 血清学的検査			
(1) インフルエンザ ヒト	204 (816)		
" ブタ	70 (210)		
(2) ポリオ	204 (612)		
(3) 日本脳炎	340 (340)		
(4) エイズ	172 (172)		
(5) その他のウイルス	71 (128)		
(6) リケッチア, その他	58 (221)		

細 菌 部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査

(1) 溶連菌	459 (462)
(2) 腸管出血性大腸菌	28 (84)
(3) 赤痢菌	13 (21)
(4) パラチフス菌	3 (6)
(5) コレラ菌	2 (2)
(6) レジオネラ菌	12 (12)
(7) 結核菌	9 (11)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) サルモネラ	38 (76)
(2) 病原大腸菌	42 (126)
(3) ウェルシュ菌	56 (124)
(4) カンピロバクター	28 (42)
(5) 乳児ボツリヌス	1 (3)

3. 食品検査

(1) 収去検査	75 (111)
(2) その他	16 (32)

4. 水質検査

(1) 海水	101 (103)
(2) 海水浴場	160 (200)
(3) 河川水	13 (13)
(4) 水道水源水	172 (290)
(5) 深層水	86 (700)
(6) 名水	104 (313)

[一般依頼検査]

1. 食品

6 (26)

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	84 (404)
(2) 残留農薬	49 (1,915)
(3) 重金属類	41 (51)
(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	20 (720)
(2) 監視項目	39 (522)
(3) ゴルフ場使用農薬	22 (344)
(4) その他	895 (3,996)

4. 温泉分析

(1) 中分析	10 (300)
(2) その他	15 (150)

[一般依頼検査]

1. 水質検査

(1) 水質基準項目	3 (49)
(2) ゴルフ場使用農薬	24 (396)
(3) その他	51 (204)

2. 温泉分析

(1) 中分析	13 (390)
(2) 小分析	1 (17)

環 境 保 健 部

[行政検査]

1. カドミウム環境汚染にかか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	882 (1,764)
精密検診 尿, 血液検査	129 (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	1 (16)

[一般依頼検査]

(10) 科学研究費補助金

平成15年度

研究課題	所属	研究者	補助金等事業名
感染の成立と宿主応答の分子基盤	所長	永井美之	文部科学省 特定領域研究 研究代表者
地方衛生研究所の地域における健康危機管理の在り方に関する研究：健康危機管理事例のデータベース化とその利用に関する研究	がん研究部	永井美之 米田豊	厚生労働省 がん予防等健康科学総合研究事業
感染症媒介ベクターの実態，生息防止対策に関する研究：富山県における感染症媒介蚊の発生実施調査	がん研究部	渡辺譲	厚生労働省 新興・再興感染症研究事業
わが国のげっ歯類を病原巣動物とするウイルス性人獣共通感染症の疫学的研究	ウイルス部	安藤秀二	文部科学省 基盤研究C(2) 研究分担者
先天性代謝異常症早期診断のための酵素チップの開発（迅速細菌診断法の開発と実用化研究）	細菌部	綿引正則	文部科学省 富山・高岡地域 知的クラスター創生事業
病原性大腸菌における遺伝子・タンパク発現による病原因子の検索	細菌部	木全恵子	文部科学省 若手研究B
知的障害者の就労・生活支援のための健康管理コンサルティング体制の確立	環境保健部	長瀬博文	文部科学省 基盤研究C 研究分担者
フッ素化合物と骨代謝に関する疫学的研究	環境保健部	張 森	独立行政法人日本学術振興会 外国人特別研究員試験研究費

(11) 講師派遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
SARS 検査	安藤秀二	富山県SARSに関する 技術研修会	平15.5.14	サンシップとやま
感染防御ガウンテクニック	安藤秀二	富山県SARSに関する 技術研修会	平15.5.14	サンシップとやま
SARS 検査	安藤秀二	黒部市民病院SARSに 関する指導	平15.6.5	黒部市民病院
ガウンテクニック	安藤秀二	SARS対応連携訓練	平15.6.16	市立砺波総合病院
実験動物における人獣共通感染症 について	安藤秀二	富山医科薬科大学実験 動物講習会	平15.6.30, 12.11	富山医科薬科大学
キラルな視点からみた食品添加物	小玉修嗣	神戸薬科大学薬学 研究科「大学院特論」	平15.6.30	神戸薬科大学
特定化学物質等による障害とその 予防 第I編	長瀬博文	特定化学物質等作業 主任者技能講習	平15.7.3	中小企業研修 センター2F

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
食品の安全性確保	松 永 明 信	上新川郡学校給食研究会	平15.8.12	大沢野町社会福祉会館
高齢者の生きがいとその要因 (グループ研究のテーマ)	長 瀬 博 文	富山県総合衛生学院保健学科実習	平15.8.18~ 平16.2.27 年数回	富山県総合衛生学院
温泉とレジオネラ感染	田 中 大 祐	日本温泉気候物理医学会療法医学会北陸部会研修会	平15.8.31	宇奈月温泉国際会議場(セレネ)
昆虫とは；昆虫の体と変態	渡 辺 護	きらめきエンジニア事業	平15.9.11	氷見市立余川小学校
特定化学物質等による障害とその予防 第I編	長 瀬 博 文	特定化学物質等作業主任者技能講習	平15.10.9	中小企業研修センター2F
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15.10.29 ~12.10 週1回	富山県総合衛生学院
ガウンテクニック	安 藤 秀 二	SARS対応連携訓練	平15.11.26	富山市民病院
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15.12.5	富山県消防学校
保健・医療・福祉と介護の制度 -障害者・高齢者医療-	長 瀬 博 文	富山医科薬科大学医学科4年生講義	平15.12.16	富山医科薬科大学
海洋深層水およびその濃縮水温浴の健康増進効果	新 村 哲 夫	富山湾に学ぶ会	平15.12.20	とやま市民交流館
病院検査室の安全管理	安 藤 秀 二	技術指導, SARS対応連携訓練	平15.12.25	黒部市民病院
ウイルス学 パラミクソウイルスについて	永 井 美 之	富山医科薬科大学医学部講義	平16.1.15	富山医科薬科大学
カドミウムとイタイイタイ病	長 瀬 博 文	高知大学医学部医学科2年生環境医学講義	平16.1.20	高知大学医学部
富山県における深層水利用研究の現状	松 永 明 信	とやま深層水フォーラム 2004	平16.2.12	赤坂プリンスホテル
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16.2.24	富山県総合衛生学院
高齢者の健康とくすり -骨粗しょう症の予防-	荒 谷 哲 雄	富山県老人クラブ連合会	平16.3.11	富山県総合福祉会館
話題の感染症と感染管理	安 藤 秀 二	富山市医師会労働衛生健康教育講演	平16.3.12	富山市医師会館
高病原性鳥インフルエンザ, SARS等の新興ウイルス感染症について	安 藤 秀 二	富山県薬学技術公務員協会若年者研修会	平16.3.16	富山県民会館

(12) 研 修 指 導

対象者および所属	研修期間	研修内容	担当
農業技術センター 中田 均 全農富山県本部農産物分析 センター 石崎泰輔	平15.7.10～8.13	農産物中の残留農薬の分析	化学部
富山市保健所 橋本妙子	平16.1.09	魚介類中の有機スズ化合物の分析	化学部
新川厚生センター 高橋克巳 中部厚生センター 江本 誠 高岡厚生センター 長谷川千佳 砺波厚生センター 矢野幸雄	平16.1.15	濁度計の保守点検	化学部

(13) 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
安藤 秀二	平15.5.6	SARSに関する技術研修会	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長 岡部 信彦 他
米田 豊	平15.7.3 ～7.4	先天性代謝異常症等検査技術者 研修会クレチン症のスクリー ニング	母子愛育会総合母 子保健センター (東京都)	(財)東京顕微鏡院精度 管理センター 成瀬 浩 他
安藤 秀二 磯部 順子 小原 真弓 永井 美之	平15.7.10 ～7.11	全国微生物技術協議会 第24回研究会	九州大学医学部 (福岡市)	国立感染症研究所 所長 吉倉 廣他
小原 真弓	平15.8.21 ～8.22	平成15年度第3回人材育成 トレーニングコース	富山県立大学 (小杉町)	名古屋大学 助教授 鈴木 淳巨
本田 幸子 林 美貴子	平15.9.6 ～9.7	第10回臨床細胞遺伝学 セミナー	日本人類遺伝学会 (東京都)	東京医科歯科大学 池内達郎 他
岩井 雅恵 小原 真弓	平15.10.7 ～10.8	一本鎖高次構造多型(SSCP) 解析に関する研修会	愛知県衛生研究所 (名古屋市)	秋田県衛生研究所 斎藤 博之
小原 真弓	平15.10.22	平成15年度公衆衛生講習会 (中部地区)	新潟ワシントンホ テル (新潟市)	厚生労働省 加地 祥文
田中 大祐	平15.11.26 ～11.27	平成15年度第4回人材育成 トレーニングコース	富山県食品研究所 (富山市)	獨協医科大学 助手 藤ノ木政勝
田中 大祐	平15.12.2 ～12.5	バイオセーフティ技術講習会 (主任管理者コース)	NPO法人バイオ メディカルサイエ ンス研究会(東京都)	バイオメディカルサイ エンス研究会 小松 俊彦 他
綿引 正則	平16.2.9	平成15年度希少感染症診断 技術研修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 棚林 清 他
綿引 正則 岩井 雅恵	平16.2.9 ～2.10	平成15年度希少感染症診断 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 小原 真弓	平16.2.13	平成15年度臨床衛生検査研修会	サンシップとやま (富山市)	北里大学病院 酢谷 ユリ子

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
安藤 秀二 渡辺 護	平16.2.26	平成15年度ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会・第38回ペストコントロールフォーラム	名古屋市教育センター (名古屋市)	国立感染症研究所 倉田 毅 他

(14) 客員研究員等

客員研究員氏名	所属職名	招へい期間	指導内容等
山縣 然太朗	山梨大学大学院 医学工学総合研究部 保健学II講座教授	平15.9.2 ~9.4	疾病易罹患性を遺伝子レベルで検討し、生活習慣との相互作用を考慮した予防法について指導・助言
倉田 毅	国立感染症研究所 副所長	平15.12.10 ~12.11	重篤感染症の根絶と出現
張 森	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

(15) 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
生活習慣病における遺伝子情報の活用について	山縣 然太朗	山梨大学大学院 医学工学総合研究部 保健学II講座教授	平15.9.3
重篤感染症の根絶と出現	倉田 毅	国立感染症研究所 副所長	平15.12.10

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15年度の検査成績)

九曜雅子 米田 豊 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 2003~March 2004)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takeshi KATO and Hisae NAKAJIMA¹

要旨 平成15年度の検体総数は11,046件で、スクリーニングの結果、クレチン症の患者4人が発見された。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27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24年間で92人、先天性副腎過形成症が15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。

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。なお、今年度から、検査依頼されたすべての検体の検査結果を医療機関に報告することになった。

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15年4月より、平成16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を測定した。なお、HPLCはカラムスイッチング-逆相イオンペアード法[1]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[2]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」）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[3]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

1 富山県厚生部健康課（現 新川厚生センター）

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 法に応用 [4] 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) 結果報告

毎週金曜日に、その前週の月～金曜日に受付したすべての検体の検査結果を各医療機関に郵送で報告した。

(6) 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、当所で開発した動的データ管理システム [5] 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、11,046件で、県内52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 9,509人であり、初回検体数10,374人 (人) から計算すると受検率は109.1%となるが、初回検体のうち県内在住者は8,933人、県外在住者は1,441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93.9%であった。しかし、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9,918件 (95.6%) は正常と判定されたが、253件 (2.4%) は疑陽性のため、190件 (1.8%) は採血後日数が経っている等の不備検体のため、再採血を依頼した。また、13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672件のうち、33件 (4.9%) は要精検と判定され、直接精査分と合わせ、計46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0.48%、クレチン

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	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
			抽出法 ≥ 3.5 ng/ml	

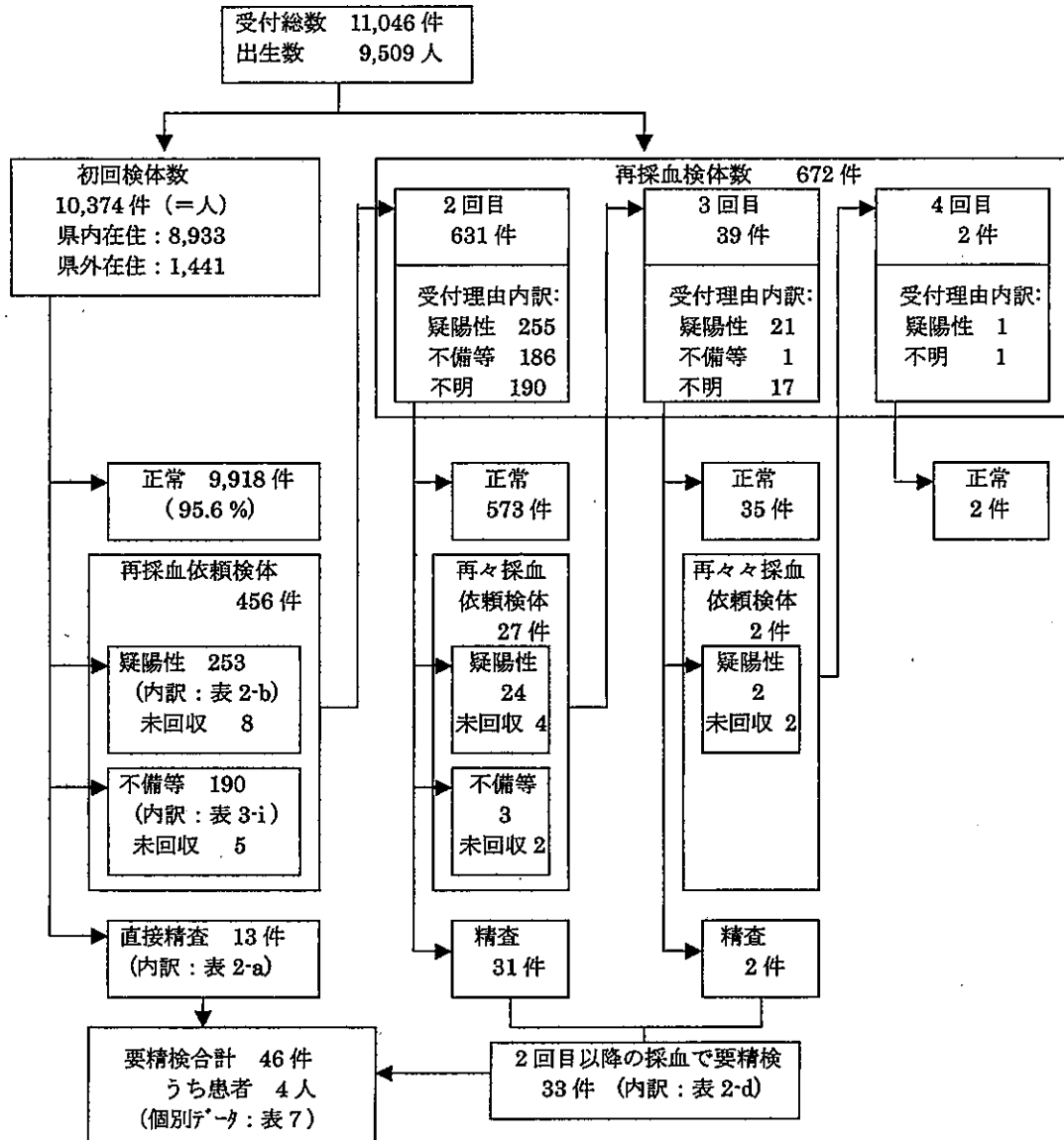


図 1. 検査の流れおよび検査件数の概要

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回以上		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)	要精検数 (d)	疑陽性による 再採血依頼数 (e)	要精検合計 [患者数] (f)=(a)+(d)	疑陽性 総件数 (g)=(b)+(e)	再採血率 (%) (h)
フェニルケトン尿症	0	5	0.05	2	0	2	5	0.05
ホモシスチン尿症	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
メイプルシロップ尿症	0	14	0.13	1	0	1	14	0.13
ガラクトース血症	1	30	0.29	4	3	5	33	0.30
クレチン症	6	127	1.22	19	7	25[4]	134	1.21
副腎過形成症 (うち低体重)	6	81(42)	0.78	7	17(12)	13	98(54)	0.89
合計 《うち2疾患重複数》	13	257 《4》	2.48	33	27 《1》	46[4]	284 《5》	2.57

症は1.21%および副腎過形成症は0.89%となり、合計2.57%であった。なお、現在再採血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[6]。クレチン症と副腎過形成症の再採血率が少し高い傾向が見られた。

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、それらはフェニルケトン尿症と副腎過形成症が2件、ガラクトース血症と副腎過形成症、メイプルシロップ尿症と副腎過形成症、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26件のうち、1回目と2回目が違う項目で疑陽性の検体は2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ガラクトース血症が1件、

クレチン症が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81件のうち42件(51.9%)が低出生体重児(2,000g未満)であった。

再採血を依頼した件数は合計485件で、そのうち、平成15年5月末現在464件が再採血され、その回収率は95.7%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7件、血液が不足している検体が8件、採血後日数が経ち過ぎている古い検体が15件あった。古い検体の中には、1月に採血された検体が9月に届いた例(採血から当所到着まで232日経過)があり、病院や郵便局に問い合わせるなど調査を行ったが、原因の解明には至らなかった。なお、この検体で至急検査を実施すると同時に1月に採血されているが検査は行われていないこと病院を通じて保護者に連絡し、もう一度採血してもらった。検査の結果、幸い異常は認められなかった。また、古い検体が1月に集中しているが、これは年末年始の休み期間があるためで、このような長期

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 (i)	総受付検体 (j)
3日以内に採血	7	7
血液不足	8	8
古い	15	16
哺乳不良	24	26
低体重、哺乳不良	5	5
低体重	131	131
合計	190	193

表4. 月別検査実施状況

年月	平成15年										平成16年			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受付検体総数(件)	886	896	878	966	979	1,004	971	798	760	1,075	814	1,019	11,046		
内 訳	初回検査数(件)	820	849	827	910	918	952	915	756	712	1,007	756	952	10,374	
	再採血総数(件)	66	47	51	56	61	52	56	42	48	68	58	67	672	
	再採血内訳	2回目	61	43	47	53	58	51	54	39	41	67	51	66	631
		3回目	4	3	4	3	3	1	2	3	7	1	7	1	39
4回以上		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
疑陽性件数(要精検)	フェニルケトン尿症	0	0	1	0	0	0	0	1	0(1)	2	1(1)	0	5(2)	
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	メイプルシロップ尿症	2	2	0	0	2(1)	0	1	1	1	3	0	2	14(1)	
	ガラクトース血症	3(2)	2	3	1	0	0	3(1)	1	2	6	7(1)	5(1)	33(5)	
	クレチン症	16(5)	12	7(2)	12	12	9(1)	13(2)	6(2)	15(6)	12(1)	8(3)	12(3)	134(25)	
	副腎過形成症	11(2)	6(2)	3	4	9(1)	8	9	12(4)	10	16	5(2)	5(2)	98(13)	
計	32(9)	22(2)	14(2)	17	23(2)	17(1)	26(3)	21(6)	28(7)	39(1)	21(7)	24(6)	284(46)		

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	クレチン症	副 腎 過形成症	代 謝 異常症	クレチン症	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 ～7年度	80,458	75,116	71,418	105.2	1,301	1,176	535	56(7)	211(27)	127(7)
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)
平成15年度	11,046	10,374	9,509	109.1	52	134	98	8(0)	25(4)	13(0)
計	324,729	305,555	308,174	—	4,315*	3,079	1,439	227*(38**)	536(92)	242(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13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2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15年度		昭和52年度～平成15年度		昭和52年度～平成14年度		
受 検 者 数	10,374 人		305,555 人		33,313,090 人		
疾病名	患者数, 発見率	患 者 (人)	発見率	患 者 (人)	発見率	患 者 (人)	発見率
フェニルケトン尿症	0	0	—	4	1/ 76,400	424	1/ 78,600
ホモシスチン尿症	0	0	—	0	—	173	1/ 192,600
ヒスチジン血症	—	—	—	33	1/ 6,000 ¹⁾	2,200	1/ 9,600 ⁰⁾
メイプルシロップ尿症	0	0	—	1	1/ 305,600	66	1/ 504,700
ガラクトース血症	0	0	—	0	—	934	1/ 35,700
クレチン症	4	1/ 2,600	—	92	1/ 3,000 ²⁾	7,869	1/ 3,800 ³⁾
先天性副腎過形成症	0	0	—	12	1/ 13,500 ³⁾	1,098	1/ 16,800 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15年度 受検査数 277,105人

3)平成元年度～平成15年度 受検査数 161,670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14年度 受検査数29,985,830人

6)昭和63年度～平成14年度 受検査数18,432,328人

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。

2,000g未満の低出生体重児については、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ている。今年度は126件に対して再採血を依頼した。このうち哺乳不良が11件あった。また、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193件で、このうち再検査できたのが186件（回収率96.4%）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[7,8,9]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1/8,000、クレチン症が1/3,000、副腎過形成症が1/13,500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52人、クレチン症が134人、先天性副腎過形成症が98人であり、そのうち、それぞれ8人、25人、13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13人の内訳は、ガラクトース血症疑い1人、クレチン症疑い6人、先天性副腎過形成症疑い6人であった。

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1, 17, 19および24の4人であった。

なお、当所では、精密検査が必要となった場合には、スクリーニング結果連絡の際に、診断結果記入用紙を同封し、治療病院名、主治医名、精密検査の結果及び診断名を記入し返送してもらおうシステムをとっている。この回収率は、93.5%（43例/46例）であった。表7の診断名は、主治医から報告された診断名である。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで2人、メイプルシロップ尿症の疑いで1人、ガラクトース血症の疑いで5人が要精密検査となった。ガラクトース血症疑いの症例5は、兄がG6PD異常症と診断されており、検査結果が兄と同じであったことからこの児もG6PD異常症の疑いで精密検査中である。

(2) クレチン症

患者と診断された4人のほかに、クレチン症の疑いで3人が治療中である。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。

<症例1>日齢5の初回検査で、TSH値が $30 \mu\text{U/ml}$ 以上で直接精査となった。小児科での検査の結果、TSH $189 \mu\text{U/ml}$ 、FT₄ 0.7ng/dl で、患者と診断され、治療が開始された。

<症例17>日齢13の再検査でTSH値が上昇していたため、日齢18の時点で主治医に電話連絡すると同時に検査結果を郵送したが、年末年始の休み期間に入ったため、文書が病院に届いたのが日齢30の時点で、発送から到着まで12日かかってしまった。主治医は文書がないと診察できないとのことで治療せず放置されていた。その後、病院での精密検査結果は、TSH $333 \mu\text{U/ml}$ 、FT₄ 0.4ng/dl 、FT₃ 1.8pg/ml で、かなり重症なクレチン症と診断された。

<症例19>日齢9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17の小児科での検査の結果TSH $48.8 \mu\text{U/ml}$ 、FT₄ 1.2ng/dl で、甲状腺機能低下症と診断され、翌日より治療開始された。

<症例24>日齢5の初回検査でTSH値が異常高値のため要精密検査となった。小児科での検査の結果TSH $102 \mu\text{U/ml}$ 、FT₄ 0.4ng/dl 、FT₃ 1.2pg/ml で、甲状腺機能低下症と診断された。甲状腺エコーにより低形成の疑いとのことであった。

また、症例13は、日齢5の初回検査でTSH値が異常高値で即精密検査となったが、この兄も初回検査でTSH $100 \mu\text{U/ml}$ 以上で要精密検査となり、一過性高TSH血症と診断されている。

(3) 副腎過形成症

要精検となった13人のうち2,000g未満の低出生体重児は11人であった。そのうち1,000g未満の極小未熟児は2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

富山県では、スクリーニング開始以来、検査結果は、異常のある検体のみ報告し、概ね20日経っても連絡がない場合は、異常なしとすることが、事業取扱要領で決められていた。しかし、採血された検体が確実に検査されていることを確認するには、その検査結果をすべて確実に依頼されたところに報告することが必要であり、精度管理の面から、実施要綱の改正を行い、

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	日令	検査成績	診断名等
フェニルalanin尿症	1		女	5	Phe 1.86 mg/dl 2.33	異常なし
				49	Phe 2.23 mg/dl 2.39 2.41	
	2		女	5	Phe 2.31 mg/dl 2.675	異常なし
				13	Phe 2.1 mg/dl 2.24 2.205	
メチルmalon酸尿症	1		男	7	Leu 2.59 mg/dl 3.20	異常なし
				15	Leu 3.60 mg/dl 3.82 3.84	
ガラクトース血症	1		男	5	Gal 5.45 mg/dl ポイトラー正常 4.83	経過観察中
				34	Gal 3.67 mg/dl ポイトラー正常 3.71 3.68	
	2		男	4	Gal 2.9 mg/dl 17-OHP抽出法 2.94 4.6 ng/ml ポイトラー正常	一過性高ガラクトース血症
				27	Gal 4.28 mg/dl 17-OHP抽出法 4.42 1.0 ng/ml ポイトラー正常	
				38	Gal 3.88 mg/dl ポイトラー正常 4.19 3.66	
	3		女	5	Gal 4.16 mg/dl ポイトラー正常 4.22	一過性高ガラクトース血症
				12	Gal 4.94 mg/dl ポイトラー正常 5.16 5.19	
	4		女	5	Gal 6.62 mg/dl ポイトラー正常 8.31	経過観察中
				12	Gal 6.84 mg/dl ポイトラー正常 6.65 5.58	
	5		男	5	Gal 0.61 mg/dl ポイトラー蛍光無	グルコース-6-リン酸脱水素酵素欠乏症疑い
クレチン症	1*		女	5	TSH 50.4 μ U/ml 53.25	クレチン症
				2	TSH 10.4 μ U/ml 11.3	
	9		男	9	TSH 13.0 μ U/ml 15.0 15.25	一過性高TSH血症
				3		
	14	TSH 9.65 μ U/ml 9.5 8.6				
	4		女	5	TSH 8.8 μ U/ml 11.4	一過性高TSH血症疑い

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	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	4		女	14	TSH 9.3 μ U/ml 10.1 10.4	一過性高TSH血症疑い
	5		女	6	TSH 17.2 μ U/ml 17.15	一過性高TSH血症または軽度クレチン症
				14	TSH 9.95 μ U/ml 10.4 8.3	
	6		男	5	TSH 9.7 μ U/ml 10.55	一過性高TSH血症疑い
				11	TSH 9.7 μ U/ml 10.35 9.7	
	7		男	6	TSH 15.5 μ U/ml 14.1 11.85	一過性高TSH血症疑い (ダウン症候群)
				10	TSH 8.1 μ U/ml 8.95 8.1	
				31	TSH 9.5 μ U/ml 8.9 8.6	
	8		女	5	TSH 10.2 μ U/ml 11.15	一過性高TSH血症
				13	TSH 9.35 μ U/ml 9.55 8.9	
	9		男	6	TSH 21.2 μ U/ml 18.25	異常なし
				12	TSH 19.6 μ U/ml 21.7	
	10		女	6	TSH 62.5 μ U/ml 60.75	一過性甲状腺機能低下症
	11		男	4	TSH 15.7 μ U/ml 18.5	異常なし
				12	TSH 11.4 μ U/ml 11.75 10.95	
	12		男	6	TSH 30.6 μ U/ml 32.6	クレチン症疑い
	13		女	5	TSH 242.2 μ U/ml	経過観察中
14		男	5	TSH 8.6 μ U/ml 10.2	一過性高TSH血症疑い	
			10	TSH 11.55 μ U/ml 11.10 14.5		
15		男	5	TSH 27.9 μ U/ml 31.5	一過性高TSH血症疑い	
16		女	5	TSH 21.5 μ U/ml 23.8	クレチン症疑い	
			14	TSH 29.2 μ U/ml 30.75		
17*		男	5	TSH 11.6 μ U/ml 13.4	クレチン症	
			13	TSH 71.7 μ U/ml		

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	日令	検査成績	診断名等
					83.05	
クレチン症	18		女	5	TSH 8.1 μ U/ml 9.3	経過観察中
				12	TSH 9.1 μ U/ml 9.95	
	19*		男	5	TSH 15.1 μ U/ml 13	クレチン症 (ホルモン合成障害疑い)
				9	TSH 18.85 μ U/ml 17.75 21.9	
	20		男	6	TSH 10.1 μ U/ml 10.3	高TSH血症
				16	TSH 12.2 μ U/ml 12.1 8.9	
	21		男	7	TSH 2.7 μ U/ml 17-OHP抽出法 12.2 ng/ml	新生児一過性甲状腺機能低下症
				75	TSH 231.5 μ U/ml	
	22		男	5	TSH 10.2 μ U/ml 10.2	高TSH血症
				17	TSH 10.1 μ U/ml 10.1 9.75	
23		女	5	TSH 11.4 μ U/ml 11.8	クレチン症疑い	
			14	TSH 12.1 μ U/ml 8.95		
24*		女	5	TSH 280.7 μ U/ml	クレチン症 (甲状腺低形成疑い)	
25		女	5	TSH 9.4 μ U/ml 9.8	経過観察中	
			11	TSH 9.9 μ U/ml 9.35 8.3		
先天性副腎過形成症	1		男	8	17-OHP 5.4 ng/ml 17-OHP 3.7 ng/ml 直接法 5.6 抽出法	異常なし 在胎週数 36.6 週 生下時体重 1888 g
				17	17-OHP 4.1 ng/ml 17-OHP 3.8 ng/ml 直接法 4.25 抽出法 3.7	
	2		男	5	17-OHP 37.2 ng/ml 17-OHP 10.1 ng/ml 直接法 42.35 抽出法	異常なし 在胎週数 31 週 生下時体重 1456 g
	3		女	13	17-OHP 23.15ng/ml 17-OHP 21.35ng/ml 直接法 27.0 抽出法	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1128 g
	4		男	5	17-OHP 16.0 ng/ml 17-OHP 10.3 ng/ml 直接法 16.7 抽出法	異常なし 在胎週数 34 週 生下時体重 2292 g
5		男	13	17-OHP 14.9 ng/ml 17-OHP 8.45ng/ml 直接法 14.2 抽出法 10.7	異常なし 在胎週数 34.2 週 生下時体重 1846 g	
			33	17-OHP 14.5 ng/ml 17-OHP 9.15ng/ml 直接法 14.1 抽出法 15.05		

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	日令	検査成績		診断名等
先天性副腎過形成症	6	男	7	17-OHP 9.8 ng/ml 直接法 9.7	17-OHP 10.1 ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 32.2 週 生下時体重 1768 g
	7	男	15	17-OHP 98.45ng/ml 直接法 97.5	17-OHP 46.45ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 28.5 週 生下時体重 1590 g
			18	17-OHP 87.85ng/ml 直接法 88.05	17-OHP 27.85ng/ml 抽出法	
	8	女	13	17-OHP 7.1 ng/ml 直接法 8.2	17-OHP 6.75ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 32.1 週 生下時体重 1844 g
			21	17-OHP 9.2 ng/ml 直接法 9.65	17-OHP 5.5 ng/ml 抽出法	
	9	男	5	17-OHP 6.8 ng/ml 直接法 6.6	17-OHP 4.0 ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 34 週 生下時体重 1910 g
			19	17-OHP 4.75ng/ml 直接法 4.7	17-OHP 3.7 ng/ml 抽出法	
	10	女	10	17-OHP 6.8 ng/ml 直接法 6.6	17-OHP 3.9 ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 29 週 生下時体重 986 g
			30	17-OHP 21.2 ng/ml 直接法 19.9 17.3	17-OHP 6.7 ng/ml 抽出法	
	11	女	7	17-OHP 18.1 ng/ml 直接法 18.6	17-OHP 10.95ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 35.1 週 生下時体重 2076 g
	12	男	8	17-OHP 41.5 ng/ml 直接法 46.45	17-OHP 8.3 ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 26 週 生下時体重 942 g
			30	17-OHP 31.2 ng/ml 直接法 26.5 26.4	17-OHP 7.7 ng/ml 抽出法	
	13	男	4	17-OHP 38.3 ng/ml 直接法 40.0	17-OHP 18.2 ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 30 週 生下時体重 1816 g

今年度から、検査依頼されたすべての検査結果を医療機関に報告することになった。ところが、前述のように、昨年度（平成16年1月）に採血された検体が約8ヶ月間も行方不明となっていたことが判明した。医療機関、郵便局に問い合わせ、投函された日、配達された日などを調査したが、結局原因はわからなかった。古い検体で検査を実施すると同時に、至急再度採血してもらい検査したところ、幸いにも結果に異常がなく、大事には至らなかったが、マス・スクリーニング開始当初から、すべての検査結果を報告することになっていれば、もっと早く、検体が届いていないことが判明したはずである。さらには、医療機関においても、いつ誰がどの検体を責任をもって投函したか確認できるような体制をとるべきではないかと考える。

また、結果報告については、異常（疑陽性、要精密検査）の場合その都度電話と文書で医療機関に報告しているが、今回報告したクレチン症の患者であった症例は、結果を電話で医師に連絡したが、文書を見ない

と確認できないからといって放置され、約2週間も治療が遅れてしまった。文書は電話連絡と同時にすぐに発送したものの、年末年始の休み期間と重なり医療機関への到着が遅れたためである。

新生児のマス・スクリーニングの目的は、先天性代謝異常症等の疾患を早期に発見し、早期に治療開始することであり、今回の例のようなことが起こると、発見が遅れ患者が死亡したり、治療開始の遅れで障害が発生してしまう恐れがある。このようなことを起こさないためには、採血機関、検査機関、治療機関の緊密な連携が必要となるとともに、それぞれが責任を持ってマス・スクリーニングの役割[10]を担うことが重要と考える。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子 (2001). 富山衛研年報, 平成12年度, 48-53.

平成16年10月1日

2. 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.
3. 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.
4. 米田 豊 (1998). インターネットURL, <http://homepagel.nifty.com/screening/punch.htm>
5. 米田 豊 (1999). 富山衛研年報, 平成10年度, 54-57.
6. 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.
7. 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.
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.
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 (2002). 特殊ミルク情報, 38, 96-98.
10. 成瀬 浩 (1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement 2, 6-10.

アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングで検出される

未知ピークのLC/MS及び酵素反応による同定

米田 豊 九曜雅子

Identification of Unknown Peaks Detected by High Performance Liquid Chromatography for Mass-screening of Disorders of Amino Acid Metabolism

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

要旨 現在当所では、新生児のアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングは逆相カラム用いる高速液体クロマトグラフィー (LC) で行っている。この方法で得られるクロマトグラム上には検査対象アミノ酸のピークの他、未知のピーク X1 及び X2 が出現する。これらの未知ピークが、特定の疾患と関連性があれば新生児マス・スクリーニング上、有用と考えられることから、未知ピークを同定しておく必要がある。今回、LC タンデム質量分析装置 (LC/MS/MS) の導入を機に、未知ピークの同定を試みた。その結果 X2 は酸化型グルタチオン (GSSG) であることが LC/MS と酵素反応により同定され、X1 は還元型グルタチオン (GSH) であることが LC と酵素反応の結果から同定された。そこで、一般新生児ろ紙血液中の、GSSG 及び GSH の定量を行い、また、GSSG の変動が予想されるグルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PD) 欠乏症の疑いのある新生児の乾燥ろ紙血液についても GSSG 値と GSH の測定を行った。

高速液体クロマトグラフィー (LC) による新生児のアミノ酸代謝異常症スクリーニング法は逆相カラムを用いる方法とイオン交換カラムを用いる方法に大別できる。当所ではカラムスイッチングを用いる逆相カラム法を採用しており、Fig.1 に示すように1検体11分サイクルでクロマトグラムが得られる。このクロマトグラム上には検査対象のメチオニン (Met)、ロイシン (Leu)、フェニルアラニン (Phe) の他、バリン (Val)、チロシン (Tyr)、イソロイシン (Ile) 及び内部標準として添加したノルロイシン (Nle) に加え未知のピーク X1 及び X2 が出現する。特に X2 は Met と Tyr の中間の位置に出現し、通常 X1 よりもピーク面積が大きい。これまで、X1 と X2 の同定を目的に生体に一般に存在する各種のアミノ酸の標準物質を当該アミノ酸分析システムにより分析を行ったが、いずれのアミノ酸とも保持時間が一致せず未知ピークとして扱ってきた。もし、この未知ピーク成分が、新生児マス・スクリーニング上、有用な物質であれば、容易に日常検査項目に追加できることから、これら未知ピークの同定は必要と考えていた。この度、当所に LC タンデム質量分析器が導入されたことから、これらのピークの同定を試みた。

実験方法

1 装置

単独 LC 用の LC 装置は日本分光製1500シリーズを用いた。

LC/MS の LC 装置は Waters 社1525 Binary LC Pump (Waters 717plus Autosampler 付) をタンデム質量分析装置 Waters 社 Quattro micro API Mass Analyzer に接続して用いた。

2 試薬

酸化型グルタチオン (GSSG) はシグマ社製 G-4376、還元型グルタチオンは和光純薬製特級品を用いた。また、グルタチオンレダクターゼ (GR) はシグマ社製 G-3664 を、グルタチオンペルオキシダーゼ (GP) は同社製 G-6137 を用いた。ジチオトレイトール (DTT) は和光純薬製 SH 基酸化防止用を用いた。

3 試験溶液の調製

直径 1/8 インチの血液ろ紙 1 枚ないし 2 枚にエタノール-アセトン-水 (7:7:2) を 10 μ l 加え、血色素をろ紙に固定した後、水または内部標準物質含有抽出液 [1,2] 100 μ l を加えて 10 分間超音波抽出を行い、試験溶液を調製した。

4 MS 及び LC 条件

4-1 単独 LC の分析条件

(1) LC 条件 1

分析カラム：資生堂 CAPCELL PAK C18 MG II (内径4.6mm, 長さ100mm)

前処理カラム：野村化学 ODS-UG5 (内径4.0mm, 長さ10mm)

移動相：A液は5mM ペンタンスルホン酸ナトリウム含有25mM 過塩素酸ナトリウム溶液 (pH2.2), B液はエタノールとするステップグラジエント, グラジエントパターン及びカラムスイッチングのタイミングは前報 [1,2] に準じた.

流速：1.25ml/min

(2) LC 条件 2

カラム：野村化学 C30-UG5 (内径 3mm, 長さ 50mm)

移動相：0.1%トリフルオロ酢酸 (TFA) 溶液

流速：0.3ml/min

データ処理には日本分光製のBorwin/HSSソフトウェアを用いた.

4-2 LC/MS の分析条件

LC 条件は前述の LC 条件 2 を用いた.

MS 条件は下記のシングル MS 条件を用いた.

イオン化法：ESI

キャピラリー電圧：+3.5KV

コーン電圧：20V

エクストラクター電圧：5V

RFレンズ電圧：0.1V

ソース温度：120°C

デソルベーション温度：350°C

デソルベーションガス流量：600L/hr

コーンガス流量：50L/hr

なお、データ処理には Waters 社製 MassLynx ソフトウェアを用いた.

実験結果

1 LC/MS用の LC 条件の検討

X2 ピークが出現する日常検査用の LC システム [1, 2] は ODS カラムを用いるイオンペアード法であるため、このシステム条件をそのまま LC/MS の LC 条件として用いることはできない。そこで、カラムは水100%での分析が可能な C30 カラムを用い、LC/MS で一般的に用いられる移動相である0.1%ギ酸、0.2%酢酸及び0.05%トリフルオロ酢酸 (TFA) を用いて LC 条件の検討を行った。その結果、Fig.2 (A) に示すように移動相に0.05%TFA を用いた場合、X2 ピークに相当すると思われる未知ピークが Tyr と Phe の中間に溶出したため、以後、このピークを MS で解析することとした。

2 LC/MS による解析

LC/MS による解析は次の順序で行った。①一般新生児ろ紙血液の抽出液を LC/MS に注入し、シングル MS によりトータルイオンクロマトグラム (TIC) を測定する。② TIC を基に Tyr の溶出位置から Phe の溶出位置までの累積マススペクトルを表示させる。③得られたマススペクトルで強度が得られた m/z でマスクロマトグラムを表示させ、Tyr と Phe の中間にピークが出現した場合、その m/z を参考に未知ピークの物質を検索する。以上の方法により解析した結果、

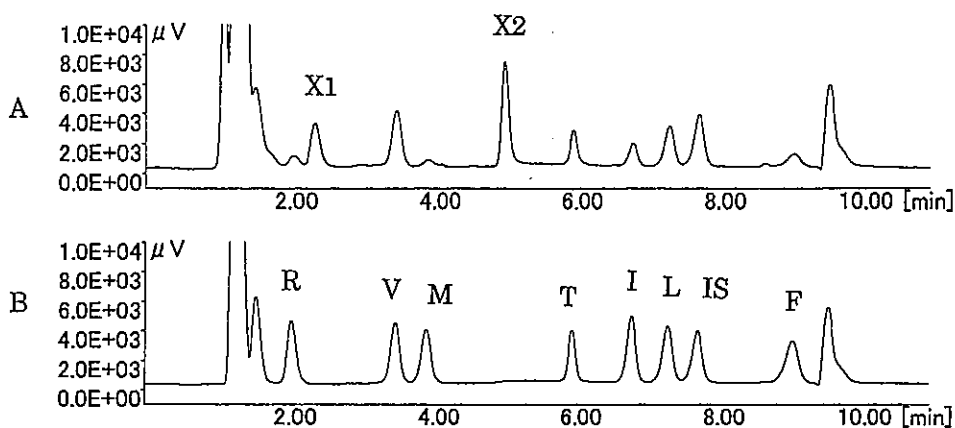


Fig.1. Chromatograms of normal blood(A) and standard solution(B) by ion paired method using ODS column.

X1 and X2:Unknown peak, R:Arginine, V:Valine, M:Methionine, T:Tyrosine, I:Isoleucine, L:leucine, IS:Internal standard, F:Phenylalanine

Fig.3に示すTIC (E) 及びマスクロマトグラム (A, B,C,D) が得られた。すなわち Tyr と Phe の中間の時間帯である、保持時間12.3から16.4分の間の累積マススペクトルを表示させたところ、Fig.4(A) が得られた。そこで、Fig4(A) で検出されたマスフラグメントを参考に、12.3から16.4分の間にピークが出現するm/zを探したところ、Fig.3(A,B) に示すように、m/z307及び613のマスクロマトグラムが該当し、それらのピーク出現位置は一致した。ESI ではn 価の多価イオンを生ずる物質では質量数 (M) と m/z の

ントを参考に、12.3から16.4分の間にピークが出現するm/zを探したところ、Fig.3(A,B) に示すように、m/z307及び613のマスクロマトグラムが該当し、それらのピーク出現位置は一致した。ESI ではn 価の多価イオンを生ずる物質では質量数 (M) と m/z の

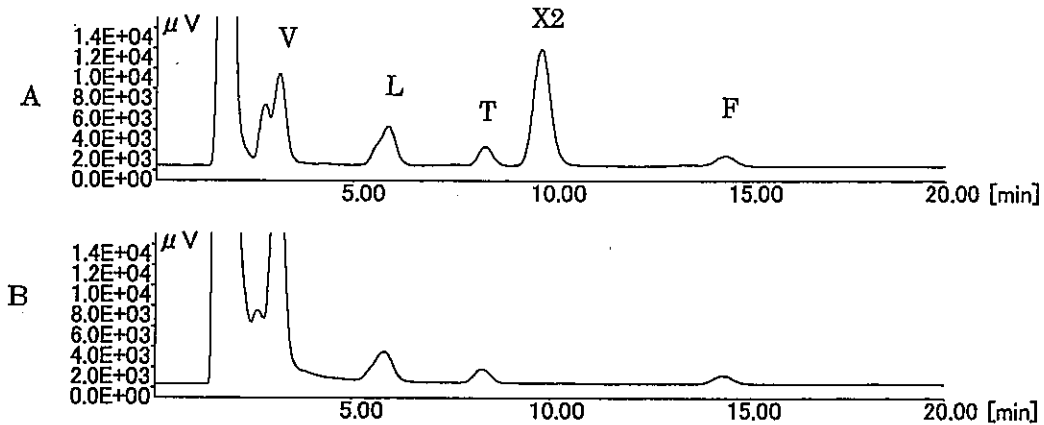


Fig.2. Chromatograms of normal blood without treatment(A) and with treatment (B) by glutathione reductase(B) using C30 column.

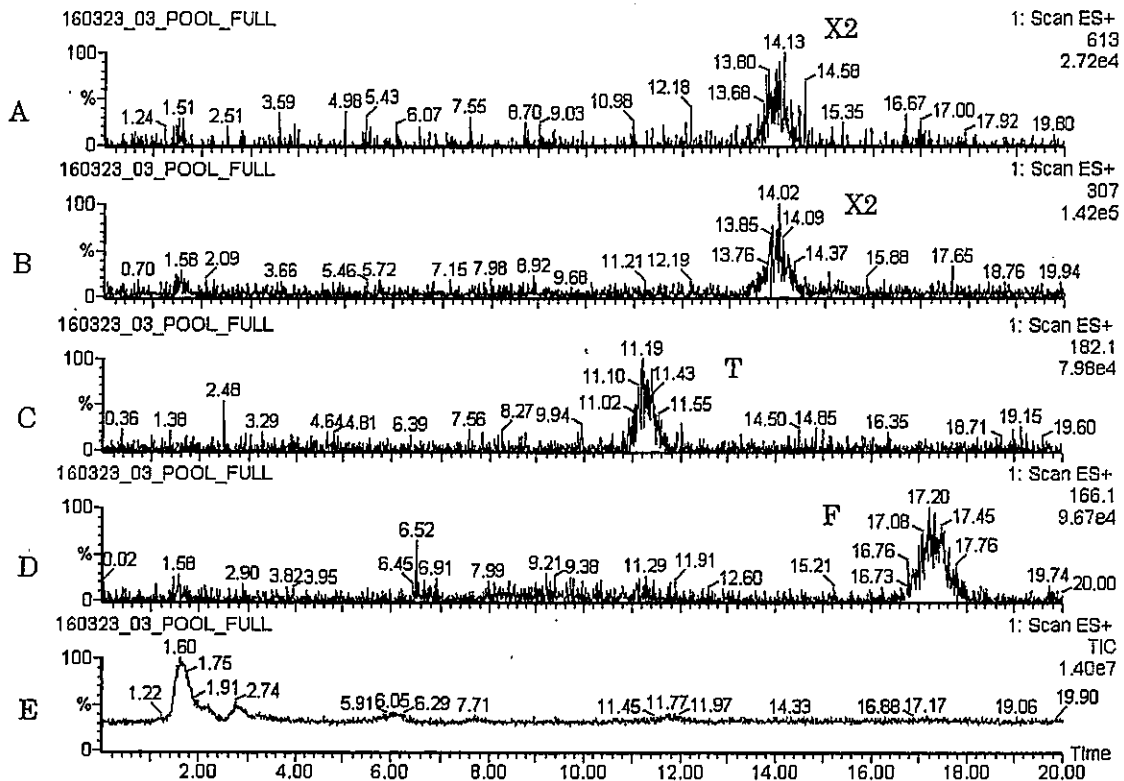


Fig.3. Mass chromatograms of unknown peak(A and B), tyrosine(C), phenylalanine(D) and total ion chromatogram(E).

関係はプロトン付加の場合、 $m/z=(M+nH)/n$ の関係にあるが、未知ピークの価数は不明であるため、取り敢えず未知物質は1価の物質と仮定して検討を行った。従って、 m/z 307, 613はそれぞれ質量数306と612の物質に由来すると仮定され、また、オルトフタルアルデヒド (OPA) と反応して蛍光を生ずる物質であることから分子内にアミノ基を有することが推測された。

3 CAS Registry file によるデータベース検索

Chemical Abstracts Service が提供する CAS Registry file による検索では、分子量を指定して候補物質を抽出できる。そこで、分子量が306及び612の物質の検索を行ったところ、54099及び12300物質がヒットした。これらの物質すべてについて調査することは容易でないため、同データベースファイルの検索練習用ファイル (LRegistry file) でも同様に検索を行ったところ、それぞれ313件及び59件がヒットした。そこで、これらの物質について個別にアミノ基を有するか否かを調べたところ、分子量306については23物質、分子量612では18物質がアミノ基を有していた。更に、これら中から、生体内に存在すると考えられる物質として、分子量306の Glutathionyl radical と分子量612の GSSG が抽出された。

4 LC/MS による同定

GSSG の標準溶液を LC/MS で測定したところ、

X2 ピークと同一位置にピークは認められるが、ピーク形状はシャープではなく、良好な感度は得られなかった。従って、LC/MS の機能を用いる同定に加え、酵素の特異性や酸化還元反応に基づく同定も検討することとした。なお、GSSG 標準溶液の質量スペクトルは Fig.4(B) に示した。

5 酵素反応及び酸化還元反応に基づく同定

5-1 SS 結合の切断による同定

試験溶液の調製の項で述べた方法により、血液ろ紙2枚から水100 μ l を用いて抽出した抽出液を、30検体分プールし、そのプール溶液200 μ l に5mg/mlNADPH 溶液 8 μ l 及び GR 溶液 2 μ l を加え37°C で1時間反応させた後、反応液を LC 条件2により単独の LC 測定を行った。その結果は Fig.2(B) に示すように、X2 ピークは消失し、Val と保持時間がほぼ一致するピーク面積が増大した。このことから、ピーク X2 は GSSG でありピーク面積の増大は GSH の生成によるためと考えられた。また同様の操作で得られて試験溶液を LC 条件1でも測定を行った。その結果は Fig.5 (B) に示すように Met と Tyr の間のピークは消失し、GSH のピークが増大した。次に還元剤による SS 結合の切断を試みた。還元剤には DTT を使い、抽出プール溶液200 μ l に40mM の DTT 溶液10 μ l を加えて室温で1時間反応させた後、LC 測定を行った結果、Fig.5(C) に示すように GR と同様に GSSG

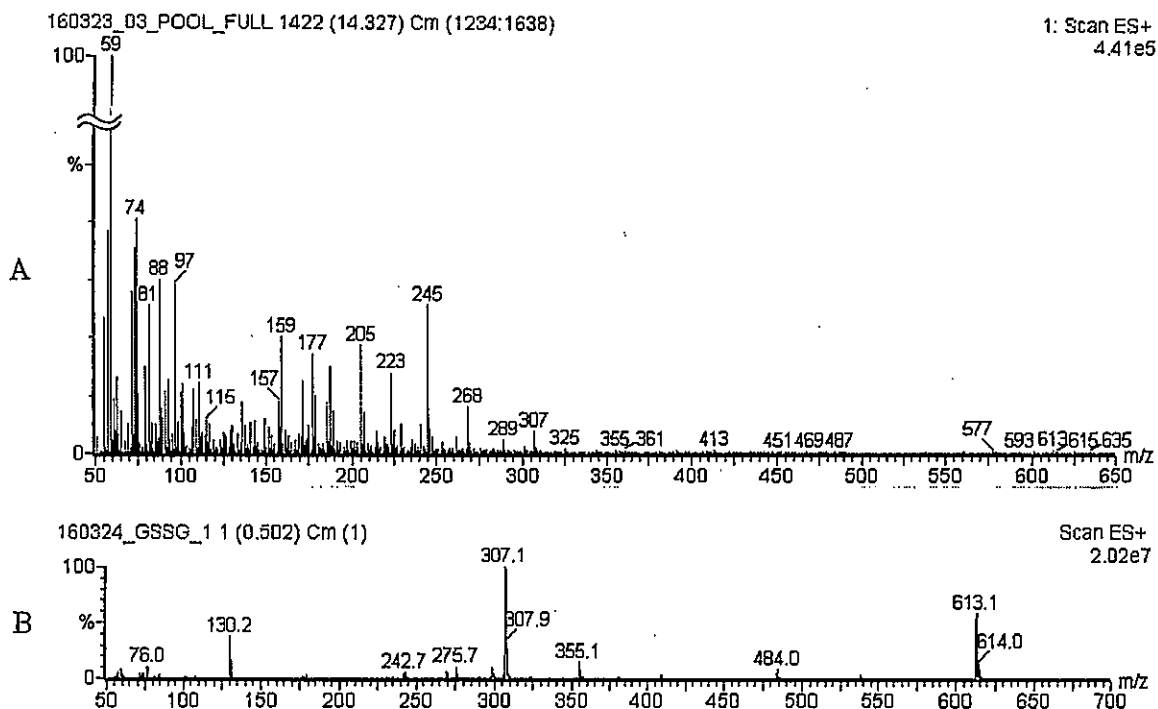


Fig.4. Total mass spectra at retention time from 12.3 to 16.4 minutes (A) and fragmentation pattern of GSSG(B)

のSS結合が切断された。

5-2 酵素反応によるGSHピークの除去

Fig.5(A)で得られるGSHのピークはGSHのみによるピークか、あるいは保持時間が一致する他の成分のピークと重複しているか否かを調べるため、抽出プール溶液200 μ lに0.3%過酸化水素溶液8 μ l及びGP溶液2 μ lを加え37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、LC条件1によりLC測定を行った。その結果はFig.5(D)に示すようにGSHのピークは消失した。以上の結果からX1とX2はそれぞれGSHとGSSGのピークであると同定した。

6 一般新生児の血液ろ紙中GSSG及びGSHの定量

一般新生児のろ紙血液中のGSSG及びGSHを定量するため、アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの分析項目にこれら2種のアミノ酸を追加し、331検体(次項の1体を含む)について定量を行なって、両者の相関の有無を調べた。その結果はFig.7に示すように、殆ど相関は認められなかった。なお、GSH及びGSSGの平均値はそれぞれ9.3及び24.8mg/dl(0.30及び0.40 μ mol/ml)で標準偏差は5.8及び5.2mg/dl(0.19及び0.08 μ mol/ml)であった。

7 グルコース-6リン酸脱水素酵素欠乏症(G6PD)

の疑いのある検体中のGSSG及びGSHの定量

生体内でG6PDが関与する酵素反応はFig.6に示すようにGR及びGPの酵素反応と関連する[3]た

め、G6PD欠損症ではGSHやGSSGの濃度が変動すること予想された。そこで、血中ガラクトース値は正常(0.6mg/dl)でポイトラーテストが陽性であったため、G6PD欠損症が疑われ、現在、診断中の男児(兄はG6PD欠乏症と診断)の検体についてもGSHとGSSGの測定を行ったところ、GSH 13.3, GSSG 39.5mg/dl(0.43, 0.64 μ mol/ml)であり、Fig.7のマークした位置にプロットされた。

考 察

アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの1次検査として用いるLCで、未知ピークとして扱っていたX1及びX2のピークは、それぞれGSHとGSSGと同定された。LC/MSから得られた分子量情報のみでは、候補物質が非常に多く同定が困難なため、本来、フラグメントパターンやLC/MS/MSの機能を活用する同定が望ましいが、LC/MSはGC/MSに比較し、マスフラグメントのデータベースが整備されておらず、また精度がユニットマス単位の装置では、未知物質の同定は必ずしも容易ではない。今回、幸いにもCAS Registry fileの練習用ファイルに未知ピーク成分のデータがあり、また、酵素反応と組み合わせることにより同定することができた。

GSHは活性酸素を不活化するためフリーラジカルによる障害を抑制し、蛋白質のチオール基が酸化され

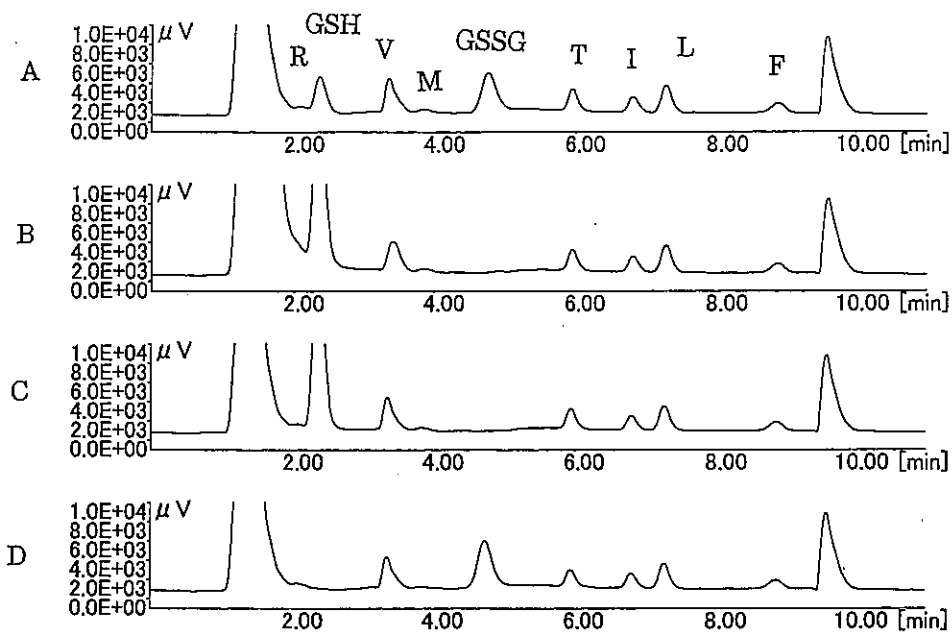


Fig.5. Chromatograms of normal blood(A), treated by glutathione reductase(B), DTT(C) and glutathione peroxidase(D) measured using ODS column.

ることを防ぐ作用がある。このことから、GSHはヘモグロビン、赤血球膜、酵素蛋白のSH基を保護する重要な還元物質であり、主に赤血球の機能維持に関

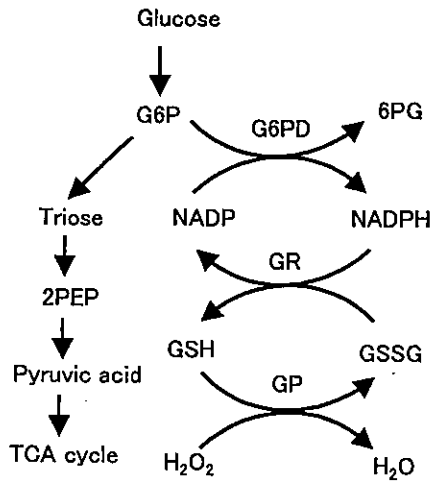


Fig.6. Metabolic pathway of glucose

G6P:Glucose-6-phosphate
 6PG:6-Phosphogluconic acid
 G6PD:Glucose-6-phosphate dehydrogenase
 GR:Glutathione reductase
 GP:Glutathione peroxidase
 2PEP:2-Phosphoenolpyruvic acid

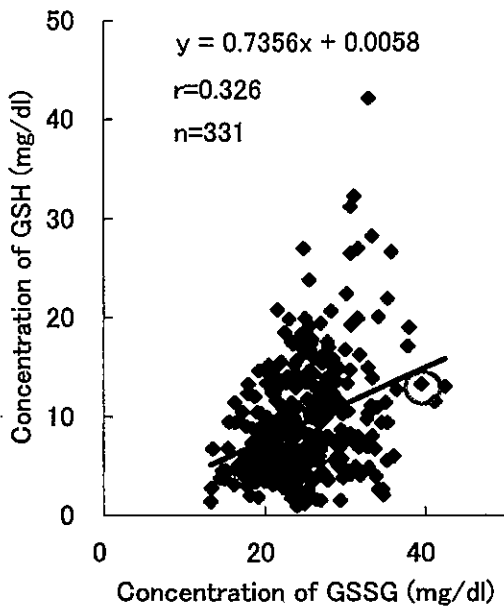


Fig.7. Correlation of determined concentration of GSSG and GSH in dried blood specimens.

Circle mark indicate specimen of suspected G6PD deficient patient

係が深いとされている [4]. Fig.6に示すように、G6PDとGRは過酸化水素の代謝に関与しており、これらの酵素欠損症では過酸化水素が増加し、赤血球を破壊し、重篤な溶血性貧血をもたらすことになる [5]. G6PD欠損症患者のソラマメ摂取による急性溶血発作はGR欠損症でも報告されており、同様のメカニズムによるためと考えられる。これらのことからGSHやGSH/GSSG比は酸化ストレスの指標物質として測定されており、また比較的安定なグルタチオン化ヘモグロビン(Hb-SSG)も同様の指標物質として測定されている [6]. 今回分析したG6PD異常症の一例では、GSHおよびGSSG濃度の変動が予想されたが、一般新生児と顕著な差は認められなかった。その一因は、用いた試料はろ紙血液であり、空気酸化を受け易いためと思われる。しかし、GR異常症ではGSHやGSSG値により強く影響を与えると思われるため、今後更に検討する必要がある。今回GSH及びGSSGを同定できた意義は、むしろ次の点にある。GSSGは従来LCによるアミノ酸代謝異常検査にとって、ValやMetの測定を妨害する成分となっていた。すなわち、ODSカラムを用いるアミノ酸分析では、分析時間の短縮化を試みるとしばしば、GSSGがValやMetのピークに重なり、障害となっていた。今回、妨害成分を同定できたことから、アミノ酸のLC分析時間の短縮化が可能となったと考えており、これに関しては稿を改めて報告する。

文献

1. 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.
2. 米田 豊, 九曜雅子 (2001). 富山衛研年報, 平成12年度, 24, 48-53.
3. 代謝 Vol19臨時増刊号「先天性代謝病免疫病ハンドブック-生化学者のための生体高分子解析」(1982), p308-311, 中山書店.
4. 松崎 聡, 小宮山 淳, 日本臨床別冊「免疫症候群 下巻」(2000) p144-145.
5. 丹羽鞠負 (1988). 代謝, 25, 803-813.
6. 丹羽利充編「ポストゲノム・マススペクトロメトリー」(2003), p175-180. 化学同人.

17- α -hydroxyprogesterone の ELISA 法における反応温度の影響

九曜雅子 米田 豊

Influence of Temperature on the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of 17- α -hydroxyprogesterone

Masako KUYO and Yutaka YONEDA

要旨 先天性副腎過形成症の新生児マス・スクリーニングにおいて、濾紙血液中の17- α -hydroxyprogesterone (17-OHP) を Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA 法) で測定する場合、使用するキットによっては、抗原抗体反応時の温度が低いと17-OHP 値は高くなり、測定結果に大きな影響を与えることが判った。これはキットで使用されている抗体の反応性に起因するものと考えられた。したがって ELISA 法でスクリーニング検査を行う場合は、特に抗原抗体反応時の温度管理 (25°C) を徹底する必要がある。

乾燥濾紙血を用いた新生児のマススクリーニングは現在6疾患を対象として全国的に実施されており、大きな成果をあげている事は周知のとおりである。いずれの疾患も早期発見、早期治療が目的であるため、迅速かつ高精度の検査方法が必須である。対象疾患のうち、先天性副腎過形成症とクレチン症のスクリーニングは、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA 法) で検査が行われている。ELISA 法は、抗原抗体反応 (第一反応) と酵素反応 (第二反応) を組み合わせた方法で、いずれも、至適温度や時間の条件があり、これらが違った条件になると正確な測定値は得られなくなることが報告されている [1]。

そこで、我々は、現在、先天性副腎過形成症の新生児マススクリーニング用に市販されている17- α -hydroxyprogesterone (17-OHP) 測定用キット3種について、第一反応温度の影響を検討した。

実験材料

1.1 測定用キット

A-7L: 「エンザプレート Neo-17 α -OHP」
(7位液状化キット)

A-3: 「エンザプレート N-17 α -OHP」
(3位キット)

B-7L: 「17-OHP D-ELISA '栄研 II」
(7位液状化キット)

キットの構成は表1に示した。

反応形式はいずれも、競合反応で、B/F分離はプレート固相二抗体法である。

試薬の調製は、キットの添付資料に従った。

1.2 標準濾紙血液

それぞれのキットに添付されている17-OHP添加標準濾紙血液を使用した。

表1. キット構成

	A-7L	A-3	B-7L
酵素標識抗原 (溶解液)	POD標識17 α -OHP-7-CET	POD標識17 α -OHP-3-CMO	POD標識17 α -OHP-7-CET
抗17 α -OHP抗体液(第一抗体) (溶解液)	抗17 α -OHP-7-CET-ウシ血清 アルブミン結合体ウサギ血清	抗17 α -OHP-3-CMO-ウシ血清 アルブミン結合体ウサギ血清	抗17 α -OHP-7-CET-ウシ血清 アルブミン結合体ウサギ血清
第2抗体(プレートに固相化) 発色液 (溶解液)	抗ウサギ免疫グロブリンGヤキ抗体 3,3',5,5'-テトラチルベンジジン	抗ウサギ免疫グロブリンGヤキ抗体 o-フェニレンジアミン 過酸化水素	抗ウサギ免疫グロブリンGヤキ抗体 o-フェニレンジアミン 過酸化水素
反応停止液	硫酸, 塩酸	3N 硫酸	4N 硫酸

POD: ペルオキシダーゼ

CMO: カルボキシメチルオキシム(-NOCH₂COOH)

CMT: カルボキシメチルチオエーテル(-SCH₂COOH)

CET: カルボキシエチルチオエーテル(-SCH₂CH₂COOH)

1.3 新生児検体

マスキリング検査済みの検体から、無作為に抽出し、試料とした。

実験方法

2.1 直接法

第一反応温度は、キット添付資料で指示されている25°Cのほか、20°Cと4°Cの計3温度に設定した。それぞれの反応時間は18時間に統一した。

第二反応は、キット添付資料の指示どおり、すべて25°C30分とした。測定操作は、図.1に示した。

2.2 抽出法

手順を図.2に示した。第一反応温度は、25°Cと4°Cの2温度に設定し、その他は直接法と同じ操作手順で行った。

2.3 溶出法

手順を図.3に示した。第一反応温度は、25°Cと4°Cの2温度に設定し、その他は直接法と同じ操作手順で行った。

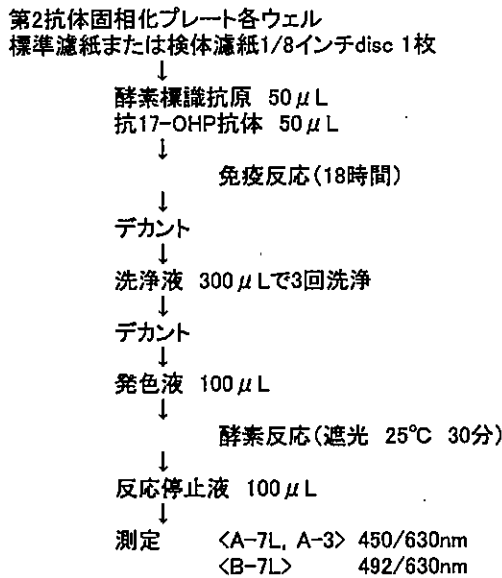


図1. 直接法の測定手順

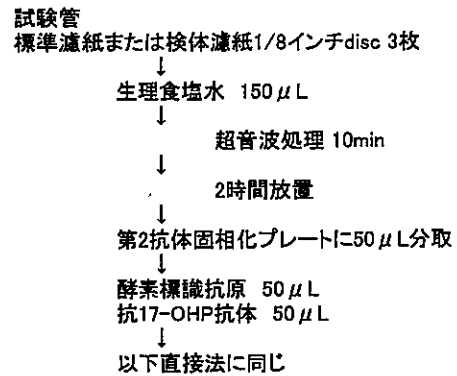


図3. 溶出法の測定手順

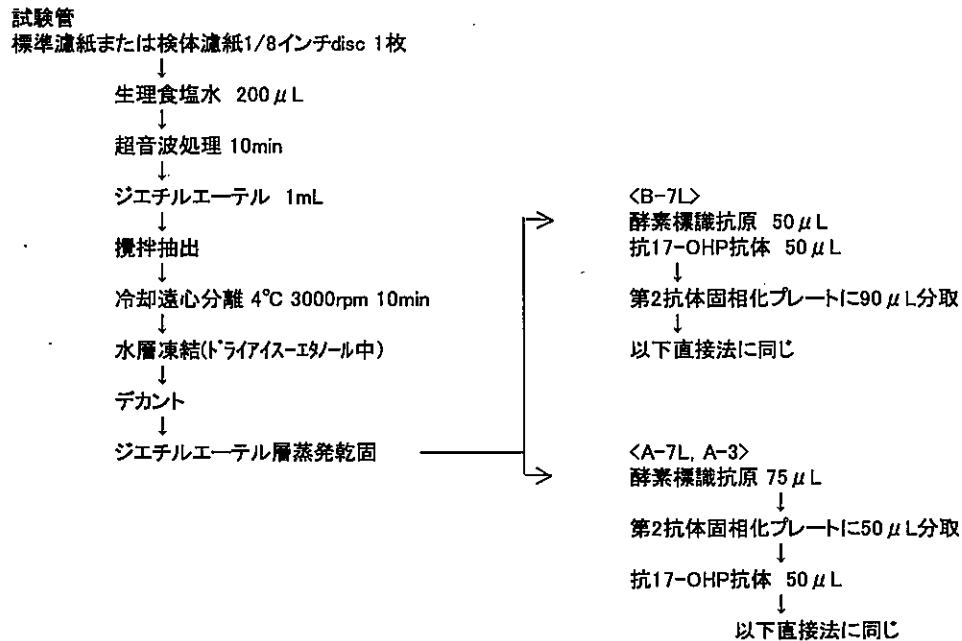
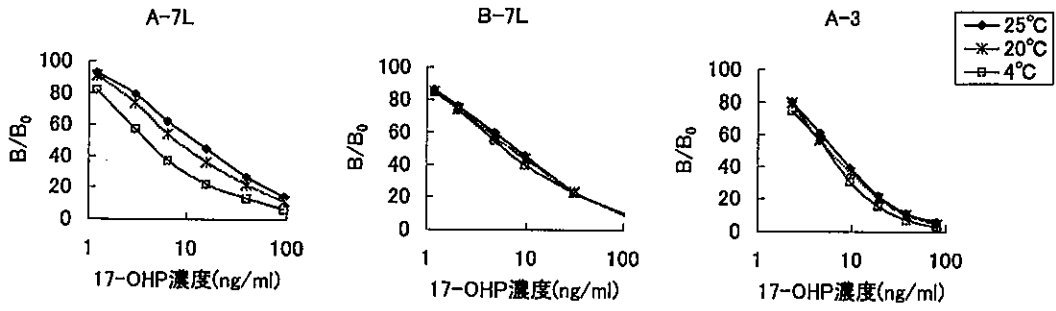
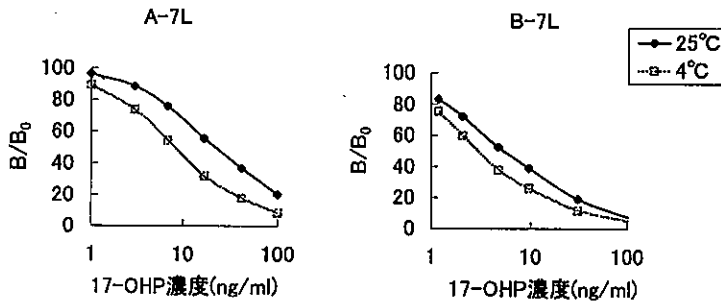


図2. 抽出法の測定手順

<直接法>



<抽出法>



<溶出法>

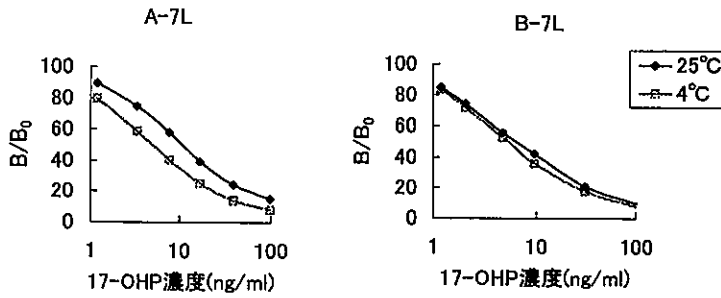


図4. 標準血液濾紙による標準曲線

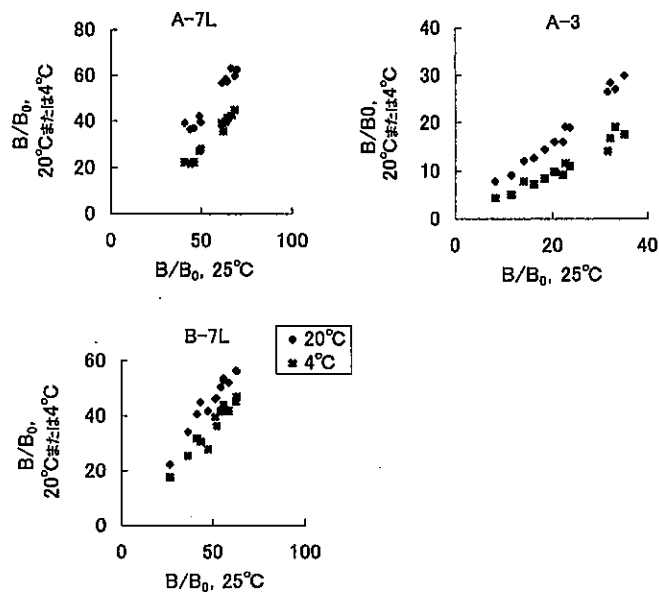
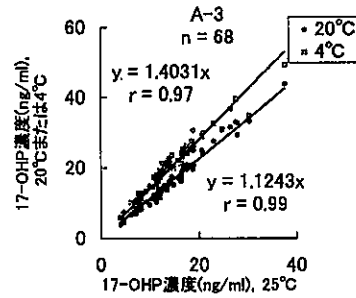
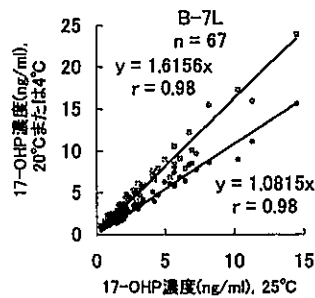
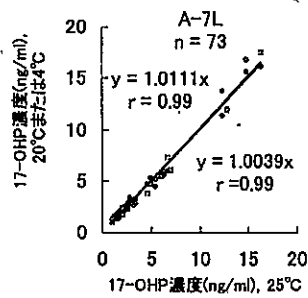
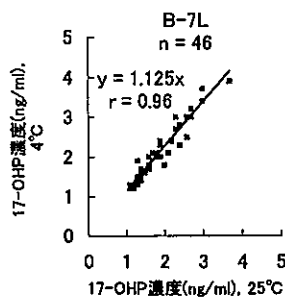
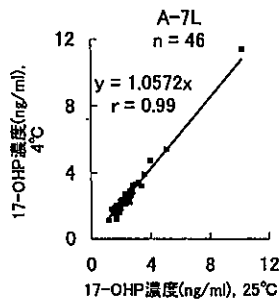


図5. 新生児濾紙血液中の17-OHP測定時の抗原抗体結合率に対する第一反応温度の影響

<直接法>



<抽出法>



<溶出法>

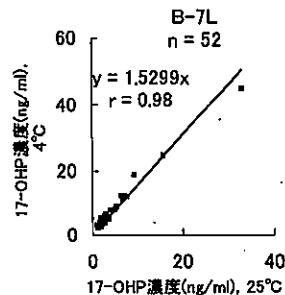
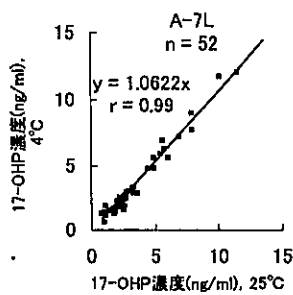


図 6. 新生児濾紙血液中の17-OHP 測定値に対する第一反応温度の影響

表 2. 第一反応温度の違いによる新生児濾紙血液中の17-OHP 平均値

キット	免疫反応温度 (°C)	直接法 (ng/ml)		抽出法 (ng/ml)		溶出法 (ng/ml)	
		平均値±標準偏差		平均値±標準偏差		平均値±標準偏差	
A-7L	4	n=73	2.98±3.21	n=46	2.60±0.95	n=52	3.62±3.04
	20		3.01±3.00				
	25		2.96±3.08				
A-3	4	n=68	19.77±3.59				
	20		15.27±4.10				
	25		13.77±3.14				
B-7L	4	n=67	5.32±4.20	n=46	2.08±0.22	n=52	6.87±6.81
	20		3.57±2.79				
	25		3.16±2.70				

○ 有意差あり(P<0.01)

実験結果

3.1 標準曲線

それぞれのキットに添付の17-OHP 標準血液濾紙を使用し、標準曲線を作成した。(図.4)

直接法では、A-7Lで第一反応温度が低いと抗原抗体結合率(B/B₀)が低くなったが、A-3とB-7Lについては温度の影響は見られなかった。

抽出法では、A-7L、B-7Lとも第一反応温度の影響があったが、A-7LのほうがB/B₀がより低くなった。

溶出法では、A-7Lで第一反応温度が低いとB/B₀が低くなり温度の影響を受けたが、B-7Lはほとんど温度の影響を受けなかった。

3.2 新生児濾紙血液の結果

3.2.1 直接法

第一反応温度を変化させて、新生児検体のB/B₀への影響を検討したところ、図.5に示すようにどのキットを使用しても温度が低いとB/B₀は低くなった。

新生児濾紙血液の測定値について、第一反応温度25℃に対しての20℃と4℃の相関を調べた。図.6に示すように、3キットはいずれも良い相関が見られた。表.2には、測定値の平均を示した。有意差検定は、対応のあるデータのt検定により行い、有意水準は1%とした。A-7Lは25℃、20℃、4℃と第一反応温度が変化しても測定値に差は認められなかった。A-3は、温度が低いと測定値は有意に高くなった。20℃では25℃の値の1.11倍、4℃では25℃の値の1.44倍となった。

一方、B-7Lでも、温度が低いと測定値は有意に高くなり、20℃では25℃の値の1.13倍、4℃では25℃の値の1.68倍で、温度が低いほど顕著であった。

3.2.2 抽出法

抗原抗体反応における第一抗体が同じであるA-7L

とB-7Lで、反応温度25℃と4℃での新生児濾紙血液の測定値の相関を調べた。その結果、両方のキットとも良い相関が見られた(図.6)が、測定値の平均を比較すると、A-7Lが4℃で25℃の値の1.04倍、B-7Lが4℃で25℃の値の1.15倍となり、B-7Lで、温度が低いと測定値は有意に高くなった。(表.2)

3.2.3 溶出法

温度による濾紙からの溶出の差をなくするため、あらかじめ濾紙から血液を溶出し、それを試料として、A-7LとB-7Lで、17-OHPを測定した。その結果、A-7Lでは反応温度4℃での平均値は25℃の1.02倍、B-7Lでは1.73倍となり、B-7Lで、温度が低いと測定値は有意に高くなった。

考 察

現在、先天性副腎過形成症のスクリーニング用に市販されている17-OHP測定キットは、2社3種ある。A-7LとB-7Lは、試薬調製の操作を簡便にした液状化試薬のキットであり、抗原、抗体とも作成法は同じであるが、抗体はポリクローナル抗体であるため、作成個体の差が大きく影響する。また、A-3は、他と抗体が違うため、新生児の血液中に多く存在する17-hydroxypregnenolone-3-sulfateとの交差率が高い。これまで、A-3キットについては、抗原抗体反応温度が、標準濾紙血液測定時の吸光度に影響を及ぼすことが報告[2,3,4]されている。また、米澤ら[1]は、B-7Lキットの試薬が液状化となる前に市販されていた凍結乾燥品試薬のキットで、抗原抗体反応温度が新生児検体の測定結果に大きな影響を及ぼすことを報告している。

本報では、現在市販されているキットで、抗原抗体反応(第一反応)の温度の影響について検討されていないA-7LとB-7Lキットを中心に考察する。

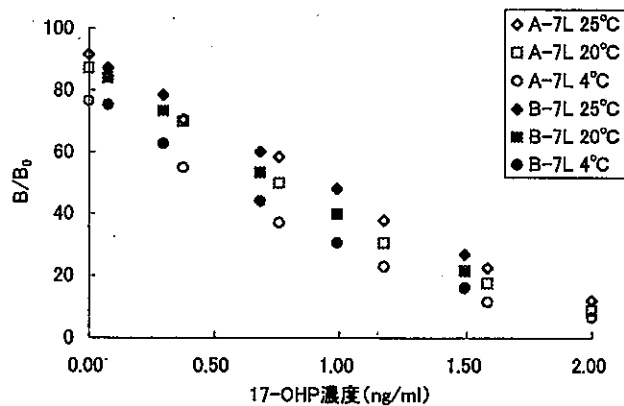


図7. A-7LキットでB-7キット添付標準濾紙血液による標準曲線

第一反応温度が検体の測定値に影響を及ぼす要因のひとつとして、温度が低いと濾紙からの17-OHPの溶出が悪くなり、新生児血液中に多く存在する水溶性の高い17-hydroxypregnenolone-3-sulfateが先に溶出するため、抗体と交差反応性が高くなり、見かけ上検体測定値が高くなるのではないかと考えられた。そこで、濾紙からの溶出の差を無くすため、あらかじめ濾紙から血液成分を溶出しそれを試料として17-OHPを測定した。その結果は、直接法と同様、B-7Lで第一反応温度が低いと検体測定値は高くなり、濾紙からの溶出の差が測定結果に影響したものではないことが判明した。

また、標準濾紙血液を使用した標準曲線では、A-7Lは、いずれの方法でも B/B_0 が第一反応温度による影響を受け、温度が低いと B/B_0 が低くなったが、B-7Lは、ほとんど温度の影響を受けないことが判った。一方、新生児検体ではどのキットを使用しても温度が低いと B/B_0 は低くなった。つまり、A-7Lでは、 B/B_0 が標準濾紙血液、新生児検体とも同じように第一反応温度の影響を受けるため、温度の変化があっても新生児検体の測定値が変わらないのに対し、B-7Lでは、新生児検体は温度が低いと B/B_0 が低くなるにも拘わらず、標準血液濾紙は温度変化の影響を受けないため、温度が低いと検体測定値が高くなることが判った。これは、B-7Lの標準血液濾紙と新生児検体とで違いがあるためかまたは抗体の反応性の差に起因するものと考えられた。

そこで、B-7Lの標準濾紙血液をA-7Lキットで測定し、 B/B_0 への第一反応温度の影響を検討した結果、図7に示すようにB-7Lの標準濾紙血液はA-7Lキット添付の標準濾紙血液による標準曲線と一致し、新生児検体と同様に、明らかに反応温度の影響が認められた。このことから、B-7Lの標準血液濾紙と新生児検体との違いはないことが判った。したがって、A-7LとB-7Lとの第一反応温度変化の影響の差は、おそらく抗体の差によるものと考えられた。この抗体の差は、

前述のように、ポリクローナル抗体のため作成個体の差と思われる。

それぞれのキットには、添付文書で測定条件が指定されている。今回検討したいずれのキットも、第一反応温度は25°Cの設定である。我々の検討では、20°Cでも測定値に対する影響が認められる場合があり、スクリーニング検査を実施する際は、徹底した温度管理が必要であり、恒温槽の故障等による槽内の温度変化にも充分留意しなければならない。

まとめ

- ① A-7Lキットでの測定値は、抗原抗体反応温度の影響はほとんど受けない。
- ② その理由は、標準濾紙血液、新生児検体とも、反応における抗原抗体結合率が温度の影響を受けるため、測定値が補正されるからである。
- ③ 標準濾紙血液の抗原抗体結合率が温度変化の影響を受けるキットと受け難いキットがあり、その原因は抗体の差によるものと考えられた。
- ④ ELISA法でスクリーニング検査を実施する場合は、温度管理（反応温度：25°C）を徹底する必要がある。

文 献

1. 米澤彰二, 小川 保, 今井昌雄, 神戸川 明 (1992). 臨床化学, 21, 138-142.
2. 福士 勝, 荒井 修, 水嶋好清, 高杉信男, 藤枝憲二, 松浦信夫 (1987). ホルモンと臨床, 35 (9), 89-94.
3. 松本 勝, 河内 章, 武井 一, 中島あつこ, 下沢和彦, 税所純敬, 村田光範 (1987). ホルモンと臨床, 35(10), 111-117.
4. 柴田幸信, 小川治夫, 五十嵐良雄 (1988). ホルモンと臨床, 36(10), 117-123.

ヒト染色体に関する調査研究—血液、骨髓液—

(平成15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15年度の染色体分析数は血液88人と胎児胸水1人の計89人であった。これらの依頼理由として不育症の夫婦が最も多かった。その他、ダウン症候群の疑いなど先天異常児とその家族等であった。うち2人に染色体異常が発見され、その内訳はダウン症候群1人とLanger-Giedion症候群1人であった。正常変異とされる9番逆位保因者3人と原発性無月経を主訴としたXY女性1人も発見された。また、昭和48年度から、平成15年度までに検査を行った実人数1,933人中、1,905人が検査可能であり、うち249人に染色体異常が発見されたため、異常率は13.1%になった。また、最近は精度の向上を図るため、FISH法を併用した判定を多くとりいれている。

染色体検査法の発達は近年著しく、詳細な部分の検出にFISH (fluorescent in situ hybridization) 法は欠かせなくなっている。現在、染色体検査は先天異常児や発達遅滞児の確定診断、不育症夫婦の原因検索などの目的で行われている。

当所では昭和48年より、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染色体分析法の研究、開発を行ってきた。

ここに血液・骨髓液による平成15年度の結果とともに過去31年間の染色体検査のまとめを報告する。

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、染色体標本を作製した。その詳細は既報 [2] に示した通りである。また、メソトレキサート（メソトレキサート, Lederle製）による細胞培養同調法を用いた高精度分染法も併用した [3]。核型分析は5枚以上行い、分析細胞数は20個以上計測した。さらに、性染色体異常の疑いの場合はモザイクの可能性が高いため、観察数を50個以上とした。FISH法はVYSIS製プローブを用い、前川らの方法に準じた [4, 5]。

平成15年度の染色体検査依頼数は89人で、全て県内の病医院からの依頼であり、依頼病院内訳は表1に示したとおりである。

結果

1. 平成15年度

平成15年度の依頼数は血液88人と胎児胸水1人の計89人であった。依頼理由と染色体異常の有無等を表2に示す。最も多い依頼理由は不育症（反復流産・不妊症・子宮内胎児死亡）であり、その他、ダウン症候群の疑い、先天奇形等であった。そのうち染色体異常は2人に発見されたため（表3）、異常率は2.3%になった。

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1）。在胎39週3日、3,250g、49cmで出生し、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）等）、耳介奇形、第5指内わんおよび筋緊張低下が認められ、母39歳の第1子であった。

Langer-Giedion症候群 [6] を疑われた1人は在胎40週にて出生し、4歳時、特徴的顔貌と小頭、筋緊張低下、軟骨性外骨腫、軽度精神発達遅滞等を呈し、46,XY,del(8)(q24.11q24.13)de novo、8番染色体長腕微細欠失であった（表3・症例2）。両親は正常核型であった。さらに、LSI c-mycプローブ (8q24.12-13) を用いたFISH法では子、両親ともに蛍光が認められた。

原発性無月経（14歳、160cm、46kg）のため、染色体検査を行った1人は46,XYであったため、臏丸女性症候群が疑われた（表3・症例3）。CEP XY プ

表1. 医療施設別依頼内訳 (昭和48～平成15年度)

病院名	年 度	
	H15	S48～H15
県立中央病院	50	1,077
富山赤十字病院	10	332
富山医科薬科大学	13	127
高志学園	0	92
富山市民病院	4	90
氷見市民病院	0	32
厚生連高岡病院	0	24
砺波総合病院	2	19
富山保健所	0	17
高岡市民病院	6	14
黒部市民病院	2	9
済生会高岡病院	0	9
富山通信病院	0	9
済生会富山病院	2	8
国立富山病院	0	8
他(県外分舎)	0	94
計	89	1,961

ローブを用い、X/Y染色体を確認した。

流産を主訴とした(1～5回)夫婦66人(33組)に染色体異常は発見されなかったが、正常変異とされている9番染色体動原体部分の逆位(inv(9)(p11q13))が3人発見された。現在、この9番染色体逆位部分はヘテロクロマチンからなるため、臨床症状は無く、流産の原因にもならないと考えられている(表3・症例4-6)。

体外授精等の不成功を主訴とした4組および子宮内胎児死亡(30週)の1組の夫婦には染色体異常は発見されなかった。上記の不育症を主訴とした38組の夫婦中、14組については流産胎児(又は絨毛)の染色体検査を行った。その結果、数的異常10件と正

表2. 依頼理由別内訳 (平成15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	66	66	0(3)*
不妊症	8	8	0
子宮内胎児死亡	2	2	0
奇形、発達遅滞	2	2	0
ダウン症候群の疑い	1	1	1
Langer-Giedion症候群	1	1	1
原発性無月経	1	1	0(1)*
クラインフェルター症候群	1	1	0
胎児胸水の増加	1	0	0
家族(前子染色体異常)	6	6	0
計(人)	89	88	2(4)*

*;正常変異等

常核型4件が発見された(詳細は[7])。さらに、上記38組76人中、17人(22.4%)に1-2個の過剰染色体が存在する細胞が観察されたが、殆どはX染色体の過剰(図1)、またはY染色体の過剰であった。

胸水の増加のため、染色体異常を疑われた胎児の胎児胸水はリンパ球が少なく、分析不能であった。その他の依頼理由の検体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15年度

検査開始当初からの受付件数は血液1,902件と骨髄液59件の計1,961件になったが、白血球等による血液・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1,879人と骨髄液54人の計1,933人であった。そのうち、検査可能であった1,905人中249人に染色体異常が発見され、染色体異常率は13.1%になった(表4)。依頼理由のうち、最も多いものは不育症で48%を占めた。そのうち、流産を繰り返した夫婦で判定可能であった795人中33人に染色体異常が発見され、その異常率は4.2%、夫婦単位にすると398組中32組で約8%、つまり、約12.4組に1組の割合で染

表3. 染色体異常の内訳 (平成15年度)

症例 No.	主訴・主要症状	核 型	診 断 名
1	ダウン症候群の疑い	47,XY,+21	ダウン症候群
2	Langer-Giedion症候群の疑い	46,XY,del(8)(q24.11q24.13)	Langer-Giedion症候群
正常変異等			
3	原発性無月経	46,XY	XY女性
4	反復流産(妻)	46,XX,inv(9)(p11q13)	正常変異(9番逆位)
5*	反復流産(夫)	46,XY,inv(9)(p11q13)	正常変異(9番逆位)
6*	反復流産(妻)	46,XX,inv(9)(p11q13)	正常変異(9番逆位)

*;夫婦

表4. 染色体検査結果一覧(実人数) 昭和48~平成15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不育症	916	915	33	19	
流産を繰り返す	796	795	33	18	均衡転座保因者,トリプルX
不妊症	104	104	0	1	
子宮内胎児死亡	16	16			
②児の異常疑い	325	318	141	2	
ダウン症候群の疑い	132	130	105		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	52	52	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		del(5)(p14)
13トリソミー症候群の疑い	4	4	4		13トリソミー
プラダー・ウリー症候群の疑い	4	4	1		del(15)(q11.1q12)
副腎性器症候群の疑い	4	4	1		9pトリソミー
Langer-giedion症候群の疑い	1	1	1		del(8)(q24.11q24.13)
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,キヤップ 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	139	137	30	6	
無月経	37	37	3	6	45,X/46,XX等
低身長	33	33	1		
ターナー症候群の疑い	32	32	16		45,X/46,X,r(X)等
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	8	8	6		47, XXY
他の性染色体異常の疑い	6	6	0		
⑤家族	285	285	14	1	
染色体異常有り	168	168	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	154	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	140	135	5	1	均衡転座保因者等
血液の小計	1,879	1,859	234	29	
骨髄液の依頼理由内訳					
①白血病等	54	46	15	0	Ph染色体等
合計(人)	1,933	1,905	249	29	

*: 正常変異(9番逆位) および睾丸女性化症候群

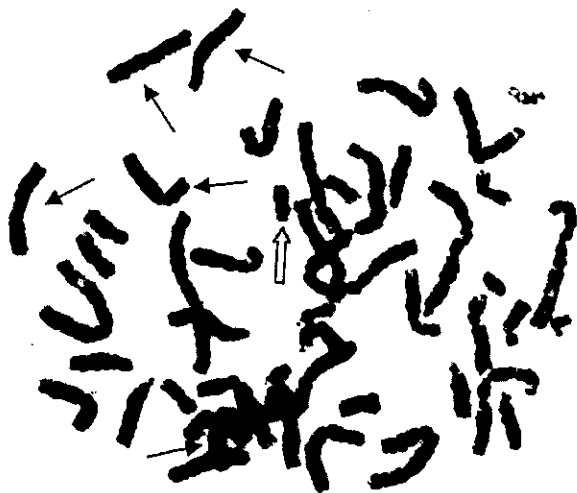
染色体異常であった(表4)。染色体異常は男性・女性ではほぼ同じ割合で発見され、女性に男性の約2倍の割合で染色体異常が発見されるという従来の報告[8]とは異なる結果となっている。

全染色体異常の内訳については表5に示したとおり、ダウン症候群が最も多く、ついで、均衡転座保因者が多かった。

考 察

FISH法の進歩に従って、その簡便性・正確性から、染色体分析の場でFISH法の使用頻度は増加する一方である。しかし、全ての染色体異常が検出可能というわけではなく、高精度分染法と組み合わせ、判断していかなければならない。そのため、培養技術と分染法の一層の技術開発が望まれている。また、最近の生殖補助医療技術の発展にはめざましいものがあるが、着床不成功による夫婦と流産内容物の検査依頼も増加している。

さらに、不育症の約20%の人に1~数個の染色体異常(主に数的異常)が観察された。石川ら[10]はFISH法を用い、流産経験者と流産未経験者(いずれも女性のみ)の培養後のリンパ球休止核を比較した結果、流産経験者中にはX染色体モノソミーの低頻度モザイク例が混在することを示唆した。我々がFISH法を用い流産経験者(夫婦とも)のX/Y染色体の過不足を検討したところ、正常細胞の他に女性ではX/XXX、男性ではX/XXY/XYY等の細胞が観



50,XXXXXY

図1. 習慣流産歴を有する人のリンパ球培養中、観察されたX染色体4本過剰の中期分裂像
→; X染色体 ⇨; Y染色体

表5. 染色体異常の内訳

染色体異常	人数
1. 常染色体異常	
①ダウン症候群	105
(トリソミー型)	99
(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アラダー・ウイラー症候群	1
⑪Langer-Giedion症候群	1
⑫由来不明部分過剰	6
⑬均衡転座保因者	45
⑭逆位保因者	3
⑮ファンコニー貧血	1
⑯白血病	21
⑰悪性腫瘍がある	1
小計(人)	214*
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)	249

*;全体に占める異常率 11.2%(214/1,905)

**;全体に占める異常率 1.8%(35/1,905)

察された。しかし、このことについて、まだ報告数が少なく、今後の研究が待たれる。

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

文 献

1. Jacobs,P.A.,Browne,C.,Gregson,N. (1992). J.Med.Genet.,29,103-108.
2. 林美貴子, 本田幸子, 大江浩, 北村敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 56-60.
3. Yunis,J.J.,Sawyer,R.and Ball,D.W. (1978). Chromosoma,67,293-307.
4. 前川雅彦, 新宅香織, 山下達夫 (1997). 臨床FISH プロトコール, 79-84.
5. 林美貴子, 本田幸子, 大江浩, 北村敬 (1999). 富山衛研年報, 22, 58-66.
6. 福嶋義光 (1997). 新染色体異常アトラス (阿部達生, 藤田弘子編). 204-206, 南弘堂.
7. 本田幸子, 林美貴子, 加藤丈士 (2004). 富山衛研年報, 27, 51-55.
8. De Braekeleer MD,Dao TN (1990). Hum. Reprod.,5, 519-528.
9. 三春範夫, 大濱紘三 (2001). 臨床検査, 45, 151-160.
10. 石川雅世, 日高恵以子, 涌井敬子, 中山邦章, 高木靖, 福嶋義光, 勝山努 (2000). 臨床病理, 48, 955-959.

ヒト染色体に関する調査研究

—羊水・流産胎児—

平成15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15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58件、流産胎児25件で、昭和49年度からの累計件数は、羊水1,312件、流産胎児247件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が、羊水で3件、流産胎児で17件みられた。流産胎児の染色体異常は、例年に比べ多くみられた。今年度までの累計件数では羊水で64件、流産胎児で107件の異常がみられている。染色体検査の理由（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による依頼、流産胎児では流早産既往等による依頼が多かった。

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、検査が行われてきている。ここに平成15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

染色体標本作成のための培養法は、採取された羊水15ml～20mlを静置または軽く遠心し、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法を用いて行った。1検体につき10個以上の中期核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

2. 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] に従った。

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、染色体分析を行った。

結果および考察

1. 羊水

今年度の染色体検査受付総数は58件で、富山県内の医療施設からの依頼が57件、新潟県から1件であった（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15年度までの検査受付総数1,312件のうち分析可能数は1,266件で、その分析率は96.5%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。

今年度染色体分析の結果、染色体異常3件（症例1～3）がみられた。今年度までの異常累計数は64件であり、その異常率は5.1%となった。

検査依頼の理由として一番多いのは高齢妊娠の34件で、受付総数の58.6%にあたる。その年齢は33歳から43歳で、通常高齢妊娠とはみなされない34歳以下

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°C 5% CO ₂ 培養
細胞遊離	0.025% トリプシン・EDTA 37°C 5 分
遠心	1,000rpm 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°C 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ガラス上に落とし, 恒温水槽 (60°C) の蒸気上で乾燥し, その後自然乾燥

に 3 件依頼があり, 40 歳以上が 44.1% を占めた. 今年度高齢妊娠のみを主訴とする依頼のなかには染色体異常はみられなかったが, 母親の加齢とともに, ダウン症候群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. 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 64 件のうち, 高齢妊娠を主訴としているのは 14 件で 21.9% 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 10 件の依頼があり, そのなかの 1 件に異常がみられた. その依頼の内訳は, 8 件が胎児に Nuchal translucency (NT) の肥厚がみられたという理由であったが, いずれも染色体異常はみられなかった. 双胎の 1 児に胎児水腫がみられたという 1 件に, ダウン症候群の異常がみられた (症例 1). この児はまもなく子宮内胎児死亡となった. また横隔膜ヘルニアがみられた 1 件には異常はなかった. 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いる [2]. 当所にお

いても近年 NT にかかわる依頼が増加し, 異常率も高い傾向があったが [3], 今年度, 染色体異常はみられなかった.

また, 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 5 件の依頼があった. 前 (胎) 児の異常の内訳は, ダウン症候群 3 件, 18 トリソミー症候群, No. 9 の異常がそれぞれ 1 件で, 今回は, いずれも染色体異常はみられなかった.

構造異常である転座型染色体保因者の依頼が 2 件あった. このうち 1 件の転座部位は親と全く同じ均衡転座であったが, この他に 21 トリソミーを合併していることが判明した (症例 2). 他の 1 件は親由来の不均衡転座の染色体異常を持つことが判明した (症例 3).

そのほか「習慣性流産」, 「前子が異常」, 「本人の強い希望」という理由でそれぞれ 2 件, 「羊水過多」という理由で 1 件依頼があったが, いずれも異常はみられなかった. 羊水検査を強く希望した 2 件の詳細は明らかではないが, 羊水穿刺等による出生前診断が行われる際には, 人類遺伝学会等から示されている

表2. 染色体検査依頼病院 (羊水・流産胎児)

病 院	(平成 15 年度)		
	羊水	流産胎児	計
済生会高岡病院	15	2	17
富山県立中央病院	8	5	13
富山医科薬科大学	7	7	14
黒部市民病院	7	2	9
富山市民病院	7	2	9
富山赤十字病院	5	1	6
厚生連高岡病院	4		4
高岡市民病院	3	5	8
糸魚川総合病院	1		1
菅田産婦人科医院	1		1
済生会富山病院		1	1
計	58	25	83

表3. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (平成15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	34	0	
34歳以下	3	0	
35-39歳	16	0	
40歳以上	15	0	
胎児異常の疑い	10	1	
Nuchal translucency	8	0	
胎児水腫	1	1	47, XY, +21 (症例1)
横隔膜ヘルニア	1	0	
染色体異常児妊娠・出産既往	5	0	
前子ダウン症候群	3	0	
前子トリソミー症候群(+18)	1	0	
前子No.9異常	1	0	
親が転座型保因者	2	2	47, XY, t(14;20), +21 (症例2) 46, XY, der(20)t(9;20) (症例3)
習慣性流産	2	0	
前子(胎児)が異常	2	0	
十二指腸閉鎖	1	0	
水腫・胸水	1	0	
本人の強い希望	2	0	
羊水過多	1	0	
計	58	3	

表4. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (昭和49年～平成16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	728	713	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	189	184	4	47, XX, +6:2件 47, XY, +E 46, XY/47, XYY
胎児異常の疑い	127	121	20	45, X:2件 47, XX, +13 47, (+18):6件 47, (+21):6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)	54	49	1	47, XX, +21
親類にダウン症や障害児等がある	48	47	0	
羊水過多・羊水過少	43	40	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	30	29	14	45, XY, t(14;21) 46, XY, t(D;6) 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) 47, XY, t(14;20), +21 46, XY, der(20)t(9;20)
流産・死産既往	24	22	2	69, XXX 46, XX, t(5;6)
本人の強い希望	15	15	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	1312	1266	64	

「出生前診断に関するガイドライン・、遺伝カウンセリング」等に従って次のようなケースについて実施されている。

- ・ 夫婦のいずれかが染色体異常の保因者
- ・ 染色体異常児を分娩した既往がある
- ・ 高齢妊娠
- ・ 妊婦が重篤な X 連鎖遺伝病のヘテロ接合体
- ・ 夫婦のいずれもが重篤な劣性 or 優性遺伝病のヘテロ接合体
- ・ その他、重篤な胎児異常のおそれがある

検査目的が不明のこの2件の妊婦の年齢は33歳と25歳であり、従って高齢妊娠にはもちろん、他の項目にも該当していないものと推察される。しかしカウンセリングの中で、本人の精神的不安感が高いとか、ガイドラインに該当しないケースで染色体の異常がみられたこともあることなどから、検査を行ったものと考えられる。

〈症例1〉

年齢・妊婦：36歳
夫：37歳
羊水採取時の妊娠週数：17週
主訴・依頼理由：双胎の1児が胎児水腫
既往歴・他：初妊娠、ICSI
分析結果：47,XY,+21
経過・予後等：子宮内胎児死亡

〈症例2〉

年齢・妊婦：30歳
夫：30歳
羊水採取時の妊娠週数：15週
主訴・依頼理由：転座型染色体t(14;20)保因者(夫)
既往歴・他：自然流産3回
分析結果：47,XY,t(14;20)pat,+21
経過・予後等：流産

〈症例3〉

年齢・妊婦：30歳
夫：31歳
羊水採取時の妊娠週数：16週
主訴・依頼理由：転座型染色体t(9;20)保因者(妊婦)
既往歴・他：自然流産1回
分析結果：46,XY,der(20),t(9;20)(p13;q13.3)mat
経過・予後等：流産

検査にあたっては、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努めている。しかし、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くの問題がある。また、倫理的、社会的な問題も残されており、臨床の場合において、十分なインフォームドコンセントがなされたうえでの検査が必要である。

2. 流産胎児

今年度、受付総数は25件で、依頼された流産胎児の週数は6週から20週にわたり、すべて分析可能であった。

平成15年度および検査開始時から平成15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25件中17件(68%)に染色体異常がみられた。全年度では50.5%となった。

検査理由で一番多かったのは、過去にも流早産をしたことがあるための16件で、そのうち11件(68.8%)に異常があった。これらの異常はすべて数的異常(ターナー症候群2件、8トリソミー2件、22トリソミー2件、15トリソミー1件、16トリソミー1件、7と20の重複トリソミー1件、ターナーと16トリソミーの重複1件、3倍体1件)であった。

流早産の回数は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妊婦年齢は27歳~37歳(平均31.1歳)で、数的異常を持つ症例では平均31.6歳となり、年齢との関係についても明らかではない。

均衡転座型染色体保因者から依頼の2件には、いずれも親由来による不均衡転座型異常がみられた。

体外授精という依頼理由の2件(妊婦年齢35歳、38歳)にもそれぞれ21トリソミー、9トリソミーの数的異常がみられた。検査開始以来、体外授精を理由とする15件の依頼中8件(53.5%)に染色体異常がみられているが、異常と体外授精の関係については、年齢等を考慮する必要もあり、その関連性はまだ不明である。

また胎児が胎状奇胎であった1件は3倍体、胎児水腫であった1件は18トリソミーの異常がみられた。子宮内胎児死亡、胎児に奇形、胎児にNTの各1件にはいずれも染色体異常がみられなかった。

今年度みられた異常17件中、2件の親由来の構造異常を除く15件すべてが数的異常となっている。

自然流産胎児の染色体異常の頻度が高いことは一般

表5. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (平成15年度)

依頼理由 (主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
流産経験者	16	11	
流産2回目	3	1	69,XXX
3回目	7	6	47,XY,+8 46,X,+16 47,XY,+15 45,X:2件 47,XX,+16
4回目	4	4	48,XX,inv(9),+7,+20 47,XY,+8 47,XY,+22 47,XX,+22
5回目	2	0	
親が相互転座保因者	2	2	46,XY,der(14)t(14:20)(q24;q13.1)pat 46,XY,der(20)t(9:20)(p13;q13.3)mat
体外授精	2	2	47,XY,+21 47,XX,+9
胞状奇胎	1	1	69,XXX
胎児水腫	1	1	47,XY,+18
子宮内胎児死亡	1	0	
胎児奇形	1	0	
胎児にNT	1	0	
計	25	17	

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16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
過去にも流産をした	124	107	66	45,X:6件 47,(+3):2件 47,(+16):8件
初めての流産(原因不明)	44	36	12	69,XXX:3件 47,XY,+18 45,X
流産胎児に奇形等があった	37	34	11	69,XXY 47,(+18):3件 45,X:3件
体外受精・顕微授精	16	15	8	47,XX,+13 47,XY,+20
親が染色体異常	9	7	5	46,XY,der(4)t(4:15)
胞状奇胎	7	7	1	69,XXX
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	0	
理由不明	2	0	0	
計	247	212	107	

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 [4] は46.1%と報告しており、当所の結果も全年度で、50.5%となり、ほぼ一致している。

当所での検査の継続や他機関でのデータ収集と解析を進め、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てたいと考えている。

謝 辞

ここに発表しました症例の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. 佐藤孝道 (2001). 臨床検査, 45(2), 161-166, 医学書院.
3. 本田幸子, 林美貴子, 加藤丈士 (2003). 富山衛研年報, 26, 149-151.
4. 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.

日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川澄代 小原真弓 米道暁彦¹Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in 2003Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA
and Akihiko YONEMICHI

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24日に抗体価が高く新鮮感染を示唆する1頭が認められたのみで、富山県における日脳ウイルスの動きは遅く、不活発であった。一方、ウイルス媒介蚊のコガタアカイエカの発生量は定点「上市」では大幅に増加したが、他の6定点では昨年と同等か、少なくなった。また、発消長は8月後半から9月後半に多くなる消長を示した。このことが、増幅動物（豚）での日脳ウイルスの感染拡大を遅らせた原因と思われる。

コガタアカイエカの発生が例年に比べ遅く少なかったため、増幅動物（豚）における日脳ウイルスの感染拡大が遅延し、日本脳炎に罹患する県民がいなかったと思われる。すなわち、7～8月の盛夏に日脳ウイルスを保有したコガタアカイエカが少なかったこと。さらに、発生数が多くなる8月下旬から9月下旬では気候が涼しくなるため、蚊体内での日脳ウイルスの動き（増殖）が不活発になり、増幅動物（豚）における感染拡大も起こらず、万が一、蚊に刺されても日脳ウイルスを媒介されなかったことが示唆される。

国内における近年の日本脳炎患者発生数は少なく推移している。しかし、豚における日本脳炎ウイルス HI 抗体陽性率をみると、間違いなくウイルスの活動が裏付けられている。富山県においても毎年ウイルスの侵入が確認されており、日本脳炎の脅威が完全には消滅していない。また、われわれの長年の調査結果から [1]、コガタアカイエカの多発生傾向がみられると、豚の HI 抗体陽性率も高くなることが明らかになり、ウイルスの拡大に媒介蚊の関与が明確に指摘された。そこで、患者の発生を未然に防ぐことを目的に、2002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2003年6月から10月にかけて監視調査を行なったので、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。1番と3、4番の畜舎は昨年と全く変化が無いが、「2. 上市湯上野」の定点は道路（約6m）を挟んで北東側に30mほどの場所に新築された畜舎に移動した。旧畜舎は解体

され空き地になった。移動により鎮守の杜に隣接するとともに、水田にも近くなった。「5. 小矢部鷺島」は1981年から調査を行っていた「小矢部金屋本江」の牛舎が、飼養を中止する意向から、西北に約2.5km移動した。「6. 婦中友坂」の厩舎と「7. 小杉山本新」の牛舎は、2003年から新たに調査を開始した定点である。前者の厩舎はウエストナイル熱ウイルスに感受性が高い“馬”における蚊の襲来状況を把握する意味も含め増設した [2]。後者は、マラリア原虫の媒介能を有するシナハマダラカの発生数が多いと考えられる自然環境に立地する畜舎と思われたため調査定点に加え、その判断の正誤を検証するために増設した。さらに、S（特別）として隔離された山間地における蚊相を把握するため、富山県に隣接する標高875mの飛騨市神岡町下之本の、飛騨牛の生産農家にトラップを設置した。

調査期間、調査方法は2002年までとほぼ同じで、「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（東京エーエス製、15w円形管）による連日捕集を、他の5定点は6月第2週から10月2週まで、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%エタノールに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分類・計数した。後5定点は毎週木曜日に捕集ケージを交換・回収して、検査室に持ち帰り蚊類を選別して計数した。なお、捕集時間帯は照度感受スイッチ（ナショナルEEスイッチ）を用いて、夕刻から翌朝まで行なった。

また、「神岡下之本」での調査は野沢式ライトトラップ（6w 蛍光管）を用いて、隔週の金曜日（7月下旬～9月上旬までは毎週）に上述と同一の方法で捕集を行い、翌土曜日に回収し、計数した。

2. 調査結果および考察

表2に、2003年の全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調査開始の6月第2週からコガタアカイエカは捕集され、7月第3～5週に増加を示し、その後8月第3週からさらに増加する消長を示した。結局、7月第3～

5週に小さなピーク、8月第4週～9月第3週に大きなピークを形成する2峰性の発消長を描いた。年間捕集数は「上市」が最も多く、最も少なかった「大山東黒牧」の400倍に達した。次いで多数が捕集されたのは「富山大井」で、最も少なかった「大山東黒牧」の124倍であった。この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の稜線にあることが、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。新たに、増設した「小杉山本新」のコガタアカイエカ捕集数は定点7ヵ所中3番目に多く、「婦中友坂」の厩舎では5番目であった。

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、「黒部」と「小矢部」は2003年が明瞭に少ないが、「上市」「富山大井」は2003年の捕集数が明らかに多くなっている。2003年と2002年の捕集数を比べると、「大山東黒牧」が明瞭に少なくなった他は、「黒部」「富山大井」はほぼ同

表1. 日本脳炎ウイルス媒介コガタアカイエカ捕集定点の概要（平成15年度、2003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、南西側は幅10mほどの黒瀬川に接し、北東側に養魚場。水田は最も近いところでも30m離れている。
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、側面は社叢、背面は杉林と畑。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(162m)、周辺は大学などの教育機関と雑木林、畑、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	小矢部鷺島	牛舎	小矢部市鷺ヶ島、鷺田政克所有。乳牛40頭。 平野部水田地帯、事業所、人家点在。近くに他畜舎は無い。 東側に幅4mほどの水量豊富な用水に隣接。
6	婦中友坂	厩舎	婦中町(下)友坂、朝日乗馬倶楽部所有。乗用馬9頭。 丘陵部の裾野、周囲に水田、畑、雑木林、墓、人家が点在。 南西500mに豚舎(約100頭)あり。
7	小杉山本新	牛舎	小杉町山本新、山崎隆夫所有。肉牛60頭。 丘陵部水田地帯、人家点在。近くに同一人の肉牛舎あり。 周囲は溜池および畑、梨園に隣接。
8	神岡下之本	牛舎	岐阜県飛騨市神岡町下之本、仲田彦一所有。肉牛4頭。 山間部畑作・水田地帯(標高875m)、人家数軒。東北200mに他肉牛舎(約60頭)あり。前面の水田まで約100m、裏は山林。

表2-1. 7定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数(2003年, 平成15年)

調査日	1. 黒部					2. 上市				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.11	0	14	3	0	17	8	204	1	10	223
18	0	16	7	0	23	30	665	4	26	725
25	0	26	8	0	34	35	801	6	33	875
7.2	0	34	49	0	83	32	714	4	19	769
9	0	69	9	0	78	15	802	6	13	836
16	0	14	50	0	64	20	588	2	7	617
23	0	65	9	0	74	46	2,524	14	5	2,589
30	0	4	1	0	5	36	2,830	22	3	2,891
8.6	0	159	3	0	162	32	4,441	41	0	4,514
13	0	336	5	0	341	32	6,967	15	0	7,014
20	0	611	5	0	616	72	18,072	18	7	18,169
27	0	456	0	0	456	62	33,418	30	0	33,510
9.3	-	-	-	-	-	31	26,199	0	0	26,230
10	0	10	0	0	10	10	38,784	0	0	38,794
17	0	125	2	0	127	5	33,580	0	2	33,587
24	0	242	1	0	243	0	25,280	0	0	25,280
10.1	0	9	0	0	9	5	3,908	0	2	3,915
8	0	1	0	0	1	1	1,123	0	1	1,125
15	0	0	1	0	1	0	500	0	2	502
計	0	2,191	153	0	2,344	472	201,400	163	130	202,165

※ 2、上市のその他は全てオオクロヤブカである。

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
6.4	0	3	0	2	5	0	150	0	0	150
11	0	9	2	1	12	0	249	0	0	249
18	0	7	0	0	7	0	345	0	0	345
25	0	12	0	0	12	0	1,353	0	0	1,353
7.2	0	1	0	0	1	0	1,162	46	1	1,209
9	0	22	0	0	22	0	495	0	0	495
16	2	19	1	0	22	0	1,655	8	0	1,663
23	0	2	2	0	4	0	2,951	44	1	2,996
30	0	4	0	0	4	1	1,126	146	0	1,273
8.6	0	2	0	0	2	1	1,422	26	0	1,449
13	0	6	0	0	6	0	3,295	30	0	3,325
20	0	38	0	0	38	0	2,882	31	0	2,913
27	1	299	0	0	300	0	3,225	45	0	3,270
9.3	0	16	0	0	16	0	9,445	75	0	9,520
10	0	44	0	0	44	0	18,370	60	0	18,430
17	1	6	0	0	7	0	2,602	40	0	2,642
24	0	6	0	0	6	0	9,800	25	0	9,825
10.1	0	2	0	0	2	0	1,857	5	1	1,863
8	0	5	0	0	5	0	59	0	0	59
15	0	1	0	0	1	0	54	0	0	54
計	4	504	5	3	516	2	62,497	581	3	63,083

As=シナハマダラカ、Ct=コガタアカイエカ、Cp=アカイエカ、その他のヤマトはヤマトヤブカ、オオクロはオオクロヤブカを指す。
-はトラップの故障などで捕獲が出来なかったことを示す。

平成16年10月1日

表2-2. 7定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数(2003年, 平成15年)

調査日	5. 小矢部					6. 婦中 友坂				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.4	0	46	0	0	46	0	3	6	2	11
11	0	237	0	0	237	0	123	2	1	126
18	0	409	12	0	421	0	90	4	1	95
25	0	217	44	0	261	0	107	14	0	121
7.2	1	457	44	0	502	0	130	3	0	133
9	2	232	14	0	248	0	121	18	7	146
16	0	245	24	0	269	0	450	3	1	454
23	0	342	4	2	348	0	118	0	0	118
30	0	322	1	0	323	0	271	3	0	274
8.6	1	417	11	0	429	0	259	0	0	259
13	2	55	13	0	70	0	1,045	0	0	1,045
20	15	1,071	22	0	1,108	0	2,077	8	0	2,085
27	19	3,097	11	0	3,127	0	1,687	6	1	1,694
9.3	9	2,152	64	0	2,225	0	1,183	0	0	1,183
10	10	5,554	39	1	5,604	0	647	0	1	648
17	8	2,241	3	0	2,252	0	77	0	0	77
24	1	869	4	0	874	0	167	0	0	167
10.1	0	718	0	0	718	0	35	0	0	35
8	0	24	1	0	25	0	1	2	0	3
15	0	16	0	0	16	0	1	0	1	2
計	68	18,721	311	3	19,103	0	8,592	69	15	8,676

調査日	7. 小杉 山本新					As	Ct	Cp	その他	計
	As	Ct	Cp	その他	計					
5.21	0	4	2	0	6					
28	0	56	2	0	58					
6.4	0	64	4	0	68					
11	0	424	1	0	425					
18	0	267	1	0	268					
25	0	187	2	0	189					
7.2	0	216	2	0	218					
9	0	546	6	0	552					
16	0	123	1	1	125					
23	0	659	0	0	659					
30	0	734	6	0	740					
8.6	0	1,318	3	0	1,321					
13	0	1,378	3	0	1,381					
21	0	2,445	0	3	2,448					
27	0	1,965	0	0	1,965					
9.3	0	3,082	0	0	3,082					
10	17	6,770	0	3	6,790					
17	3	3,081	0	0	3,084					
24	3	1,960	16	0	1,979					
10.1	0	317	1	0	318					
8	0	2	0	0	2					
15	0	2	0	0	2					
計	23	25,600	50	7	25,680					

As=シナハマダラカ、Ct=コガタアカイエカ、Cp=アカイエカ、その他のヤマトはヤマトヤブカ、オオクロはオオクロヤブカを指す。

-はトラップの故障などで捕獲が出来なかったことを示す。

程度になり、「上市」が顕著に増加、「小矢部」も増加した。「小矢部」の増加は、前年の畜舎が牛の飼養数が3頭に減ったことで捕集数が減少したと思われ、本年度は畜舎を変更したために増加したと考えられる。「上市」の大幅な増加は畜舎の30mほどの移動で、捕集数の変化が生ずるかは疑問で、2003年にこの地域のコガタアカイエカの発生数が増加したと考えられる。

以下、各定点別に捕集結果を述べる。

[1. 黒部荻生] の捕集数は2002年とほぼ同数であった(表3)。しかし、日最高捕集数は、2002年8月28日の315個体に対し、8月20日の611個体に増加した[2]。発生活長曲線は8月20日に大きな山、9月24日に小さな山を形成する年2峰型であり、2002年の7月下旬に小さな山、8月下旬に大きな山を形成する2峰型とは異なった。

[2. 上市湯上野] 年間捕集数は前年の156倍、201,400個体に激増した。しかも、日最高捕集数も2002年8月28日の227個体に対し、9月10日の38,784個体と171倍に増加した。発生活長曲線は9月第2週を最高峰に、その前後2週間に2万5千個体を越える大きな長い山を形成する年1峰性の消長を示した(表2)。前年に比べ大幅に増加した原因については、わずか30

mの畜舎の移設も少なからず関与すると思われるが、基本的にはこの地域におけるコガタアカイエカの発生数が、前年よりも増加したことに由来すると推察される。

[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。これらの環境状況が、調査定点7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8月27日の299個体であった。2002年の日最大捕集は9月2日の306個体であり[3]、ピークは2003年が約1週間早かった。年間捕集数は前年の33%、2,644個体に減少したが、その原因については全期間を通して捕集数が減少し、特別な原因はみられなかった。

[4. 富山大井] 表4に連日捕集成績を示した。調査当初は2002年よりも捕集数は少なく[3]、それは7月下旬まで続いた。しかし、8月入ってから多くな

表3. 7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	6. 婦中	7. 小杉
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	-	-
2003	2,181	195,869	496	2,644	60,527	469,460	17,963	8,555	25,219

注. a. 6月2週から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。さらに2003年に畜舎が30mほど移設された。3. 大山東黒牧は1998年、6. 婦中、7. 小杉は2003年から調査を開始した。5.小矢部は2003年に畜舎を変更した。

る傾向になり、9月末まで続いた。日最大捕集数は8月30日の22,775個体であり、2002年の9月3日、21,260個体よりも4日早いピークの形成であった[3]。2003年は8月～9月の発生が比較的多く、それが2002年よりも年間の捕集数が101%に微増した原因と思われる(表3)。

[5. 小矢部鷺田] 年間捕集数は2002年の13.5倍、17,963個体に増加した(表2)。この定点の減少傾向は1998年から続いていたが(表3)、本年度で停止した。

前述の様に飼養数が30頭を超え、水田に隣接した畜舎に定点を移動した影響が現れたと考えられる。日最大捕集数は9月10日の5,554個体であり、それを中心に8月4週から9月3週まで、2千個体を超える長い大きな山を形成した(表2)。

[6. 婦中友坂] 年間捕集数は8,592個体で、日最大捕集数は8月20日の2,077個体で、他の牛舎定点に比べ少ない傾向を示した(表2)。これは畜種の違い、飼養頭数などの影響なのかは今後も調査を継続して明

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(2003年, 平成15年)

調査日	4. 大山 東黒牧					5. 富山 大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6月1日	0	1	1	0	2	0	118	0	0	118
6月2日	0	7	0	1	8	0	87	0	0	87
6月3日	0	2	0	1	3	0	65	0	0	65
6月4日	0	3	0	2	5	0	150	0	0	150
6月5日	0	7	0	0	7	0	119	0	0	119
6月6日	0	21	0	1	22	0	193	0	0	193
6月7日	0	1	0	0	1	0	356	0	0	356
6月8日	-	-	-	-	-	0	213	0	0	213
6月9日	0	10	1	5	16	0	342	0	0	342
6月10日	0	15	0	8	23	0	418	0	0	418
6月11日	0	9	2	1	12	0	249	0	0	249
6月12日	0	9	0	1	10	0	557	5	0	562
6月13日	2	6	0	3	11	0	826	3	0	829
6月14日	0	7	0	1	8	0	595	0	0	595
6月15日	0	1	0	0	1	0	589	0	0	589
6月16日	0	16	0	3	19	0	781	0	0	781
6月17日	0	0	0	1	1	0	517	41	1	559
6月18日	0	7	0	0	7	0	345	0	0	345
6月19日	0	12	0	0	12	0	475	0	0	475
6月20日	0	4	0	5	9	0	894	10	0	904
6月21日	0	8	0	0	8	0	679	19	0	698
6月22日	0	7	1	0	8	-	-	-	-	-
6月23日	0	4	0	2	6	0	1,908	11	1	1,920
6月24日	-	-	-	-	-	0	2,513	7	0	2,520
6月25日	0	12	0	0	12	0	1,353	0	0	1,353
6月26日	0	0	0	0	0	0	1,429	5	0	1,434
6月27日	0	31	0	0	31	0	1,964	10	0	1,974
6月28日	2	7	0	0	9	1	2,883	12	0	2,896
6月29日	0	17	0	4	21	0	1,886	38	0	1,924
6月30日	1	40	0	0	41	0	905	98	0	1,003
計	5	264	5	39	313	1	23,409	259	2	23,671

Asはシナハマダラカ、Ctはコガタアカイエカ、Cpはアカイエカを指し、
 その他はヤマトヤブカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカなどを指す。
 -印はトラップの故障等による欠測、または次日に捕集数をまとめて示したことを表す。

らかにしたい。なお、牛舎定点に比べ、極めてわずかであるがヤマトヤブカが多く捕集される様相がみられた。シナハマダラカは全く捕集されなかった。

[7. 小杉山本新] 年間捕集数は25,600個体で、日最大捕集数は9月10日の6,770個体であった。この9月2週をピークに、8月3週から9月4週までほぼ2千個体を超える長い山を形成する消長を示した(表2)。シナハマダラカは9月2週～4週に捕集されたのみで、数も期待したほど多くは捕集されなかった。シナハマダラカが多数採れるとの予想違いは、蚊類の休息場所(越冬場所)になる森林、草藪の少なさと、隣接

した梨園への薬剤散布が影響していると思われる。今後も調査を継続しながら明らかにしたい。

[S. 神岡下之本] コガタアカイエカの年間捕集数は1,491個体、日最大捕集数は8月22日の354個体と、富山県の各定点と比べると少なめであった。しかし、シナハマダラカが340個体捕集されたり、その他が8種類58個体捕集されるなど、蚊相は豊かと思われる。

本年は6月の低照度傾向から、7～8月の低温・低照度と典型的な冷夏になり、全国的に稲作が不振になり米不足に見舞われている。前回1993年の冷夏時に

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(2003年, 平成15年)

調査日	4. 大山 東黒牧					5. 富山 大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
7月1日	0	11	1	0	12	0	1,300	42	1	1,343
7月2日	0	1	0	0	1	0	1,162	46	1	1,209
7月3日	0	8	3	0	11	0	1,077	13	1	1,091
7月4日	2	13	0	0	15	0	916	46	0	962
7月5日	0	29	0	3	32	0	1,434	25	0	1,459
7月6日	0	18	1	3	22	0	2,704	23	2	2,729
7月7日	0	12	1	3	16	0	2,499	37	0	2,536
7月8日	0	5	0	4	9	0	1,235	18	0	1,253
7月9日	0	22	0	0	22	0	495	0	0	495
7月10日	1	22	1	0	24	0	1,583	109	0	1,692
7月11日	0	19	2	2	23	0	2,880	25	0	2,905
7月12日	1	5	1	0	7	0	1,107	28	1	1,136
7月13日	-	-	-	0	0	0	2,109	18	0	2,127
7月14日	0	14	0	1	15	1	713	16	0	730
7月15日	0	20	0	0	20	0	1,209	10	0	1,219
7月16日	2	19	1	0	22	0	1,655	8	0	1,663
7月17日	0	17	0	0	17	0	1,736	19	0	1,755
7月18日	0	94	0	1	95	0	3,163	22	0	3,185
7月19日	0	9	3	0	12	0	1,448	20	0	1,468
7月20日	0	23	3	0	26	0	7,980	405	0	8,385
7月21日	0	28	0	1	29	0	2,572	119	0	2,691
7月22日	0	3	0	0	3	0	2,019	96	0	2,115
7月23日	0	2	2	0	4	0	2,951	44	1	2,996
7月24日	0	10	0	0	10	0	4,795	320	0	5,115
7月25日	0	4	0	0	4	0	3,252	118	0	3,370
7月26日	0	18	0	0	18	0	2,568	40	0	2,608
7月27日	0	6	2	2	10	1	1,302	38	0	1,341
7月28日	0	16	1	0	17	1	2,576	54	0	2,631
7月29日	0	4	0	0	4	0	1,988	248	0	2,236
7月30日	0	4	0	0	4	1	1,126	146	0	1,273
7月31日	-	-	-	-	-	0	2,189	84	0	2,273
計	6	456	22	20	504	4	65,743	2,237	7	67,991

表4-1の脚注を参照。

平成16年10月1日

比べ（表6）、米不足は深刻では無く、水田における水管理が適切に行なわれたためと考えられる。この水管理が水田を主要な発生源にするコガタアカイエカの発生・発育にも影響し、1993年時の様な著しい蚊類の減少を導かなかった理由と思われる。

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8日から10月28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（小矢部市と城端町）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感染症流行予測調査事業検査術式 [4] 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 CF, HI 試薬「生研」JaGAr01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、HI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（2003年，平成15年）

調査日	4. 大山 東黒牧					5. 富山 大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8月1日	-	-	-	-	-	0	1,026	110	0	1,136
8月2日	0	3	1	0	4	0	1,351	25	0	1,376
8月3日	0	3	0	0	3	0	1,008	33	0	1,041
8月4日	0	2	0	0	2	0	557	18	0	575
8月5日	0	5	0	0	5	0	2,040	43	0	2,083
8月6日	0	2	0	0	2	1	1,422	26	0	1,449
8月7日	0	0	0	0	0	0	1,633	30	0	1,663
8月8日	0	0	0	0	0	0	1,414	16	0	1,430
8月9日	0	0	0	0	0	0	2,015	29	0	2,044
8月10日	0	0	0	0	0	0	74	8	0	82
8月11日	0	0	0	0	0	0	4,156	37	0	4,193
8月12日	0	2	2	0	4	0	1,120	24	0	1,144
8月13日	0	6	0	0	6	0	3,295	30	0	3,325
8月14日	0	2	0	0	2	0	2,944	14	0	2,958
8月15日	0	12	0	0	12	0	4,442	5	0	4,447
8月16日	0	7	0	0	7	0	1,441	8	0	1,449
8月17日	0	38	0	0	38	0	13,870	40	0	13,910
8月18日	1	27	0	0	28	0	3,371	26	0	3,397
8月19日	0	16	0	0	16	0	4,177	39	0	4,216
8月20日	0	38	0	0	38	0	2,882	31	0	2,913
8月21日	0	17	0	0	17	0	4,491	56	0	4,547
8月22日	0	25	0	0	25	0	7,060	75	0	7,135
8月23日	0	41	0	0	41	0	11,235	125	0	11,360
8月24日	0	18	0	0	18	0	13,580	170	0	13,750
8月25日	0	27	0	0	27	0	16,470	220	0	16,690
8月26日	0	96	2	0	98	0	15,680	260	0	15,940
8月27日	1	299	0	0	300	0	3,225	45	0	3,270
8月28日	0	87	0	0	87	1	8,480	125	0	8,606
8月29日	0	29	2	0	31	0	5,375	90	0	5,465
8月30日	0	63	0	0	63	0	22,775	55	0	22,830
8月31日	0	40	0	0	40	0	19,880	75	0	19,955
計	2	905	7	0	914	2	182,489	1,888	0	184,379

表4-1の脚注を参照。

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7に示した。豚の採血は例年毎週20頭づつ9月末まで13回行っていたが、昨年と同様10月末まで採血を行い合計17回になった。

第1回目の採血日7月8日に4頭の抗体保有豚が出現したが、抗体価10倍が2例、20倍が2例で低い抗体価であった。その後、7月22日には1頭の抗体保有豚が出現したが、抗体価は20倍と低かった。このように7月は抗体価の低い豚が認められ、保有率も低かった。8月に入って8月5日は抗体価10倍が1頭、8月19日は抗体価10倍が1頭、8月26日は抗体価10倍

が1頭、20倍が1頭で、8月一杯も抗体価は低く保有率5~10%と低率であった。9月2日は抗体保有豚が3頭(抗体保有率15%)になり抗体価320倍の1頭は2-ME感受性が擬陽性であった。9月16日は抗体価10倍が1頭、9月24日は抗体価10倍と1,280倍の2頭が出現し、1,280倍の豚は2-ME感受性で新鮮感染と判断された。9月30日には抗体価10倍の豚が11頭となり抗体保有率が55%になった。

10月7日には陽性豚が8頭になり抗体保有率は40%であった。その内訳は抗体価10倍6頭、20倍1頭、320倍1頭であり、抗体価320の1頭は2-ME感受性が擬陽性であった。その後10月14日は抗体価10倍が1

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(2003年, 平成15年)

調査日	4. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
9月1日	0	40	0	0	40	0	10,495	55	1	10,551
9月2日	0	28	0	0	28	0	9,450	50	0	9,500
9月3日	0	16	0	0	16	0	9,445	75	0	9,520
9月4日	0	10	0	0	10	0	2,611	28	0	2,639
9月5日	1	44	0	0	45	0	6,690	15	0	6,705
9月6日	0	59	0	0	59	0	5,785	45	0	5,830
9月7日	0	44	0	0	44	0	10,230	50	0	10,280
9月8日	0	40	0	0	40	0	10,530	35	0	10,565
9月9日	0	34	0	0	34	0	7,555	45	0	7,600
9月10日	0	44	0	0	44	0	18,370	60	0	18,430
9月11日	0	167	0	0	167	0	15,650	55	0	15,705
9月12日	0	271	0	0	271	1	10,675	25	0	10,701
9月13日	1	54	0	0	55	0	8,066	98	0	8,164
9月14日	2	70	0	1	73	0	4,213	71	0	4,284
9月15日	0	7	0	2	9	0	9,385	20	0	9,405
9月16日	0	13	0	0	13	0	5,550	10	0	5,560
9月17日	1	6	0	0	7	0	2,602	40	0	2,642
9月18日	1	3	0	0	4	0	2,517	29	0	2,546
9月19日	0	17	0	0	17	0	11,420	0	0	11,420
9月20日	-	-	-	-	-	0	7,680	0	0	7,680
9月21日	0	12	0	0	12	0	2,602	14	0	2,616
9月22日	0	0	1	0	1	0	1,697	6	0	1,703
9月23日	0	3	0	0	3	0	1,474	5	0	1,479
9月24日	0	6	0	0	6	0	9,800	25	0	9,825
9月25日	0	14	0	0	14	0	6,145	0	0	6,145
9月26日	0	8	0	0	8	0	2,936	4	0	2,940
9月27日	0	5	0	0	5	0	907	3	0	910
9月28日	0	0	0	0	0	0	2,385	5	0	2,390
9月29日	0	2	0	0	2	0	245	0	1	246
9月30日	0	2	0	0	2	0	709	2	0	711
計	6	1,019	1	3	1,029	1	197,819	870	2	198,692

表4-1の脚注を参照。

表5. 飛騨市神岡町下之本における蚊雌成虫の捕集数(平成15年, 2003年)

調査日	蚊の種類							計
	As	Ct	Cp	Co	Aea	Oj	その他	
5.23	0	0	0	0	0	0	0	0
6.6	0	1	0	0	0	0	0	1
21	0	5	0	0	0	0	0	5
7.5	3	105	1	1	1	0	0	111
20	11	133	0	1	0	1	0	146
26	7	63	0	1	2	0	1	74
8.2	54	130	0	0	8	1	1	194
9	41	50	2	4	0	5	1	103
15	133	137	1	4	0	2	1	278
22	55	354	0	0	3	1	0	413
29	21	222	0	0	1	7	0	251
9.5	12	192	0	0	0	4	2	210
19	2	93	0	0	0	1	0	96
10.4	1	6	0	0	0	0	0	7
計	340	1,491	4	11	15	22	6	1,889

Asはシナハマダラカ、Ctはコガタアカイエカ、Cpはアカイエカ、Coはハマダライエカ、Aeaはヒトスジシマカ、Ojはヤマトヤブカを表し、その他にはオオクロヤブカ2個体、キンイロヤブカ1個体、トラフカクイカ2個体、カラツイエカ1個体が含まれる。

表6. 富山県における近年の気象要因の変動(富山气象台)

比較因子	月	年度											平年値
		1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
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	18.0	16.7
	6	19.7	20.7	19.3	21.0	21.5	20.7	20.9	21.4	21.1	21.1	21.6	20.5
	7	23.2	26.9	25.0	25.1	24.8	25.2	24.9	27.0	27.0	26.4	22.5	24.6
	8	23.3	29.1	27.7	26.0	26.4	25.5	27.7	28.1	26.4	27.2	25.6	26.0
	9	20.4	23.3	21.0	21.0	21.4	23.3	24.5	23.5	21.6	22.5	22.9	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	218.6	200.9
	6	100.1	154.8	105.9	117.3	162.5	86.5	137.3	148.4	111.6	177.4	120.2	147.5
	7	100.2	195.4	122.1	192.2	136.3	130.9	134.5	232.7	234.7	170.1	65.4	160.5
	8	102.0	285.9	232.4	226.4	199.8	101.6	201.8	271.8	203.7	207.1	144.2	200.4
	9	112.5	(156)	129.2	150.4	95.5	125.5	129.9	151.0	134.0	144.9	151.9	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	68.5	124.8
	6	179.0	50.0	116.5	305.0	143.0	135.0	247.0	197.0	281.5	117.5	176.5	183.3
	7	283.0	29.5	536.5	60.5	325.0	161.5	88.0	65.0	108.0	363.0	201.5	223.1
	8	328.0	18.0	176.0	149.0	129.5	630.5	155.0	39.5	230.5	63.5	283.0	176.6
	9	243.5	208.5	80.5	159.0	213.0	303.0	424.5	287.0	206.5	210.5	159.0	233.1

- 注. 1. 富山地方気象台の「富山県の気象・地震概況」からデータを引用した。
 2. 平年値は1971年～2000年の平均値である。
 3. ()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。

頭、10月21日は抗体価20倍1頭で、最終日の10月28日には、抗体保有率は0%になった。

以上の成績を、昨年と比較すると2002年は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10月末まで確認された。しかし2003年は抗体価が高くて新鮮感染の豚が9月24日に1頭出現しただけであった。9月30日には抗体保有率が55%になったが抗体価は10倍という低いものであった。10月初めは抗体保有率が40%であったが、その後5~0%になった。以上のように9月に抗体価の高い豚が出現して新鮮感染の豚が10月末まで出現することは無く、昨年と大きく異なった。

「まとめ」

2003年の豚のHI抗体保有推移は、抗体価が高く新鮮感染を示す豚の出現は9月2日に1頭認められたのみで、2002年とは異なり、富山県における日本脳炎ウイルスの動きは不活発であった。一方、ウイルスを媒介する蚊の発生量と発生消長も2002年と異なり、8月後半から9月後半に多くなる消長を示した。これらが相まって日本脳炎に罹患する県民がいなかったと考えられる。すなわち、7~8月の盛夏に日脳ウイルスを保有したコガタアカイエカが少なかったこと。さらに、発生数が多くなる8月下旬から9月下旬では気候が涼しくなるため、蚊体内での日脳ウイルスの動

表7. 平成15年度(2003年)豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況

検体 採取日	抗体価							2-ME 感受性 陽性数	
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320		≥640
7月8日	16 (80)	2 (10)	2 (10)						
15日	20 (100)								
22日	19 (95)		1 (5)						
29日	20 (100)								
8月5日	19 (95)	1 (5)							
12日	20 (100)								
19日	19 (95)	1 (5)							
26日	18 (90)	1 (5)	1 (5)						
9月2日	17 (85)	2 (10)					1 (5)		0/1 (0)
9日	20 (100)								
16日	19 (95)	1 (5)							
24日	18 (90)	1 (5)						1 (5)	1/1 (100)
30日	9 (45)	11 (55)							
10月7日	12 (60)	6 (30)	1 (5)				1 (5)		0/1 (0)
14日	19 (95)	1 (5)							
21日	19 (95)		1 (5)						
28日	20 (100)								
計	304 (89.4)	27 (7.9)	6 (1.8)				2 (0.6)	1 (0.3)	1/3 (33.3)

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。

平成16年10月1日

き（増殖）が不活発になり、増幅動物（豚）における感染拡大も起こらず、その結果、抗体上昇がみられなかったと思われる。

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。

文 献

1. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 安藤秀二 (2004). 富山県における日本脳炎流行予測調査35年間のまとめ, 82p 図版+46pp, 富山県衛生研究所・富山県厚生部健康課.
2. 小林睦生 (2003). 感染症, 33, 29-39,
3. 渡辺 護, 長谷川澄代, 米道晔彦 (2003). 富山衛研年報, 26, 74-84.
4. 厚生労働省健康局結核感染症課 (2002). 感染症流行予測調査事業検査術式, 27-39, 東京.

富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査

渡辺 護 安藤秀二 出村尚子¹ 城石将幸¹
小原真弓 長谷川澄代 松澤留美子² 小林睦生³

Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2003

Mamoru WATANABE, Shuji ANDO, Naoko DEMURA¹, Masayuki SHIROISHI¹,
Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Rumiko MATSUZAWA²
and Mutsuo KOBAYASHI³

要旨 富山県では1965年から日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生活長調査を、畜舎にライトトラップを設置することで行って来た。この調査に加え、2003年からはウエストナイル熱、デング熱、マラリアなど海外からの侵入が懸念される蚊媒介性感染症に關与する蚊の発生実態を把握することを目的に、一般住宅とカラスのねぐら近くでの調査を開始した。

一般民家を環境区分により4通りに分けて設定し、カラスのねぐらは3ヶ所を選び、早いところは4月下旬からドライアイス誘引トラップを用いて調査を開始した。その結果、全ての定点からウエストナイル熱ウイルス(WNV)、デング熱ウイルス(DENV)、日本脳炎ウイルス(JEV)を媒介するアカイエカ(WNV)、ヒトスジシマカ(DENV)、コガタアカイエカ(JEV)が捕集された。一方、マラリア原虫を媒介するシナハマダラカは全く捕集されなかった。都市住宅街および海岸住宅街の民家ではアカイエカが、郊外大規模団地の民家ではヒトスジシマカが、農村地域の民家ではコガタアカイエカが他の蚊に比べ多く捕集され、住宅の立地環境により捕集される蚊種・数に相違がみられた。

カラスのねぐら近くでの調査では、都市部のねぐら近くではアカイエカが多いが、地面に近いトラップではヒトスジシマカの捕集される割合が高くなった。郊外にあるねぐら近くでは、コガタアカイエカが全般的に多く、高い位置のトラップではアカイエカが多く捕集され、低い位置のトラップではヒトスジシマカが多く捕集された。高い位置のトラップではヒトスジシマカは捕集されなかった。

近年、海外からウエストナイル熱、デング熱、マラリアなどの侵入が懸念され [1]、それらを媒介する蚊の生息状況・発生実態を把握することが必要になって来ている。富山県では動物由来感染症の調査事業の一つとして、蚊についても予防体制事業に組み入れ平成15年度から調査を開始した。

調査の主目的は地方都市において、どんな所に、どんな蚊が、どれだけ生息するかを明確にすることであり、実際には住宅立地環境別、および病原微生物の媒介・増幅に關与するカラスなど鳥類の営巣場所の近くにおける蚊類の分布、発生活長を明らかにするためである。

調査方法

調査定点の選定：一般住宅における蚊相を明らかにす

るために、住宅が建っている周辺環境を都市部の純住宅街、都市郊外の大規模住宅団地、海岸の商・工・住混合地区、農村水田地域の中規模団地に4区分し、それぞれから1軒づつ選定した(表1)。また、ウエストナイル熱ウイルス(WNV)は鳥類、とくにカラスで感受性が高く、しかも増幅動物になる可能性が知られているので、カラスのねぐら近くにおける蚊相を明らかにするために4ヶ所を選定し、トラップを地上部と高い位置に設置した(表1)。

蚊の捕集方法：市販ドライアイストラップ(猪口型；乾電池駆動式)と自己開発型ドライアイストラップ(12Vバッテリー駆動式)を用いた。ドライアイスは1kgを発泡プラスチック容器に入れ、トラップの脇に吊るして誘引源として用いた。

トラップの設置場所：一般住宅では回収時のことを考え、庭の道路に近い場所で、茂っている樹木の高さ約

1. 富山県高岡厚生センター 2. 富山県食品生活衛生課 3. 国立感染症研究所

平成16年10月1日

1m程に吊り下げた。農村地域住宅ではこの他に庭の奥の家庭菜園にある柿の地上約1mと3.5mにもトラップを吊り下げた。カラスのねぐら近く定点では、高い樹木を選んで地面近くと出来るだけ高い位置にトラップを吊り下げた。適当な樹木が無い場合には近くの建物の壁面、回廊を利用しトラップを設置した。調査期間、時間：早い定点では4月23日から、遅い定点は6月4日から調査を開始し、10月1日もしくは29日まで、ほぼ毎週水曜日の13～14時にトラップを設置稼働し、翌朝8～9時に回収した。

調査結果

一般住宅での捕集成績：表2に、種類別の捕集数を示した。都市部住宅街の民家では全体で3種71♀5

♂個体が捕集され、その内の67.1%がアカイエカ、23.7%がヒトスジシマカ、9.2%がコガタアカイエカであった。

郊外住宅団地の民家では4種75♀5♂個体が捕集され、その内訳はヒトスジシマカ82.5%、アカイエカ12.5%、コガタアカイエカ3.8%、オオクロヤブカ1.3%であった。

海岸住宅街の民家では1,185♀3♂個体と、最も多数の蚊が捕集され、その内訳はアカイエカ92.8%、コガタアカイエカ4%、ヒトスジシマカ3.1%であった。

農村地域団地の民家では82♀7♂個体が捕集され、その内訳はコガタアカイエカ97.8%、アカイエカとヒトスジシマカがそれぞれ1.1%であった。

カラスのねぐら近くでの捕集成績：表3-1に、高岡

表1. 感染症媒介蚊の発生調査定点の概要（平成15年；2003年）

住宅区分	住所	トラップ(ドライアイス添加)	設置場所
① 一般民家	都市部住宅街	富山市鹿島町	乾電池吸引トラップ(猪口型)、1台
	郊外住宅団地	小杉町太閤山	乾電池吸引トラップ(猪口型)、1台
	海岸地域住宅街	新湊市海老江	乾電池吸引トラップ(猪口型)、1台
	農村地域団地	大山町津羽見	12V 吸引トラップ(自己開発)、3台
② カラスのねぐら	高岡古城公園	市立動物園	乾電池吸引トラップ(猪口型)、2台
	富山市城址公園	市立図書館	乾電池吸引トラップ(猪口型)、3台
	衛研隣杉林(鶏舎)	小杉町黒河	乾電池吸引トラップ(猪口型)、2台
	衛生研究所	小杉町中太閤山	ライトトラップ(東京エーエス)、2台
	薬事研究所	小杉町中太閤山	12V 吸引トラップ(自己開発)、1台

表2. 一般住宅定点において捕集された蚊の種類と数（平成15年；2003年）

蚊の種類	調査定点地域区分								合計	
	都市住宅街		郊外住宅団地		海岸住宅街		農村地域団地		♀	♂
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂		
シナハマダラカ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
コガタアカイエカ	7	0	3	0	48	0	82	5	140	5
アカイエカ	50	1	10	0	1,103	0	0	1	1,163	2
ハマダライエカ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ヒトスジシマカ	14	4	61	5	34	3	0	1	109	13
ヤマトヤブカ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
オオクロヤブカ	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
ギンハラナガハシカ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
フタクロホシチビカ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他(不明)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計	71	5	75	5	1,185	3	82	7	1,413	20

ドライアイストラップ(猪口型)使用;5月14日～10月29日、毎週水曜日14時～翌朝8時

古城公園におけるトラップ別の捕集数を示した。高さ1mのトラップでは69♀6♂個体が捕集され、その内訳は48%がヒトスジシマカ、44%がアカイエカ、8%がコガタアカイエカであった。高さ8mのトラップでは99♀1♂個体が捕集され、アカイエカが93%を占め、残り7%はハマダライエカ3%、トラフカクイカ2%、コガタアカイエカ1%、不明(ハマダラカ属)1%であり、ヒトスジシマカは捕集されなかった。

表3-2に、富山城址公園の成績を示した。この定点はトラップを設置するための適当な立ち木が無かったので、公園内の富山市図書館の回廊にトラップを設置した。高さ1mのトラップは地上の植え込みの中に吊るし、122♀7♂個体が捕集された。87.6%がアカイエカ、11.6%がヒトスジシマカ、0.8%がコガタアカイエカであった。12mトラップは4階の回廊に吊り下げたが、4♀個体のアカイエカしか捕集されなかった。20mトラップは6階の回廊に吊り下げ、4♀個体のアカイエカと1♀個体のフタクロホシチビカが捕集された。

表3-3に、当衛生研究所動物舎での成績を示した。この建物の北東側25mにカラスがねぐらにしている杉林があり(表3-4)、カラスは時々動物舎の屋上に来る。ここのトラップは東京エーエス社製を用い、一般民家同様にドライアイス1kgを添加した。人の通行の妨げにならない様に地上2mに設置したトラップには44♀1♂個体が捕集され、その内訳はコガタアカイエカが82.2%、アカイエカ15.6%、ヒトスジシマカ2.2%であった。動物舎の煙突6.5mに設置したトラップには、19♀個体が捕集され、その73.7%がコガタ

アカイエカ、21.1%がアカイエカ、5.3%がヤマトヤブカであった。

表3-4には衛生研究所隣の杉林での成績を示した。この定点は前述の衛生研究所動物舎とは20mほどしか離れていない。また、杉林に隣接して愛玩鶏の鶏舎と番犬の犬小屋がある。それらは高さ1mトラップと6mほどしか離れていない。この1mトラップでは72♀2♂個体が捕集され、その内訳は47.3%がコガタアカイエカ、18.9%がヒトスジシマカ、16.2%がアカイエカ、8.1%がキンバラナガハシカ、5.4%がフタクロホシチビカ、4.1%がヤマトヤブカであった。6.5mトラップでは21♀3♂個体が捕集され、その内訳はアカイエカ37.5%、コガタアカイエカ29.2%、ハマダライエカ12.5%、フタクロホシチビカ8.3%、ヤマトヤブカ、キンバラナガハシカ、その他(ハマダラカ属)が各1個体(4.2%)であった。

衛生研究所の東隣にある薬事研究所の構内東隅のシラカシの植え込みに吊るしたトラップには35♀個体が捕集され(表3-4の右端)、ヒトスジシマカが65.7%、キンバラナガハシカ14.3%、コガタアカイエカ11.4%、ハマダライエカ2.9%、その他(ハマダラカ属)5.7%が捕集された。

農村地域団地の民家における蚊類の小分布

狭い範囲でもトラップの設置場所により捕集される蚊の種類および数に相違がみられるか、農村地域の中規模団地(全体で103戸)の一般住宅で観察を行った。道路に近い前庭にある桜の下に吊るしたトラップと、庭の奥の隣家との境界にある柿に吊るしたトラップで

表3-1. カラスのねぐら近くの定点において捕集された蚊の種類と数
(平成15年;2003)

蚊の種類名	高岡古城公園(市立動物園)				合計	
	1m トラップ		8m トラップ		♀	♂
	♀	♂	♀	♂		
シナハマダラカ	0	0	0	0	0	0
コガタアカイエカ	6	0	1	0	7	0
アカイエカ	33	0	93	0	126	0
ハマダライエカ	0	0	3	0	3	0
ヒトスジシマカ	30	6	0	0	30	6
ヤマトヤブカ	0	0	0	0	0	0
オオクロヤブカ	0	0	0	0	0	0
キンバラナガハシカ	0	0	0	0	0	0
フタクロホシチビカ	0	0	0	0	0	0
トラフカクイカ	0	0	2	0	2	0
その他(不明)	0	0	0	1	0	1
計	69	6	99	1	168	7

ドライアイストラップ(猪口型)使用;6月4日~10月1日毎週水曜日14時~翌朝10時

比較した。なお、柿の下には家庭菜園のニガウリの棚があり、下方トラップの設置点は何時も薄暗く感じ、毎回、トラップ稼働時にヒトスジシマカが人へ襲来した。前庭のトラップの成績は既述の農村地域の民家で述べた通り、3種82♀7♂個体が捕集され、97.8%がコガタアカイエカであった。庭の奥の高さ1mトラップでは6種309♀9♂個体が捕集され、79.2%がコガタアカイエカ、9.1%がアカイエカ、6.3%がヒトスジシマカ、4.1%がヤマトヤブカで、残りはハマダライエカとオオクロヤブカで共に0.3%であった。高さ3.5

mトラップでは4種135♀7♂個体が捕集され、90.1%がコガタアカイエカ、4.2%がアカイエカ、3.5%がヒトスジシマカ、2.1%がヤマトヤブカであった(表4)。

一般民家での蚊類の発消長

都市部住宅街の民家では、調査を開始した5月14日から10月15日まで、ほぼ毎週アカイエカが捕集され、6月中旬、7月中旬、8月中下旬に山を形成する消長を示した(表5)。ヒトスジシマカも5月14日から10月15日まで断続的に捕集され、5月中下旬、7月

表3-2. カラスのねぐら近くの定点において捕集された蚊の種類と数

(平成15年;2003)

蚊の種類名	富山城址公園(市立図書館)						合計	
	1m トラップ		12m トラップ		20m トラップ		♀	♂
	♀	♂	♀	♂	♀	♂		
シナハマダラカ	0	0	0	0	0	0	0	0
コガタアカイエカ	1	0	0	0	0	0	1	0
アカイエカ	108	5	4	0	4	0	116	5
ハマダライエカ	0	0	0	0	0	0	0	0
ヒトスジシマカ	13	2	0	0	0	0	13	2
ヤマトヤブカ	0	0	0	0	0	0	0	0
オオクロヤブカ	0	0	0	0	0	0	0	0
キンバラナガハシカ	0	0	0	0	0	0	0	0
フクロホシヒカ	0	0	0	0	1	0	1	0
その他(不明)	0	0	0	0	0	0	0	0
計	122	7	4	0	5	0	131	7

ドライアイストラップ(猪口型)使用;5月14日~10月1日、毎週水曜日14時~翌朝9時

表3-3. カラスのねぐら近くの定点において捕集された蚊の種類と数

(平成15年;2003)

蚊の種類名	衛生研究所動物舎				合計	
	1m トラップ		6.5m トラップ		♀	♂
	♀	♂	♀	♂		
シナハマダラカ	0	0	0	0	0	0
コガタアカイエカ	37	0	14	0	51	0
アカイエカ	6	1	4	0	10	1
ハマダライエカ	0	0	0	0	0	0
ヒトスジシマカ	1	0	0	0	1	0
ヤマトヤブカ	0	0	1	0	1	0
オオクロヤブカ	0	0	0	0	0	0
キンバラナガハシカ	0	0	0	0	0	0
フクロホシヒカ	0	0	0	0	0	0
トラフカクイカ	0	0	0	0	0	0
その他(不明)	0	0	0	0	0	0
計	44	1	19	0	63	1

4月23日~10月29日、毎週水曜日13時~翌13時

上旬～8月上旬, 10月上中旬に発生が多くなる様相を示した。コガタアカイエカは7月9日に初めて捕れ, その後7月30日, 8月20日, 27日に捕集された。

郊外大規模団地の民家では, 6月18日に始めてヒトスジシマカが捕れ, その後10月8日までほぼ毎週捕集された(表5)。7月下旬, 8月下旬, 10月上旬に山を形成する消長を示した。アカイエカの捕集期間は7月2日から9月3日と短く, しかも断続的であるが, 多発生期間は7月と思われる。コガタアカイエカは8月6日, 27日, 9月3日に1個体ずつ捕集された。

海岸地域の民家では多数のアカイエカが捕れ, それは5月21日から9月24日まで毎週捕集された。8月下旬に大きな山が形成され, そのほかに7月初旬, 下

旬, 8月上旬, さらに9月中旬に山を形成する消長を示した。ヒトスジシマカは6月11日から9月10日までの期間に捕れ, とくに7月23日から8月27日まで毎週捕集された。この期間が多発生の時期と思われる。コガタアカイエカは7月23日に初めて捕集され, その後9月10日まで, 8月13日を除いて毎回捕集され, 9月10日が最も多数であった。

農村地域団地の民家の前庭トラップで捕集された蚊は, コガタアカイエカが97.8%を占め, 5月28日から9月24日まで, ほぼ毎週捕集された。9月上旬に大きな山, 7月上旬に小さな山を形成する消長を示した(表5)。

表3-4. カラスのねぐら近くの定点において捕集された蚊の種類と数

(平成15年, 2003)

蚊の種類名	衛研隣杉林				合計		薬事研究所	
	1m トラップ		6.5m トラップ				東角立木1m	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
シナハマダラカ	0	0	0	0	0	0	2?	0
コガタアカイエカ	35	0	7	0	42	0	4	0
アカイエカ	12	0	9	0	21	0	0	0
ハマダライエカ	0	0	1	2	1	2	1	0
ヒトスジシマカ	13	1	0	0	13	1	23	0
ヤマトヤブカ	3	0	1	0	4	0	0	0
オオクロヤブカ	0	0	0	0	0	0	0	0
キンバラナガハシカ	5	1	1	0	6	1	5	0
フタクロホシチビカ	4	0	2	0	6	0	0	0
トラフカクイカ	0	0	0	0	0	0	0	0
その他(不明)	0	0	0	1	0	1	0	0
計	72	2	21	3	93	5	35	0

ドライアイストラップ(猪口型)使用;5月14日～10月29日、毎週水曜日13時～翌13時

表4. 農村地域内団地の民家における蚊類の小分布 (平成15年、2003年)

蚊の種類	前庭 1mトラップ		庭奥 1mトラップ		庭奥 3.5mトラップ		合計	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
シナハマダラカ	0	0	0	0	0	0	0	0
コガタアカイエカ	82	5	246	6	124	4	452	15
アカイエカ	0	1	28	1	6	0	34	2
ハマダライエカ	0	1	1	0	0	0	1	1
ヒトスジシマカ	0	0	20	2	5	0	25	2
ヤマトヤブカ	0	0	13	0	0	3	13	3
オオクロヤブカ	0	0	1	0	0	0	1	0
キンバラナガハシカ	0	0	0	0	0	0	0	0
フタクロホシチビカ	0	0	0	0	0	0	0	0
その他(不明)	0	0	0	0	0	0	0	0
計	82	7	309	9	135	7	526	23

ドライアイストラップ(猪口型)使用;4月23日～10月29日、毎週水曜日15時～翌朝8時。

カラスのねぐら近くでの蚊類の発消長

考 察

高岡古城公園（市立動物園）の捕集蚊全体では6月18日に最も多数の41個体が捕集され、その前後は10個体内外の捕集数であった（表6-1，上段）。種類別ではアカイエカが6月18日に最も多数捕集され、しかも1mトラップよりも8mトラップで多く捕れる場合がほとんどであった。ヒトスジシマカは1mトラップのみで、6月18日から10月1日までほぼ毎週捕集された。アカイエカに比べ8～9月に多く捕集される傾向が見られる。コガタアカイエカは1mトラップで7月と9月に少数が捕れ、8mトラップでは8月27日に1個体捕集された。

富山城址公園（市立図書館）の捕集蚊全体では、7月30日と8月13日に多数が捕集された（表6-1，下段）。アカイエカは1mトラップで5月28日に1個体捕集された後、7月9日まで捕れなくなり、7月30日、8月6日に多数捕れ、その後少なくなったが10月1日まで捕集された。12mトラップでは7月30日に3個体、8月20日に1個体捕集された。20mトラップでは8月13、20日に1個体、8月27日に2個体捕集された。

ヒトスジシマカは1mトラップでのみ、7月23日から捕集され、その日が最も多くその後少なく断続的になったが9月17日まで捕集された。

衛生研究所隣の杉林では、1m、6.5mトラップとも9月中下旬に多く捕集されている（表6-2，上段）。アカイエカは1m、6.5mトラップともに少数が5月14日から10月1日まで断続的に捕集された。ヒトスジシマカは1mトラップのみで捕れ、8月下旬～9月中旬に多くなる傾向が見られる。コガタアカイエカは1mトラップで5月28日から9月24日までほぼ毎週捕集され、9月中下旬に多くなる様相が見られる。6.5mトラップでは7月16日～9月24日に断続的に少数捕集された。

衛生研究所動物舎でも前述の杉林同様、1m、6.5mトラップとも9月中下旬に多く捕集されている（表6-2，下段）。アカイエカは1mトラップでは6月11日と25日の2回のみ、6.5mトラップは6月25日、7月9日、8月13日の3回のみ捕集であった。ヒトスジシマカは1mトラップのみで、わずかに8月27日の1個体のみであった。コガタアカイエカは1m、6.5mともに8月下旬から9月下旬に多くなる傾向が見られた。

一般住宅における捕集蚊の種構成は、4区分した全ての住宅で、コガタアカイエカ、アカイエカ、ヒトスジシマカの3種が捕集され、その3種の割合が住宅立地環境区分で異なっていた。今回は各環境区分で1軒のみの調査であることから、住宅の立地環境で蚊種構成を決定できないが、アカイエカは比較的広い範囲（環境）で捕集され、ヒトスジシマカは純住宅街で多く捕集される傾向がみられ、コガタアカイエカは農村地域で圧倒的に多数捕集された。ただ、コガタアカイエカは発生源が見られない様な都市部でも捕集され、飛翔範囲が広いのか？確認する意味も含めて、今後は蚊種別の発生源の検索が必要である。

カラスのねぐら近くの高岡古城公園、富山城址公園においてはアカイエカが多数捕集されたが、トラップの設置場所が1mではヒトスジシマカが多くなった。富山城址公園の市立図書館回廊では捕集数は極めて少なく、建物の壁面では風などの影響などもあり、飛翔しにくいのかも知れない。それは衛生研究所動物舎の壁面トラップでも捕集数が少ないことから、同様と思われる。ただ、この定点はコガタアカイエカの捕集数が前述の高岡古城公園や富山城址公園に比べて多く、蚊種による飛翔行動の相違が示唆される。衛生研究所隣の杉林でもコガタアカイエカの捕集数が他種に比べ多いが、高い位置のトラップ（6.5m）ではアカイエカがわずかに多くなる。ここでもヒトスジシマカは1mトラップで捕れ、6.5mトラップでは捕れず、ヒトスジシマカは高い位置には飛翔しないことが示唆される。

農村地域の住宅で道路に面した前庭と、庭の奥の隣家との境界に設置したトラップでは、明らかに境界設置のトラップで多種多数が捕集され、しかも3.5mトラップでも前庭よりも多く捕集された。ここでは3.5mトラップでヒトスジシマカが少数捕集されている（5/142個体）。一般民家の面積が狭い庭などでもトラップの設置場所が異なると、捕集種・数に相違が見られることから、トラップを設置する場合考慮する必要が認められる。

蚊種による季節的捕集消長は、捕集数が少ない場合があり明確ではないが、概観的にはアカイエカは7月中旬に第一の山、8月中下旬に第二の山がみられ、ヒトスジシマカは7月から9月まで山らしい山を形成せずに少数が継続して捕れる消長を示すと思われる。コガタアカイエカは9月になってから多く捕集される推移を示し、畜舎定点の消長もその傾向が強く[2]、水田の稲作スケジュールに依存した消長と思われる。

表5. 一般住宅定点において捕集された主要雌蚊の季節的消長（平成15年；2003）

1) 都市住宅街				2) 郊外住宅団地					
調査日	蚊の種名			計	調査日	蚊の種名			計
	アカイエカ	ヒトスジシマカ	コガタアカイエカ			アカイエカ	ヒトスジシマカ	コガタアカイエカ	
5月14日	1	1	0	2	5月14日	0	0	0	0
21日	2	0	0	2	21日	0	0	0	0
28日	2	1	0	3	28日	0	0	0	0
6月4日	1	0	0	1	6月4日	0	0	0	0
11日	1	0	0	1	11日	0	0	0	0
18日	5	0	0	5	18日	0	1	0	1
25日	2	0	0	2	25日	0	0	0	0
7月2日	0	3	0	3	7月2日	2	0	0	2
9日	2	1	2	5	9日	3	3	0	6
16日	8	0	0	8	16日	0	4	0	4
23日	3	3	0	6	23日	2	7	0	9
30日	3	1	1	5	30日	1	10	0	11
8月6日	1	2	0	3	8月6日	0	5	1	6
13日	1	0	0	1	13日	1	3	0	4
20日	5	0	1	6	20日	0	6	0	6
27日	6	0	3	9	27日	0	7	1	8
9月3日	1	0	0	1	9月3日	1	3	1	5
10日	2	0	0	2	10日	0	1	0	1
17日	1	0	0	1	17日	0	3	0	3
24日	1	0	0	1	24日	0	0	0	0
10月1日	1	1	0	2	10月1日	0	5	0	5
8日	0	0	0	0	8日	0	3	0	3
15日	1	1	0	2	15日	0	0	0	0
22日	0	0	0	0	22日	0	0	0	0
29日	0	0	0	0	29日	0	0	0	0
計	50	14	7	71	計	10	61	3	74

3) 海岸地域住宅街				4) 農村地域住宅団地					
調査日	蚊の種名			計	調査日	蚊の種名			計
	アカイエカ	ヒトスジシマカ	コガタアカイエカ			アカイエカ	ヒトスジシマカ	コガタアカイエカ	
5月14日	0	0	0	0	5月14日	0	0	0	0
21日	2	0	0	2	21日	0	0	0	0
28日	2	0	0	2	28日	0	0	1	1
6月4日	1	0	0	1	6月4日	0	0	0	0
11日	3	1	0	4	11日	0	0	0	0
18日	5	0	0	5	18日	0	0	2	2
25日	6	0	0	6	25日	0	0	4	4
7月2日	23	1	0	24	7月2日	0	0	5	5
9日	124	2	0	126	9日	0	0	8	8
16日	7	0	0	7	16日	0	0	2	2
23日	86	8	1	95	23日	0	0	1	1
30日	10	2	4	16	30日	0	0	4	4
8月6日	70	6	5	81	8月6日	0	0	4	4
13日	21	5	0	26	13日	0	0	0	0
20日	80	7	1	88	20日	0	0	3	3
27日	436	3	5	444	27日	0	0	3	3
9月3日	49	0	6	55	9月3日	0	0	22	22
10日	46	2	26	74	10日	0	0	16	16
17日	93	0	0	93	17日	0	0	4	4
24日	39	0	0	39	24日	0	0	3	3
10月1日	0	0	0	0	10月1日	0	0	0	0
8日	0	0	0	0	8日	0	0	0	0
15日	0	0	0	0	15日	0	0	0	0
22日	0	0	0	0	22日	0	0	0	0
29日	0	0	0	0	29日	0	0	0	0
計	1,103	37	48	1,188	計	0	0	82	82

平成16年10月1日

表 6-1. カラスのねぐら近くにおいて捕集された主要雌蚊の季節的消長（平成15年；2003）

1) 高岡古城公園、1m トラップ				2) 高岡古城公園、8m トラップ					
調査日	蚊の種名			計	調査日	蚊の種名			計
	アカイエカ	ヒスジシマカ	コガタアカイエカ			アカイエカ	ヒスジシマカ	コガタアカイエカ	
6月4日	1	0	0	1	6月4日	8	0	0	8
11日	4	0	0	4	11日	4	0	0	4
18日	15	2	0	17	18日	24	0	0	24
25日	2	0	0	2	25日	5	0	0	5
7月2日	1	0	0	1	7月2日	6	0	0	6
9日	2	0	1	3	9日	10	0	0	10
16日	0	1	1	2	16日	6	0	0	6
23日	2	1	1	4	23日	7	0	0	7
30日	0	0	0	0	30日	0	0	0	0
8月6日	0	5	0	5	8月6日	6	0	0	6
13日	0	3	0	3	13日	2	0	0	2
20日	4	1	0	5	20日	6	0	0	6
27日	0	2	0	2	27日	4	0	1	5
9月3日	1	6	0	7	9月3日	4	0	0	4
10日	0	6	1	7	10日	1	0	0	1
17日	0	2	1	3	17日	0	0	0	0
24日	1	0	1	2	24日	0	0	0	0
10月1日	0	1	0	1	10月1日	0	0	0	0
計	33	30	6	69	計	93	0	1	94

3) 富山城址公園、1mトラップ			4) 富山城址公園、12mトラップ			5) 富山城址公園、20mトラップ			
調査日	蚊の種名		計	蚊の種名		計	蚊の種名		計
	アカイエカ	ヒスジシマカ		アカイエカ	ヒスジシマカ		アカイエカ	ヒスジシマカ	
5月21日	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28日	1	0	1	0	0	0	0	0	0
6月4日	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11日	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18日	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25日	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7月2日	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9日	2	0	2	0	0	0	0	0	0
16日	4	0	4	0	0	0	0	0	0
23日	2	7	9	0	0	0	0	0	0
30日	27	1	28	3	0	3	0	0	0
8月6日	8	1	9	0	0	0	0	0	0
13日	29	0	29	0	0	0	1	0	1
20日	5	1	6	1	0	1	1	0	1
27日	8	1	9	0	0	0	2	0	2
9月3日	9	0	9	0	0	0	0	0	0
10日	4	0	4	0	0	0	0	0	0
17日	3	2	5	0	0	0	0	0	0
24日	3	0	3	0	0	0	0	0	0
10月1日	3	0	3	0	0	0	0	0	0
計	108	13	121	4	0	4	4	0	4

表6-2. カラスのねぐら近くにおいて捕集された主要雌蚊の季節的消長(平成15年; 2003)

1) 衛研隣杉林(愛玩鶏舎)、1m トラップ					2) 衛研隣杉林(愛玩鶏舎)、6.5m トラップ				
調査日	蚊の種名			計	調査日	蚊の種名			計
	アカイエカ	ヒスジシマカ	コガタアカイエカ			アカイエカ	ヒスジシマカ	コガタアカイエカ	
5月14日	1	0	0	1	5月14日	0	0	0	0
21日	0	0	0	0	21日	0	0	0	0
28日	0	1	1	2	28日	1	0	0	1
6月4日	1	1	0	2	6月4日	0	0	0	0
11日	0	0	1	1	11日	2	0	0	2
18日	0	0	1	1	18日	1	0	0	1
25日	1	0	1	2	25日	0	0	0	0
7月2日	0	0	2	2	7月2日	0	0	0	0
9日	1	0	0	1	9日	0	0	0	0
16日	0	0	0	0	16日	0	0	1	1
23日	0	1	0	1	23日	0	0	0	0
30日	0	0	3	3	30日	0	0	0	0
8月6日	0	1	1	2	8月6日	0	0	0	0
13日	1	0	1	2	13日	2	0	1	3
20日	1	0	2	3	20日	2	0	1	3
27日	1	2	2	5	27日	0	0	0	0
9月3日	0	1	2	3	9月3日	0	0	3	3
10日	1	3	6	10	10日	0	0	0	0
17日	2	2	3	7	17日	0	0	0	0
24日	1	0	9	10	24日	0	0	1	1
10月1日	1	0	0	1	10月1日	1	0	0	1
8日	0	1	0	1	8日	0	0	0	0
15日	0	0	0	0	15日	0	0	0	0
22日	0	0	0	0	22日	0	0	0	0
29日	0	0	0	0	29日	0	0	0	0
計	12	13	35	60	計	9	0	7	16

3) 衛生研究所動物舎、1m トラップ					4) 衛生研究所動物舎、6.5m トラップ				
調査日	蚊の種名			計	調査日	蚊の種名			計
	アカイエカ	ヒスジシマカ	コガタアカイエカ			アカイエカ	ヒスジシマカ	コガタアカイエカ	
4月30日	0	0	0	0	4月30日	0	0	0	0
5月7日	0	0	0	0	5月7日	0	0	0	0
14日	0	0	0	0	5月14日	0	0	0	0
21日	0	0	0	0	21日	0	0	0	0
28日	0	0	1	1	28日	0	0	0	0
6月4日	0	0	0	0	6月4日	0	0	1	1
11日	1	0	0	1	11日	0	0	0	0
18日	0	0	1	1	18日	0	0	0	0
25日	3	0	0	3	25日	1	0	0	1
7月2日	0	0	1	1	7月2日	0	0	0	0
9日	2	0	1	3	9日	2	0	0	2
16日	0	0	1	1	16日	0	0	0	0
23日	0	0	2	2	23日	0	0	1	1
30日	0	0	0	0	30日	0	0	0	0
8月6日	0	0	0	0	8月6日	0	0	1	1
13日	0	0	1	1	13日	1	0	1	2
20日	0	0	2	2	20日	0	0	0	0
27日	0	1	5	6	27日	0	0	2	2
9月3日	0	0	5	5	9月3日	0	0	4	4
10日	0	0	7	7	10日	0	0	3	3
17日	0	0	2	2	17日	0	0	0	0
24日	0	0	8	8	24日	0	0	1	1
10月1日	0	0	0	0	10月1日	0	0	0	0
8日	0	0	0	0	8日	0	0	0	0
15日	0	0	0	0	15日	0	0	0	0
22日	0	0	0	0	22日	0	0	0	0
29日	0	0	0	0	29日	0	0	0	0
計	6	1	37	44	計	4	0	14	18

まとめ

各環境区分の一般住宅において WNV, DFV, JEV などを媒介するアカイエカ, ヒトスジシマカ, コガタアカイエカが捕集された。都市住宅街および海岸住宅街の民家ではアカイエカ, 郊外大規模団地の民家ではヒトスジシマカ, 農村地域の民家ではコガタアカイエカが多く捕集され, 環境により捕集される蚊種に相違がみられた。

カラスのねぐら近くでは, 都市部にあるねぐらではアカイエカが多いが, 地面に近いトラップではヒトスジシマカの捕集される割合が高くなった。郊外にあるカラスのねぐら近くでは, コガタアカイエカが多く, アカイエカは高い位置のトラップで捕れ, 低い位置のトラップではヒトスジシマカが得られた。高い位置のトラップではヒトスジシマカは捕れなかった。

謝 辞

本調査の実施にあたり, トラップの設置に快諾頂いた富山市図書館, 高岡市動物園の関係者の皆様, 一般民家での調査にご協力頂いた当研究所元職員の石倉康宏博士, 現職員の林美貴子博士, 岩井雅恵研究員, さらに高岡古城公園での調査にご協力を頂いた高岡厚生センター今井茂憲次長はじめ衛生課の皆様には厚くお礼を申し上げます。

文 献

1. 小林睦生 (2003). 感染症, 33, 29-39.
2. 渡辺 護, 長谷川澄代, 米道暁彦 (2003). 富山衛研年報, 26, 74-84.

ポリオ流行予測調査

岩井雅恵 松浦久美子 長谷川澄代 安藤秀二
 小原真弓 永井美之 番留忠司¹ 田中桂子²
 飛田忠嗣³ 田中有易知⁴ 瀧波賢治⁵

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture

Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Shuji ANDO,
 Mayumi OBARA, Yoshiyuki NAGAI, Tadashi BANDOME¹, Keiko TANAKA²,
 Tadashi TOBITA³, Yuichi TANAKA⁴ and Kenji TAKINAMI⁵

要旨 平成15年度ポリオ流行予測調査として、感染源調査と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4歳までの乳幼児66名から糞便を採取し、ウイルス分離を実施した。その結果、ポリオウイルスは全く分離されなかった。

感受性調査は、全年齢層（0歳～73歳）の204名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96.6%、2型が100%、3型が83.3%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80%以上を示したが、3型は0～1歳の62.5%から40～49歳、50～59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167.2倍、2型が136.5倍、3型では32.4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。本年度は感染源調査が委託された。感受性調査については、委託されない年は、県単独事業として行なっていたが、今年度は厚生労働科学研究（主任研究者：加藤達夫；聖マリアンナ医科大学小児科，分担研究者：宮村達夫；国立感染症研究所ウイルス第2部）による調査が行われ、これに参加した。両調査結果を合わせて報告する。

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、ポリオウイルスに対する抗体保有率から、富山県民は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態にあるものと考えられた。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は変わっていない。

1988年に決議された世界保健機関（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。日本の属する西太平洋地域におけるポリオ根絶は2000年10月に宣言された。しかしながら、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。

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

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

チン投与後2ヶ月以上経過した平成15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16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、実際には、0～4歳合計で66名の検体が採取され調査に供された。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。

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10名、新川厚生センター管内の黒部市で0歳～4歳児56名の合計66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、ポリオウイルスを含め、ウイルスは分離されず、分離率は0%であった(Table 1)。

II 感受性調査
調査および検査方法

平成15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204名(0～73歳)について採血と予防接種歴の調査を行った。

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50μlを96穴マイクロプレート上で2倍階段希釈した。ポリオウイルス各型とも血清の1希釈につき2穴ずつを使用した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50μlとなるように調製した各型の弱毒セービンウイルス50μl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(1～2×10⁶細胞/ml)を100μl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8代継代したものである。

Table 1. Virus isolation from feces of children

Area	Age (Year)	No.of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates
			No.	(%)	
Kurobe	0	3	0	0	
	1	9	0	0	
	2	13	0	0	
	3	13	0	0	
	4	18	0	0	
	5	0	-	-	
	6	0	-	-	
	Subtotal	56	0	0	
Oyabe	0	10	0	0	
	1	0	-	-	
	2	0	-	-	
	3	0	-	-	
	4	0	-	-	
	5	0	-	-	
	6	0	-	-	
	Subtotal	10	0	0	
Total		66	0	0	

Date of Surbey : Kurobe; Jan.20～23, 2004. Oyabe; Sep.3～4, 2003.

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	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7	8	100.0	861.1
2~3	8	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5	8	100.0	789.6
4~6	14	0	0	0	0	0	0	1	1	3	9	14	100	689.1
7~9	14	0	0	0	0	1	1	1	6	1	4	14	100	297.0
10~14	14	0	0	0	0	0	1	2	5	2	4	14	100	344.6
15~19	30	2	1	0	2	1	0	5	7	3	9	28	93	249.7
20~24	13	0	0	1	1	1	3	2	0	1	4	13	100.0	142.4
25~29	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	100.0	4.0
30~39	25	3	2	2	3	5	5	1	2	1	1	22	88.0	42.5
40~49	23	1	0	1	0	2	7	3	5	3	1	22	95.7	124.0
50~59	26	1	0	1	1	2	9	6	3	1	2	25	96	99.7
60~	28	0	0	0	4	1	10	9	2	1	1	28	100.0	84.0
Total	204	7	4	5	11	13	36	30	32	19	47	197	96.6	167.2
(%)	100	3.4	2.0	2.5	5.4	6.4	17.6	14.7	15.7	9.3	23.0	96.6		

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	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	100	1024.0
2~3	8	0	0	0	0	0	0	1	1	2	4	8	100.0	558.3
4~6	14	0	0	0	0	0	1	3	5	3	2	14	100	282.6
7~9	14	0	0	0	0	1	5	3	2	3	0	14	100	134.5
10~14	14	0	0	0	0	2	2	5	4	1	0	14	100	128.0
15~19	30	0	0	0	1	4	6	11	4	3	1	30	100	116.7
20~24	13	0	0	1	0	2	3	2	3	2	0	13	100	103.4
25~29	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	100	64.0
30~39	25	0	0	1	1	2	4	7	8	1	1	25	100	121.1
40~49	23	0	1	1	3	4	3	3	2	2	4	23	100	91.9
50~59	26	0	2	1	0	6	4	5	4	2	2	26	100.0	83.6
60~	28	0	2	0	3	4	1	5	3	6	4	28	100.0	124.9
Total	204	0	5	4	8	25	30	45	36	25	26	204	100.0	136.5
(%)	100	0.0	2.5	2.0	3.9	12.3	14.7	22.1	17.6	12.3	12.7	100.0		

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	3	0	0	0	0	1	2	0	1	1	5	62.5	222.9
2~3	8	1	0	0	2	2	0	2	1	0	0	7	87.5	52.5
4~6	14	4	2	1	1	4	0	2	0	0	0	10	71.4	22.6
7~9	14	3	1	4	1	3	1	1	0	0	0	11	78.6	18.1
10~14	14	4	2	1	3	0	2	1	0	0	1	10	71.4	27.9
15~19	30	10	2	4	2	7	3	2	0	0	0	20	66.7	23.4
20~24	13	2	1	4	3	3	0	0	0	0	0	11	84.6	13.2
25~29	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	100.0	32.0
30~39	25	6	4	2	6	4	2	0	1	0	0	19	76.0	17.2
40~49	23	0	1	2	4	6	2	4	2	2	0	23	100	47.3
50~59	26	0	0	3	4	6	3	5	2	3	0	26	100.0	56.0
60~	28	1	1	1	6	7	10	1	0	0	1	27	96.4	37.3
Total	204	34	14	22	32	43	24	20	6	6	3	170	83.3	32.4
(%)	100	16.7	6.9	10.8	15.7	21.1	11.8	9.8	2.9	2.9	1.5	83.3		

Table 3. Positive rate of neutralizing antibodies by vaccination history

Type1											
Age group (years)	No. of sera	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	8	7/7	100.0	1/1	100						
2~3	8	8/8	100								
4~6	14	13/13	100							1/1	100
7~9	14	12/12	100			1/1	100			1/1	100
10~14	14	12/12	100	1/1	100					1/1	100
15~19	30	23/23	100			4/6	67	1/1	100		
20~24	13	4/4	100	2/2	100	4/4	100	1/1	100	2/2	100
25~29	1									1/1	100
30~39	25					6/8	75.0			16/17	94.1
40~49	23					13/13	100			9/10	90
50~59	26					5/5	100	6/6	100	14/15	93
60~	28					1/1	100	3/3	100	24/24	100
Total	204	79/79	100	4/4	100	34/38	89.5	11/11	100	69/72	95.8
				117/121	96.7%						

Type2											
Age group (years)	No. of sera	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	8	7/7	100.0	1/1	100						
2~3	8	8/8	100								
4~6	14	13/13	100							1/1	100
7~9	14	12/12	100			1/1	100			1/1	100
10~14	14	12/12	100	1/1	100					1/1	100
15~19	30	23/23	100			6/6	100	1/1	100		
20~24	13	4/4	100	2/2	100	4/4	100	1/1	100	2/2	100
25~29	1									1/1	100
30~39	25					8/8	100			17/17	100
40~49	23					13/13	100			10/10	100
50~59	26					5/5	100	6/6	100	15/15	100
60~	28					1/1	100	3/3	100	24/24	100
Total	204	79/79	100	4/4	100	38/38	100	11/11	100	72/72	100
				121/121	100%						

Type3											
Age group (years)	No. of sera	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	8	4/7	57.1	1/1	100.0						
2~3	8	7/8	87.5								
4~6	14	9/13	69.2							1/1	100
7~9	14	10/12	83.3			0/1	0			1/1	100.0
10~14	14	9/12	75.0	0/1	0					1/1	100.0
15~19	30	16/23	69.6			3/6	50.0	1/1	100.0		
20~24	13	3/4	75.0	2/2	100.0	4/4	100.0	1/1	100.0	1/2	50.0
25~29	1									1/1	100.0
30~39	25					7/8	87.5			12/17	70.6
40~49	23					13/13	100			10/10	100
50~59	26					5/5	100.0	6/6	100	15/15	100.0
60~	28					1/1	100	3/3	100	23/24	95.8
Total	204	58/79	73.4	3/4	75.0	33/38	86.8	11/11	100.0	65/72	90.3
				94/121	77.7%						

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

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 100% (204/204) で最も高く、次いで 1 型が 96.6% (197/204) を示し、3 型は最も低く 83.3% (170/204) であった。これらの結果は昨年度の調査結果 (1 型 92.7%, 2 型 98.0%, 3 型 72.9%) と比較し、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、全ての年齢区分で 80% 以上であった。2 型では、全ての年齢区分において 100% の保有率であった。一方、3 型は 0~1 歳が 62.5% で最も低く、次いで 15~19 歳が 66.7% であり、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 42.5 倍から 0~1 歳の 861.1 倍までを示し全年齢平均は 167.2 倍であった。2 型では 50~59 歳の 83.6 倍から 0~1 歳の 1024.0 倍までを示し平均抗体価は 136.5 倍であった。一方、3 型では 0~1 歳を除く年齢区分における平均抗体価は 14.3 倍から 56.0 倍までを示し、全年齢の平均抗体価は 32.4 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 96.7% (117/121), 100.0% (121/121) 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 77.7% (94/121) 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 [3] と同様であった。ポリオ生ワクチンは、1961 年 7 月から導入され、全国の乳幼児を対象に一斉に投与された。それ以前に生まれたおよそ 42 歳以上の人は定期接種によるワクチンを受けておらず、人間社会に存在した野生型ポリオウイルスに自然感染して免疫を得たと考えられる。

各個人レベルの型別抗体保有状況を年齢区別に検討した (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 81.4% (166/204) であり、保有率が比較的低い年齢としては 0~1 歳の 62.5% (5/8), 15~19 歳の 66.7% (20/30) であった。今回の調査では、抗体保有率が低いとされている昭和 50 年から 52 年生まれの検体が 1 名分あったが、すべての型の抗体を有していた。一方、全型抗体陰性者はおらず、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のは 38 名 (18.6%) で、このうち 2 回のワクチン接種が済んでいる人は 21 名であった。

本調査の結果、検査した血清の 18.6% 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 [4] 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。生ワクチン由来の毒性復帰株の根絶は重要な課題となっており、日本においても生ワクチンから不活化ワクチンへの移行

Table 4. Distribution of neutralizing antibodies against different types 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	0	0	3	0	0	5(62.5)
2~3	8	0	0	0	0	1	0	0	7(87.5)
4~6	14	0	0	0	0	4	0	0	10(71.4)
7~9	14	0	0	0	0	3	0	0	11(78.6)
10~14	14	0	0	0	0	4	0	0	10(71.4)
15~19	30	0	0	2	0	8	0	0	20(66.7)
20~24	13	0	0	0	0	2	0	0	11(84.6)
25~29	1	0	0	0	0	0	0	0	1(100)
30~39	25	0	0	1	0	5	2	0	17(68.0)
40~49	23	0	0	0	0	0	1	0	22(95.7)
50~59	26	0	0	0	0	0	1	0	25(96.2)
60~	28	0	0	0	0	1	0	0	27(96.4)
Total (%)	204 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	31 (15.2)	4 (2.0)	0 (0)	166 (81.4)

平成16年10月1日

が検討されている。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 [5]。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。

まとめ

感染源調査：平成16年1月、平成15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66名を対象に調査したが、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73歳までの204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96.6%、2型100%、3型83.3%であった。また、平均抗体価（幾何平均）は1型167.2倍、2型136.5倍、3型32.4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。しかし、いずれかの型の抗体を保有していない人が18.6%おり、ポリオウイルス常在地からのウイルス侵入警戒、海外渡航や育児従事にあたっての注意が必要である。

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, (2004), No.25, 79, 229-234.
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. 岩井雅恵, 中山喬他, 平成14年度富山県衛生研究所年報, (2003), 85-91.
4. 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.
5. Olen Kew, Victoria Morris-Glasgow, Mauricio Landaverde et al. (2002), Science, 296, 356-359

インフルエンザ流行予測調査

安藤秀二 松浦久美子 小原真弓 岩井雅恵
 長谷川澄代 永井美之 田中桂子¹ 飛田忠嗣²
 番留忠司³ 田中有易知⁴ 宮田英喜⁵

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in
Toyama Prefecture, 2003-2004

Shuji ANDO, Kumiko MATSUURA, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA,
 Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA¹, Tadatsugu TOBITA², Chuuji BANDOME³,
 Yuichi TANAKA⁴, Hideki MIYATA⁵

要旨 インフルエンザ流行期前の富山県住民の抗体保有状況（2003年6～9月）と豚の抗体保有状況（2003年7～9月）の調査、および流行期のインフルエンザ様患者からのウイルス分離を実施した。その結果、以下の成績を得た。

1. インフルエンザ流行期前における富山県住民204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/Shandong (山東)/7/97株 (Victoria 系統), そして参考株の B/Shanghai (上海)/44/2003株 (山形系統) に対して、各々51.0%, 73.0%, 33.8%, 35.8%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30.4%, 51.0%, 5.9%, 9.8%であり、B型に対する抗体保有率は依然低く、流行が危惧された。豚における A/HK213×A/PR8 (7:1) (H5N1) 株, A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) 株および A/mallard/Netherlands/12/00 (H7N3) 株に対する HI 抗体価10倍以上のものは認められなかった。
2. インフルエンザ患者は12月末から散発し、1月第2週より上昇、第5週をピークに4月中旬に終息した。その間の「集団かぜ」は、1月から3月に、休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が20施設でとられ、届け出累積患者数は525名であった。
3. 患者検体から A(H3) 型インフルエンザウイルス61株が1月から3月に、B型インフルエンザウイルス1株が4月上旬に採取した患者から分離された。分離ウイルス株について、ワクチン株に対する抗血清との反応性を調べた結果、ホモのワクチン株に対する HI 価より8倍以上 HI 価が低く、抗原性がワクチン株とずれていると考えられるものが今シーズンも存在した。

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状把握（感受性調査）およびウイルス検索（感染源調査）等を行い、その成績をワクチン開発を含めたインフルエンザ流行の予測と予防に資することを目的としている。厚生労働省健康局結核感染症課が主体となり、全国の地方衛生研究所、保健所、医療機関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期前のヒトのインフルエンザに対する免疫状況を把握し、新型インフルエンザの出現を迅速に把握するためにブタのインフルエンザウイルス抗体保有の検出を試みた。感染源調査は、インフルエンザ様患者から

ウイルスを分離することにより、流行株の性状把握とそれに基づく次シーズンのワクチン株の選定、新型インフルエンザ出現監視をも目的としている。

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

I 感受性調査

調査および検査方法

1. 調査期間

ヒトの感受性調査：2003年6～9月

ブタの感受性調査：2003年7～9月

2. 調査対象

ヒト血清は県内住民204名（0歳から73歳）から採取し、ブタ血清は富山県食肉総合センターに搬入された県内産豚（生後6ヶ月）80頭から採取した。

3. 検査方法

「感染症流行予測調査事業検査術式」（平成14年発行）に従い、インフルエンザ HI 抗体価を測定した。抗体価は血清希釈1:10から2倍階段希釈により測定し、血清希釈倍数のみで表記した（WHO方式）。抗原は、ヒトではワクチン株の A/New Caledonia/20/99（H1N1）株、A/Panama/2007/99（H3N2）株および B/Shandong（山東）/7/97株（Victoria系統）、そして参考株の B/Shanghai（上海）/44/2003株（山形系統）を用い、ブタでは A/HK213×A/PR8（7:1）（H5N1）株、A/Hong Kong/1073/99（H9N2）株および A/mallard/Netherlands/12/00（H7N3）株を用いた。ワクチン3株は、前シーズンと同じ株で、デンカ生研製、その他は国立感染症研究所より配布された。

結果および考察

1. ヒトのインフルエンザ感受性調査

年齢群別検体数は、0～4歳：21例、5～9歳：23例、10～14歳：14例、15～19歳：30例、20～29歳：14例、30～39歳：25例、40～49歳：23例、50～59歳：26例、60歳以上：28例、合計204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型インフルエンザウイルスに対する HI 抗体価を測定し、HI 抗体価が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：本株に対する HI 価10倍以上の抗体保有率は51.0%（104/204）、40倍以上は30.4%（62/204）であった。10倍以上の抗体保有率を年齢群別にみると、5～29歳の群では70.0～92.9%と高かったが、他の年齢群では21.7～40.0%であった。40倍以上では、5～14歳と20～29歳の群で50%以上の抗体保有率であ

た。A（H1N1）は昨シーズン流行していないにもかかわらず、前年度の本調査（10倍以上41.7%、40倍以上20.2%）より保有率が高いのは前流行期前のワクチン接種の影響が考えられる。

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った。この株に対する HI 価10倍以上の抗体保有率は72.5%（148/204）、40倍以上は51.0%（104/204）であった。10倍以上の抗体保有率を年齢群別にみると、0～4歳群を除くすべての年齢群で50%を越えていた（57.1～100%）。40倍以上の抗体保有率は、5～39歳の群で48～100%と高く、その他の年齢群でも23.8～35.7%の抗体保有率であった。H1N1と同様、前シーズンの抗体保有率（10倍以上59.1%、40倍以上22.3%）より高かった。ワクチン接種の普及とともに前シーズン流行株であったことが影響していると考えられる。

B/Shandong（山東）/7/97株（Victoria系統）に対する抗体保有率：B型インフルエンザウイルスには抗原性や遺伝学的に異なる2つの系統、Victoria系統と山形系統がある。前シーズンに検出されたB型株はVictoria系統の類似株がほとんどであったため、前シーズンと同じく本株がワクチン株となった。HI 価10倍以上の抗体保有率は33.8%（69/204）、40倍以上は5.9%（12/204）であった。年齢群別では、山東株に対する HI 価10倍以上の抗体保有率は5～39歳群で比較的高く（36.7～78.6%）、他の年齢群では低かった（14.3～21.7%）。40倍以上の抗体保有率は、最も高い20～29歳の群でも21.4%であり、全年齢群で低かった（0～21.4%）。

B/Shanghai（上海）/44/2003株（山形系統）に対する抗体保有率：本株は前シーズン流行株のなかでは少数であったが参考株として調査された。上海株に対する HI 価10倍以上の抗体保有率は34.3%（70/204）、40倍以上は9.8%（20/204）であり、山東株に対するものと同程度であった。年齢群別での HI 価10倍以上の抗体保有率は、10～39歳群では40.0～86.7%であったが、他の年齢群は7.7～30.4%であった。40倍以上の抗体保有率は、15～19歳の群で36.7%あったものの、その他の年齢群では0～21.4%であった。

B型に対する抗体保有率はA型に比較して低いものの、非流行株を含めたすべての株に対して前シーズンの感受性調査よりも抗体保有率が上昇していた。近年の積極的なワクチン接種の奨励と同じワクチンが2シーズン連続したことによるかもしれない。しかしながら、患者発生が見られたB型に比べて、前シーズンに全国でも1例しか検出されなかったA（H1）型に対する抗体保有率が高いことは、B型インフルエ

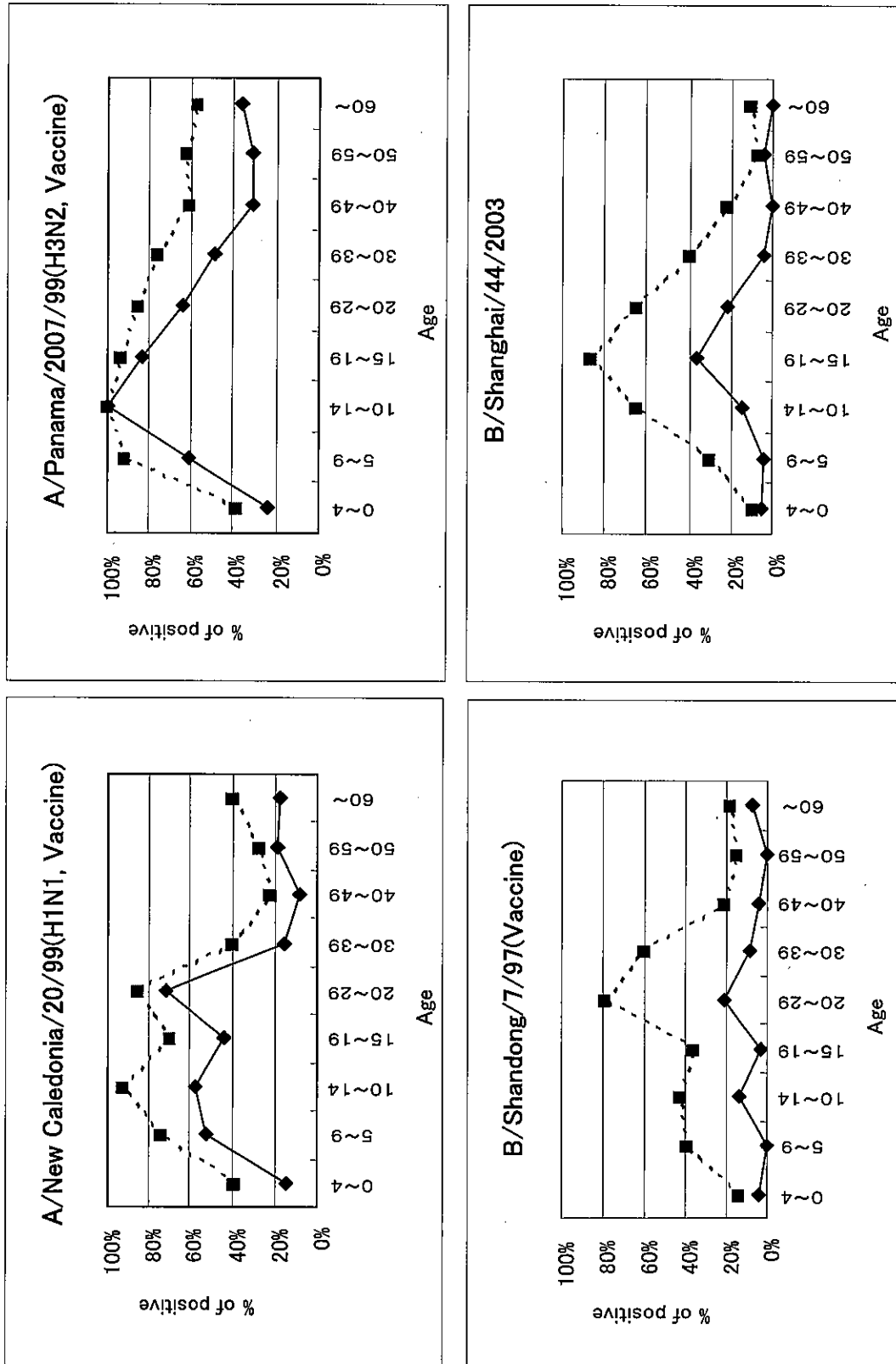


Fig. 1. Prevalence of anti-influenza virus antibody in age group (June ~September, 2003).

.....■..... HI titer: $\geq 1:10$ —◆— HI titer: $\geq 1:40$

ンザウイルスに対する免疫が得にくいか持続しにくい可能性がある。また、富山県住民のインフルエンザウイルスに対する40倍以上の抗体保有者は、Aソ連(H1)型とA香港(H3)型に対しては0～4歳群と高年齢層で少なく、B型に対しては全年齢層にわたって少なかった。これらの状況より、インフルエンザに対する抗体価が依然として低い住民が多く、次期シーズンも引き続き注意が必要と考えられる。

2. ブタ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監視する目的で、ブタにおける抗体保有状況を調査した。A/HK213×A/PR8(7:1)(H5N1)株、A/Hong Kong/1073/99(H9N2)株およびA/mallard/Netherlands/12/00(H7N3)株に対する10倍以上のHI抗体価を保有するものは見られず、ブタの中での新型ウイルスの流行は確認できなかった。しかしながら、対象となった豚は6ヶ月齢であり、短期間に弱齢の対象のみを検討した場合、新型ウイルスの出現を捕らえられない可能性が残る。

II 感染源調査

調査および検査方法

1. 調査期間

2003年12月～2004年4月

2. 調査対象

定点観測医療機関として、二本垣医院(黒部市)、池田内科医院(上市町)、小栗小児科医院(高岡市)、正木医院(福光町)、坂本小児科医院(富山市)の協力により、また、柳下小児科医院(砺波)と木村医院(富山市)より、インフルエンザ様患者からのウイルス検出・分離を行った。「集団かぜ」については4施設の患者について検討した。

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、一部鼻腔ぬぐい液を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配布された抗A/Moscow/13/98(H1N1)株血清、抗A/New Caledonia/20/99(H1N1)株血清、抗A/Panama/2007/99(H3N2)株血清、抗A/Kumamoto/102/02(H3N2)株血清、抗B/Shandong/07/99株血清、抗B/Johannesburg/5/99株血清を用いてHI検査によって行った。また一部RT-PCRを実施した。

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、2004年第2週(1月5日～1月11日)から上昇し始め、第5週(1月26日～2月1日)、定点医療機関当たりの患者数30.13でピークを迎えた。「集団かぜ」は1月19日の小学校での学級閉鎖に始まり、3月15日までに、休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が20施設でとられ、届け出累積患者数は525名であった。第21週(5月17日～23日)まで定点医療機関からの散発報告があったが、4月の中旬に今インフルエンザシーズン流行はほぼ終息した。

2. インフルエンザウイルスの検出状況

2004年1月から4月までに採取した定点観測の医療機関等の87症例93検体、「集団かぜ」4施設14症例14検体、合計107検体についてインフルエンザウイルスの検出を試みた。正木医院の症例のうち6例については咽頭ぬぐい液と同時に鼻腔ぬぐい液についても供試した。成績をTable 1に示す。

定点医療機関等からの今冬初のインフルエンザウイルスは、高岡管内で1月8日に採取された患者検体からA香港型(H3)ウイルスが分離された。その後もA(H3)型が分離され合計54株、B型は3月30日発症の砺波管内の患者から1株分離されたのみである。Aソ連型(H1)は昨シーズンに引き続き分離されなかった。

「集団かぜ」の14検体の分離結果は、A(H3)型7株分離された。今冬初の「集団かぜ」であったMa小学校の検体からは、細胞培養による分離はできず、RT-PCRによって5例ともA(H3)型インフルエンザウイルスが確認された。

分離株に対するインフルエンザ抗血清のHI価をTable 2, 3に示す。A(H3)分離株61株に対するA/Panama/2007/99(H3N2)株抗血清の抗体価は40倍から320倍(ホモ640倍)であり、ワクチン株であるPanama株に比較して8倍以上低いHI価を示した分離株が14株認められた。特に3月以降に採取・分離されたほとんどの株(A/Toyama/50/2004～)のHI価が8倍以上低く、同時期の流行株がワクチン株から大きく変異していることを示唆していた。A/Kumamoto/102/02株抗血清に対しては320倍から1280倍のHI価を示した(ホモ1280倍)。インフルエンザ流行期の終わりに1株のみ分離されたB/Toyama/1/2004は、ワクチン株B/Shandong/07/97株の抗血清には反応せず、今シーズンのワクチンには含まれなかった2シーズン前に流行した山形系統のワクチン

株 A/Johannesburg/5/99株抗血清が640倍の HI 価を示した (ホモ1280倍)。

富山県における2003/2004インフルエンザシーズンは、ウイルス検出状況からみて昨シーズンより規模が小さく、患者発生状況からも同様であった [1]。分離されたウイルスは、その大部分が A (H3) 型で、B 型は 1 株のみ分離された。全国の集計においても同様の傾向 (A (H3) 型が95%、B 型 5%) が見られた。A (H1) 型は全国でも3株しか分離されず、2 シーズン続けて流行は見られなかった [2, 3]。富山県で分離されたウイルスを抗血清との反応性で見た限り、全国状況と同様にワクチン株から大きく変異した A (H3) 型ウイルスが前シーズン以上に数多く出現し、

B 型はワクチン株の Victoria 系統ではなく、山形系統のものが流行した。

2003年12月中旬から日本を含むアジアの各地域 (カンボジア、中国、インドネシア、ラオス、韓国、タイ、ベトナム) で高病原性鳥インフルエンザ A (H5N1) が流行し、ベトナムやタイでは同ウイルスによるヒトの患者が発生、死亡者も報告されている [4]。1997年、香港での A (H5N1) 型による18名の患者 (死亡6名) 発生以来、全世界で高病原性鳥インフルエンザのヒトへの感染がたびたび報告されており、今シーズンのように、同時に広範囲において同じタイプの高病原性鳥インフルエンザが大規模に発生した場合、特にヒトの中で流行している株との遺伝子再

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

Health Center	Sampling station	No. of Patients	Detection of Virus			Type
			Date of Sampling	No. of Sample	No. of Isolates	
Niikawa	Nihongaki clinic	10	2004.1.16 ~2004.2.18	10	3	A(H3)
Chubu	Ikeda internal clinic	7	2004.1.8 ~2004.2.19	7	6	A(H3)
Takaoka	Oguri pediatric clinic	15	2004.1.8 ~2004.3.11	15	12	A(H3)
Tonami	Masaki clinic	33	2004.1.5 ~2004.5.6	39 ¹⁾	28(25 cases) ¹⁾ 1(1 case)	A(H3) B
Toyama	Sakamoto pediatric clinic	18	2004.1.13 ~2004.3.29	18	4	A(H3)
Takaoka	Ma primary school (Epidemic case)	5	2004.1.20	5	5 ²⁾	A(H3)
Tonami	Yo junior high school (Epidemic case)	5	2004.1.20~22	5	5	A(H3)
Toyama	Tb junior high school (Epidemic case)	2	2004.2.6~7	2	1	A(H3)
Toyama	Td primary school (Epidemic case)	2	2004.3.10~11	2	1	A(H3)
Tonami	Yanagishita pediatric clinic	3	2004.1.13	3	3	A(H3)
Toyama	Kimura clinic	1	2004.2.7	1	1	A(H3)
合計		101		107	69(66 cases) 1(1 case)	A(H3) B

1) Six cases had applied throat and Nasal swab samples for isolation.
Three cases were isolated with both type samples.

2) Detected by RT-PCR

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

Strain/Isolate	HI titer of			
	Anti- A/New Caledonia /20/99	Anti- A/Moscow/13/98	Anti- A/Panama/2007/99	Anti- A/Kumamoto/102/02
A/New Caledonia /20/99	320	-	-	-
A/Moscow/13/98	-	1280	-	-
A/Panama/2007/99	-	-	640	640
A/Kumamoto/102/02	-	-	320	1280
1 A/Toyama/1/2004	-	-	160	320
2 A/Toyama/2/2004	-	-	320	640
3 A/Toyama/3/2004	-	-	320	640
4 A/Toyama/4/2004	-	-	160	320
5 A/Toyama/5/2004	-	-	160	640
6 A/Toyama/6/2004	-	-	160	640
7 A/Toyama/7/2004	-	-	160	640
8 A/Toyama/8/2004	-	-	160	640
9 A/Toyama/9/2004	-	-	160	640
10 A/Toyama/10/2004	-	-	160	320
11 A/Toyama/11/2004	-	-	160	320
12 A/Toyama/12/2004	-	-	160	640
13 A/Toyama/13/2004	-	-	160	640
14 A/Toyama/14/2004	-	-	160	640
15 A/Toyama/15/2004	-	-	160	640
16 A/Toyama/16/2004	-	-	320	640
17 A/Toyama/17/2004	-	-	320	640
18 A/Toyama/18/2004	-	-	320	640
19 A/Toyama/19/2004	-	-	160	640
20 A/Toyama/20/2004	-	-	320	1280
21 A/Toyama/21/2004	-	-	320	640
22 A/Toyama/22/2004	-	-	320	640
23 A/Toyama/23/2004	-	-	320	640
24 A/Toyama/24/2004	-	-	320	640
25 A/Toyama/25/2004	-	-	160	640
26 A/Toyama/26/2004	-	-	160	640
27 A/Toyama/27/2004	-	-	320	1280
28 A/Toyama/28/2004	-	-	160	640
29 A/Toyama/29/2004	-	-	160	640
30 A/Toyama/30/2004	-	-	320	1280
31 A/Toyama/31/2004	-	-	80	320
32 A/Toyama/32/2004	-	-	80	320
33 A/Toyama/33/2004	-	-	80	640
34 A/Toyama/34/2004	-	-	80	640
35 A/Toyama/35/2004	-	-	320	640
36 A/Toyama/36/2004	-	-	320	640
37 A/Toyama/37/2004	-	-	160	640
38 A/Toyama/38/2004	-	-	160	640
39 A/Toyama/39/2004	-	-	160	640
40 A/Toyama/40/2004	-	-	320	640
41 A/Toyama/41/2004	-	-	160	640
42 A/Toyama/42/2004	-	-	160	640
43 A/Toyama/43/2004	-	-	160	320
44 A/Toyama/44/2004	-	-	160	640
45 A/Toyama/45/2004	-	-	160	320
46 A/Toyama/46/2004	-	-	160	320
47 A/Toyama/47/2004	-	-	160	640
48 A/Toyama/48/2004	-	-	80	320
49 A/Toyama/49/2004*	-	-	80	320
50 A/Toyama/50/2004*	-	-	160	640
51 A/Toyama/51/2004*	-	-	80	320
52 A/Toyama/52/2004*	-	-	40	320
53 A/Toyama/53/2004	-	-	80	640
54 A/Toyama/54/2004	-	-	40	640
55 A/Toyama/55/2004	-	-	160	640
56 A/Toyama/56/2004	-	-	160	640
57 A/Toyama/57/2004	-	-	80	320
58 A/Toyama/58/2004	-	-	80	640
59 A/Toyama/59/2004	-	-	80	640
60 A/Toyama/60/2004	-	-	80	640
61 A/Toyama/61/2004	-	-	160	640

*: Isolate derived from nasal swabs.

-: HI titer <1:10

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

Strain/Isolate	HI titer of	
	Anti-B/Shandong/07/99	Anti-B/Johannesburg/5/99
B/Shandong/07/99	20	-
B/Johannesburg/5/99	-	1280
1 B/Toyama/1/2004	-	640

-: HI titer <1:10

集合により、より急速にヒトに感染拡大する新型ウイルスの出現がいつそう危惧される。これまでのところ、高病原性鳥インフルエンザのヒトからヒトへの感染は確認されていないが、新型インフルエンザウイルスの出現に備えるためにも、本調査によるウイルス検出と変異の解析が今後いつそう重要となってくる。しかしながら、近年流行している A (H3) 型、B 型ウイルスにも多数の変異が見つかっており、インフルエンザ流行予測はより複雑となっている。2002/2003 インフルエンザシーズンには SARS が重なり、世界中を混乱に陥らせたことは多くの医療関係者に教訓を与えた。より正確な情報の収集・解析・評価・還元のため、流行するインフルエンザウイルスの的確な解析体制を維持することは、公衆衛生組織の役割としていつそう必要となってくる。

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた二本垣医院、池田内科医院、小栗小児科医院、正木

医院、および坂本小児科医院に深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 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, 田中桂子, 飛田忠嗣, 遠藤京子, 田中有易知, 宮田英喜 (2003). 富山県衛生研究所年報, 26, 92-99.
2. 国立感染症研究所感染症情報センター (2004). 病原微生物検出情報 (No. 292), 25, 165-166.
3. 国立感染症研究所感染症情報センター (2004). IASR, <http://idsc.nih.gov.jp/iasr/index-j.html>
4. WHO (2004). Weekly epidemiological record, 79, 65-70

富山県において1981年から2003年の期間に手足口病患者から分離された コクサッキーウイルスA16型及びエンテロウイルス71型のVP1領域の遺伝子解析

岩井雅恵 松浦久美子 棚辺今日子
安藤秀二 永井美之

Nucleotide Sequence Analysis for the VP1 of Coxsackievirus A16 and Enterovirus 71 Strains Isolated
from Patients with Hand Foot and Mouth Disease
in Toyama Prefecture during 1981-2003

Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Kyoko TANABE,
Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI

要旨 1981年から2003年までに富山県内の手足口病の患者から分離したコクサッキーウイルス A16型 (CA16) およびエンテロウイルス71型 (EV71) について VP1 領域の塩基配列を解析し、定法である型特異性中和試験で同定できなかった株 (難中和性株) と標準株との遺伝的関係を解析した。また、難中和性株と中和可能株との比較も試みた。その結果、

- 1) 難中和性株32株のうち28株がCA16に4株がEV71に分類された。CA16のグループでは、分離株間のホモロジーは、塩基配列でおよそ90~100%、標準株であるG-10とはおよそ75~80%であった。アミノ酸配列では分離株間で97~100%、G-10とは93~96%であった。EV71のグループでは、塩基配列で81%~100%、標準株であるBrCr株とは83~86%であった。アミノ酸配列では分離株間で98.0~100%、BrCrとは97~98%であった。
- 2) CA16, EV71それぞれのグループについて、中和可能株と難中和性株との間で、それぞれの標準株とのVP1領域における相同性 (%) に差は見られなかった。

手足口病は、手足や口腔粘膜にあらわれる水疱、発疹を特徴とする小児の疾患であり、日本では毎年夏季を中心として流行する。原因となるウイルスは、主にCA16, EV71, コクサッキーウイルスA10型 (CA10) であり、流行する血清型および流行の程度は地域や年ごとに異なる。手足口病は、無菌性髄膜炎等の症状を伴うことがあるが、一般に予後は良好である。しかし、EV71型による手足口病流行時には、中枢神経合併症の発生頻度が高いとされ、1997年のマレーシアや1998年の台湾における大規模な手足口病流行時に、重篤な中枢神経合併症を伴う重症例が多発したことが報告されている [1, 2]。国内においても、死亡例を含む重症例が各地で発生している [3, 4]。

富山県では、1981年からスタートした感染症発生動向調査において、毎年、手足口病の患者発生が報告されており (Fig.1)、定点医療機関の手足口病患者からの病原体検索を実施している。原因ウイルスの血清型を特定するには、病巣から組織培養法によるウイルスの分離と、型特異的抗血清を用いた中和試験によ

る同定を行うが、近年、標準株に対する中和用抗血清によって型同定ができないウイルスが分離されている。エンテロウイルスは伝播の過程で次第に抗原性が変化することが知られており、これらを型別するためには、難中和性株に対する抗血清を作製し、標準株に対する交差中和活性を確認する。しかし、この方法は手間と時間がかかるため、分子生物学的手法を用いて、ウイルスのVP1領域やVP4領域遺伝子の比較によって同定する方法が利用されてきている [5, 6, 7, 8, 9]。富山県においても1998年頃から難中和性株が分離され始め、とくに2002年の夏から2003年にかけて分離した株はすべて難中和性であった。これらの株について、capsid protein (VP1) 領域の遺伝子解析を行い、同定することを試みた。VP1領域は、ウイルスの抗原決定基に関わる部分を含んでおり、血清型を反映する一方、変異が著しいと指摘されている [6, 7, 9, 10]。そこで、1981年以来富山県において分離し、中和試験によって同定できた株と難中和性株についてVP1領域の遺伝子解析による比較も試みたので、報

告する。

材料と方法

1. ウイルス

ウイルスは、1981年から2003年までに、富山県内の医療機関に受診した手足口病患者（無菌性髄膜炎を

併発した患者も含む）から採取された検査材料（咽頭拭い液、便、水疱内容物等）から Vero, MA-104, LLC-MK₂ 細胞を用いて分離した。分離ウイルスの中和法による同定は、抗エンテロウイルスプール血清（エンテロウイルス NT 試薬、デンカ生研）、抗 CA10, CA16(G-10), EV71(BrCr), EV71(C7) 株抗血清（国立感染症研究所分与）を用いた。

Table 1 に1981年から検出されたウイルスの種類を

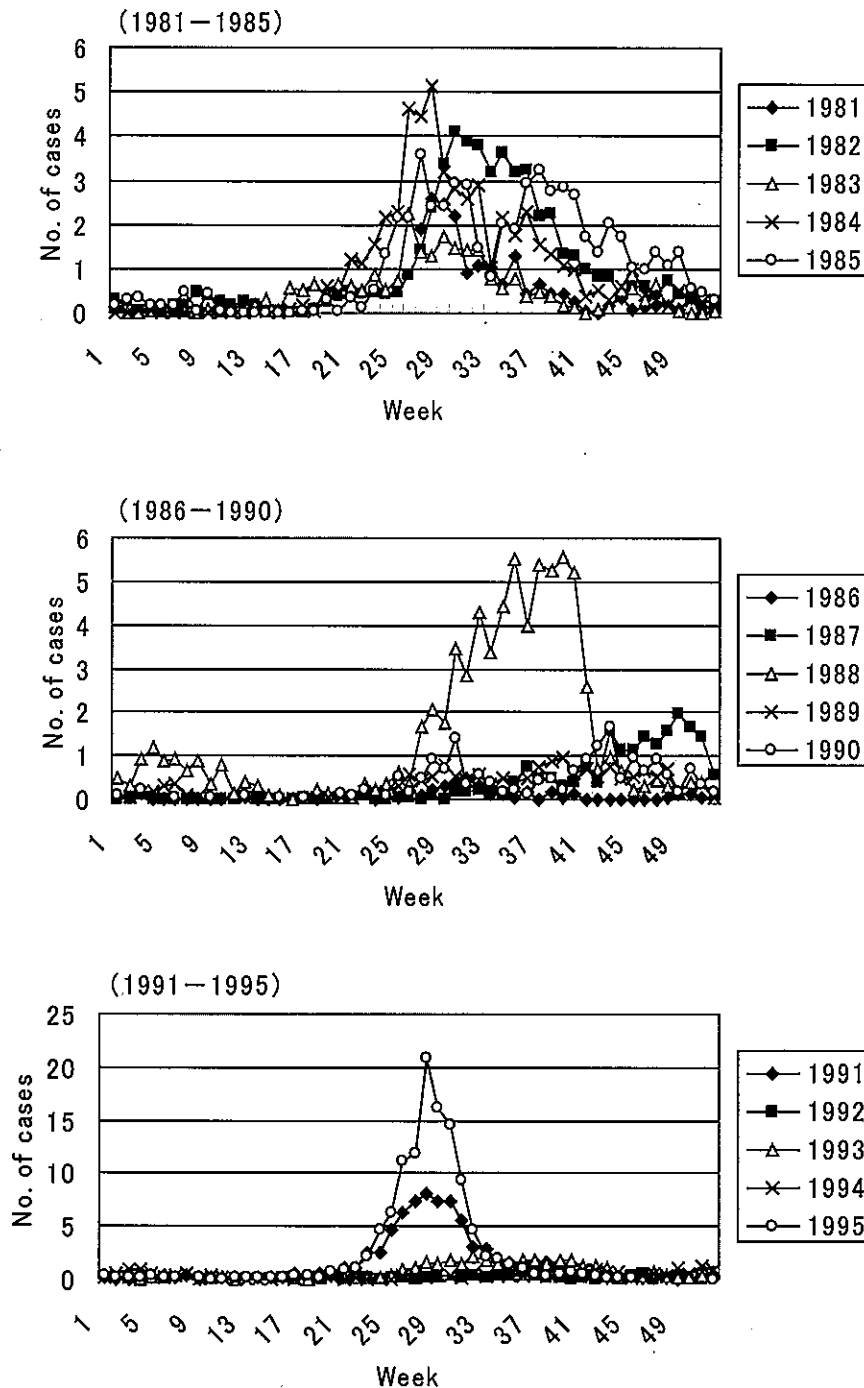


Fig.1. Weekly reported cases of hand foot and mouth disease per reporting clinic in Toyama Prefecture, 1981-2003.

示す。これらの分離株から43株について、遺伝子解析を実施した (Table 2)。Table 2 の分離株43株中、抗血清で同定が困難な株は、1998年の分離株 SW-927/Toyama/1998 および2002年夏以降のすべての分離株、計32株である。1998年および2002年の難中和性株のうち、抗血清との反応後、増殖の違いからコクサッキーウイルス A16型と推定されたものもあったが、完全には中和されなかった。

2. 遺伝子解析

遺伝子解析方法は、厚生労働省科学研究分担研究班「手足口病の病原体を中心としたエンテロウイルスの同定支援」による方法に準じた。分離ウイルス培養液 140 μ l から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてウイルス RNA を抽出した。RT-PCR 反応は、抽出 RNA 2 μ l と Oberste ら [8] のプライマー-189, 222 (Table 3) (10pmol/ μ l) を各 1 μ l に DDW を合わせて 50 μ l となるようにし、Ready To Go RT-PCR Beads (Amersham

Biosciences) を用いて行い、VP1 領域の337塩基を増幅した。

PCR 産物は 3%アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色をして UV 下で確認した。目的のサイズにバンドを確認し、PCR 産物を直接 MinElute PCR Purification Kit (QIAGEN) で精製するか、1.5%Seakem GTG Agarose にて再泳動後バンドを切り出し、エタノール沈殿、または QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) にて精製した。精製した PCR 産物は、Big Dye Terminator v1 (または v1.1) Cycle Sequencing Kit (ABI) によるシーケンス反応後、Centri-Sep スピンカラム (ABI) で精製してオートシーケンサー ABI PRISM310 (ABI) により塩基配列を決定した。

得られた塩基配列は解析ソフト GeneWorks (v2.3.1) にてアライメントを行なった。増幅領域のうち、プライマー部分を除く 298塩基を用い、Table 4 に示した CA16および EV71 参考株の VP1 領域の塩基配列と共に、MEGA2.1を使った近隣結合法 (N-J法) によ

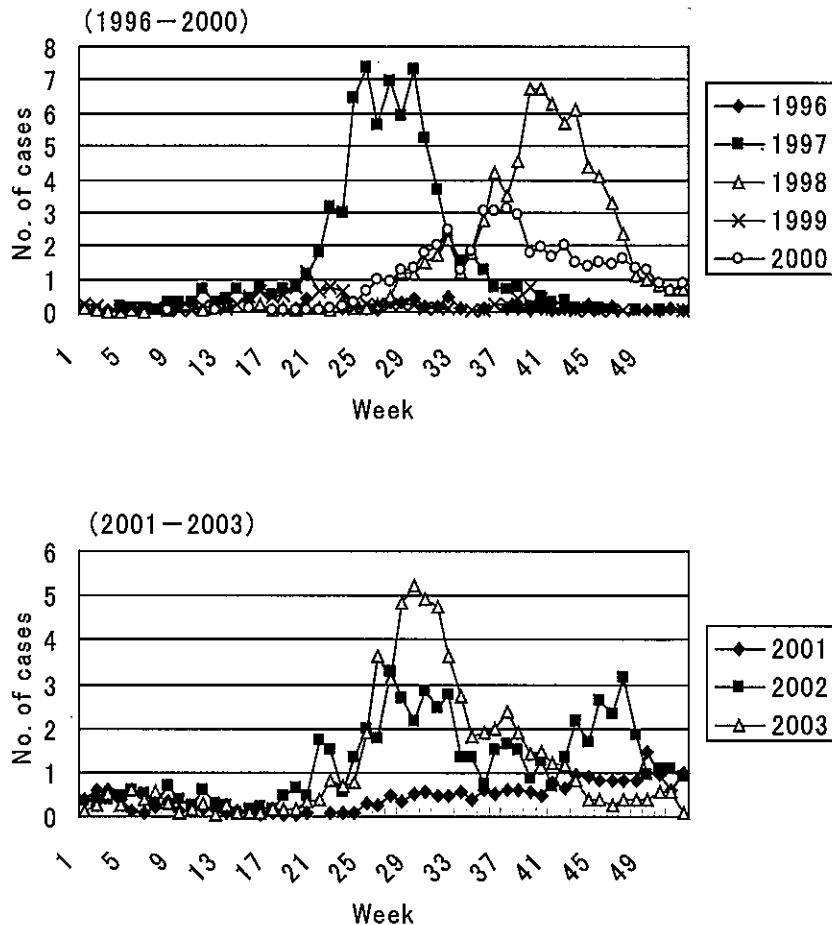


Fig.1-continued

り分子系統樹を作成した。系統解析の確かさは1000回繰り返しのブートストラップ法により確認した。また、分離株同士の相同性を比較した。

結果および考察

分離株（43株）と標準株（11株）について、得られた塩基配列の系統樹を Fig.2 に、アミノ酸配列系統樹を Fig.3 に示す。従来の標準株に対する抗血清による中和法で同定困難であった分離株32株は、28株がCA16、4株がEV71のグループに属していた。

塩基配列およびアミノ酸配列系統樹ともに、分離株は、分離時期や地域の違いによってグループが分かれた。特に2002年に分離された株は、CA16グループの中でもさらに2つのサブグループに分かれた。251-FC/Toyama/2002が含まれるグループと261-FC/Toyama/2002が含まれるグループである。これら2つのサブグループの株が分離された検体について比較すると、検体採取地域や臨床症状、年齢に差はないが、検体採取時期が前者は6月～7月上旬、後者は7月下旬と異なっていた。

これらの分離株の中から CA16 グループの

251-FC/Toyama/2002,261-FC/Toyama/2002,290-NP/Toyama/2003およびEV71グループの271-FC/Toyama/2003について、中和法で同定できた1981年からの富山県分離株と GenBank に登録された参考株等と共に、その配列の相同性を比較した。CA16に分類された株についての相同性を Table 5, EV71に分類された株についての相同性をTable 6 に示した。

CA16のグループでは、分離株間のホモロジーは、塩基配列でおよそ90～100%、標準株である G-10とはおよそ75～80%であった。アミノ酸配列では分離株間で97～100%、G-10とは93～96%であった。G-10は1951年に南アフリカで手足口病の患者から検出された株である [11]。

EV71のグループでは、分離株間のホモロジーは、塩基配列で81%～100%、標準株である BrCr 株とは83～86%であった。アミノ酸配列では分離株間で98.0～100%、BrCr とは97～98%であった。BrCr は1970年にアメリカ合衆国で検出された株である。

CA16, EV71それぞれのグループについて、中和可能な株と難中和性株を比較したが、それぞれの標準株との VP1 領域の相同性に差は見られなかった。しかし、分離株と標準株の相同性は、分離株間の相同性よりも低かった。

Table. 1 Virus detection from patients with hand foot and mouth disease in Toyama Prefecture, 1981-2003.

	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
CA16	+			+	+		+	+		+
	(Aug.)			(Jun.,Sep.)	(Aug.,Sep.)		(Dec.)	(Jan.,Jun.,Jul.)		(Jul.)
EV71		+	+	+		+	+		+	
		(Jul.)	(Feb.,Jul.,Aug.,Nov.)	(Jul.)		(Aug.,Sep.)	(Aug.,Sep.)		(Aug.,Sep.,Oct.)	
CA10				+(Sep.)						
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
CA16	+				+			**		+
	(Jun.,Jul.)				(May,Jun.,Aug.)			(Jul.)		(Jul.,Sep.)
EV71	+		+	+			+			
	(Jun.,Jul.)		(Jul.,Aug.)	(Aug.,Sep.)			(Jun.,Jul.,Aug.)			
CA10		+(Sep.)								
CA9										+(Sep.)
Echo7			+(Jul.)							
	2001	2002	2003							
CA16	+	**	**							
	(Dec.)	(Jun.,Jul.,Aug.,Nov.)	(Jul.)							
EV71			**							
			(May,Jun.)							

*, untyped by neutralizing test, but typed by comparison of VP1 sequences for reference strains.

Obersteらは、血清型のわからないエンテロウイルス株は、VP1領域の塩基配列で75%、アミノ酸配列で88%以上の一致で分離株の型別が可能であると報告している [7]。我々が解析した領域はその領域よりも短いため、単純には比較はできないが、富山県において分離された難中和性株32株の配列を標準株と比較した結果、28株がCA16、4株がEV71とみなされた。

手足口病は毎年患者が発生し、特にEV71による流行時は中枢神経系の合併症が起こる頻度が高くなる可能性があり、注意が必要である。ゆえに、流行状況や、原因となるウイルスを把握することは重要である。同定方法の検討も含め、今後も引き続きCA16やEV71について解析を行なう予定である。

Table. 2 Clinical isolates used for phylogenetic analysis

Isorates(strain)	Serotype ^a	Sample origin	Date of sampling	Pathology ^b	age	sex	Area
S-24/Toyama/1981	CA16	Throat	1981/8/22	HFMD	4	m	Tonami
S-204/Toyama/1983	EV71	Throat	1983/7/27	HFMD	unkown	m	Tonami
S-379/Toyama/1984	CA16	Vesicle	1984/9/11	HFMD	unkown	m	Tonami
SZ-576/Toyama/1988	CA16	Stool	1988/7/30	HFMD	1	f	Tonami
SZ-937/Toyama/1989	EV71	Stool	1989/10/16	HFMD	3	m	Tonami
SY-107/Toyama/1990	CA16	Vesicle	1990/7/18	HFMD	3	f	Tonami
SW-278/Toyama/1994	EV71	Throat	1994/9/26	HFMD	1	f	Tonami
SW-763/Toyama/1997	EV71	Stool	1997/7/10	HFMD, Aseptic meningitis	unkown	f	Takaoka
SW-927/Toyama/1998	not typed(CA16?)	Stool	1998/6/4	HFMD	4	f	Tonami
188-NP/Toyama/2000	CA16	Throat	2000/7/3	HFMD	3	f	Tonami
223-SK/Toyama/2000	CA16	Vesicle	2000/9/20	HFMD	7	f	Tonami
124-FC/Toyama/2002	CA16	Stool	2001/12/7	HFMD	7	m	Tonami
227-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/6/5	HFMD	3	f	Tonami
228-NP/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Throat	2002/6/10	HFMD	3	f	Tonami
246-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/6/12	HFMD	1	f	Tonami
247-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/6/13	HFMD	1	m	Tonami
248-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/6/13	HFMD	3	m	Tonami
249-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/6/17	HFMD	3	m	Tonami
250-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/6/27	HFMD	4	f	Tonami
251-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/1	HFMD	4	f	Tonami
252-NP/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Throat	2002/7/1	HFMD	4	f	Tonami
253-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/1	HFMD	3	f	Tonami
254-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/12	HFMD	2	f	Tonami
255-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/15	HFMD	1	f	Tonami
256-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/15	HFMD	1	f	Tonami
258-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/16	HFMD	1	m	Tonami
259-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/22	HFMD	1	f	Tonami
260-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/23	HFMD	1	m	Tonami
261-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/23	HFMD	3	m	Tonami
262-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/26	HFMD	4	m	Tonami
263-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/27	HFMD	2	m	Tonami
264-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/29	HFMD	6	m	Tonami
265-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/31	HFMD	2	f	Tonami
266-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/7/31	HFMD	4	f	Tonami
283-NP/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Throat	2002/8/27	HFMD	2	m	Takaoka
295-FC/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Stool	2002/11/18	HFMD	1	f	Niikawa
298-NP/Toyama/2002	not typed(CA16?)	Throat	2002/11/19	HFMD	1	f	Niikawa
120-NP/Toyama/2003	not typed(CA16?)	Throat	2003/2/3	HFMD	2	m	Takaoka
270-FC/Toyama/2003	not typed	Stool	2003/5/13	HFMD	5	f	Tonami
271-FC/Toyama/2003	not typed	Stool	2003/5/24	HFMD	1	f	Tonami
287-NP/Toyama/2003	not typed	Throat	2003/6/23	HFMD	5	f	Tonami
288-NP/Toyama/2003	not typed	Throat	2003/6/24	HFMD	3	f	Tonami
290-NP/Toyama/2003	not typed	Throat	2003/7/16	HFMD	4	m	Tonami

^a Not typed, untyped by neutralizing test.^b HFMD, Hand foot and mouth disease.

Table. 3 Primers used for PCR amplification of the VP1 region of enteroviruses

Primer	Sequence(5'→3')	Gene	Position*
189	CARGCIGCIGARACIGGNGC	VP1	2612-2631
222	CICCGGGGGIAYRWACAT	VP1	2969-2951

*Nucleotide sequence coordinates are given relative to the poliovirus1-Mahoney.

Table. 4 Reference strains VP1 sequences used in sequence comparisons and phylogenetic analyses

Serotype	Strain	Genotype	Year of isolation	Place	Pathology	GenBank accession no.	Reference
CA16	G-10		1951	South Africa	HFMD	U05876	[11]
CA16	10301/Aichi/01		2001	Aichi	not available		
CA16	10103/Aichi/01		2001	Aichi	not available		
CA16	10280/Aichi/01		2001	Aichi	not available		
EV71	BrCr	A	1970	USA	Encephalitis	U22521	[12]
EV71	0756/MAA/97	C1	1997	Peninsular Malaysia	not available	AF135935	[13]
EV71	NCKU9822	C2	1998	Taiwan	Encephalitis fatality	AF136379	[14]
EV71	2258/CA/79	B1	1979	USA	Tremors	AF135880	[13]
EV71	7423/MS/87	B2	1987	USA	Paralysis	U22522	[12]
EV71	4/AUS/99	B3	1999	Western Australia	Guillain-Barre syndrome	AF376105	[15]
EV71	18/SIN/97	B4	1997	Singapore	Paralysis	AF251359	[16]

文 献

- Komatsu H, Shimizu Y, Takeuchi Y, et al. *Pediatr Neurol* (1999), 20:17-23.
- Lum LCS, Wong KT, Lam SK, et al. *J Pediatr* (1998), 133, 795-798.
- 病原微生物検出情報月報 (2001), Vol.22, No.6, 144
- 病原微生物検出情報月報 (1998), Vol.19, No.3, 55
- Caro V, Guillot S, Delpeyroux F, et al. *J Gen Virol* (2001), 82, 79-91.
- Ishiko H, Dhimada Y, Yonaha M, et al. *JID* (2002), 185, 744-754.
- Oberste M.S, Maher K., Kilpartrick D.R., et al. *J Clin. Microbiol.* (1999), 37, 1288-1293.
- Oberste M.S. Maher K, Flemister M.R, et al. *J Clin. Microbiol.* (2000), 38, 1170-1174.
- Oberste M.S, Maher K., Kilpartrick D.R., et al. *J Virology.* (1999), 73, 1941-1948.
- Knipe D.M., Howley P.M., Fields *VIROLOGY* Forth edition (2001), 726.
- Poyry T, T.Hyypia, C.Horsnell, et al. *Virology* (1994), 202, 982-987.
- Brown, B.A., Pallansch, M.A. *Virus Res.* (1995), 39 (2-3), 195-205.
- Brown, B.A., Oberste, M.S., Alexander, J.P. Jr, et al. *J Virol.* (1999), 73 (12), 9969-9975.
- Yan, J.J., Wang, J.R., Liu, C.C., et al. *J. Clin. Virol.* (2000), 17 (1), 13-22.
- McMinn, P., Lindsay, K., Perera, D., et al. *J. Virol.* (2001), 75 (16), 7732-7738.
- Singh, S., Chow, V.T., Chan, K.P., et al. *J. Virol. Methods* (2000), 88 (2), 193-204.

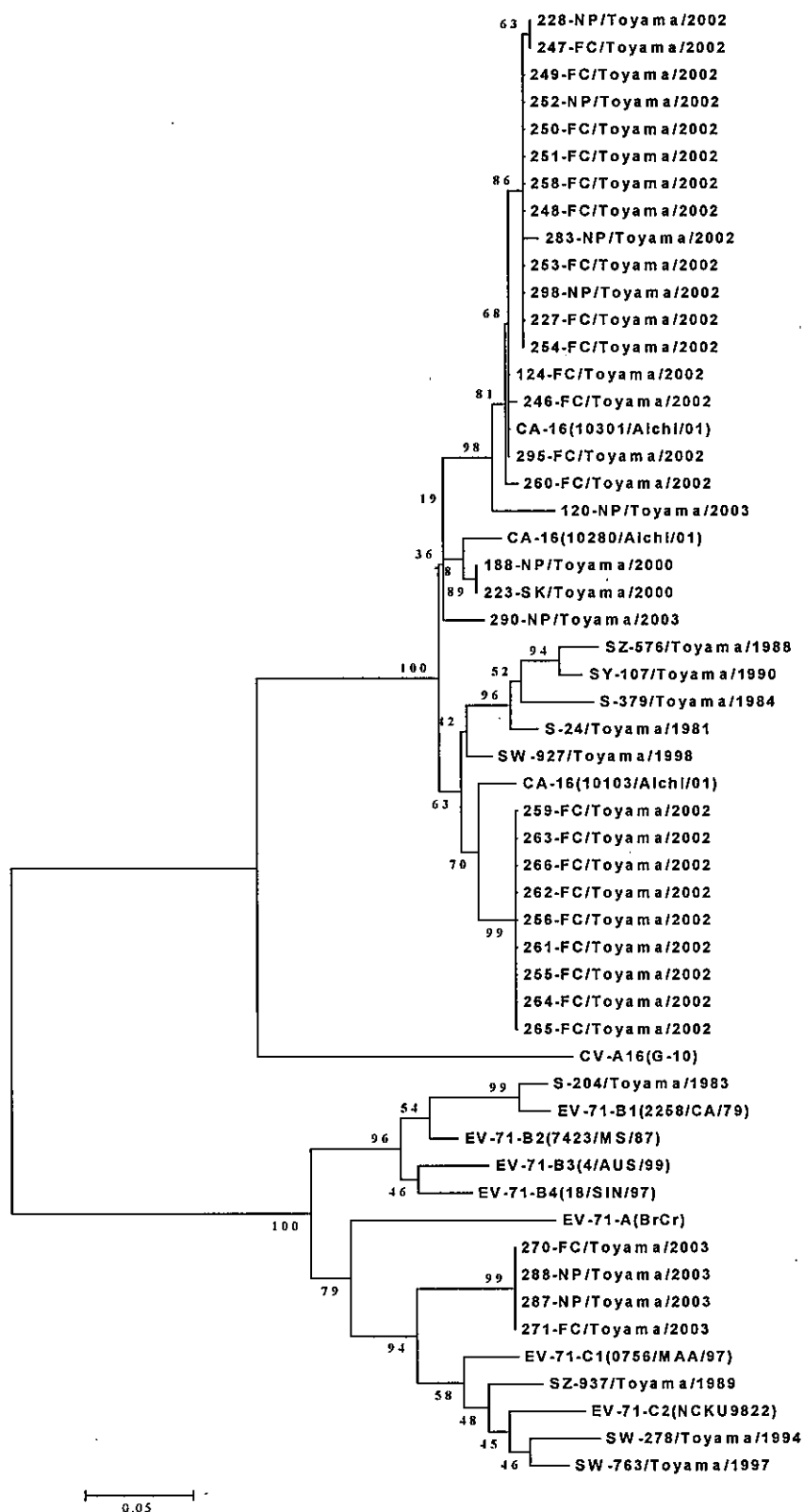


Fig. 2. Phylogenetic tree showing genetic relationships among 54 field isolates based on alignment of the VP1 gene sequence.

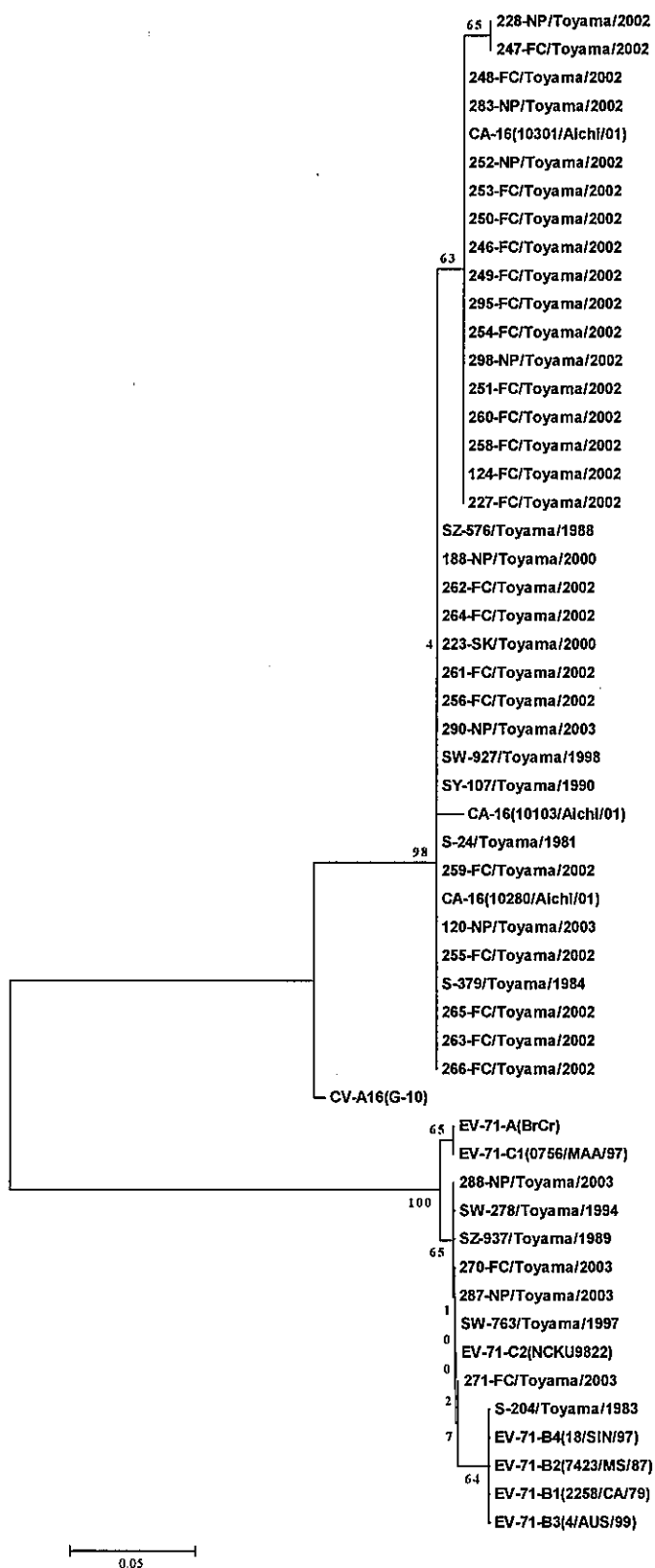


Fig. 3. Phylogenetic tree showing genetic relationships among 54 isolates based on alignment of the VP1 amino acids sequence.

Table 5. Comparisons of RNA and amino acids in the VP1 region among Coxsackievirus A16 isolates.

Sequence identity (%)	Nucleotide (298nt)											
	261-FCV/Toyama/2002 (10301/Aich/01)	188-HP/Toyama/2002 (10301/Aich/01)	SZ-576/Toyama/1988 (10301/Aich/01)	SY-107/Toyama/1988 (10301/Aich/01)	S-379/Toyama/1984 (10301/Aich/01)	S-24/Toyama/1981 (10301/Aich/01)	SW-927/Toyama/1988 (10301/Aich/01)	CA-16 (10280/Aich/01)	290-HP/Toyama/2002 (10103/Aich/01)	CA-16 (10103/Aich/01)	261-FCV/Toyama/2002 (10103/Aich/01)	CA16 (G-10)
261-FCV/Toyama/2002	296/298 (99.3%)	283/298 (95.0%)	266/298 (89.3%)	268/298 (89.9%)	268/298 (89.9%)	274/298 (91.9%)	280/298 (94.0%)	279/298 (93.6%)	281/298 (94.3%)	277/298 (93.0%)	277/298 (93.0%)	229/298 (76.8%)
CA-16 (10301/Aich/01)	99/99 (100%)	285/298 (95.6%)	268/298 (89.9%)	270/298 (90.6%)	268/298 (89.9%)	274/298 (91.9%)	281/298 (94.3%)	281/298 (94.3%)	283/298 (95.0%)	279/298 (93.6%)	279/298 (93.6%)	231/298 (77.5%)
188-HP/Toyama/2002	98/99 (99.0%)	273/298 (91.6%)	273/298 (91.6%)	275/298 (92.3%)	273/298 (91.6%)	279/298 (93.6%)	286/298 (96.0%)	290/298 (97.3%)	288/298 (96.6%)	282/298 (94.6%)	282/298 (94.6%)	237/298 (79.5%)
SZ-576/Toyama/1988	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	290/298 (97.3%)	280/298 (94.0%)	282/298 (94.6%)	277/298 (93.0%)	273/298 (91.6%)	267/298 (89.6%)	273/298 (91.6%)	273/298 (91.6%)	234/298 (78.5%)
SY-107/Toyama/1988	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	280/298 (94.0%)	282/298 (94.6%)	279/298 (93.6%)	275/298 (92.3%)	269/298 (90.3%)	275/298 (92.3%)	275/298 (92.3%)	235/298 (78.9%)
S-379/Toyama/1984	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	286/298 (96.0%)	277/298 (93.0%)	271/298 (90.9%)	267/298 (89.6%)	273/298 (91.6%)	273/298 (91.6%)	228/298 (76.5%)
S-24/Toyama/1981	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	283/298 (95.0%)	277/298 (93.0%)	273/298 (91.6%)	279/298 (93.6%)	281/298 (94.3%)	232/298 (77.9%)
SW-927/Toyama/1988	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	282/298 (94.6%)	285/298 (95.6%)	286/298 (96.0%)	286/298 (96.0%)	234/298 (78.5%)
CA-16 (10280/Aich/01)	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	98/99 (99.0%)	282/298 (94.6%)	278/298 (93.3%)	280/298 (94.0%)	236/298 (79.2%)
290-HP/Toyama/2002	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	282/298 (94.6%)	281/298 (94.3%)	236/298 (79.2%)
CA-16 (10103/Aich/01)	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	288/298 (96.6%)	235/298 (78.9%)
261-FCV/Toyama/2002	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	232/298 (77.9%)
CV-A16(G-10)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	94/99 (94.9%)	95/99 (96.0%)

Amino acid (99aa)

Table 6. Comparisons of RNA and amino acids in VP1 region among Enterovirus 71 isolates.

Sequence identity (%)	Nucleotide (298nt)											
	S-204/Toyoima/1983	EV-71-B1 (2258/CA/79)	EV-71-B2 (7423/MS/87)	EV-71-B3 (4/AUS/99)	EV-71-B4 (18/SIN/97)	EV-71-A (BrCr)	EV-71-C2 (NCKU9822)	EV-71-C1 (0756/MAA/97)	271-507/Toyoima/2003	SZ-207/Toyoima/1988	SH-238/Toyoima/1994	SH-182/Toyoima/1987
S-204/Toyoima/1983	289/298 (97.0%)	275/298 (92.3%)	269/298 (90.3%)	271/298 (90.9%)	253/298 (85.9%)	251/298 (84.2%)	240/298 (80.5%)	254/298 (85.2%)	246/298 (82.6%)	246/298 (82.6%)	254/298 (85.2%)	250/298 (83.9%)
EV-71-B1 (2258/CA/79)	98/99 (99.0%)	282/298 (94.6%)	274/298 (91.9%)	274/298 (91.9%)	246/298 (82.6%)	248/298 (83.2%)	240/298 (80.5%)	253/298 (84.9%)	242/298 (81.2%)	249/298 (83.6%)	249/298 (83.6%)	246/298 (82.6%)
EV-71-B2 (7423/MS/87)	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	274/298 (91.9%)	276/298 (92.6%)	244/298 (81.9%)	245/298 (82.2%)	242/298 (81.2%)	252/298 (84.6%)	243/298 (81.5%)	246/298 (82.6%)	246/298 (82.6%)	247/298 (82.9%)
EV-71-B3 (4/AUS/99)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	282/298 (94.6%)	250/298 (83.9%)	248/298 (83.2%)	244/298 (81.9%)	253/298 (84.9%)	245/298 (82.2%)	248/298 (82.6%)	248/298 (82.6%)	248/298 (82.9%)
EV-71-B4 (18/SIN/97)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	247/298 (82.9%)	248/298 (83.2%)	242/298 (81.2%)	257/298 (86.2%)	247/298 (82.9%)	252/298 (84.6%)	252/298 (84.6%)	250/298 (83.9%)
EV-71 (BrCr)	96/99 (97.0%)	96/99 (97.0%)	96/99 (97.0%)	96/99 (97.0%)	96/99 (97.0%)	255/298 (85.6%)	242/298 (81.2%)	252/298 (84.6%)	248/298 (83.2%)	248/298 (83.2%)	248/298 (83.2%)	250/298 (83.9%)
EV-71-C2 (NCKU9822)	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	274/298 (91.9%)	270/288(90.6%)	278/298 (93.3%)	281/298 (94.3%)	281/298 (94.3%)	277/298 (93.0%)
EV-71 (0756/MAA/97)	96/99 (97.0%)	97/99 (98.0%)	96/99 (97.0%)	96/99 (97.0%)	96/99 (97.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	269/298 (90.3%)	280/298 (94.0%)	275/298 (92.3%)	275/298 (92.3%)	276/298 (92.6%)
271-507/Toyoima/2003	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (98.0%)	98/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	99/99 (100%)	98/99 (99.0%)	268/298 (89.9%)	268/298 (89.9%)	273/298 (91.6%)	273/298 (91.6%)	282/298 (94.6%)
SZ-207/Toyoima/1988	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	281/298 (94.3%)	281/298 (94.3%)	279/298 (93.6%)
SH-238/Toyoima/1994	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	284/298 (95.3%)
SH-182/Toyoima/1987	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	97/99 (98.0%)	98/99 (99.0%)	98/99 (99.0%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)	99/99 (100%)

Amino acid (99aa)

富山県内河川のウイルス汚染に関する定点観測

(2002年～2003年)

岩井雅恵 松浦久美子 永井美之 吉田 弘¹

Epidemiological Surveillance for Viral Pollution of Rivers
in Toyama Prefecture from 2002 to 2003

Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Yoshiyuki NAGAI, Hiromu YOSHIDA¹

要旨 2002年4月から2003年3月までの1年間、富山県内の3河川(いたち川, 千保川, 小矢部川)3定点におけるウイルス汚染の実態調査を行った結果, 以下の成績を得た.

- 1) 河川水からポリオウイルス, エコーウイルス, B群コクサッキーウイルスおよびレオウイルスが検出された. レオウイルスは高い頻度で検出されたが, 夏期より冬期に検出率が高かった. ポリオウイルスはワクチン由来であり, エコーウイルスとB群コクサッキーウイルスは同時期にヒトから多く検出されていた型と一致した.
- 2) 3河川のウイルス検出状況を1979年以来の3回にわたる調査の検出状況と比較すると, 検出率は回を追うごとに低くなっている. このことは, 河川のウイルス汚染度が低くなっていることを示唆し, 下水道普及率が上昇, 環境の整備が進み, 生活様式が変化したことなどによると推測される.

A型肝炎やE型肝炎, 感染性胃腸炎などの感染症が, 飲料水や河川水, 海水, あるいは海水中で養殖された貝類等を介して発生し, 環境中のウイルス汚染が問題となっている [1, 2, 3, 4, 5, 6]. これらの感染症を予防するためには, 水系のウイルス汚染状況を把握し, 水中でのウイルスの生態を解明することが重要である. 以上の観点から, 我々は, これまでに生活水と関わりの深い河川のウイルス汚染状況に関して, 1979年から断続的に(第1回目:1979年～1981年, 第2回目1983年～1985年, 第3回目1993年～1995年)調査を行い, 富山県内の河川は多種類の腸管系ウイルスで汚染されていること, 検出されたウイルスはほとんどヒト由来であることなどを報告してきた [7, 8, 9, 10]. 今回第4回目の調査を2002年4月から2003年3月までの1年間行ったので, その結果について報告する.

材料と方法

(1) 調査地点と試料:

Fig.1に示した富山県内の3河川にI, S, O定点を設置し, 毎月2回(原則として第2週と第4週)

試料を採取した. I定点は富山市の中心部を流れる「いたち川」の最も下流地域(前々回調査報告のI2定点), S定点は高岡市に流れる「千保川」の下流地域およびO定点は県の西部に流れる「小矢部川」の下流地域に設定した. なお, 「小矢部川」には「千保川」がS定点の下流地域で合流しており, この「小矢部川」の川幅は他の2河川よりも3倍程大きい. また, S定点, O定点の下流に下水道処理施設がある. これらの定点にタンポン(約50g脱脂綿)2個を2日間河川水中に浸漬し, そのタンポンから搾り出した河川水550mL～880mLを調査試料とした.

(2) 調査期間:

2002年4月～2003年3月

(3) ウイルス分離:

調査試料の処理は既報 [7, 11] に準じて行った. 採取した河川水試料(550～880mL)を3,000rpm30分間(4℃)遠心した上清にMgCl₂を0.05Mとなるように加え, さらに0.5NHClを加えてpH3.5に調整し, 陰電荷膜のcellulose nitrate membrane filter (ADVANTEC) 0.45μmでろ過してウイルスをフィルターに吸着させた. このフィルターを細断して, 10mLの3%Beef extract(和光純薬工業KK)液中に

入れ、微量サンプル用超音波ホモジナイザー (KontesK-881440) で5分間超音波処理しウイルスを誘出させた。次に、この上清を10,000rpm 1時間 (4°C) で2回遠心後、上清に抗生物質を添加し4°C 3時間置いた。この濃縮試料をVero細胞, MA-104細胞, RD-18S細胞, Hep-2細胞 (すべてローラーチューブに培養) に0.2mL ずつ接種し、2代継代培養を行った。CPE やヒトO型赤血球との凝集性を指標としてウイルス分離を行った。

結 果

Table 1 に3定点 (I, S, O) における月別ウイルス検出状況を示す。検出されたウイルスは1年間で3定点合わせて、レオウイルス1型4株, 2型119株, 3型1株, エコーウイルス7型2株, 11型17株, 13型12株, コクサッキーウイルスB2型2株, B3型5株, B4型2株, ポリオウイルス2型1株, 未同定細胞障害因子5件であった。このうち、レオウイルスは年間を通して検出されたが、夏より冬に多く検出された。エコーウイルス13型は5~9月の夏期に3河川から検出されたが、同時期に、富山県内のヒト (無菌性髄膜炎患者) から分離されている [12]。エコーウイルス13型, 11型は全国的に2000年夏に無菌性髄膜炎等の患者から検出されたウイルスの大部分を占めている [13]。コクサッキーウイルスB2, B3, B4型は全国的に無菌性髄膜炎やヘルパンギーナ等の患者から検出されていた [14]。11月にS定点で検出されたポリオウイルス2型はVP1領域のPCR-RFLP法による型内鑑別の結果、ワクチン由来株であった。

3定点の検出状況を比較してみると、検出されるウイルスの種類は異ならないが、千保川のS定点は他の2つの定点に比べて、検出頻度が高かった。

いたち川のI定点は1979年の第1回目の調査から継続して採取している定点であり、千保川のS定点と小矢部川のO定点は第3回目の調査から同じ定点である。以前からのウイルス検出状況と今回の検出状況を、Table 2-1, 2-2, 2-3 に示す。第3回目, 第4回目の調査で検出されたウイルスの種類や頻度は、第1回目, 第2回目の調査と比較して少なくなった。特に、ポリオウイルスに関しては、第1回目及び第2回目の調査では乳幼児へのポリオ生ワクチン投与時期に必ず分離されていたが、第3回目以降の調査では検出数が少なくなっている。レオウイルスは、第1回目および第2回目調査ではほとんど調査毎に検出されたが、第3回目, 第4回目調査では検出されない時期があった。

ウイルス分離に用いた培養細胞別のウイルス分離状況を Table 3 に示す。エコーウイルスは、RD-18S細胞でよく分離され、B群コクサッキーウイルスは、MA-104細胞とHep-2細胞で、ポリオウイルスはVero細胞で、レオウイルスはVero細胞とMA-104細胞で分離された。

考 察

1979年以来、4回にわたり断続的に富山県内の河川におけるウイルス汚染状況を調べてきた。4回の調査のウイルス検出方法は、培養細胞の種類が一部異なることと、河川の定点の場所や数が異なること以外は同

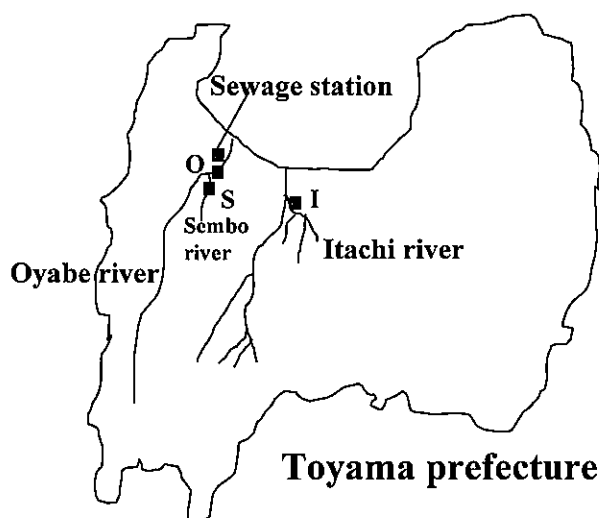


Fig. 1. Rivers examined and sampling stations
StationI: Itachi river; StationS: Sembo river; StationO: Oyabe river

一である。試料の濃縮には陰電荷膜、陽電荷膜、セルロース、ガラスパウダーなどに吸着させる方法 [15, 16, 17] がある。我々は陰電荷膜に吸着させた後、超音波処理（ソニケーション）によって膜からウイルスを誘出させた。ソニケーション法はあまり使用されていないが、試料濃縮の予備実験 [7, 11] により、効果的にウイルス回収できることを確認している。

検出されたウイルスは、エンテロウイルス属やレオウイルスであった。これらのウイルスは腸管内で増殖し、糞便中に大量に排出される。ヒトから排泄されたウイルスは、生活排水などを通し、不完全な処理によって河川に流入したと推察される。今回の調査でも、ヒトの社会で流行したエンテロウイルスが河川から検出された。11月に1株分離されたポリオウイルス2型に関しては、ウイルスの抗原性状解析により、ワクチン由来株であった。ウイルスが検出されたS地点流域において9月下旬から10月中旬にかけて乳幼児のポリオ生ワクチン接種が行なわれていた。河川水に起因する感染症を防ぐためには、ウイルス汚染の少ないきれいな川をめざす必要がある。

計4回の河川水ウイルス調査結果を比較すると、河川からのウイルス検出率は、調査回を追うごとに低

くなった。それは、下水道普及率が高くなってきていることや衛生環境の向上等、生活様式が変化していることによると考えられる。下水道普及率は、1981年に富山市29%、高岡市43%、1985年に富山市31%、高岡市42%、1995年に富山市56%、高岡市60%、2002年に富山市84%、高岡市80%と推移している [18, 19]。また、子供の数の減少 [20] や1985年頃からの乳幼児の紙おむつ使用者増加 [21] 等、糞便を介し乳幼児で流行することの多い腸管系ウイルスが河川へ流入することが少なくなってきたことも一因として考えられる。ポリオウイルスの検出が第3回目調査、第4回目調査において非常に少なくなったことは、このことを示唆している。しかしながら、河川はまだウイルスに汚染され、水系感染症をおこす可能性が残る。河川から海へ流入したウイルスが貝類に蓄積し、それらの喫食による食中毒の発生事例が多く報告されている [22]。

今後の河川水調査の実施予定は、下水道普及率がさらに高くなった時期や、現在ポリオワクチンの生ワクチンから不活化ワクチンへの移行が検討されているが、切り替えが行われる時期に調査を行なう予定である。

Table 1. Virus isolation from water sample of Itachi, Sembo and Oyabe river (Apr. 2002-Mar. 2003)

Station	year month day	2002											
		Apr.		May		Jun.		Jul.		Aug.		Sep.	
		9-11	23-25	7-9	28-30	4-6	18-20	2-4	23-25	6-8	20-22	10-12	24-26
St.I						E13(1) R1(1)				R2(7)			R2(3)
St.S				E13(1) R2(2)			R2(1)	E13(5) CB2(1)		R2(3) +(1)		E11(5) E13(1) CB3(2) R2(5)	R2(2)
St.O				E13(1)				E13(1)			R2(4)	E13(1)	
Station	year month day	2003											
		Oct.		Nov.		Dec.		Jan.		Feb.		Mar.	
		7-9	22-24	2-4	23-25	9-11	24-26	11-13	28-30	10-12	25-27	11-13	25-27
St.I					R2(3)	CB2(1) R2(9) +(1)	R2(11)	R1(2) R3(1)		E11(3)			
St.S		E11(5)		P2(1)		E11(1) E13(1) CB3(2) CB4(2) R2(7)	E11(1) R2(8)	E11(1) R2(2)	R2(3)	E7(2) +(1) R2(6)	R2(9)	+(1)	+(1)
St.O						R2(5) R2(10) R1(1)	CB3(1) R2(10)	R2(2)	E11(1) R2(5)	R2(4)	R2(2)	R2(1)	R2(5)

P,poliovirus; E,echovirus; CB,coxsackievirus typeB; Ad,adenovirus; R,reovirus; +,unidentified; Ns,not surveyed. (), number of isolates.

文 献

1. 病原微生物検出情報Vol.23, No.5, 119-120.
2. Eurosurveillance Weekly, Vol.8, Issue23, Thu 3 Jun 2004.
3. Maila HT, Bowyer SM, Swanepoel R. (2004). J Gen Virol. Jan;85 (Pt1), 89-95.
4. 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山喬, 安藤秀二, 石倉康宏 (2001). 平成12年度富山県衛生研究所年報, 24, 110-115.
5. 徳竹由美, 中村友香, 横内文子, 村松紘一, 西尾治 (2003). 長野県衛公研報告, 26, 16-22.
6. 川本歩, 松本尚美, 谷尾進司, 竹内功二, 細井亨 (2001) 鳥取県衛生研究所報, 41, 35-39.
7. Matsuura,K., Hasegawa,S., Nakayama,T., Morita,O. and Uetake, H. (1984). Microbiol. Immunol.28, 575-588.
8. Matsuura,K., Hasegawa,S., Nakayama,T., Morita,O. and Uetake, H. (1988). Microbiol. Immunol.32, 1221-1234.
9. Matsuura,K., Ishikura,M., Nakayama,T., Hasegawa,S., Morita,O., Katori,K. and Uetake, H. (1993). Microbiol. Immunol.28, 575-588.
10. 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). 平成8年度富山県衛生研究所年報, 20, 114-119.
11. 松浦久美子, 長谷川澄代, 森田修行, 植竹久雄 (1981). 昭和55年度富山県衛生研究所年報, 4, 39-42.
12. 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 (2003), 平成14年度富山県衛生研究所年報, 26, 155-156.
13. 病原微生物検出情報月報, Vol.23 No.8 (2002), 193-194.
14. 病原微生物検出情報月報, Vol.24 No.4 (2003), 100-102.
15. 片山浩之, 島崎明寛, 大垣眞一郎 (2002) 水環境学会誌, Vol.25, No.8, 469-475.
16. Yano K., Yoshida Y., Shinkai T. and Kaneko M. (1993), Wat. Sci.Tech., 27, 295-298.
17. Vilagines P., Sarrete B., Danglot C. and Vilagines R. (1982), Wat. Sci. Tech., 14, No. 4-5,281-290.
18. 富山県, 環境白書, 平成15年度版 (2003), 174-175.

Table 2-1. Virus isolation from water samples of Itachi river
(First : 1979-1981, Second : 1983-1985, Third : 1993-1995, Fourth : 2002-2003)

Survey Year	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
First 1979							*				P1,2,3	P2,3,CB4
							R2	R2	Ns		R1,2,3	R1,2,3
1980	Ad5 R2,3	Ad5 R1,2	Ns	R2,3	P1,2,CB5 R1,2	CB5 R2	CB5 R2	R2		E25 R1,2	P2,3 R2	CB4 R1,2
1981			P2,CB2,4 Ad2,E25,R2	R2	P2 R2	P2,CB2** R2						
Second 1983							*		+		P2	
							R2	Ns	R2	Ns	R1,2	Ns
1984			P2 R2	Ns	P2,3,+ R2	Ns	CB5 R1,2	Ns		Ns	P2 R2	Ns
1985	+		+		P2 ** R2							
	R1,2	Ns	R1,2,3	Ns								
Third 1993										*	R2	R2
										R2	R2	R2
1994		E3 R2	E3 R2	R2		E3		R2	E3,+	CB5,+		R2
	R2											R2
1995						P3			**			R2
	R2	R2	R2	R2	R2		R2	R2				
Fourth 2002				*		E13 R1						CB2,+ R2
							R2	R2			R2	R2
2003	E11 R1		**									

* , the beginning of survey; ** , the end of survey

P, poliovirus; E, echovirus; CB, coxsackievirus typeB; Ad, adenovirus; R, reovirus; +, unidentified; Ns, not surveyed.

平成16年10月1日

19. 富山県, 水質汚濁の現状, 平成7年度.154, 昭和56年度.126, 昭和59年度.138.
 20. 富山県厚生部, 保健統計の年次推移, H13.3月, 8-9.
 21. (社)日本衛生材料工業連合会資料. (株)ケアルートサービスホームページ
 URL:Http://www.careroot.co.jp
 22. 病原微生物検出情報月報 (2003), Vol.24, No.12, 1 (309)-12 (320).

Table 2-2. Virus isolation of water samples of Sembo river
 (Third : 1993-1995, Fourth : 2002-2003)

Survey year	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
Third 1993										* R2	E3,E11 R2	E3,E11 R2
1994	E11 R2	P3,E3 R2	E3 R2		E3 R1				E3 R2	P3,+	CB1 R2	R2
1995	+ R2	E25 R1,R2					R2	R2		CB3 **		
Fourth 2002				*	E13 R2	R2	E13,CB2 R2		E11,E13 CB3,R2	E11	P2 CB3	E11,E13 CB4,R2
2003	E11 R2	E7,+ R2	+ **									

Table 2-3. Virus isolation of water samples of Oyabe river
 (Third : 1993-1995, Fourth : 2002-2003)

Survey year	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
Third 1993										* P2 R2	R2	R2
1994	E3 R2	E3 R2	R2	R2	E3 R2	P2					+ R2	R2
1995						P2 R1			+ , ** R1			
Fourth 2002				*	E13		E13		E13 R2			CB3 R1,R2
2003	E11 R2	R2	** R2									

Table 3. Number of river viruses isolated on various cell types in 2002 to 2003

Viruses isolated	No. of isolates on cell type				Total
	Vero	MA104	RD-18S	Hep-2	
E7			2		2
E11			17		17
E13			12		12
CB2		2			2
CB3				5	5
CB4				2	2
P2	1				1
R1	1	3			4
R2	44	75			119
R3		1			1
not typed	1	2	2		5
Total	47	83	33	7	170

ウイルス性胃腸炎の集団発生について (2003年度)

長谷川澄代 小原真弓 岩井雅恵
松浦久美子 安藤秀二 永井美之

Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2003

Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae Iwai, Kumiko MATSUURA,
Shuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI

要旨 2003年4月から2004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10件あった。これらのうち8件がノロウイルス：Norovirus=NV (カリシウイルスの命名変更に伴い「ノーウォーク様ウイルス」=NLVをNVと改めた) 感染によるものであった。他の2事例はC群ロタウイルス (Rota C), A群ロタウイルス (Rota A) によるものであった。
2. NVによる8事例はすべて遺伝子型がGenogroup II (GII) であった。
3. 老人保健施設での発生が3事例 (NVによるものが2件, Rota Aによるものが1件) あった。これらは食品媒介ではなく、介護人の手指が感染者の吐物や糞便で汚染されてヒトからヒトへ直接伝播したと考えられた。
4. 牡蠣関連の事例は、1事例であった。

NVはウイルス性胃腸炎の主要な病原体である。2000年1月～2003年10月の調査 (全国地方衛生研究所からの集団発生病原体票によるウイルス性胃腸炎集団発生報告数) で、ヒト (胃腸炎患者、食中毒患者または調理従事者等) からウイルスが検出された集団発生事例は970件で、このうち9割 (911件) がNVで、残りわずか (3%) がRotaA, RotaCであった。NVの伝播経路として、食品媒介が疑われた事例が過半数を占め、ヒトからヒトの伝播が疑われた事例が1割、残る4割は伝播経路不明であった。食品媒介の推定原因食はカキとカキ以外の貝類が6割以上であった。また、カキ等が関与しないパン、ケーキ・菓子類調理時の二次汚染が原因とされた事例が4件あり、中でも、きなこねじりパンによる事例では喫食者1,254名中659名の患者が発生していた [1]。このような、カキ等が関与しない感染例はカキ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、NVに感染している見かけ上健康な不顕性感染者あるいは症状の軽い患者、症状が殆ど治まっている患者の糞便より手指を介するなどの経路で、食品がウイルスで汚染され、感染源となったものと考えられる。

一方、NVは食中毒のみならず、冬季の感染性胃腸炎の流行も引き起こす。毎年末に小児の感染性胃腸炎患者からの検出が増加しており、小児の胃腸炎集団発生もこの時期に増加している。ここ数年、NVによる感染性胃腸炎が多く発生し、ほぼ年間を通してNVの流行が認められる [2]。また介護施設などで、NV感染者の吐物や糞便で汚染された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 [3, 4]。

材料と方法

検査対象事例および検査材料

- (1) 2003年4月～2004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10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には Rota C, Rota A はデンカ生研のロタ-RPHA「生研」を用いた。
- (3) NVの検出に関する検体 (糞便等) からのRNA抽出法、RT-PCR法、リアルタイムPCR法、

については厚生労働省通知 [5] に準じて行った。PCR 産物は精製後、オートシーケンサー ABI PRISM 310 (ABI) により塩基配列を決定した。得られた塩基配列は GeneWorks (version 2.3.1) にてアライメントを行った。塩基配列の比較には増幅領域の282塩基を用いた。

結果および考察

表1に示した2003年度のウイルス性感染性胃腸炎の集団発生10事例のうち1事例だけが、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.1：2003年5月1日、高岡厚生センターに高岡市内の小学校から、1年生64名中13名（2クラス）と2年生54名中6名（1クラス）が嘔吐・下痢を呈して欠席し、患者の一部が医療機関を受診しているとの連絡が入った。調査の結果、小学校の児童348名、調理従事者3名、栄養士1名及び教職員等22名の計378名のうち児童100名及び教職員1名の計101名が4月28日から5月2日にかけて吐気・嘔吐・腹痛・下痢の症状を呈していることがわかった。患者の発生は、校舎一階フロアの1・2年生に集中しており、また1年2組の担任は4月28日午後2時頃児童の嘔吐物を処理し、30日午後1時30分頃に嘔吐等の症状を呈していた。医療機関を受診した1年生の患者2名から

表1. ウイルス性胃腸炎集団発生事例

事例番号	発生時期	発生地区・状況 患者数(/喫食者数)	検査数	ウイルス陽性			
				NV		Rota	
				GI	GII	A	C
1	2003年4月28日 ～5月1日	高岡市・小学校 生徒・先生 101	患者糞便	3			2
			患者吐物	1			
			調理人糞便	4	1		
			調理人糞便(2回目)	1			
2	2003年6月4日 ～6月5日	富山市・小学校 小学2年生1クラス 16	患者糞便	4	4		
3	2003年9月13日 ～9月23日	入善町・老人保健施設 入所者 15 職員 8	入所者患者糞便	6	5		
			職員患者糞便	5	4		
4	2003年11月3日 ～11月4日	滑川市・ダンスパーティ 19	患者糞便	10	6		
			調理人糞便	14			
5	2003年12月6日 ～12月10日	富山市・結婚式 39	患者糞便	10	10		
			調理人糞便	6	1		
			調理人除く従業員糞便	9			
			洋菓子店糞便	2	1		
6	2003年12月29日 ～2004年1月5日	富山市・病院 入院者 54 職員 7	入院者患者糞便	4	3		
7	2004年1月5日 ～1月7日	富山市・老人保健施設 入所者 25 職員 4	入所者患者糞便	6	6		
			職員患者糞便	1	1		
8	2004年2月16日	高岡市・寿司店 カキ喫食 3/3	患者糞便	1	1		
			調理人糞便	9	1		
9	2004年2月21日 ～2月23日	砺波市・寿司店 持ち帰り寿司喫食 45/69	患者糞便	8	7		
			調理人糞便	3	2		
			調理人糞便(2回目)	2	2		
10	2004年3月7日 ～3月19日	入善町・老人保健施設 入所者 7 職員 4	入所者患者糞便	5		1	
			職員患者糞便	3		2	

糞便が5月2日に採取された。また、学校給食による食中毒を疑い栄養士1名、調理人4名の糞便が5月2日に採取された。検査の結果、患者（小学1年生）2名の下痢便（水様）からRPHA法でRota Cが検出された。一方、健康な調理人の糞便からRT-PCR法でNV G Iの遺伝子が検出された。本事例は患者が1年生と2年生に多発していること、1・2年生の教室が1階で隣接しており、洗面所とトイレを共用していること等から学校給食等の食中毒ではなく、人から人への接触感染による感染症である可能性が考えられた。調理人の糞便からRT-PCR法でノロウイルス G Iの遺伝子を検出したが、患者からは検出されなかったことから、調理人は感染源とは考えられなかった。初発の患者について検査は出来なかったが、本事例の原因ウイルスはRota Cと考えられた。最初の患者の嘔吐物が適切に処理されなかったために、人から人への接触感染によって教室が隣接している1・2年生に患者が拡大したと考えられた。

事例No.2：2003年6月5日、富山市保健所に、富山市内の小学校の2年生の1クラス40人中16名（40%）が下痢・発熱・吐気症状を呈して欠席し、欠席者全員が医療機関を受診しているとの連絡が入った。調査の結果、2学年2クラスのうち、1クラスで、6月3日午後4時から6月4日午前10時にかけて患者が発生していた。患者4名の糞便が6月5日に採取された。RT-PCR法で4名全員からNV G IIの遺伝子が検出され、塩基配列は一致していた。患者発生は1クラスだけに限られており、発症時間から単一曝露型の感染が考えられた。他のクラスでは全く患者が出ていないことから給食等による食中毒とは考えられなかった。聞き取りを行ったところ、このクラスでは4月下旬よりひよこを飼育しており、6月2日に新しく1羽追加したとのことであった。この追加されたひよこに子ども達が触れることによりNVに感染したのではないかと考えられたが、ひよこについての調査は出来ず特定出来なかった。

事例No.3：2003年9月20日、新川厚生センターに「老人保健施設」の施設医師から入所者150名中の20

数名が嘔吐・吐気・下痢・発熱の食中毒症状を呈しているとの連絡が入った。調査の結果、2003年9月13日から9月23日にかけて当該施設の入所者23名、介護人8名が発症していることが判った。この施設では一般棟（100名）と痴呆棟（50名）が同じメニューの給食を喫食しているが、患者は一般棟に限られていた。介護人の患者も一般棟の担当者に限られていた。患者（入所者6名、介護職員5名）11名の糞便が9月21日、22日に採取された。検査の結果9名からNV G IIの遺伝子が検出され、塩基配列は一致していた。本事例は9月13日に初発患者1名が発生し、この患者の糞便、嘔吐物を処理した介護人の手指等を介して、介護職員そして他の入所者の間に感染が拡大していったと考えられた（表2）。

事例No.4：2003年11月11日、中部厚生センターに、11月2日（日）12時から17時まで、上市町内の施設でダンスパーティーを開催したところ、参加者の中で3日（月）夜から4日（火）朝にかけて嘔吐・下痢・発熱の症状を呈している者がいるとの連絡が入った。調査の結果、当日参加者85名のうち19名（22%）が発症していることが判った。参加者は富山県内3箇所の厚生センターの管轄に散在していた。早速、患者10名の糞便が11月12～13日に採取された。さらに、食中毒を疑い当日オードブル等を搬入した3業者の従業員14名の糞便も搬入された。検査の結果、患者10名のうち6名からRT-PCR法でNV G IIが検出された。しかし、従業員からは検出されなかった。本事件は患者の発症時間から単一曝露型の感染が考えられたが、感染源・感染経路を特定することは出来なかった。

事例No.5：2003年12月7日、富山市保健所に金沢市在住者から富山市内の施設での結婚披露宴（12月6日、午後1時～4時）に出席し、7日（日）18：00頃から吐気・発熱・嘔吐・下痢を呈したとの連絡が入った。調査の結果、12月6日の結婚披露宴出席者は100人で、発症者は県内在住者20名、県外在住者は19名で合計39名（39%）であった。食中毒が疑われ、患者10名から12月11、12日に糞便が採取された（この

表2. 事例No.3（老人保健施設）での患者発症日分布

（入所者150名・職員30名）

発症日	2003年9月	13日	14日	15日	16日	17日	18日	19日	20日	21日	22日	23日	計
入所者	1			1	1	2	4	6	6	1	1		23
介護人					1	2	2	3					8
合計	1			1	2	4	6	9	6	1	1		31

患者の中には披露宴に出席していない患者=出席者の家族も含まれる。更に施設の従業員（調理人6名、洗い・盛付人9名）15名、ケーキを搬入しているケーキ屋2名の糞便が12月12日、16日に採取された。RT-PCR法で患者10名からNV GIIの遺伝子が検出されたが、患者以外の施設従業員からは検出できなかった。これら従業員についてリアルタイムPCR法を行ったところ、調理人1名とケーキ屋1名がNV GII陽性となった。本事例では患者が12月6日から10日かけて発生し、7日、8日両日で9割以上の方が発病していることから、単一曝露型の感染が考えられ、食品等を介しての感染が考えられた。披露宴出席者が持ち帰ったケーキ等を家族が食べて発症した例があり、ケーキが感染源と推定された。しかし、ケーキ屋と調理人からのNV GIIの遺伝子について更に解析を行うことが出来なかったため感染源を特定することは出来なかった。

事例No.6: 2004年1月5日（月）、富山市保健所に富山市内の精神病院（310床）から、入院患者の中で下痢・嘔吐・発熱の食中毒様症状を呈しているものがあると連絡が入った。調査の結果、2003年12月29日に4名の患者が出始め、翌30日には17名、2004年1月5日には61名（入院者54名、看護職員7名）になっていることが判った。患者（入院者）4名から糞便が1月6日～8日に採取された。検査の結果、3名からNV GIIの遺伝子が検出され、塩基配列は一致した。当該病院は共通の給食を喫食しているが、看護職員の中には給食を食べていないのに発症した者がいたこと、発症者は1つの棟に固まっていること、調理従事者には異常がないこと等から、食品媒介による感染とは考えられなかった。本事例は初発の患者の吐物、糞便等が看護人等によって適切に処理されなかったため看護人の手指を介して人から人への接触感染によって感染が拡大し、看護人も発症したと考えられたが、感染源は特定できなかった。

事例No.7: 2004年1月7日、富山市保健所に、富山市内の「介護老人保健施設」から1月6日（火）

の夕食以後から嘔吐・下痢等の食中毒様症状を呈する患者出が出ているとの連絡が入った。調査の結果、入所者99名中25名が発症し、更に介護職員4名が発症していることがわかった。入所者の患者発生は2階のみで、職員の患者も2階担当者に限られていた。患者の発症日分布を見ると1月5日に初発の患者が1名、6日に13名、7日に15名となっていた。患者（入所者6名、職員1名）の糞便が1月7、8日に採取された。検査の結果、RT-PCR法で全ての患者からNV GIIの遺伝子が検出され、塩基配列は全て一致した。初発の患者は、1月4日11:30に自宅から施設に戻り翌日の5日6:00頃に嘔吐・下痢・発熱（37.6℃）の症状を呈していた。聞き取り調査で、初発の患者が年末に帰宅中、孫（幼児）が嘔吐下痢症の症状を呈していたことが判った。本事例は、初発の患者が自宅で孫から感染し、施設に戻り発症し、感染源となったと考えられた。そして患者の嘔吐物・糞便で汚染された介護人の手指等を介して感染が拡大したと考えられた（表3）。

事例No.8: 2004年2月18日（水）高岡厚生センターに、高岡市内の寿司店を利用した3名（県外者2名含む）が嘔吐・下痢・発熱等の食中毒症状ありとの情報が入った。調査の結果、患者らは2月14日（土）午後4時に寿司店で寿司（生ガキ含む）を食べて2月16日3時頃から嘔吐・下痢・発熱（38℃～39.8℃）の症状を呈していた。食中毒を疑い1月19日に患者1名（富山県在住）の糞便、1月20、21日に寿司店従業員9名の糞便が採取された。検査の結果、患者からRT-PCR法でNV GIIの遺伝子が検出され、従業員1名（無症状）からもRT-PCR法でNV GIIが検出された。本年報[6]で報告しているとおり、増幅領域のうち282塩基について遺伝子解析の結果、患者と従業員のNV GIIの塩基配列の相同性は79.4%と低かった。本事例は、患者ら全てが生ガキの寿司を食していること、患者からと従業員からのNVの遺伝子配列の相同性が低いことから、カキが原因食と考えられた。原因と考えられるカキは残っておらずカキに関

表3. 事例No.7（老人保健施設）での患者発症日分布

（入所者99名・職員73名）

発症日					
2004年1月	5日	6日	7日	計	
入所者	1*	11	13	25	患者は2階のみ
介護人		2	2	4	2階担当職員のみ
合計	1	13	15	29	

*初発の患者は1月4日11:30に施設に戻り5日6:00ごろ嘔吐、下痢、発熱(38℃)

しては調査出来なかった。

事例No.9：2004年2月23日（月）砺波厚生センターに砺波市内の医療機関から食中毒様症状を訴えるものが受診しているとの連絡が入った。調査したところ、砺波市内の持ち帰り寿司店の寿司を食べた2グループ（69名）中45名が21日から23日にかけて発症していた。2月24日～25日に患者8名、寿司店従業員3名から糞便が採取された。検査の結果、RT-PCR法で患者8名の内4名からNV G2遺伝子が検出されたが、寿司店従業員からは検出できなかった。更にリアルタイムPCR法を行ったところ、患者7名がNV GIIに陽性となり、寿司店従業員3名中2名がNV GII陽性となった。厚生センターの聞き取り調査でNV GII陽性の従業員は、2月20日現在で数日前から体調不良の状態で作業をしていたことがわかった。更にこれらNV GII陽性の従業員2名の糞便を1週間後の3月5日に採取し、リアルタイムPCR法で検査したところ、2名ともNV GII陽性となった。本事例の感染源はこの寿司店従業員と考えられたが、NVに感染して体調不良の時期からかなり日数が経過していたためNV粒子が糞便中に排出されていても数が少なくRT-PCR法で検出されなかったと考えられる。本事例ではNV感染後、症状が治まっても糞便中にウイルスを排出していることを確認した。本事例はNVに感染し、発症している従業員が手洗いを十分にしないで作業を行うことにより、食品がNVで汚染され、沢山の食中毒患者が発生したと考えられた。

事例No.10：2004年3月19日、新川厚生センターに、黒部市民病院より入善町の「特別養護老人ホーム」（入所者70名、職員60名）で食中毒様患者が出ていると連絡が入った。調査の結果、患者は3月7日に1名出ており、症状は発熱（38℃）・水様便であった。次いで8日には1名、11日1名、13日1名、15日5名、16日1名、18日1名、（入所者7名、職員4名）の患者が出ていた。患者8名（入所者5名、職員3名）から3月20～21日に採便された。最初、NVが疑われていたが8名中3名（入所者1名、職員2名）からRota Aが検出された。初発患者（入所者・3月7日発症）は14病日にも関わらず糞便中にウイルスを排出している事がわかった。また患者らの部屋（個室）どうしは隣接しているか廊下を挟んで向かいあっていた。本事例は、初発の患者糞便から介護人の手指を介して人から人に感染が拡大したと考えられた。また患者発生が、2週間近くも続いたのは、初発の患者が2週間近くウイルスを排泄していたことによると考えられた。更に介護人等が患者糞便を扱う際、適切に処理しなかったため、手指を介し介護職員人本人

そして入所者に感染が広まったと考えられた。

富山県感染症発生動向調査によれば、本年度も一昨年度・昨年度同様に感染性胃腸炎の患者の報告数は多く感染症の報告数の第1位を占めていた。今回報告した10事例は2003年4月から2004年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。このうち8事例がNV GIIによるものであったが、他の2事例は、Rota CとRota Aによるものであった。本年度は小学校（事例No. 1, 2）、老人介護施設（事例No. 3, 7, 10）、病院（事例No. 6）等の集団生活を行う施設での発生が多く、No. 1, 3, 6, 7, 10ではヒトからヒトへの接触感染が考えられた。

2003年は全国的に見て3月に滋賀県の小学校でRota C [7]、5月に岩手県の福祉施設（成人）でRota A [8]による感染性胃腸炎の集団発生がおきていた。この事より、これからのウイルス性胃腸炎の集団発生の原因ウイルスとしてNV以外のRota A、Rota C等も考慮していく必要があると考えられた。

NVに限らず、Rota A、Rota C等のウイルスの感染力は強く、保育所や小学校（事例No. 2）や介護施設（事例No. 3, 6, 7, 10）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。

NV等の感染経路はウイルスに汚染された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。小野ら [9] は学校給食従事者（健康者）の糞便について年間を通してNVの遺伝子の検出を試み、4.7%の割合で年間を通じて検出している。このことから、NVに感染後、無症状のヒトや、発症後快復したヒトが、長期にわたり、ウイルスを糞便中に排泄し続け、感染源となりうる可能性が示唆された。これからのNV等の対策には、食中毒に対する注意、手洗い等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、感染性胃腸炎ウイルスについては食中毒と感染症の両方の観点から調査研究を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、新川厚生センター魚津支所、砺波厚生センターの関係者各位に感謝します。

平成16年10月1日

文 献

1. 2003年病原微生物検出情報, 月報, 12, 1-2.
2. 長谷川澄代, 舘 一矩, 北村 敬 (1999). 富山衛研年報, 178-182.
3. 齊藤博之, 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.
4. 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.
5. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003) 食安監発第115001号.
6. 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 松浦久美子, 安藤秀二, 永井美之 (2004). 富山衛研年報, 112-115.
7. 吉田智子, 大内好美, 林 賢一, 阿辻由美, 木下美也子, 大庭真佐子 (2003). 病原微生物検出情報, 月報, 5, 9-10.
8. 佐藤直人, 高橋朱美, 藤井伸一郎, 佐藤 卓, 齋藤幸一, 田澤光正 (2003). 病原微生物検出情報, 月報, 10, 25-26.
9. 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, 21-23.

2003年度に発生した感染性胃腸炎から検出された ノロウイルスの遺伝子解析

小原真弓 長谷川澄代 岩井雅恵
安藤秀二 松浦久美子 永井美之

Genotyping of Noroviruses from Gastroenteritis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2003

Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI,
Syuji ANDO and Yoshiyuki NAGAI

要旨 2003年度に発生した感染性胃腸炎のうち、ノロウイルス (NV) が原因と考えられたものについて遺伝子解析を行った。遺伝子型別は6つのクラスターに分けられ、富山県内にさまざまなノロウイルスの型が存在していることが判明した。集団発生では8事例中6事例の遺伝子配列がそれぞれ100%の一致率を示し、集団発生の大部分が1種類のウイルス由来である可能性が高いことがわかった。また、異なる事例同士の遺伝子配列が一致した例が存在し、時期的に同じ型のウイルスが流行し、別の集団発生や散发例を起こしている可能性が示唆された。

NVはカリシウイルス科のノロウイルス属に属し、冬季の非細菌性食中毒の主たる原因となっている。ウイルスに汚染された2枚貝などを食べて発症することが多いが、食品の2次汚染やヒトとヒトとの接触感染による集団発生と思われる事例も多い。

近年、NVの塩基配列が明らかとなり、RT-PCR法による遺伝子検出が可能になった。遺伝子解析により、NVはGenogroup I (GI) と Genogroup II (GII) に分けられる。研究者によってばらつきがあって統一されていないものの、さらに各Genogroup内でいくつかの遺伝子型に分類される [1, 2, 3, 4]。

富山県ではNV検査の際RT-PCR法による遺伝子検出を行ってきたが、遺伝子塩基配列解析まで行うことはまれで、県内で流行を起こしている主要な遺伝子型や、同一事例で検出されたNVの塩基配列の関連性などは不明であった。そこで今回、富山県内で2003年度に発生した感染性胃腸炎で検出されたNV株について、polymerase領域の下流からcapsid領域の上流までの塩基配列を決定した。さらにその結果から分子系統樹を作成し、各NV株について遺伝子型別を行った。

材料と方法

2003年4月から2004年3月までの間に富山県で発

生した感染性胃腸炎集団発生事例 (食中毒事例を含む) と散发例 (感染症発生動向調査、ボランティアを含む) のうち、遺伝子検出でノロウイルス (NV) が確認された糞便40検体を用いた。表1にその概要を示した。糞便の処理からRT-PCR法については厚生労働省通知 [5] に準じた。

10%糞便乳剤を15000rpmで遠心し、上清140 μ LからQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてRNAを抽出した。RT-PCR反応は抽出RNAに各プライマー、DDWを加え計50 μ Lとなるようにし、Ready To Go RT-PCR Beads (Amersham Biosciences) を用いてワンステップで行った。プライマーはG2-SKF, G2-SKRのプライマーセット (GII用, [6]) を用い、polymerase領域からcapsid領域を含む344塩基を増幅した。

PCR産物は3%アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色をしてUV下で確認した。目的のサイズにバンドがみられたものについて、PCR産物を直接Min Elute PCR Purification Kit (QIAGEN) で精製するか、1.5% SeaKem GTG Agaroseにて再泳動した後バンドを切り出し、QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) にて精製した。精製したPCR産物はBig Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (ABI) によるシーケンス反応後、Centri-Sep スピナラム (ABI) で精

表1. 遺伝子解析に用いた検体

発生状況	発生月/年	集団発生事例番号	遺伝子解析実施数	検体番号
集団	06/2003	2	4	272, 273, 274, 275
集団	09/2003	3	9	323, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332
集団	11/2003	4	1	349
散発	12/2003		1	HS1
集団	12/2003	5	8	360, 361, 362, 363, 364, 366, 367, 374
散発	12/2003		1	388
散発	01/2004		1	2
集団	01/2004	6	2	4, 7
集団	01/2004	7	7	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14
集団	02/2004	8	2	144, 147 (健常者)
集団	02/2004	9	4	157, 159, 162, 181

製してオートシーケンサー ABI PRISM 310 (ABI) により塩基配列を決定した。得られた塩基配列は GeneWorks (version 2.3.1) にてアライメントを行った。さらに MEGA 2.1 を使った近接接合法 (N-J 法) により分子系統樹を作成した。比較には増幅領域のうちの282塩基を用い、参考株には表2に示す株の塩基配列を使用した。

結 果

得られた系統樹を図1に示す。集団発生事例8事例のうち、2つ以上の検体について塩基配列を得られたものは7事例あり、そのうち6事例は各事例内で増幅領域の遺伝子配列が100%一致した。2検体の配

列が一致しなかった事例No.8での相同性は79.4%であった。また、12月に発生した3事例 (散発2例と集団発生事例No.5) の遺伝子配列が100%一致していた。同様に、12月から1月にかけて発生した2事例 (集団発生事例No.6, No.7) についても相同性100%であった。得られた遺伝子配列は9種類、6つのクラスターに分けられ、SMV型1事例、Hawaii型1事例、Chitta型1事例、MX型3事例、Miami型1事例、Lordsdale型4事例であった。

考 察

2003年度は、富山県でウイルス検査を行った24事例 (県外発生事例を含む、ボランティアを除く) のう

表2. 分子系統樹作成に用いた参考株

Genotype	Accession No.	strain
MX	U22498	MX/89/Mexico
Hawaii	U07611	Hu/NLV/GII/Hawaii virus/1971/US
Hillingdon	AJ277607	HU/NLV/Hillingdon/90/UK
Leeds	AJ277608	HU/NLV/Leeds/90/UK
Lordsdale	X86557	Lordsdale/93/UK
Miami/292	AF414410	NLV/Miami/292/1994/US
SMV/76	U70059	SMV/76/US
Amsterdam	AF195848	Hu/NLV/Amsterdam/98-18/1998/NET
Chitta	AB032758	Chitta/Aichi76-96/1996/JP
Erfurt/546	AF427118	NLV/Erfurt/546/00/DE
Alphatron	AF195847	Hu/NLV/Alphatron/98-2/1998/NET

ち、NV の G II が原因であると考えられたものは13事例と過半数を占めていた。一方、G I が原因と考えられる感染性胃腸炎は発見されなかった。全国的にみても、近年は感染性胃腸炎の大部分を NV の G II が占めている [7]。

今回の遺伝子解析により、富山県内で発生した感染性胃腸炎の集団発生事例のほとんどが単一ウイルスによるものと思われた。さらに、異なる集団発生であっても遺伝子配列の一致が見られたことから、ヒトから

ヒトへ感染して別の集団発生を起こした可能性が示唆された。特に集団発生事例No.6, No.7は同じ地域で発生しており、互いの集団間での接触があった可能性が高いと思われる。

NV は症状が治まったあともウイルスを排出しつづけることがわかっている [8]。今回の事例 No.8 でも無症状の調理従事者（検体番号147）から NV が検出された。よって、胃腸炎症状を呈したヒトは、例え完治したと思っても、二次汚染やヒト-ヒト感染を防

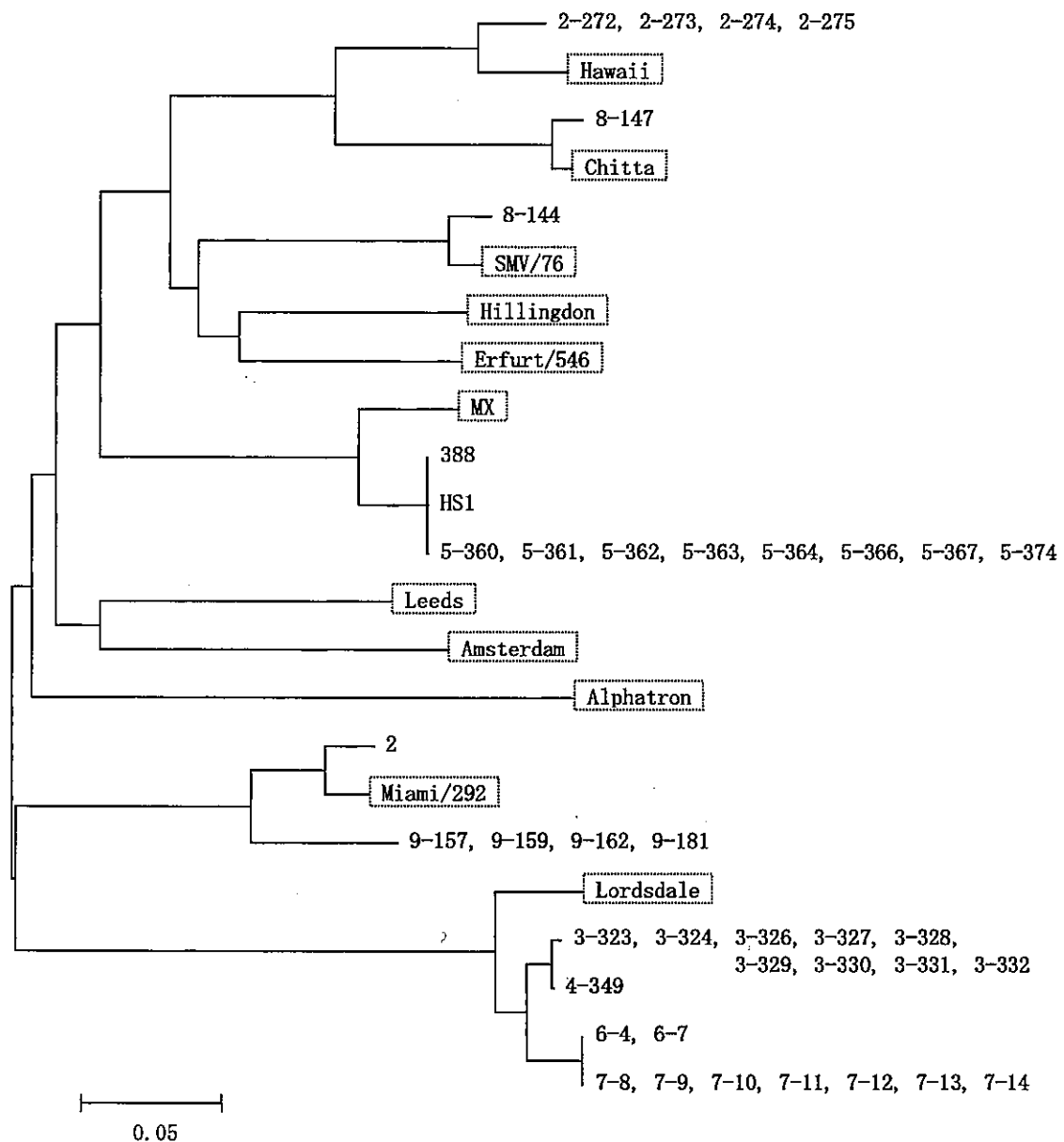


図1. 2003年度の NV 系統樹

参考株は で囲む。
 検体は集団発生事例については事例番号-検体番号、
 散发例については検体番号のみを示す。

ぐために手指の消毒を徹底するなどの必要がある。この事例No.8の場合は、調理従事者から検出されたNVと患者から検出されたウイルスとの相同性が79.4%と低かったため、集団発生の原因とは考えにくかった。

今回、遺伝子解析を行うことで感染性胃腸炎の疫学的状況がある程度推測することができた。そのほとんどが各事例内で同一の塩基配列を示していたが、一般的にヒト-ヒト感染か二次汚染の場合はこのような傾向が見られる[9]。逆に、牡蠣等の2枚貝を原因としたNV食中毒では、同一事例中の遺伝子配列が多様で、NVのGIとGIIが同時に検出されることもある。また、食中毒(二次汚染の場合を含む)の場合、患者発生は短期間に集中する。しかし手指などを介したヒト-ヒト感染の場合、長期間に渡って患者が発生する[10]。よって、疫学情報と遺伝子解析によってヒト-ヒト感染か、二次汚染か、2枚貝等の食中毒か、を推測することができると思われる。2003年度は牡蠣が原因と疑われた事例No.8で複数の患者検体についての解析ができなかったが、複数検体の遺伝子解析が可能であれば原因についてより確実な推測ができたと思われる。このように、感染性胃腸炎、特に集団発生事例において今回行った遺伝子解析は有用であると考えられた。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、検体採取にご協力くださった病院と厚生センター、富山市保健所の関係各位、ボランティアの方々には心より感謝いたします。

文 献

1. Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S336-348
2. Kawamoto H, Yamazaki K, Utagawa E, Ohyama T. (2001). *J. Med. Virol.*, 64, 569-576
3. Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino F, Fukushi S, Shinohara M, Uchida K, Suzuki Y, Gojobori T, Takeda N. (2002). *Virology.*, 299, 225-223
4. Vinje J, Green J, Lewis DC, Gallimore CI, Brown DW, Koopmans MP. (2000). *Arch Virol.*, 145, 223-241
5. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003). 食安監発第115001号.
6. 篠原美千代 (2000). 第48回日本ウイルス学会学術集会抄録, p264
7. 国立感染症研究所編 (2003). 病原微生物検出情報, 24, 309-310
8. Graham DY, Jiang X, Tanaka T, Opekun AR, Madore HP, Estes MK. (1994). *J. Infect. Dis.*, 170, 34-43
9. 齋藤幸一, 堤玲子, 佐藤直人, 高橋朱実, 佐藤成大 (2002). 岩手県環境保健研究センター年報, 2, 115
10. 中田修二 (2001). *小児科診療*, 64, 1066-1071

富山湾滑川沖の深度別生菌数調査

香取幸治 磯部順子 嶋 智子 木全恵子 田中大祐
 刑部陽宅 南條暢聡¹ 松永明信 綿引正則 永井美之

Bacterial Viable Cell Counts by Depth in Toyama Bay

Koji KATORI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Daisuke TANAKA,
 Yotaku GYOBU, Nobuaki NANJO¹, Akinobu MATSUNAGA,
 Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI

要旨 平成15年、富山県滑川沖海洋で深度別に海水を採取し、細菌の生菌数を調べた。生菌数は、季節変動の有無を知るために、3か月ごとに4回採水を行なった。その結果、深度別生菌数は、海面表層（数m以内）で最も高く、以下急激に低下し、水深10m以上の深度から採水された海水中では、表層水の～1/100の菌数で安定し、細菌学的な清浄性が確認された。また、その生菌数は、培養条件（使用培地、培養温度）により、異なっていた。

以上の結果は、既に知られている海洋の微生物生態学的知見と矛盾するものではなかった。

富山湾は、最深1200m前後、水深300mまでは対馬海流が流れ込んで形成される表層水に覆われており、その下に存在する海水は湾全体の9割を占めている。この海水は一般に「深層水」と呼ばれている。深層水は、有機物が分解してできたリンや窒素などの栄養塩を豊富に含んだ非常に安定した「水」であるといわれており、富山県では、滑川及び入善の海洋深層水プラントにおいて、水深約300mから採水した深層水の産業利用の検討が積極的に行われている。このように有機物の極めて少ない深層水中は、それを栄養源とする細菌や病原菌の生育条件としては非常に厳しく、その細菌数は、表層水と比べると、極めて少ないか、全く検出されない清浄性が保たれていると言われている。しかし、これまで富山湾の深度別の細菌調査に関しては、体系的に行われたという報告はない。我々は、平成14年から、深層水の特徴を明らかにするために、微生物学的側面から滑川及び入善海洋深層水プラントにおける細菌検査の委託を受け、生菌数測定を実施している [1]。このような背景のもと、これまでほとんど調べられていなかった富山湾深度別の生菌数を知ることが、富山湾の深層水を理解するうえで不可欠である。我々は、平成15年に滑川沖の海洋の季節別および深度別に採取された海水中の細菌数（生菌数）の測定を行い、富山湾の海洋細菌の深度別分布およびその細菌数の変動を調査したので報告する。

実験方法

1. 検体採水時期・採水場所

深度別の海水の採取は、富山県滑川沖において、富山県水産試験場所有の調査船「はやつき」にて、平成15年5、8、11月及び平成16年2月の4回行われた。滅菌ポリ容器に無菌的に採取された海水は、5～10℃に保って当所に搬入された。

2. 生菌数の測定

生菌数の測定は、混釈法およびコンラージ法を用いた。

混釈法：検水1mlを溶解した寒天培地（50℃）と混合し、シャーレ中で固化、培養した。形成されたコロニー数を1ml中の生菌数とした。

コンラージ法：表面塗抹法とも呼ばれる。検水0.1mlを寒天平板培地上にコンラージ棒で良く塗布する。培養後、形成されたコロニー数を測定することにより1ml中の生菌数を算出した。

使用した培地は、一般細菌の生菌数測定のためには標準寒天培地（日水）を、また、塩濃度を強化した3%NaCl加標準寒天培地およびマリン寒天培地（塩濃度約2%、Difco Marine Agar 2216）を用いた。いずれの培地もペプトン、酵母エキス主体の培地である。培養温度は、海水の低温を考慮して5℃、20℃、37

1 富山県水産試験場

℃の3条件で行った。培養期間は、低温での培養は発育に要する時間が長いことを考慮して、各培養温度で、それぞれ7、14及び21日間とした。

結果および考察

1. 生菌数の測定条件の検討：混釈法とコンラージ法の比較

生菌数について海水中の生菌数を測定する公定法がないため、混釈法とコンラージ法を比較し、生菌数測定法による影響を評価した。一回目（平成15年5月22日）の深度別調査において行った結果を表1に示す。すべての検体において、コンラージ法で得られる生菌数は混釈法に比べて多かった。これは、混釈法が50℃に保った溶解寒天培地を検水と混合し、シャーレに注いで固化させるという方法のため、比較的低温環境に適応していると考えられる海洋細菌が熱の暴露に弱く、従ってこの一時的な高い温度に晒された結果、生菌数がコンラージ法（検水に熱に係る工程がない）よりも少ない結果になったと考えられた。海洋細菌を含めた生菌数の測定は熱による影響を受けないコンラージ法が優れていると考え、以後の測定にはコンラージ法を用いた。

2. 培地による比較

使用培地別に生菌数を比較すると、ほとんどの検体で、その生菌数は、海水成分に近いミネラル分を多く含むマリン寒天培地を用いた時に多く、次いで3% NaCl加標準寒天培地、標準寒天培地の順となる傾向であった（表1）。

また、標準寒天培地および3%NaCl加標準寒天で生菌数が低いことから、大腸菌等を含む一般細菌は非常に少ないか、あるいは全く検出されない結果となった。水道法による飲料適の基準は、1mlあたり一般細菌100個以下とされており、特に富山湾深度10m以上の海水中の一般細菌生菌数（標準寒天使用）は、 $\sim 10^2$ cfu/ml以下であり、その清浄性は充分保たれていると考えられる（表1及び図1）。

3. 培養温度による比較

海水の低温性を考慮して、5℃、20℃、37℃の3段階の培養温度で生菌数を比較した。培養期間については、培養温度が低い場合には細菌の発育速度が遅いため、それぞれ21、14及び7日間とし、形成されたコロニー数から生菌数を計算した。その結果、ほとんどの検体で、生菌数は20℃培養が最も多く、続いて37℃及び5℃培養の順であった（表1及び図1）。

表1. 平板法による生菌数比較¹

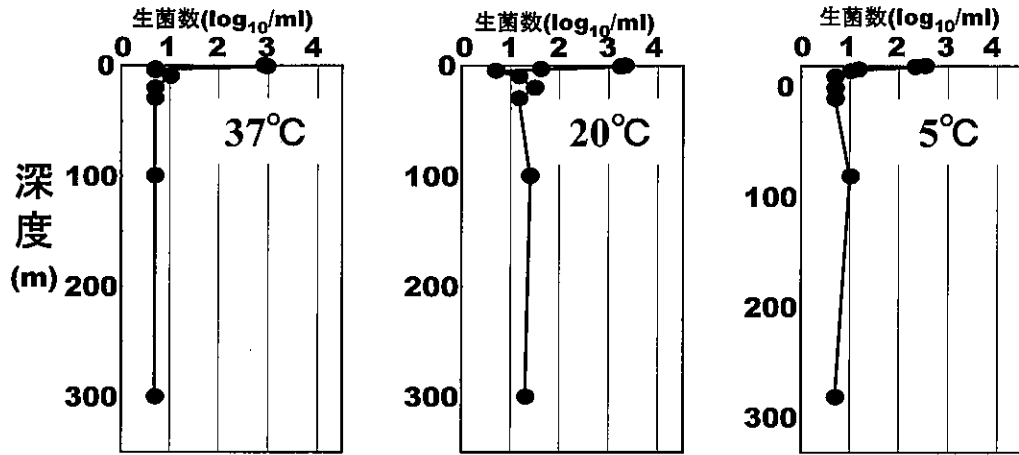
測定方法	使用培地	培養温度	採水深度 (m) 別生菌数 ²								
			0	1	3	5	10	20	30	100	300
混釈法	標準寒天	37℃	56	36	12	11	2	14	2	6	10
		20℃	65	72	7	10	3	7	1	2	3
	3%加標準寒天	37℃	18	10	13	5	2	4	4	2	3
		20℃	104	78	12	10	3	4	5	4	3
コンラージ法	標準寒天	37℃	805	900	<5 ³	<5	10	<5	<5	<5	<5
		20℃	1105	1710	40	5	15	30	15	25	20
		5℃	339	212	15	10	<5	<5	<5	10	5
	3%加標準寒天	37℃	650	135	5	40	<5	5	5	5	15
		20℃	950	680	25	45	115	35	15	10	50
		5℃	615	515	45	10	<5	10	<5	<5	<5
	マリン寒天	37℃	6240	3810	30	70	150	10	20	40	85
		20℃	15540	8320	1085	1335	535	615	610	240	275
		5℃	8770	9000	870	745	310	155	280	65	115

*1 平成15年5月22日採水検体を使用

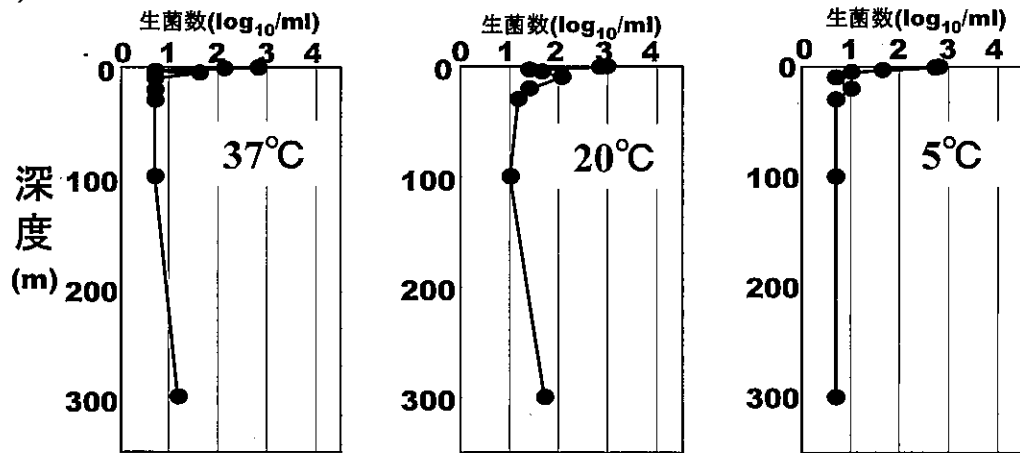
*2 生菌数は、平板培地に形成されるコロニー数 (cfu/ml) で表した。

*3 混釈法では、検体1mlを直接平板に接種し、形成されたコロニー数の2枚の平板の平均値である。一方、コンラージ法は、平板当たり検体0.1mlを使用しているため、表中の数字は、1mlあたりの生菌数の平均値として表記した。従って、2枚のうち、一方のみ1個のコロニーが形成された場合は、「<5」と表記した。

1) 標準寒天培地



2) 3%NaCl加標準寒天培地



3) マリン寒天培地

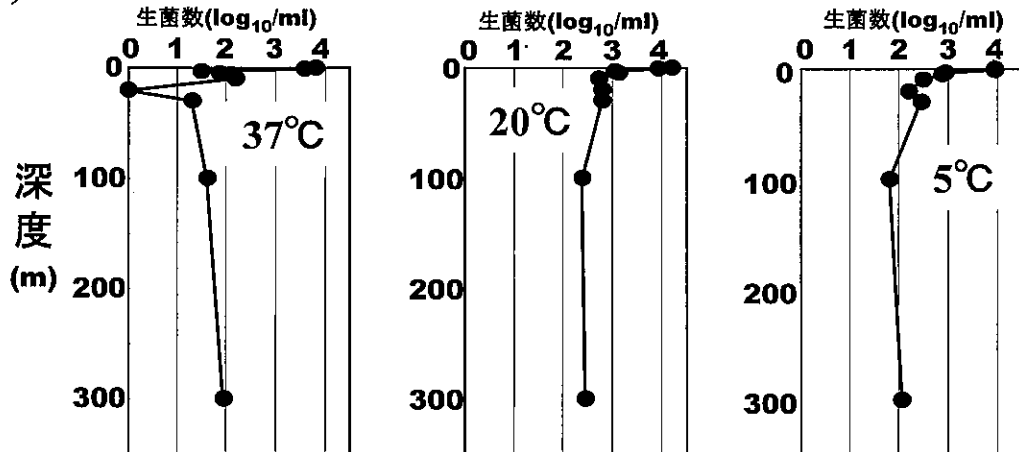


図1. 滑川沖海洋の深度別生菌数
表1の数値を使用して作成

4. 季節変動

今年度の富山湾深度別生菌数調査において、生菌数の季節変動を把握するために平成15年5月22日、8月27日、11月24日および平成16年2月23日の4回、海水を深度別に採水した。その生菌数はマリン寒天培地を用いて、コンラージ法、培養温度20℃にて測定した(図2)。

その結果、表層付近の海水で $\sim 10^4$ cfu/mlであり、数十メートル以上の深度で、その $\sim 1/100$ 程度の $10^2 \sim 10^3$ cfu/mlに急速に低下し、300m深度まで比較的安定に推移した。季節による変動は観察されたが、それが季節に依存しているものなのかは今回の結果から判断することはできない。

まとめ

海水中の細菌数は、外洋であるのか、河口近くであるのかという場所と天候等の影響で大きく変動する。東京湾海水中では、水深20mまでの調査の生菌数は $10^4 \sim 10^5$ cfu/mlであり、ビブリオ科細菌についても 10^2 から 10^3 cfu/mlであったと報告されている[2]。また、富山県においては、当所によって行われた漁港内海水中の生菌数として、季節変動が大きいものの、概ね $10^3 \sim 10^4$ cfu/ml(標準寒天培地を使用)であった[3]。これらの結果は、いずれも表層海水のもので東京湾や漁港のデータは、密接に人の生活と関係しており変動はするものの、概ね表層海水中に含まれる生菌数であ

ると考えられる。今回の調査における富山湾滑川沖海上表層付近の生菌数は、標準寒天で $\sim 10^3$ cfu/ml、マリン寒天で $\sim 10^4$ cfu/mlであった。しかし、水深30m以上になると急激に生菌数は $1/100$ 程度($\sim 10^2$ cfu/ml)まで減少し、そのまま300mまではほぼ安定した生菌数であった。この数字は、水道法によると一般細菌100個以下を飲料適と定めているが、その意味では、深層水の細菌学的に見た清浄性は保たれていると考えられる。今後は深度別に存在する細菌種の垂直分布に興味を持たれるが、その方法論も含めた検討が必要である。

海洋における微生物数については、これまで多くの研究が行われており、海洋微生物生態学的な知見が得られている。それによると自然海水中には世界中どこへ行っても、 10^6 cfu/ml程度の細菌が存在するとされており[4]、しかも、そのうち分離培養できるのはごく一部(1%以下とされている)であるという。また、海洋中の細菌の多様性は、 2×10^6 を超えると推定されており、極めて多様性に富んでいることが知られている[5]。ここで今回、一般細菌の検出を目的とした標準寒天培地では、水深が10m以降の生菌数は、 $\sim 10^2$ cfu/mlと安定しており、高い清浄性が示された。しかし、マリン寒天培地を用いたとき、標準寒天培地の生菌数の50~100倍検出されている。富山湾は最深部1200m、深層水と呼ばれる富山湾固有水の資源量は、実に全体の9割である。今回の研究では、生菌数を調査対象とし、これまでの海洋細菌研究の報

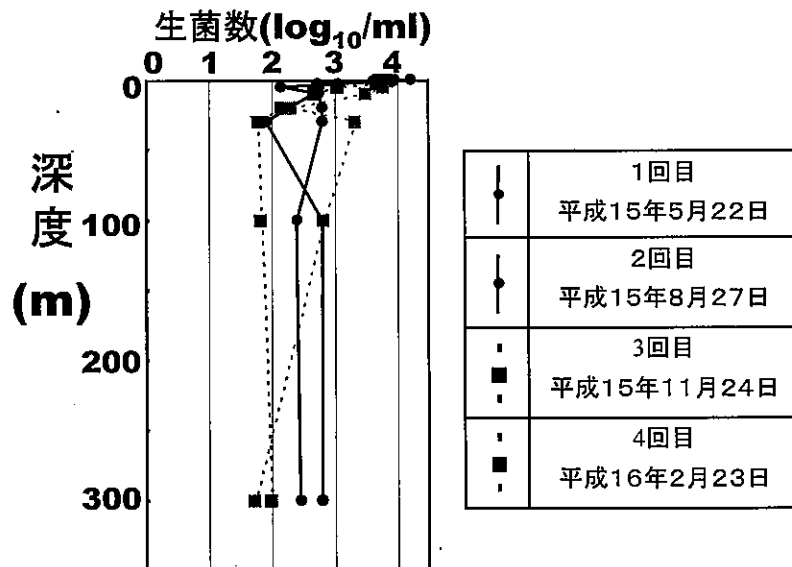


図2. 滑川沖海洋の生菌数の年次変化

生菌数は、マリン寒天培地を使用して、20℃、コンラージ法で測定した。

告と矛盾するものではなかった。しかし、富山湾は、ホタルイカの産卵、蜃気楼の出現、発光ゴカイの生息地という非常にユニークな特徴を持っていることが知られている。今回の結果から、富山湾にも海洋細菌が多数存在し、まだまだ発見されていない菌も生存している可能性も否定できない。さらに、その一部は生物学的に意義深いもの、バイオ技術上有用なものも存在するかもしれない。このような意味で今後も富山湾の海水を細菌学的視点から検証し、その特徴を記載していくという地道な研究が必要であると思われる。

文 献

1. 未発表
2. 沿岸環境調査マニュアルII [水質・微生物編] 日本海洋学会編 恒星社厚生閣, page 344,1990
3. 未発表 (富山県衛生研究所・細菌部 2003年)
4. Li, W.K.W., J.F. Jellet, and P.M. Dickie. 1995. DNA distributions in planktonic bacteria stained with TOTO or TO-PRO. *Limnol. Oceanography* 40:1485-1495
5. Curtis, T.P., W.T. Sloan, and J.W. Scannell. 2002. Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:10494-10499

鮮魚からの腸炎ビブリオの *tdh* 遺伝子検出

刑部陽宅 嶋 智子 田中大祐 木全恵子
磯部順子 香取幸治 綿引正則 永井美之

Detection of *tdh* Gene of *Vibrio parahaemolyticus* from Sea Fish

Yotaku GYOBU, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Keiko KIMATA, Junko ISOBE,
Koji KATORI, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI

要旨 食中毒防止に資する資料を得ることを目的として、6～9月の間に、市販されている富山湾産鮮魚について病原性腸炎ビブリオの *tdh* 遺伝子と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の検出を試みた。

結果 1) *tdh* 遺伝子は店舗 A で販売されている鮮魚から 8 月上旬まで検出されなかったが、8 月下旬～9 月上旬には 15 検体中 5 検体 (33%) から検出された。2) 8 店舗で販売されている氷見および魚津漁港産鮮魚からの *tdh* 遺伝子検出率は 8 月下旬に 16/40 (40%) と高く、9 月下旬に 0/40 (0%) と低かった。TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 は *tdh* 陽性の 16 検体について調べたが検出されなかった。

以上の結果は鮮魚の TDH 産生性菌汚染度は特に 8 月下旬～9 月上旬に高いことを示している。

富山県では、夏の食中毒防止を目的として、富山湾産の魚や富山県内の漁港における腸炎ビブリオの分布状況を調べてきた。これまで、本菌は多くの年で、6 月頃より魚にみられるようになり、7 月から 10 月にかけて多くなり、夏季にはほとんどの鮮魚から検出されること等が明らかになっている。しかし、魚から分離された菌株は他で報告されているように、下痢患者から分離される菌株の大部分を占める耐熱性溶血毒 (TDH) 産生菌と異なり海域に多く分布する TDH 非産生性菌であった [1]。

食中毒の原因となる TDH 産生菌は海域において多数の TDH 非産生性菌にまざり少数分布していることが知られている。しかし、これまで TDH 産生性菌を効率よく調べる方法はなかった。それ故、TDH 産生性腸炎ビブリオの生態は明らかになっていない。特に魚の汚染状況についての知見が多くなれば、本菌食中毒予防対策は更に前進すると思われる。

そこで、本研究では近年の新技术を導入し、富山県における魚の TDH 産生性腸炎ビブリオ汚染状況を調べた。

材料と方法

1. 検体

氷見漁港産と魚津漁港産の鮮魚 (ハマチ、アジ、カマス、イワシ、タイ、カワハギ、サバ、バイ貝、アンコウ、イカ、ハチメ、ワタリガニ、ソイ、ヒラタエビ、

ミギス、甘エビ、カレイ、ヒラメ、カツオ) を店頭で購入し検査した。氷見産鮮魚は 2 系列に分けて購入した。一方は平成 15 年 6 月 23 日～9 月 25 日の間、ほぼ隔週、小杉町の T スーパーマーケットの店舗 A で、1 回当たり 5 魚種 5 検体を購入し、他方は 8 月下旬と 9 月下旬に、射水郡と高岡市に点在する系列のことなるスーパーマーケット 4 店舗 (店舗 B, C, D) で 1 店当たり 5 魚種 5 検体を購入した。また、魚津産の鮮魚は 8 月下旬と 9 月下旬に、魚津市内のスーパーマーケット 4 店舗 (店舗 E, F, G, H) で 1 店当たり 5 魚種 5 検体を購入した。魚はいずれも販売時の発砲スチロールトレーにサランラップで包装された状態でクーラーボックスに入れ、冷却し検査室へ運び、購入当日に検査した。検体の多くは肉眼で検査当日の朝に水揚げされたと思われる鮮度であった。

2. 検査法

表面のサランラップを酒精綿で拭いてから開封した。1 検体につき、頭、エラおよびヒレ部分、併せて約 30 g を滅菌ハサミとピンセットで採取し、1000 ml のフラスコに入った 300 ml の 3% NaCl 含 Trypticase soy broth (TSB) に投入した。37°C、6 時間培養後、*tdh* (耐熱性溶血毒) 遺伝子を PCR 法で調べたが、*tdh* 遺伝子陽性検体については、さらに TSB 培養液の 0.5 ml を 10 ml のポリミキシンブイオン (栄研化学) に接種し、37°C 1 夜培養後、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の分離を免疫磁気ビーズ法により実施した。PCR 法と免疫磁気ビーズ法の手技は前報 [1] に示し

た。

結 果

1. 氷見漁港産鮮魚からの月別 *tdh* 遺伝子と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の検出状況

店舗 A で販売されている氷見漁港で水揚げされた鮮魚を2003年6月23日から9月25日にかけて調べたところ、Table 1 に示すごとく、腸炎ビブリオは6月には、検出されなかった。しかし、7月から検出され、以後9月末まで連続して検出された。検出頻度は毎回3/5から5/5であった。一方、*tdh* 遺伝子は8月初旬と9月下旬には菌が検出されているにも関わらず検出されなかったが、8月18日から9月8日にかけては検出された。検出頻度は各回、1/5～2/5であった。この間、TDH 産生性の腸炎ビブリオ O3:K6

は検出されなかった。

2. 8～9月の鮮魚からの *tdh* 遺伝子と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の検出

8月18日にA店の魚から *tdh* 遺伝子が検出されたので、他の店で販売されている鮮魚の腸炎ビブリオ汚染状況を氷見と魚津漁港産の鮮魚を対象に調べた。結果はTable 2 に示した。8月下旬の調査では、腸炎ビブリオは氷見産、魚津産に関係なく、調べた店舗各4店のすべてから1店舗につき、5検体中2から5検体の頻度で検出された。また *tdh* 遺伝子は氷見産の魚販売の4店舗の内2店舗から1店舗あたり2/5～4/5の頻度で検出され、魚津産の魚販売の4店舗の内、3店舗から1店舗あたり3/5～4/5の頻度で検出された。*tdh* 検出率は店舗により異なったが、産地別で見ると、氷見産より魚津産の鮮魚で高い傾向であった。

Table 1. Detection of *V.parahaemolyticus* and *tdh* gene from fish at shop A

Item	June		July		August			September	
	23	30	7	22	4	18	25	8	25
<i>V. para-</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>haemolyticus</i>	0/5	0/5	3/5	4/5	3/5	5/5	4/5	5/5	3/5*
<i>tdh</i> gene	-	-	-	-	-	+	+	+	-
	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	2/5	1/5	0/5
<i>tdh</i> * <i>V. p</i> O3:K6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*: No. of positive / No. of samples examined

Table 2. Detection of *V.parahaemolyticus* and *tdh* gene from fish at various shops

Shop (Production area of fish)	Late August		Late September	
	<i>V. p</i> *	<i>tdh</i> gene	<i>V. p</i>	<i>tdh</i> gene
A (Himi)	+	(4/5)	+	(2/5)
B (Himi)	+	(5/5)	+	(4/5)
C (Himi)	+	(4/5)	-	(0/5)
D (Himi)	+	(2/5)	-	(0/5)
E (Uozu)	+	(4/5)	+	(5/5)
F (Uozu)	+	(4/5)	+	(3/5)
G (Uozu)	+	(4/5)	+	(3/5)
H (Uozu)	+	(3/5)	-	(0/5)

* *V. parahaemolyticus*

** No. of positive / No. of samples examined.

平成16年10月1日

表には示さなかったが TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 は検出されなかった。一方、9 月下旬の調査では、8 月の時と同じ店で検体を採取したにも関わらず、*tdh* 遺伝子は調べた40検体のすべてから検出されなかった。

考 察

1979年から1989年にかけて富山県において実施された魚の腸炎ビブリオ調査では、7～9月に市販されている魚の腸炎ビブリオ汚染率は多くの年で70～90%であったことが示されている [1]。今回の調査では、2000年の魚の腸炎ビブリオ汚染度は1980年代と同様の傾向であった。

病原性のある TDH 産生性腸炎ビブリオの存在を示唆する *tdh* 遺伝子は1980年代には、検査手技がなく調べることが出来なかった。しかし、1990年代後半には、PCR 法で調べることが可能になった。また、TDH 産生性菌を効率的に分離する方法は1980年代にはなかったが、2001年に著者ら [2] は TDH 産生菌の培養、検出法の改善を報告した。今回、これらの手技を採用し、調査したところ、*tdh* 遺伝子は7月から8月初旬にかけて検出されず、8月下旬から9月下旬にかけて検出された。1992年には、7月上旬に氷見漁港海水から *tdh* 遺伝子が検出されている [3]。この検出時期に比べ、約1.5か月遅れていた。同様の時期に、他の店舗においても *tdh* 遺伝子が検出されるかどうかを知るため、8月下旬に、A 店を含む10店舗の魚について調査すると、氷見産の魚販売店では、5店舗の内2店舗から、魚津産の魚販売店では、4店舗の内3店舗から *tdh* 遺伝子が検出された。検出率は16/40 (40%) であった。国内では、長谷ら [4] が大阪市内の魚について、また、工藤ら [5] が国内各地の魚について調べ、それぞれ検出率 3/367 (0.8%)、33/329 (10%) であったとしている。一方、海外、特にアメリカでは、Cookら [6]、Blackstoneら [7]、DePaolaら [8] がカキを主とした貝類について調べ、それぞれ検出率 6%、61/131 (46.6%)、84/156 (21.8%)

であったと報告している。著者らの成績とこれら諸家 [4～8] の成績を直接比較することは、検査対象や検査法の相違から適当ではないが、検出率は Blackstoneら [7] の成績に似ている。少なくとも今回得られた結果は8月から9月にかけて市販されている魚の約半数には、鮮度が良くても、TDH 産生性腸炎ビブリオが付着していること示唆すると思われる。8～9月の多くの市販魚は TDH 産生菌の汚染を受けているとする観点からの衛生対策が必要であると考えられる。本調査では、魚への TDH 産生性腸炎ビブリオの出現時期が年次により、場所によりどのように変化するか明らかにできなかった。食中毒予防の基礎資料を得るには、今後、これらのことについてもデータの積み重ねが必要であろう。

文 献

1. 安井伊津子, 高田厚史 (1990). 富山衛研年報, 13, 123-127.
2. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村 敬 (2001). 日食微誌, 17, 5-10.
3. 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 (2003). 富山衛研年報, 26, 157-161.
4. 長谷 篤, 北瀬照代, 安川 章 (1997). 大阪市環科研報告, 59, 89-93.
5. 工藤由起子, 熊谷 進 (2003). 日食微誌, 20, 165-169.
6. Cook, DW. Browsers, JC. and DePaola, A. (2002). J. Food. Prot., 65, 1873-1880.
7. Blackstone, GM. Nordstrom, JL. Vickery, MC. Bowen, MD. Meyer, RF. and DePaola, A. (2003). J. Microbiol. Methods., 53, 149-155.
8. DePaola, A. Nordstrom, JC. Wells, JG. And Cook, DW. (2003). Appl. Environ. Microbiol., 69, 1521-1526.

富山県における腸炎ビブリオ食中毒発生と 魚の汚染度および気象との関係

刑部陽宅 磯部順子 田中大祐 永井美之

Relation of the Incidence of *Vibrio parahaemolyticus*
Food Poisoning to the Bacterial Contamination Levels
of Fish and Weather in Toyama Prefecture

Yotaku GYOBU, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA
and Yoshiyuki NAGAI

要旨 富山県における腸炎ビブリオ食中毒発生の年次変動の原因を明らかにする目的で本菌食中毒の発生数が多い年と少ない年の7～8月の気温、降雨量、海水温ならびに魚の腸炎ビブリオ汚染度の比較を行った。その結果、以下の結論を得た。1) 腸炎ビブリオ食中毒発生数の多い年と少ない年では、気温あるいは海水温に関して差は認められなかった。降雨量に関しても明確な差は認められなかった。2) 食中毒発生数の少ない年の魚の腸炎ビブリオ汚染度は食中毒発生数の多い年のそれに較べて約1/10倍と低かった。しかし、食中毒発生数が多い年と普通の年では、魚の腸炎ビブリオ汚染に関し大きな差は認められなかった。

富山県の食中毒統計によれば、腸炎ビブリオ食中毒は全国と同様、事件数、患者数で原因物質の1～2位を占めている。このため、富山県における食中毒予防の重点項目の一つは腸炎ビブリオ対策であるとして、県は1979年より1995年までは市販魚介類について調査を実施し、平成8年からは『VP マリン実態調査』として県内の漁港海水、海泥中の腸炎ビブリオの定量調査を実施してきた。これまで、本菌は6月頃より水温上昇とともに海水や魚に出現し8～9月に最も多くなるが、食中毒発生数は年次により変動すること等が明らかになっている。

本菌食中毒の多い年が事前に予測できれば、従来よりも有効な対策が実施可能であることから、食品衛生関係者の予測に関する関心は高い。過去には食中毒発生と気温、海水温などを調べた報告 [1, 2, 3] がみられる。しかし、本菌食中毒の発生を確率高く予測する指標は報告されていない。予測指標はそれぞれの地方において、発生要因の解析を行うことの集積によって得られるのではないかと考えられる。このことから、本研究ではこれまで富山県において実施し、得られた調査データから食中毒発生と気象あるいは魚の本菌汚染の関係を解析した。

材料と方法

1. 調査法と調査資料の収集

(1) 富山県における腸炎ビブリオ食中毒発生数：厚生センターおよび富山市保健所へ届けられた事件数と厚生センター、富山市保健所および病院でヒトより分離された腸炎ビブリオ菌株数で表示した。前者は県厚生部が発行する富山県食中毒事件録で調べ、後者は富山県衛生研究所が県内すべての保健所と10か所の公立病院に対して行った情報収集を記録した富山県衛生研究所年報(6～26号)で調べた。後者には散発的発生と集団発生例が含まれている。

(2) 富山県における気温、降雨量、海水温：気温と降雨量は気象官署の気象年表(昭和57～平成15年)で調べた。一方、海水温は1996～2003年の間、富山県のVP マリン事業の一環として、県内の4漁港(生地、魚津、新湊、氷見)で測定した。

2. 魚の腸炎ビブリオ汚染状況：富山県衛生研究所が1979～1995年の間、富山市内と高岡市内の魚店で販売されている富山湾産の鮮魚(アジ、カレイ、ハマチ、シマダイ、カマス、イカ、ミギス、シイラ、タイ、カツオ、キス、カサゴ、エビ、タチウオ、トビウオ、メジナ、オコゼ、タナゴ、タラ、ハチメ、コチ、イワシ等)について調べた。検査法は前報 [4] に示されるが、検査数は年間40～78検体、月別では、6月8～18、7月12～24、8月～10月5～12検体/月であった。一方、検査結果はその検査法がMPN法であること

から10g当りの菌数とし、対数値で示したが、月別の魚の腸炎ビブリオ汚染度は検査した月の全検体の平均値で示した。

結 果

1. 富山県における1982～2003年の腸炎ビブリオ食中毒の年次推移

Figure1 に示すごとく、県へ届けられた腸炎ビブリオ食中毒事例数は年次によって大きく変動した。1982～2003年の22年間の内、8年間（1982, 1992, 1993, 1996, 1999, 2000, 2001および2002年）は年間1～2件と少なく、5年間（1985, 1986, 1989, 1995および1998年）は年間9～11件と多かった。保健所と病院での下痢患者からの分離菌株数でも、事例数の多い1989, 1995, 1998年の菌株数は多く、事件数の少ない1992, 1993, 2000, 2002の菌株数は少なかった。この結果より食中毒の多い年として、1985, 1986, 1989, 1995, 1998の5か年、少ない年として、1982, 1992, 1993, 2000, 2002年の5か年、普通の年として1884, 1887, 1988, 1991, 1994年の5か年を選び、以下、食中毒発生要因の解析を行った。

2. 食中毒の多い年と少ない年の気温の比較

気温と本菌食中毒発生との関係を明らかにするため

食中毒の多い年と少ない年の気温を比較した。Table 1にみられるように、食中毒の多い5か年間の7, 8, 9月の平均気温はそれぞれ24.1, 26.7, 22.0℃, 少ない5か年間の7, 8, 9月の平均気温はそれぞれ25, 26, 21.6℃であった、食中毒の多い年と少ない年の間に平均気温の差は認められなかった。

3. 食中毒の多い年と少ない年の降雨量の比較

食中毒発生数と降雨量の関係を明らかにするため食中毒の多い年（1985, 1986, 1989, 1995, 1998年の5か年）と少ない年（1982, 1992, 1993, 2000, 2002年の5か年）の降雨量を比較した、Table 2に示すごとく、食中毒の多い年の7, 8, 9月の平均降雨量はそれぞれ316, 222, 283mm、食中毒の少ない年の7, 8, 9月の平均降雨量はそれぞれ188, 153, 205mmであった。食中毒の多い年は少ない年に較べ降雨量は平均値で約1.5倍であった。しかし、食中毒の多い年でも降雨量が少ない年、食中毒の少ない年でも降雨量の多い年がみられ、降雨量と食中毒の関係は平行しなかった。また、食中毒発生数が少ない年と普通の年では降雨量に差は認められなかった。

4. 食中毒の多い年と少ない年の海水温の比較

海水温は1996～2003年の間、漁港海水について調べたので、この期間内に食中毒が多かった1998年と少なかった2000年を選び海水温を比較した。Table 3に示すごとく、食中毒が多い1998年の4漁港の7, 8,

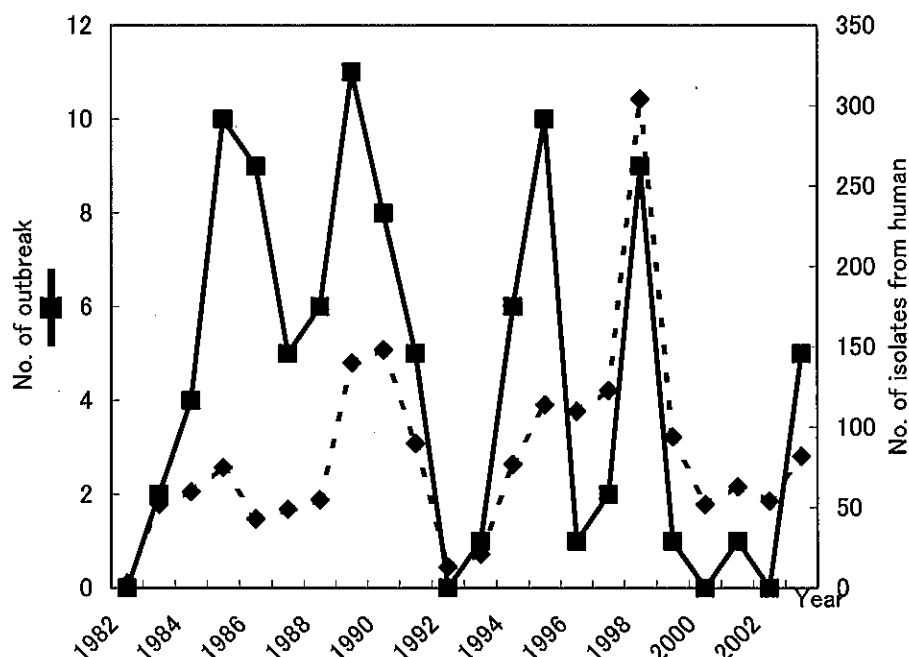


Figure 1. Yearly incidence of *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning in Toyama prefecture

考 察

9月の平均海水温はそれぞれ23.0, 25.3, 22.8°C, 食中毒の少ない2000年の7, 8, 9月の平均海水温はそれぞれ25.5, 28.3, 25.6°Cであった. 食中毒の多い年と少ない年で海水温に差は認められなかった.

5. 食中毒の多い年と少ない年における魚の腸炎ビブリオ汚染度の比較

魚の腸炎ビブリオ検査は1979から1995年まで, 毎年, 年間25検体以上について実施された. そこで, この期間内に食中毒が多かった年(1985, 1986, 1989), 少なかった年(1982, 1992, 1993), 普通の年(1884, 1887, 1991年)を選び, 三者の魚の汚染度を比較した. 結果はTable 4に示した. 検出率で見ると, 腸炎ビブリオは食中毒の多い年と普通の年には6月時点で, 既に33~36%の検体から検出され, 7月~9月には70~95%の検体から検出された. 一方, 食中毒の少ない年には6月に腸炎ビブリオは検出されず, 7月~9月にかけて54~64%から検出された. その菌数レベル(100gあたりの対数値)は, 食中毒の多い年には7, 8, 9月にそれぞれ2.3, 3.26, 3.04であるのに対して, 少ない年には7, 8, 9月にそれぞれ1.12, 1.65, 1.3と食中毒多発の年は少ない年に比べ菌数が約10倍多かった.

腸炎ビブリオは海域や汽水域に分布し, 6月頃から水温の上昇とともに増殖し, 水揚げされる多くの魚に付着して上陸し, ヒト社会と接している. 食中毒はヒトがこの腸炎ビブリオの内, 病原性のある耐熱性溶血毒(TDH)や耐熱性溶血毒類似毒素(TRH)産生菌汚染食品を喫食した時に起きる. 発生数は年次により変動しており, それには何らかの背景があると思われる.

この食中毒発生数年次変動の要因について, 食中毒発生予防三原則「食品に病原菌を①つけない ②増やさない③殺す」の①から検証すると, 本菌は海域に分布しているため魚への菌の付着を完全に防ぐことは出来ない. 店舗の魚の腸炎ビブリオ汚染度は魚の生息環境や魚の運搬, 流通環境の腸炎ビブリオ菌数を反映していると思われる. 細呂木ら[5]は富山県では, 漁港における本菌の菌数は食中毒が多発した1998年の方が食中毒の少なかった年に比べ著しく高かったと述べている. 本調査では, 更に, 魚の腸炎ビブリオ汚染菌数は食中毒が少ない年の方が高い年に比べ1/10以下と少ないこと, また, 6月段階で魚に腸炎ビブリオ検出率が低い年次には, 食中毒が少ないことが明らか

Table 1. Comparison of temperature between frequent years and infrequent years in the incidence of *V.parahaemolyticus* food poisoning

Food poisoning year	Temperature					
	May	Jun	Jul	Aug	Sept	
Frequent incidence	1985	17.4	19.8	24.3	28.7	21.9
	1986	15.9	19.7	22.2	26.2	21.8
	1989	16.7	19.9	24.0	25.4	21.8
	1995	16.6	19.3	25.0	27.7	21.0
	1998	18.6	20.7	25.2	25.5	23.3
	Average	17.0	19.9	24.1	26.7	22.0
Infrequent incidence	1982	18.3	19.8	23.6	25.3	20.5
	1992	15.1	19.9	24.6	26.1	21.9
	1993	15.7	19.7	23.2	23.3	20.4
	2000	17.6	21.4	27.0	28.1	23.5
	2002	16.9	21.1	26.4	27.2	22.6
	Average	16.7	20.4	25.0	26.0	21.8
Normal incidence	1984	15.7	21.7	25.4	27.5	21.7
	1987	16.9	21.2	25.4	25.7	22.0
	1988	15.6	20.2	22.6	25.9	21.8
	1991	16.5	22.1	24.8	24.0	22.5
	1994	17.9	20.7	26.9	29.1	23.3
	Average	16.5	21.2	25.0	26.4	22.3

になった。窪田ら [6] によれば、静岡県では、アサリの漬け水への本菌の出現時期が早かった年、その菌数が105/100mlを越えたときに食中毒発生が多かった。これらを考え合わせると、食中毒の少ない年には、店舗や魚の腸炎ビブリオ汚染が時期的に遅れ、その汚染菌数も少ないと考えられる。しかし、食中毒の発生が多い年と普通の年の差は魚の汚染菌数レベルで説明することは出来ない。詳細は次報で述べるが、漁港海水における tdh 遺伝子の MPN は腸炎ビブリオ数が一定でも年次により漁港により異なること等が著者ら

の調査で明らかになっている。食中毒発生数が多い年と普通の年の差を説明するには、海域や魚における TDH 産生菌の濃度について調査し検証する必要がある。

一方、前述の三原則の②から検証すると、この菌は好適な条件下で世代時間が7.5分と著しく増殖が早いことから、気温が食中毒に深く関与すると考えられる。しかし、気温の高い夏季に本菌食中毒が多いという事実、また、本菌食中毒は発生1～3日前の気温が高い時に多いとする報告 [3] はあっても、広い意味

Table 2. Comparison of rainfall between frequent years and infrequent years in the incidence of *V.parahaemolyticus* food poisoning

Food poisoning	Year	The amount of rainfall			
		Jun	Jul	Aug	Sep
Frequent incidence	1985	351	441	15	351*
	1986	147	232	156	200
	1989	94	211	130	481
	1995	116	536	176	80
	1998	135	161	630	303
	Average	169	316	222	283
Infrequent incidence	1982	132	115	178	191
	1992	185	113	137	92
	1993	179	283	328	243
	2000	197	65	39	287
	2002	117	363	83	210
	Average	162	188	153	205
Normal incidence	1984	212	281	33	166
	1987	113	151	159	158
	1988	205	238	126	338
	1991	328	274	276	130
	1994	50	29	18	208
	Average	182	195	122	200

* : mm

Table 3. Comparison of seawater temperature between frequent year and infrequent year in the incidence of *V.parahaemolyticus* food poisoning

Fishing port	Frequent year (1998)			Infrequent year (2000)		
	Jul	Aug	Sep	Jul	Aug	Sep
Ikuji	19.5*	22.0	18.0	21.5	23.0	20.5
Uozu	23.5	26.0	22.3	26.0	28.0	26.0
Shirminato	25.8	25.3	24.5	27.0	31.0	28.0
Himi	23.3	28.0	26.5	27.5	31.0	28.0
Average	23.0	25.3	22.8	25.5	28.3	25.6

* : Seawater temperature (°C)

Table 4. Comparison of isolation of *V. parahaemolyticus* from fish between frequent years and infrequent years in the incidence of *V. parahaemolyticus* food poisoning

Food poisoning incidence	Year	Isolation frequency of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> from fish					No. of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> in fish (log/100g)				
		Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct
Frequent incidence	1985	6/12	15/21	10/12	10/12	7/12*	1.22	2.39	2.41	2.45	1.49
	1986	3/12	13/24	10/12	11/12	12/12	0.41	2.1	3.55	2.8	3.26
	1989	6/18	20/24	12/12	12/12	11/12	0.96	2.6	3.81	3.86	2.64
	Average	15/42 (36%)	48/69 (70%)	32/36 (89%)	33/36 (92%)	20/36 (56%)	0.86	2.36	3.26	3.04	2.46
Infrequent incidence	1982	0/11	7/20	5/12	7/12	7/12	0.0	0.82	0.95	1.37	1.3
	1992	0/8	2/8	5/8	6/8	5/8	0.0	0.18	1.3	1.5	1.48
	1993	N.E	10/10	5/5	2/5	5/5	N.E	2.35	2.69	1.03	2.45
	Average	0/19 (0%)	19/38 (50%)	15/25 (60%)	16/25 (64%)	17/25 (68%)	0.0	1.12	1.65	1.30	1.74
Normal incidence	1984	7/12	15/24	11/12	9/12	8/12	1.25	2.19	2.76	1.64	2.18
	1987	2/12	20/23	10/12	11/12	2/12	0.25	2.73	3.17	3.59	3.31
	1991	3/12	7/12	11/12	12/12	10/12	0.39	1.48	2.38	2.75	1.99
	Average	12/36 (33%)	54/59 (95%)	32/36 (89%)	32/36 (89%)	20/36 (56%)	0.63	2.13	2.77	2.66	2.49

* : No. of positive / No. of samples examined (%)

で、平均気温の年次変動と本菌食中毒発生の年次変動が密接に関連しているとする報告はみあたらない。今回の解析でも、食中毒が多い年と少ない年で平均気温に差が認められなかった。7～9月の平均気温から発生数の年次変動を説明することは出来ない。同様の理由で海水温から発生数の年次変動を説明することは出来ない。

雨が多く降った後に河口に分布する腸炎ビブリオは外洋へ流れ出るとされている。しかし、今回の解析では降雨量の多い年は必ずしも食中毒は多くなかった。このことは降雨量が食中毒発生を予測する良い指標にならないことを示唆するものであろう。

富山県では本菌食中毒発生数が少ない年には、魚の腸炎ビブリオ汚染度が低い、発生数が多い年と普通の年は魚の腸炎ビブリオ汚染度だけで説明することは出来なかった。多発を確率良く予測する指標を得るには、更に多くの調査が必要である。

謝 辞

鮮魚の腸炎ビブリオ検査は1979～1995年の間に富山県衛生研究所、細菌部に所属した児玉博英、山崎茂

一、畑 祥子、井山洋子、園家敏雄、松井憂実、久保義博、高田厚史、安井伊津子、徳満尚子、細呂木志保他によって行われた、また、検体採取計画は県庁で作成され、採取は富山および高岡厚生センターの衛生課に勤務した県職員によって行われ、その成績を利用して戴きましたことに深謝します。

文 献

1. 宮本 泰, 小金井正一 (1970). メデイヤ・サークル, 16, 66-68
2. 村田銀蔵, (1981). 感染症誌, 55, 649-662.
3. 森 直代, 荒記俊一, 横山和仁, 伊藤 武 (1998). 日食微誌, 14, 193-198.
4. 山崎茂一, 刑部陽宅, 井山洋子, 荒井優実, 安藤良吉, 林 徹雄, 小西鉄作, 長瀬 章, 吉本善次郎, 荒木 宏 (1977). 北陸公衛誌, 4, 51-57.
5. 細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 刑部陽宅, 北村 敬 (2000). 食品衛生研究, 50, 91-95.
6. 窪田 勉 (1997). 静岡県環境衛生科学研究所報告, 40, 1-4.

富山県における腸炎ビブリオ食中毒の発生と漁港海水 における腸炎ビブリオの分布との関連性

刑部陽宅 細呂木志保¹ 嶋 智子 田中大祐 木全恵子
香取幸治 磯部順子 綿引正則 永井美之

Relationship between the Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* Food
Poisoning and the Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in
Seawater of Fishing Ports in Toyama Prefecture

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI¹, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA,
Keiko KIMATA, Koji KATORI, Junko ISOBE,
Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI

要旨 富山県における腸炎ビブリオ食中毒発生の年次変動と漁港における腸炎ビブリオの動態との関連性を明らかにする目的で、富山県内の5漁港海水中の腸炎ビブリオ、耐熱性溶血毒(TDH)産生性腸炎ビブリオ O3:K6 および TDH をコードする *tdh* 遺伝子について、それぞれ菌数、免疫磁気ビーズ法による検出率および PCR 法による検出率を、主に1999~2003の間、毎年6~11月に調べた。結果、1) 漁港における6月下旬~9月下旬の腸炎ビブリオ数は食中毒が多発した1998年には多くの漁港で2.1(対数値)/100mlと多かったが、食中毒発生数の少ない他の年には、1.0~1.5(対数値)/100mlと少なかった。2) 1999~2003年の間、多くの漁港では、腸炎ビブリオ数に大きな変動は認められなかったが、その海水からの *tdh* と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率は変動し、*tdh* 検出率は2000年から2003年にかけて上昇傾向であった。富山県における食中毒発生数も増加傾向であった。3) 漁港海水からの *tdh* 検出率は6月が11%、7月が45%、8~9月が56~61%、10月が20%と7~9月に高かった。TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率も、6月が2%、7~9月が12~18%、10月が3%と7~9月に高かった。4) 漁港海水からの *tdh* 検出率は海水100mlあたり腸炎ビブリオ数が10以下で40/96(42%)、 10^{1-2} で57/145(39%)、 10^{2-3} で19/32(59%)と、菌数が多いときに高かった。

以上の結果から、腸炎ビブリオによる食中毒発生には、菌数よりも TDH 産生菌あるいは *tdh* 遺伝子の存在量を知ることが重要であると考えられた。今後、詳細な研究を行うことによりこの関連性を検証することが必要であろう。

食中毒統計によれば、富山県における腸炎ビブリオ食中毒は全国におけると同様、事件数、患者数で原因物質の1~2位を占め、その発生数は年次により変動している。このため、富山県では、腸炎ビブリオは食中毒予防の重点項目の一つとなっている。

腸炎ビブリオ食中毒の多い年が事前に予測できるなら、従来よりも有効な対策が実施可能であることから、食品衛生関係者の予測に対する関心は高い。過去には、食中毒発生と気温、水温、降雨量などの関係が調べられ報告されている[1, 2, 3, 4]。しかし、広く受け入れられている本菌食中毒の発生を確率高く予測する

指標は、病原性腸炎ビブリオ検査法がなかったことなどから見出されていない。予測指標はそれぞれの地方において、各種の発生要因の解析を行うことの集積によって得られるのではないかと考えられる。そこで、本研究では、本菌食中毒は主に魚介類によって起こり、魚介類の腸炎ビブリオは海水と関連深いこと、また、富山県では富山湾産の魚の消費量が約60%と高いことから漁港における耐熱性溶血毒(TDH)産生性腸炎ビブリオに着目し、その動向が富山県における食中毒発生予測の良い指標として利用できるかどうかを明らかにすることとした。

1 富山県立中央病院

材料と方法

1. 調査場所と期間

調査は Fig. 1 に示す富山県内の主要5漁港 (I, U, Y, S, H) で行った。漁港海水は毎年6~11月の間、原則として、月2回 (前半と後半)、上層を柄杓で採取した。1996年から1998年までは、腸炎ビブリオ数のみを調べたが、1999年から2003年までは腸炎ビブリオ数の他に、*tdh* 遺伝子 (*tdh*)、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 を調べた。

2. 腸炎ビブリオ数の測定

前報 [5] によった。

3. 海水からの TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の検出

海水は1000mlを0.45 μmのメンブランフィルターで濾過した。濾過フィルターは100mlの3% NaCl 食塩含 Trypticase soy broth (BBL社)、37°Cで6時間培養し、4°Cに10~16時間おいた (ヤマト製タイマー孵卵器)。次に、PCR 法で *tdh* を調べ、陽性検体について、その0.5mlを10mlの食塩ポリミキシンブイヨ

ン (ニッスイ) に移植し、37°Cで6時間培養した。以下、前報 [6] に従って免疫磁気ビーズ処理し菌分離を行った。

4. 海水からの *tdh* 遺伝子の検出

前報 [7] によった。

5. 海水から分離した腸炎ビブリオの DNA 分析

海水から分離した腸炎ビブリオ O3:K6 が新型クローンかどうかの確認は Matumoto ら [8] の PCR 法 (group-specific PCR) によった。また、ヒト由来株とのクローンの相同性は前報 [6] に示したパルスフィールドゲル電気泳動で調べた。

6. 食中毒発生数

富山県内でヒトより分離された腸炎ビブリオ菌株数で表示した。菌株数は富山県内のすべての厚生センターと主な10か所の公立病院の細菌検査室に対して情報収集を行い調べた。集団および散発的の発生例が含まれている。

7. 結果の集計法

(1) 腸炎ビブリオ数：検査で得られた成績 (菌数) はそれぞれ対数変換し、100mlあたりの数値とした。月別集計については、調べた5漁港6~11月の成績から、年次別集計については、5漁港6月下旬~10月の成績から、また、漁港別集計については、6月下旬~10月の成績から得た。

(2) *tdh* 検出率と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率：1999年については6月下旬~9月の成績、2000年については6~11月の間の成績をもとに算出した。

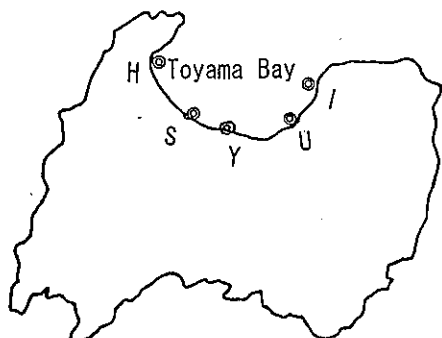


Fig.1. Location of fishing port for sampling in Toyama Prefecture

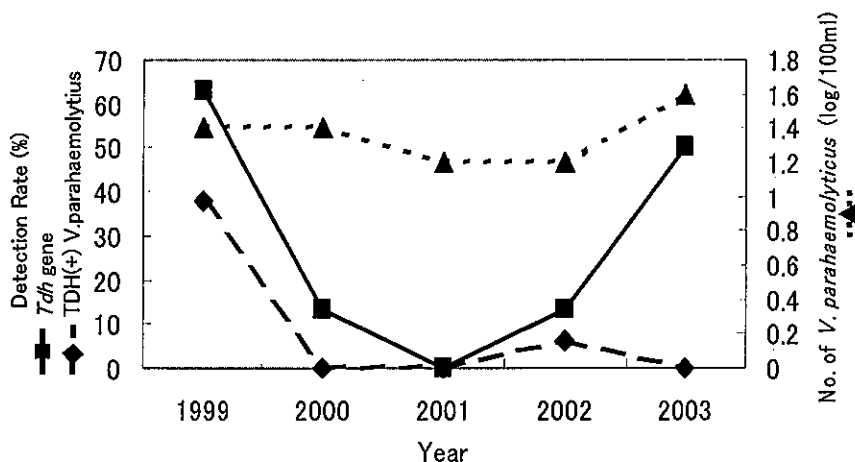


Fig.2. Yearly distribution of *V. parahaemolyticus* in I fishing port

結 果

1. 富山県主要漁港海水における腸炎ビブリオ数, *tdh*, TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の年次分布
 漁港海水からの腸炎ビブリオ, *tdh* および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の検出状況は漁港により, 年次により以下のごとく異なった。

(1) I 漁港

腸炎ビブリオ数は1999年から2003年の間, 1.2~1.6 (対数値)/100mlと年次により大きく変動しなかった。しかし, *tdh* 検出率は1999年に63%であったが, 2000~2002年には0~13%, 2003年には50%と年次により大きく変動した。TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率も, 1999年に38%と高かったが, 2001~2003年には0~6%と低く, 年次により異なった (Fig. 2)。

(2) U 漁港

腸炎ビブリオは1999年には1.5 (対数値)/100mlと

多かったが, その後減少し, 2002~2003年には0.6~0.9 (対数値)/100mlと1999年より少なかった。一方, *tdh* 検出率は1999~2001年の間, 38~50%であったが, その後高くなり, 2003年には88%であった。腸炎ビブリオ数と *tdh* 検出率は相関しなかった。また, TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率は1999, 2001, 2002年には0~13%, 2000と2003年には0%と年次変動し腸炎ビブリオ総数あるいは *tdh* 検出率と必ずしも相関しなかった (Fig. 3)。

(3) Y 漁港

腸炎ビブリオ数は調査した2000~2003年の間, 2001年は1 (対数値)/100mlと少なかったが, 他の年では1.3~1.6 (対数値)/100mlとあまり変動しなかった。*tdh* 検出率は2000~2001年には13%と高くなかったが, 2002年には31%, 2003年には44%と年々上昇した。一方, TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 は2000年には25%と高率に検出されたが, 2000年と2003年

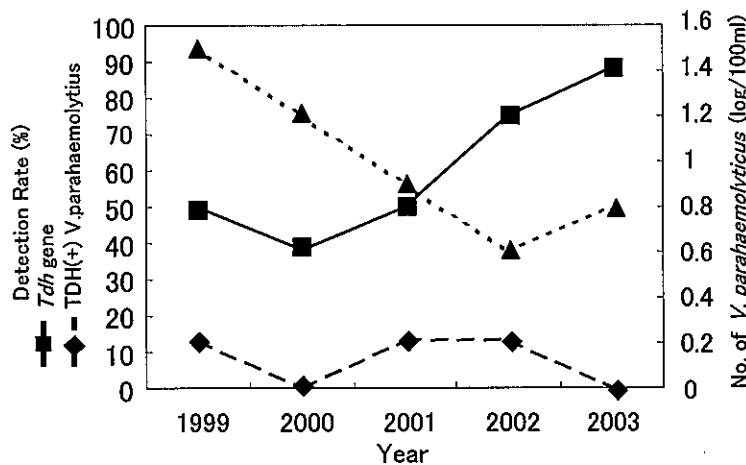


Fig. 3. Yearly distribution of *V. parahaemolyticus* in U fishing port

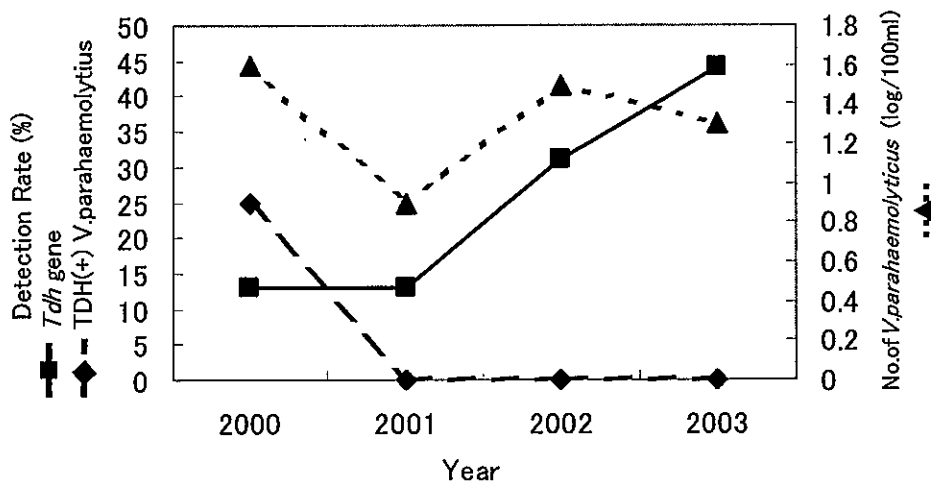


Fig. 4. Yearly distribution of *V. parahaemolyticus* in Y fishing port

には検出されなかった (Fig. 4).

(4) S 漁港

腸炎ビブリオ数は1999~2003年の5年間, 1.2~1.7 (対数値)/100mlの範囲で年次によって大きく変動しなかった. *tdh* 遺伝子検出率も2000年を除き44~65%の範囲で大きく変動しなかった. しかし, TDH産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率は1999年には38%と高く, 2001~2003年には6~13%であった (Fig. 5).

(5) H 漁港

腸炎ビブリオ数は1999, 2000および2003年には1.2 (対数値)/100ml, 2001と2003年には0.8 (対数値)/100mlと年次によって大きく変動しなかった. *tdh* 検出率も1999年には25%, その後2002から2003年までは44~63%と大きく変動しなかった. 一方, TDH産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率は年次により異なり, 2000と2001年には0%と低かったが, 2002と2003年には6~25%であった (Fig. 6).

(6) 全漁港

富山県内の漁港海水における腸炎ビブリオの動向を総合的に把握するため調査したI, U, Y, S, Hの各漁港の成績 (数値) を合計し平均値を求め, 年次推移として示した. 結果は Fig. 7 にみられるごとく, 腸炎ビブリオ数は1999年から2003年にかけて少しずつ減少の傾向であったが, *tdh* 検出率は1999年から2000年にかけて50%から23%と低下するも, その後は上昇し2003年には53%であった. また, TDH産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率は1999年には25%と高かったが, 2000~2003年には3~11%とあまり高くなかった.

2. 富山県における食中毒と漁港海水における腸炎ビブリオの年次推移

腸炎ビブリオ数は5漁港の平均値でみると, 1996~1997年は1.3~1.6 (対数値)/100mlであったが,

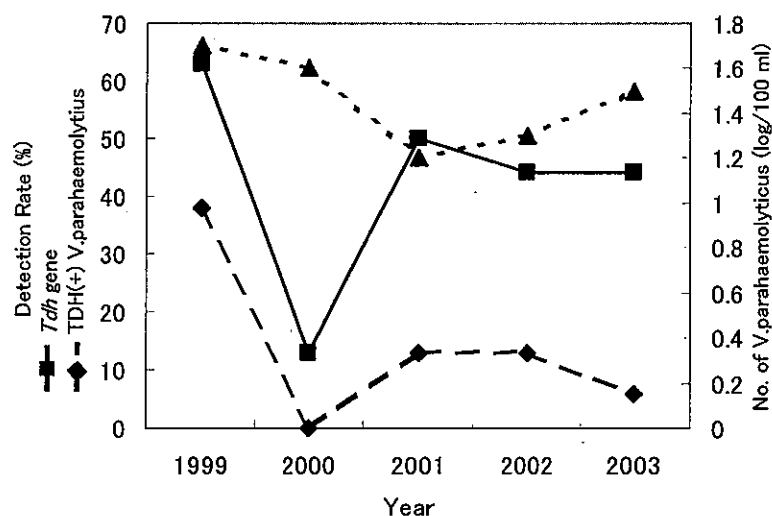


Fig. 5. Yearly distribution of *V. parahaemolyticus* in S fishing port

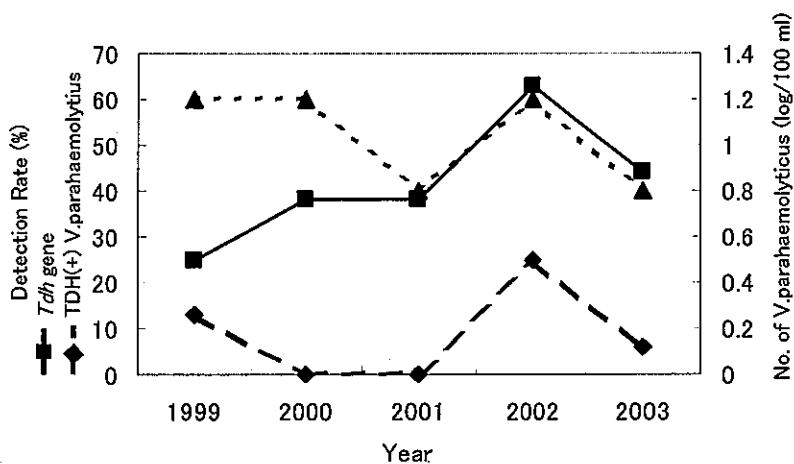


Fig. 6. Yearly distribution of *V. parahaemolyticus* in H fishing port

1998年には2.1 (対数値)/100mlと著しく多かった。しかし、その後1999から2003年は、1.0~1.5 (対数値)/100mlとあまり多くなかった。一方、食中毒はヒトから分離された菌株数でみると、1996と1997年には110~123株/年、1998年には304株/年と極めて多かった。しかし、その後の1998~2003年の間は63~94株/年と少なかった。海水中の腸炎ビブリオ数と食中毒発生数は関連する傾向であった (Fig. 8)。

3. 漁港海水からの *tdh* 検出率の月別推移

tdh 検出率は6月上旬には、2/30 (7%) と低かった。しかし、6月下旬が5/34 (15%)、7月下旬が18/34 (53%) と、6月から7月下旬にかけて高くなり、7月下旬から9月下旬までは、47~59%と比較的安定して高かった。その後、10月に入ると20%と低下し、11月には検出されなかった。6月の検出は調査した

1999~2003年の間、2003年のみであった (Table 1)。表示しなかったが、海水温は多くの漁港で6月初旬から7月下旬にかけて19~22°Cから24~26°Cへと上昇し、8、9月は22~26°Cの範囲であった。また100ml中の腸炎ビブリオ数 (対数値) は5漁港の平均値で、6月が0.5、7月1.3、8月1.6、9月1.8と9月に最も多く、10~11月も、なお1.4~1.5であった。

4. 富山県における食中毒と漁港海水からの *tdh* 検出率の年次推移

Fig. 9 に示すごとく、富山県内の漁港海水からの *tdh* 遺伝子検出率は5漁港の平均値でみると、1999年には50%であったが、2000年には26%と低下した。しかし、その後は年々高くなり2003年には45%であった。一方、食中毒発生数をヒトから分離された菌株数でみると、1999年には94株と多かったが、2000~2002

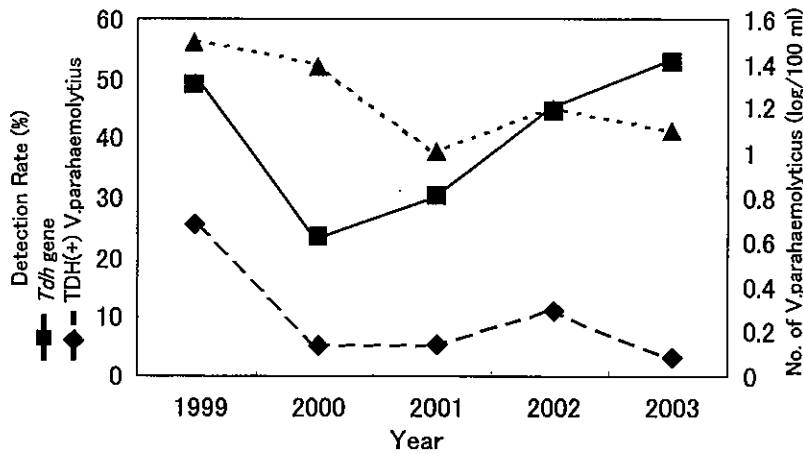


Fig. 7. Yearly distribution of *V. parahaemolyticus* in five fishing ports

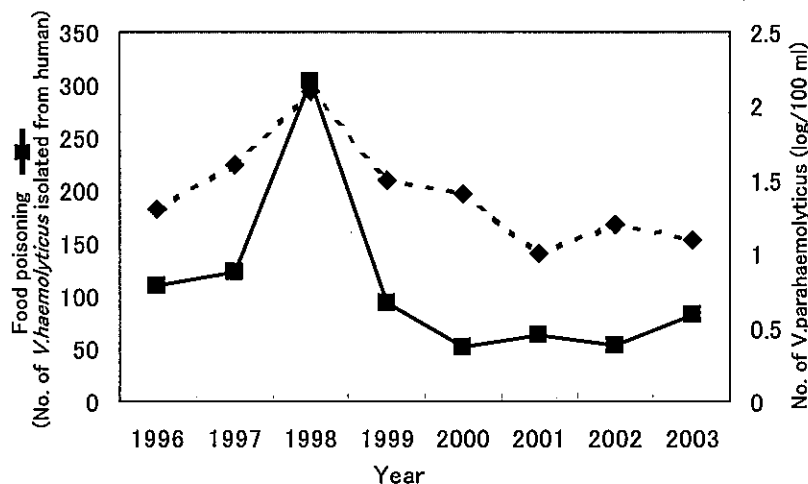


Fig 8. Relationship between the distribution of *V. parahaemolyticus* in seawater of fishing port and the incidence of food poisoning

年は52~63株であった。2003年は、また82株であった。従って、海水からの *tdh* 検出率と食中毒発症数はよく相関していると考えられる。

5. 富山県における食中毒と漁港海水からの TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率の年次推移

富山県内5漁港海水からの TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率は、1998年には40% (調査検体数; 10), 1999年には25%, 2000年には5%と、その後は年々低くなり、以後2003年まで3~11%と低率で推移した。一方、食中毒発症数をヒトからの分離菌株数で見ると、1998年には304株と多く、以後1999年には94株、2000年には52株と減少し、2001~2002年には52~82株/年と推移した。海水中の TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率と食中毒発症数はよく相関していると考えられる (Fig. 10)。

6. 漁港海水における腸炎ビブリオ数と *tdh* の関係

漁港海水中の腸炎ビブリオ数と *tdh* 遺伝子検出との関係を1999~2003年の間に得られた結果から求めた (Table 1, 2)。Table 2 は漁港ごとに集計した結果を示しており、海水100ml中の腸炎ビブリオ数が10以下の場合に、*tdh* 検出率が40/96 (42%)、 10^{1-2} の場合に検出率57/145 (39%) と、10以下と 10^{1-2} で検出率に差は認められなかった。しかし、腸炎ビブリオ菌数が 10^{2-3} /100mlと多い場合には、*tdh* 検出率は19/32 (59%) と高かった。

7. 漁港海水における腸炎ビブリオ数と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の関係

海水中の腸炎ビブリオ数と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率の関係を1999~2003年の調査結果から求めた。Table 3 に示すごとく、100ml中の腸炎ビブリオ数が10以下の場合に TDH 産生性腸炎ビブリオ

Table 1. Monthly distribution of *tdh* gene in seawater of fishing ports

Year	Jun		Jul		Aug		Sep		Oct	Nov
	F*	L**	F	L	F	L	F	L	F	F
1999		1/4	1/4	2/4	3/4	3/4	2/4	2/4	N.T	N.T
2000	0/5	0/5	1/5	4/5	4/5	2/5	0/5	2/5	0/5	0/5
2001	0/5	0/5	1/5	2/5	2/5	1/5	1/5	2/5	1/5	0/5
2002	0/10	0/10	2/10	4/10	5/10	7/10	5/10	7/10	4/10	0/10
2003	2/10	4/10	6/10	6/10	5/10	6/10	8/10	7/10	1/10	0/10
Total	2/30 (7%)	5/34 (15%)	11/34 (32%)	18/34 (53%)	19/34 (56%)	19/34 (56%)	16/34 (47%)	20/34 (59%)	6/30 (20%)	0/30 (0%)

* The first half. ** The later half

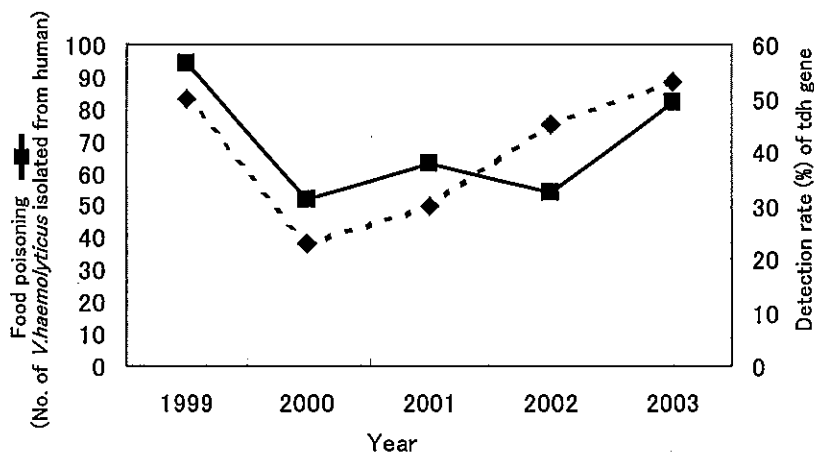


Fig. 9. Relationship between distribution of *V. parahaemolyticus* in seawater of fishing ports and incidence of food poisoning

O3:K6 検出率が 7/115 (6%), $10^{1\sim2}$ の場合に検出率が 11/130 (8%) と 10 以下と $10^{1\sim2}$ では検出率に大きな差は認められなかった。しかし、菌数が $10^{2\sim3}/100$ ml と多い場合には、検出率は 5/28 (18%) と高かった。

8. 漁港海水より分離された腸炎ビブリオ O3:K6 のパルスフィールドゲル電気泳動

1998年に漁港海水から分離された腸炎ビブリオ O3:K6 のパルスフィールドゲル電気泳動は前報 [1] に示した。その後分離された海水由来10株、ヒト由

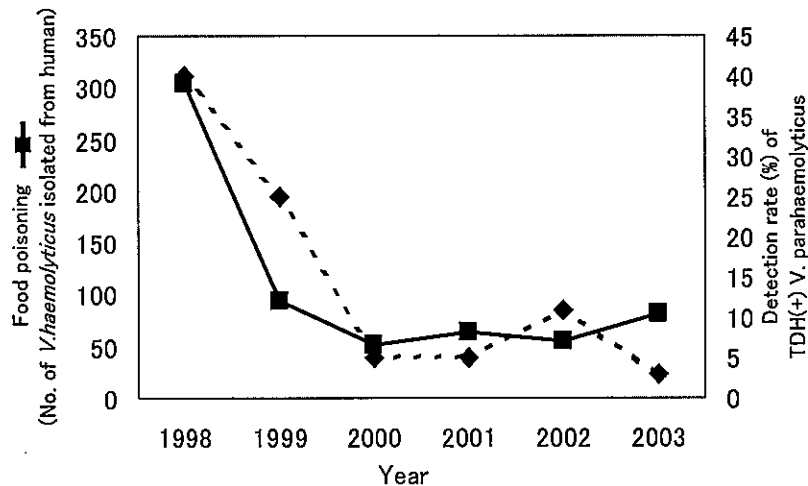


Fig. 10. Relationship between distribution of TDH+ *V. parahaemolyticus* O3:K6 in seawater of fishing ports

Table 2. Relation between *V. parahaemolyticus* and *tdh* gene in seawater of fishing ports

No. of <i>V. parahaemolyticus</i> (100ml)	Detection frequency of <i>tdh</i> gene					
	I*	U	S	H	Y	Total
<10	5/17** (29%)	15/27 (56%)	5/13 (38%)	11/27 (41%)	4/12 (33%)	40/96 (42%)
$10^{1\sim2}$	5/29 (17%)	20/27 (74%)	14/34 (41%)	9/24 (38%)	9/31 (29%)	57/145 (39%)
$10^{2\sim3}$	5/10 (50%)	2/2 (100%)	5/9 (56%)	5/5 (100%)	2/6 (33%)	19/32 (59%)
Total	15/56 (27%)	37/56 (66%)	24/56 (43%)	25/56 (45%)	15/49 (31%)	116/273 (42%)

* Name of fishing port

** No. *tdh*-positive / No. of sample

Table 3. Relation between total *V. parahaemolyticus* and *tdh*-positive *V. parahaemolyticus* O3:K6 in seawater of fishing ports

No. of <i>V. parahaemolyticus</i> (100ml)	Detection of <i>tdh</i> + <i>V. parahaemolyticus</i> O3:K6					
	I	U	S	H	Y	Total
<10	1/19*	2/31	2/18	2/31	0/16	7/115(6%)
$10^{1\sim2}$	1/29	2/23	3/30	3/21	2/27	11/130(8%)
$10^{2\sim3}$	2/8	0/2	2/8	1/4	0/6	5/28(18%)
Total	4/56 (7%)	4/56 (7%)	7/56 (23%)	6/56 (11%)	2/49 (4%)	23/273 (8%)

* No. of *tdh*-positive / No. of samples

来3株について調べると前報 [1] に示した1998年分離株のそれと同じであった。これらの菌株はまた、すべてが group-specific PCR [8] で新型クローンと判定された。

考 察

漁港に水揚げされる鮮魚には多くの細菌が付着している。その細菌叢は海域に分布する菌種を反映している。腸炎ビブリオはこれら細菌叢の一部であるが、食中毒を起こすことから魚について、その汚染度や汚染レベルなどの実態調査が各地で行われてきた。富山県でも、その調査が行われ1989年には本菌は6月に市販鮮魚の50%から検出され、8~9月には検出率100%であったことなどが明らかにされている [9]。しかし、腸炎ビブリオの中でも、食中毒予防上重要である病原性を有する TDH 産生性腸炎ビブリオについては、その生態について殆ど調べられてこなかった。原因は適当な検査法がなかったことにあるが、この点について著者らは前報 [6] で TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 をより効率的に分離する免疫磁気ビーズ法を報告した。そこで、本調査では TDH 産生性腸炎ビブリオを重視し、PCR 法や免疫磁気ビーズ法を導入し、腸炎ビブリオが多く分布する漁港海水における腸炎ビブリオ数、*tdh* 遺伝子および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 を調べた。その結果、1996~2003年までの間、漁港海水中の腸炎ビブリオ数は、多くの漁港で、1~1.6 (対数値)/100ml の範囲でほぼ一定に推移していた。しかし、*tdh* 遺伝子検出率はすべての漁港で年次変動し、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率も年次により変動していた。変動範囲は S 漁港を例にすると、*tdh* 検出率で13~63%、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率で0~38%であった。即ち、海水中の腸炎ビブリオ数に対する TDH 産生菌の割合は年次あるいは漁港により異なっているという結果となった。これらの結果から、水揚げされる魚においても同様に腸炎ビブリオ総数に占める TDH 産生菌の割合は、年次により変動していると考えられる。Alam ら [10] は瀬戸内海の海水、底有機物の41.5%から *tdh* 遺伝子を検出しているが、同様の変動があるのではないかとと思われる。

国内における腸炎ビブリオ食中毒発生数は年次により変動している。著者らはこのような変動のメカニズムは、富山県産鮮魚の県内消費量が約60%とされる富山県において調べることによって明らかになるのではないかと考え、まず、食中毒発生数と気象あるいは魚の腸炎ビブリオ汚染度の関係を調べた。その結果、

食中毒が多発する年と殆ど発生しない年とでは夏季の気温や海水温に差を認めないこと、また、殆ど発生しない年には、魚の腸炎ビブリオ汚染が例年より時期的に遅れ、汚染菌量も少ないことが明らかになった。しかし、食中毒発生数が多い年と普通の年の差は魚の腸炎ビブリオ汚染菌数で説明することは出来なかった。そこで食中毒発生数変動には魚の腸炎ビブリオ数に加え、そこに分布する TDH 産生性菌の割合が関係するのではないかと推定した [11]。Fig. 8 に示す1996年から2003年までの富山県における漁港海水中の腸炎ビブリオ数と食中毒の推移をみると、1998年には、漁港海水中に腸炎ビブリオが2.1 (対数値)/100ml と特に多く、食中毒も極めて多かった。しかし、その他の年には、腸炎ビブリオ数は1~1.6 (対数値)/100ml と、1998年に較べて少なく、食中毒も少なかった。1998年には海水中の *tdh* 遺伝子について調べていないが、漁港海水中の腸炎ビブリオ数と *tdh* 検出率との関係は、菌数が2.0 (対数値)/100ml 以上の場合には、*tdh* 検出率が59%と高く、菌数が2.0 (対数値)/100ml 以下の場合には、42%以下と検出率は低いことから、菌数が2.1 (対数値)/100ml となった1998年海域には TDH 産生菌も多かったことが推察される。事実、この年に発生したすべての食中毒事例から新クローンの腸炎ビブリオ O3:K6 が検出されたが、同クローンと思われる菌が他の年次より高率に海水より検出されている [6]。従って、1998年の食中毒多発の背景には、海域に腸炎ビブリオだけでなく TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 も多かったことが考えられる。

富山県では、1999~2003年の間、漁港海水中の腸炎ビブリオ数は各漁港で1~1.5 (対数値)/100ml であった。しかし、この期間の食中毒発生数をヒトからの分離菌株数でみたとき、2000年には52株、2003年には83株と2000年から2003年にかけて次第に増加している。一方、この期間内における海水からの *tdh* 検出率は、2000年から2003年にかけて23%から53%へと上昇しており相関が見られる (Fig. 9)。従って、今回の結果から、食中毒発生数と *tdh* 検出率には相関があると考えられることができる。

結論として、海水や魚の腸炎ビブリオ汚染状況から食中毒の予測をするには、菌数よりも TDH 産生菌あるいは *tdh* 遺伝子の存在量を知ることが重要であると考えられる。しかしながら、これらの相関性についてはまだ検証が必要な点が存在し、より精度の高い *tdh* 遺伝子の定量を行い、検証することが必要であろう。

平成16年10月1日

謝 辞

本調査では検体採取は富山県庁で作成された計画にもとづいて、中部、富山及び高岡厚生センターに所属する県職員並びに富山市保健所職員が行った、これらの方々に深謝します。

文 献

1. 窪田 勉 (1997). 静岡県環境衛生科学研究所報告, 40, 1-4.
2. 森 直代, 荒記俊一, 横山和仁, 伊藤 武, (1998). 日食微生物誌, 14, 193-198.
3. 宮本 泰, 小金井正一 (1970). メディア・サークル, 16, 66-168.
4. 村田銀蔵 (1981). 感染症学雑誌, 55, 649-662.
5. 細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 刑部陽宅, 北村 敬 ほか (2000). 食品衛生研究, 50, 91-95.
6. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村 敬 (2000). 日食微生物誌, 17, 5-10.
7. 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). 日食微生物誌, 19, 113-117.
8. Matsumoto, C. Okuda, J. Ishibashi, M. Iwanaga, M. Garg, P. Rammamurthy, T. Wong, H, C. Depaola, A. Kim, Y, B. Albert, M.J. and Nishibuchi, M. (2000). J. Clin. Microbiol., 38, 578-585.
9. 安井伊津子, 高田 厚史 (1990). 富山衛研年報, 13, 123-126.
10. Alam, MJ. Miyoshi, S. and Shinoda. S (2003). Environ. Microbiol., 5, 706-710.
11. 刑部陽宅, 磯部順子, 田中大祐, 永井美之 (2004). 富山衛研年報, 27, 124-128.

溶血レンサ球菌感染症流行予測調査

田中大祐 香取幸治 綿引正則 磯部順子
嶋 智子 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, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Yotaku GYOBU, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA¹ and Yuichi TANAKA²

要旨 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. 2003年(平成15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109株、B群208株であった。A群で検出率が高いT型は、順にT3型(22株, 20.2%), T1型(20株, 18.3%), T12型(11株, 10.1%), T25型(11株, 10.1%)であった。前年と比較して、T1型とT12型が増加し、T3型、T4型、T25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(62株, 29.8%), Ib型(49株, 23.6%), JM9型(30株, 14.4%)であった。

2. 2004年1~2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。小矢部市の保育所では28名中3名(10.7%)が菌陽性で、検出菌はA群T4型1株、B群Ib型1株、G群1株であった。一方、黒部市の保育所では49名中11名(22.4%)が菌陽性であった。検出菌11株の内訳は、A群T12型10株、G群1株であった。

A群溶血レンサ球菌(溶連菌)は、咽頭炎、膿痂疹などの起病菌である。B群溶連菌は、新生児の敗血症や髄膜炎を引き起こすことで注目されている。また、C群およびG群溶連菌は、ときに上気道炎などの原因となる。

富山県では、溶連菌による感染症の流行状況を把握し、将来の流行を予測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、健康な保育所園児の咽頭溶連菌保菌状況を調べてきている。ここでは、平成15年度に行った調査結果を報告する。

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って行った。

結果および考察

2003年に分離されたA群109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(22株, 20.2%), T1型(20株, 18.3%), T12型(11株, 10.1%), T25型(11株, 10.1%)であった。A群溶連菌のT型別の全国集計[1]によれば、T3型は2002年度急増し、特に東海・北陸地区と関東・甲信越静地区で増加していた。また、菌分離は2~5月に多かった。

1990~2003年の14年間に分離されたA群1367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(260株, 19.0%), T1型(226株, 16.5%), T4型(207株, 15.1%), T3型(128株, 9.4%), T28型(101株, 7.4%)であった。また、T1型、T4型、T12型、T28型、TB3264型は14年間連続して検出されたが、T2型、T3型、T6型、T25型は検出数の多い年もあったが、年次による変動が大きかった。このようなT型別の検出状況は、全国集計結果[2]とほぼ同様である。2003年は前年と比較して、T1型

とT12型が増加していた。また、T型別不能も増加していた。一方、T3型、T4型、T25型が減少していた。

2003年に分離されたB群208株の型別結果をTable 3に示した。検出率が高い型は、NT6型62株(29.8%)、Ib型49株(23.6%)、JM9型30株(14.4%)であった。滝沢ら[3]は、札幌市の病院で分離されたB群溶連菌の菌型分布について調査したところ、1992年から1999年の間に、NT6型、JM9型、Ⅲ型、Ia型、IV型、Ib型の順に多かったと報告している。富山県の調査結果とほぼ同様であった。

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O保育所では、平成16年1月21日に、2～4歳の園児28名を、県西部の小矢部市T保育所では、平成15年2月26日に、3～6歳の園児49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℃で一晩培養した後、溶血を示すコロニーを釣菌し、常法[4]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の場合と同様に行った。SEB培地は37℃で一晩増菌培養後、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15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。黒部市の保育所の園児では28名中3名(10.7%)が溶連菌陽性であった。この保菌率は昨年(29.0%)と比較して低かった。検出菌3株の型別結果は、A群T4型1株、B群Ib型1株、G群1株と様々であった。菌陽性者のうち2名は感冒様症状を示していたが、他1名は無症状であった。

小矢部市の保育所では49名中11名(22.4%)が溶連菌陽性であった。検出菌はA群T12型10株、G群1株と、ほとんどがT12型であった。菌陽性者に、感冒様症状は認められなかった。

健康学童や保育園児の咽頭溶連菌の菌型は、同じ施設や地域における溶連菌感染症の流行菌型と一致することが報告されている[5, 6]。今年度の本調査においても、保育所園児から分離されたA群溶連菌に多いT12型は、患者由来株でも検出率が高かった。今後

Table 1. Monthly Distribution of T Types of Clinical Group A Streptococci in 2003

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1	1	4	4	2	2			3		3		1	20	18.3
T-2		1	1	1									3	2.8
T-3	1	2	2	6	4	1	1		1	1	2	1	22	20.2
T-4	1		1		1				2		1		6	5.5
T-6					1								1	0.9
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11	1			1									2	1.8
T-12			2		3				2	1	3		11	10.1
T-13			3			1	1					1	6	5.5
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25		5	1	3	2								11	10.1
T-28	1	1		2		1			2				7	6.4
T-B3264		1	1	1		1		1					5	4.6
T-Imp. 19		1	1										2	1.8
T-5/27/44		1	1							1			3	2.8
T-14/49													0	0.0
Untypable	1	1	2		2	2	1	1					10	9.2
Total	6	17	19	16	15	6	3	5	7	6	6	3	109	100.0

Table 2. T Type Distribution of Clinical Group A Streptococci in Toyama between 1990 and 2003

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		1	3	22		1			16	3			23	118		
1991	20			20		1	3	4	51	1				12	15		2	9	138		
1992	21		14	19		1	1	2	6	3	4			4	15			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	1	12	19					9					5	3			4	61		
1996	7	31	2	4			1	2	11	1				5	7			8	79		
1997	32	18		4	9			2	15	1				9	2			6	100		
1998	9	13	1	10	22				25	1				3	1			5	95		
1999	5	4		3	3		1	1	28	2				3	3			3	58		
2000	18	1		9					17	4				8	10			3	77		
2001	32	2	7	35	1	1	3	2	12	1	1			11	11		3	8	139		
2002	10	1	31	20	1				5	2				17	3			3	97		
2003	20	3	22	6	1			2	11	6				11	5	2	3	10	109		
Total	226	74	128	207	45	6	10	21	260	21	8	1	0	54	101	88	2	107	1367		
	16.5%	5.4%	9.4%	15.1%	3.3%	0.4%	0.7%	1.5%	19.0%	1.5%	0.6%	0.1%	0.0%	4.0%	7.4%	6.4%	0.1%	7.8%	100.0%		

*No. of isolates

**Untypable

平成16年10月1日

も、患者および健康者の両面から調査を継続することにより、溶連菌感染症の流行の実態が把握できると考える。

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。

文 献

1. 第24回衛生微生物技術協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンター会議資料（平成14年溶血レンサ球菌レファレンスセンター報告書,

<http://idsc.nih.go.jp/pathogen/index.html>)

2. 国立感染症研究所編（2000）. 病原微生物検出情報, 21巻11号, 240-241.
3. 滝沢慶彦, 坂本裕美子, オリベラ恵, 高橋俊司（2001）. 感染症学雑誌, 75 (3), 174-180.
4. 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.
5. 児玉博英, 刑部陽宅, 岡田伊津子, 畑祥子, 山崎茂一, 久保義博, 高藤昭, 橋爪淑子, 尾崎一郎（1983）. 感染症学雑誌, 57 (12), 1060-1066.
6. 飯村達, 天野祐次, 松江隆之, 小野川尊, 遠藤美代子, 奥野ルミ, 柏木義勝, 松木一雅（2001）. 感染症学雑誌, 75 (4), 314-325.

Table 3. Monthly Distribution of Types of Group B Streptococci in 2003

Type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a	2	1				1	2	2	3		1		12	5.8
I b	6	4	4	3	4	1	8	7	3	1	3	5	49	23.6
II		1		1	1		1			1			5	2.4
III	1		1			3	1		3	1	1		11	5.3
IV												2	2	1.0
V		2	1	2			1		3	3	2		14	6.7
NT6	5	4	7	2	6	5	5	4	7	6	3	8	62	29.8
JM9	2	4	1	3	1	5	1	2	5	1	3	2	30	14.4
7271													0	0.0
Untypable	3	2	3	1	3	4	1	2	2		1	1	23	11.1
Total	19	18	17	12	15	19	20	17	26	13	14	18	208	100.0

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	7	0	0.0		0	
	3	3	1	33.3	B	Ib	1
	4	18	2	11.1	A	T4	1
					G		1
Subtotal		28	3	10.7		3	
Oyabe	3	3	3	100.0	A	T12	3
	4	21	3	14.3	A	T12	3
	5	10	1	10.0	G		1
	6	15	4	26.7	A	T12	4
	Subtotal		49	11	22.4		11
Total		77	14	18.2		14	

*T untypable

中国・内モンゴル若年女性におけるフッ素曝露の 骨量および骨代謝に及ぼす影響

新村哲夫 張 森¹ 西野治身² 中崎美峰子 堀井裕子 長瀬博文 荒谷哲雄
畢 力夫³ 梶田悦子⁴ 江藤真紀⁴ 賈 光⁵ 王 紅兵⁶ 鏡森定信⁶

Influence of Fluoride on Bone Mass and Bone Metabolism
in Inner Mongolian Young Women

Tetsuo SHIMMURA, Miao Zhang¹, Harumi NISHINO², Mineko NAKAZAKI, Yuko HORII,
Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI, Bilifu Qi³, Etsuko KAJITA⁴, Maki Eto⁴,
Guang Jia⁵, Hongbing WANG⁶ and Sadanobu KAGAMIMORI⁶

要旨 先に、中国・内モンゴル自治区の草原地域において、未閉経中年女性の尿中骨吸収マーカーが異常に高く、その地域の飲料水中フッ素濃度が高いことをみいだした。さらに、草原地域で飲用されているタン茶浸出液中のフッ素濃度が高いことを報告した。今回は、このようなフッ素曝露が若年女性において骨や骨代謝へどのような影響を及ぼすかを明らかにする目的で、草原地域女性37名および対照として都市地域女性45名を対象として調査を行い、以下の成績を得た。

1. 中国・内モンゴル自治区草原地域の若年女性においても、飲料水、常飲されているタン茶浸出液および尿中のフッ素濃度が高値であり、フッ素曝露が確認された。
2. 超音波およびX線による骨密度の測定で、同地域若年女性の骨量指標が都市地域に比べて低値を示した。
3. 同地域の中年女性に加えて、若年女性においても骨形成マーカーとともに、各種の尿中骨吸収マーカーの上昇がみられた。
4. 同地域でみられた骨量の減少や骨吸収の亢進は、フッ素曝露と関連するものと考えられ、これまで報告されてきたフッ素による骨芽細胞刺激による骨の過形成とは異なる病態の存在が示唆された。

先に著者らは、中国・内モンゴル自治区の草原地域において、未閉経中年女性の尿中骨吸収マーカーが異常に高いことを報告した [1, 2]。その原因を探るため、草原地域の飲料水や住民の尿調査を行い、飲料水や尿中のフッ素濃度が高いことをみいだした [3, 4]。さらに、草原地域で飲用されているタン茶浸出液中のフッ素濃度が高いことを報告した [5]。

今回は、このようなフッ素曝露が若年女性において、骨および骨代謝へどのような影響を及ぼすかを明らかにする目的で、調査を行ったので報告する。

対象および方法

調査は、2002年8月に、富山医科薬科大学および中国内モンゴル医学院との共同研究として実施した。

調査の対象は、先に報告した [1~5] 中国内モンゴル自治区の草原地帯（達茂旗市周辺）の健康な若年女性（年齢20~34歳）37名である。彼女らは、井戸水を飲用しており、これを草原地域（Grassland area）住民とした。

対照は、内モンゴル自治区の首都である呼和浩特市に居住し水道水を飲用する同年齢の健康な若年女性45名である。これを都市地域（Urban area）住民とした。いずれもモンゴル族である。

骨量の指標として、超音波測定装置（Lunar社製

1. 現米国テネシー大学ヘルスサイエンスセンター 2. 富山県赤十字血液センター 3. 中国内モンゴル医学院
4. 名古屋大学医学部保健学科 5. 中国北京大学医学部 6. 富山医科薬科大学医学部保健医学

Achilles A-100) による超音波測定 (QUS) を行い、踵骨骨量の超音波伝播速度 (SOS) および超音波減衰係数 (BUA) を測定し、Stiffness index (SI) を求めた。また、X線による第2中指骨骨量の測定 (CXD) (利き手および非利き手) を行い、平均骨密度 (Bone mineral density, BMD) および皮質骨指標 (Metacarpal cortical index, MCI) を求めた。フッ素の曝露指標として、飲料水および早朝尿中のフッ素濃度を測定した。先に報告したように [5] 草原地域では特有なタン茶が飲用されており、その浸出液を回収し、フッ素濃度を測定した。フッ素の測定は、イオン電極法で行い、NIST の SRM2671a (Fluoride in Freeze-Dried Urine) を用いて精度管理を行った。

骨代謝に関して、骨形成マーカーとして、血清骨型アルカリフォスファターゼ (B-ALP) を ELISA 法で測定した。また、骨吸収マーカーとして、尿中タイプ I 型コラーゲンクロスリンクトC-テロペプチド (β -クロスラップス, U-CTX) を ELISA 法で、尿中ピリジノリン (PYD) およびデオキシピリジノリン (DPD) を HPLC 法で、尿中ヒドロキシプロリン (Hyp) を比色法で測定した。尿中成分はクレアチニン (Cr) 濃度で補正を行った。

その他、生化学的検査として、血清中のカルシウム (Ca)、無機リン (IP)、甲状腺ホルモン (FT3, FT4)、副甲状腺ホルモン (i-PTH) を北京大学医学部付属病院で測定した。

対象者の身長、体重を計測し、BMI (Kg/m^2) を計算した。自己記入式のアンケートにより、初潮年齢、月経の規則性、出産経験、喫煙・飲酒習慣、肉類・緑黄色野菜・果物・豆 (豆腐) 類の摂取頻度、牛乳・酪農製品の摂取習慣、運動習慣、骨折や疾病の履歴について調査を行った。

調査結果の統計学的解析には、統計ソフト SPSS を用いた。

本研究の対象者に研究の目的を説明し、書面により同意の署名を得た。本研究について、富山県衛生研究所の倫理委員会の承認を得た。

結 果

対象者の年齢、身長、体重およびアンケートへの回答結果について、Table 1 に示した。年齢は、草原地域が都市地域に比べて高かった ($p < 0.05$)。身長は都市地域が高く、BMI は草原地域が高値を示した (いずれも $p < 0.05$)。

骨量や骨代謝に関連する質問への回答結果をみると、草原地域は、都市地域に比べて、初潮年齢が遅く、出産経験者が有意に多かった (いずれも $p < 0.001$)。飲酒や喫煙習慣を持つものはいずれの地域にもいなかった。食習慣として、草原地域は肉類を多く摂り ($p < 0.001$)、牛乳摂取の習慣は変わらなかったが (草原地域の方が量は多い)、チーズの消費習慣は有意に草原

Table 1. Summary Characteristics for Grassland and Urban Groups in Inner Mongolia

	Grassland (n=37)	Urban (n=45)	P*
Age (yr)	24.7 \pm 3.8	23.0 \pm 2.7	<0.05
Weight (kg)	55.0 \pm 8.8	53.5 \pm 5.8	ns
Height (cm)	157.0 \pm 5.2	159.5 \pm 5.4	<0.05
BMI (kg/m^2)	22.3 \pm 3.3	21.0 \pm 1.9	<0.05
Age at menarche (yr)	14.9 \pm 1.2	13.8 \pm 1.3	<0.001
Delivery experience (yes, %)	59.5	11.1	<0.001
Alcohol drinking habit (yes, %)	0	0	-
Smoking habit (yes, %)	0	0	-
Frequency of meat intake (often, %)	97.3	37.8	<0.001
Frequency of yellow-green vegetable intake (often, %)	64.9	64.4	ns
Frequency of fruits intake (often, %)	13.5	51.1	<0.001
Soybean product (tofu) intake (often, %)	10.8	17.8	ns
Milk consumption habit (yes, %)	73.0	55.6	ns
Cheese consumption habit (yes, %)	65.7	2.2	<0.001
Habit of exercise at present (yes, %)	16.2	64.4	<0.001
History of bone fracture (yes, %)	0	6.7	ns
Physical load grading (heavy, %)	59.5	0	<0.001

Values are the mean \pm SD or the percentage.

*, by student t-test or chi-square test. ns, no significant difference.

地域の方が多かった ($p<0.001$)。緑黄色野菜と豆類製品の摂取頻度は変わらなかったが、果物の摂取頻度は都市地域が多かった ($p<0.001$)。現在の運動習慣を持つ割合は、都市地域の方が有意に多かったが、重度の肉体労働を行っている割合は草原地域が多かった (いずれも $p<0.001$)。

対象者の飲料水およびタン茶浸出液中のフッ素濃度を Table 2 に示した。飲料水中のフッ素濃度は、都市地域の水道水が 0.31 mg/l であったのに対し、草原地域の井戸水は、幾何平均値 2.43 mg/l (最小値 1.14 mg/l から最大値 5.39 mg/l) と高値を示し、すべてが日本の水道法の基準値 (0.8 mg/l) を上回った。草原地域に特有のタン茶の浸出液は、幾何平均値 4.85 mg/l (最小値 2.61 mg/l から最大値 10.9 mg/l) と井戸水に比べ有意に高値を示した ($p<0.001$)。対象者の尿中フッ素濃度についてみると、草原地域は、幾何平均値 2.95 mg/gCr (最小値 1.01 mg/gCr から最大値 6.01 mg/gCr) であり、都市地域の 0.63 mg/gCr (最小値 0.26 mg/gCr から最大値 1.62 mg/gCr) に比べ有意に高値を示した ($p<0.001$)。この草原地域の若年者の尿中フッ素濃度は、先に報告した[4]未閉経中年女性の幾何平均値 7.58 mg/gCr (最小値 2.80 mg/gCr から最大値 22.1 mg/gCr) に比べて低かった ($p<0.001$)。このように、先に未閉経中年女性にみられたフッ素曝露が、若年女性においても確認された。

超音波および CXD による骨量指標の測定結果を Table 3 に示した。超音波による骨測定装置による踵骨量指標の比較では、草原地域女性が都市地域に比べ

て SOS が有意に低値を示した ($p=0.001$)。BUA については変わらなかったが、SI は有意に草原地域が低値を示した ($p<0.05$)。

CXD による第 2 中指骨骨量指標について、利き手と非利き手に分けて比較検討した。その結果、BMD は利き手、非利き手とも草原地域と都市地域の間有意な差はみられなかったが、MCI は、利き手、非利き手とも草原地域が都市地域に比べ低い傾向がみられ、非利き手で有意な差が認められた ($p<0.05$)。

骨代謝に関する生化学的な検査結果を Table 4 に示した。骨形成マーカーである血清 B-ALP は、草原地域が都市地域に比べ有意に高値であった ($p<0.05$)。骨吸収マーカーである尿中の PYD, DPD, Hyp および CTX は、いずれも草原地域が都市地域に比べ有意に高値を示した ($p<0.001$ または $p<0.01$)。また、尿中 Ca も草原地域が都市地域に比べ有意に高値を示した ($p<0.001$)。

今回の測定では、血清 T3 および T4 (甲状腺ホルモン) は変わらなかったが、血清 i-PTH は、草原地域が都市地域に比べ高値を示した ($p<0.001$)。血清 Ca は変わらなかったが、血清 IP は草原地域が都市地域に比べ有意に高値を示した ($p<0.05$)。

草原地域におけるフッ素曝露に関して、飲料水やタン茶浸出液中の濃度と尿中濃度の関係についてみた (Table 5)。飲料水とタン茶浸出液中のフッ素濃度については先に報告したように正の相関がみられた [5] ($p<0.01$)。Fig. 1 は、草原地域若年女性の飲料水中フッ素濃度と尿中フッ素濃度と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た ($p<0.05$)。し

Table 2. Fluoride Concentrations in Drinking Water, Brick Tea Water and Urine

	Grassland	Urban	P
Drinking water (mg/l)	2.43 (1.55)	0.31	-
Brick tea water (mg/l)	4.85 (1.45)	-	-
Urine (mg/gCr)	2.95 (1.48)	0.63 (1.53)	<0.001

Values are geometric mean (SD).

Table 3. Bone Parameters in Grassland and Urban Groups

	Grassland	Urban	P
SOS (m/sec)	1552 ± 24	1575 ± 33	<0.01
BUA (dB/MHz)	113.8 ± 10.2	113.5 ± 10.6	ns
SI	90.3 ± 11.2	96.6 ± 15.0	<0.05
D-BMD (mmAl)	2.74 ± 0.24	2.65 ± 0.28	ns
ND-BMD (mmAl)	2.65 ± 0.22	2.62 ± 0.23	ns
D-MCI	0.521 ± 0.061	0.552 ± 0.088	<0.1
ND-MCI	0.521 ± 0.064	0.558 ± 0.084	<0.05

Values are mean ± SD. ns, no significant difference.

D, dominant hand. ND, non-dominant hand.

かし、タン茶浸出液中のフッ素濃度と尿中フッ素濃度との間には有意な相関はみられなかった (Fig. 2).

次に、フッ素曝露の指標として、飲料水、タン茶浸出液および尿中フッ素濃度と骨代謝マーカーとの関係について検討した。Fig. 3 と Fig. 4 は、尿中フッ素濃度と骨吸収マーカーである尿中の CTX および Hyp との関係を見たものである。図に示したように、尿中フッ素濃度は測定した骨吸収マーカーである尿中の PYD, DPD, Hyp, CTX のすべてと有意な正の相関がみられた ($p < 0.05$ から $p < 0.01$)。また、尿中 Ca との間にも有意な正の相関がみられた ($p < 0.05$)。しかし、骨形成マーカーである血清 B-ALP とは相関はみられなかった (Table 5)。

飲料水中フッ素濃度は、骨吸収マーカーである尿中 CTX や Ca 濃度との間に正の相関がみられたが (いずれも $p < 0.05$)、PYD, DPD, Hyp とは有意な相関はみられなかった (Table 5)。

タン茶浸出液中フッ素濃度と骨代謝マーカーとの間に有意な相関はみられなかった (Table 5)。

その他の血清中の生化学データや骨量に関する指標と、飲料水やタン茶浸出液および尿中のフッ素濃度との関係についてみたが、有意な相関はみられなかった。

考 察

これまでの骨粗鬆症に関する調査で、骨量が種々の

要因に影響されることが報告されている。そこで、Table 3 に示した超音波測定装置による骨量指標について、草原地域と都市地域で違いがみられた、年齢、BMI、初潮年齢、出産経験、肉類の摂取頻度、運動習慣によって補正を行い、両地域の比較を行った。その結果、有意な差がみられた SOS および SI に差はみられなくなった。同じように、CXD によって測定された BMD および MCI を、年齢と BMI で補正を行ったところ、BMD に差はみられなかったが、MCI については、利き手、非利き手とも有意に草原地域が低い値を示した (利き手 $p < 0.05$, 非利き手 $p < 0.01$)。このように補正を行っても草原地域には、骨量指標に低値を示すものがあることが確認された。

先に、未閉経中年女性で尿中の骨吸収マーカーが亢進している事を報告したが [3, 4], 若年女性でも骨吸収マーカーは高値を示し、尿中フッ素濃度と相関した。飲料水中フッ素濃度と骨吸収マーカーとの間にも相関がみられることから、飲料水中のフッ素汚染を通じて曝露を受け、骨吸収の亢進を受けていることが示唆される。若年女性では常飲するタン茶浸出液も高フッ素濃度を示したが、今回の検討では骨代謝マーカーとは相関しなかった。未閉経中年女性では、タン茶浸出液のフッ素濃度が尿中フッ素濃度や骨吸収マーカーと相関がみられており、タン茶浸出液中のフッ素が若年女性にどのように影響しているのか、さらに検討する必要がある。

Table 4. Biochemical Parameters in Grassland and Urban Groups

	Grassland	Urban	P
Serum Free T3 (pg/ml)	2.31 ± 1.59	2.40 ± 1.80	ns
Serum Free T4 (ng/dl)	2.09 ± 0.36	1.94 ± 0.84	ns
Serum i-PTH (pg/ml)	52.7 ± 18.0	37.6 ± 11.9	<0.001
Serum Ca (mg/dl)	8.97 ± 0.53	9.04 ± 0.48	ns
Serum IP (mg/dl)	3.94 ± 0.46	3.73 ± 0.42	<0.05
Serum B-ALP (U/l)	30.8 ± 12.8	25.3 ± 7.3	<0.05
Urine PYD (nmol/mmolCr)	38.7 (1.38)	29.7 (1.31)	<0.001
Urine DPD (nmol/mmolCr)	7.51 (1.59)	5.39 (1.38)	<0.01
Urine Hyp (µg/mgCr)	50.4 (1.40)	34.5 (1.34)	<0.001
Urine CTX (µg/mmolCr)	385.1 (1.70)	280.6 (1.44)	<0.001
Urine Ca (mg/gCr)	106.5 (2.11)	47.7 (2.10)	<0.001

Values are mean ± SD or geometric mean (SD). ns, no significant difference.

Table 5. Correlation Coefficients between Fluoride Concentrations and Biochemical Parameters

	DW-F	BT-F	U-F	S-i-PTH	S-B-ALP	U-PYD	U-DPD	U-Hyp	U-CTX	U-Ca
Drinking water F	-	0.421**	0.438**	-0.085	0.073	0.099	0.026	0.316	0.325*	0.399*
Brick tea water F	0.421**	-	0.248	0.103	0.147	0.003	-0.016	0.177	0.164	0.244
Urine F	0.438**	0.248	-	0.028	0.118	0.361*	0.371*	0.524**	0.494**	0.408*

DW, Drinking water. BT, Brick tea water. U, Urine. S, Serum.

*, $p < 0.05$. **, $p < 0.01$.

これまでフッ素の生体影響として、永久歯のエナメルフッ素症（斑状歯）が起こることはよく知られており、飲料水中のフッ素濃度が2.0 mg/lでは軽度のフッ素症（斑状歯）が50%に達することが報告されている [6]。今回の調査でも、成績は示していないが高い割合で斑状歯がみられた。飲料水中フッ素濃度が1.0 mg/l程度では歯のう蝕予防に効果があり、軽度な斑状歯は健康上の問題とはされていない [7]。フッ素の生体影響としては、骨への影響が重視されており、骨フッ素症の本態は、フッ素の骨芽細胞刺激による骨の過形成（骨硬化症）とされてきた [7]。フッ素の、アメリカにおける食事摂取基準（DRI）の上限（UL）は10 mg/day [7]、環境保護庁（EPA）の経口摂取の参照値（RfD）は0.12 mg/kg/day（8.7 mg/day）となっている [8]。これは、フッ素濃度4.0 mg/l以下ではX線検査で骨密度の変化がないという報告や、フッ素摂取20 mg/day以上（0.28 mg/kg/day）20年以

上で運動障害性骨フッ素症の報告や、4 ppmの飲料水2 l/day消費（8 mg/day）では影響がないとの報告によって導き出されている [7]。これに対して、フッ素曝露が閉経および閉経前女性で骨量の減少や骨折の増加がみられるとの疫学的報告 [11] や骨吸収の亢進を示唆する報告 [12] がある。

今回の調査では、上述の骨フッ素症（骨硬化症）が生じないとされているフッ素曝露（飲料水を1日あたり2 l消費するとして平均4.86 mg/day、タン茶浸出液では平均9.7 mg/dayとなる）によって、未閉経中年女性だけでなく若年女性においても、骨吸収の亢進と骨量の減少傾向が確認された。このことは、フッ素の骨への慢性的な影響として、骨硬化症のほかに骨代謝異常（骨吸収の亢進）を考慮する必要があると、上述の基準を修正する必要がある知見ではないかと思われる。

今回の調査で、フッ素曝露を受けている草原地域の

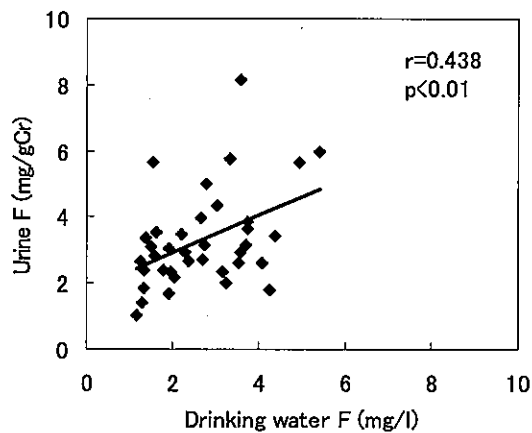


Fig.1. Relationship between Drinking Water Fluoride and Urine Fluoride in Grassland Group.

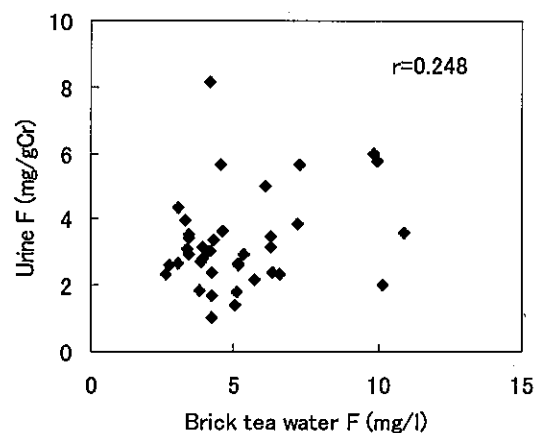


Fig. 2. Relationship between Brick Tea Water Fluoride and Urine Fluoride in Grassland Group.

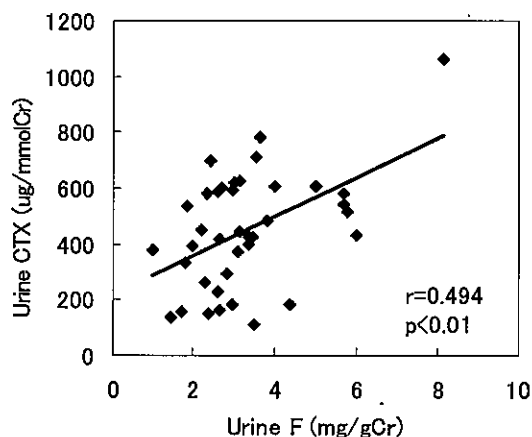


Fig.3. Relationship between Urine Fluoride and Urine CTX in Grassland Group.

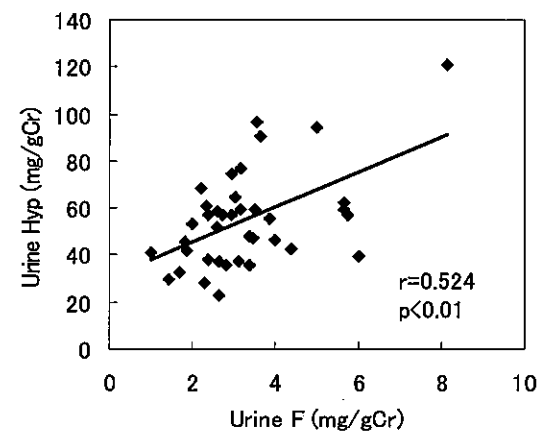


Fig.4. Relationship between Urine Fluoride and Urine Hydroxyproline in Grassland Group.

若年女性の血清中IPは高く、血清Ca値はやや低値を示し(有意差なし)、i-PTHは高値を示した。今回は血清中のイオン形Caについては測定していないので、明らかなことはいえないが、フッ素イオンはCaイオンと結合して不溶性となることから、フッ素曝露により血清中のイオン形Caが低下する可能性がある。血清中のイオン形Caが低いとすれば、それによって副甲状腺ホルモンが亢進し、骨吸収の亢進を引き起こす可能性が示唆される。フッ素の曝露指標と血清中i-PTHとの間に相関は認められないことから、フッ素曝露の副甲状腺ホルモンへの直接的影響よりは間接的な影響の可能性が推察される。このようなフッ素曝露による血清中のイオン形Caの低下による副甲状腺ホルモンの亢進、骨吸収の亢進となるとの仮説が考えられる。

一方、草原地域の未閉経中年女性では、血清i-PTHは高値を示さず、骨吸収マーカーは高値を示した[1, 2]。骨形成マーカーも高値を示すことから骨代謝回転が速まっているものと思われる。草原地域の中年女性は、飲料水やタン茶浸出液中のフッ素濃度は若年女性と同じにもかかわらず、尿中フッ素濃度は若年女性に比べ高値を示した[5]。この中年女性の尿中フッ素濃度が高い理由として、長期間の曝露により骨に蓄積したフッ素が骨吸収によって尿中に多く排泄されるためではないかと考えられる。このように、若年者と中年者の骨吸収亢進のメカニズムが異なる可能性も考えられ、フッ素曝露による骨吸収亢進のメカニズムについてはさらに検討が必要である。

最近、骨代謝に関して、骨芽細胞による破骨細胞の分化と機能の調節に関する新しい知見が得られている。骨芽細胞は種々の因子を産生し、破骨細胞の分化と機能を骨局所で制御していることが分かってきた[9, 10]。これまで、フッ素は骨芽細胞を刺激し骨形成の亢進を引き起こすが、破骨細胞への作用はないとされてきた。今回の我々の調査結果は、フッ素によって骨吸収の亢進がみられており、骨芽細胞の産生するこれらの制御因子とフッ素との関係が明らかにされることが、フッ素による骨吸収亢進のメカニズム解明に役立つものと考えられる。また、これまで中国内モンゴル草原のフッ素曝露地域の未閉経中年女性と若年女性について調査を行ってきたが、フッ素の骨代謝への影響を明らかにするには、対象を男性まで広げた調査や、より影響を受けやすいと思われる年少者についての調査が必要と考えられる。これらの調査は、フッ素曝露による骨吸収亢進のメカニズム解明のためにも重要と思われる。さらに、浸出液中のフッ素濃度が高いことを指摘したタン茶については、中国の内モンゴル自治

区だけではなく、他のチベット自治区[13]や新疆ウイグル自治区[14]など多くの地域で飲用されており、これらの地域におけるタン茶浸出液中フッ素の影響について調査が行われるべきであろう。

謝 辞

本研究の一部は、日本学術振興会(JSPS)外国人特別研究員研究費によった。尿中のタイプI型コラーゲンクロスリンクC-テロペプチド(β -クロスラップス, U-CTX)の測定にご協力いただいた富士レビオ株式会社に感謝いたします。本研究の遂行にあたってご協力いただいた中国内蒙古医学院の秦林金教授、蘇秀蘭教授および大学院生など大学関係者、ならびに調査にご協力いただいた中国内モンゴル自治区地方衛生機関の皆様へ深謝いたします。

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. 劉仲玉, 畢力夫, 梶田悦子, 西野治身, 伊木雅之, 新村哲夫, 関根道和, 笹島茂, 張森, 桑守豊美, 原田澄子, 鏡森定信(2000). 民族衛生, 66, 14-27.
3. 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, 鏡森定信, 畢力夫(1999). Biomed Res Trace Elements, 10, 185-186.
4. 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.
5. 新村哲夫, 張森, 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(2003). 富山衛研年報, 26, 136-139.
6. International Program on Chemical Safety: Environmental health criteria 36: Fluorine and fluorides (1984). World Health Organization, Geneva.
7. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine: Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride (1997). National Academy Press, Washington DC.

8. URL <http://www.epa.gov/iris/subst/0053.htm>.
9. 福本誠二 (2003). *Molecular Medicine*, 40, 664-668.
10. 高柳広 (2003). *Molecular Medicine*, 40, 690-695.
11. Sowers M. F. R., Clark M., Jannausch M. and Wallance R. B. (1991). *Am. Epidemiol.*, 133, 649-660.
12. Ando M., Tadano M., Asanuma S., Tamura K., Matsushima S., Watanabe T., Kondo T., Sakurai S., Ji R., Liang C. and Cao S. (1998). *Environ. Health Perspect.* 106, 239-244.
13. Cao, J., Zhao, Y., Liu, J., Xirao, R., Danzeng, S., Daji, D. and Yan, Y. (2003). *Food and Chemical Toxicology* 41, 535-542.
14. 賈漢沙比提 (2004), 私信.

3. 資 料

富山県における平成15年度のウイルス検出状況

岩井雅恵 長谷川澄代 松浦久美子
安藤秀二 小原真弓 永井美之

Virus Detection from Patients Specimens
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2003

Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA,
Shuji ANDO, Mayumi OBARA and Yoshiyuki NAGAI

平成15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15年度に受け付けた被検者は346例、検体別では便232、咽頭拭い液117、髄液12、水疱内容物2、血液5、尿1、吐物1、鼻汁6の計376検体であった。このうち、被検者346例中152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15年度、県内の定点病院および集団発生の当該保健所から99症例(咽頭拭い液99、鼻汁6)の検査依頼があった。昨シーズン(2002/2003)終期の平成15年4月にB型インフルエンザウイルス1株が分離された。今シーズン(2003/2004)のインフルエンザ流行期に入って、平成16年1月から3月の間にA(H3)型インフルエンザウイルス66株、未同定細胞病原因子1件が検出された。また1月の集団発生患者からはA(H3)型インフルエンザウイルス遺伝子が検出された。さらに、集計には加わっていないが、平成16年4月にはB型インフルエンザウイルスが分離された。今シーズンの特徴は、A(H3)型とB型の2種類のウイルスによるインフルエンザが流行し、その規模は昨シーズンに比較し小さかったことである。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。

咽頭結膜熱：4月に高岡市内の定点医療機関から1症例の検査依頼があった。検体は2歳女児の咽頭拭い液であったが、ウイルスは検出されなかった。

感染性胃腸炎：集団発生10事例(108例)を含む115例の検査依頼があった。集団発生は2003年4、5、6、

9および11月に1事例ずつ、12月に2事例、2004年1、2、3月には各1事例ずつ発生した。上記の内6、9、11、12、1および2月の計7事例は、ノロウイルスGeno group II(NVG II)による感染性胃腸炎と判断された。4月の1事例では、患者3名中1名からNVG IIが、1名からA群ロタウイルスとNVG IIが同時に検出された。5月の1事例では、被検者9名中、患者2名からNVG IIとC群ロタウイルスが同時に検出され、無症状の施設従業員からはノロウイルスGeno group I(NVG I)が検出された。2004年3月の別の1事例では患者8名中3名からA群ロタウイルスが検出された。

定点医療機関からの散発例の検体は12月に1症例、1月に2症例、2月に1症例、3月に3症例であった。このうち12月の1名、1月の1名からNVG II、1月の1名、2月の1名、3月の1名からA群ロタウイルスが、3月の1名からアデノウイルス40/41型が検出された。

食中毒：7事例の食中毒で、計38名分の便についてウイルス検索を行った。このうち、2003年5、6、7、8月および2004年3月の5事例ではウイルスは検出されなかった。1月の事例では患者3名すべてからNVG IIが検出された。2月と3月にまたがる1事例では被検者13名中11名からNVG IIが検出され、ウイルスは無症状の施設従業員からも検出された。

脳炎：12月に富山市保健所管内の定点医療機関から1症例の検査依頼があった。検体は9歳男児の便、咽頭拭い液、髄液、尿であったが、ウイルスは検出されなかった。

無菌性髄膜炎：7、8、11月に計10症例の検査依頼(咽頭拭い液2、便3、髄液11)があり、このうち7月の7症例中4症例(0歳男児2名、0歳女児1名、11歳男児1名)の髄液からエコーウイルス6型が分離され、1名(1歳女児)の便からコクサッキーウ

ウイルスB3型が分離された。8月および11月の症例からはウイルスは検出されなかった。

平成15年の夏季、全国の無菌性髄膜炎患者からは、エコーウイルス30型、6型を主体にエンテロウイルス71型を含む様々な種類のウイルスが分離されていた[1]。

手足口病：県内の定点病院から5月から7月にかけて9症例の検査依頼（便9件、咽頭拭い液9件、水泡内容物2件）があった。このうち3名からエンテロウイルス71型が、1名からコクサッキーウイルスA16型が分離された。5月の1症例（1歳女児）においては、エンテロウイルス71型とポリオウイルス2型が便から同時に分離されたが、ポリオウイルス2型は、VP1領域におけるPCR-RFLP法による抗原性状解析の結果、ワクチン由来株であった。ポリオワ

クチン由来株の検出は、被検者が約3週間前にポリオワクチンの初回接種を受けていたことに起因し、手足口病の発病には関連していないと推測される。今季、全国の手足口病患者からはエンテロウイルス71型が多く分離され[2]、脳脊髄炎などを合併した重症化例の発生も報告された[3]が、富山県におけるこれらの被検者には、特に重篤な合併症はなかった。

発疹症：1月に1症例（7歳男児の便、咽頭拭い液、急性期血清）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

麻疹：6月の麻疹患者3名中1名の血液から麻疹ウイルスが1株分離された。この麻疹ウイルスのN遺伝子3'末領域の塩基配列の解析により、遺伝子型はH1型に分類された。中国や韓国に固有の型とされるH1型は、近年日本各地で検出されている[4]。

表1. 平成15年4月～平成16年3月 疾患別、月別ウイルス検出状況

臨床診断名	検出ウイルス	2003年					2004年					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	(被検者数)	1									[46]	[35]	[17]	99	
	A(H3)型インフルエンザ										[35]*4	[19]	[12]	66	
	B型インフルエンザ	1												1	
	細胞病原因子										1			1	
咽頭結膜熱	(被検者数)	1												1	
感染性胃腸炎*1	(被検者数)	[3]	[9]*3	[4]				[11]		[24]*3	[29]*3	[13]	[11]*3	[11]	115
	ノロG I		[2]*3												2
	ノロG II	[1]		[4]				[9]		[6]	[14]*3	[11]	[2]		47
	アデノ40/41													1	1
	A群ロタ											1	1	[4]	6
	ノロG II + A群ロタ	[1]													1
	ノロG II + C群ロタ		[2]												2
食中毒	(被検者数)		[3]	[5]*3	[3]	[10]*3						[3]	[11]*3	[3]*3	38
	ノロG II											[3]	[9]*3	[2]*3	14
ウイルス性脳炎	(被検者数)										1				1
無菌性髄膜炎	(被検者数)				7	2				1					10
	エコー6型				4										4
	コクサッキー-B3型				1										1
手足口病	(被検者数)		2	6	1										9
	エンテロ71型		1	2											3
	エンテロ71型+ポリオ2型		1												1
	コクサッキー-A16型				1										1
発疹症	(被検者数)											1			1
麻疹	(被検者数)			[3]											3
	麻疹			1											1
無症状	(被検者数)								10				56		66
(ポリオ流行予測調査)															
その他*2	(被検者数)	1								1		1			3
症例合計	(被検者数)	6	14	18	11	12	21	1	25	30	120	57	31	346	
	ウイルス検出者数	3	6	7	6	0	9	0	6	14	51	31	19	152	

*1: 感染性胃腸炎には、冬季嘔吐下痢症、冬季下痢症を含む。
 *2: その他: 4月の1症例はSARS疑い、10月の1症例および1月の1症例はQ熱疑い例。
 *3: 無症状の施設関係者を含む。
 *4: PCRによる検出を含む。
 []は集団発生事例を含む。

平成16年10月1日

3名の患者の年齢は14歳～16歳、3名のうち2名はワクチン接種接種歴が無く、残りの1名の接種歴は不明であった。

無症状：ポリオ流行予測調査事業により、0～4歳までの健康な乳幼児66名を対象にウイルス検索を行ったが、ウイルスは検出されなかった。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。

その他の疾病：Q熱疑い2症例（10月と1月に1症例ずつ）について、急性期と回復期の血清抗体価を測定したが、4倍以上の上昇は見られなかった。

4月の1症例はSARSが疑われた症例である。胸部X線像に異常はなく、疑い例および可能性例にあたらなかったが、ウイルス検査を行ったものである。ウイルスは検出されず、患者からは病院検査室においてパラチフスAが検出され、パラチフスに適切な治療が実施されたことにより、患者は治癒した。

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。

文 献

1. IDWR, (2003), 第48週, 第48号, 6-7.
2. IDWR, (2003), 第47週, 第47号, 7-8.
3. 病原微生物検出情報月報, (2003), Vol24, No.9, 17(219)-18 (220).
4. 病原微生物検出情報月報, (2003), Vol24, No.1, 10 (10)

富山県における2003年の病原微生物検出情報

木全恵子 嶋 智子 田中大祐 磯部順子
綿引正則 永井美之

Surveillance of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2003

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI
and Yoshiyuki NAGAI

我々は県内10か所の公立病院検査室、4か所の厚生センター、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。2003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1,713株で前年比106%と増加した。そのうち最も多かったのは黄色ブドウ球菌652株(そのうちMRSAは57%)であり、前年比106%であった。次に多かったのは大腸菌650株であるが、前年比99.5%であった。腸管出血性大腸菌(EHEC/VTEC)は17株で、その血清型の内訳は血清型O157が13株、O26が3株で、OUTが1株であった。このOUTはベロ毒素VT2変異型毒素VT2fを保有していた。カンピロバクターも228株であり、前年比135%と増加した。これはカンピロバクターによる集団食中毒が3件発生したためである。腸炎ビブリオは計5件の集団食中毒が発生したため、83株で前年比154%と増加した。この5件の腸炎ビブリオ集団食中毒のうち、3件は6月中の同一週に集中していた。サルモネラは67株で、前年比120%と増加した。検出されたサルモネラのうち血清型O9が51%を占めた。ウェルシュ菌は1件の集団食中毒が発生したが、前年比25%と減少した。

2類感染症では、赤痢菌が3株分離され、その内訳は*S. boydii* 1株、*S. sonnei* 2株であった。*S. boydii*はインドネシア旅行歴のある患者、*S. sonnei*のうち1株は海外渡航歴のない患者、もう1株はパパアニュー

ギニア旅行歴のある患者からの分離であった。また、コレラ菌(O1 稲葉型)がタイ旅行歴のある患者から分離された。本県ではコレラ菌の検出は6年ぶりであった。

【穿刺液】分離株総数245株、前年比95%で、黄色ブドウ球菌(MRSAは60%)、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100%で、黄色ブドウ球菌(内MRSAは40%)、肺炎球菌、インフルエンザ菌、大腸菌が分離された。

【血液】分離株総数796株、前年比115%で、大腸菌、黄色ブドウ球菌(MRSAは58%)、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。また、パラチフス菌が3株分離された。これらのパラチフス菌は海外渡航歴のある患者(それぞれインドネシア、中国、ネパール)からの分離であった。

【咽頭および鼻咽喉】分離株総数2,438株、前年比118%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。

【喀痰、気管吸引液および下気道】分離株総数5,982株、前年比101%で、黄色ブドウ球菌(MRSAは66%)、緑膿菌が特に多く、肺炎桿菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌なども多く分離された。

【尿】分離株総数6,164株、前年比94%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74%)、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2,331株、前年比107%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*は抗原検出による。

平成16年10月1日

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

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Salmonella Typhi													
Salmonella Paratyphi A													
Salmonella O4	1	1	1			2	1	5	1	1	2		15
Salmonella O7	1			1	2			1		1	1		7
Salmonella O8	1							1		1			3
Salmonella O9		1		3	3	9	3	4	7		1	3	34
Salmonella その他						2		1	1	1	1		6
Salmonella 群不明						2							2
Yersinia enterocolitica						1		1					2
Y. pseudotuberculosis													
Vibrio cholerae O1											1(1)		1(1)
Vibrio cholerae O139													
Vibrio cholerae O1,139以外								1					1
Vibrio parahaemolyticus						(29)	2	(42)	(9)	1			83
Vibrio fluvialis									1				1
Vibrio mimicus													
Aeromonas		1		1	2		1	1	3	2	3		14
Plesiomonas shigelloides													
Campylobacter	4	15	16	9	(28)	27	(47)	21	16	20	17	8	228
Staphylococcus aureus	60	65	55	40	60	49	(73)	53	(37)	59	54	47	652
Clostridium perfringens				(1)									11
Clostridium botulinum													
Bacillus cereus													
Entamoeba histolytica													
Escherichia coli組織侵入性		2		1	1				2	2		2	10
Escherichia coli毒素原性	1	2	3	3	1	7	3	2	1				23
Escherichia coli病原大腸菌	36	50	64	42	37	40	36	27	23	22	24	27	428
Escherichia coliEHEC/VTEC		2	1	1	1		1	(3)		5		(3)	17
Escherichia coliその他、不明	11	14	17	19	12	17	15	21	14	15	6	11	172
Shigella	1(1)									1		1(1)	3(2)
合計	116(1)	153	157	131	147	185	182	184	115	131	110(1)	102(1)	1713(3)

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）

Escherichia coli	5	6	7	3	7	4	3		4	2	4	5	50
Klebsiella pneumoniae		1	2		5	1		1	1	4	1		16
Haemophilus influenzae						1							1
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	5	2	1	3	6	1	1	2	2		2	2	27
Mycobacterium spp.													
Staphylococcus aureus	7	4	6	8	4	6	7	10	5	4	11	10	82
Staphylococcus コアグラーゼ陰性	4	2	4	6	6	2	3	4	3	4	4	1	43
Streptococcus pneumoniae									1				1
Anaerobes	1	1	5	1	1	3			3	4	6		25
Mycoplasma pneumoniae													
合計	22	16	25	21	29	18	14	17	19	18	28	18	245

3) 分離材料：髄液

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

4) 分離材料：血液

Escherichia coli	16	8	20	24	23	15	24	20	21	13	27	30	241
Salmonella Typhi		1											1
Salmonella Paratyphi A				1(1)	1(1)	1(1)							3(3)
Salmonella spp.									1				1
Haemophilus influenzae				1	1		1				2	1	6
Neisseria meningitidis					1								1
Pseudomonas aeruginosa	4	2	2	3	1	5	7	8	5	5	1	4	47
Staphylococcus aureus	24	17	15	11	10	31	26	21	18	16	20	17	226
Staphylococcus コアグラゼ陰性	18	14	13	15	29	13	16	19	19	14	17	19	206
Streptococcus, B	2					1	1	1		2		2	9
Streptococcus pneumoniae	3	5	2	2	3	4	1	4		4	3	3	34
Anaerobes		2	3	2	2	7			1	1	2	1	21
合計	67	49	55	60(1)	70(1)	77(1)	76	73	65	55	72	77	796(3)

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

Bordetella pertussis													
Haemophilus influenzae	112	94	101	103	152	77	71	41	49	85	106	140	1131
Neisseria meningitidis													
Streptococcus, A	32	59	52	45	49	31	17	17	10	20	39	49	420
Streptococcus pneumoniae	68	36	58	77	110	72	62	32	46	110	104	112	887
C. diphtheriae													
合計	212	189	211	225	311	180	150	90	105	215	249	301	2438

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

Mycobacterium tuberculosis	2	4	2	3	1	5	2	1	3	3	1	7	34
Klebsiella pneumoniae	76	56	65	75	74	62	79	79	89	84	78	67	884
Haemophilus influenzae	60	34	50	50	63	55	32	30	25	22	23	42	486
Legionella pneumophila							1	2					3
Pseudomonas aeruginosa	102	72	63	77	94	109	79	81	107	117	105	122	1128
Staphylococcus aureus	247	213	254	229	253	236	231	195	192	214	187	205	2656
Streptococcus, A		4	4	3	4	4	5	2	2	1	2	2	33
Streptococcus, B	29	21	27	21	19	15	19	20	23	22	16	19	251
Streptococcus pneumoniae	57	47	28	59	62	42	39	34	20	49	35	34	506
Anaerobes						1							1
Mycoplasma pneumoniae													
合計	573	451	493	517	570	529	487	444	461	512	447	498	5982

7) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli	159	169	182	148	194	173	193	207	200	141	149	162	2077
Enterobacter spp.	12	13	10	14	15	24	17	20	12	19	13	12	181
Klebsiella pneumoniae	24	25	36	37	29	34	44	35	31	52	31	37	415
Acinetobacter spp.	4	5	7	2	4	6	1	11	3	6	4	5	58
Pseudomonas aeruginosa	70	56	51	59	77	51	60	80	78	58	53	55	748
Staphylococcus aureus	46	38	46	33	54	63	56	49	44	60	45	41	575
Staphylococcus コアグラゼ陰性	60	54	51	83	68	55	92	54	54	43	54	49	717
Enterococcus spp.	114	80	120	102	88	80	106	88	91	84	69	76	1098
Candida albicans	31	25	14	31	23	28	23	23	25	22	23	27	295
合計	520	465	517	509	552	514	592	567	538	485	441	464	6164

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

Neisseria gonorrhoeae	7	10	9	13	8	9	8	5	6	9	6	8	98
Streptococcus, B	42	39	25	28	52	51	54	38	45	56	39	53	522
Chlamydia trachomatis	12	8	18	21	10	11	10	20	17	14	10	11	162
Ureaplasma													
Candida albicans	130	107	92	109	121	149	168	149	133	150	128	113	1549
Trichomonas vaginalis													
合計	191	164	144	171	191	220	240	212	201	229	183	185	2331

平成16年10月1日

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	40	44	29	28	28	24	32	27	17	35	37	28	369
	MSSA	20	21	26	12	32	25	35	26	16	24	17	19	273
	未検査							6		4				10
	件数	60	65	55	40	60	49	73	53	37	59	54	47	652
穿刺液	MRSA	6	3	3	5	2	5	4	3	2	1	10	5	49
	MSSA	1	1	3	3	2	1	3	7	3	3	1	5	33
	未検査													
	件数	7	4	6	8	4	6	7	10	5	4	11	10	82
髄液	MRSA	1		1										2
	MSSA		1			1		1						3
	未検査													
	件数	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	5
血液	MRSA	10	16	8	5	7	17	15	15	7	11	12	8	131
	MSSA	14	1	7	6	3	14	11	6	11	5	8	9	95
	未検査													
	件数	24	17	15	11	10	31	26	21	18	16	20	17	226
呼吸器	MRSA	155	148	165	152	167	149	150	132	121	142	125	147	1753
	MSSA	92	65	89	77	86	87	81	63	71	72	62	58	903
	未検査													
	件数	247	213	254	229	253	236	231	195	192	214	187	205	2656
尿	MRSA	30	29	35	23	40	54	41	40	31	39	34	28	424
	MSSA	16	9	11	10	14	9	15	9	13	21	11	13	151
	未検査													
	件数	46	38	46	33	54	63	56	49	44	60	45	41	575
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査													
	件数													

農産物中の残留農薬調査

齊藤行雄 大浦 徹 松永明信

Detection of Pesticide Residues in Agricultural Products

Yukio SAITO, Takashi OHURA and Akinobu MATSUNAGA

食糧を安定的に確保する目的から、富山県内でも各種の農薬が使用されている。我が国における残留農薬の規制については、発ガン性や催奇形性などの有害な作用が認められた農薬は厳しく見直しされてきた。最近、無登録農薬の使用や輸入農産物からの残留農薬も問題化し、食品の安全性についての消費者の関心がますます高くなってきており、一層の検査・監視体制の強化が求められている。

食品の安全性を確保するために、迅速に農産物中の残留農薬の実態を調査し、有害食品の流通の排除とともに生産現場での農薬の適正使用を徹底することが必要である。著者らは毎年、県内で生産される主要農産物中の残留農薬について、安全性評価のための実態調査を行ってきた。今回、2001年から2003年までの調査結果を報告する。

材料と方法：試料は2001年6月から2003年10月にかけて県内生産の玄米（試料数：18）、ねぎ（8）、トマト（7）、こまつな（5）、ほうれんそう（5）、キャベツ（4）、なす（2）、だいこん（根、1）、えだまめ（1）、すいか（1）、なし（18）、ぶどう（4）、かき（4）及び中国産のほうれんそう（1）、まつたけ（1）の14種80試料を用いた。

試薬及び装置は、既報 [1] 及び厚生省通知 [2] に従った。

調査農薬は、Table 1 に示した78農薬である。

分析方法は厚生省通知の残留農薬迅速分析法 [2] を用いた。シヘキサチン及びカプタホールについては厚生労働省告示法 [3, 4] で分析した。

結果及び考察：農産物中の残留農薬調査結果を Table 2 に示した。9種15試料から12種の農薬が検出（検出率：19%）された。

有機リン系農薬（検出率：8%）では、なし（16）及びかき（4）を除いて60試料を分析した。殺虫剤であるフェニトロチオン（検出試料：玄米）、ダイアジノン（ねぎ、こまつな、ぶどう）、アセフェート（ぶ

どう）が検出された。いずれも残留基準値の1/5～1/17であった。過去の調査と比較するために、1994年から2000年までの7年間の調査結果 [1, 5, 6, 7, 8] をTable 3 に集計した。今回の調査データは、1994-2000年のフェニトロチオン（玄米、ねぎ、りんご）、ダイアジノン（キャベツ、りんご）、アセフェート（ぶどう）の数値と同程度の低レベルの残留値であり、生産者が適正に農薬を使用した結果であると考えられた。

含窒素系農薬（検出率：5%）では、なし（16）、かき（4）及びまつたけ（1）を除いて59試料を分析した。殺菌剤のフルトラニル（玄米）、イプロジオン（えだまめ、ぶどう）が検出された。いずれも残留基準値の1/22～1/125であった。1994-2000年における検出例（Table 3）と比較すると、フルトラニル（玄米）やイプロジオン（ぶどう）で今回も同程度の残留値であった。

ピレスロイド系農薬（検出率：12%）では、含窒素系農薬と同様に59試料を分析した。殺虫剤のシベルメトリン（ねぎ、ほうれんそう）、シフルトリン（トマト）、フェンバレレート（ほうれんそう）、ペルメトリン（ぶどう）が検出された。いずれも残留基準値の1/3～1/250であった。1994-2000年における検出例（Table 3）と比較すると、今回は新たにシベルメトリンが検出されたことと、1994-2000年のシフルトリン（はくさい）、フェンバレレート（ねぎ、キャベツ、はくさい、なし、かき）、ペルメトリン（トマト）の数値より全体的に若干高めの残留レベルであった。

N-メチルカーバメート系農薬（検出率：6%）では、含窒素系農薬と同様の試料から、ねぎ（5）、こまつな（3）、ほうれんそう（1）を除いた50試料を分析した。殺虫剤のフェノブカルブ（玄米）、カルバリル（えだまめ、ぶどう）が検出された。基準が設定されていないえだまめを除いて、いずれも残留基準値の1/9～1/33であった。1994-2000年における検出例（Table 3）と比較すると、今回はフェノブカルブ（玄米）で高めの残留レベルであった。

有機塩素系農薬については、含窒素系農薬と同様に59試料を分析した結果、全試料で不検出であった。

カプタホール、シヘキサチンについては、2002年に無登録農薬の使用に伴う残留農薬が問題となったことから、県内でこれら無登録農薬を購入、使用したとみられるなし(16)及びかき(4)の20試料を分析した。その結果、カプタホールがなし及びかきの各1試料から検出された。これらの農薬は動物試験によりカプタホールで発ガン性が、シヘキサチンで催奇形性が認められたことから、それぞれ1989年及び1987年に登録が失効した農薬である。当果実に対しては販売停止の措置がとられた。

最近の国産農産物における農薬残留実態 [9] からの検出例は、玄米でフェノブカルブ (検出率% : 7), メプロニル (2), エディフェンホス, フェニトロチオン及びフルトラニル (各1), ねぎでシベルメトリン (6), フェンバレレート (4), EPN及びベルメトリン (2)、ダイアジノン及びジメトエート (各1), ほうれんそうでシベルメトリン及びアセフェート (各4), フェンバレレート, フルシトリネート及びベルメトリン (各2), ぶどうでアセフェート (22), イ

プロジオン (14), ペルメトリン (11), フェニトロチオン (3), ダイアジノン (2) などであった。産地による使用農薬の相違もあって県内で検出されないものもあるが、本調査における検出農薬はほぼ類似しており、農薬残留量は国内調査の検出範囲の低い残留レベルに相当していた。

調査した農産物は、告示の残留農薬検体採取部位に基づいて玄米は未精白のまま粉碎し、果実は剥皮せず果実全体(全果)を分析したものである。玄米中の農薬の分布は、脂質含量の高い糠部分に残留し白米中では概ね20%以下である [10]。オクタノール・水分係数 (log Pow) の低いフェノブカルブ (log Pow 2.8) やフルトラニル (log Pow 3.7) は白米部分に移行して残留しやすいが、精白後の白米を3回研ぎ洗い後炊飯するとフェノブカルブで65%, フルトラニルで55%低下し、白米表面の糠を除去する無洗米加工処理のみでも残留濃度がフェノブカルブで30%, フルトラニルで40%低下することが報告されている [11]。一方、ほうれんそうの調理加工時における農薬の減衰では加熱時間が長くなるに従ってゆで水中へ移行する農薬量が増加する [12]。しかし、log Pow 6.6以上

Table 1. Pesticides Investigated

[Organophosphorus] (30)

Acephate, Butamifos, Cadusafos, Chlorfenvinphos (E, Z), Chlorpyrifos, Diazinon, Dichlorvos, Dimethoate, Dimethylvinphos (E, Z), Edifenphos, EPN, Ethoprophos, Etrimfos, Fenitrothion, Fensulfothion, Fenthion, Fosthiazate, Isofenphos, Isofenphos oxon, Malathion, Parathion, Parathion-methyl, Phenthoate, Phosalone, Pirimiphos-methyl, Prothiofos, Pyraclofos, Quinalphos, Terbufos, Tolclofos-methyl, Vamidothion

[Nitrogen-containing] (25)

Bitertanol, Chlorpropham, Diethofencarb, Difenoconazole, Esprocarb, Fenarimol, Flusilazole, Flutolanil, Iprodione, Iprodione metabolite, Isoprocarb, Lenacil, Mefenacet, Mepronil, Metribzin, Myclobutanil, Pacrobutrazole, Pendimethalin, Pretilachlor, Propiconazole, Pyridaben, Tebufenpyrad, Thenylchlor, Thiobencarb, Triadimenol, Tricyclazole

[Organochlorin] (5)

Aldrin, Dieldrin, Endrin, Fthalide, HCH(α -, β -, γ -, δ -), DDT(pp'-DDT, op'-DDT, pp'-DDE, pp'-DDD),

[Pyrethroid] (10)

Cyfluthrin, Cyhalothrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Fenvalerate, Flucythrinate, Fluvalinate, Permethrin, Tefluthrin, Tralomethrin

[N-methylcarbamate] (6)

Aldicarb, Bendiocarb, Carbaryl, Fenobucarb, Methiocarb, Methiocarb sulfon, Methiocarb sulfoxide, Oxamyl

[Others] (2)

Captafol, Cyhexatin

Total (78)

の農薬では、ゆで水中への移行が少ないと考えられている [13]. 今回のねぎやほうれんそうから検出されたシベルメトリン (log Pow 6.6) が該当し、加熱調理による減少率は低いと考えられる。今後もこれらの試料の調査を継続していく必要がある。ぶどうでは気孔がなく、表皮細胞が緻密で浸透性は低いと考えられている [14]. ぶどうから検出されたアセフェートは水溶性が高いが、果皮表面に附着している部分が多く、水洗により除去可能であると思われた。ピレスロイド等は皮表面に残り、一般的に皮を食べないので摂取量はさらに少ないと推察される。

これらのことから農産物中に残留していた農薬は、食品衛生法の残留基準値以下であり、喫食時にさらに減少することから、特に問題はないものと考えられる。

文 献

1. 齊藤行雄, 大浦 敏, 松永明信 (2001). 富山衛研年報, 24, 179-180.
2. 厚生省通知衛化第43号. 平成9年4月8日.
3. 厚生労働省告示第56号. 平成13年2月26日.
4. 厚生労働省告示第258号. 平成13年7月24日.
5. 齊藤行雄, 山本 敦, 松永明信 (1995). 富山衛研年報, 18, 151-157.
6. 齊藤行雄, 大浦 敏, 山本 敦, 松永明信 (1996). 富山衛研年報, 19, 204-210.
7. 齊藤行雄, 大浦 敏, 大戸幹也, 松永明信 (1997). 富山衛研年報, 20, 197-198.
8. 齊藤行雄, 大浦 敏, 大戸幹也, 松永明信 (1999). 富山衛研年報, 22, 198-200.
9. 細貝祐太郎, 松本昌雄 監修, 上路雅子, 永山敏廣 (2002). 食品安全性セミナー 3 残留農薬, 103-249, 中央法規出版.
10. 金澤 純 (1994). 農薬の環境科学, 76-84, 合同出版.
11. 佐藤元昭, 坂口将進, 小畑雅一, 坂口陽子, 谷澤春奈, 三浦由里, 佐々野僚一, 中西 豊 (2003). 食衛誌, 44, 7-12.

Table 2. Pesticide Residues Found in Agricultural Products (Fiscal Year 2001-2003)

Sample	Detection ratio		Sample No.	Concentration $\mu\text{g/g}$ (Standard value $\mu\text{g/g}$ ^{a)})
	A	B		
Brown rice	3/18	4/76 ^{a)}	1	Fenitrothion 0.02 (0.2), Fenobucarb 0.11 (1.0)
			2	Fenitrothion 0.02 (0.2)
			3	Flutolanil 0.09 (2.0)
Welsh onion	0/5 2/3	0/70 ^{b)} 3/76 ^{a)}	1	Diazinon 0.02 (0.1), Cypermethrin 0.02 (5.0)
			2	Cypermethrin 0.08 (5.0)
Tomato	1/7	1/76 ^{a)}	1	Cyfluthrin 0.06 (2.0)
Komatsuna	1/3 0/2	1/70 ^{b)} 0/76 ^{a)}	1	Diazinon 0.01(0.1 ^{f)})
Spinach	2/5	3/76 ^{a)}	1	Cypermethrin 0.72 (2.0)
Spinach (Imported)	0/1	0/70 ^{b)}	2	Cypermethrin 0.20 (2.0), Fenvalerate 0.06 (0.50)
Cabbage	0/4	0/76 ^{a)}		
Eggplant	0/2	0/76 ^{a)}		
Radish (root)	0/1	0/76 ^{a)}		
Edamame	1/1	2/76 ^{a)}	1	Iprodione 0.09 (5.0), Carbaryl 0.02 (none)
Matsutake (Imported)	0/1	0/30 ^{c)}		
Watermelon	0/1	0/76 ^{a)}		
Pear	0/2 1/16	0/76 ^{a)} 1/2 ^{d)}	1	Captafol 0.01 (nd)
Persimmon	1/4	1/2 ^{d)}	1	Captafol 0.14 (nd)
			2	Permethrin 0.05 (5.0)
			3	Permethrin 0.14 (5.0) Acephate 0.30 (5.0), Diazinon 0.01(0.1), Iprodione 0.20 (25), Carbaryl 0.03 (1.0)
Total	15/80			

A: Number of positive samples/number of measured samples

B: Total number of positive pesticides/number of measured pesticides

a) Number of measured pesticides except for captafol and cyhexatin

b) Number of measured pesticides except for captafol, cyhexatin and N-methyl carbamate

c) Measured pesticides were organophosphorus pesticides.

d) Measured pesticides were captafol and cyhexatin.

e) Standard value in the Food Sanitation Law

f) Standard value of the Ministry of the Environment

12. 細貝祐太郎, 松本昌雄 監修, 上路雅子, 永山敏廣 (2002). 食品安全性セミナー3 残留農薬, 247-252, 中央法規出版.

13. 永山敏廣 (2003). 東京健安研セ年報, 54, 16-24.
14. 金澤 純 (1994). 農薬の環境科学, 60-61, 合同出版.

Table 3. Pesticide Residues Found in Agricultural Products (Fiscal Year 1994-2000)

Sample	Detection ratio		Sample No.	Concentration $\mu\text{g/g}$ (Standard value $\mu\text{g/g}$ ^{a)})
	A	B		
Brown rice	13/36	18/70-76	1	Pyridaphebtion 0.01 (0.05 ^{b)}) Fthalide 0.01 (1 ^{b)})
			2	Fthalide 0.01 (1 ^{b)})
			3	Fthalide 0.01 (1 ^{b)}), Flutolanil 0.02 (2.0)
			4	Fthalide 0.02 (1 ^{b)}), Flutolanil 0.03 (2.0)
			5	Fthalide 0.02 (1 ^{b)}), Flutolanil 0.04 (2.0)
			6	Fthalide 0.03 (1 ^{b)}), Flutolanil 0.04 (2.0)
			7	Fthalide 0.01(1 ^{b)})
			8	Fthalide 0.01 (1 ^{b)})
			9	Flutolanil 0.11 (2.0)
			10	Fenitrothion 0.01 (0.2)
			11	Fenobucarb 0.02 (1.0)
			12	Flutolanil 0.07 (2.0)
			13	Flutolanil 0.10 (2.0)
Brown rice (Imported)	0/2	0/70		
Polised rice (Imported)	0/8	0/70		
Welsh onion	3/10	4/70-76	1	Fenitrothion 0.01 (0.2)
			2	Dimethoate 0.03 (1 ^{b)})
			3	Dimethoate 0.05 (1 ^{b)}), Fenvalerate 0.02 (0.50)
Tomato	1/1	1/70	1	Permethrin 0.06 (1.0)
Cabbage	2/8	2/70-71	1	Diazinon 0.01(0.1)
			2	Fenvalerate 0.02 (3.0)
Eggplant	0/4	0/70		
Radish (root)	2/16	2/70-76	1	Toluclofos-methyl 0.01 (2.0)
			2	Toluclofos-methyl 0.01 (2.0)
Chinese cabbage	2/2	4/70	1	Fenvalerate 0.02 (3.0), Cyfluthrin 0.01 (2.0)
			2	Fenvalerate 0.02 (3.0), Cyfluthrin 0.01 (2.0)
Turnip	0/1	0/71		
Cucumber	1/3	1/70-76	1	Dichlorvos 0.05 (0.2)
Satoimo	0/2	0/76		
Watermelon	0/4	0/76		
Apple	7/8	11/48-76	1	Carbaryl 0.02 (1.0)
			2	Carbaryl 0.12 (1.0)
			3	Carbaryl 0.16 (1.0)
			4	Carbaryl 0.08 (1.0)
			5	Carbaryl 0.24 (1.0)
			6	Diazinon 0.01 (0.1), Fenitrothion 0.02 (0.2) Chlorpyrifos 0.01 (1.0)
			7	Diazinon 0.02 (0.1), Fenitrothion 0.03 (0.2) Chlorpyrifos 0.03 (1.0)
Pear	3/5	4/70-76	1	Fenvalerate 0.01 (2.0), Carbaryl 0.02 (1.0)
			2	Carbaryl 0.14 (1.0)
			3	Carbaryl 0.22 (1.0)
Persimmon	1/4	1/70-76	1	Fenvalerate 0.01 (1.0)
Grape	2/4	2/71	1	Acephate 0.13 (5.0)
			2	Iprodion 0.19 (25)
Total	37/118			

A: Number of positive samples/number of measured samples

B: Total number of positive pesticides/number of measured pesticides

a) Standard value in the Food Sanitation Law

b) Standard value of the Ministry of the Environment

温泉利用施設における浴槽水と源泉の成分調査

高柳信孝 健名智子

Investigation of Chemical Ingredients in
Spring Baths and Source of the Springs

Nobutaka TAKAYANAGI and Tomoko KEMMEI

日本は世界有数の温泉国であり、昔から湯治、保養に利用されてきた。近年でも余暇活動の増加、健康志向により、温泉利用客は増加の一途をたどっている。温泉地では利用施設の増加、浴槽の大型化とその設置数の増加等に対応してきたため、湯量は動力揚湯を行っても慢性的に不足する状態である。そのため、従来行われてきた浴用のための適温調整だけでなく、十分な湯量確保のための源泉への加水、循環ろ過、加温が行われていることが指摘 [1] されている。また、循環式浴槽を設置する温泉施設では、レジオネラ菌感染症発生対策として、塩素剤等による消毒を行うよう指導されている。

利用施設における「温泉の温度並びに成分」の揭示は、通常、利用場所と湧出口とは温泉成分に差異がないとの判断から湧出口における温泉分析結果を記載している。しかし、源泉を浴用に供する際の加水、循環ろ過、加温などの行為によって、源泉と浴槽水の成分濃度に差異が生じている可能性があるため、これらの行為の実態把握と、源泉と浴槽水の成分分析調査を行った。

方 法：

1. 調査期間

平成13年4月1日～平成16年3月31日

2. 調査対象

前回の温泉分析から概ね10年を経過した温泉39件

3. 調査内容

1) 源泉及び浴槽水の中分析試験

2) 聞き取り調査

加水、循環ろ過、加温及び消毒の有無、源泉と利用施設間の距離、浴槽容量と浴槽への新湯追加量、1日平均利用人数などについて調査

結果と考察：

1. 源泉と浴槽水の濃度の差異と加水、循環ろ過、加温行為との関係

加水、循環ろ過、加温は、それぞれ12 (31%)、27 (69%)、27 (69%) の施設で行われていた。また、循環ろ過、加温の両方を行っているのは16 (41%) 施設、加水、循環ろ過、加温のすべてを行っているのは9 (23%) 施設、何も行っていないのは7 (18%) 施設であった。

図1に源泉及び浴槽水の主要7成分を比較した散布図を、無加水グループと加水グループに分類して示した。無加水グループは、7成分ともほぼ源泉濃度と浴槽水濃度が等しく、 $y=x$ のライン(図中の対角線)付近に分布していた。一方、加水グループは炭酸水素イオン以外の6成分が $y=x$ のラインから離れた源泉>浴槽水側に分布しており、これらの成分分布結果は源泉が加水により希釈されたことによると推測された。炭酸水素イオンについてのみ両グループの区別は明確ではなかった。これは、加水に使用される水の炭酸水素イオン割合が高いことを示唆しているものと考えられた。

無加水グループをさらに無循環ろ過グループと循環ろ過グループに分類した源泉及び浴槽水の比較散布図のうち、代表例としてカルシウムイオンと硫酸イオンを図2に示した。無循環ろ過グループ、循環ろ過グループとも $y=x$ のライン付近に分布しており、他の5成分も同様の傾向を示したことから、源泉と浴槽水の濃度の差異と循環ろ過の有無とはほとんど関係がないと考えられた。

同様に、無加温グループと加温グループに分類した源泉及び浴槽水の比較散布図をみたところ、循環ろ過の場合と同様の結果であり、加温の有無も源泉と浴槽水の濃度の差異とほとんど関係がないと考えられた。

2. 泉質の変化

源泉の中分析の結果、泉質の内訳は塩化物泉が21件、塩化物・硫酸塩泉が2件、炭酸水素塩・塩化物泉が3件、硫酸塩泉が1件、硫酸塩・塩化物泉が3件、単純硫黄泉が3件、単純酸性硫黄泉が1件、アルカリ性単純温泉が2件、泉質なしが3件であった。

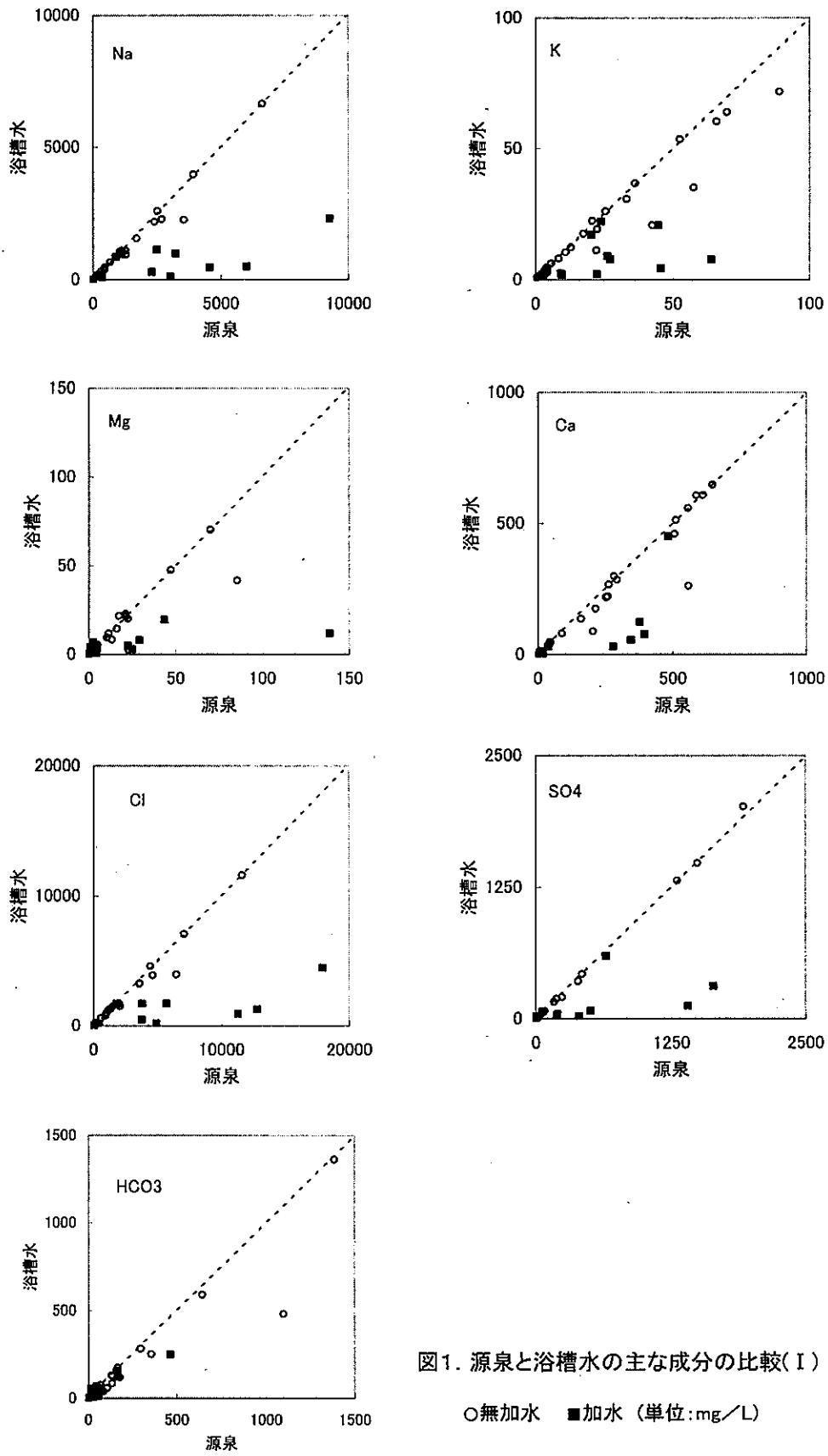


図1. 源泉と浴槽水の主な成分の比較(I)

○無加水 ■加水 (単位:mg/L)

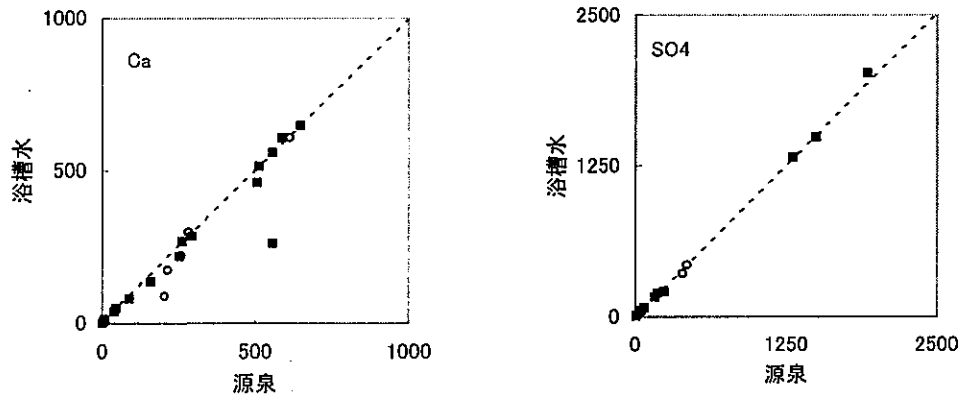


図2. 源泉と浴槽水の主な成分の比較(Ⅱ)

○無循環ろ過 ■循環ろ過 (単位:mg/L)

浴槽水の分析結果から、一部を除いて温度を考慮せずに成分のみで泉質判定を行ったところ、源泉と浴槽水とで泉質が異なったのは2件で、単純硫黄温泉1件が単純温泉に、単純酸性硫黄泉1件が泉質なしとなった。前者の泉質が変化した要因としては、塩素剤による浴槽水の消毒で、遊離硫化水素、硫化水素イオン等が酸化されたこと、源泉と利用施設との距離が、2680mと長く送湯中に硫化水素が揮散したこと等によると考えられた。また、後者については、源泉が73℃と高温で酸性のため、硫化水素が揮散したこと、温度調整のため加水したことにより、pHが3を超え酸性泉ではなくなったこと等によると考えられた。

また、源泉で塩化物泉、炭酸水素塩・塩化物、硫酸塩泉、泉質なしの各1件ずつ計4件が、浴槽水では

温泉の定義に適合しなくなった。加水による成分濃度の低下と、時間経過と加温によるガス成分の揮散が要因と考えられた。適正利用を指導した後の再分析では、温泉の定義に適合していた。

3. その他の聞き取り調査結果

浴槽の消毒は28施設が行っており、残留塩素濃度は0.01~4 mg/L (平均0.29 mg/L)であった。また、源泉と利用施設間の距離は2~2680m (平均304m)であった。

文 献

1. 公正取引委員会 (2003). 温泉表示に関する実態調査報告書。

平成15年度食品衛生（理化学）検査の精度管理調査について

齊藤行雄 大戸幹也 松永明信 坂森寛治

Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture

Yukio SAITO, Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA and Kanji SAKAMORI

富山県食品衛生検査業務管理要綱に基づき [1]、平成11年度から県内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きた [2, 3, 4, 5]。今年度は、にんじん中の農薬試験について実施し、有機リン系農薬であるクロルピリホス及びマラチオンの2項目を調査した。検査機関から送付された検査結果を当所で集計して解析と評価を行ったので報告する。

材料及び方法：

(1)実施期間 平成16年1月26日～2月13日（測定期間 平成16年1月26日～2月6日）。

(2)参加機関 厚生センター、保健所など県内の6検査機関。

(3)調査項目及び検査試料 調査項目は、にんじん中のクロルピリホス、マラチオンの2項目である。検査試料は、研究目的の一環として（財）食品薬品安全センター秦野研究所から分与された残留農薬検査用調査試料（にんじんペースト、200g入りボトル、6個）を用いた。この試料はクロルピリホスが $0.25 \mu\text{g/g}$ 及びフェニトロチオンが $0.15 \mu\text{g/g}$ の濃度で作成されている [6]。ボトル内の試料を十分混合後、1試料あたり10.00gを共栓試験管20mLに秤量して、80試料をサンプリングした。これらの各サンプリング試料にマラチオン $5 \mu\text{g/mL}$ のアセトン液1mLを添加して検査試料とした。各機関にそれぞれ10個ずつ配布した。

(4)検査方法及び結果等の解析 配布した検査試料1個の全量を各機関の検査実施標準作業書（検査SOP）に基づき実施し、合計5個の検査試料の測定結果を検査経過記録等と併せて当所で解析した。各機関の検査SOPは厚生省通知の残留農薬迅速分析法 [7] に基づき作成されていた。但し、GPC装置が未導入のA,B,D,F機関はアセトニトリル分配法（アセトン抽出→ケイソウ土カラムクロマト→アセトニトリル分配→シリカゲルミニカラムクロマト）を、C,E機関はGPC法（アセトン抽出→ケイソウ土カラムクロ

マト→GPC→グラファイトカーボンブラック（GCB）+プライマリ/セカンダリアミン（PSA）ミニカラムクロマト）を採用した。測定機器はA及びF機関がFTD及びNPD-GC、他の機関はFPD-GCを用いた。

結果：

(1)クロルピリホス クロルピリホスの集計結果をTable 1に示した。検査機関の測定平均値（ \bar{x} ）の最大値は $0.2910 \mu\text{g/g}$ 、最小値は $0.1978 \mu\text{g/g}$ 、その平均値（全機関平均値： \bar{x} ）±標準偏差（SD）は、 $0.2324 \pm 0.0349 \mu\text{g/g}$ であった。機関間の変動係数（CV）は、15.03%と20%以下 [7] の値が得られ、機関間回収値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変動係数は1.64%～6.08%の範囲にあり、全て20%以内 [7] の小さい値であった。

$\bar{x}-R$ 管理図 [8, 9, 10] をFig. 1-1に示した。 \bar{x} 管理図では、全ての検査機関の \bar{x} 値が食品中の残留農薬試験の管理ラインである添加量 $0.25 \mu\text{g/g}$ の70%（下部管理限界線 LCL, $0.175 \mu\text{g/g}$ ）から120%（上部管理限界線 UCL, $0.300 \mu\text{g/g}$ ）の範囲内にあり「良好」であった。R管理図からは、A, E機関の値が高い傾向であったが、全ての機関のR値はUCL以内であり、問題はなかった。

z-スコア [8] をFig. 1-2に示した。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「管理されている」と判断できた。

(2)マラチオン マラチオンの集計結果をTable 2に示した。検査機関の測定平均値（ \bar{x} ）の最大値は $0.5914 \mu\text{g/g}$ 、最小値は $0.3896 \mu\text{g/g}$ 、その平均値（全機関平均値： \bar{x} ）±標準偏差（SD）は、 $0.5255 \pm 0.0720 \mu\text{g/g}$ であった。機関間の変動係数は、13.70%と20%以下の比較的小さい値が得られ、機関間回収値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変動係数は1.13～4.98%の範囲にあり、全て20%以内の小さい値であった。

Table 1. Analytical Results of Chlorpyrifos in Quality Control Sample

Laboratory	Concentration (\bar{x} , $\mu\text{g/g}$)	CV (%)	Range (R, $\mu\text{g/g}$)
A	0.1978	6.08	0.030
B	0.2038	2.54	0.013
C	0.2150	1.64	0.008
D	0.2364	2.35	0.014
E	0.2506	6.02	0.037
F	0.2910	3.03	0.023
Median	0.2257	2.79	0.019
Max.	0.2910	6.08	0.037
Min.	0.1978	1.64	0.008
Average (\bar{x})	0.2324	3.61	0.021
SD	0.0349	—	—
CV(%)	15.03	—	—

Table 2. Analytical Results of Malathion in Quality Control Sample

Laboratory	Concentration (\bar{x} , $\mu\text{g/g}$)	CV (%)	Range (R, $\mu\text{g/g}$)
A	0.3896	4.98	0.048
E	0.5102	4.36	0.056
B	0.5384	2.16	0.029
C	0.5550	1.13	0.015
D	0.5684	1.74	0.027
F	0.5914	1.93	0.029
Median	0.5467	2.05	0.029
Max.	0.5914	4.98	0.056
Min.	0.3896	1.13	0.015
Average (\bar{x})	0.5255	2.72	0.034
SD	0.0720	—	—
CV(%)	13.70	—	—

\bar{x} -R管理図を Fig. 2-1 に示した。 \bar{x} 管理図では、全ての検査機関の \bar{x} 値が管理ラインである添加量0.50 $\mu\text{g/g}$ の70% (LCL, 0.350 $\mu\text{g/g}$) から120% (UCL, 0.600 $\mu\text{g/g}$) の範囲内にあり、管理状態は「良好」であった。 R 管理図においては、A, E 機関の値が高い傾向であったが、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。

z-スコアを Fig. 2-2 に示した。 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「管理されている」と判断できた。

考 察：

(1)クロルピリホス 残留農薬試験では、添加量の回収率70~120%を精度管理の目安としている。 F 機関の測定値 (0.2910 $\mu\text{g/g}$) が \bar{x} 管理図の UCL に近い数値であった。

この要因として、同機関では共栓試験管 (20mL) 中の試料 (10.00g) をホモジナイズ用容器に移す際に水10mL以上用いて洗い込んだ結果、抽出液中の水分量が20mL以上に増えた。 水20mL保持用のケイソウ土カラムでは、供試指定液量を超えないようにする必要があり、にんじん中の水溶性マトリックスが保持されず溶出したと考えられた。 また、シリカゲルミニカラムの充填量500mg (他の機関: 690mg), 溶出溶媒の使用はアセトン・ヘキサン (1:1) 混液 (他の機関: アセトン・ヘキサン (3:17)) であり、他機関と比較して吸着剤が少ないこと、溶出溶媒の極性が高いことなどから、最終試験溶液中のマトリックス量が多くなり、高めの回収値になったものと考えられた。 今後は、このような事項などに注意して、最終試験溶

液中のマトリックス量を減らす必要がある。

今回の精度管理では、全ての機関がアセトンに溶解した標準溶液を使用している。 この標準溶液の場合は GC ライナー部で一部吸着がおこりレスポンスが小さくなるのに対して、試料マトリックス中にある農薬は本来のレスポンスが得られる (マトリックス効果)。 そこで GPC 法, アセトニトリル分配法, 告示法 (アセトン抽出→酢酸エチル・ヘキサン (1:4) 転溶→シリカゲルカラムクロマト→GCBミニカラムクロマト追加) の3方法により数値の比較を行った。 最終試験溶液の着色状況は、無色 (GPC 法), 淡黄色 (分配法), 淡黄色 (告示法, GCB未使用の場合: 橙赤色) であり、5回測定の平均値は0.2150 $\mu\text{g/g}$ (GPC 法), 0.2296 $\mu\text{g/g}$ (分配法) 及び0.2436 $\mu\text{g/g}$ (告示法) であった。 にんじん中のカロチンなどマトリックス量が多くなるにつれて数値が高くなる傾向を示した。 参考値としてフェニトロチオンでは0.1296 $\mu\text{g/g}$ (GPC 法), 0.1380 $\mu\text{g/g}$ (分配法) 及び0.1438 $\mu\text{g/g}$ (告示法) であった。

(2)マラチオン A 機関 (0.3896 $\mu\text{g/g}$) 及び F 機関 (0.5914 $\mu\text{g/g}$) の数値が、 \bar{x} 管理図の LCL 及び UCL に近い数値であった。

この要因として、F 機関ではクロルピリホスと同様の事項によるものと考えられた。 A 機関では、ケイソウ土カラムの溶出溶媒に告示の酢酸エチル・ヘキサン (1:4) 転溶に用いる溶媒を使用していた。 マラチオンはクロルピリホスよりも水溶性があり、酢酸エチルの単一溶媒にして極性を上げると回収量も上昇すると考えられた。

GPC 法, アセトニトリル分配法及び告示法の3方

法により数値の比較を行ったところ、5回測定の実平均値は0.5550 $\mu\text{g/g}$ (GPC法)、0.5552 $\mu\text{g/g}$ (分配法) 及び0.6646 $\mu\text{g/g}$ (告示法) であった。マトリックス量は多くなるにつれて数値もさらに高くなる傾向を示した。

このマトリックス効果を減らすには、①マトリックス除去率の高い精製法の採用、②希釈法でGC注入時のマトリックスを減らす、③標準溶液にポリエチレングリコール (PEG) など極性物質を添加、④標準溶液を農薬未含有の試料抽出残渣に混和して標準とするマトリックス混合標準液の使用などがある。当所では

①と③を併用している。GPC、GCB+PSA ミニカラムクロマトで色素や脂肪酸等を効率よく除去後に標準液、最終試験溶液にPEGを添加しているが、今後、最良の方法を検討する必要がある。

平成15年度における精度管理調査結果は、いずれの検査機関も残留農薬試験の管理ラインである添加量の70%から120%の範囲内にあり、R値及びzスコアに関しても全て「良好」な範囲に入った。今後は、さらに信頼できる分析値を行政に提供するために分析技術の維持、向上を図る必要がある。

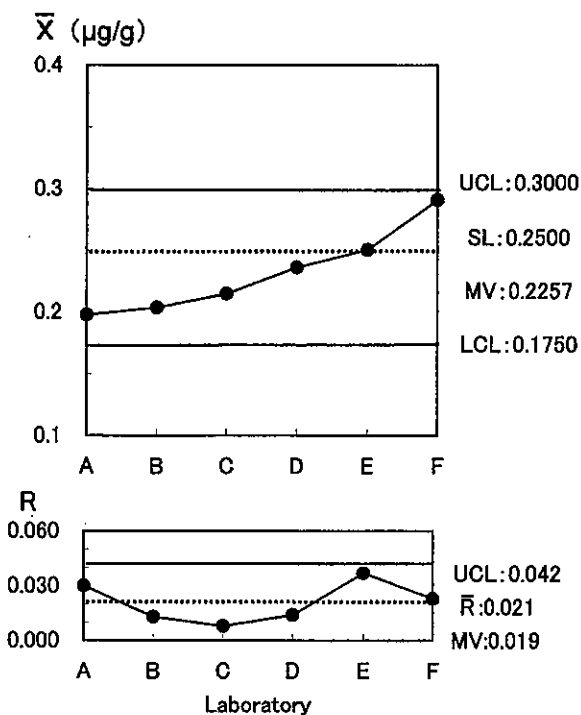


Fig. 1-1. \bar{X} -R control chart of chlorpyrifos
 UCL: upper control limit, LCL: lower control limit
 SL: spiked level, MV: median value
 R: average of range

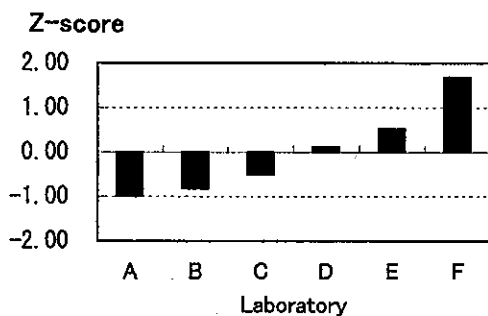


Fig. 1-2. Z-score of chlorpyrifos

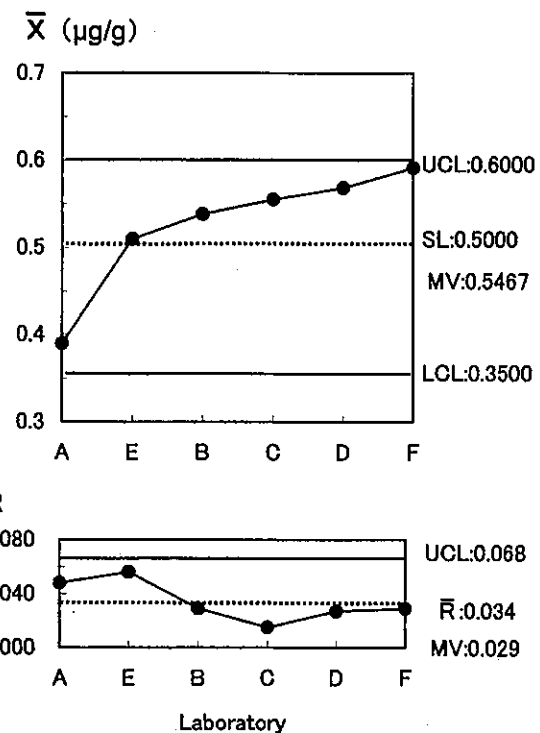


Fig. 2-1. \bar{X} -R control chart of malathion
 UCL: upper control limit, LCL: lower control limit
 SL: spiked level, MV: median value
 R: average of range

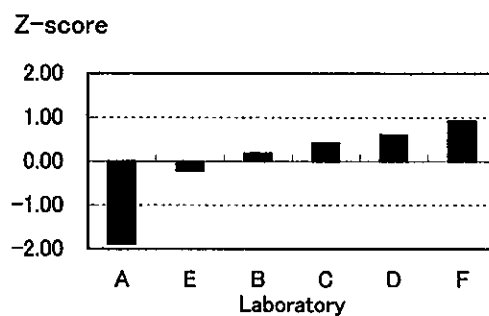


Fig. 2-2. Z-score of malathion

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. 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2000). 富山衛研年報, 23, 175-177.
3. 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2001). 富山衛研年報, 24, 191-194.
4. 齊藤行雄, 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2002). 富山衛研年報, 25, 189-193.
5. 大戸幹也, 齊藤行雄, 松永明信, 坂森寛治(2003). 富山衛研年報, 26, 179-182.
6. (財)食品薬品安全センター秦野研究所食品衛生外部精度管理調査事業部 (2004). 平成15年度食品衛生外部精度管理調査結果報告書-総括報告書-, 70-71.
7. 厚生省通知衛化第43号. 平成9年4月8日
8. (財)食品薬品安全センター秦野研究所食品衛生外部精度管理調査事業部 (2004). 平成15年度食品衛生外部精度管理調査結果報告書-総括報告書-, 140-145.
9. 日本水道協会 (2001). 上水試験方法解説編, 16-20.
10. 日本規格協会 (1998). JIS Z 9021.

平成15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

On the External Quality Control of the Quantification of Chromaticity,
Turbidity and Trihalomethanes in Water

Tomoko KEMMEI, 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15年度は色度・濁度およびトリハロメタン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) 試料の配布年月日

色度・濁度；平成16年1月22日

トリハロメタン；平成16年1月27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厚生センター・保健所及び当所の計10機関である。県内の水道水質検査を実施する全機関が参加した。

(3) 実施項目：色度・濁度およびトリハロメタン

(4) 配布試料：色度・濁度測定用試料は配布当日に採水した環境水であり、各参加機関に1L丸型ポリビンを1本配布した。色度・濁度については関東化学製色度標準液（1000度）・濁度標準液（100度）も配布した。トリハロメタン測定用試料は5Lの超純水にトリハロメタン標準液を添加して調製したものであり、これを500mLガラスビンに小分けし配布した。配布試料におけるトリハロメタン各成分の濃度範囲は0.001～0.020mg/Lであると明示した。なお、色度・濁度試料、トリハロメタン試料ともに、配布後速やかに測定することとした。

(5) 測定方法及び測定結果：測定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。測定結果は、色度については測定間隔1度、濁度については測定間隔0.1度で、トリハロメタンについては小数点以下4桁まで記載することとした。この結果のほか、測定方法、機器分析における測定データ（試料及び検量線）等についても、所定の様式により衛生研究所へ報告することとした。また色度・濁度を機器分析により測定している機関については、配布し

た標準液より色度1度、濁度1度の標準水溶液1Lをそれぞれ調製し、5回の併行測定を行い、その結果を色度・濁度ともに測定間隔0.1度で報告することとした。

結果：

(1) 色度・濁度

色度・濁度については、県内の水質検査全10機関が参加した。このうち色度の測定方法として比色法を用いた機関は1機関、透過光測定法を用いた機関は9機関であり、濁度は全10機関が積分球式光電光度法を用いていた。

色度・濁度用として配布した試料は、配布当日朝、当所近くにあるY池にて採水したもので、1L丸型ポリビン16本に採水し、当所以外の9機関に各1本を配布し、当所においては7本それぞれについて色度・濁度を5回併行測定した（うち、1本についての結果を当所分として報告）。7本についてのビン内変動係数は、色度0.4-1.7%、濁度0.3-0.8%、ビン間変動係数は、色度1.4%、濁度1.4%と低く、配布されたビンの間には差はないと考えられた。しかしながら、2～3の機関から試料に浮遊物が多く測定しにくいという指摘があった。

色度について、各機関から測定間隔1度で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下1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。各機関とも5回の併行測定値の範囲は0または1度で、各機関内での室内変動係数は0.0～5.2%と10%未満であった。10機関のうち9機関の測定値が色度9～11度の範囲にあったが、1機関（機関J）のみ色度20.2度であった。この機関はGrubbsの異常値検定（危険率5%）の結果棄却され、この機関を除いた9機関の測定値の平均値±標準偏差は10.4±0.68度であった。この9機関の測定値の変動係数（室間変動係数）は6.6%と10%を下回っていた。

透過光測定法を用いた9機関において、配布した標準液より調製した色度1度水溶液を5回併行測定(測定間隔0.1度)した平均値を小数点以下2桁まで求め、Table 1に併記した。機関J以外の機関では、0.98~1.04度と定量され、回収率が0.9~1.1となる範囲内にあり、良好な結果が得られた。機関Jは1.24度と定量された。Table 1には測定結果のほか、測定方法および分析機器を併記した。

色度において、透過光測定法を用いた9機関のうち機関Jを含む8機関が濁度別の色度検量線を内蔵する同一機種により測定を行っていた。これら8機関の試料及び検量線の吸光度を見比べたところ、機関Jの試料の吸光度は他機関とあまり差がなかったのに対し検量線の吸光度が他機関の半分程度であった。何らかの測定上の不備があったものと思われる。機関Jにおいては、この精度管理のあと分析機器のメーカーによる点検を行なった。

濁度について、各機関から測定間隔0.1度で報告された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、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 2に示した。各機関とも5回の併行測定値の範囲は1度未満で、各機関内での室内変動係数は0.0~6.5%と10%未満であった。10機関のうち9機関の測定値が濁度4.7~5.1度の範囲にあったが、1機関(機関a)のみ濁度3.64度であった。この機関はGrubbsの異常値検定(危険率5%)の結果棄却され、この機関を除いた9機関の測定値の平均値±標準偏差は4.87±0.145度であった。この9機関の測定値の変動係数(室間変動係数)は3.0%と10%を下回っていた。

配布した標準液より調製した濁度1度水溶液を5回併行測定(測定間隔0.1度)した平均値を小数点以下2桁まで求め、Table 2に併記した。機関a以外の機関では、1.00~1.06度と定量され、回収率が0.9~1.1となる範囲内にあり、良好な結果が得られた。機関aは0.80度と定量された。Table 2には測定結果のほか、分析機器、使用標準溶液メーカーを併記した。

濁度において、機関aは和光純薬製の標準液を、他

Table 1. Summary of Quantification of Chromaticity

Laboratory	Sample		1 unit solution		Method	Apparatus
	Chromaticity ¹⁾ (unit)	CV (%)	Chromaticity ¹⁾ (unit)	CV (%)		
A	9.0	0.0	0.98	4.6	Abs ²⁾	UV1600 ⁴⁾
B	10.0	0.0	0.98	4.6	Abs	WA2000 ⁵⁾
C	10.0	0.0	0.98	4.6	Abs	WA2000
D	10.0	0.0	1.00	0.0	Abs	WA2000
E	10.6	5.2	1.00	10.0	Abs	WA2000
F	10.8	4.1	1.04	5.3	Abs	WA2000
G	11.0	0.0	—	—	Col ³⁾	—
H	11.0	0.0	1.04	12.9	Abs	WA2000
I	11.0	0.0	1.04	5.3	Abs	WA2000
J	20.2*	2.2	1.24*	7.2	Abs	WA2000
Number of lab.**	9	9	8	8		
Max	11.0	5.2	1.04	12.9		
Min	9.0	0.0	0.98	0.0		
Average	10.4	1.03	1.01	5.89		
SD	0.68	2.07	0.028	3.91		
CV(%)	6.6	—	2.8	—		

* : Abandoned as abnormal observation

** : Number of laboratories except Lab.J

1) : Mean value of 5runs

2) : Absorptiometry (390nm)

3) : Colorimetric analysis after passed over filter paper

4) : Products of Shimadzu

5) : Products of Nippon Denshoku

の機関は関東化学製の標準液を用いて検量線を作成していた。濁度標準液については、カオリン粒子径の分布により、濁度の値が異なることが報告されている [1]。国内の試薬メーカーのカオリン濁度標準液間においても、カオリン原料や作製法の違いにより粒径分布が異なり、メーカー間格差があることが知られている [2]。他県における濁度の精度管理においても、その変動の要因は濁度標準そのものの差が大きいことによるとされている [3, 4, 5]。愛知県衛生研究所のデータによると、積分球式光電光度法により和光純薬製の標準液を用いて検量線を作成し、関東化学製標準液より調製した濁度10度水溶液を測定すると7.73度に定量された [6]。今回、機関aにおいて濁度が低く定量されたのは、機関aが他の機関と異なるメーカーの標準液を使用し検量線を作成したことによるとと思われる。

(2) トリハロメタン

トリハロメタンについては、県内の水質検査のうち5機関が参加し、測定方法として、ページ・トラップガスクロマトグラフー質量分析法を用いた機関が4機関、ヘッドスペースガスクロマトグラフー質量分析法

を用いた機関が1機関であった。

トリハロメタン用として配布した試料は、試料配布1日前に調製した。あらかじめ冷蔵庫で充分冷却した5Lの超純水 (Milli-Q SP TOC-VOC ポリッシャー通過水を5Lメスフラスコにとったもの) に、市販ヘッドスペース・ガスクロ法用トリハロメタン標準溶液 (クロロホルム 2mg/ml, プロモジクロロメタン 1mg/ml, ジプロモクロロメタン 4mg/ml, プロモホルム 20mg/ml 含有メタノール溶液) を100倍希釈したメタノール標準液をマイクロシリンジ (あらかじめ冷凍庫内で冷却したもの) で500 μ lとり、超純水内に直接添加・混合し、500mLガラスビンに小分けしたものである。試料中の各トリハロメタンの濃度はクロロホルム0.002mg/L, プロモジクロロメタン0.001mg/L, ジプロモクロロメタン0.004mg/L, プロモホルム0.020mg/Lである。

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桁まで求めそれぞれ各機関の測定値とした。4種のトリハロメタンの合計量を総トリハロメタンとし、Table 3に総トリハロメタンの小さい方から順に並べ、トリハロメタンの

Table 2. Summary of Quantification of Turbidity

Laboratory	Sample		1 unit solution		Apparatus	Maker of standard soln.
	Turbidity ¹⁾ (unit)	CV (%)	Turbidity ¹⁾ (unit)	CV (%)		
a	3.64*	2.5	0.80*	1.6	WA2000 ²⁾	Wako ⁴⁾
b	4.70	0.0	1.01	1.7	WA2000	Kanto ⁵⁾
c	4.72	1.8	1.03	1.6	SEP-PT-706D ³⁾	Kanto
d	4.72	0.9	1.05	0.8	WA2000	Kanto
e	4.82	1.7	1.04	5.3	SEP-PT-706D	Kanto
f	4.86	2.3	1.02	1.5	WA2000	Kanto
g	4.94	6.5	1.02	2.1	WA2000	Kanto
h	4.94	1.8	1.05	0.5	WA2000	Kanto
i	5.04	1.1	1.00	1.3	WA2000	Kanto
j	5.10	1.4	1.06	5.2	SEP-PT-706D	Kanto
Number of lab.**	9	9	9	9		
Max	5.10	6.5	1.06	5.3		
Min	4.70	0.0	1.00	0.5		
Average	4.87	2.0	1.03	2.2		
SD	0.145	1.83	0.020	1.77		
CV(%)	3.0	—	1.9	—		

* : Abandoned as abnormal observation

** : Number of laboratories except Lab.J

1) : Mean value of 5runs

2) : Products of Nippon Denshoku

3) : Products of Dia Instruments Co.,Ltd.

4) : Wako Pure Chemical Industries.Ltd.

5) : Kanto Chemical Co.,Inc.

Table 3. Summary of Quantification of THMs

Laboratory No.	Concentration (mg/L)					CV(%)					Recovery ¹⁾				
	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl ₂	CHBr ₂ Cl	CHBr ₃	CHCl ₃	CHBrCl ₂	CHBr ₂ Cl	CHBr ₃	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl ₂	CHBr ₂ Cl	CHBr ₃	
1	0.0245	0.0017	0.0008	0.0036	0.0184	0.0	0.0	1.5	2.5	0.91	0.85	0.80	0.90	0.92	
2	0.0254	0.0020	0.0011	0.0037	0.0186	2.2	0.0	0.0	0.9	0.94	1.00	1.10	0.93	0.93	
3	0.0256	0.0026	0.0010	0.0042	0.0178	2.7	0.0	3.1	6.5	0.95	1.30	1.00	1.05	0.89	
4	0.0257	0.0018	0.0011	0.0044	0.0184	2.5	0.0	1.0	2.5	0.95	0.90	1.10	1.10	0.92	
5	0.0267	0.0022	0.0011	0.0040	0.0194	2.1	4.0	3.2	3.8	0.99	1.10	1.10	1.00	0.97	
Number of lab.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
Max	0.0267	0.0026	0.0011	0.0044	0.0194	2.7	4.0	3.2	6.5	0.99	1.30	1.10	1.10	0.97	
Min	0.0245	0.0017	0.0008	0.0036	0.0178	0.0	0.0	0.0	0.9	0.91	0.85	0.80	0.90	0.89	
Average	0.0256	0.0021	0.0010	0.0040	0.0185	1.89	0.80	1.78	3.23	0.947	1.030	1.020	0.995	0.926	
SD	0.00079	0.00036	0.00013	0.00033	0.00058	1.09	1.79	1.39	2.07	0.029	0.179	0.130	0.084	0.029	
CV(%)	3.1	17.4	12.8	8.4	3.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

1) : Recovery = Concentration / Preparation conc.
 TTHM : 0.027 (mg/L)
 CHCl₃ : 0.002 (mg/L)
 CHBrCl₂ : 0.001 (mg/L)
 CHBr₂Cl : 0.004 (mg/L)
 CHBr₃ : 0.020 (mg/L)

測定値、室内変動係数、回収率を示した。

総トリハロメタンの全機関の計算値の平均値±標準偏差は $0.00256 \pm 0.00079 \text{mg/L}$ 、室間変動係数は3.1%と10%を下回っていた。各トリハロメタンごとにみると、どの機関においても測定値の室内変動係数は小さかったが、室間変動係数はクロロホルム、プロモジクロロメタンについては10%を上回っており、機関間でのばらつきが大きかった。また、機関No.1と機関No.3において、回収率が0.9~1.1の範囲に入らない項目があった。

全測定機関がオートサンプラーを用いていたが、検量線標準列を作成する際に、①：標準列をメスフラスコにて調製後オートサンプラー用のバイアルに分取している機関（機関No.1, 3）と、②：オートサンプラー用のバイアルにて標準液をマイクロシリンジを用いて注入し調製している機関（機関No.2, 4, 5）があった。①法の場合、標準列の繰り返し精度は高いが、ブランク水を充分冷却しておかないと測定物質が揮発してしまうおそれがある。このことが機関No.3のクロロホルムの回収率が1.3と高かったことの原因と思われる。②法の場合、標準列がばらつく可能性がある。標準列を繰り返し測定していた機関No.1-4のうち機関No.4において、プロモホルムの各標準列の繰り返し精度が10%を超えており問題があった。揮発性有機化合物の検量線用標準列を測定をする際には、ブランク水が妨害物質を含まないこと、標準液を添加する際にブランク水を充分冷却しておくこと、標準液を添加するマイクロシリンジは濃度により使い分け、あらかじめ冷凍庫内で冷却し、使用後は充分に洗浄する等の細心の注意が求められる [7, 8]。

今回の精度管理において、試料配布時にトリハロメタン各成分の濃度範囲は $0.001 \sim 0.020 \text{mg/L}$ であると明示した。この濃度範囲で一次式の検量線を作成した場合、どの機関のどの項目も直線性は良好であった。しかしながら、検量線の下限付近に調製濃度が設定されたクロロホルム、プロモジクロロメタンや、上限付近に調製濃度が設定されたプロモホルムでは傾きや切片の微妙なずれが測定値に影響を与えていた。機関No.1のクロロホルム、プロモジクロロメタンの検量

線は切片が高く、測定値は低かった。機関No.3は、トリハロメタン各成分ごとに異なった濃度範囲の検量線を用い定量を行っていた。

考 察：今年度の水道水質精度管理のうち色度・濁度については、試料として環境水を使用した。浮遊物が多く測定しにくいという意見が出されたが、特定の機関を除き、機関内・機関間のばらつきが小さく良好な結果が得られた。

色度において何らかの測定上の不備があったと思われる機関では、精度管理後、分析機器のメーカーによる点検を行なった。濁度については使用する市販濁度標準液のメーカー間に格差が見られ、その差が精度管理おける変動の要因となった。来年度から濁度の標準液がポリスチレン系粒子混濁液に変更されることから、来年度も引き続き濁度の精度管理を行なうこととなった。

トリハロメタンについては、機関内のばらつきは小さかったが、機関間のばらつきが大きかった。標準列の調製法や検量線の作製範囲等が測定値に影響を与えたと推定された。精度上問題がある機関に対しては、改善すべき点について解決策を提示した。

文 献

1. 菅野明夫 (1975). 工業用水, 200, 54-61.
2. 日本水道協会 (2001). 上水試験法解説編. p165.
3. 藤田久雄, 秋山睦美, 砂古口博文, 黒田弘之 (1998). 香川衛研年報, 26, 36-39.
4. 土田千鶴子, 柴田幸治, 鶴岡則子, 福島得忍, 成富武治, 日野隆信 (2002). 水道協会雑誌, 71 (7), 40-47.
5. 伊藤八十男, 泉敏彦, 高野敬志 (2003). 北海道衛研所報, 53, 58-61.
6. 富田伴一 (1998). 平成8年度東海北陸支部衛生化学部会・講演要旨
7. 日本水道協会 (2001). 上水試験法. p432-440.
8. 「LSC-2000 水中のVOCs分析操作」, (株) ジェルサイエンス資料 (1993).

β_3 アドレナリン受容体遺伝子多型およびライフスタイル が肥満の進行に与える影響について

田中朋子 堀井裕子 長瀬博文 荒谷哲雄 松倉知晴¹

Influence of β_3 Adrenoceptor Gene Polymorphism and
Lifestyle on Body Weight Gain in Healthy Men

Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Hirofumi NAGASE,
Tetsuo ARATANI and Tomoharu MATSUKURA¹

肥満に関連する遺伝子多型として現在40個～50個が知られているが [1], 中でも β_3 アドレナリン受容体 (β_3 AR) 遺伝子多型は日本人に多く, 変異を有する者では基礎代謝が低く太り易いと言われている [2]. そこで, 男性について成人後の肥満の進行と β_3 AR 遺伝子多型および運動習慣との関連を検討した.

対象と方法: 対象は高血圧, 糖尿病, 高脂血症を除く健康な男性ボランティア18名 (平均年齢50.9歳, 34～62歳) である. 対象者には調査の目的を文書および口頭で説明し, 文書による同意を得た. 調査は平成14年3月 (初回時) と1年後, 2年後の3回実施した. 身長は初回時自己申告値を用い, 体重, 体脂肪率 (インピーダンス法, オムロン HBBF) は3回とも午前10時～12時に測定した. β_3 AR 遺伝子多型については初回時に, ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型法を用い測定し, Trp/Arg と Arg/Arg を節約型, Trp/Trp を正常型とした. アンケートにより病歴の他20歳頃の体重, 20歳頃の運動習慣の有無と継続状況を調査した. なお, 本調査は富山県衛生研究所の倫理委員会の承認を得ている.

結果および考察: 全対象者の初回時, 1年後, 2年後の身体状況を表1に示した. いずれも2年間で有意な変化は認められなかった. 初回時について BMI 25以上を肥満とすると7名 (39%), 体脂肪率25%以上を肥満とすると4名 (22%) が該当し, 重複は2名であった. しかし, BMI 30以上, 体脂肪率30%以上の高度肥満は認められなかった.

β_3 AR 遺伝子多型について, その出現率は節約型が5名 (28%) であった. 初回時について BMI 25以上は節約型と正常型それぞれ2名, 5名であり, 体脂肪率25%以上はそれぞれ2名, 2名 でありとも出現率に差はみられなかった. 両型について初回時, 1年後, 2年後の身体状況を比較したところ (表2), BMI に違いは認められなかった. しかし, 体脂肪率については初回時, 1年後, 2年後とも節約型が高い傾向を示した (各々 $p < 0.1$). β_3 AR 遺伝子多型を有すると基礎代謝が低く脂肪を蓄積しやすいといわれている [2]. 今回の調査では有意ではないが全調査時で節約型の体脂肪率が高いことから, 基礎代謝の違いが影響している可能性が示された. 次に, 2年間の変化をみると, BMI, 体脂肪率とも遺伝子多型の有無に係わらず有意な変化はなかった. そこで, 20歳頃の

表1 全対象者の身体状況

	初回時		1年後		2年後	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
年齢	50.8	8.4	—	—	—	—
身長	169.2	5.8	—	—	—	—
体重	66.9	8.1	67.4	9.1	67.5	7.8
BMI	23.4	2.5	23.5	2.9	23.6	2.5
体脂肪率(%)	22.1	3.4	22.2	4.5	22.9	4.5

1. 金沢大学医学部付属病院

表2 β_3 アドレナリン受容体遺伝子変異の有無と身体状況

		正常型 n=13		節約型 n=5	
		平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
初回時	BMI	23.3	2.9	23.8	1.3
	体脂肪率(%)	21.4 ^a	3.6	24.4 ^a	2.2
1年後	BMI	23.3	3.3	24.0	1.6
	体脂肪率(%)	21.1 ^b	4.6	25.1 ^b	2.6
2年後	BMI	23.6	2.9	23.6	1.2
	体脂肪率(%)	21.8 ^c	4.7	25.8 ^c	2.3
20歳BMI		21.4	3.0	21.5	2.3
平均BMI変化量		0.07	0.1	0.07	0.04

a,b,c : p<0.1

表3 運動習慣別身体状況の変化

	運動継続群(n=5)		運動中断群(n=5)		非運動群(n=8)		
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
初回時BMI	24.1	1.6	24.8	2.4	22.0	2.2	
初回時体脂肪率(%)	21.8	4.3	22.7	1.9	21.9	3.3	
BMI(2年後-初回時)	0.1	1.11	0.3	0.87	0.2	0.66	
体脂肪率(2年後-初回時)	0.7	2.73	0.9	2.65	0.8	2.42	
20歳BMI	23.6 ^a	2.3	21.7	2.8	19.9 ^a	1.6	p<0.1
平均BMI変化量	0.01 ^b	0.09	0.13 ^b	0.09	0.07	0.05	p<0.1

a,b: p<0.1

体重から20歳 BMI を推定し、さらに初回時の BMI と20歳 BMI から算出した年平均 BMI 変化量を2群で比較したが、ともに有意な違いは認められなかった。今回、体脂肪率については20歳頃の体脂肪率が不明であり、20歳頃の体脂肪率や体脂肪率の変化と遺伝子多型との関連をみるができなかったため、先にみられた遺伝子多型による体脂肪率の違いが若年時からの傾向なのか、あるいは成人以降に進行したのかを推察することはできなかった。

次に、20歳頃の運動習慣とその後の継続状況から、運動継続群(5名)、運動中断群(5名)、非運動群(8名)とし、初回時の BMI、体脂肪率、各々の2年間の差、20歳 BMI、年平均 BMI 変化量を比較したところ(表3)、初回時の BMI、体脂肪率、各々

の2年間の差は3群間に違いは認められなかった。一方、20歳 BMI について運動継続群は非運動群に比し高い傾向を示した(p<0.1)。しかし、年平均 BMI 変化量は運動中断群が運動継続群に比べ高い傾向を示し(p<0.1)、運動の中断が肥満の進行に影響している可能性が示された。

文 献

1. 坂根直樹, 吉田俊秀(2001) 日衛誌, 56, 110-111.
2. 門脇弘子(1996) Molecular Medicine, 33, 1134-1139.

女子高校生の骨密度と生活習慣との関連

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¹Relationship between Bone Mineral Density and Lifestyle-related Factors
in Senior High school Girl StudentsYuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE
Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI¹

成長期女子の骨密度獲得に影響する要因を明らかにするために、県内女子生徒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追跡調査を実施している。今年度は高校1年生を対象に調査を実施し、中学時と高校時の生活習慣の変化および骨密度と生活習慣との関連を検討した。

対象および方法：対象者は富山県の高校1年生女子140名である。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。今回の解析には、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136名を対象とした。

骨密度の測定はDXA法(DTX-200 OSTEOMETER社製)により非きき腕の前腕骨遠位部を測定した。骨代謝指標は骨形成指標として、血清中の骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)、骨吸収指標として尿中ピリジノリン(PYD)、デオキシピリジノリン(DPD)およびヒドロキシプロリン(Hyp)を測定した。尿中成分は濃度補正のため対クレアチニン比(/Cr)として表した。身長および体重は検診当日に測定し、生活習慣については自記式の調査票で小学、中学時代および現在の運動クラブ活動状況、牛乳摂取状況、初経発来の時期等を調査した。また、運動の指標として起床時から就寝時までの3日間の歩数を歩数計(タニタ ハローウォーク)で測定し、1日平均歩数を算出した。握力の結果は学校が別途実施したものをを用いた。

結果および考察：表1に対象者の体格、骨密度、骨代謝指標値を示した。健常な有経成人女性の平均値

(骨密度0.476 g/cm², BAP 1.0 BLU, PYD 20.3 nmol/mmolCre, DPD 4.0 nmol/mmolCre, Hyp 27.2mg/gCr)に比べると、高校1年生の骨密度は低く、骨代謝指標は高い値であり、まだ成人値には達していなかった。骨密度と体格、初経との関連を検討したところ、骨密度と身長との相関係数は $r = -0.16$ (n.s.)、体重とは $r = 0.32$ ($n = 136$ $p < 0.001$)で、骨密度は体重と正の有意な相関を示した。初経との関連では、骨密度は初経発来後の経過年数が長い群ほど高い傾向を示した(図1)。骨密度と体重、初経との関係は既に報告した中学2年生でも同じ傾向がみられており[1]、高校1年生においても骨密度は体重や第二次的徴といった発育の影響を受けていることが示された。

次に、対象者の運動習慣、牛乳摂取習慣について、小学、中学、高校時の各習慣の有無を比較した(図2)。運動習慣について各時期での運動クラブ活動の有無を調査したところ、運動クラブ実施率は小学校時は66

表1 対象者の体格、骨密度、骨代謝指標測定値

	高校1年生女子		
	人数	平均	標準偏差
身長 (cm)	136	158.5 ± 5.1	
体重 (kg)	136	53.3 ± 7.7	
骨密度 (g/cm ²)	136	0.399 ± 0.041	
BAP (BLU)	136	2.0 ± 0.7	
PYD* (nmol/mmolCr)	132	43.6 (1.36)	
DPD* (nmol/mmolCr)	132	8.2 (1.41)	
Hyp* (mg/gCr)	132	54.2 (1.40)	

幾何平均と幾何標準偏差

1 北陸予防医学協会

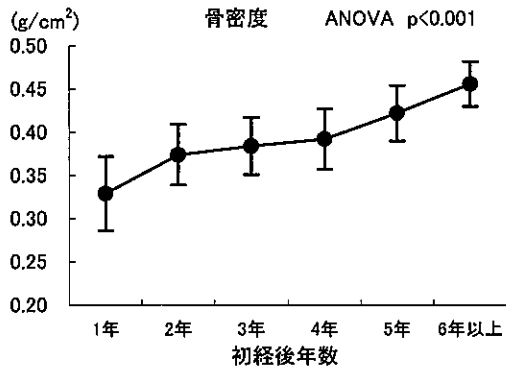


図1. 初経後年数別骨密度

%, 中学校時は67%といずれも約3分の2が運動部活動を行っていたが, 高校時は37%で約3分の1に減少していた。牛乳摂取量については, 小学, 中学校時は1日に平均1.5本(1本=200mlとして)摂取していたのが, 高校時は0.7本と減少していた。特に高校時は牛乳を飲まないもの(0本)が50%以上に達しており, 中学時まで実施されていた学校給食がなくなったことに伴い, 牛乳摂取習慣もなくなったものが多いと思われた。

運動習慣, 牛乳摂取習慣と骨密度の関連を検討した(表2)。1日平均歩数および現在の運動クラブ活動実施の有無の違いで骨密度に差はみられなかった。一方, 小学, 中学時の運動習慣との関連では, 過去に運動クラブ活動をしていたもので骨密度が高い傾向を示した。

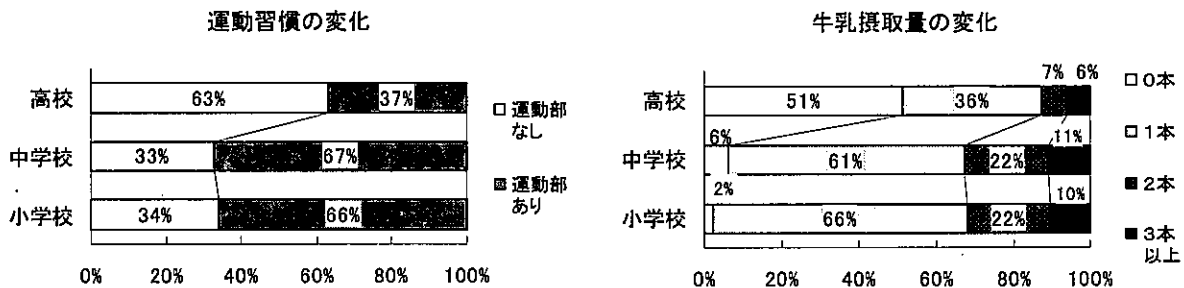


図2 小学・中学・高校別運動, 牛乳, 摂取習慣

表2 生活習慣別骨密度

項目	カテゴリー	人数	平均	標準偏差	
1日平均歩数	1万歩未満	40	0.396	± 0.046	
	1万歩以上2万歩未満	85	0.400	± 0.041	
	2万歩以上	11	0.405	± 0.028	ns
現在運動クラブ	あり	49	0.401	± 0.035	
	なし	84	0.399	± 0.044	ns
小学校・中学校時代運動クラブ	あり	115	0.401	± 0.040	
	なし	20	0.384	± 0.040	p<0.1
現在の1日牛乳摂取量	1本未満	68	0.395	± 0.038	
	1本以上	64	0.402	± 0.045	ns
小学校・中学校時代1日牛乳摂取量	2本未満	103	0.398	± 0.042	
	継続して2本以上	31	0.401	± 0.039	ns

表3 骨密度を従属変数とした重回帰分析 (ステップワイズ法)

N=122			
説明変数	標準偏回帰 係数	F値	
初経後年数	0.452	38.92	p<0.001
体重	0.340	22.14	p<0.001
現在牛乳摂取量 (1日1本未満=1、1本以上=2)	0.158	5.40	p<0.05
小学・中学校時の運動クラブ活動 (経験なし=1、あり=2)	0.103	2.31	p=0.13
小学・中学校時の牛乳摂取量 (1日2本未満=1、2本以上=2)	—		
現在運動クラブ活動 (なし=1、あり=2)	—		
握力	—		R ² =0.43
R ² : 決定係数		F-in=2, F-out=2	
— 採択されなかった変数			

牛乳摂取状況では、現在および過去の牛乳摂取量別で骨密度に有意な差は認められなかった。次に、筋力の指標として握力を用い、骨密度との関連を検討したところ、正の有意な相関 ($r=0.20$, $p<0.05$) がみられた。そこで、骨密度を従属変数とし、初経後年数、体重、小学・中学時および現在の運動クラブ活動実施有無、小学・中学時の牛乳摂取量 (1日2本未満、2本以上)、現在の牛乳摂取量 (1日1本未満、1本以上)、握力を独立変数とし、重回帰分析を行った (表3)。その結果、初経後年数、体重、現在の牛乳摂取量、過去の運動クラブ有無が選択された。

女子中学生については、骨密度は初経、体重、運動、牛乳摂取が影響することをこれまでに報告した [1]。今回の調査においても、骨密度は初経や体重といった発育の要因に加え小学・中学時の運動実施、現在の牛乳摂取と関連が示され、これらの習慣が女子高校生においても高い骨量に有効であることが確認された。一

方、高校時のライフスタイルを小学、中学時と比べると、運動実施状況や牛乳摂取習慣はどちらも中学と高校の間で大きく減少することが示された。このような中学から高校へかけての運動習慣や牛乳摂取の減少は、成長期の骨密度増加にマイナスに働くことが予測され、ライフスタイルと今後の骨密度の変化との関連を追跡調査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

- 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司 (2001). 富山衛研年報, 24, 147-155.

4. 業 績



(1) 誌 上 発 表

[原 著]

- 1) A new Sendai virus vector deficient in the matrix gene does not form virus particles and shows extensive cell-to-cell spreading.

Inoue M*, Tokusumi Y*, Ban H*, Kanaya T*, Shirakura M*, Tokusumi T*, Hirata T*, Nagai Y, Iida A*, Hasegawa M*.

J. Virol., 77(11), 6419-6429, 2003

A new recombinant Sendai virus vector (SeV/DeltaM), in which the gene encoding matrix (M) protein was deleted, was recovered from cDNA and propagated in a packaging cell line expressing M protein by using a Cre/loxP induction system. The titer of SeV/DeltaM carrying the enhanced green fluorescent protein gene in place of the M gene was 7×10^7 cell infectious units/ml or more. The new vector showed high levels of infectivity and gene expression, similar to those of wild-type SeV vector, *in vitro* and *in vivo*. Virus maturation into a particle was almost completely abolished in cells infected with SeV/DeltaM. Instead, SeV/DeltaM infection brought about a significant increase of syncytium formation under conditions in which the fusion protein was proteolytically cleaved and activated by trypsin-like protease. This shows that SeV/DeltaM spreads markedly to neighboring cells in a cell-to-cell manner, because both hemagglutinin-neuraminidase and active fusion proteins are present at very high levels on the surface of cells infected with SeV/DeltaM. Thus, SeV/DeltaM is a novel type of vector with the characteristic features of loss of virus particle formation and gain of cell-to-cell spreading via a mechanism dependent on the activation of the fusion protein.

- 2) 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(5), 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.

3) Virus multiplication and induction of apoptosis by Sendai virus: role of the C proteins.

Koyama AH*, Irie H*, Kato A*, Nagai Y, Adachi A*.

Microbes Infect., 5(5), 373-378, 2003

Sendai virus (SeV) P gene encodes a nested set of carboxyl-coterminal proteins (C', C, Y1 and Y2), which are referred to collectively as the C proteins. Characterization of the virus multiplication and cellular responses in HEp-2 cells infected with the recombinant SeV which lacks two (C' and C), three (C', C and Y1) or all the four C proteins revealed that all the recombinant viruses can grow in the cells to various extents, depending, apparently, on the number of species expressing C protein. In reverse proportion to the viral growth ability, these viruses induced apoptosis in the infected cells. These results indicate that Y2 protein has an antiapoptotic activity, and suggest that this activity works in an additive manner with the longer C protein(s) (C' and/or C) of SeV in order to suppress virus-induced apoptosis in the SeV-infected cells. Apparently, the antiapoptotic activity of the C proteins supports virus multiplication in the infected cells.

4) Masking of the contribution of V protein to Sendai virus pathogenesis in an infection model with a highly virulent field isolate.

Sakaguchi T*, Kiyotani K*, Watanabe H*, Huang C*, Fukuhara N*, Fujii Y*, Shimazu Y*, Sugahara F*, Nagai Y, Yoshida T*.

Virology, 313(2), 581-587, 2003

Sendai virus V protein is not essential for virus replication in cultured cells but is essential for efficient virus replication and pathogenesis in mice, indicating that the V protein has a luxury function to facilitate virus propagation in mice. This was discovered in the Z strain, an egg-adapted avirulent laboratory strain. In the present study, we reexamined the function of Sendai virus V protein by generating a V-knockout Sendai virus derived from the Hamamatsu strain, a virulent field isolate, which is an appropriate model for studying the natural course of Sendai virus infection in mice. We unexpectedly found that the V-knockout virus propagated efficiently in mice and was as virulent as the wild-type virus. Switching of the functionally important V unique region demonstrated that this region of the Hamamatsu strain was also functional in a Z strain background. It thus appears that the V protein is nonsense in a field isolate of Sendai virus. However, the V protein was required for virus growth and pathogenesis of the Hamamatsu strain in mice when the virulence of the virus was attenuated by introducing mutations that had been found in an egg-adapted, avirulent virus. The V protein therefore seems to be potentially functional in the highly virulent Hamamatsu strain and to be prominent if virus

平成16年10月1日

replication is restricted.

- 5) Protective efficacy of an AIDS vaccine, a single DNA priming followed by a single booster with a recombinant replication-defective Sendai virus vector, in a macaque AIDS model.

Takeda A*, Igarashi H*, Nakamura H*, Kano M*, Iida A*, Hirata T*, Hasegawa M*, Nagai Y, Matano T*.

J. Virol., 77(17), 9710-9715, 2003

We previously demonstrated the excellent protective efficacy of DNA priming followed by Gag-expressing Sendai virus (SeV) boosting (DNA prime/SeV-Gag boost vaccine) against a pathogenic simian-human immunodeficiency virus (SHIV89.6PD) infection in macaques. Here we show that we established a practical, safer AIDS vaccine protocol, a single DNA priming followed by a single booster with a recently developed replication-defective F deletion SeV-expressing Gag, and show its protective efficacy against SHIV89.6PD infections.

- 6) Impaired processing and presentation of cytotoxic-T-lymphocyte (CTL) epitopes are major escape mechanisms from CTL immune pressure in human immunodeficiency virus type 1 infection.

Yokomaku Y*, Miura H*, Tomiyama H*, Kawana-Tachikawa A*, Takiguchi M*, Kojima A*, Nagai Y, Iwamoto A*, Matsuda Z*, Ariyoshi K*.

J. Virol., 78(3), 1324-1332, 2004

Investigating escape mechanisms of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) from cytotoxic T lymphocytes (CTLs) is essential for understanding the pathogenesis of HIV-1 infection and developing effective vaccines. To study the processing and presentation of known CTL epitopes, we prepared Epstein-Barr virus-transformed B cells that endogenously express the gag gene of six field isolates by adopting an env/nef-deletion HIV-1 vector pseudotyped with vesicular stomatitis virus G protein and then tested them for the recognition by Gag epitope-specific CTL lines or clones. We observed that two field variants, SLFNTVAVL and SVYNTVATL, of an A*0201-restricted Gag CTL epitope SLYNTVATL, and three field variants, KYRLKHLVW, QYRLKHIVW, and RYRLKHLVW, of an A24-restricted Gag CTL epitope KYKLVKHLVW escaped from being killed by the CTL lines, despite the fact that they were recognized when the synthetic peptides corresponding to these variant sequences were exogenously loaded onto the target cells. Thus, their escape is likely due to the changes that occur during the processing and presentation of epitopes in the infected cells. Mutations responsible for this mode of escape were located within the epitope regions rather than the flanking regions, and such mutations did not influence the virus replication. The results suggest that the impaired antigen processing and presentation often occur in HIV-1 field isolates and thus are one of the major mechanisms that enable HIV-1 to escape from CTL recognition. We emphasize the importance of testing HIV-1 variants in an endogenous expression system.

7) A CCR2-V64I polymorphism affects stability of CCR2A isoform.

Nakayama EE*, Tanaka Y*, Nagai Y, Iwamoto A*, Shioda T*.

AIDS, 18(5), 729-738, 2004

OBJECTIVE: A valine to isoleucine substitution at position 64 of CCR2 (CCR2-64I) is associated with a delay in progression to AIDS in HIV-1-infected individuals. The aim of the present study is to elucidate the molecular mechanism underlying the effect of this allele. DESIGN: We analysed the effect of the 64I substitution on levels of expression of CCR2A and CCR2B, two CCR2 isoforms produced by alternative splicing. METHODS: Sendai virus vector was used to express CCR2 molecules. RESULTS: While CCR2B trafficked well to the cell surface, CCR2A, which differs from CCR2B only by the sequence of its C-terminal cytoplasmic tail, was detected predominantly in the cytoplasm. The level of expression of CCR2A-64I was significantly higher than that of CCR2A without the substitution. On the other hand, the 64I substitution did not affect levels of CCR2B expression. Pulse-chase experiments revealed that the 64I substitution increased the half-life of CCR2A in cells. When co-expressed with CCR5, CCR2A-64I interfered more severely with cell surface expression of CCR5 than did wild-type CCR2A. Furthermore, immunoprecipitation experiments showed that CCR2A co-precipitated with an immature form of CCR5. CONCLUSION: These results suggest that CCR2A binds to CCR5 in the cytoplasm and down-modulates its surface expression. We propose that the increased ability of CCR2A-64I to down-modulate CCR5 expression might be a possible cause of a delay in HIV-1 disease progression in patients with this allele.

8) ボックストラップ捕獲によるイヨシロオビアブの吸血飛来阻止の試み

渡辺 護

ペストロジー学会誌, 18(1), 39-44, 2003

イヨシロオビアブの吸血飛来に悩まされている2施設において、ボックストラップを設置することで吸血被害の軽減を図ったところ、CO₂を添加することで目的を達することが示唆された。

9) 富山県のリゾートホテルでみられたトコジラミの大発生とその駆除記録

谷口敬敏*, 黒田昭吉*, 渡辺 護

ペストロジー学会誌, 18(1), 53-58, 2003

富山県の大型リゾートホテルでみられたトコジラミによる吸血被害と、トコジラミの生息状況およびそれらの駆除の記録を詳細に示した。

平成16年10月1日

10) 家屋侵入性カメムシに対するテルペン製剤の侵入阻止事例

斉藤嘉宏*, 麻柄 隆*, 麻柄達生*, 平林桂介*, 渡辺 護

ペストロジー学会誌, 18(1), 65-68, 2003

テルペン製剤の窓枠重点処理による家屋侵入性カメムシの侵入阻止効果を実地試験で確かめたところ, 合成殺虫剤に比べ侵入阻止率は10%ほど低下する場合がみられたが, 十分に実用的であると判断された。

11) 富山県におけるコガタアカイエカの発生状況

渡辺 護, 長谷川澄代

病原微生物検出情報, 24(7), 155-156, 2003

富山県におけるコガタアカイエカの発生状況と豚におけるHI抗体陽性率との関係を述べ, さらに1988-2002年のコガタの発生季節消長を示して, コガタアカイエカの減少が普遍的ではないことなどから日本脳炎の脅威が消滅した訳ではないことを述べた。

12) AH3型とB型インフルエンザウイルスによる混合感染の1例について

正木明夫*, 松浦久美子, 香取幸治, 永井美之

小児感染免疫, 15, 199-205, 2003

2002年1月から4月にかけて富山県西部の福光町周辺では, AH1型, AH3型およびB型インフルエンザウイルスによるインフルエンザが流行した。この間にAH3型とB型インフルエンザウイルスによる混合感染の1症例を経験した。この症例(No. 182, 2歳10ヵ月)についてウイルス学的血清学的検討を行った。No.182の咽頭ぬぐい液は, 酵素免疫法によるウイルス抗原検出用試薬(インフルA・B-クイック「生研」)で, A型とB型の両抗原の陽性反応像を示した。咽頭ぬぐい液から分離されたウイルス株もA型とB型の両方の抗原陽性を示し, RT-PCR法によってAH3型とB型の両方の遺伝子が検出された。これより, 分離株はAH3型とB型の混合株であり, No. 182はほぼ同時期に2種類のインフルエンザウイルスに感染したと判断した。この混合株より分別した2株は, 抗原分析によりAH3型株はA/パナマ/2007/99(H3N2)株, B型株はB/秋田/27/2001株に類似していた。No.182の回復期血清には, AH3型とB型に対する抗体が認められた。

13) Phylogenetic Analysis of Spotted Fever Group Rickettsiae Based on *gltA*, 17-kDa, and *rOmpA* Genes Amplified by Nested PCR from Ticks in Japan. Isolated from Ticks in Japan

Mitsuhiro Ishikura, Shuji Ando, Yasuhiro Shinagawa, Kumiko Matsuura, Sumiyo Hasegawa, Takashi Nakayama, Hiromu Fujita and Mamoru Watanabe.

Microbiology and Immunology, 47, 823-832, 2003

In order to understand the natural situation of rickettsiae in the ticks in Japan, the rickettsial genes, *gltA* gene, *rOmpA* gene, and 17-kDa gene, were amplified from the ticks by nested PCR. The prevalences

of rickettsial *gltA* genes among *Haemaphysalis formosensis*, *H. longicornis*, *H. megaspinosa*, *Ixodes ovatus*, *H. flava*, *H. kitaokai*, and *I. persulcatus* were 62, 57, 24, 24, 19, 13, and 10%, respectively; 26% (186/722) being the average. The *gltA* genes amplified from the ticks were classified into 9 genotypes (I to IX) by the difference in nucleotide sequence. Genotype I was detected from 7 species of ticks. Genotype II mainly was detected from *H. longicornis* and *H. formosensis*. Genotypes III and VII mainly were detected from *H. flava* and *I. ovatus*. The polarization in the distribution of genotypes among regions where the ticks were collected, was not clear. Based on the phylogenetic analysis of the three genes presented here, genotypes I, III, and IV (detected from *H. formosensis*, *H. hystriicia* and *I. ovatus*) are genetically close with each other, but rickettsiae of the same property still have not been isolated from ticks anywhere in the world. These genotypes should be considered as new species among SFG rickettsiae. Genotype II was identical with strain FUJ-98, genetically close to *R. japonica* which has been isolated from the ticks in China. Genotype V was identical with *R. felis*, and strain California 2 isolated from the cat flea. This is the first report on the detection of *R. felis* from ticks. Genotype VI detected from *Ixodes* sp. did not seem to belong to genus *Rickettsia*. Based on the previous antigenic data and the phylogenetic analysis presented here, the genotype VII should be considered a variant of *R. helvetica* and genotype VIII detected from *I. ovatus* and *I. persulcatus* were identical with *R. helvetica*. Genotype IX detected from *I. nipponensis* was genetically close to the strains IRS3, IRS4, and IrR / Munich isolated from *I. ricinus* in Slovakia and German.

14) 食肉, 野菜および環境に分布する大腸菌群の分離と同定

刑部陽宅, 香取幸治, 田中大祐, 細呂木志保, 磯部順子, 木全恵子, 永井美之

日本食品微生物学会雑誌, 20(4), 197-202, 2003

食品の糞便汚染の指標菌の評価を行うため, 市販食品191検体(食肉53, 野菜138)および環境材料47検体(河川水25, 土壌22)に分布する大腸菌群と大腸菌の分離および分離菌の同定を行った。

1) 食品からの大腸菌群, 糞便性大腸菌, 病原性大腸菌検出率は, 食肉では, それぞれ92, 49, 0%, 野菜では, それぞれ68, 28, 0%であった。分離された大腸菌群206株は16菌種以上に同定された。優勢菌種は, 大腸菌群では *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *C.freundii*, *E.cloacae*, 糞便性大腸菌群では, *E.coli* であった。食品からの *E.coli*, *C.freundii*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.cloacae* の分離率は, 食品では, それぞれ49, 36, 19, 13, 17%, 野菜では, それぞれ29, 20, 17, 15, 7%であった。 *E.coli* を除く大腸菌群の大部分は44.5°Cに発育せず, 7°Cで発育した。

2) 低温性大腸菌群は河川水から88%, 土壌から73%の頻度で検出された。分離された低温性大腸菌群の大部分(44/55)は44.5°Cに発育しない *C.freundii*, *K.pneumoniae* および *K.oxytoca* であった。低温性の *C.freundii*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca* の分離率は, 河川水の場合にそれぞれ45, 0, 32%であった。

以上の結果から, 食肉, 野菜に分布する大腸菌群の多くは環境にも多く分布する低温発育性の *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *C.freundii* であることが示唆される。

15) ハヤシシチューを原因としたウェルシュ菌による食中毒事例

小川寿人*, 高田博司*, 下澤利枝*, 松田和久*, 牧田拓夫*, 南部厚子*, 上野美穂*, 高橋克巳*, 田中大祐, 松澤留美子*

病原微生物検出情報, 24(4), 91-92, 2003

平成16年10月1日

2002年11月7日朝、飲食店で調理された昼食弁当を原因とし、患者数687名におよぶウェルシュ菌食中毒が発生した。患者便28検体、調理従事者便13検体、弁当のハヤシチューからウェルシュ菌が検出された。患者の発生状況、分離菌のエンテロトキシン産生性、疫学調査の概要などについて紹介した。

16) An Outbreak of Food-Borne Gastroenteritis Caused by *Clostridium perfringens* Carrying the *cpe* Gene on a Plasmid

Daisuke Tanaka, Junko Isobe, Shiho Hosorogi, Keiko Kimata, Miwako Shimizu, Koji Katori, Yotaku Gyobu, Yoshiyuki Nagai, Takayoshi Yamagishi*, Tadahiro Karasawa*, Shinichi Nakamura*

Jpn. J. Infect. Dis., 56(3), 137-139, 2003

Clostridium perfringens enterotoxin (CPE) is an important virulence factor for *C. perfringens* type A food poisoning. In general, the *cpe* gene is present on a chromosome in food poisoning isolates but on a plasmid in non-food-borne human gastrointestinal disease isolates. Here we describe an outbreak of food-borne gastroenteritis caused by *C. perfringens* isolates carrying a plasmid-borne *cpe* gene. On 31 May 2001, an outbreak of gastroenteritis occurred in a nursing home for the aged in Toyama Prefecture, Japan. Of 192 persons who ate a lunch prepared at a catering facility, 90 became ill. A total of 107 stool specimens were examined bacteriologically. *C. perfringens* was cultured from 90 samples. Twenty-four isolates selected randomly were examined for CPE production by using PET-RPLA (Denka Seiken, Tokyo); 22 isolates (92%) were shown to be CPE-positive. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) with *Sma*I digestion was performed for 8 CPE-positive isolates. All isolates showed identical PFGE patterns. PFGE Southern blot analysis with the *cpe* probe was performed to establish the chromosomal or plasmid location of the *cpe* gene. The results indicated that test three isolates from this outbreak carried a plasmid *cpe*. To our knowledge, this is the first case report of a food-borne disease outbreak caused by *C. perfringens* isolates carrying a plasmid *cpe* gene.

17) Changing prevalent T serotypes and *emm* genotypes of *Streptococcus pyogenes* isolates from streptococcal toxic shock-like syndrome (TSLS) patients in Japan.

Ikebe T*, Murai N*, Endo M*, Okuno R*, Murayama S*, Saitoh K*, Yamai S*, Suzuki R*, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C*, Tamaru A*, Katayama A*, Fujinaga Y*, Hoashi K*, Ishikawa J*, Watanabe H*; Working Group for Group A Streptococci in Japan

Epidemiol. Infect., 130(3), 569-572, 2003

We surveyed T serotypes and *emm* genotypes of *Streptococcus pyogenes* isolates from streptococcal toxic shock-like syndrome (TSLS) patients. T1 (*emm1*) remained dominant through 1992 to 2000, but the dominant T3 (*emm3.1*) strains from 1992 to 1995 disappeared during 1996-2000. Strains of several *emm* genotypes emerged during 1996-2000, indicating alterations in the prevalent strains causing TSLS.

- 18) Surveillance of severe invasive group-G streptococcal infections and molecular typing of the isolates in Japan.

Ikebe T*, Murayama S*, Saitoh K*, Yamai S*, Suzuki R*, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C*, Tamaru A*, Katayama A*, Fujinaga Y*, Hoashi K*, Watanabe H*; Working Group for Streptococci in Japan

Epidemiol. Infect., 132(1), 145-149, 2004

The number of patients with severe invasive group-G streptococcal (*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*) infections has been increasing in Japan. The *emm* genotypes and *Sma*I-digested pulsed-field gel electrophoresis DNA profiles were variable among the strains isolated, suggesting there has not been clonal expansion of a specific subpopulation of strains. However, all strains carried *scpA*, *sha*, *slo* and *sag* genes, some of which may be involved in the pathogenesis of the disease.

- 19) Direct chiral resolution of tartaric acid by ion-pair capillary electrophoresis using an aqueous background electrolyte with (1R,2R)-(-)-1,2-diaminocyclohexane as a chiral counterion

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga, Kazuichi Hayakawa*
Electrophoresis, 24, 2711-2715, 2003

Chiral resolution of native DL-tartaric acid was achieved by ion-pair capillary electrophoresis (CE) using an aqueous-ethanol background electrolyte with (1R,2R)-(-)-1,2-diaminocyclohexane (R-DACH) as a chiral counterion. Factors affecting chiral resolution and migration time of tartaric acid were studied. By increasing the viscosity of the background electrolyte and the ion-pair formation, using organic solvents with a lower relative dielectric constant, resulted in a longer migration time. The optimum conditions for both high resolution and short migration time of tartaric acid were found to be a mixture of 65% v/v ethanol and 35% v/v aqueous solution containing 30 mM R-DACH and 75 mM phosphoric acid (pH 5.1) with an applied voltage of -30 kV at 25 °C, using direct detection at 200 nm. By using this system, the resolution (R_s) of racemic tartaric acid was approximately 1. The electrophoretic patterns of tartaric and malic acids suggest that two carboxyl groups and two hydroxyl groups of tartaric acid are associated with the enantioseparation of tartaric acid by the proposed CE method.

- 20) Enantioseparation of imazalil residue in orange by capillary electrophoresis with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as a chiral selector

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, Takashi Ohura, Akinobu Matsunaga, Toshio Kanbe*

J. Agric. Food Chem., 51, 6128-6131, 2003

Chiral resolution of imazalil, a fungicide, was performed by capillary electrophoresis (CE) using 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as a chiral selector. Factors affecting the chiral resolution and migration time of imazalil were studied. The optimum running conditions were found to be 5 mM ammonium dihydrogenphosphate-50 mM phosphate buffer (pH 3.0) containing 4 mM 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin

平成16年10月1日

with an effective voltage of +25 kV at 20 °C using direct detection at 200 nm. Under these conditions, the resolution (R_s) of racemic imazalil was 6. The extraction of imazalil from orange samples was done with acetonitrile under basic conditions. The extract was purified with a solid-phase extraction cartridge (Sep-Pak plus PS-2) and was analyzed by the above CE method. Eight orange samples were analyzed, and imazalil was detected in seven samples. In four of these seven oranges, the level of (-)-imazalil was the same as that of (+)-imazalil, but in the other three oranges, the level of (-)-imazalil was found to be lower than that of (+)-imazalil, suggesting that (-)-imazalil was degraded more quickly than (+)-imazalil in oranges.

21) A study on the change of enantiomeric purity of catechins in green tea infusion

Rie Ito*, Atsushi Yamamoto, Shuji Kodama, Kayoko Kato*, Yoshihiro Yoshimura*, Akinobu Matsunaga, Hiroyuki Nakazawa*

Food Chem., 83, 563-568, 2003

The enantiomeric composition of catechin in commercial tea beverages differs markedly from that in freshly brewed tea. We attempt to determine the cause of this difference by measuring the change in the ratios of catechins relative to (+)-catechin with time. When tea extracted with water was heated to 80 °C, (-)-epicatechin and (-)-epicatechin gallate epimerized to (-)-catechin and (-)-catechin gallate, respectively. When the thermal sterilized tea extracts were left at room temperature in the dark, it was recognized that the hydrolysis of the gallate moiety proceeded in parallel with epimerization. The hydrolysis of (-)-catechin gallate to (-)-catechin was a major pathway in the tea extracts that were not subjected to heat-treatment. Consequently, it appears that the simultaneous progression of the epimerization during thermal sterilization and the hydrolysis during distribution and storage increases the proportion of (-)-catechin ratio in the commercial tea beverages.

22) 深度321mから揚水した富山湾滑川海洋深層水中の硝酸塩濃度の時間変動

松永明信, 黒川弘子, 小善圭一*, 高柳信孝, 大戸幹也, 豊田孝義*, 中島敏光*

海洋深層水研究, 4, 67-72, 2003

イオンクロマトグラフを用いて, 硝酸塩を1時間毎に連続的に自動分析する装置を開発して, 2001年9月から2003年3月まで, 富山県滑川市の県水産試験場に揚水されている海洋深層水中の硝酸塩濃度を測定した. 上記深層水中に含まれる硝酸塩濃度は通常は24 μ M程度であるが, 時々10.1~24.8 μ Mの濃度変動が観察された. 濃度変動は時間単位で見られ, 数時間から数日間に及んだ. 硝酸塩濃度と水温に高い相関が認められ, 濃度の減少と水温の上昇が対応した. 硝酸塩濃度が低く, 水温の高い水塊が深層水の取水口付近へ, 水平的又は鉛直的に時々移動してくることが示唆され, 原因として冬型の天候や台風等の可能性が考えられた.

23) Determination of volatile fatty acids in landfill leachates by ion-exclusion chromatography

Atsushi Yamamoto, Akio Yasuhara*, Shuji Kodama, Akinobu Matsunaga, Shigeru Suzuki*, Shino Mohri*, Masato Yamada*

J. Sep. Sci., 27, 325-329, 2004

An ion-exclusion chromatographic method with on-line desalinization for the determination of volatile fatty acids in landfill leachates is described. Highly sensitive conductivity detection of the organic acids was achieved by using dilute p-hydroxybenzoic acid solution as an eluent. Interference with mineral acids was reduced by treatment with barium chloride solution prior to desalinization. A silver-loaded cation-exchange guard column for the desalinization was installed in series with the analytical column to avoid the contamination of organic acids. This method features detection limits of 0.01mg/L formic acid, 0.02 mg/L acetic acid, 0.05mg/L propionic acid, and 0.1 mg/L butyric acid, respectively, with an injection of 20 μ L sample. Application of the on-line desalinization LC method is illustrated for leachate samples from a Japanese sanitary landfill.

24) 保健行動のモチベーション解析に基づいた職場の健康教育プログラムに関する研究 Sense of Coherence (SOC)を用いた健康教育の効果に関する検討

中村裕之*, 長瀬博文, 荻野景規*, 大下喜子*, 小川幸恵*

産業医学ジャーナル, 25(6), 61-67, 2002

本研究では、SOCの増加を目標とした健康教育プログラムを開発し、その効果を示すと同時に、行動変容に関する心理社会的背景を明らかにすることを目的とした。健康教育実施群176人を、対照群179人と比較したとき、健康教育の効果認められたのは、運動習慣健康と食事習慣の改善であった。いずれにおいても内部統制的HLCが高い人に効果が大きいことから、本プログラムが、内部統制的HLCを有する人に有効であることが認められた。

25) 女子における販売業務従事者の喫煙に対する仕事ストレスを中心とした心理的特性

中村裕之*, 長瀬博文, 大下喜子*, 松崎一葉*, 熊崎 努*, 烏帽子田彰*, 荻野景規*

北陸公衆衛生学会誌, 29(2), 47-51, 2003

The prevalence of smoking has been steadily decreased in Japanese men, although the prevalence in women including saleswomen has not been fairly decreased. Physical demand as well as mental load may be required for work condition in saleswomen. To clarify the psychological involvement of smoking for saleswomen in work stress, we performed psychosocial questionnaires including job content questionnaire (JCQ), Quality of life (QOL), Self-rating anxiety scale (SAS), and Self-rating depression scale (SDS) in 317 saleswomen engaged in a retail trade. Comparing these indicators among 81 smokers, 222 non-smokers and 14 ex-smokers, we recognized higher supervisor support in non-smokers and higher coworker support in ex-smokers than smokers, but not significant difference in job strain among three groups. Decision authority and latitude in smokers showing the will to reduce the number of tobacco were higher than those in smokers who show the will to stop smoking. These results suggest

平成16年10月1日

that social support at workplace is vital not only in not smoking, but also in stopping smoking. The success to stop smoking seems unlikely to be dependent on job strain including decision latitude and psychological demand. Further longitudinal study will be necessary to clarify the causal relationship between smoking behaviors and psychosocial conditions.

26) 喫煙習慣に関連するストレスと Sense of Coherence (SOC)－生活習慣と心理的要因を用いた正準判別解析

中村裕之*, 小川幸恵*, 長瀬博文, 大下喜子*, 松崎一葉*, 熊崎 努*, 烏帽子田彰*, 荻野景規*

体力・栄養・免疫学雑誌, 13(1), 23-30, 2003

喫煙をテーマにした心理社会的研究の多くは、喫煙行動の存続を説明する因子として、情動ストレス、人格、嗜癖性に注目している。本研究は、喫煙行動と心理社会的因子、特に、生活習慣、ストレスとHealth locus of control (HLC), Sense of coherence (SOC) との関係を明らかにすることを目的とした。SOCとは、「健康－病気の連続体」という健康観をもとにAntonovskyによって提唱された指標であり、ストレスに直面しても健康でいられる特性がある。著者は、107人の男性事務職従事者（平均年齢±標準偏差, 45.7±8.04歳）を対象に、質問調査を実施した。103人の喫煙者, 38人の非喫煙者, 29人の過去の喫煙者を対象に、一元配置分散分析と正準判別解析を実施した結果、喫煙者は、ストレス指標得点が高いだけでなく、SOCも低かった。さらに禁煙者には健康を偶然としてしまう傾向（外部統制的）があるにも関わらず、SOCが高いことが特徴であると考えられた。以上の結果から、SOCが喫煙行動を含めた健康感と密接に関係していることが窺い知れた。喫煙者に対してHLCと同時にSOCを用いて健康教育を施すことが有用であると考えられた。

27) Enhancement of a sense of coherence and natural killer cell activity which occurred in subjects who improved their exercise habits through health education in the workplace

Hiroyuki Nakamura*, Ichiyo Matsuzaki*, Shinichiro Sasahara*, Kotaro Hatta*, Hirofumi Nagase, Yoshiko Oshita*, Yukie Ogawa*, Yoshitaka Nobukuni*, Yasuhiro Kambayashi* and Keiki Ogino*

Journal of Occupational Health, 45, 278-285, 2003

We have previously demonstrated that a sense of coherence (SOC), a candidate for a mediating stress factor, is involved in natural killer cell activity (NKCA) reduced in smokers, whereas the relationship among exercise, NKCA and SOC is unclear. To clarify the effects of exercise on SOC and NKCA, we examined the changes in SOC and NKCA before and after health education to encourage exercise. Of one-hundred and one male office workers who received the health education for one year, 27 improved, 65 were unchanged and 9 had deteriorated exercise habits. The repeated measures analysis of variance showed that SOC in workers with improvement in the exercise habit were increased more significantly by the health education than those in workers without improvement ($p < 0.05$). Although the change in NKCA produced by health education was recognized to be significantly different in those who had never smoked from that in current smokers ($p < 0.05$), multiple regression analysis demonstrated that improvement in health practice significantly contributed to increases in both SOC ($p < 0.01$) and NKCA ($p < 0.05$) in never smokers, independently of other psychological factors. These results suggest that subjects with improvement in exercise enhance NKCA through increased SOC in never smokers.

28) Timing of sampling in endoscope ^{13}C -urea breath test for *H.pylori* infection

Tomohiko Hayashi*, Tadahiro Karasawa*, Hirofumi Nagase, Shinichi Kinami*, Takashi Fujimura*, Koichi Miwa, Shinichi Nakamura and Takanori Hattori

Japanese Pharmacology and Therapeutics (薬理と治療), 31(8), 667-670, 2003

Background: The endoscopic ^{13}C -urea breath test (EUBT) is a useful diagnostic method for *Helicobacter pylori*. Objectives: The aim of our study was to determine timing of sampling in EUBT on the basis of the time course profile of $^{13}\text{CO}_2$ concentration and practical convenience. Methods: Thirty-five patients participated in this study. Bacterial culture, a rapid urease test, an antigen detection kit, and histological tests were used for diagnosing *H. pylori* infection. After seven breath samples were collected, gastrointestinal endoscopy (i. e., observation of mucosa and biopsy) was performed. In the end of endoscopy process, ^{13}C -urea dissolved in indigocarmine solution was sprayed over the entire gastric mucosa (time 0) and the endoscope was taken out from the patient. Breath samples were collected at 3-60 min under normal respiration. Breath samples were analyzed for $^{13}\text{CO}_2$ with an infrared spectrometer. Results: Our study demonstrated that $^{13}\text{CO}_2$ concentration at 30 min was best to judge the infection and that the 3-min breath sample was available as the base line control. Based on the receiver-operating characteristic curve for 35 patients, the most appropriate cut-off value was identified as 2%. Conclusions: In EUBT, the difference of $^{13}\text{CO}_2$ concentrations between 3 and 30 min is a good indicator for assessing *H. pylori* infection. Breath sampling before the endoscopy is not required.

29) Blood endothelin-1 and cold-induced vasodilation in patients with primary Reynaulds's phenomenon and workers with vibration-induced white finger

Hiroyuki Nakamura*, Ichiyo Matsuzaki*, Kotaro Hatta*, Hirofumi Nagase, Yoshitaka Nobukuni*, Yasuhiro Kambayashi* and Keiki Ogino*

International Angiology, 22(3), 243-249, 2003

Aim. Cold water-immersion induces vasoconstriction with an elevation of blood endothelin-I, which is a potent vasoconstrictor peptide, in patients with primary Raynaud's phenomenon (PRP). However, physiological involvement of endothelin-1 in cold-induced vasodilation (CIVD) remains to be elucidated. Methods. We monitored changes of finger blood flow during cold water (10°C) immersion and assayed blood endothelin-I in 7 PRP patients and 7 workers with vibration-induced white finger (VWF) and in the respective control subjects.

Results. While significant reductions in finger blood flow at 2 min after the immersion were observed in PRP patients and VWF workers, its elevation at 4 min, which was considered to reflect CIVD, was recognized only in PRP patients. In healthy controls, blood endothelin-1 increased at 4 min and returned to the basal level immediately after the immersion. The increase in blood endothelin-1 at 4 min in PRP patients was greater than that in controls, and continued even after the immersion. Conversely, the increase neither at 4 min nor after immersion was seen in VWF workers. Local vascular changes produced by repetitive vibration may be responsible for the attenuated CIVD and unchanged blood endothelin-I during cold water-immersion in VWF workers.

Conclusion. Our results showing elevated blood endothelin-I during and after immersion in PRP contrast with that in VWF suggesting that endothelin-I is related to sympathetic hyperactivity which is more

平成16年10月1日

involved in PRP rather than VWF. It seems unlikely that endothelin-I is functionally or directly associated with CIVD.

30) 不登校の心身症的側面を評価するための問診票

梶原荘平*, 斎藤万比古*, 樋口重典*, 田中英高*, 長瀬博文

日本小児科学会雑誌, 108, 45-57, 2004

身体症状を強く訴える不登校には、心身症によるもの、またDSM-IVによるところの神経症性疾患としての不安障害、気分障害（双極性障害を除く）、身体表現性障害、適応障害によるもの、およびその両方の特徴を合わせ持つものがあり、これらを簡便に鑑別することは特にプライマリ・ケアにおいて治療を組み立てるうえで重要である。そこで、不登校の心身症的側面を簡便に評価するための問診票を作成し、心身症としての不登校の診断基準の作成を試みた。結果、心身相関で心理的ストレスが改善されると身体症状が改善されるという項目と、身体症状の特徴として1) 学校を休むと症状が軽減する2) 身体症状が再発・再燃を繰り返す3) 気にかかっていることを言われたりすると症状が増悪する4) 1日のうちでも身体症状の程度が変化する5) 身体的訴えが2つ以上にわたる6) 日によって身体症状が次から次へと変化するが時々以上みられるという6項目を合わせた7項目のうち5項目以上認められる場合、心身症としての不登校である可能性が高いと考えられた。

31) Bone mass and lifestyle related factors: a comparative study between Japanese and Inner Mongolian young premenopausal women

M.Zhang, T.Shimmura, L.F.Bi*, H.Nagase, H.Nishino, E.Kajita*, M.Eto*, H.B.Wang*, X.L.Su*, H.Chang*, T.Aratani and S.Kagamimori*

Osteoporosis International, Published online, 2004

The purpose of this study was to evaluate the ethnic difference in bone mass between Japanese and Inner Mongolian young premenopausal women and to assess the contribution of lifestyle related and anthropometric factors to bone mass. We studied 33 Japanese and 44 Inner Mongolian healthy young women, aged 20-34 years, in urban area. Speed of sound (SOS), broadband ultrasound attenuation (BUA) and stiffness index (SI) were measured at the calcaneus using quantitative ultrasound (QUS) analysis. Age at menarche, regularity of menstruation and lifestyle related factors were estimated by a self-reported questionnaire. There were no differences between the two groups in age, height, weight, BMI, regularity of menstruation, frequency of meat intake, frequency of yellow-green vegetable intake and exercise habit. Japanese women had significantly lower age at menarche and higher proportion of milk consumption habit at junior high school, senior school and present. Before adjustment, Japanese women had significantly higher SOS and SI than Inner Mongolian women. However, after adjustment for age at menarche and milk consumption habit at junior high school, both of which were significantly different between groups, no group-differences remained in either SOS or SI. These results suggest that the differences in age at menarche and milk consumption habit at junior high school, which relate to hormonal and nutritional status during puberty, may account for the differences in bone mass between Japanese and Inner Mongolian young women.

[報 告]

1) 既存添加物に関する遺伝毒性調査

本田幸子, 林 美貴子

既存添加物43品目の遺伝毒性試験総括報告, 2003

天然食品添加物の安全性確保の一環として, 既存天然添加物である, カリソルト, ナリンジン, 植物性ステロールの遺伝毒性試験を実施した. マウスを用いた in vivo 小核試験法にて解析したが, 遺伝毒性はみられなかった.

2) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査

小林睦生*, 渡辺 護

厚生労働省科学研究費補助金: 新興・再興感染症研究事業; 感染症媒介ベクターの実態, 生息防止対策に関する研究, 平成15年度総括・分担研究報告書, 105-120, 2004

平成15年度に調査を行った, 一般民家4軒, カラスのねぐら近く4箇所におけるドライイストラップによる蚊の調査成績を記述し, 蚊種の相違および捕集数の多寡などから分布の特徴を考察した.

3) 富山県における日本脳炎流行予測調査35年間のまとめ—とくに, コガタアカイエカとシナハマダラカの発生動態と豚における日本脳炎ウイルス HI 抗体陽性率との関係—

渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 安藤秀二

p82 (図版), p46 (本文), 2004

当研究所で調査を継続して来た, 昭和68年から平成15年までの蚊の捕集成績をまとめ, 蚊発生数の年変化とその成因の考察, さらに豚における HI 抗体陽性率の上昇速度との関係を明らかにし, 近年の日本脳炎患者の発生減少を推察した.

4) 自然界における動物由来感染症病原体の浸淫状況の把握

分担執筆 (ウイルス部), 富山県厚生部

平成14年度動物由来感染症情報分析体制整備事業結果報告書, 2003

平成13年度から, 野生動物とヒトの間での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に動物由来感染症病原体の浸淫状況を調査し, ヒトへの影響の可能性について調査検討してきた. 平成14年度は, 富山県においても患者の発生の可能性があり過去に抗体陽性のげっ歯類が確認された腎症候性出血熱, 県内で1例と隣県の長野県において複数の患者発生が確認されているライム病に対象疾患を絞って調査し, さらに, 自然界において動物由来感染症病原体の生活サイクルの一部を形成するマダニ類を採取し, ライム病病原体の保有

平成16年10月1日

状況の調査を試みた。

5) 温泉利用の安全管理に関する研究 ―レジオネラ感染の検討―

田中大祐, 鏡森定信*

厚生労働科学研究費補助金(がん予防等健康科学総合研究事業)「温泉利用健康増進施設が住民の生活の質と健康寿命の改善に果たす役割に関する研究」平成15年度総括・分担研究報告書, p.45-57, 2004

富山県におけるレジオネラ症患者発生状況, 県内の入浴施設におけるレジオネラ症の防止を目的とした調査結果, 当所のレジオネラ属菌検査結果, レジオネラ肺炎の一症例の紹介をまとめた。温泉等の入浴施設においてレジオネラ対策のさらなる充実が必要であることが示唆された。

6) 喫煙習慣に関連する心理社会的因子の評価と職場の禁煙プログラムの開発

中村裕之, 荻野景規, 長瀬博文, 大下喜子, 松崎一葉, 小川幸恵, 烏帽子田彰

平成14年度産業医学に関する調査研究助成 調査研究報告集, 11-24, 2003

男子事務職170名を対象に, 喫煙行動に関連する心理社会的因子の影響を検討したところ, 心理尺度SOC得点が喫煙状況に密接に関係していることが明らかになった。また, SOCを組み入れた禁煙プログラムを22名に実施したところ, その有効性が示唆された。

[著書・総説・解説]

1) SARSの再出現にそなえて―SARSから学ぶこれからの感染症対策

安藤秀二

富山県情報政策誌「でるくい」, 19, 26-29, 2004

2) 濃縮海洋水深層水にプカプカ夢をのせて～富山湾の海洋水深層水を活用した健康増進法の開発～

新村哲夫

富山県情報政策誌「でるくい」, 18, 46-47, 2003

(2) 特別講演等

1) 新興ウイルス感染に備える

永井美之

富山県医師会健康セミナー 2003

平15. 10. 5, 富山市

2) センダイウイルスベクターについて

永井美之

日中エイズワクチン治療薬開発シンポジウム

平15. 10. 8, 北京市

3) 新興感染症にそなえる

永井美之

北陸学校保健学会

平15. 10. 25, 金沢市

4) 新興ウイルス感染症—SARS, AIDSそして強毒インフルエンザパンデミックの可能性は？

永井美之

第38回富山県公衆衛生学会

平16. 2. 5, 富山市

5) 糖鎖の機能解析から糖鎖創薬への架け橋 『エイズウイルスの糖鎖生物学—何故かくも多くの糖鎖が？』

永井美之

千里ライフサイエンスセミナー

平16. 2. 27, 大阪府吹田市

(3) 学会発表等

- 1) 群馬県神津牧場のアブ、4種類のトラップからみた季節的発消長
渡辺 護
第55回日本衛生動物学会, 平15. 3. 31~4. 2, 大分市
- 2) 富山県におけるコガタアカイエカとシナハナグラカ捕集数の年変動とその要因解析
渡辺 護, 長谷川澄代, 安居院宣昭*
第55回日本衛生動物学会, 平15. 3. 31~4. 2, 大分市
- 3) ライトトラップによるコガタイエカ消長調査は週何回行えばよいか
上村 清*, 渡辺 護, 森岡斗志尚*, 折笠秀樹*
第55回日本衛生動物学会, 平15. 3. 31~4. 2, 大分市
- 4) *stx2fA* 遺伝子を保有する STEC O128:HNM が原因と考えられる感染症の一例
磯部順子, 木全恵子, 霜島正浩*, 細呂木志保, 田中大祐, 刑部陽宅
第77回日本感染症学会総会, 平15. 4. 17~18, 福岡市
- 5) 就労者の生活習慣および保健行動への労働関連要因の寄与について
“長瀬博文, 大下喜子*, 中村裕之*, 上田 操*, 佐藤 保*
第79回日本産業衛生学会, 平15. 4. 24~26, 山口市
- 6) 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
新村哲夫
非水産分野深層水利用研究(平成14年度)報告会, 平15. 5. 26, 富山市
- 7) Influence of fluoride concentration in drinking water and brick-tea water on bone mass in healthy Inner Mongolian young women
M Zhang, T Shimmura, H Nishino, LF Bi*, E Kajita*, M Nagata*, H Nagase, HB Wang*, T Aratani and S Kagamimori*
1st Joint Meeting of IBMS and JSBMR 2003, 2003. 6. 3~7, Osaka
- 8) 富山県における日本脳炎媒介蚊の調査, 34年間の成績と今後の展開
渡辺 護, 長谷川澄代
第21回北陸病害動物研究会, 平15. 6. 28, 金沢市
- 9) 2002年秋のカメムシ飛来数はなぜ少なかった
渡辺 護
第21回北陸病害動物研究会, 平15. 6. 28, 金沢市
- 10) 中国・内モンゴル自治区草原地域女性の尿中フッ素濃度と骨代謝マーカー
新村哲夫, 張 森, 中崎美峰子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 西野治身, 梶田悦子*, 王 紅兵*, 鏡森定信*, 畢 力夫*
第14回日本微量元素学会, 平15. 7. 24~26, 大阪市
- 11) 肥満の進行における $\beta 3$ アドレナリン受容体遺伝子多型の関与についての検討
田中朋子, 長瀬博文, 松倉知晴*, 荒谷哲雄

- 第13回体力栄養免疫学会大会, 平15. 8. 23~24, 金沢市
- 12) 職場における禁煙成功者の仕事ストレスを中心とした社会心理的特性における年代間の相違
中村裕之*, 長瀬博文, 松崎一葉*, 笹原信一郎*, 小川幸恵*, 大下喜子*, 秋丸国広*, 田口徹也*, 神林康弘*, 荻野景規*
第13回体力栄養免疫学会大会, 平15. 8. 23~24, 金沢市
- 13) 知的障害児施設における鉄強化食品の少量・長期摂取が鉄欠乏の改善および予防に及ぼす効果
大下喜子*, 長瀬博文, 大宅賢一郎*, 中原千絵*, 森永弘太*, 大隈映子*
第13回体力栄養免疫学会大会, 平15. 8. 23~24, 金沢市
- 14) 市町村栄養士配置によって上げられた効果—市町村栄養士に対する調査から—
高沢美和子*, 瀧 依果*, 長瀬博文, 林 宏一*, 平櫻博子*, 逸見真理子*, 宮田美恵子*, 古畑 公*, 河野美穂*
第50回日本栄養改善学会, 平15. 9. 16~18, 岡山市
- 15) 市町村栄養士活動と栄養関連社会資源
瀧 依果*, 高沢美和子*, 長瀬博文, 林 宏一*, 平櫻博子*, 逸見真理子*, 宮田美恵子*, 古畑 公*, 河野美穂*
第50回日本栄養改善学会, 平15. 9. 16~18, 岡山市
- 16) 栄養士配置市町村における行政栄養士が中心となる業務の実施状況
林 宏一*, 高沢美和子*, 瀧 依果*, 長瀬博文, 平櫻博子*, 逸見真理子*, 宮田美恵子*, 古畑 公*, 河野美穂*
第50回日本栄養改善学会, 平15. 9. 16~18, 岡山市
- 17) キャピラリー電気泳動によるお茶中のカテキン及びエピカテキンの光学分割
小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信, 柳井博子*
日本分析化学会第52年会, 平15. 9. 23~25, 仙台市
- 18) 微分処理の unsharpness 効果を利用した FDCCD 波の抽出
山本 敦, 小玉修嗣, 松永明信, 伊藤里恵*, 中澤裕之*, 熊谷浩樹*
日本分析化学会第52年会, 平15. 9. 23~25, 仙台市
- 19) ストレス・リラックス指標としての唾液中ナトリウム・カリウムの検討
新村哲夫
平成15年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会, 平15. 9. 25~26, 三重県菰野町
- 20) 有機リン系農薬の暴露指標としての尿中アルキルリン酸について
中崎美峰子
平成15年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会, 平15. 9. 25~26, 三重県菰野町
- 21) Age difference in sociopsycological mechanisms for quitting smoking in Japanese office workers
Hiroyuki Nakamura*, Hirofumi Nagase, Ichiyo Matsuzaki*, Shinichiro Sasahara*, Yukie Ogawa*, Yoshiko Oshita*, Kunihiro Akimaru*, Tetsuya Taguchi* and Akira Okada*
International Expert Conference -Aging People and the Social Environment-, 2003. 10. 1~3, Kanazawa
- 22) 一般健常者における有機リン系農薬の尿中代謝物検出状況について
中崎美峰子, 荒谷哲雄
第52回日本農村医学会学術総会, 平15. 10. 9~10, 広島市

平成16年10月1日

23) 漁港海水におけるTDH産生性腸炎ビブリオの動態

刑部陽宅, 細呂木志保, 嶋 智子, 磯部順子, 田中大祐, 木全恵子, 香取幸治, 永井美之
第40回日本細菌学会中部支部総会, 平15. 10. 13~14, 新潟市

24) 不育症夫婦の染色体検査とX/Yプローブを用いたFISH法の検討

林 美貴子, 本田幸子
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

25) 富山県内河川のウイルス汚染に関する定点観測

岩井雅恵, 松浦久美子, 吉田 弘
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

26) 女子中学生の橈骨骨密度増加と関連する要因

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*
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

27) 母子担当保健師の相談機関への連携に関する研究—健やか親子21取り組み全国調査—

森山浩司*, 石井敦子*, 伊藤真由*, 松浦賢長*, 山中龍宏*, 玉腰浩司*, 長瀬博文, 中村和彦*, 葉袋淳子*,
山田七重*, 近藤尚己*, 水谷隆司*, 武田康久*, 山縣然太郎*
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

28) 母子保健領域での助産師の活動状況—健やか親子21取り組みに関する全国調査—

伊藤真由*, 森山浩司*, 石井敦子*, 松浦賢長*, 山中龍宏*, 玉腰浩司*, 長瀬博文, 中村和彦*, 葉袋淳子*,
山田七重*, 近藤尚己*, 水谷隆司*, 武田康久*, 山縣然太郎*
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

29) 健やか親子21公式ホームページのアクセス状況に関する研究(第2報)

山田七重*, 葉袋淳子*, 武田康久, 水谷隆司*, 近藤尚己*, 松浦賢長*, 玉腰浩司*, 長瀬博文, 山中龍宏*,
近藤直司*, 中村和彦*, 大森智美*, 山縣然太郎*
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

30) 市町村行政栄養士の業務達成状況(第1報)

瀧 依果*, 高沢美和子*, 長瀬博文, 林 宏一*, 平櫻博子*, 逸見真理子*, 宮田美恵子*
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

31) 市町村行政栄養士の業務達成状況(第2報)

宮田美恵子*, 瀧 依果*, 高沢美和子*, 長瀬博文, 林 宏一*, 平櫻博子*, 逸見真理子*
第62回日本公衆衛生学会, 平15. 10. 22~24, 京都市

32) イオン排除クロマトグラフィーによる廃棄物処理場浸出水中の揮発性有機酸の定量

山本 敦, 小玉修嗣, 松永明信, 安原昭夫*, 鈴木 茂*
第20回イオンクロマトグラフィー討論会, 平15. 10. 23~24, 東京都

33) 富山湾深層水中の硝酸塩濃度の変動(II)

松永明信, 黒川弘子, 高柳信孝, 大戸幹也, 小善圭一*, 中島敏光*
第39回全国衛生化学技術協議会年会, 平15. 10. 24~25, 山形市

- 34) 2003年の冷夏はコガタアカイエカの発生に影響したか?
渡辺 護
第58回日本衛生動物学会西日本支部大会, 平15. 10. 31~11. 1, 金沢市
- 35) 富山県のツツガムシ病の現状について
安藤秀二, 石倉康宏, 渡辺 護, 永井美之
第10回リケッチャ研究会, 平15. 11. 1~2, 東京都
- 36) 当医院における最近3シーズンのインフルエンザ発生状況
正木明夫, 松浦久美子, 香取幸治, 永井美之
第35回日本小児感染症学会総会, 平15. 11. 8, 富山市
- 37) 家屋侵入カメムシの近年の発生状況
渡辺 護
第19回ベストロジー学会大会, 平15. 11. 13~14, 大分市
- 38) テルベン製剤を用いたカメムシの侵入阻止事例
斉藤嘉宏*, 平林桂介*, 小萱正平*, 渡辺 護
第19回ベストロジー学会大会, 平15. 11. 13~14, 大分市
- 39) 富山湾深層水中の硝酸塩濃度の変動(II)
松永明信, 黒川弘子, 高柳信孝, 大戸幹也, 大津 順*, 南條暢聡*, 鍋谷良和*, 豊田孝義*
第7回海洋深層水利用研究全国大会海洋深層水2003焼津, 平15. 12. 3~4, 静岡県焼津市
- 40) 塩分濃度15%濃縮海洋深層水による浮遊浴および歩行浴に関する研究
新村哲夫, 張 森, 荒谷哲雄, 王 紅兵*, 鏡森定信*
第7回海洋深層水利用研究全国大会海洋深層水2003焼津, 平15. 12. 3~4, 静岡県焼津市
- 41) 富山県の新生児マスキリーニングを契機に発見された対象外疾患について
九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登*, 洲崎 健*
第24回北陸先天異常研究会学術集会, 平15. 12. 7, 福井市
- 42) 流産胎児の染色体分析から判明したt(14;20)相互転座の2家系について
本田幸子, 林 美貴子, 吉本裕子*, 藤間博幸*
第24回北陸先天異常研究会学術集会, 平15. 12. 7, 福井市
- 43) 性染色体異常の疑いで行った染色体検査結果について
林 美貴子, 本田幸子
第24回北陸先天異常研究会学術集会, 平15. 12. 7, 福井市
- 44) 末梢血染色体G分染法により47, XXXと診断されていたターナー症候群の一例
畑 郁江*, 重松陽介*, 林 美貴子, 本田幸子
第24回北陸先天異常研究会学術集会, 平15. 12. 7, 福井市
- 45) 富山県における過去10年間の日本脳炎流行予測事業
小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護
第38回富山県公衆衛生学会, 平16. 2. 5, 富山市

平成16年10月1日

- 46) 防カビ剤イマザリルのキラル選択性
小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信, 神戸俊夫*
平成15年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部衛生化学部会, 平16. 2. 5~6, 名古屋市
- 47) 富山県における平成15年の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況
田中大祐
平成15年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部細菌部会, 平16. 2. 19~20, 金沢市
- 48) *stx2f* を有する STEC O157:H16 感染症
木全恵子
平成15年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部細菌部会, 平16. 2. 19~20, 金沢市
- 49) 赤痢菌の同定法に関する検討
磯部順子
平成15年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部細菌部会, 平16. 2. 19~20, 金沢市
- 50) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告
田中大祐
平成15年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部細菌部会, 平16. 2. 19~20, 金沢市
- 51) 高率に多剤耐性を示す散発下痢症患者由来大腸菌 O153 について
石畝 史*, 前田央子*, 京田芳人*, 堀川武夫*, 山崎 貢*, 田中大祐, 磯部順子, 隈元星子*, 森屋一雄*
第8回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム, 平16. 3. 5~6, 東京都
- 52) 富山県における動物由来感染症対策
安藤秀二, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 永井美之
平成15年度地研協議会東海北陸支部ウイルス部会, 平16. 3. 11~12, 富山市
- 53) 富山県の今冬のインフルエンザ
安藤秀二, 松浦久美子, 岩井雅恵, 小原真弓, 長谷川澄代, 永井美之
平成15年度地研協議会東海北陸支部ウイルス部会, 平16. 3. 11~12, 富山市
- 54) 地方衛研におけるバイオセーフティの現状と課題
安藤秀二, 岩井雅恵, 小原真弓, 松浦久美子, 長谷川澄代, 永井美之
平成15年度地研協議会東海北陸支部ウイルス部会, 平16. 3. 11~12, 富山市
- 55) 富山県における過去10年間の日本脳炎流行予測
小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 安藤秀二, 松浦久美子, 岩井雅恵, 永井美之
平成15年度地研協議会東海北陸支部ウイルス部会, 平16. 3. 11~12, 富山市
- 56) 富山県で分離されたコクサッキーウイルス A16型及びエンテロウイルス71型の VP1 領域の遺伝子解析
岩井雅恵, 棚辺今日子, 松浦久美子, 安藤秀二, 長谷川澄代, 小原真弓, 永井美之
平成15年度地研協議会東海北陸支部ウイルス部会, 平16. 3. 11~12, 富山市
- 57) 富山県で発生したウイルス性胃腸炎について
長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 安藤秀二, 永井美之
平成15年度地研協議会東海北陸支部ウイルス部会, 平16. 3. 11~12, 富山市

- 58) ホウ酸錯体を用いた配位子交換キャピラリー電気泳動法によるキラル分離
小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信, 早川和一*
日本薬学会第124年会, 平16. 3. 29~31, 大阪市
- 59) 中国・内モンゴル若年女性におけるフッ素曝露の骨量および骨代謝に及ぼす影響
新村哲夫, 張 淼, 西野治身, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 畢 力夫*, 梶田悦子*, 賈 光*, 王 紅兵*, 鏡森定信*
第74回日本衛生学会総会, 平16. 3. 23~25, 東京都
- 60) Oxidant stress-mediated myocardial cell injury in selenium-deficient mice: age-dependent roles of glutathione peroxidase inhibition
平岡勇二*, 岡田幾太郎*, 田村 崇*, 赤城 格*, 濱 典男*, 田邊昌人*, 鈴木丈二*, 藤森麻里子*, 高橋伸基*, 清水隆之*, 皿澤克彦*, 新村哲夫, 豊國伸哉*, 木原康樹*, 中島久宜*, 井上 博*
第68回日本循環器学会学術集会, 平16. 3. 27~29, 東京都

(4) 受賞, 学位授与, 資格取得

1) 受賞

永井 美之

武田医学賞

受賞日 平成15年11月13日

長谷川 澄代

日本公衆衛生協会会長表彰

受賞日 平成15年11月20日

2) 学位授与

田中 大祐

平成15年9月3日, 金沢大学から博士(医学)の学位を授与

学位論文 *emm* typing of group A streptococcus clinical isolates: identification of dominant types for throat and skin isolates.

3) 資格取得

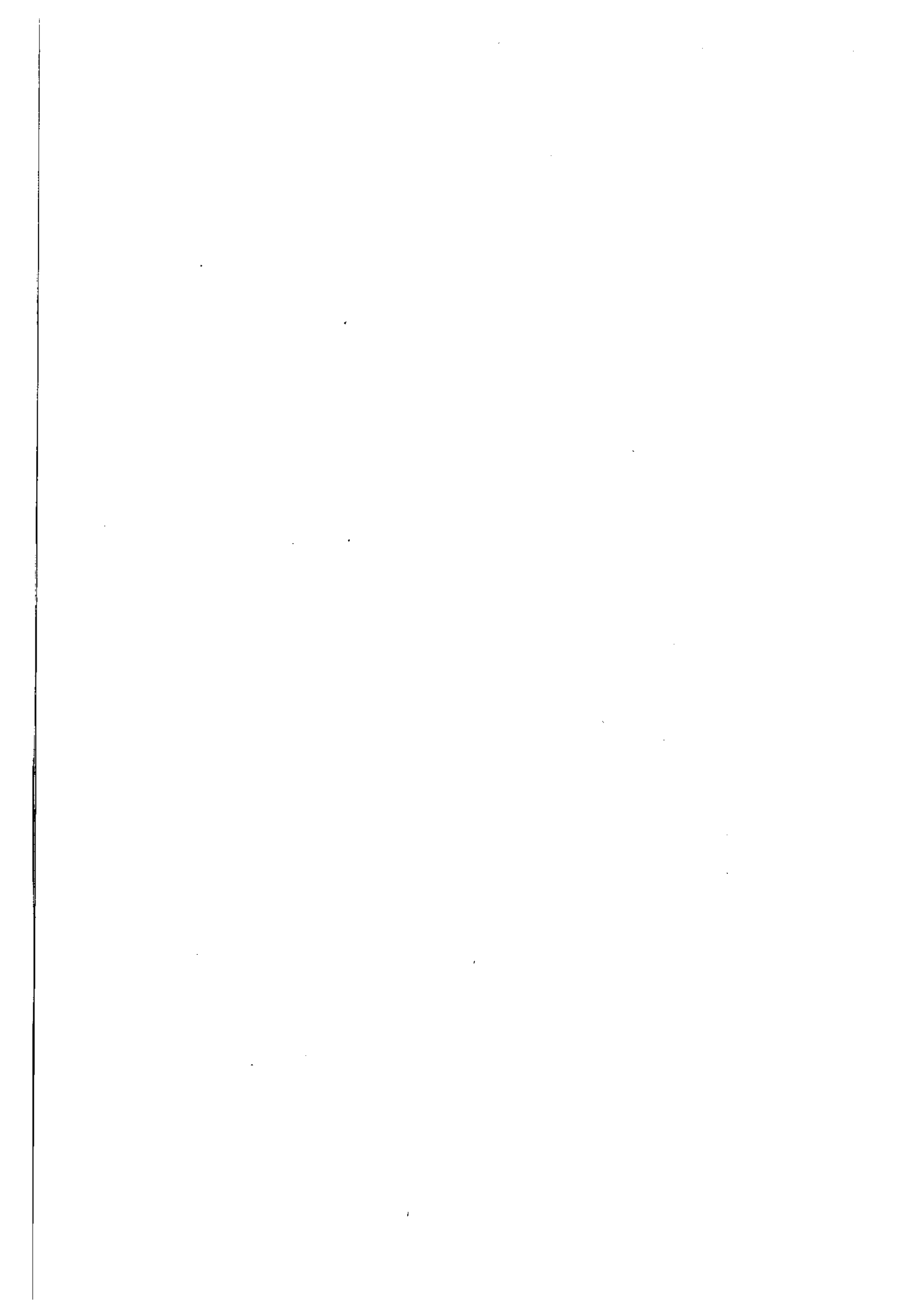
田中 大祐

バイオセーフティ主任管理者

取得日 平成15年12月26日

(5) 知的所有権

発明の名称	特許権者・出願人	発明者	番 号
円二色性分析計	富山県 早川和一 宮崎元一 ㈱島津製作所	山本 敦 松永明信 他	特許第3397950号 登録日: 2003年2月14日
キャピラリーチューブ及び その製造方法	富山県 ジーエルサイエンス㈱	小玉修嗣 山本 敦 松永明信 他	特許出願2004-107474 出願日: 2004年3月31日



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15年度 (2003)

2004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

