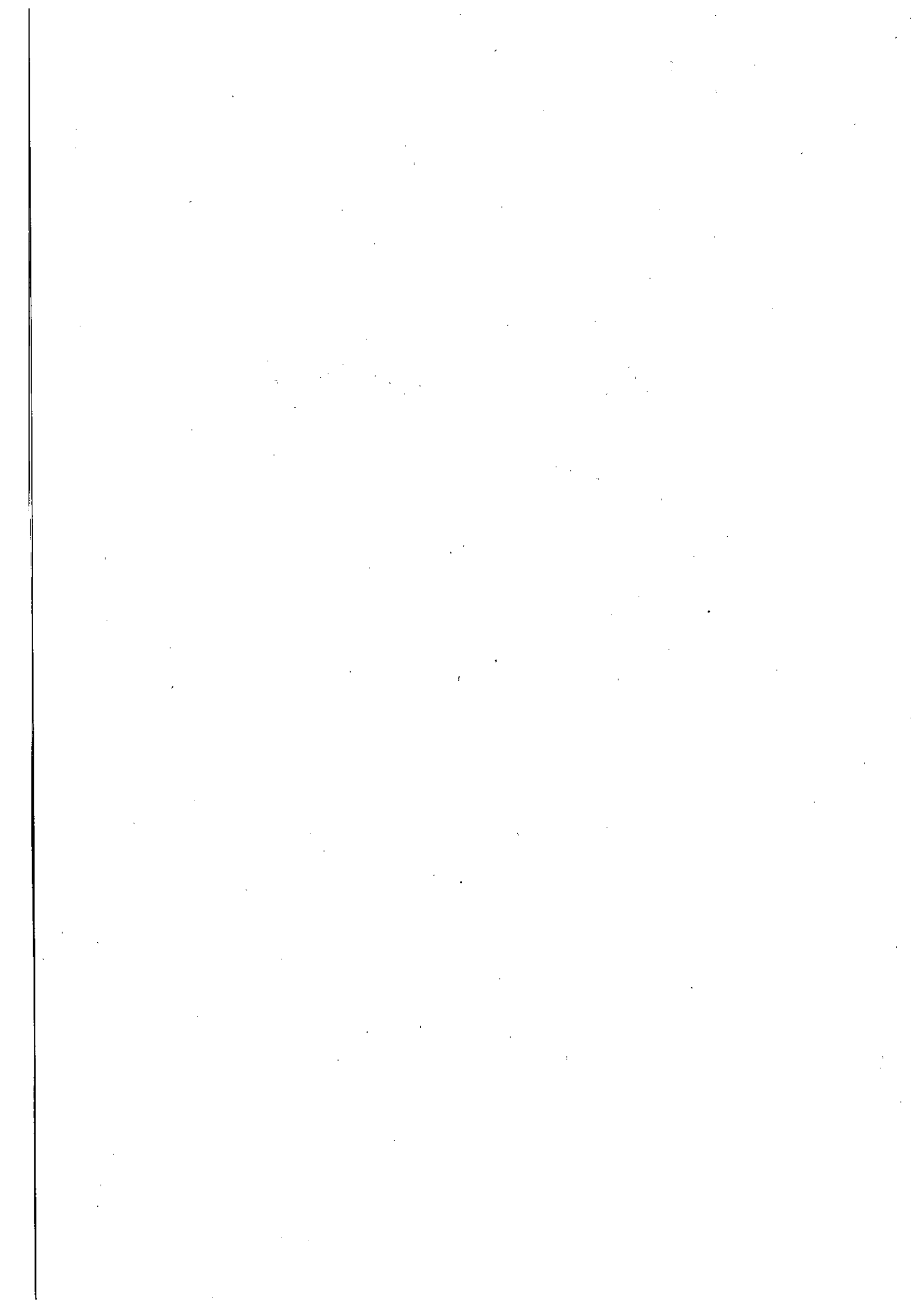


富山県衛生研究所年報

(平成17年度)

第29号

富山県衛生研究所



は じ め に

2005年は、高病原性トリインフルエンザではじまったといってよい。今迄知られていなかった大きな拡がりがある。インドネシアで発生、直接インドネシア政府から外務省を通じ対応、協力依頼があり、国立感染症研等から、診断と疫学のチームが数回にわたり派遣された。渡り鳥は高病原性インフルエンザウイルスを広汎な場所に持ち込むため、3,000とも5,000ともいわれる島々のあちこちで、渡り鳥から農家の周辺の水禽類、家禽類に感染し、それらから農家の子供や大人に感染したと思われる。2006年8月まで44名の死亡が伝えられている。診断の技術システムは移転されたが、診断体制が国中に普及されて対応しうる状況にはない。ひとつひとつのもぐらたたきが効を奏するのを願うのみである。

2005年秋、とうとうこのウイルスはトルコ（ヒト死亡があった）から東欧に侵入、続いて欧州全体に拡大（ドイツ、フランス、イタリア等）した。ついでアフリカ諸国（ナイジェリア、エジプト等）にも拡がった。面白いのは欧州のメディアの反応である。アジアでこの問題が発生したのは1997年であり、以後毎年のようにじわじわと感染鳥の発生が伝えられ、死亡者が出て欧州メディア（テレビ等）が、人類の健康問題としてかつてありえなかったような状況に陥りつつあると論評したこともない。しかし昨年10月のアジアから東欧—西欧への侵入では、アナウンサーの顔つきが完全に変わった。"ヨーロッパに高病原性トリインフルエンザウイルスが侵入し、多数のニワトリが死亡した"と大騒ぎである。どのテレビもアナウンサーの絶叫調である。アジアでこの一年激しいことがおこっていても、伝えてもきわめて短時間か、あるいは全く伝えることがなかった。ようやくEU諸国も目が覚めたという感じであった。正に我身への"火の粉"である。面白いのは世界に飛来する鳥のもとが大部分シベリアであることである。

わが国としては昨年11月パンデミック行動計画が出されたわけであるが、これはあくまでも基本柱がなべられているだけで、具体的に富山ではどうするということが入ってはじめて生きるものである。感染初期ではタミフルもそれなりの効果はあるが、最大の武器はワクチンである。現在いくつかの問題点（ワクチンをつくる際の株の問題、接種経路の問題等々）があり、そう容易ではない。日本の国民性というか、国内での問題がないとさっさと忘れてしまうところもあり、持続的に緊張を維持する必要がある。

さて、ここに平成17年度の行政検査を含む業務概要と調査研究の概要とを第29号としてまとめた。ごらんの上ご意見等をいただき、さらなる向上に反映させていきたいと思う。

平成18年9月

富山県衛生研究所長

倉 田 毅

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) 各部の業務概要	6
(9) 検査状況	16
(10) 科学研究費補助金	18
(11) 講師派遣	18
(12) 研修指導	19
(13) 研修受講	20
(14) 客員研究員	21
(15) セミナーの開催	21
(16) 各種規定等	21

2. 調査研究報告

富山県における新生児マス・スクリーニングの成果について（平成17年度の検査成績）	23
九曜雅子, 米田 豊, 松澤孝信, 石丸敏子	
3mm 径 HPLC カラムによるアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの検討	34
米田 豊, 九曜雅子	
新生児スクリーニングのための酵素サイクリング法による血液ろ紙中ガラクトースの測定残液を利用する 遊離カルニチン及び総アシルカルニチンの同時分析法	39
米田 豊, 九曜雅子	
ヒト染色体に関する調査研究 一血液, 骨髓液一（平成17年度）	45
林 美貴子, 本田幸子	
ヒト染色体に関する調査研究 一羊水・流産胎児一（平成17年度）	51
本田幸子, 林 美貴子	
日本脳炎流行予測調査	56
渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 道谷真由美	
富山県の大腸がん発生背景要因に関する症例対照研究	69
品川保弘, 長瀬博文, 松澤孝信, 永井美之	

富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査, 2005年の成績	83
渡辺 護, 小原真弓, 松浦涼子, 廣瀬 修, 長谷川澄代, 西尾恵美里, 小林睦生	
ポリオ流行予測調査	95
岩井雅恵, 滝澤剛則, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 小原真弓, 永井美之, 中澤保文, 田中桂子 加藤丈士, 米道暁彦, 嶋尻悟志	
インフルエンザ流行予測調査	101
堀元栄詞, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 永井美之, 田中桂子 朝野芳明, 中澤保文, 米道暁彦, 宮田英喜	
2002年の富山県におけるエコーウイルス13型検出状況と血清疫学調査	107
岩井雅恵, 滝澤剛則, 松浦久美子, 吉田弘, 中山喬, 長谷川澄代, 小原真弓, 堀元栄詞, 永井美之	
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について (2005年度)	116
長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 永井美之	
2005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	121
小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 永井美之	
細菌検査分野への塩基配列決定法の最適化と応用事例	126
綿引正則, 清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 嶋智子, 田中大祐, 永井美之	
富山県で発生した腸管出血性大腸菌感染症の疫学的解析 (1996~2005)	133
磯部順子, 木全恵子, 田中大祐, 清水美和子, 綿引正則, 永井美之	
成長期女子の生活習慣の変化と骨密度増加との関連	143
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	
肥満男性のウォーキングによる体重減少 一步数, 速歩時間との関連一	149
田中朋子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 大下喜子, 山上孝司	
市販のお茶飲料および中国茶葉浸出液中のフッ素濃度	152
新村哲夫, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 鏡森定信	

3. 資料

富山県の新生児マス・スクリーニングで発見された TSH 低値クレチン症例	157
九曜雅子, 米田 豊	
富山県における平成17年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	160
岩井雅恵, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 小原真弓, 滝澤剛則, 永井美之	
富山県における2005年の病原微生物検出情報	162
木全恵子, 嶋智子, 田中大祐, 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之	
漁港における腸炎ビブリオ調査 (2005年)	168
嶋 智子, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 綿引正則, 吉田 毅	
富山県におけるカンピロバクター分離状況 (2005年)	174
清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 田中大祐, 綿引正則	
溶血レンサ球菌感染症流行予測調査 (平成17年度)	178
嶋 智子, 田中大祐, 田中桂子, 米道暁彦	

富山県内で患者から分離された溶血レンサ球菌の血清型と薬剤感受性	180
嶋 智子, 田中大祐, 磯部順子, 綿引正則, 林 喜代志, 中村政雄, 遠藤美代子	
平成17年度富山県食品衛生検査の精度管理調査 - 微生物学的検査 -	184
磯部順子, 清水美和子, 田中大祐, 綿引正則, 松澤孝信	
平成17年度水道水質検査の精度管理事業について	191
健名智子, 高柳信孝, 齊藤行雄	
平成17年度富山県内食品衛生(理化学)検査機関の精度管理調査について	195
中山恵理子, 大戸幹也, 齊藤行雄, 松澤孝信	
歩数計を使った運動プログラムにおける運動継続に関連する要因	198
堀井裕子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 大下喜子, 山上孝司	
小学生の尿中アルキルリン酸検出状況	201
中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄	

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表	203
(2) 特 別 講 演 等	211
(3) 学 会 発 表 等	211
(4) 受賞, 学位授与, 資格取得等	218

Reports

Results of the Neonatal Mass-Screening in Toyama Prefecture (April 2005~March 2006)	23
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takanobu MATSUZAWA and Toshiko ISHIMARU	
Examination of Amino Acid Determination by High Performance Liquid Chromatography Using 3.0mm i.d. column for Mass-screening of Disorders of Amino Acid Metabolism	34
Yutaka YONEDA and Masako KUYO	
Simultaneous Analysis of Free Carnitine and Total Acylcarnitine using Test Solution for Enzymatic Cycling Method of Galactose in Dried Blood Specimens for Neonatal Screening	39
Yutaka YONEDA and Masako KUYO	
Chromosome Analysis of Human Blood Cells and Bone Marrow Cells	45
Mikiko HAYASHI and Sachiko HONDA	
Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells and Abortus Cells	51
Sachiko HONDA and Mikiko HAYASHI	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2005.....	56
Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA and Mayumi MICHITANI	
A Case-Control Study on the Risk Factors for Colon and Rectum Cancer in Toyama Prefecture	69
Yasuhiro SHINAGAWA, Hirofumi NAGASE, Takanobu MATSUZAWA and Yoshiyuki NAGAI	
Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2005	83
Mamoru WATANABE, Mayumi OBARA, Ryouko MATSUURA, Osamu HIROSE, Sumiyo HASEGAWA, Emiri NISHIO and Mutsuo KOBAYASHI	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture	95
Masae IWAI, Takenori TAKIZAWA, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO Mayumi OBARA, Yoshiyuki NAGAI, Yasufumi NAKAZAWA and Keiko TANAKA	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2005-2006	101
Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Takenori TAKIZAWA, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA, Yoshiaki ASANO, Yasufumi NAKAZAWA, Akihiko YONEMICHI, Hideki MIYATA	
Detection of Echovirus Type 13 in Toyama Prefecture in 2002 and Epidemiological Surveillance	107
Masae IWAI, Takenori TAKIZAWA, Kumiko MATSUURA, Hiromu YOSHIDA, Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO and Yoshiyuki NAGAI	
Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2005	116
Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae Iwai, Eiji HORIMOTO, Takenori TAKIZAWA and Yoshiyuki NAGAI	

Genotyping of Noroviruses from gastroenteritis in Toyama Prefecture in the fiscal year 2005	121
Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Takenori TAKIZAWA and Yoshiyuki NAGAI	
Optimization of DNA Sequencing Policy in the Bacterial Testing Field and the Case Examples.	126
Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA and Yoshiyuki NAGAI	
An Epidemiological Study of Enterohemorrhagic Escherichia coli Infection in TOYAMA, 1996 – 2005	133
Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	
Relationship between Change of Lifestyle-related Factors and Bone Mass Acquisition in Adolescent Female	143
Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI	
The Relationship between Weight Loss and Number of Walking Steps or Minutes of Brisk Walking in Obese Men	149
Tomoko TANAKA ,Yuko HORII, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI Yoshiko OHSHTA and Takashi YAMAGAMI	
Fluoride Levels in Various Tea-Based Beverages of Japan and in Chinese Tea Infusions	152
Tetsuo SHIMMURA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Sadanobu KAGAMIMORI	

Notes

Reports of Congenital Hypothyroidism Patients with low level of TSH detected by Neonatal Mass-screening in Toyama Prefecture	157
Masako KUYO and Yutaka YONEDA	
Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2005	160
Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Takenori TAKIZAWA and Yoshiyuki NAGAI	
Detection of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2005	162
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	
Vibrio parahaemolyticus Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture	168
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Takeshi YOSHIDA	
Status of Campylobacter Isolated in Toyama Prefecture (2005)	174
Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA and Masanori WATAHIKI	
Epidemiological Surveillance of Hemolytic Streptococcal Infections in Toyama Prefecture	178
Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Keiko TANAKA and Akihiko YONEMICHI	
Serotypes and Drug Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture	180
Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Kiyoshi HAYASHI, Masao NAKAMURA and Miyoko ENDO	
Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	184
Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Daisuke TANAKA, Masanori WATAHIKI and Takanobu MATSUZAWA	
On the External Quality Control of the Quantification of Total Organic Carbon and Bromate in Water	191
Tomoko KEMMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and Yukio SAITO	
Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	195
Eriko NAKAYAMA, Mikiya OHTO, Yukio SAITO and Takanobu MATSUZAWA	
Factors Related to Exercise Adherence in the Walking Program Using a Pedometer	198
Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI, Yoshiko OHSHITA and Takashi YAMAGAMI	
Detection of Urinary Alkylphosphates among School Children	201
Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Tetsuo ARATANI	

1. 運 営

1 運 営

(1) 沿 革

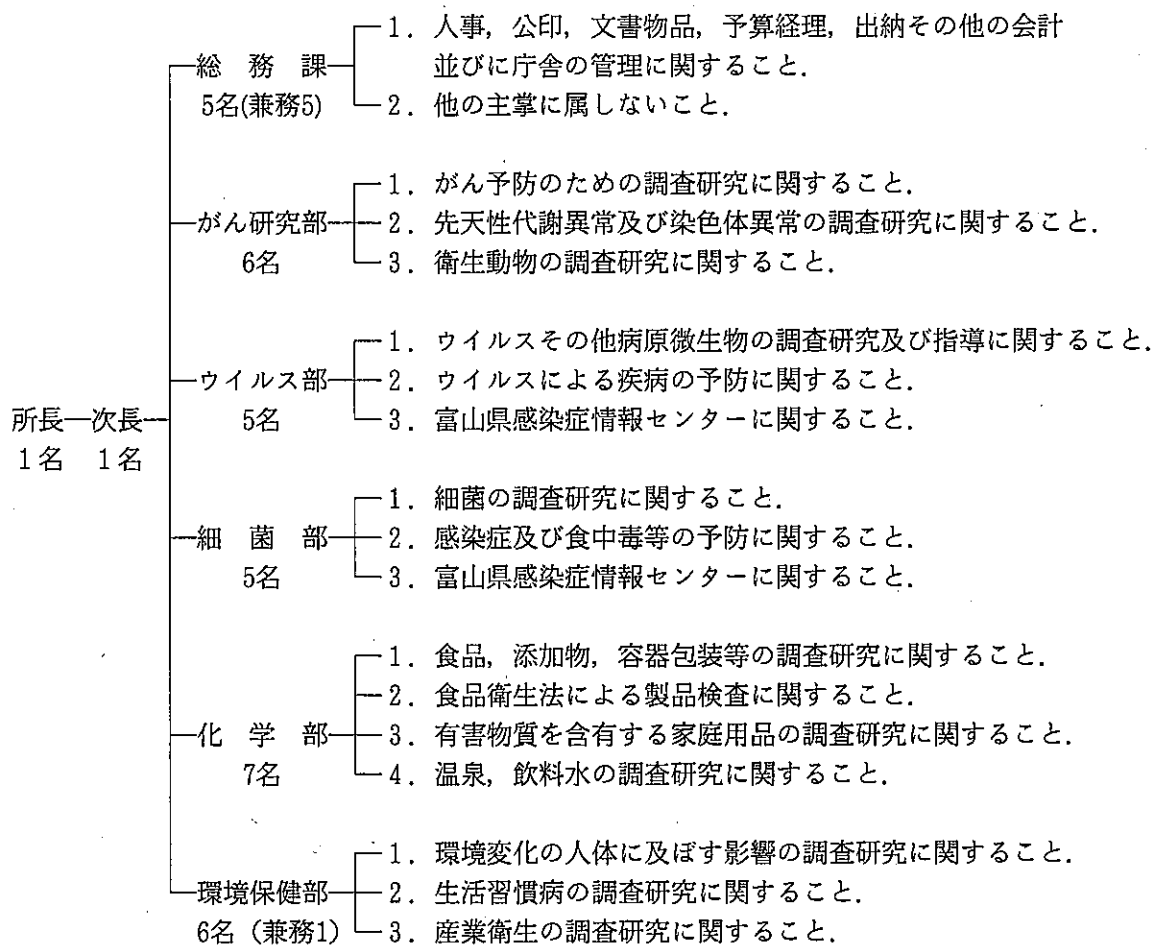
- 昭和35年4月1日 職員9名の構成で発足。
- 昭和36年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、課・係制が設けられ職員17名に拡充強化（庶務係、細菌課、ウイルス血清課、食品衛生課、生活環境課）。
- 昭和37年11月30日 研究所庁舎完成。
- 昭和38年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、所長代理制が設けられ、また、課名の一部（庶務係を庶務課に、ウイルス血清課をウイルス病理課）を変更。
- 昭和39年10月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査課を新設。
- 昭和44年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正す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(m ²)
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
R I 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18年5月1日)



(4) 職 員 数

(平成18年5月1日現在)

区分	所・次長 部・課長	技術 吏員	主 幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主任	主 任 研究員	再任用 主任	研究員	主 任 業務技師	嘱託	計
所 長	1											1
次 長	1											1
総 務 課	1 (注1)			2 (注1)		1 (注1)				1 (注2)		5 (兼5)
がん研究部	次長 事務取扱				4		1	1				6
ウイルス部	1						1	1	2			5
細菌部	所長 事務取扱				2		3					5
化学部	1		1		2		2		1			7
環境保健部	1	1 (注3)			2		2					6 (兼1)
合 計	6	1	1	2	10	1	9	2	3	1	0	36 (兼5)

* (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, (注3) 高岡厚生センター射水支所を兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成18年5月1日現在)

職 名		氏 名		職 名		氏 名	
所 長		倉 田 毅		部 長		所長事務取扱	
次 長		松 澤 孝 信		副 主 幹 研 究 員		綿 引 正 則	
総 務 課	総 務 課 長 (兼)	宮 田 良 治		"		磯 部 順 子	
	副 主 幹 (兼)	中 村 美 千 代		主 任 研 究 員		木 全 恵 子	
	副 主 幹 (兼)	梶 原 孝 志		"		嶋 智 子	
	主 任 (兼)	宮 本 伊 津 子		"		清 水 美 和 子	
	業 務 技 師 (兼)	高 安 勝 弘		部 長		齊 藤 行 雄	
	部 長		次長事務取扱		主 幹 研 究 員		高 柳 信 孝
が ん 研 究 部	副 主 幹 研 究 員	本 田 幸 子		副 主 幹 研 究 員		小 玉 修 嗣	
	"	林 美 貴 子		"		大 戸 幹 也	
	"	米 田 豊		主 任 研 究 員		健 名 智 子	
	"	品 川 保 弘		"		中 山 恵 理 子	
	主 任 研 究 員	九 曜 雅 子		研 究 員		山 下 智 富	
	再 任 用 主 任	渡 辺 護		部 長		三 井 博	
ウ イ ル ス 部	部 長	滝 澤 剛 則		技 術 吏 員 (兼)		長 瀬 博 文	
	主 任 研 究 員	堀 元 栄 詞		副 主 幹 研 究 員		新 村 哲 夫	
	再 任 用 主 任	長 谷 川 澄 代		"		田 中 朋 子	
	研 究 員	小 原 真 弓		主 任 研 究 員		中 崎 美 峰 子	
	"	岩 井 雅 恵		"		堀 井 裕 子	

注 総務課は環境科学センターおよび薬事研究所を兼務

環境保健部は高岡厚生センター射水支所を兼務

(6) 予算及び決算

平成17年度予算概要(当初)

事業名	予算額 (千円)	財源内訳				備考
		使用料 手数料 (千円)	国支出金 (千円)	受託事業 (千円)	一般財源 (千円)	
衛生研究所費	70,390	3,804			66,586	所の運営、維持管理、試験検査等
試験研究費	12,413				12,413	調査研究
設備充実費	3,872				3,872	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	2,031				2,031	
がん等特別研究費	10,374		787	1,500	8,087	調査研究
合計	99,080	3,804	787	1,500	92,989	

平成17年度 歳入・歳出決算
(歳入)

科目	決算額(円)	備考
衛生手数料	9,740,487	衛生研究所費 4,499,967 環境衛生検査 5,240,520
衛生国庫負担金	777,000	
衛生研究所受託事業	1,500,000	
納付金	60,509	
合計	12,077,996	

(歳出)

科目	決算額(円)	備考
人事管理費	3,894,935	嘱託職員の雇用
財産管理費	1,623,475	庁舎修繕
計画調査費	73,300	客員研究員の招へい
児童福祉対策費	13,776,605	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	88,491	再任用職員の保険料
予防費	11,376,232	感染症関連調査
環境保健対策費	13,388,085	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	96,917,511	試験検査・研究及びそれに伴う維持管理
環境衛生総務費	7,970,025	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	5,812,940	食品安全対策検査
環境衛生指導費	100,000	家庭用品検査
医務総務費	64,000	感染防止
公害防止対策費	341,000	海水浴場細菌検査
工鉱業総務費	7,382,048	海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興
合計	162,808,647	

(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-2010	H17.10
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
全有機炭素計 (TOC計)	島津製作所 TOC-V CSH	H18.1
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
マイクロプレートウォッシャー	米国ダイナテック (ウルトラウォッシャー-II)	H 5.3
DNA 合成装置	ファルマシア ジェノアッセンプラス [®] システム	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 (ジェノバクター)	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18年3月31日現在)

(8) 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17年度の検体総数は10,382件で、県内45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93.3%（里帰り分娩を含めると108.2%）であり、前年同様高い割合であった。検査項目は、フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の6疾患である。検査の結果、要精密検査として41人（フェニルケトン尿症疑い3人、ホモシスチン尿症疑い1人、ガラクトース血症疑い4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8人）がスクリーニングされ、クレチン症の患者13人が発見された。

染色体検査

平成17年度の検体数は、血液65件、羊水71件、自然流産胎児20件と皮膚組織2件の計158件で、うち、染色体異常を示したものは、血液14件（ダウン症候群4件、転座型保因者2件、双胎間輸血症候群4件（2人）、ターナー症候群1件、逆位保因者1件と脆弱X症候群1件）、羊水1件（逆位保因者1件）、流産胎児12件（22トリソミー症候群4件、ターナー症候群3件、12トリソミー症候群1件、16トリソミー症候群1件、+21トリソミー症候群1件、3倍体1件、均衡転座保因1件）の計27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、羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い、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は16年度と同一の7ヵ所の畜舎において6月から10月まで調査を行った。17年度のコガタアカイエカの発生状況は定点「黒部」、「大山」、「婦中」で顕著に増加、「上市」、「富山」はわずかに増加したが、「小矢部」、「小杉」では減少した。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6地点でダニの採集を行い、標高の高い有峰地域と南砺市利賀村水無でライム病を媒介するシュルツェマダニを多数確認した。

この他、厚生センター依頼の食品混入昆虫など13件と、行政機関および各種事業所からの分類同定を合計して3,292件の検査を行った。

【調査研究】

がん発生要因に関する研究

煎茶粗抽出物による哺乳動物培養細胞の染色体核型への影響を引き続き検討している。アフリカミドリザル由来VERO細胞の増殖抑制を引き起こす濃度の粗抽出物添加状態でも、染色体の数的異常は認められなかった。染色体数の、より少ないチャイニーズハムスター由来培養細胞を用いて、影響の有無をさらに検討している。

富山県における大腸がん発生背景要因を探るための症例対照研究を取りまとめて、「富山県における大腸がん発生背景要因の疫学的研究報告書」として刊行した。

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・スクリーニングでは、これまで高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による11分法を開発し、その後6分法への迅速化を行ってきた。平成17年度は6分法で用いる分析カラムを内径4.6mmから移動相の使用液量削減を期待できる内径3.0mmのセミマイクロカラムに変更した場合の影響について調査した。その結果、安定性の面で4.6mmカラムを用いるの方が良好であることを確認した。

脂肪酸代謝異常症のマス・スクリーニングには、タンデム質量分析装置を必要とする。しかし、対象疾患をカルニチントランスポーター異常症およびカルニチンパルミトイルデヒドロゲナーゼI（CPT I）及びII（CPT II）に絞った場合、血液中の遊離カルニチン及び総アシルカルニチンを測定することで、これらの疾患をスクリーニングできる可能性がある。そこで、ガラクトースの酵素サイクリング分析で生ずる測定残液を利用し、効率的に遊離カルニチン及び総アシルカルニチンを測定する検査法の開発を試みた。その結果、ガラクトース測定後、135分の分析時間の追加により、低コストで遊離カルニチン及び総アシルカルニチンを測定可能な分析法を開発でき

た。

グルコース-6-リン酸脱水素 (G6PD) 異常症は、ガラクトース血症のマス・スクリーニングで偶然発見される疾患の1つであり、富山県では、2人の患者が発見されている。この疾患は G6PD 活性を測定することにより確定診断されるが、現在全国に酵素活性を測定する施設がなく、医療機関からの依頼があったため、マス・スクリーニング用血液濾紙を使用した G6PD 活性の簡易測定法を検討した。その結果、相対的な酵素活性 (%) の測定は可能となった。さらに、活性を定量化するため、rate assay による測定法を検討している。

染色体に関する研究

微細欠失、転座、合併異常、モザイク等複雑な染色体異常の場合、通常の染色体分析では正確な判定が得られないことがあり、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法と併せ、判定することが多くなっている。胎児期に双生児が胎盤を共有したことから、双胎間輸血症候群になった症例について FISH 法を用い、キメラの頻度を明らかにした。今後も引き続き、検討を行っていく予定である。

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。最近マウスの FISH プローブが開発されつつあるので、この方法を導入し、新たな変異原性試験法を検討中である。

衛生動物に関する研究

イヨシロオビアブ (オロロ) を効果的に誘引捕獲するためにボックストラップの改良を行い、南砺市 (利賀村・福光)、富山市 (大山) など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。

家屋侵入性のクサギカメムシとスコットカメムシ (ヘクサンボ) の発生動態研究では、2002年に顕著に発生数が減少したのが、2005年にはかなり多く発生し (回復)、その原因の多くは繁殖期の夏が高温で推移したためと、秋口の天候が安定したためと推察された。

1 昨年からは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、捕集される蚊種と数に明らかに相違が認められた。純住宅地の民家ではヒトスジシマカが多く、からすのねぐらの大規模公園ではアカイエカが多く捕集された。また、1軒の民家で複数のトラップを設置して小分布を観察したところ、明るい開放的な場所 (環境) よりも、暗く感じる場所 (環境) の方で、より多くの蚊類が捕集された。このことは緊急的な駆除を考えた場合、殺虫剤散布を丁寧に、しかも的確に行うことを示唆する。

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については、136症例中125症例からウイルスが分離された (AH1型インフルエンザウイルス34株、AH3型インフルエンザウイルス77株、B型インフルエンザウイルス14株)。これらの検体の多くはインフルエンザ流行予測調査を兼ねており、詳細については、本年報に掲載されている流行予測調査の報告を参考にされたい。感染性胃腸炎では、77症例の依頼があり、このうち47症例においてウイルスが検出された (ノロウイルス Genogroup II ; NVG II 43件、A群ロタウイルス3件、サポウイルス1件)。食中毒では79名の検査を行い、このうち42名からウイルスが検出された (NVG I 6件、NVG II 34件、NVG I + NVG II 2件)。脳炎・脳症4症例、急性弛緩性単麻痺1症例については、ウイルスは検出されなかった。無菌性髄膜炎5症例のうち、1例ずつからそれぞれエコーウイルス30型およびコクサッキーウイルス A16型が分離された。リケッチア関係では、5症例のうち、3例からツツガムシ病リケッチア (Kawasaki 型) が検出され、別の2例では、血清中のリケッチアに対する抗体価の上昇が確認された。

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。17年度には腎症候性出血熱及びライム病の浸淫調査のため野生げっ歯類44個体 (ドブネズミ37個体、スミスネズミ7個体) を捕獲した。さらに、旗ざり法によりマダニ類 (シュルツェマダニ33個体、ヤマトマダニ161個体、ヤマトチマダニ24個体、キチマダニ79個体、フタトゲチマダニ1個体) を採集した。

平成16年度、17年度捕獲分の野生げっ歯類計97頭について、腎症候性出血熱ハンタウイルス（Hantaan型、Puumala型）に対する抗体の保有調査を行った。平成16年度に捕獲したスミスネズミ1検体がHantaan型に対し64倍の抗体価を保有していた（精密検査中）。また、一部の検体についてはツツガムシ病リケッチアのKato型、Karp型、Gilliam型に対する抗体についても調査したが、抗体は検出されていない。

平成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ている。アカイエカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカなどが捕集され、住環境により蚊の種類・数に相違がみられた。なお、17年度は16年度に比べ捕集数は全般的に増加した。さらに、捕集した蚊のウイルス保有調査についても行った。10,061個体（コガタアカイエカ8,233個体、アカイエカ1,475個体、ヒトスジシマカ318個体、その他35個体）、683プールを用いたところ、計11プールより日本脳炎ウイルスが分離された。ウエストナイルウイルスは検出されなかった。また、同時に行った豚血清からのウイルス分離では、9月6日、9月20日採血分の計2検体より日本脳炎ウイルスが分離された。

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17年4月から平成18年3月までの1年間に248件の検体についてHIV抗体検査を行い、すべて陰性であった。

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月の調査当初から多く推移し、徐々に増加し8月にピークを迎え、9月には減少する消長を示した。一方、県内産ブタの日本脳炎に対する抗体陽性率は7月8.8%、8月は17.0%で、9月は77.5%に増加した。10月はさらに上昇し97.5%であった。ウイルスの新鮮感染を示すIgM抗体保有ブタは、8月中旬から確認され始め、9月中旬をピークとして10月前半まで持続した。すなわち、17年度の日本脳炎ウイルスの浸淫は8月より始まり10月まで続いた。また、9月のブタの血清から日本脳炎ウイルスが実際に分離された。抗体保有状況を「日本脳炎ブタ情報」として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た。

ポリオ：県内のポリオウイルスの動向を把握するために、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査：平成18年1月、平成17年9月に、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81名の糞便を採取し、ウイルス分離を行った。その結果、アデノウイルス2型、コクサッキーウイルスB3型、エコーウイルス3型がそれぞれ1名から検出され、エコーウイルス25型が8名から検出された。ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：平成17年6月～9月に、0歳から72歳までの295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。ポリオウイルス各型に対して抗体価4倍以上の抗体価を保有する割合は、1型93.2%、2型95.9%、3型77.6%であった。また、各型に対する平均抗体価は、1型92.7倍、2型61.8倍、3型29.1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。しかしながら、いずれかの型の抗体を保有していない人が25.8%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流行状況の把握のために、ヒト感受性調査（2005年6～9月）と感染源調査（2005年12月～2006年5月）を実施した。

ヒト感受性調査：295名（0～72歳）を対象としてAH1型、AH3型およびB型のワクチン株およびB型の参考株（Victoria系統）に対する赤血球凝集阻止（HI）価を測定した。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34.2%、41.0%、37.6%、5.8%で、B型（Victoria系統）に対する抗体保有率は依然低く、流行が危惧された。

感染源調査：インフルエンザの流行は、2006年1月上旬から2006年5月中旬までの約5か月間にわたり継続した。インフルエンザウイルスの分離については、AH1型が38株、AH3型が67株、B型が9株であった。分離株の抗原解析の結果、AH1型およびAH3型についてはワクチン株とほぼ同じ抗原性であったが、B型についてはワクチン株と抗原性が異なるVictoria系統株であった。

〔調査研究〕

ウイルスウォッチプログラム

富山県における環境水のウイルス汚染実態調査は、1979年から断続的に実施している。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、ウイルス検出率は調査の回数を追うごとに低くなっていることなどがわかっている。2002年の調査で県内の3河川から12株が分離されていたエコーウイルス13型(E13)は、同時期に全国的に流行した無菌性髄膜炎の主な原因ウイルスであり、富山県の無菌性髄膜炎患者5名からも分離されていた。平成17年度は、富山県住民のエコーウイルス13型(E13)の感染状況を把握するために、2002年の流行前後(2000年および2003年)における富山県住民の抗体保有状況を調査した。その結果、2000年においては39歳以下の年齢ではほとんど抗体を保有していなかったが、2003年では0～14歳の低年齢層で、抗体保有率および平均抗体価が上昇し、この年代でE13の流行が起きていたことがわかった。また、河川水由来および患者由来の分離株について、遺伝子解析を実施中である。

急性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2005年4月から2006年3月までの1年間に発生届けのあった、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。2005年度中に調査したウイルス性急性胃腸炎の集団発生は17事例であった。これら全てよりノロウイルス(NV)が検出された。うち1事例はNV Genogroup I(GI)によるもの、15事例はNV Genogroup II(GII)によるもの、1事例はNVGI、NVGIIの混合によるものであった。

飲食店での発生が5事例あり、うち2事例は県外であり、県内での3事例中1事例は混合感染でカキに関連して発生していた。老人保健施設・障害者施設での発生は5事例、小学校等での発生は5事例、祭り会場1事例、家族内1事例であった。

集団発生では17事例中10事例の遺伝子配列がそれぞれ100%の一致率を示し、少なくともこの10事例の集団発生は、それぞれ同一のウイルス由来である可能性が高いことがわかった。3事例では複数のウイルスが検出されたが、これにはカキと関連しない事例も含まれた。

〔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。

県内および全国の感染症発生動向の情報は、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。また、本年度も「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6件の発生があった。厚生センターから搬入された分離菌について血清型の確認を行い、更に病原遺伝子および薬剤感受性を調べた。赤痢菌の血清型はソンネI相(2株)、ソンネII相(1株)、フレキシネリ2b(1株)、フレキシネリ88-893(1株)、フレキシネリ6(1株)であった。4株はそれぞれ、ベトナム、ペルー、インド、ベトナム・カンボジアへ旅行したヒトから、残りの2株は海外渡航歴のないヒトからの分離であった。

3類(腸管出血性大腸菌)感染症：平成17年度は感染事例が22件(78名)で、原因菌の血清型はO157 19件(74名)、O26 2件(3名)、O111 1件(1名)であった。このうち9件は集団感染事例(家族内感染、食中毒を含む)であった。

細菌性食中毒：平成17年度は細菌性食中毒が7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。3月、4月に発生した2件の腸管出血性大腸菌による食中毒はいずれも血清型O157:H7であった。腸炎ビブリオ菌による食中毒は1件、カンピロバクターによる食中毒は4件発生した。

生活衛生

食品検査：7月に清涼飲料水25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）32検体について腸炎ビブリオの定性または定量検査を行った。すべての検体が成分規格基準に合致していた。

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130検体）の糞便性大腸菌群数測定を行った。いずれも水質が良好な「AA」または「A」ランクで「適」であった。このうち26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48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8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ところ、オーシストは検出されなかった。

腸炎ビブリオ検査：平成8年度より始まった通称「VP マリン」事業として、6月から11月にかけて県内5漁港の海水（表層及び海底）の腸炎ビブリオを定期的に調べた。その結果、海水中の腸炎ビブリオ数は、100mlあたり $3\sim 2.4\times 10^3$ の範囲であった。

名水調査：県内で飲用されているいわゆる「名水」について、細菌学的な調査を行なった。調査は7月に7か所、10月に9か所の計16検体について、病原性大腸菌、大腸菌定性・定量、嫌気性芽胞菌、生菌数及び低温培養菌の検査を実施した。1名水が大腸菌陽性であった。低温培養菌では *Pseudomonas*, *Flabobacterium* が優勢菌種であった。

依頼検査：民間企業から依頼を受けた医薬品（経口液剤）について、日本薬局方保存効力試験を実施した。

また、滑川市から依頼を受け、海洋深層水の一般細菌数および大腸菌定性の検査を18検体、一般細菌数および病原細菌定性（大腸菌、大腸菌 O157、赤痢菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、腸球菌、緑膿菌、嫌気性菌）の検査を18検体について行った。一般細菌数検査では、多くが0~1cfu/ml と少なく、清浄性が保たれていた。病原細菌定性検査では、一部の採水地点から大腸菌、腸炎ビブリオ、嫌気性菌が検出された。

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18年1~2月に調査した。県東部の保育所園児62名では1名（1.6%）が溶連菌陽性であり、分離菌はG群1株であった。また、県西部の保育所園児39名では10名（25.6%）が溶連菌陽性であった。分離菌はA群 T25型 9株、A群 T14/49型 1株であった。

病原細菌検出情報：県内10か所の病院と4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原菌検出数は、1,668株、前年比99.2%であった。最も多かったのは大腸菌783株で、以下、黄色ブドウ球菌の509株、カンピロバクター301株、サルモネラ23株、腸炎ビブリオ22株の順であった。

〔調査研究〕

サルモネラ

県内の病院、保健所でヒトから分離された菌株の収集解析を行った。2005年1月~12月までに当所に送付された菌株は11株で、調査を始めてからもっとも少ない菌株数であった。分離菌について血清型別、薬剤感受性試験を実施した。

また、市販食肉のサルモネラ汚染実態調査を行なった。鶏肉レバー27検体、手羽先37体、鶏モモ肉2検体、ムネ肉3検体、計70検体について調査した結果、サルモネラはレバー21検体、手羽20検体、モモ2検体から分離された。

大腸菌

腸管出血性大腸菌ベロ毒素遺伝子 *stx2* について *stx2* 遺伝子多型も検出可能とする PCR プライマーの設計とマルチプレックス PCR 及びリアルタイム PCR への応用について検討を行った。その結果、被験菌株のゲノム DNA について設計したプライマーを用いた PCR は特異的な増幅を示した。また、このプライマーを用いたリアルタイム PCR について定量性と検出限界の検討を行った。

溶連菌

平成17年に県内2ヶ所の病因で分離された溶連菌を型別した。A群68株では、検出率が高いT型は、T6型、T

11型, T12型, T1型, T28型であった。前年と比較して, T6型と T11型が増加し, T12型, T25型, T28型は減少していた。B群57株では, 検出率が高い型は, VI (NT6) 型, V型, I b型, VIII (JM9) 型, I a型であった。また, 富山県内で分離された劇症型溶連菌感染症や咽頭炎等の患者由来菌株の特徴を明らかにするため, emm型, MLST, 各種病原因子遺伝子保有状況を調べた。

腸炎ビブリオ

平成17年6月から11月の期間, 県内の5漁港の海水について PCR 法と免疫磁気ビーズ法により耐熱性溶血毒素 (TDH) 産生性腸炎ビブリオの分布を調べた。その結果, 海水100検体のうち, 9検体が TDH 遺伝子陽性となった。また, TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6を2検体から分離した。

カンピロバクター

市販鶏肉のカンピロバクター汚染調査を行った。鶏肉70検体中55検体 (78.6%) からカンピロバクターが検出された。汚染菌数を調べたところ, レバーが他の肉と較べて菌数が多かった。分離された菌株について, 血清型別 (Penner 型) と薬剤感受性試験を行った。

富山湾の細菌学的特性に関する研究

富山湾海洋水を採取し, 生菌数と16S rRNA の部分配列を解析することで, その細菌学的特性について調査した。

[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。試料は当所で作製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サルモネラ属菌の検出とした。なお, 模擬食品は, 1検体にサルモネラ属菌を接種し, 2検体は菌未接種の陰性とし, 計3検体を各機関に配布した。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。サルモネラ属菌の検出の回答結果については, 本年報にその詳細を掲載しているので参考にされたい。今回, 模擬食品の原料として用いた鶏ミンチにサルモネラが検出されたことで, 回答は若干複雑な結果となった。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, 富山県衛生研究所68株の結果を報告した。また, 東海北陸地区で発生した9例の劇症型溶連菌感染症例やB群溶連菌57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), 惣菜等の保存料 (安息香酸, ソルビン酸), 甘味料 (サッカリンナトリウム) 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54検体 (総項目数237) の検査を行ったところ, いずれの検体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, ねぎ, キャベツ等の9種21検体について, 残留農薬迅速分析法 (Y. Saito et al. 2004, J. AOAC Int. 87, 1356-1367) で有機リン系 (フェントロチオン等), 含窒素系 (フルトラニル等), ペレスロイド系 (ペルメトリン等), 有機塩素系 (ディルドリン等) の97農薬 (109成分) を調査した。玄米1検体からフラメトピルが, 1検体からトリシクラゾール及びメプロニルが, ほうれんそう1検体からフルトラニル, フサライド及びメプロニルが, ぶどう2検体からペルメトリンがそれぞれ検出された。検出量は基準値の1/7以下であった。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（カワハギ、メジマグロ等）の総水銀を測定したところ、17検体から検出され、濃度は0.01～0.25 ppm（暫定的規制値0.4 ppm）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0.02 ppm）。

家庭用品検査

除菌消臭スプレーやヘアスプレーなどの家庭用洗浄剤、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

管理目標設定項目：水道水源の水質監視に伴い、水道原水17検体及び浄水14検体について、亜硝酸態窒素、アンチモン及びトルエン等13項目（総項目数151）の検査を行った。また農薬類としてシマジン等41項目（総項目数245）の検査も行った。うち1検体についてウラン（目標値の15/100）が、2件についてニッケル（目標値の12/100～22/100）が検出された。その他の項目はいずれも不検出であった。

要検討項目：水道水源の水質監視に伴う水道原水15検体及び浄水15検体について、銀など重金属類、スチレンなど揮発性有機化合物、フタル酸ジ(n-ブチル)などフタル酸エステル類、プロモクロロ酢酸などハロ酢酸類及びトリクロロアセトニトリルなどハロアセトニトリル類等33項目（総項目数345）の検査を行った。すべての項目はいずれも不検出であった。

ゴルフ場使用農薬：県内におけるゴルフ場周辺の飲用井戸水について、平成17年5月（21件）および11月（21件）にゴルフ場使用農薬（シマジン等40項目）の検査（総項目数580）を行ったところ、うち5件についてシマジン（目標値の1/100～4/100）が、1件についてフェニトロチオン（目標値の1/100）が検出された。その他の井戸水からは農薬は検出されなかった。

温泉分析

中分析25件（再分析13件、浴槽水11件及び小分析1件）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-塩化物泉、カルシウム・ナトリウム-硫酸塩泉、単純温泉等であった。また温泉資源保護を目的として、平成7年度から温泉密集地域の15源泉（17年度1源泉追加、1源泉削除）の主要成分等について、経年変化調査を行っているが、17年度は前年と比較して大きな変化は見られなかった。

〔調査研究〕

食品中の成分および添加物に関する調査研究

リノール酸の中には二重結合の位置が隣接する共役リノール酸がある。共役リノール酸は牛乳や肉類に含まれ、抗酸化作用に起因する抗発ガン作用や抗糖尿病作用のあることが最近報告されている。共役リノール酸は二重結合の位置に加えてシス・トランス配置があり、16種類以上存在する。そこで、キャピラリー電気泳動法により共役リノール酸の分析法について検討している。現在までのところ、12種類まで分離できたが、さらに検討を加えて全成分を分析できる方法を検討中である。さらに、食品分析にも適用する予定である。

食品中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

大量注入方式GC/MSによる魚介類中の有機スズ化合物の分析：胃袋型ライナーが組込まれているPTVインレット（昇温気化方式試料注入口）付きGC/MSシステムで、魚網あるいは船底への貝類や海藻類の付着防止を目的に使用された有機スズ化合物の微量分析法を検討した。魚介類からトリブチルスズTBT、ジブチルスズDBT、モノブチルスズMBT、トリフェニルスズTPT、ジフェニルスズDPT及びモノフェニルスズMPTの有機スズ化合物6物質を対象として、それぞれのサロゲートを添加後、酸性メタノール・酢酸エチルで抽出及びヘキサン・酢酸エチルで逆抽出後に、テトラエチルホウ素ナトリウムによりエチル誘導体にする。この誘導体化合物をフロリジルミニカラムで精製し、上記システムで100μLの大量注入方式GC/MS（SIM）で測定したところ

る、対象物質の全てが分析可能であり、流通魚介類中の有機スズ化合物の微量分析法に有用であることを明らかにした（定量限界0.001-0.002 ppm）。

飲料水および温泉に関する調査研究

飲用されている「とやまの名水」の調査：平成15年度から「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の水質調査を行っている。平成17年度は飲用されている名水15箇所について、管理目標設定項目22項目（うち農薬類9項目）、要検討項目（フタル酸ブチルベンジル等）3項目及び有機塩素系化合物（PCB、アルドリン、DDT等）8項目の計33項目（総項目数495）の検査を行った。33項目のうち21項目がいわゆる環境ホルモンと呼ばれるものである。検査の結果、すべての名水でいずれの項目も検出されなかった。平成18年度は今回行った以外の飲用されている名水について同一の検査を行うほか、平成17年度に新たに名水に追加選定された富山湾の深層水（平成17年9月）や下立の霊水など10箇所の名水（平成18年3月）についても水質調査を行う予定である。

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：光学異性体の新しい分析法として、ホウ酸を中心イオンに用いたキラル配位子交換法を検討し、(S)-3-アミノ-1,2-プロパンジオール（SAP）を光学分割剤としたときにD-L-パントテン酸が光学分割されることを既に報告した。そこで、本法の分離メカニズムを検討したところ、SAP-ホウ酸-(D-パントテン酸)とSAP-ホウ酸-(L-パントテン酸)の複合体の構造が大きく異なるため電気泳動移動度に差が生じて、DL-パントテン酸が光学分割することを見いだした。今後、ポリオール構造を有する糖類の分析条件を検討し、食品分析に適用する予定である。

[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公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的とした精度管理調査を実施している。今年度は5機関について、トマトペースト中の残留農薬（フェンパレレート）の定量試験の調査を実施した。

測定結果については、試料の前処理方法及び検量線の濃度範囲のとり方等に若干の問題点のみられた機関があったが、機関内・機関間変動係数ともに小さく、 \bar{x} -R 管理図や z スコア等から全ての機関について、「充分管理されている」と判断できる結果が得られた。

水質検査の精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づき、平成17年度は県内の水道水質検査を実施する12機関の参加により、全有機炭素（TOC）と臭素酸について精度管理調査が実施された。

TOCと臭素酸はともに新たに水質基準項目となったことより精度管理の対象とし、それぞれ超純水に標準原液を添加した試料（TOC：3.0 mgC/L、臭素酸：0.004 mg/L）を検体とした。

TOCについては全12機関が島津製作所製全有機体炭素計を用いており、分析条件もほぼ同一であった。精度管理の結果は、機関内・機関間のばらつきが小さく、各機関の測定値も回収率0.9～1.1の範囲に入り、報告された検査結果は良好であった。

臭素酸については、各機関の測定値は1機関（回収率0.89）を除き回収率0.9～1.1の範囲に入り、機関内・機関間のばらつきも小さく、報告された検査結果は概ね良好であった。参加した7機関が定量下限値を0.001 mg/L（基準値の1/10）としていたが、定量にあたりベースラインが安定しないため通常はピーク面積を用いているところを今回はピーク高さをを用いた機関や、ベースラインが安定しないためピーク高さをを用いることを検討したいという機関があった。定量下限値が低いため、機器のメンテナンス・安定化に注意する必要がある。

[夏休み子供科学研究室]

科学技術に触れ、関心を高める目的のとやま科学技術週間事業として、「おもしろ化学実験～色って面白い！？～」のテーマで企画し、県内における小学5、6年生8名の参加があった。分離精製の基本となっている手法や化学反応について学び、ペーパークロマトグラフィー（食用色素の分離）、酸・アルカリ試験（植物色素の変化）、炎色反応（液体中の金属の定性）などの化学実験を行った。

環境保健部

【行政検査】

カドミウム汚染地域住民健康調査（神通川流域住民健康調査）

1次検診：昭和54年度から実施してきた環境省（庁）委託の健康調査方式が、平成9年度から新しい方式に改められた。平成17年度は、対象者2,590名中884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以上または尿検査で尿蛋白（±）以上の陽性を示したものの153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103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2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4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、成長期の骨密度増加に影響する要因を明らかにするため、中学2年生女子を対象に、高校3年生までの5年間の骨密度と骨代謝指標等の追跡調査を実施し、中学時と高校時の生活習慣変化と骨密度変化率、骨代謝指標との関連を検討した。

生活習慣を中学時と高校時で比較すると、高校時には運動習慣を有するものの割合、牛乳摂取量、睡眠時間が減少していた。これらの習慣それぞれについて、変化があった群となかった群を比較したところ、高校で運動を止めた群では骨形成指標と高校1年から3年までの骨密度増加率が低値を示した。高校で運動を止めた群には牛乳摂取量が少ない、多様な食品を取るよう考えていないものが多い、という食習慣の問題点があり、これらと運動習慣がなくなったことの両方が影響して骨密度増加率が低値を示したと推測された。また、中学と高校ともに牛乳摂取量が2本未満の群で骨密度増加率が低い傾向を示した。これらのことから、成長期に骨量を増加させるには、牛乳摂取や運動の習慣を形成し、継続することが重要であると考えられた。

肥満遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究

運動量と体重減少との関係を遺伝的および心理的要因を考慮して明らかにすることを目的とする。

BMIが25以上の肥満男性を対象に長期間記録型万歩計（以下ライフコーダ）を用いてウォーキングの歩数と速歩時間の影響を検討したところ、運動習慣のない肥満者では速歩時間の増加が体重減少に寄与する可能性が示された。

ライフコーダを使った運動プログラム参加者が、運動を継続するための励みとした要因を検討したところ、仲間を持つことのほか、運動量を自分で定量的に把握することができるツール（ライフコーダ）を用いることが、運動習慣の形成およびその後の運動継続のために有用であることが明らかとなった。

環境汚染物質の生体影響に関する研究

小学生の尿中アルキルリン酸検出状況：尿中のアルキルリン酸は、アルキルリン酸エステル型の有機リン系農薬グループに共通の代謝物であり、これらの農薬に対する曝露指標として用いられる。これまで、有機リン系農薬に対して職業的な曝露のない一般住民において、年間を通してアルキルリン酸が検出されること、検出率や濃度レベルが季節によって異なることを報告した。今回、小学生218名を対象として尿中アルキルリン酸排泄状況の調査を行った。対象となった小学校は、市街地近郊の田園地帯に近い住宅地に位置する。採尿の時期は4月下旬であり、殺虫剤等が使用される時期ではないが、分析した検体の全てから1種以上のアルキルリン酸が検出され、学童についても成人同様に、有機リン系農薬に対する恒常的な曝露があることが示唆された。

市販のお茶飲料および中国茶葉浸出液中のフッ素濃度：1996年から2002年の富山大学医学部および中国内モンゴル医学院との共同研究により、内モンゴル自治区の草原地域において、飲料水（井戸水）と常飲されているタン茶浸出液中のフッ素濃度が高いことを見出した。日本では、お茶飲料が数多く市販されており、またインターネットによ

て中国の茶葉を容易に購入できることから、これらのフッ素濃度調査を行った。市販されていたお茶飲料のフッ素濃度は、烏龍茶（16検体）が最も高く、平均1.13mg/l、続いて緑茶（30検体）0.92mg/l、紅茶（7検体）0.70mg/l、であった。茶葉の使われていない麦茶やそば茶からはフッ素は検出されなかった。インターネットを使って集めた中国茶葉の浸出液中のフッ素濃度は、烏龍茶（6検体）の平均1.09mg/l、紅茶（6検体）0.90mg/l、緑茶（4検体）は0.81mg/lであった。タン茶と同じ種類とされている黒茶（プーアール茶を含む9検体）では0.84mg/lであった。

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）に関する研究
神通川流域のカドミウム汚染地域において、平成9年度以降、新方式により行われた住民健康調査の調査データと、昭和60年度から平成8年度までに、昭和51年方式により環境省（庁）委託事業および富山県単独事業として行われた住民健康調査データについて、集計・解析し取りまとめている。

（環境省カドミウム汚染地域住民健康影響調査検討会にて検討中）

濃縮海洋深層水のスキンケア利用に関する皮膚科学的研究

これまで濃縮海洋深層水を用いた「浮遊浴」の健康増進効果について調査研究を行ってきたが、濃縮深層水の「浮遊浴」のモデルである「死海」では、乾癬やアトピー性皮膚炎などの療養に利用されている。そこで、人間の皮膚に構造上の類似点の多い仔豚を使用して濃縮海洋深層水の抗アレルギー・抗炎症効果を検討した。

平成17年度は、「仔豚皮膚を用いた濃縮海洋深層水成分の皮膚浸透性と抗炎症作用に関する実験的研究」を行った。仔豚の濃縮海洋深層水温浴実験に先立ち、モルモットを用いて予備実験を行い、3時間の温浴と実験的に接触性皮膚炎を起こす方法を確立した。実験的に炎症を誘発した仔豚を濃縮海洋深層水の温浴に浸漬し、含有元素の皮膚浸透性について検討を行った。富山県農業技術センター畜産試験場で産出飼育された4週令の仔豚に1-クロロ2,4-ジニトロベンゼン（DNCB）を皮内注射し、1週間後に再度皮内注射し、2週間後にDNCBを染み込ませた綿を接触させることにより接触皮膚炎を惹起させた。炎症を起こした仔豚を3群に分け、塩分濃度15%および30%の濃縮海洋深層水と蒸留水の温水37°Cに2時間浸漬した。温浴後、直ちに皮膚組織（炎症部位と非炎症部位）を採取し、組織学的観察とイオン質量分析装置（SIMS、イオン顕微鏡）測定を行った。組織学的観察では、炎症部位では真皮層に細胞浸潤が顕著であったが、温浴後の蒸留水群と濃縮海洋深層水群に組織学的な差は認められなかった。これまでの炎症部位のSIMSによるイオン濃度測定では、濃縮海洋深層水群の表皮および真皮中のNa、K、Mg、Caは蒸留水群に比べて著しく高く、これらの元素の皮膚浸透性が明らかとなった。濃縮海洋深層水群のCuは表皮に高いなど、元素によって分布の違いがみられた。

（富山大学、農業技術センター畜産試験場との共同研究）

(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	10,382 (62,292)	
	染色体検査	57 (57)	101 (101)
	衛生動物検査	3,228 (8,584)	77 (82)
	小 計	13,667 (70,933)	178 (183)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	419 (419)	17 (17)
	血清学的検査	1,205 (2,684)	
	小 計	1,624 (3,103)	17 (17)
細 菌 部	感染症にかかわる検査	372 (656)	
	食中毒にかかわる検査	151 (412)	
	食品検査	318 (368)	
	水質検査	361 (774)	1 (2)
	医薬品検査		16 (32)
	小 計	1,202 (2,210)	17 (34)
化 学 部	食品にかかわる検査	148 (2,658)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	152 (1,779)	76 (641)
	温泉分析	26 (480)	14 (407)
	小 計	341 (4,937)	90 (1,048)
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	993 (3,409)	
	小 計	993 (3,409)	

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	10,382 (62,292)	1. 染色体検査	
2. 染色体検査		(1) 血液	21 (21)
(1) 血液	44 (44)	(2) 羊水	60 (60)
(2) 羊水	11 (11)	(3) 胎児	20 (20)
(3) 胎児	0 (0)		0 (0)
(4) 皮膚組織	2 (2)	2. 衛生動物等検査	
3. 衛生動物等検査		(1) 衛生・不快動物	67 (70)
(1) 衛生・不快動物	3,224 (8,579)	(2) 食品混入異物	10 (12)
(2) 食品混入異物	4 (5)		

ウ イ ル ス 部

[行政検査]		[一般依頼検査]	
1. 感染源検査		1. 感染源調査	
(1) インフルエンザ	136 (136)	(1) その他ウイルス	17 (17)
(2) ポリオ	81 (81)		
(3) その他ウイルス	111 (111)		
(4) リケッチア, その他	4 (4)		
(5) 食中毒	87 (87)		
	419 419		
2. 血清学的検査			
(1) インフルエンザ ヒト	295 (1180)		
(2) ポリオ	295 (885)		
(4) 日本脳炎	340 (340)		
(4) エイズ	248 (248)		
(5) その他のウイルス	22 (26)		
(6) リケッチア, その他	5 (5)		
	1205 2684		

細菌部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査		
(1) 赤痢菌	4 (14)
(2) 腸管出血性大腸菌	85 (340)
(3) レジオネラ	22 (32)
(4) 溶連菌	252 (258)
(5) 結核菌	8 (9)
(6) 破傷風菌	1 (3)
2. 食中毒にかかわる検査		
(1) サルモネラ	9 (18)
(2) 病原大腸菌	110 (330)
(3) カンピロバクター	32 (64)
3. 食品検査		
(1) 収去検査	57 (57)
(2) その他	261 (311)
4. 水質検査		
(1) 海水	104 (110)
(2) 海水浴場	130 (156)
(3) 水道水源水	66 (198)
(4) 深層水	40 (248)
(5) 名水	10 (50)
(6) 水道水	1 (2)
(7) 浴槽水	10 (10)

[一般依頼検査]

1. 水質検査		
(1) 飲料水	1 (2)
1. 医薬品検査		
(1) 経口服液	16 (32)

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	54 (237)
(2) 残留農薬	44 (2,271)
(3) 重金属類	50 (150)
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	2 (40)
(2) 管理目標設定項目	44 (708)
(3) 要検討項目	45 (390)
(4) ゴルフ場使用農薬	21 (290)
(5) その他	42 (351)
4. 温泉分析		
(1) 中分析	11 (330)
(2) その他	15 (150)

[一般依頼検査]

1. 水質検査		
(1) 水質基準項目	18 (119)
(2) 管理目標設定項目	4 (100)
(3) ゴルフ場使用農薬	21 (290)
(4) その他	33 (132)
3. 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	884 (1,768)
精密検診 尿、血液検査	103 (1,545)
(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診		
尿、血液検査	2 (32)
(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	4 (64)

[一般依頼検査]

(10) 科学研究費補助金

平成17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
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態調査	がん研究部 ウイルス部	渡辺 護 小原真弓	厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 研究協力者
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 知的クラスター創成事業
食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究	細菌部	田中大祐	厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 研究協力者
キラル配位子交換法の新展開－ボロスピラン形成に基づく光学分割法の開発	化学部	小玉修嗣	文部科学省 基盤研究C 研究代表者
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
遺伝的素因と心理的モチベーションを考慮した運動習慣確立のための支援プログラム開発	環境保健部	長瀬博文	文部科学省 基盤研究C 研究代表者
西ジャワ農村部における水系の化学物質汚染と学童の健康に関する人類生態学的調査	環境保健部	新村哲夫 中崎美峰子	文部科学省 基盤研究B（海外学術調査） 研究分担者

(11) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
地域看護学概論（公衆衛生学）	長瀬博文	富山県総合衛生学院保健学科講義	平17.4.12	富山県総合衛生学院
A型・E型肝炎ウイルスについて	堀元栄詞	学校栄養職員研修会	平17.5.10	富山県総合教育センター
海洋深層水温浴と健康	新村哲夫	国保健康講座「温泉と健康」	平17.5.28	明治安田生命ホール（富山市）
地域保健指導論（成人保健）	長瀬博文	富山県総合衛生学院保健学科講義	平17.6.3, 17.24	富山県総合衛生学院
近年の日本脳炎の状況	小原真弓	指定獣医師研修会	平17.6.7	富山県民会館
環境有害物質の健康への影響について	新村哲夫	きらめきエンジニア事業	平17.6.28	富山県立福岡高校
情報機器の操作（SPSS）	新村哲夫	富山県総合衛生学院保健学科講義	平17.7.7～11. 24年4回	富山県総合衛生学院

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
ノロウイルスの脅威とその対策	堀元栄詞	平成17年度第1回調理員研修会	平17. 7. 26	富山市役所
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17. 9. 9	富山県安全衛生教育センター研修室
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17. 9. 30	富山県安全衛生教育センター研修室
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17.10.26～ 平18.1.16 週1回	富山県総合衛生学院
ウイルスの特性について	堀元栄詞	富山県消防学校救急科救急標準課程	平17.11.18	富山県消防学校
地域看護学研究（高齢者の運動習慣に関連する要因）	長瀬博文	富山県総合衛生学院保健学科実習	平17.11.28～ 平18.2.24 年数回	富山県総合衛生学院
保健・医療・福祉と介護の制度－障害者・高齢者医療－	長瀬博文	富山大学医学部医学科4年生講義	平18. 1. 19	富山大学医学部医学科
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18. 1. 21	富山県安全衛生教育センター研修室
海洋深層水および濃縮水の温浴による健康作用	新村哲夫	富山湾に学ぶ会	平18. 1. 21	とやま市民交流館
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18. 1. 31	富山県総合衛生学院
劇症型溶レン菌感染症患者から分離された A 群 <i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	田中大祐	平成17年度希少感染症診断技術研修会	平18. 2. 17	国立感染症研究所
ウイルス・細菌の基礎知識	滝澤剛則 磯部順子	平成17年度特殊災害科授業 <生物の基礎知識>	平18. 2. 17	富山県消防学校
地域看護学研究報告会	長瀬博文 新村哲夫	富山県総合衛生学院保健学科講義	平18. 2. 28	富山県総合衛生学院

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
環境科学センター 水質課 中山将人	平17.6.19～6.21	LC/MS/MS によるゴルフ場使用農薬検査法	化学部
南砺総合福光高校生徒	平17.12.12	遠隔授業の実施 先天代謝異常マス・スクリーニングについて	がん研究部
中国国家実験室 Hou Xiaohui 北京市 CDC Zhang Herun	平18.3.22～24	環境水ウイルス調査	ウイルス部
富山市保健所 柴山直美 中川和歌子	平18.3.22 ～3.24 平18.3.27 ～3.29	GC/MS 測定法を用いた魚介類中の有機スズ化合物の分析	化学部
高岡厚生センター受入れ 臨床研修医	平17.6.30～ 平18.2.14	HIV 等検査 腸炎ビブリオ汚染実態調査に関する検査	ウイルス部 細菌部

(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
田中 大祐	平17.4.26 平17.5.28	富山県院内感染対策担当者 (TICS) 養成研修	富山医科薬科大学 附属病院	富山医科薬科大学 医学部感染予防医学 助教授 安岡 彰 他
長谷川 澄代 堀元 栄詞 小原 真弓 磯部 順子 田中 大祐	平17.7.7 ~7.8	衛生微生物技術協議会 第26回研究会	福井県国際交流会 館 (福井市)	国立感染症研究所 所長 倉田 毅 他
堀元 栄詞	平17.7.27 ~7.30	生命工学トレーニングコース 遺伝子工学・基礎技術	金沢大学学際科学 実験センター (金沢市)	金沢大学 教授 山口和男 他
本田 幸子 林 美貴子	平17.8.27 ~8.28	日本人類遺伝学会 第12回臨床細胞遺伝学セミナー	家の光会館 (東京都)	東京医科歯科大学 池内達郎 他
木全 恵子	平17.10.25 ~11.19	特別課程 細菌コース	国立保健医療科学 学院	国立感染症研究所 感染症情報センター第 5室長 伊藤健一郎 他
堀元 栄詞	平17.11.2	平成17年度動物由来感染症対策 (狂 犬病予防含む) 技術研修会	JA ホール (東京都)	厚生労働省 滝本浩司
小原 真弓	平17.12.1 ~12.2	地方衛生研究所地域ブロック研修会	名古屋市衛生研究 所 (名古屋市)	国立感染症研究所 ウイルス第一部 高崎智彦 他
新村 哲夫	平17.12.7	放射線取扱主任者定期講習	(財)原子力安全 技術センター	
滝澤 剛則 清水美和子	平18.2.16 ~2.17	平成17年度希少感染症診断技術研修 会	国立感染症研究所 戸山庁舎	国立感染症研究所・ウ イルス第一部 高崎講 師 他
磯部 順子 嶋 智子 清水美和子	平18.2.24	平成17年度臨床衛生検査研修会	サンシップとやま	国立感染症研究所 ウイルス第一部第5室 安藤秀二

(14) 客員研究員

客員研究員氏名	所属職名	招へい期間	指導内容等
沢 辺 京 子	国立感染症研究所 昆虫医科学部第二室長	平17.7.26～28	蚊からのフラビウイルス分離法

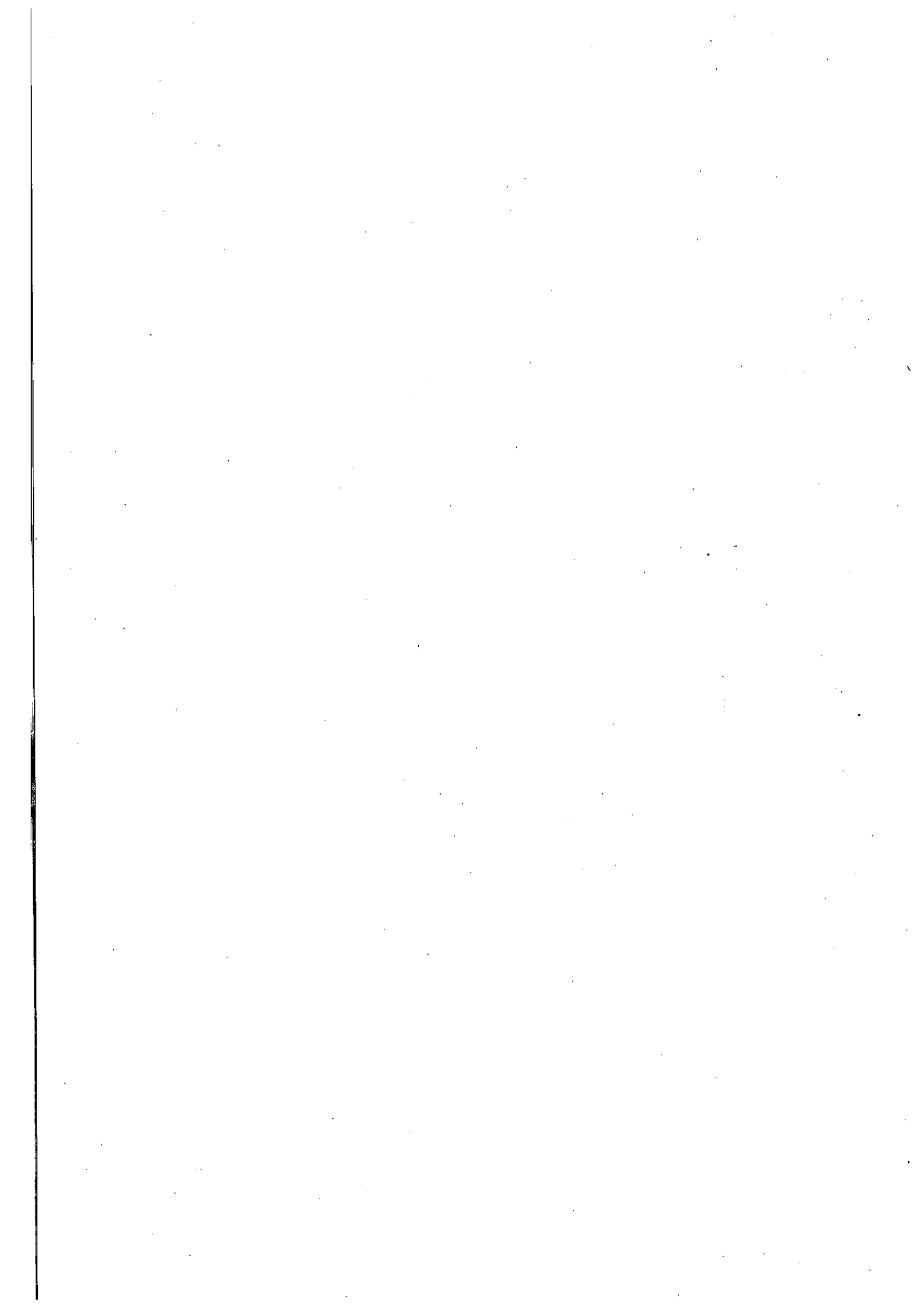
(15) セミナーの開催

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

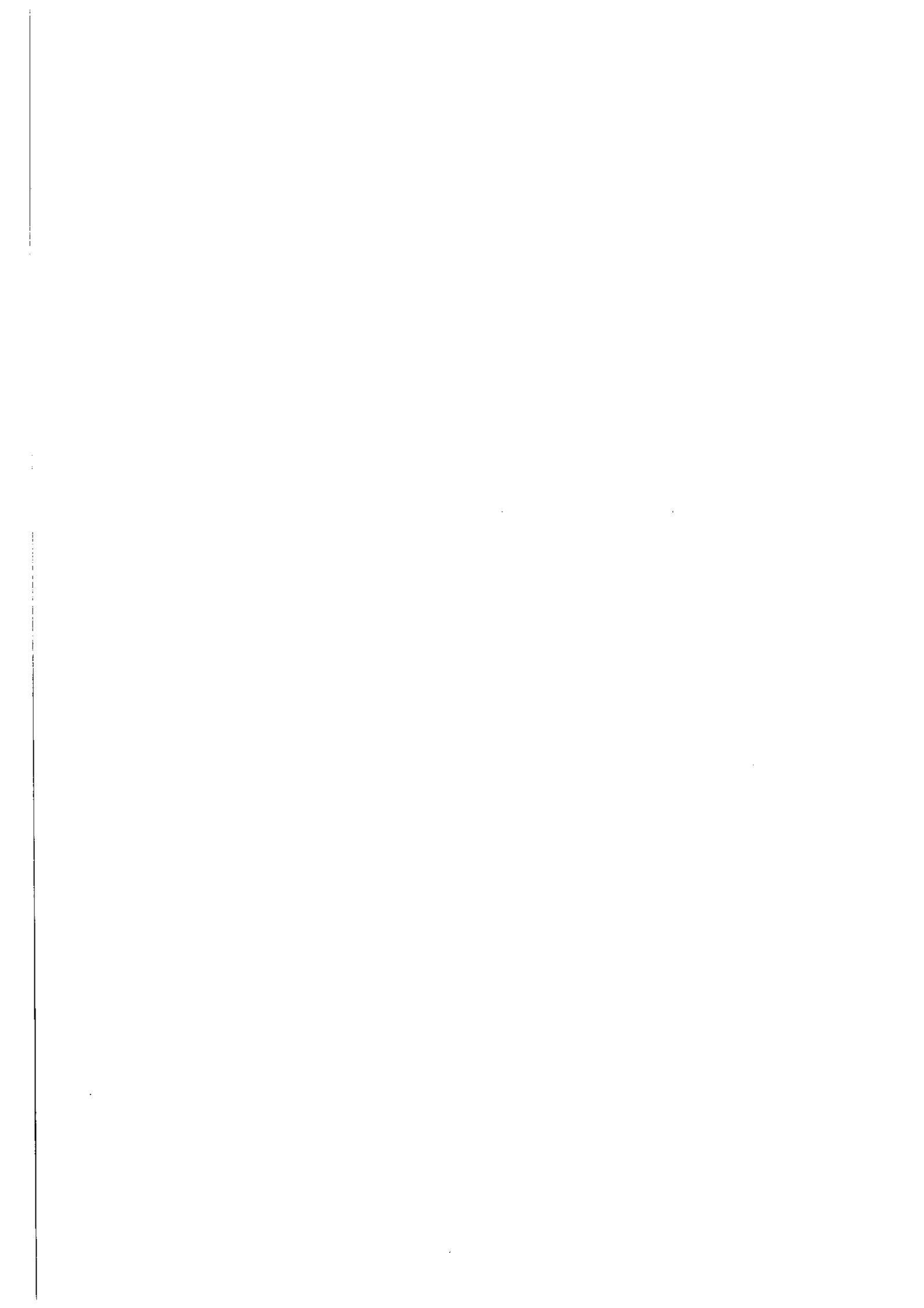
演 題	講師氏名	所属職名	年月日
昆虫からの病原微生物の検出・分離法と蚊の吸血源同定法の実際	沢辺 京子	国立感染症研究所 昆虫医科学部第二室長	平17.7.27

(16) 各種規定等

名 称	施 行	最終改訂
放射線障害予防規定	昭和44年 8月 1日	
病原体等安全管理規定	平成10年 4月 1日	平成17年 7月 1日
毒物及び劇物取扱い規定	平成11年 4月 1日	平成12年12月15日
実験動物管理運営規定・動物実験施設利用規定	昭和59年 4月 1日	平成14年 9月 1日
研究評価実施要領	平成15年 5月28日	
倫理審査委員会設置要綱	平成15年 5月28日	
組換えDNA実験安全管理規定	平成15年 9月18日	



2. 調查研究報告



富山県における新生児マス・スクリーニングの成果について (平成17年度の検査成績)

九曜雅子 米田 豊 松澤孝信 石丸敏子¹

Results of the Neonatal Mass-Screening in Toyama Prefecture
(April 2005~March 2006)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takanobu MATSUZAWA and Toshiko ISHIMARU¹

要旨 平成17年度の検体総数は10,382件で、スクリーニングの結果、クレチン症の患者が13人とテトラヒドロピオプテリン (BH4) 反応性高フェニルアラニン血症の患者が1人発見された。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29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、ホモシスチン尿症0人、ガラクトース血症0人、ヒスチジン血症3人)、先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症) が26年間で109人、先天性副腎過形成症が17年間で12人となった。また、その他の疾病については、今年度までに、高フェニルアラニン血症11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2人、シトリン欠乏症2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、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実施している。平成17年度のスクリーニング結果について報告する。

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17年4月より、平成18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迅速分析法 (6分法) で測定した[1,2]。

②ガラクトース血症

Microplate・酵素法 (バイエルメディカル社製キット「GAL-R」使用) により、濾紙血中のガラクトースを測定した。ガラクトースの抽出には、トランスファープレートを使用する改良法[3]を用いた。また、全検体について、自家調製試薬[4]による Beutler 法で、Galactose-1-phosphate uridyl transferase 活性の有無を検査した。なお、判定用の濾紙は、短時間でも判定可能である Watman D E81を使用した[5]。

③先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)

ELISA (栄研化学社製キット「クレチン TSH ELISA II 栄研」) 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

平成17年9月までは、バイエルメディカル社製キッ

1 富山県厚生部健康課

ト「エンザプレート Neo-17 α -OHP」使用し、ELISAによる17-OHP (17- α -hydroxy progesterone) 値の測定を行った。同年10月からは、栄研化学社製キット「17-OHP D-ELISA'栄研'II」を使用した。

(3) 検体のサンプリング

栄研化学社製血液濾紙自動パンチャー「RP-96」で、検体をマイクロプレートにサンプリングした。

(4) 判定基準

表1に示した。

先天性副腎過形成症マス・スクリーニングにおいては、使用キットの変更に伴い、抽出法での疑陽性判定基準値を3.5ng/ml以上(4月-9月)から、3.0ng/ml以上(10月-)に変更した。

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[6]を用いた。

結 果

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、10,382件で、県内45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9,079人であり、初回検体数9,827件(人)から計算すると受検率は108.2%となるが、初回検体のうち県内在住者は8,472人、県外在住者は1,355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93.3%であった。また、県内在住者が他県で受検するケースも考えられるため、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

初回検体のうち9,370件(95.3%)は正常と判定されたが、251件(2.6%)は疑陽性のため、197件(2.0%)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、9件(0.09%)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555件のうち、32件(5.8%)は要精検と判定され、直接精査分と合わせ、計41件が

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	緊急に精密検査が必要
フェニルケトン尿症	HPLC	Phenylalanine (Phe)	$\geq 2.0\text{mg/dl}$	
ホモシスチン尿症	HPLC	Methionine (Met)	$\geq 1.0\text{mg/dl}$	
メイプルシロップ尿症	HPLC	Leucine (Leu)	$\geq 3.0\text{mg/dl}$	$\geq 7.0\text{mg/dl}$
ガラクトース血症	Microplate 酵素法	Galactose (Gal)	$\geq 3.0\text{mg/dl}$	Gal 3.0mg/dl 以上でポイトラー法で蛍光がない
	ポイトラー法	Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	蛍光がない	
先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)	ELISA	Thyroid-Stimulating Hormone (TSH)	$\geq 8.0\mu\text{U/ml}$	$\geq 30\mu\text{U/ml}$
先天性副腎過形成症	ELISA	17- α -Hydroxy Progesterone (17-OHP)	直接法 $\geq 10\text{ng/ml}$ 抽出法 (H17.4-9) $\geq 3.5\text{ng/ml}$ (H17.10-) $\geq 3.0\text{ng/ml}$	直接法10ng/ml 以上で何らかの症状がある

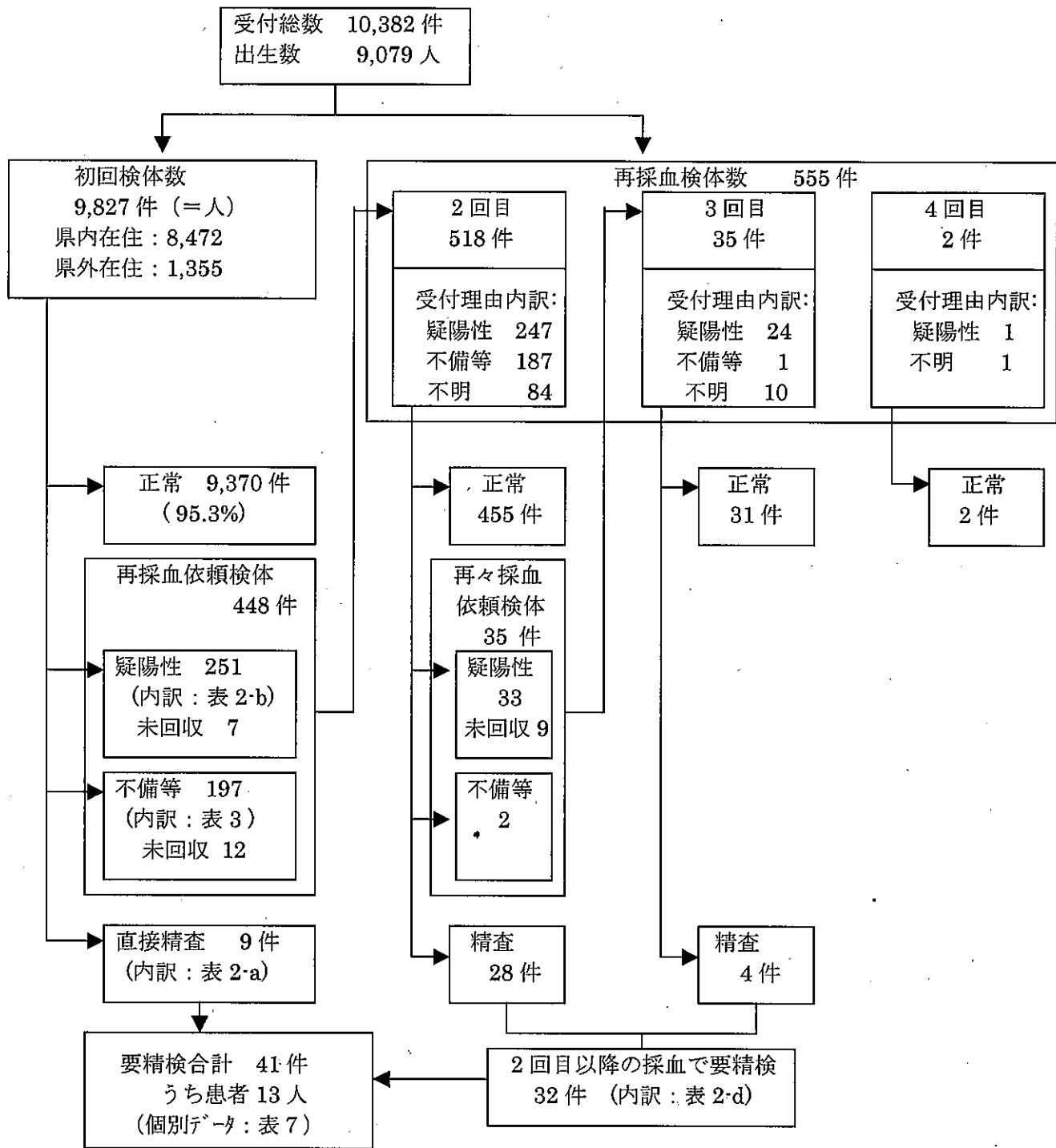


図1. 検査の流れおよび検査件数の概要

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0.32%，クレチン症は1.26%および副腎過形成症は1.18%となり，合計2.76%であった。なお，現在再採血率の目安は代謝異常症4疾患で0.5%程度，クレチン症は0.5～1.0%，副腎過形成症は0.3～0.5%で6項目合わせて2%程度が適当とされて

いる[7]。副腎過形成症の再採血率が高い傾向が見られたが，表2に示したように再採血を必要とした児の約半数が2,000g以下の低出生体重児であった。

また，1検体で2疾患が同時に疑陽性となった検体が3件あった。これらは，クレチン症と副腎過形成症，メイプルシロップ尿症とクレチン症，メイプルシロップ尿症とガラクトース血症の2項目同時疑陽性で，それぞれ1件ずつであった。

表2. 疑陽性による再採血依頼数および要精密検査検体数の内訳

	採血回数					総受付検体		
	初回			2回以上		要精密検査計 〔患者数〕 (f)=(a)+(d)	疑陽性 総件数 (g)=(b)+(e)	再採血率 (%) (h)
	直接精査 (a)	疑陽性による 再採血依頼数 (b)	再採血率 (%) (c)	要精密検査数 (d)	疑陽性による 再採血依頼数 (e)			
フェニルケトン尿症	0	4	0.04	3	0	3	4	0.04
ホモシスチン尿症	0	0	0.00	1	1	1	1	0.01
メイプルシロップ尿症	0	3	0.03	0	2	0	5	0.05
ガラクトース血症	1	21	0.21	3	2	4	23	0.22
クレチン症	4	124	1.26	22	7	26〔13〕	131	1.26
副腎過形成症 (うち低体重児数)	4 (2)	101 (47)	1.03	4 (3)	22 (18)	8 (5)	123 (65)	1.18
合計 《うち2疾患以上の重複数》	9	253 《2》	2.57	33 《1》	34 《1》	42〔13〕 《1》	287 《3》	2.76

〔 〕：患者数

表3. 疑陽性以外の理由による再採血依頼

不備理由	初回検定のみ	総受付検体
3日以内に採血	3	3
血液量不足	4	4
古い	12	12
哺乳不良	19	21
低体重、3日以内に採血	1	1
低体重、古い	1	1
低体重、哺乳不良	5	5
低体重	152	152
合計	197	199

疑陽性のため再採血を依頼した件数は合計287件で、そのうち、平成18年6月末現在271件が再採血され、その回収率は94.4%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、病院で再検査された例が2件あった。その他の未回収検体は、すべてNICUや小児科からの送付された検体であり、これらについては医療機関でフォローアップ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。3日以内に採血された検体が3件、血液が不足している検体が4件、採血後日数が経ち過ぎている古い検体が12件(最長15日)あった。年末年始等の長期の休みとなる場合には、採血医療機関に対し、事前に文書で検体の取り扱いの要領を通知しているが、年末年始

期間以外でも、採血後検体を冷蔵庫に保管し、そのまま送付し忘れたケースがほとんどであった。また、採血後すぐに郵送されたはずの検体は何らかの事情で10日以上経って届いたケースもあった。そのため、検体送付と受け取りの確認に、簡易書留郵便を利用している医療機関が2か所となった。

2,000g以下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159件に対して再採血を依頼した。このうち哺乳不良が5件あった。また、哺乳不良のみの検体は21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199件で、このうち再検査できたのが187件(回収率94.0%)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[8,9,10]より数を訂正し引用した。富山県における現在までの患者発見率は、検査対象の代謝異常症が1/8,600、クレチン症が1/2,700、副腎過形成症が1/15,100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<0.01)。

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33人、クレチン症が131人、先天性副腎過形成症が123人であり、そのうち、それぞれ8人、25人、8人に精密検査の必要が認められた。初回検査で精密検査が必要と認められた9人の内訳は、ガラクトース血症疑い1人、クレチン症

表4. 月別検査実施状況

年	平成17年									平成18年			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
受付検体総数(件)	831	899	833	860	974	887	867	793	748	963	799	928	10,382	
内 訳	初回検査数(件)	775	842	783	812	916	849	830	765	698	914	759	884	9,827
	再採血総数(件)	56	57	50	48	58	38	37	28	50	49	40	44	555
	再採血内訳													
	2回目	51	55	49	46	52	37	33	24	45	45	39	42	518
3回目	5	1	1	2	6	1	4	4	5	3	1	2	35	
4回以上	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	
疑陽性件数 (要精検数)	フェニルケトン尿症	0	1	0	1(1)	0	0	0	0	1(1)	0	1(1)	0	4(3)
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)	0	0	0	1(1)
	メイプルシロップ尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	5
	ガラクトース血症	3	4(1)	1	0(1)	2	2	0	1	1	3	2	4(2)	23(4)
	クレチン症	13(3)	13(2)	6(2)	7	8	21(3)	8(2)	11(1)	11(3)	15(2)	8(2)	10(6)	131(26)
副腎過形成症	17(1)	16	15(1)	12(1)	6	15	3(1)	8	8(3)	7	6	10(1)	123(8)	
計	33(4)	34(3)	22(3)	20(3)	16	38(3)	11(3)	20(1)	23(8)	26(2)	19(3)	25(9)	287(42)	

表5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分	受付総数 (件)	検査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数			要精検数		
					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 ～10年度	115,700	107,942	102,049	105.8	2,009	1,590	846	112(7)	284(37)	171(11)
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)
平成16年度	10,582	10,003	9,168	109.1	30	112	90	4(0)	16(4)	7(0)
平成17年度	10,382	9,827	9,079	108.2	33	131	123	8(0)	26(13)	8(0)
計	345,693	325,385	317,253	—	4,378*	3,322	1,652	239*(38**)	578(109)	257(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17人あり(高フェニルアラニン血症11人, チロジン血症2人, G6PD 異常症2人, シトリン欠乏症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	富 山 県				全 国	
	平成17年度		昭和52年度～平成17年度		昭和52年度～平成16年度	
期 間	9,827人		325,385人		35,658,043人	
受検者数	9,827人		325,385人		35,658,043人	
患者数, 発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
疾病名						
フェニルケトン尿症	0		4	1/ 81,300	463	1/ 77,000
ホモシスチン尿症	0		0		180	1/ 198,100
ヒスチジン血症	—		33	1/ 6,000 ¹⁾	2,200	1/ 9,600 ⁹⁾
メイプルシロップ尿症	0		1	1/ 325,400	70	1/ 509,400
ガラクトース血症	0		0		983	1/ 36,300
クレチン症	13	1/ 800	109	1/ 2,700 ²⁾	8,924	1/ 3,600 ⁵⁾
先天性副腎過形成症	0		12	1/ 15,100 ³⁾	1,206	1/ 17,200 ⁶⁾

- 1) 昭和52年度～平成 5年度 受検者数 197,180人 4) 昭和52年度～平成 4年度 受検者数 21,119,892人
 2) 昭和55年度～平成17年度 受検者数 296,935人 5) 昭和54年度～平成16年度 受検者数 32,326,764人
 3) 平成元年度～平成17年度 受検者数 181,500人 6) 昭和63年度～平成16年度 受検者数 20,793,857人

疑い4人, 先天性副腎過形成症疑い4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。クレチン症の患者と診断されたのは、クレチン症の疑いの症例1, 2, 3, 6, 7, 10, 12, 15, 17, 19, 23, 25 および先天性副腎過形成症の疑いとして要精検となった症例7の13人であった。この他に、フェニルケトン尿症疑いの症例2は高フェニルアラニン血症と診断された。

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うシステムをとっている。この回収率は、82.9% (34例/41例)であった。回収できなかった7例のうち5例は、経過観察中で、当所でフォローアップ検査を行なっている。なお、表7には、主治医が報告した診断名を示した。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで3人、ホモシスチン尿症の疑いで1人、ガラクトース血症の疑いで4人が要精密検査となった。フェニルケトン尿症の疑いの症例2は、尿のプテリン化合物分析、BH4負荷テストを行った結果、BH4反応性高フェニルアラニン血症[11]と診断され、定期的にフォロー中である。

(2) クレチン症

要精密検査となった25人のうち、初回検査で TSH

値が異常高値で直接精査となった4人はいずれも患者と診断された。

症例1は、初回検査では正常であったが、低出生体重児のため再採血され検査した結果 TSH 値が上昇しており、精密検査の結果、患者と診断されている。症例4は、検査結果を医療機関に報告した時点では、すでに治療中であった。医療機関で実施された検査の結果が TSH 高値であったためであるが、診断はまだ確定していない。

症例6は、母親が後天的な甲状腺機能低下症で治療中であったことから、医療機関で、ベビーの甲状腺機能検査を実施した結果、TSH の異常高値が認められたため、日齢5で直ちに治療開始されていた。症例23は、平成14年生まれの姉もクレチン症と診断されており、日齢16から治療が開始された。

(3) 副腎過形成症

要精検となった8人のうち、2,000g 以下の低出生体重児は、5人であった。

症例7は、初回検査では17-OHP が高値で要再検となり、日齢30で再検査を実施した結果、さらに17-OHP 値は上昇し、TSH も異常高値となったため要精密検査となった。精密検査の結果、TSH26.6 μU/ml, FT₄ 0.9ng/dl となり、クレチン症として治療が開始された。副腎過形成症の疑いについては、症状が認められず、低出生体重児であることから経過観察されて

表7. 要精検患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
フェニルケトン尿症	1	女	6	Phe 2.32 mg/dl 2.08	一過性軽度高フェニルアラニン血症疑い
			10	Phe 2.50 mg/dl 2.40 2.12	
	2	女	5	Phe 5.34 mg/dl 4.6	BH4反応性高フェニルアラニン血症
			9	Phe 5.81 mg/dl 6.21 5.71	
	3	女	5	Phe 2.73 mg/dl 2.295	一過性高フェニルアラニン血症の疑い
			11	Phe 2.29 mg/dl 2.04 2.105	
ホモシチン尿症	1	女	6	Met 0.38 mg/dl	乳児一過性高メチオニン血症疑い
			24	Met 1.13 mg/dl 0.9	
			32	Met 1.29 mg/dl 1.33	
ガラクトース血症	1	男	5	Gal 3.95 mg/dl ボイトラー法正常 3.88	異常なし
			12	Gal 4.54 mg/dl ボイトラー法正常 4.69 4.15	
	2	女	5	Gal 4.76 mg/dl ボイトラー法蛍光無 5.2	異常なし
	3	女	6	Gal 7.76 mg/dl ボイトラー法正常 8.78	経過観察中
			13	Gal 17.49 mg/dl ボイトラー法正常 18.3	
	4	女	6	Gal 3.42 mg/dl ボイトラー法正常 3.38	異常なし
			13	Gal 4.27 mg/dl ボイトラー法正常 4.49 4.50	
	クレチン症	1*	女	4	TSH 3.8 μ U/ml
40				TSH 18.8 μ U/ml 20.75	
49				TSH 41.5 μ U/ml 38.25	
2*		女	4	TSH 23.2 μ U/ml 22.4	クレチン症
			12	TSH 62.1 μ U/ml 58.2	
3*		女	5	TSH 346 μ U/ml以上	クレチン症
4		男	5	TSH 13.5 μ U/ml 16.0	高TSH血症、クレチン症の疑い
			14	TSH 21.8 μ U/ml 21.7 23.7	
5		男	7	TSH 15.5 μ U/ml 14.75 11.1	高TSH血症
			23	TSH 10.25 μ U/ml	

表7. 要精検患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
					9.65 9.5	
クレチン症	6*	男	5	TSH 104.8	$\mu\text{U/ml}$	クレチン症
	7*	男	5	TSH 10.6	$\mu\text{U/ml}$	クレチン症
			13	TSH 20.95	$\mu\text{U/ml}$	
				11.7 22.0		
	8	女	11	TSH 10.0	$\mu\text{U/ml}$	乳児一過性高TSH血症疑い
			21	TSH 21.3	$\mu\text{U/ml}$	
				22.15		
	9	男	5	TSH 11.9	$\mu\text{U/ml}$	異常なし
				12.35		
			8	TSH 13.2	$\mu\text{U/ml}$	
				16.95		
	10*	男	4	TSH 10.25	$\mu\text{U/ml}$	クレチン症
				8.9		
			13	TSH 17.2	$\mu\text{U/ml}$	
				16.4 18.7		
	11	男	6	TSH 11.3	$\mu\text{U/ml}$	一過性甲状腺機能低下症
				13.0		
			12	TSH 16.25	$\mu\text{U/ml}$	
			14.5			
12*	女	5	TSH 128.1	$\mu\text{U/ml}$	クレチン症	
13	女	5	TSH 9.25	$\mu\text{U/ml}$	一過性高TSH血症	
			9.55			
		17	TSH 11.3	$\mu\text{U/ml}$		
			11.0 10.3			
14	女	5	TSH 11.9	$\mu\text{U/ml}$	異常なし	
			9.85			
		13	TSH 21.3	$\mu\text{U/ml}$		
			20.95 20.15			
15*	男	5	TSH 16.4	$\mu\text{U/ml}$	先天性甲状腺機能低下症	
			14.9			
		9	TSH 9.15	$\mu\text{U/ml}$		
			8.2			
		23	TSH 9.85	$\mu\text{U/ml}$		
			9.6 12.75			
16	女	5	TSH 9.2	$\mu\text{U/ml}$	経過観察中	
			11.95			
		12	TSH 10.3	$\mu\text{U/ml}$		
			10.4 9.55			
17*	男	5	TSH 11.2	$\mu\text{U/ml}$	クレチン症	
			9.6			
		9	TSH 9.9	$\mu\text{U/ml}$		
			9.8			
18	男	7	TSH 10.0	$\mu\text{U/ml}$	一過性高TSH血症	
			12.1			
		11	TSH 27.1	$\mu\text{U/ml}$		
			27.3			

表7. 要精検患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
クレチン症	19	*	男	5	TSH 11.3 μ U/ml 11.3	クレチン症
				12	TSH 25.6 μ U/ml 29.05	
	20		男	6	TSH 8.5 μ U/ml 8.1	経過観察中
				15	TSH 12.7 μ U/ml 13.15	
	21		男	5	TSH 8.9 μ U/ml 8.5	
				13	TSH 17.65 μ U/ml 20.0	
	22		男	5	TSH 15.3 μ U/ml 12.0	一過性高TSH血症疑い
				13	TSH 9.0 μ U/ml 8.95	
				28	TSH 13.95 μ U/ml 15.1 13.4	
	23	*	男	5	TSH 58.3 μ U/ml 47.3	クレチン症
	24		女	5	TSH 24.6 μ U/ml 27.3	一過性高TSH血症疑い
				8	TSH 17.75 μ U/ml 18.1 15.1	
25	*	男	5	TSH 10.9 μ U/ml 9.6	クレチン症	
			12	TSH 12.5 μ U/ml 12.95 11.3		
先天性副腎過形成症	1		男	5	17-OHP 9.2 ng/ml 17-OHP 6.75ng/ml 直接法 7.15 抽出法	異常なし 在胎週数 38 週 生下時体重 3426 g
				9	17-OHP 14.0 ng/ml 17-OHP 7.8 ng/ml 直接法 14.6 抽出法 13.7	
	2		男	13	17-OHP 直接法 2.6 ng/ml	在胎週数 29 週 生下時体重 1577 g
				41	17-OHP 15.8 ng/ml 17-OHP11.45ng/ml 直接法 15.05 抽出法	
	3		男	4	17-OHP 16.7 ng/ml 17-OHP11.05ng/ml 直接法 15.75 抽出法	経過観察中 在胎週数 36 週 生下時体重 2200 g
	4		男	8	17-OHP 28.6 ng/ml 17-OHP19.7 ng/ml 直接法 38.25 抽出法 35.7	経過観察中 在胎週数 30 週 生下時体重 1420 g
5		男	8	17-OHP 10.05ng/ml 17-OHP 2.25ng/ml 直接法 10.5 抽出法	異常なし 在胎週数 30 週 生下時体重 1497 g	
			43	17-OHP 22.4 ng/ml 17-OHP 3.15ng/ml 直接法 23.05 抽出法 22.7		
6		男	2	17-OHP 25.25ng/ml 17-OHP12.4 ng/ml 直接法 27.5 抽出法	経過観察中 在胎週数 35 週 生下時体重 2264 g	

表7. 要精検患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	7	*	女	7	17-OHP 22.75ng/ml 17-OHP 6.35ng/ml 直接法 24.3 抽出法 TSH 7.7 μ U/ml 7.9	クレチン症 在胎週数 29 週 生下時体重 1026 g
				30	17-OHP 73.4 ng/ml 17-OHP 17.2 ng/ml 直接法 76.85 抽出法 TSH 36.65 μ U/ml 37.5	
	8		男	5	17-OHP 43.0 ng/ml 17-OHP 22.2 ng/ml 直接法 40.4 抽出法	早産児(経過観察中) 在胎週数 32.1 週 生下時体重 1908 g

いる。

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

今年度の新生児マス・スクリーニングでは、13人がクレチン症の患者と診断され、1年間に発見される患者数としては、マス・スクリーニング開始以来最も多い数であった。表7に示した各症例の検査結果を見ると、TSHが比較的低い値で発見されている患者が多かった。

現在、クレチン症のスクリーニング検査法は、全国すべての施設がELISA(Enzyme Linked Immunosorbent assay)を導入しており、これが、感度、精度とも優れた検査法であることから、TSH低値クレチン症が多く発見されたと考えられた。そこで、当所でELISAを導入した1989年を境に、それより前のRIA中心の時代と1989年以降のELISA中心の時代とで、全国および本県のクレチン症の発見率を比較したところ、表8のとおり、明らかに、全国的に

もELISAが導入されてからのクレチン症の発見率が高いことが判った。

また、スクリーニング検査におけるカットオフ値は、全国的にはTSH7.5~12 μ U/mlで設定されているが、当所でのカットオフ値は8 μ U/mlであり、他のスクリーニング施設に比べると低い値である[12]。このことも、TSH低値クレチン症が多く発見された要因の一つと考えられる。

わが国で、クレチン症として治療されている児は、1994年-1999年の推計で、1/2,200である[13]と言われており、この疾患率と、ELISAによる発見率がほぼ合致しているということは、現行のクレチン症スクリーニングにより、見逃しが無く患者を見つけ出すことができていると考えられた。

さらに、初回検査が正常値であっても低出生体重児のための再検査で患者と判明した例や2回目の検査でTSH値の低下傾向が認められたため、確認のために3回目の検査を行ったところ、患者と診断された例もあり、クレチン症の病態の多様性が認められた。原田ら[14]によると、新生児期に一過性と診断された後、思春期になってクレチン症に移行した例もあることから、新生児マス・スクリーニングで異常であった例については、継続的なフォローアップ、追跡調査が必要であり、患者数はさらに増加する可能性が示唆される。

ところで、平成17年4月1日から施行された個人情報

表8. 検査法別クレチン症患者発見率

検査法	全 国				富 山			
	期 間	検査人数	患者数	発見率	期 間	検査人数	患者数	発見率
RIA	1979.10-1989.3	12,868,523	1,849	1/7,000	1980.4-1989.3	115,435	25	1/4,600
ELISA	1989.4-2005.3	19,458,241	7,075	1/2,800	1989.4-2006.3	181,500	84	1/2,200
計	1979.10-2005.3	32,326,764	8,924	1/3,600	1980.4-2006.3	296,935	109	1/2,700

平成18年10月1日

保護法の観点から、新生児マス・スクリーニングで発見された患者の全国的な追跡調査が困難な状況になってきている。里帰り出産等で、検査後県外に転出した例が果たして確実に病院を受診したか否かの調査も難しくなっている。新生児マス・スクリーニングの有用性を確認するうえでも、全国レベルの追跡調査は不可欠であり、現在、実施されている厚生労働省の研究班による調査には、各スクリーニング施設が可能な限り協力すべきと考える。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子(2001). 富山衛研年報, 24, 48-53.
2. 米田 豊, 九曜雅子(2005). 富山衛研年報, 28, 33-40.
3. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1(1), 211-212.
4. 米田 豊, 九曜雅子(2005). 富山衛研年報, 28, 23-32.
5. 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.
6. 米田 豊(1999). 富山衛研年報, 22, 54-57.
7. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿(1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement 2, 73-81.
8. 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生省児童家庭局母子保健課 (1999). 特殊ミルク情報, 36, 136-138.
9. 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課(2001). 特殊ミルク情報, 37, 99-101.
10. 先天性代謝異常検査等検査状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課(2004). 特殊ミルク情報, 40, 114-116.
11. 呉 繁夫, 候 殿昌, 藤井邦裕, 長崎 裕, 坂本修, 松原洋一, 成澤邦明, 大浦敏博, 杉山成司(1997). 日本マス・スクリーニング学会誌, 7(2), 28.
12. 九曜雅子, 米田 豊(2006). 富山衛研年報, 29, 157-159.
13. 原田正平(2004). 日本マス・スクリーニング学会誌, 14(2), 39.
14. 原田正平, 松浦信夫(2000). 日本マス・スクリーニング学会誌, 10(3), 43-50.

3mm 径 HPLC カラムによるアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの検討

米田 豊 九曜雅子

Examination of Amino Acid Determination by High Performance Liquid Chromatography Using 3.0mm i.d. column for Mass-screening of Disorders of Amino Acid Metabolism

Yutaka YONEDA, Masako KUYO

要旨 先に、新生児のアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングのための、アミノ酸の高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を検討し、カラム洗浄時間を含めて1検体6分間で連続分析が可能な方法(6分法)[1]を報告した。この方法ではカラムサイズが内径4.6mmの汎用カラムを用いた。今回、前記6分法のカラムを汎用HPLC装置でも使用可能な内径3mm径のカラムに交換し、問題点の有無を調べた。その結果、内径4.6mmのカラムの方が、内径3.0mmカラムより安定性の面で優れていることが分かった。

逆相 HPLC による新生児のアミノ酸代謝異常症スクリーニング法として、これまで内径4.6mmカラムを用いる11分法[2]、及び、11分法を改良した6分法[1]を開発してきた。これらの方法では、移動相の流速はそれぞれ1.25ml/min及び1.7ml/minに設定しており、1検体当りの移動相使用量は、13.75及び10.2ml/minとなる。近年、内径3mm未満のセミマイクロカラムや1mm未満のマイクロカラムを用い移動相溶媒量を削減する方法も多用されており、これらの小内径カラムを用いることにより、移動相使用量を削減できる。坊之下ら[2]は内径0.5mmのマイクロカラムを新生児マス・スクリーニングのアミノ酸分析への応用を検討しているが、1検体当りの分析時間は約30分間を要し、またHPLC装置もマイクロカラムに対応した装置を必要とする。そこで、今回、コンベンショナルな汎用HPLC装置を用いた小内径カラムによるアミノ酸の短時間分析法として、3mmカラムの6分法への応用を試みた。

実験方法

1 装置

HPLC装置は日本分光製 1500 シリーズを用い、流路は6分法と同様の流路を使用した。

2 試薬

6分法[1]と同様の試薬を用いた。

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、内部標準物質含有抽出液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 HPLC条件

カラム：資生堂 CAPCELL PAK C18 MG II (内径3.0mm, 長さ100mm), 製造番号92531

ガードカラム：資生堂 CAPCELL PAK C18 MG II (内径2.0mm, 長さ10mm); 製造番号12199

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)-アセトニトリル(60:40), B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)-アセトニトリル(95:5)。グラジエントパターン及びカラム切替えのタイミングは表1に示した。

流速：0.85ml/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。

なお、内径4.6mmカラムを用いる6分法と本法のHPLC条件の比較を表2に示した。

実験結果

1 HPLC条件の検討

内径4.6mmカラムを用いて得られるクロマトグラムと同様のクロマトグラムを内径3.0mmカラムで得るためのHPLC条件の検討を行った。その結果、表1及び表2に示す条件で、ほぼ同様のクロマトグラムを得ることができた。内径3.0mmカラムを用いる場合は、移動相流速の低下に伴ない、試験溶液注入量を

表1 グラジエントパターン及びカラム切替えのタイミング

ポンプ 3	時間 (分)	0~ 1	1~ 4	4~ 6
	移動相中の A 液の割合(%)	—	100	—
	移動相流速 (ml/分)	0.0	0.5	0.0
ポンプ 1 及び 2	時間 (分)	0~ 3		3~ 6
	移動相中の A 液の割合(%)	3.0~26.0 リニアグラジエント溶出		3.0
	移動相流速 (ml/分)	0.85		0.85
カラム選択 ユニット (六方バルブ)	時間(分)	0.0~ 1.0	1.0~ 4.2	4.2~ 6.0
	バルブ位置	A	B	A
	モード	ヘッドカット	分離	コンディショニング
蛍光検出器	時間 (分)	0~ 6		
	励起波長/検出波長(nm)	340/450		
	Gain	10		
ポンプ 4	反応液送液速度 (ml/分)	0.2		

表2 HPLC 条件の比較

	内径 4.6mm カラム	内径 3.0mm カラム
分析カラム	Capcell Pak MG II	Capcell Pak MG II
充填剤粒径	5 μ m	5 μ m
サイズ	4.6mm i.d.x100mm	3.0mm i.d.x100mm
前処理カラム	Deverosil ODS-UG	Capcell Pak MG II
サイズ	4.0mm i.d.x10mm	2.0mm i.d.x10mm
移動相 A 液	B 液-エタノール(6:4)	B 液-アセトニトリル(6:4)
移動相 B 液	5mM ペンタンスルホン酸含有 25mM 過塩素酸ナトリウム溶液 (pH2.2)-アセトニトリル(95:5)	5mM ペンタンスルホン酸含有 25mM 過塩素酸ナトリウム溶液 (pH2.2)-アセトニトリル(95:5)
移動相流速	1.7ml/min	0.85ml/min
初期カラム圧	75Kg/cm ³	85Kg/cm ³
洗浄液流速	1.0ml/min	0.5ml/min
OPA 流速	0.3ml/min	0.2ml/min
反応コイル	0.5mm i.d.x1m	なし
注入量	10 μ l	5 μ l
蛍光セル容量	17 μ l	5 μ l
蛍光励起波長	340	340
蛍光測定波長	450	450
蛍光検出 Gain	1	10

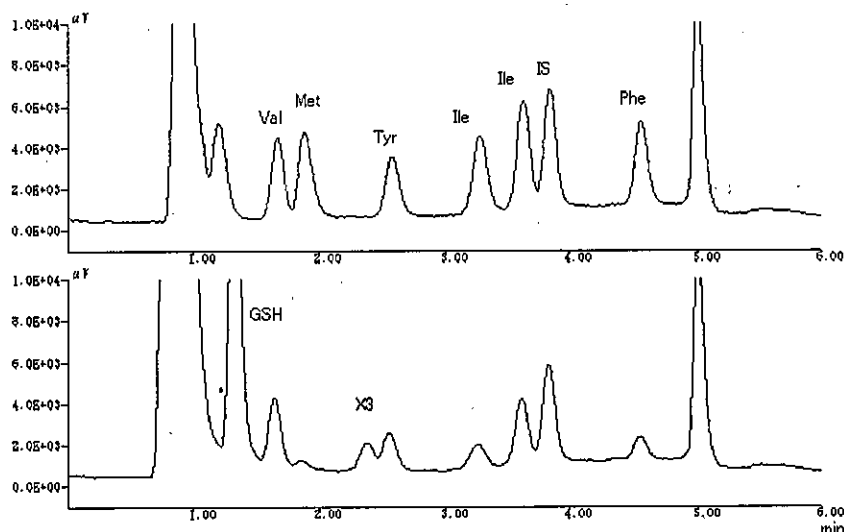


図1 アミノ酸標準液(上)及び正常新生児プール検体(下)のクロマトグラム

1/2の5 μ lとし、蛍光検出器の感度を上げた。また、蛍光セル容量は17 μ lセルから5 μ lセルへの変更を行った。しかし、17 μ lセルを用いた場合でも、クロマトグラムのパターンは大差なく、測定可能であった。むしろ、内径4.6mmカラムと併用した反応コイル(内径0.5mm×長さ1m)を除去した方が、よりシャープなピークが得られことから、反応コイルは用いなかった。また、配管は内径0.5mmのステンレスチューブをそのまま用いた。なお、移動相の有機溶媒として、エタノールとアセトニトリルを用いる場合について比較したところ、クロマトグラムに大差は認められなかったが、カラム圧が初圧でエタノール場合は約93Kg/cm²、アセトニトリルの場合は約85Kg/cm²と低いことから、アセトニトリルを用いることとした。図1にアミノ酸標準液および正常新生児検体30検体で調製したプール検体のクロマトグラムを示した。

2 新生児検体への応用

一般新生児検体145検体を用い、内径4.6mmカラムを用いて、アミノ酸定量を行った後、試験溶液の残液を用いて、内径3.0mmカラムにより、再度、アミノ酸定量を行い、両定量値間の相関を調べた。その結果、図2-1、図2-2及び図2-3に示すとおり、概ね良好な相関が認められた。また、アミノ酸定量値の比較を表3に示した。

3 内径4.6mmカラムと内径3.0mmカラムの比較

1) 連続分析時の初回注入試験溶液と2回目以降の注入溶液における保持時間の相違

内径4.6mmカラムの場合は、連続分析時の初回注入溶液と2回目以降の注入溶液における各アミノ酸の保持時間に相違は殆ど認められなかったが、内径3.0mmカラムの場合は、2回目以降の注入では初回注

入に比較しやや保持時間の増大が認められた。従って、連続分析時の初回分析試験溶液はダミー用の試験溶液を用いる必要があった。

2) アミノ酸抽出溶液中のメルカプトエタノールの影響

アミノ酸標準液にはメチオニン(Met)の分解を避けるため、メルカプトエタノールは添加していない。内径4.6mmカラムでは標準液と試験溶液の各アミノ酸保持時間に差は無く、抽出溶液へのメルカプトエタノール添加の影響は認められないが、内径3.0mmカラムでは、試験溶液における各アミノ酸の保持時間は、標準液を用いた場合の保持時間より、僅かに短く、メルカプトエタノール添加の影響が認められた。

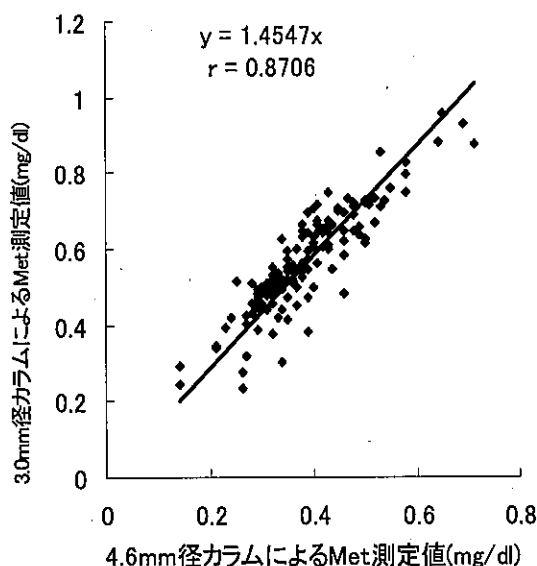


図2-1 内径3.0及び4.6mmカラム間のMet測定値の相関

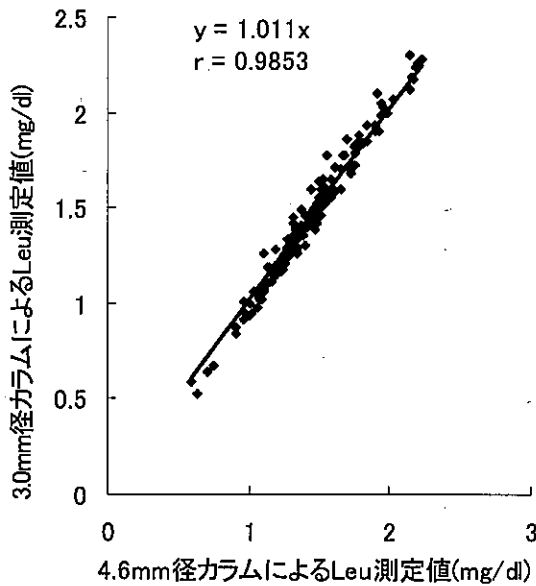


図 2-2 内径0.3及び4.6mm カラム間の Leu 測定値の相関

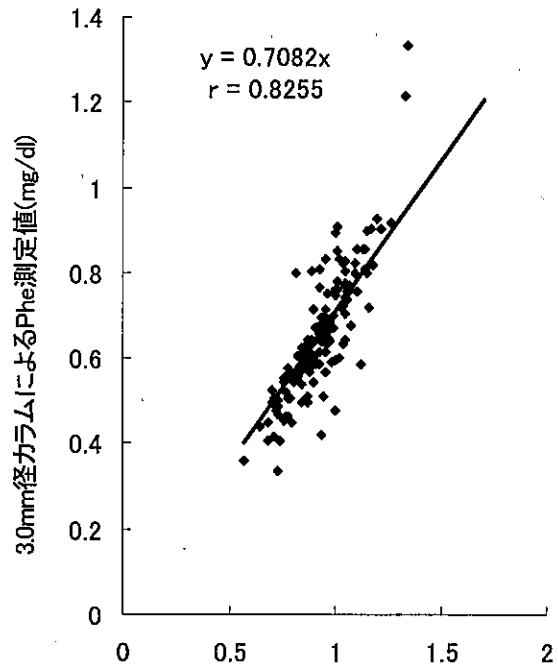


図 2-3 内径3.0及び4.6mm カラム間の Phe 測定値の相関

表 3 一般新生児のアミノ酸定量値の比較

カラム内径	内径 4.6mm カラム			内径 3.0mm カラム		
	Met	Leu	Phe	Met	Leu	Phe
平均値(mg/dl)	0.39	1.44	0.93	0.57	1.45	0.65
標準偏差	0.10	0.32	0.15	0.13	0.36	0.15

3) 分離パターンの比較

内径4.6mm カラムと内径3.0mm カラムでは、分離パターンに大きな差は認められないが、内径3.0mm カラムでは、僅かにバリンとメチオニンの分離が悪く、ロイシン(Leu)とイソロイシン(Ile)の分離が良好である傾向が認められた。

4) ベースラインの安定化に要する時間

相液ポンプを停止した後、翌日に再度、稼動させる場合の、ベースラインの安定化に要する時間は内径4.6mm カラムでは概ね15-30分間程度であるが、内径3.0mm カラムでは約30-60分間を要した。即ち、内径3.0mm カラムを用いる場合、検出器の感度を増大化しているため、ベースラインの変動も増大することが考えられた。

考 察

内径3mm カラムにおける移動相流量は内径4.6mm カラムの約1/2量にすることが期待された。移動相の

流速の低下、試験溶液注入量の削減、検出器の感度増大化により、概ね内径4.6mm カラムと同様のクロマトグラムを得ることは可能であった。しかし、連続分析時の保持時間の安定性不良、抽出溶液中へのメルカプトエタノールの添加に伴う、保持時間の短縮化およびコンディショニング時間の増長が認められた。また、新生児検体におけるアミノ酸定量値の比較において、Metは3.0mm 径カラムでは4.6mm 径カラムより高値を示した。これは、Metはバリン(Val)の直後に溶出され、3.0mm 径カラムでは若干、ValとMetの分離が不良であることに起因すると考えられる。

また、フェニルアラニン(Phe)は3.0mm 径カラムでは、低値を示した。この点については、今後、更に検討を要する。以上のことから、新生児アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの1次検査用のカラムとしては、従来どおり、内径4.6mm カラムを用いる方が、安定した分析が可能と考えられた。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子(2004). 日本マス・スクリーニング学会誌, 14(3),29-39.
2. 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.

3. 坊之下雅夫, 佐藤泰世, 岩谷敬仁, 浜口敬子(2003). 日本分析化学会第52年会講演要旨集 p273.

新生児スクリーニングのための酵素サイクリング法による
血液ろ紙中ガラクトースの測定残液を利用する
遊離カルニチン及び総アシルカルニチンの同時分析法

米田 豊 九曜雅子

Simultaneous Analysis of Free Carnitine and Total Acylcarnitine
using Test Solution for Enzymatic Cycling Method of Galactose
in Dried Blood Specimens for Neonatal Screening

Yutaka YONEDA, Masako KUYO

要 旨 ガラクトース血症マス・スクリーニングにおいて、酵素サイクリング法によりガラクトースの定量を行った直後のマイクロプレートセルに、carnitine dehydrogenase (CDH), 更に acylcarnitine esterase (ACE)を添加し、それぞれ一定時間反応後の蛍光を測定することで、遊離カルニチン及び総アシルカルニチンを定量する方法を検討した。本法はマイクロプレートリーダーを用いる簡便で、安価なカルニチン定量法であり、血中カルニチン値が低下する carnitinetransporter 異常症や carnitine palmitoiltransferase II (CPT-II)欠損症、及びカルニチン値が上昇する carnitine palmitoiltransferase I (CPT-I)欠損症のスクリーニング検査法としての利用が考えられる。なお、一般新生児の血液ろ紙2018検体について、カルニチン標準ろ紙血液を基準に本法を適用した場合の遊離カルニチン、総アシルカルニチン及び総カルニチン定量値の平均及び標準偏差は順に $27.4 \pm 8.1 \text{ nmol/ml}$, $24.2 \pm 6.8 \text{ nmol/ml}$ 及び $51.6 \pm 12.9 \text{ nmol/ml}$ であった。

近年、新生児マス・スクリーニングにタンデム質量分析法を導入し、アミノ酸及び有機酸代謝異常症並びに脂肪酸 β 酸化異常症をスクリーニングするシステムが注目されている。このシステムでは、個々のアミノ酸及びアシルカルニチン濃度または濃度比がスクリーニング指標となる。しかし、タンデム質量分析装置(MS/MS)を利用できるスクリーニング施設はまだ少なく、普及には時間を要すると考えられる。また、従来MS/MSによるスクリーニングが可能と考えられていたプロピオン酸血症及びメチルマロン酸血症は「見逃し」があることが明らかになり、MS/MSによるスクリーニング対象疾患から除外すべきとの動きもある。遊離カルニチンが低値を示す疾患には、脂肪酸 β 酸化異常症である carnitinetransporter 異常症があり、その発見率は、約4万人に1人と脂肪酸 β 酸化異常症の中では高頻度の疾患である。また、乳幼児期発症の carnitine palmitoiltransferase II (CPT-II)欠損症(全身型)やファンコニー症候群、更に栄養障害の場合も遊離カルニチンは低値を示す[1,2]。逆に carnitine palmitoiltransferase I (CPT-I)欠損症や肝不全では高値を示すことが知られている[1,2]。また、

総アシルカルニチンが高値の場合は、MS/MSによるアシルカルニチンプロファイル測定が重要となる。そこで、分析操作が簡易で、現行の測定機器で分析可能な遊離および総アシルカルニチン分析法の確立は意義があると考えられ、また、MS/MSを新生児スクリーニングに導入する場合であっても、測定原理の異なるカルニチン分析法は有用と考えられることから、今回、酵素法によるガラクトース(Gal)とカルニチンの同時分析法の検討を試みた。酵素サイクリング法によるカルニチン分析法としては carnitine dehydrogenase(CDH), diaphorase, NAD及びresazurinを用いる方法並びにCDH, Thio-NAD及びNADHを用いる方法が知られている。前者は、フローインジェクション分析[3]や高速液体クロマトグラフィー(HPLC)の固定化酵素リアクターとして用いる例[4]が報告されているが、酵素溶液としてろ紙血液に用いられた報告は見当たらない。一方、後者のCDHをThio-NADと共に用いる方法は血清[5]や新生児血液ろ紙[6]にも応用され、測定キットも市販されている。しかし、当該キットは自動分析装置によるレートアッセイ用であり、新生児スクリーニング検査には必ずし

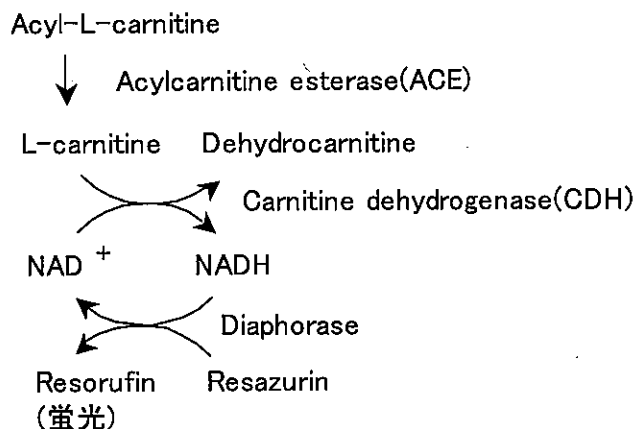


図1 カルニチンの測定原理

も向いていない。また、総アシルカルニチン測定法としては、アシルカルニチンをアルカリで加水分解を行う方法[6-9] 及び acylcarnitine esterase(ACE) を作用させて、アシルカルニチンから生成するカルニチンを測定する方法が報告されている。アルカリ分解法では試料ろ紙が2枚必要となるため、今回、ACEによる分解を行うこととした。すなわち図1に示すように galactose dehydrogenase(GDH) によるガラクトース測定後、残液中の diaphorase, NAD 及びレザズリンを利用し、CDH 及び ACE を追加添加して、それぞれ、一定時間反応後の蛍光の増加を測定することで、直径1/8インチの血液ろ紙1枚でガラクトース、遊離カルニチン、総カルニチン及び総アシルカルニチンを測定する方法の検討を行った。

実験方法

1 装置

コロナ社製マイクロプレートリーダー MTP-100F に、励起波長545nm, 検出波長590nm のフィルターを装着して用いた。なお、データ処理はバイエルメディカル社製データ処理ソフトウェアを用いパーソナルコンピュータ上でデータ処理を行った。検量線は普通目盛りグラフ上に2次式による回帰線を作成し定量を行った。

2 試薬

ガラクトース測定キット (以下「Gal キット」) はバイエルメディカル社製「GAL-R キット」を用いた。

L-Carnitine hydrochloride 及び O-Acetyl-L-carnitine hydrochloride はシグマ社製を用いた。また、CDH は旭化成ファーマ(株)製81.000U/mg を、ACE は同社製6.030U/mg を用いた。

81U/ml CDH 溶液: CDH 5mg を精製水5ml に溶解して用いた。

1U/ml ACE 溶液: ACE 5mg を精製水3ml に溶解し、更に精製水で10倍に希釈して用いた。

カルニチン標準液: 2500nmol/ml L-カルニチン水溶液を原液とし、これを「Gal キット」の溶出液を用い、1.0, 2.5, 5.0, 10.0 及び 15.0nmol/ml に希釈し用いた。なお、これらの標準液50 μ l を本法に用いた場合の蛍光強度は、各々ろ紙血液中のカルニチン濃度16.7, 41.7, 83.3, 167.0 及び 250.0nmol/ml に相当する。

カルニチン標準血液ろ紙: 和光純薬製精度管理用牛血液にカルニチンを添加し、カルニチン濃度12.2 (カルニチン無添加), 28.9, 53.9, 95.5, 179.2 及び 262.2nmol/ml の血液を調製した。これらの血液をマス・スクリーニング用ろ紙に50 μ l ずつ滴下し、風乾して標準血液ろ紙を作成した。なお、カルニチン無添加の牛血液中のカルニチン濃度は標準添加法により算出した。

また、本牛血液中のガラクトース濃度は0.1mg/dl 以下であった。

3 測定操作

直径1/8インチの血液ろ紙1枚ずつを、図2に示す配置に従い、96穴マイクロプレートの上に乗せたトランスファープレート内に切出し、以下の操作は表1に示す方法で行った。すなわち、ガラクトース分析はGDH 溶液添加後の反応を37 $^{\circ}$ C, 1時間の条件で行ったこと以外は常法で行った。カルニチンの分析において標準血液ろ紙を基準に定量を行う場合は、標準血液ろ紙は新生児検体とほぼ同様の操作を行った。標準液を基準に定量を行う場合は、遠心分離 (20 $^{\circ}$ C, 2000rpm, 5分間) による溶出液の分離後、蛍光測定用マイクロプレートのカルニチン標準液用のセルに0, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 及び 15.0nmol/ml のカルニチン標準液を各々

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	bl	bl	BL	BL	●	●	●	●	●	●	●	●
B	s1	s1	S1	S1	●	●	●	●	●	●	●	●
C	s2	s2	S2	S2	●	●	●	●	●	●	●	●
D	s3	s3	S3	S3	●	●	●	●	●	●	●	●
E	s4	s4	S4	S4	●	●	●	●	●	●	●	●
F	s5	s5	S5	S5	●	●	●	●	●	●	●	●
G	s6	s6	S6	S6	c1	c2	c3	▲	▲	▲	▲	▲
H	s7	s7			c1	c2	c3	▲	▲	▲	▲	▲

図2 マイクロプレート上の配置例

- bl : ガラクトース用ブランク
- s1-s7 : ガラクトース用標準ろ紙
- c1-c3 : ガラクトース用コントロールろ紙
- BL : カルニチン用ブランク
- S1-S6 : カルニチン用標準ろ紙(または標準液)
- : 初回検体
- ▲ : 再検検体

表1 ガラクトース及びカルニチンの測定操作

ガラクトース	カルニチン
1/8インチ径血液ろ紙をトランスファープレーートのセルに1枚ずつ入れる 固定液10 μ lで血色素固定(37°C,60分) 溶出液50 μ lで溶出(25°C,60分) 遠心分離により溶出液を蛍光測定プレートに移す	
(標準液使用の場合) カルニチン標準液50 μ lずつを蛍光測定プレートの所定セルに入れる	
ガラクトース測定キットのレサズリン含有緩衝液100 μ lを添加 ガラクトース測定キットの酵素液50 μ lを添加 酵素反応(37°C,60分)	
ガラクトース由来の蛍光測定	ガラクトース測定後 カルニチン測定用検体ブランク蛍光(B)を測定 標準及び検体のセルにCDH溶液 10 μ lを添加 ブランクのセルに精製水10 μ lを添加 酵素反応37°C,45分後、蛍光(F)測定 検体のセルにACE溶液10 μ lを添加 標準及びブランクのセルに精製水10 μ lを添加 酵素反応37°C,90分後、蛍光(T)測定 (迅速分析ではACE溶液20 μ l,反応時間45分) 蛍光強度(B,F,T)から遊離カルニチン及び総アシルカルニチン濃度を算出

50 μ l ずつ入れた。次に、すべてのセルに「Gal キット」のレサズリン含有緩衝液100 μ l 及び GDH 溶液50 μ l ずつを加え、37°Cで60分間酵素反応を行った。反応後、マイクロプレートリーダーを用い常法により、ガラクトースの測定を行った。続いてカルニチン分析のため、先ずブランク蛍光(B)を測定し、その後、ブランク用セル以外のセルに CDH 溶液10 μ l ずつを加え、37°Cで45分間酵素反応を行った後、蛍光(F)を測定した。次に検体用セルには ACE 溶液10 μ l を、標準及びブランク用セルには精製水10 μ l を加え、更に37°Cで90分間酵素反応を行った後、蛍光(T)測定を行った。カルニチン標準液または標準ろ紙血液により作成した検量線から、蛍光強度 B,F 及び T に相当する血液中的カルニチン濃度 b,f 及び t nmol/ml を求め、これらから遊離カルニチン濃度(f-b)、総カルニチン濃度(t-b)を求め、更に総アシルカルニチン濃度(t-f)を算出した。但し、ブランク蛍光(B)測定時は CDH 未添加でありカルニチン由来の蛍光を発していないため、カルニチン濃度(b)は蛍光(F)測定時に得られた検量線を用いて再計算を行った。

なお、分析時間の短縮が必要な場合は ACE 添加量を20 μ l とし、反応時間を45分間とした。

実験結果

1 ガラクトース測定条件の検討

a) alkaline phosphatase(ALP)を用いない場合

「Gal キット」によるガラクトースの分析条件は、なるべくキット添付の操作条件に従うよう配慮した。しかし、ガラクトースデヒドロゲナーゼの酵素反応条件をキットの操作条件である25°C、60分間とした場合、ガラクトース測定終了後も、若干蛍光強度の増大が認められるため、37°C、60分間の条件でガラクトースを測定することとした。

b) ALP を用いる場合

ALP を用いる場合には、GDH 溶液にあらかじめ ALP を添加する方法と、ガラクトース測定残液に ALP を添加[10]する二通りの方法がある。当所では ALP(-)を第一選択としている関係上、後者の場合の ALP 酵素反応に必要な時間を、次に示す方法で検討した。すなわち、111nmol/ml Gal-1-P の濃度となるよう「Gal キット」の溶出液に Gal-1-P を溶解し、その50 μ l をマイクロプレートのセルに入れ、更にレサズリン含有緩衝液100 μ l 及び GDH 溶液50 μ l を添加した。これにキット添付の ALP 溶液を精製水で5倍希釈した溶液10 μ l を添加し、37°C恒温槽に入れ、15分毎に蛍光強度を観察した。その結果は図3に示すよ

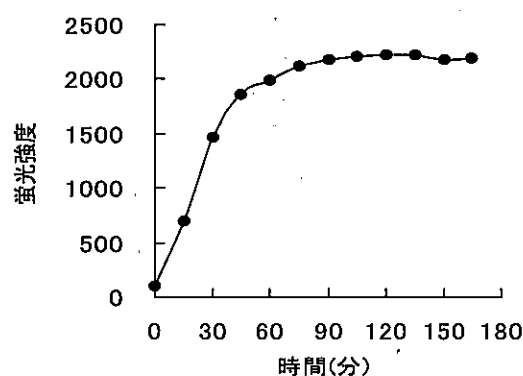


図3 Gal-1-P と ALP の反応速度

うに90分後にプラトーに達した。

2 CDH 量及び反応時間の検討

50nmol/ml カルニチン溶液50 μ l に「Gal キット」のレサズリン含有緩衝液100 μ l 及び GDH 溶液50 μ l、更に81U/ml CDH 溶液を加えた後、37°Cの恒温槽に入れ、15分毎に蛍光強度を観察した。なお、この操作は81U/ml CDH 溶液の添加量を5,10,25及び50 μ l とし、それぞれ行った。その結果は図4に示すように、いずれの CDH 添加量においても45分後にプラトーに達した。そこで、以下の試験では81U/ml CDH 溶液10 μ l を用いることとした。

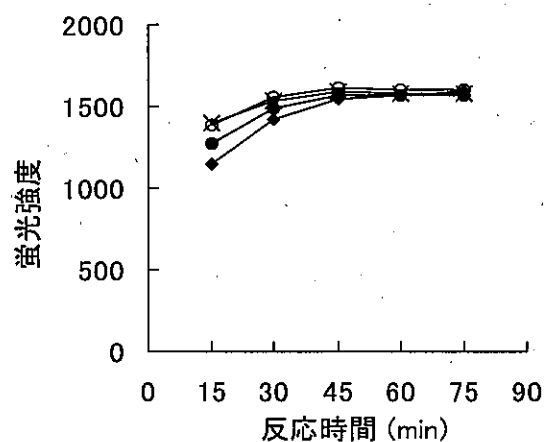


図4 カルニチンの反応速度と CDH 量との関係

—●— 5 μ l —○— 10 μ l
 —□— 25 μ l —×— 50 μ l

3 ACE 量及び反応時間の検討

アシルカルニチンの中でも、本実験で用いた ACE はアセチルカルニチンに対する酵素活性が低い[11]ことからアセチルカルニチンを用いて反応に必要な

ACE量の検討を行った。50nmol/ml アセチルカルニチン溶液50 μ lにGalキットのレサズリン含有緩衝液100 μ l及びガラクトースデヒドロゲナーゼ溶液50 μ l, 81U/ml CDH溶液10 μ lを添加後, 更に1U/ml ACE溶液を加えた後, 37 $^{\circ}$ Cの恒温槽に入れ, 15分毎に蛍光強度を観察した。なお, この操作は1U/ml ACE溶液の添加量を5,10,20及び25 μ lとして, それぞれ行った。その結果は図5に示すように, ACE溶液の添加量が5及び10 μ lの場合は90分後, 20及び25 μ lの場合は45分後にプラトーに達した。そこでACE添加量を10 μ lとした場合は37 $^{\circ}$ Cで90分間, 20 μ lとした場合は37 $^{\circ}$ Cで45分間反応させることとした。

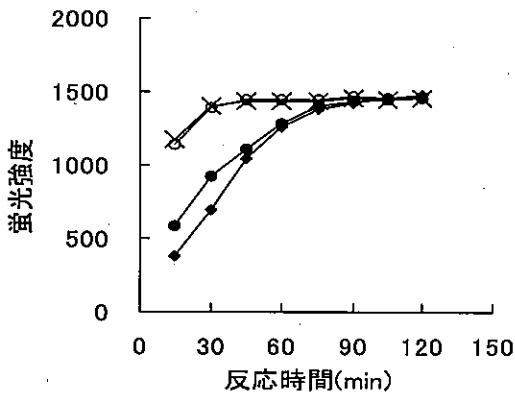


図5 アセチルカルニチンの反応速度とACE量との関係

● 5 μ l ● 10 μ l
○ 20 μ l × 25 μ l

4 新生児ろ紙血液への応用

個人情報と非連結化した一般新生児の初回検体に本法を適用した。その結果,遊離カルニチン, 総アシルカルニチン及び総カルニチン定量値の平均及び標準偏

差はカルニチン標準液を基準とした場合(n=1498), 順に21.7 \pm 6.4, 22.1 \pm 5.8 及び43.8 \pm 10.9nmol/mlであった。また, 標準血液ろ紙を基準とした場合(n=2018)は27.4 \pm 8.1, 24.2 \pm 6.8 及び51.6 \pm 12.9nmol/mlであり, その分布を図6に示した。なお, 別に行ったGDHを含まない自家調製試薬を用いた測定値とGDHを含む「Galキット」を用いる本法との比較試験において, カルニチン測定値間に大差は認められないことから, GDHはカルニチン測定に殆ど影響を与えないことを確認した。

考 察

1996年に当所で新生児マス・スクリーニングを受診し, 異常が認められなかった児で, 3才6ヶ月で極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症(VLCAD)が発見された事例がある。発見の契機は発熱・嘔吐・下肢痛などの臨床症状と遊離カルニチン(48.7nmol/ml)及び総アシルカルニチン(48.7nmol/ml)の上昇であった。マス・スクリーニング段階ではカルニチン測定を行っておらず, また当患児のろ紙血液は廃棄済みのため, 新生児当時のカルニチン測定値は不明である。その後, MS/MSにより VLCADと診断されている。血中の遊離カルニチン濃度は脂肪酸 β 酸化異常症以外にも薬物服用や栄養障害でも低下する可能性があることから, 鑑別にあたっては尿中のカルニチン測定から再吸収率を算出することが必要とされている[1,2]。またMS/MS等による個々のアシルカルニチン測定が必要なことは言うまでもない。前述の症例では, たまたま, 総アシルカルニチンが上昇していたのか, あるいは脂肪酸 β 酸化異常症では, 現在, スクリーニングの判定に用いられる個々のアシルカルニチンの他, 総アシルカルニチンも上昇するのか興味もたれる。一方,

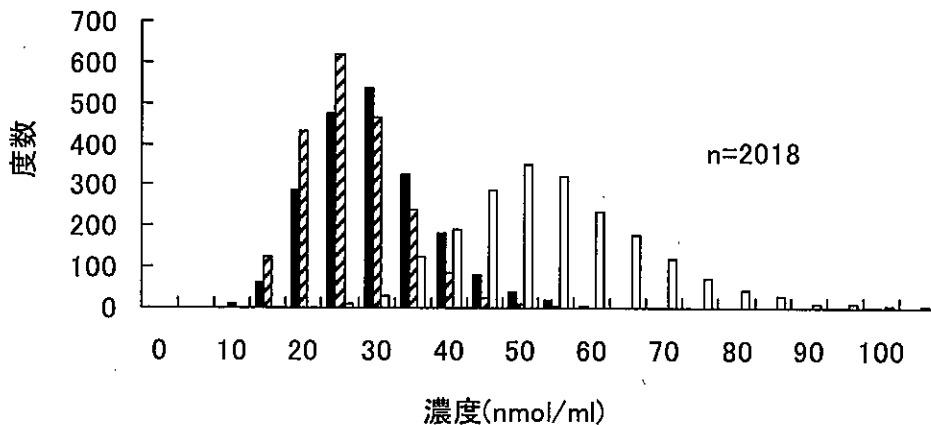


図6 遊離, 総アシル及び総カルニチン定量値の分布

■ 遊離カルニチン ▨ 総アシルカルニチン □ 総カルニチン

文 献

Takiyama ら[12]は日本人の年齢及び性別の違いと血清カルニチン濃度の関係を調査し、遊離カルニチンは年齢と共に値が上昇し、上昇カーブに男女差が認められるが、総アシルカルニチンは性差、男女差が少ないことを示している。今回、検討したカルニチン定量法において、定量基準として標準液を用いる方法と標準血液ろ紙を用いる方法とを比較すると、特に遊離カルニチン値に差があり、いわゆるマトリックス効果が認められた。従って、標準血液ろ紙を用いる方が好ましいが、標準血液ろ紙作成の手間や、それ自身の精度管理の煩雑さを考慮すると、スクリーニング目的では、標準液を用いる方法も利用価値があると考えられ、むしろ検量線が安定している長所もある。より真の値に近い定量値が得られると考えられる標準血液ろ紙を用いる方法と既法とを比較すると、本法による平均遊離カルニチン値(27.4nmol/ml)は、札幌市のMS/MSによる測定値(28nmol/ml)[13]とほぼ一致した。なお、本法で用いたCDHおよびACEの市販包装単位は130mg及び20mgで、かなり高価ではあるが、1検体当りの単価はそれぞれ10及び70円程度であり、「Galキット」を利用するため、総体としては安価に測定可能である。また、測定操作も簡易であることから、今後、有機酸代謝異常症や脂肪酸 β 酸化異常症患者の血液ろ紙にも本法を適用し、スクリーニング検査としての有用性を検討することが必要と考える。

1. 小川恵美, 高柳正樹, 田口和子(2001). 日本先天代謝異常学会誌17,152.
2. 高柳正樹(2004). 日本マス・スクリーニング学会誌14(3),9-12.
3. Matsumoto K., Yamada Y., Takahashi M. et al: Clin. Chem.(1990). 36:2072-2076.
4. Matsumoto K., Takahashi M., Takiyama N. et al: Clin. Chem. (1993).216:135-143.
5. Takahashi M., Ueda S., Misaki H. et al(1994): Clin. Chem. 40:817-821.
6. 伊藤哲也, 杉山成司, 関知次郎 他(1993). 日本先天代謝異常学会誌9,182.
7. Pearson D.J., Chase J.F.A., Tubbs P.K.(1969). Methods in Enzymology 14:612-622.
8. Bieber L.L Lewin L.M.(1981).Methods in Enzymology 72:276-287.
9. Pace J.A. Wannemacher R.W.Jr., Neufeld H.A. (1978).Clin. Chem. :24,32-35.
10. 藤本昭栄, 岡野善行, 藤井 正2002.日本マス・スクリーニング学会誌 12(2)62.
11. 特許第2827002号, 第2929100号
12. Takiyama N., Matsumoto K.(1998). J. Am. Coll. of Nutr. 17:71-74.
13. 野町祥介(2005). 日本マス・スクリーニング学会誌 15(2)87.

ヒト染色体に関する調査研究 —血液、骨髓液—
(平成17年度)

林 美貴子 本田幸子

Chromosome Analysis of Human Blood Cells and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI and Sachiko HONDA

要 旨 平成17年度の血液の染色体分析依頼数は65件(63人)であった。依頼理由は不育症の夫婦が最も多かった。その他、ダウン症候群等であった。うち、14件(12人)に染色体異常が発見された。内訳はダウン症候群5人、転座型保因者2人、双胎間輸血症候群2人(4件)、ターナー症候群1人、逆位保因者1人と脆弱 X 症候群1人であった。また、昭和48年度から、平成16年度までに検査を行った実人数2,077人中、2,048人が検査可能であり、うち263人に染色体異常が発見されたため、染色体異常率は12.8%になった。

当所では昭和48年より、先天異常の発生原因を明らかにし、その発生を減少する目的で染色体分析法の研究を行うとともに染色体検査を行ってきた。ここに血液・骨髓液による平成17年度の結果と過去33年間の染色体検査のまとめを報告する。

実施方法

各病院より染色体検査依頼のあった末梢血液(ヘパリン採血)は通常の方法により、3~4日間培養し、染色体標本を作製した[1]。また、染色は通常のG分染法と高精度分染法[2]を併用した。核型分析は中期分裂像を5個以上、分析数は20個以上行った。性染色体異常を疑われた場合はモザイクの可能性が大きいため、観察数を増加した。また、FISH (fluorescent in situ hybridization) 法はモザイクおよび微細な異常が疑われた場合に併用した。脆弱 X 染色体の検出には Medium 199(Gibco) / 牛胎児血清5%を用い、3日間培養後標本作成し、Gバンド標本で分裂像100個を観察した。

平成17年度の染色体検査依頼数は65件で、全て県内の病医院からの依頼であり、依頼病医院内訳は表1に示したとおりである。また、検査開始以来の33年を血液による依頼中分析可能であった2,002人について前(昭和48~58)・中(59~平成6)・後期(平成7~17年度)に分類し、依頼理由、異常率等を検討した。

結 果

1. 平成17年度

平成17年度の依頼数は血液65件(63人)であった。依頼理由と染色体異常の有無等は表2に示した。依頼理由のうち、最も多いものは不育症(反復流産・流産胎児の両親)であった。その他はダウン症候群の疑い等で

表 1. 医療施設別依頼内訳 (昭和48~平成17年度)

病 院 名	年 度	
	H17	S48~H17
県立中央病院	7	1,103
富山赤十字病院	11	354
富山医科薬科大学	11	151
富山市民病院	3	99
高志学園		92
水見市民病院		32
高岡市民病院	2	28
済生会富山病院	6	26
厚生連高岡病院		24
砺波総合病院		19
富山保健所		17
黒部市民病院	5	14
さたけ産婦人科	14	14
済生会高岡病院		9
富山通信病院		9
国立富山病院		8
他(県外分含)	6	108
計	65	2,107

表2. 依頼理由別内訳 (平成17年度)

頼理由	検査数	判定数	異常数
不育症 (流産胎児の両親)	26	26	1
不育症 (流産を繰り返すため)	18	18	1
ダウン症候群の疑い	5	5	5
双胎間輸血症候群 (2回検査)	4	4	4
両親 (ダウン症候群)	2	2	0
両親 (ターナー症候群)	2	2	0
両親 (羊水検査で inv(11) が認められたため)	2	2	1
胎児胸水	2	1	0
ターナー症候群	1	1	1
知的障害	1	1	1
無月経	1	1	0
胎児のう胞があったため	1	1	0
計(人)	65	64	14

表3. 染色体異常の内訳 (平成17年度)

症例 No.	主訴・主要症状	核型	診断名
1	流産胎児の両親	46, XY, t(1;12)(q42;q14)	転座型保因者
2	胎児死亡2回 (胎児奇形あり)	46, XX, t(5;12)(p14;p12)	転座型保因者
3	ダウン症候群の疑い	47, XY, +21	ダウン症候群
4	ダウン症候群の疑い	47, XY, +21	ダウン症候群
5	ダウン症候群の疑い	47, XY, +21	ダウン症候群
6	ダウン症候群の疑い	46, XY, iso(21)(q10)	転座型ダウン症候群
7	ダウン症候群の疑い	46, XY, der(14;21)(q10;q10), +21	ダウン症候群
8	双胎間輸血症候群	46, XY/46, XX	双胎間輸血症候群
9	双胎間輸血症候群	46, XX/46, XY	双胎間輸血症候群
10	羊水検査で inv(11) が認められた	46, XY, inv(11)(p11;q13)	11番染色体逆位保因者
11	ターナー症候群の疑い	46, X, del(X)(p21)/46, X	ターナー症候群
12	知的障害	46, fra(X)(q27.3), Y/46, XY	脆弱 X 症候群

あった。うち、染色体異常は12人で染色体異常率は19.0%になった。各症例については下記のとおりである (表3)。

症例1. 転座型保因者 (夫)

核型 46, XY, t(1;12)(q42;q14)

不妊症。自然流産歴1回。胎児は染色体検査の結果、保因者(46, XY, t(1;12)(q42;q14))であった。FISH法で確認。

症例2. 転座型保因者 (妻)

核型 46, XX, t(5;12)(p14;p12)

胎児死亡2回。胎児に奇形が認められた。FISH法で確認。

症例3. ダウン症候群 核型 47, XY, +21

出生時、在胎39w, 3,028g, アプガースコア9/10。特有の顔貌等あり (両眼隔離, 眼裂斜位, エピカンサス, 耳介位置異常, 鞍鼻, 鼻根扁平, 上動脈管開存軽度あり, 短指)。父, 母37歳, 第2子。

症例4. ダウン症候群 核型 47, XY, +21

出生時、在胎37w, 2,948g。特有の顔貌等あり (両眼隔離, 眼裂斜位, 耳介位置異常, 鞍鼻, 短指, 猿線)。母36歳, 第2子。

症例5. ダウン症候群 核型 47, XY, +21

出生時、在胎39w, 2,246g, やや眼裂斜位, 左多指症,

平成18年10月1日

表4. 染色体検査結果一覧(実人数) 昭和48~平成17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	1,029	1,028	35	21*	
流産を繰り返す	907	906	35	20	均衡転座保因者,ターナー症候群
不妊症	104	104	0	1	
子宮内胎児死亡	18	18			
②児の異常疑い	340	333	151	2*	
ダウン症候群の疑い	138	136	111		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	53	53	2	2	9pトリソミー
18トリソミー症候群の疑い	16	16	15		18トリソミー
猫なき症候群の疑い	6	6	1		5p部分モノソミー
13トリソミー症候群の疑い	4	4	4		13トリソミー
プラーガー・ウィー症候群の疑い	4	4	1		15トリソミー
副腎性器症候群の疑い	4	4	1		14トリソミー
Langer-Giedion症候群の疑い	1	1	1		del(8)(q24.11q24.13)
DiGeorge症候群の疑い	1	1	1		del(22)(q11.2q11.2)
脆弱X症候群の疑い	5	5	1		fra(X)(q27.3)
双胎間輸血症候群	2	2	2		46,XY//46,XX
③家族	299	299	15	2*	
染色体異常有り	176	176	15	1	均衡転座保因者等
染色体異常無し	123	123	0	1	
④性染色体異常の疑い	142	140	31	6**	
無月経	38	38	3	6	45,X/46,XX等
低身長	33	33	1		
ターナー症候群の疑い	34	34	17		r(X), i(Xp)等
半陰陽	13	11	3		45,X/46,XY, 46,XY/46,XX
腫欠損・鎖腫	7	7	0		
生理不順	3	3	1		45,X/46,XX
クライソ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白血病等	46	41	9	0	
白血病	41	36	6		Ph染色体等
フソコニ貧血	4	4	2		切断,キ・トップ 45,X/46,XX
色素性乾皮症	1	1	1		モザイク型クライソフェルター症候群
⑥出生前診断	14	14	1	0	
胎児異常の疑い(胎児血液等)	14	14	1		18トリソミー
⑦その他	153	147	6	1*	
心臓病	10	10	1		45,X/46,XX
その他	143	137	5	1	均衡転座保因者等
血液の小計	2,023	2,002	248	32	
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)	2,077	2,048	263	32	

* ; inv(9)

** ; inv(9)および睾丸女性化症候群

表5. 流産回数と染色体異常の有無

児の有無 流産回数	児無し			児有り		計 人	異常率
	夫婦	夫のみ	妻のみ	夫婦	妻のみ		
1	46 (1)	1		10		57 (1)	1.75%
2	430 (11)	1	3	84 (3)	1 (1)	517 (15)	2.90%
3	184 (12)	1	4 (1)	70 (3)	1	258 (16)	6.20%
4	26 (3)			18		44 (3)	6.82%
5	6		1	6	1	13 (0)	0.00%
6	4			2		6 (0)	0.00%
7	2					2 (0)	0.00%
8	4					4 (0)	0.00%
計 人	702 (27)	2 (0)	9 (1)	190 (6)	3 (1)	901 (35)	3.88%

() 内染色体異常数

詳細不明. 父36歳, 母35歳, 第1子. FISH法で確認.

症例6. 転座型ダウン症候群

核型 46,XY,iso(21)(q10)

次子希望のため, 両親の検査とともに, 詳細不明. 出生時, 父40歳, 母36歳, 第1子. 父・母ともに正常核型.

症例7. 転座型ダウン症候群

核型 46,XY,der(14;21)(q10;q10),+21

出生時, 在胎38w, 2,548g, 45.3cm, アプガースコア9/10. 特有の顔貌等あり(両眼隔離, 眼裂斜位, 耳介位置異常, 鞍鼻, 低鼻, 筋緊張低下, 短指). 父29歳, 母30歳, 第1子.

症例8. 9. 双胎間輸血症候群

I 男児 生後3ヶ月時

血液 染色体分析 46,XY//46,XX(70/30)

皮膚培養 染色体分析 46,XY(100%)

生後10ヶ月時

血液 染色体分析 46,XY//46,XX(62/38)

II 女児 生後3ヶ月時

血液 染色体分析 46,XX//46,XY(50/50)

皮膚培養 染色体分析 46,XX(100%)

生後10ヶ月時

血液 染色体分析 46,XX//46,XY(34/66)

症例10. 逆位保因者(父)

核型 46,XY,inv(11)(p11;q13)

羊水検査にて逆位(11)が疑われたため, 両親の検査を行った.

症例11. ターナー症候群

核型 46,X,del(X)(p21)/45,X (60/40)
低身長, 両親正常, FISH法で確認.

症例12. 脆弱X症候群

核型 46,fra(X)(q27.3)/46,XY (15/85)
知的障害, 5歳, 第2子.

2. 昭和48年度～平成17年度

検査開始当初からの受付件数は血液2,048件と骨髄液59件の計2,107件になったが, 血液と骨髄液の重複, 再検査による重複を除くと実人数は血液2,023人と骨髄液54人の計2,077人であった. そのうち, 検査可能であった2,048人中263人に染色体異常が発見され, 染色体異常率は12.8%になった(表4). 依頼数の最も多いものは不育症で49.5%を占めた. うち, 流産を繰り返す夫婦の中で判定可能な906人中35人に染色体異常が発見され, 異常率は3.63%, 夫婦単位にすると469組中34組で7.25%, つまり, 約14組に1組の割合で染色体異常が認められたことになった. その染色体異常の内訳は男性18人・女性17人とほぼ同じ割合で発見された. 流産回数と染色体異常の有無について検討したところ, 2回流産で検査を受けている人が最も多く, さらに, 染色体異常のある人は流産歴2~4回に集中していた(表5). 全染色体異常の内訳については表6に示したとおりである.

また, 前・中・後期に分類して検討した結果, 前期490人中116人(異常率23.67%), 中期575人中66人(同11.48%), 後期937人中66人(同7.04%)に染色体異常が発見された. また, 前期における依頼理由は児に染色体異常が疑われるが最も多く, 中期, 後期では不育症が最も多かった. 依頼理由のうち, 特に増加してきたものは不育症であり, 依頼理由のうち前期では7.76%→中期では42.09%→後期では79.83%を占めた.

表6. 染色体異常の内訳

染色体異常	人数	内訳
1. 常染色体異常		
①ダウン症候群	111	
(トリソミー型)		103
(モザイク型)		3
(転座型)		5
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	
⑦DiGeorge症候群	1	
⑧猫なき(5pモノソミー)症候群	1	
⑨7p部分トリソミー-7q部分モノソミー	1	
⑩11p部分トリソミー	1	
⑪フラガー・ウイリ症候群	1	
⑫Langer-Giedion症候群	1	
⑬由来不明部分過剰	6	
⑭均衡転座保因者	47	
⑮逆位保因者	4	
⑯フェンコニ貧血	1	
⑰白血病	21	
⑱悪性腫瘍がある	1	
小計(人)	224*	
2. 性染色体異常		
①ターナー症候群	24	
(モノソミー型)		5
(モザイク型)		19
②クライソフェルター症候群	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)	36**	
3. その他		
①双胎間輸血症候群	2	
②脆弱X症候群	1	
小計(人)	3***	
合計(人)	263	

*;全体に占める異常率 11.2%(224/2,002)

**;全体に占める異常率 1.8%(36/2,002)

***;全体に占める異常率 0.1%(3/2,002)

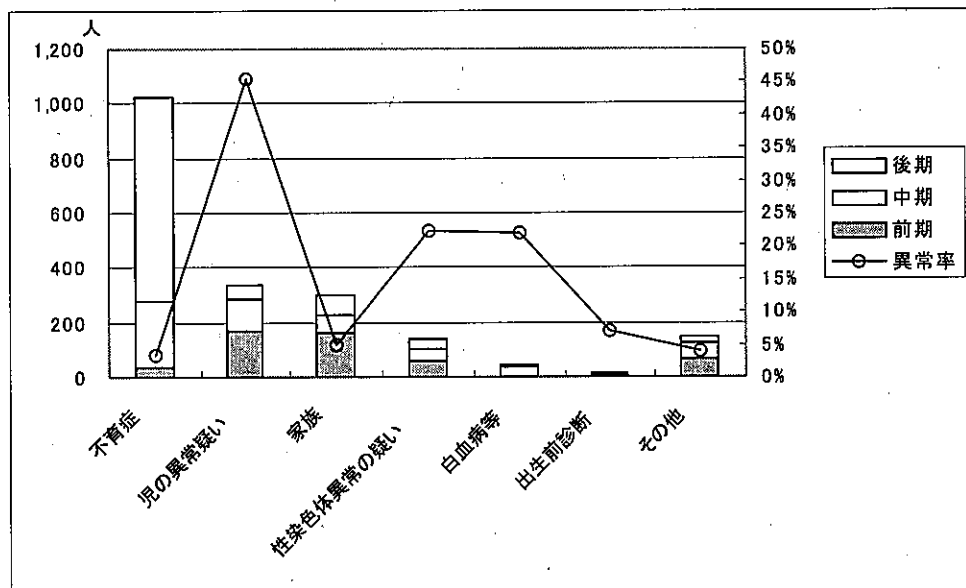


図1. 染色体検査依頼数と染色体異常率

逆に減少したものは児に染色体異常が疑われるで、同33.88%→21.39%→4.70%と顕著であった。不育症では3.4%、児の異常疑いでは45.4%に染色体異常が発見されたことから、依頼理由の変化が、染色体異常率に反映したと考えられた(図1)。

考察

最近注目されている双胎間輸血症候群[3]は胎児期に双生児が胎盤を共有した状態のときに両児の血液間吻合でのバランスが崩れ、結果として、両児の血液はキメラとなることをさしている。そのキメラの状態がいつまで続くかはまだ報告例がないため、今年度経験した同症候群を呈した男女児について、生後3ヶ月、10ヶ月と2回検査を行う機会を得たが、染色体比率に大きな変化は見られなかった。今後引き続き検討を行っていく予定である。また、脆弱X症候群の1例は葉酸欠乏培養液で培養した結果、fra(X)(q27・3)が15%の細胞に観察されたため、脆弱X症候群と判定した。当所における染色体検査依頼を前・中・後期に分類し検討した結果から、最近の傾向として流産を繰り返す

夫婦の原因検索や流産胎児における流産の原因検索とともに両親の検索の依頼が多くなってきている。

不育症の原因検索の中で、夫婦のどちらかが染色体異常である割合は約4%と低いが、他の理由の場合よりも児を得る可能性が高いといわれている。そのため、不育症夫婦の染色体検査を行うことは今後の妊娠指導や遺伝相談に資するものと考えられた。

謝辞

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

文献

1. 林 美貴子, 本田幸子, 大江 浩, 北村 敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 56-60.
2. Yunis, J. J., Sawyer, R. and Ball, D. W. (1978). Chromosoma, 67, 293-307.
3. 三浦清徳, 新川詔夫 (2005) 産科と婦人科, 72, 741-747.

ヒト染色体に関する調査研究 —羊水・流産胎児— (平成17年度)

本田幸子 林美貴子

Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells and Abortus Cells

Sachiko HONDA and Mikiko HAYASHI

要旨 平成17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71件、流産胎児20件で、昭和49年度からの累計件数は、羊水1,436件、流産胎児293件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が、羊水中で1件、流産胎児で12件みられた。今年度までの累計件数では羊水中で72件、流産胎児で133件の異常がみられている。染色体検査の理由(主訴)は、羊水中では高齢妊娠、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17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71件で、富山県(70件)、石川県(1件)内の医療施設からの依頼であった(表2)。染色体分析はすべて可能であった。検査開始時から平成17年度までの検査受付総数1,436件のうち分析可能数は1,390件で、その分析率は96.8%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1件(症例1)がみられた。今年度までの異常累計数は73件であり、その異常率は5.3%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41件で、受付総数の57.7%にあたる。その年齢は35歳から46歳であった。今年度、高齢妊娠を主訴とする依頼のなかに染色体異常が1件(症例1)みられた。

症例1の核型は46,XX,inv(11)の逆位で、親由来の逆位も考えられたため、この夫婦の血液による染色体分析をおこなった。FISH法等による確認検査も行った。その結果、片親が同じ逆位の核型を持つことが判明した。この親には表現形に異常はみられなかった。

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グラス上に落とし、恒温水槽(60°C)の蒸気上で乾燥し、その後自然乾燥

表2. 染色体検査依頼病院(羊水・流産胎児) (平成17年度)

病院	羊水	流産胎児	計
黒部市民病院	13	1	14
富山医科薬科大学	9	5	14
おとぎの森レディースクリニック	12	1	13
富山県立中央病院	11	0	11
さたけ産婦人科	6	5	11
富山赤十字病院	7	3	10
富山市民病院	4	1	5
高岡市民病院	3	0	3
済生会富山病院	0	3	3
砺波総合病院	2	0	2
厚生連高岡病院	2	0	2
済生会高岡病院	1	0	1
根上レディースクリニック	1	0	1
吉本レディースクリニック	0	1	1
計	71	20	91

表3. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (平成17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	41	1	
35-39歳	25	0	
40歳以上	16	1	46,XX,inv(11)(症例2)
胎児異常の疑い	14	0	
Nuchal translucency	9	0	
ヘルニア・奇形等	1	0	
胎児腹水	1	0	
胎児水腎症	1	0	
頸部リンパ腫	1	0	
腸管閉塞の疑い	1	0	
前子ダウン症	3	0	
親類にダウン症等	3	0	
羊水過多	3	0	
染色体異常児妊娠・出産既往	2	0	
前子(6p-, Xp+)	1	0	
前子(8?)	1	0	
強い希望	2	0	
羊水過少	1	0	
前児が異常	1	0	
トリプルマーカー	1	0	
計	71	1	

表4. 羊水の染色体検査依頼理由と結果（昭和49年～平成18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	797	782	17	47,(+18):3件 47,XX,+13/46,XX 47,(+21):6件 47,XY,+21/46,XY 46,XX,-18p 47,XXY 47,XXX 45,XY,t(13;14)mat 46,XX/46,XY 46,XX,inv(11)
染色体異常児妊娠出産既往	200	195	4	47,XX,+G:2件 47,XY,+E 46,XY/47,XXY
胎児異常の疑い	154	148	26	45,X:3件 47,XX,+13 47,(+18):9件 47,(+21):8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)	56	51	1	47,XX,+21
親類にダウン症や障害児等がいる	54	53	0	
羊水過多・羊水過少	47	44	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	31	30	14	45,XY,t(14;21) 46,XY,t(D;G) 46,XX,t(1;12) 46,XX,t(7;11) 46,XX,inv(3) 46,XX,t(2;17) 45,XX,t(13;15):2件 46,XY,inv(7) 45,XY,t(13;14) 46,XY,t(14;21) 46,XY,inv(8) 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	17	17	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	7	7	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	17	14	0	
不明	13	9	0	
計	1436	1390	73	

〈症例1〉

年齢・妊婦：42歳
：41歳
羊水採取時の妊娠週数：16週
主訴・依頼理由：高齢妊娠
既往歴・他：初産
分析結果：46,XX,inv(11)
経過・予後等：

次に多いのは、「胎児に奇形等の異常が疑われる」という理由で14件の依頼があったが、そのなかに異常はみられなかった。依頼の内訳では、胎児に Nuchal translucency (NT) の肥厚（3～10mm）がみられた9件が一番多かった。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きている[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。そ

のほか、胎児にヘルニア・多発奇形、胎児腹水、胎児水腎症、頸部リンパ腫、腸管閉塞が疑われるための理由で各1件あったが、異常はみられなかった。

「前子がダウン症候群であった」、「親類にダウン症等の症例がある」という理由でそれぞれ3件、「染色体異常児妊娠・出産既往」の理由で2件依頼があったが異常はみられなかった。

また、「羊水過多」で3件、「羊水過少」で2件の依頼があった。これらの症状は胎児の異常により発生し、比較的染色体異常が多くみられることがあるが、今回はいずれも異常は見られなかった。

「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2件の依頼があった。前（胎）児の異常の内訳は、6p末端部欠損、Xp過剰の1件と8番異常(?)の1件で、今回、染色体異常はみられなかった。

また、「本人の強い希望」という理由で2件依頼があったが詳細は不明である。その他「前児が異常」「トリプルマーカーの異常」がそれぞれ1件あったが異常はみられなかった。

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「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

今年度は検査の依頼理由がこのガイドラインに該当しない症例が2件あった。前にも述べたが、本人が強く希望したということで、その詳細は不明である。以前に同じ依頼理由の中から染色体異常が認められたこともあるので、これらの対処には苦慮している。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 法等により分析精度を上げるよう努力し、

異常が疑われる検体については、これらの技術を導入した。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数の問題がある。また、倫理的、社会的な問題も残されており、臨床場において、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20件で、依頼された流産胎児の週数は6週から24週にわたり、すべて分析可能であった。

平成17年度および検査開始時から平成17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20件中12件(60.0%)に染色体異常がみられた。全年度では51.6%となった。また今回の流産時

表5. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (平成17年度)

依頼理由(主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
流早産経験者	16	9	
流早産 2 回目	7	3	45,X 47,XX,+16 47,XY,+22
3 回目	4	3	47,XY,+12 47,XX,+21 47,XY,+22
4 回目	3	2	45,X 47,XX,+22
5 回目	1	1	47,XX,+22
7 回目	1	0	
初めての流早産	2	2	46,XY,t(1;12)(q42;q14) 69,XXX
前胎児染色体異常	1	1	45,X
cystic hygroma	1	0	
計	20	12	

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18年3月)

依頼理由(主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型等
過去にも流早産をした	158	141	86	45,X:10件 47,(+3):2件 47,(+16):9件
初めての流早産(原因不明)	51	43	15	69,XXX:4件 47,XY,+18 45,X
流産胎児に奇形等があった	40	37	12	69,XXY 47,(+18):3件 45,X:4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	10	8	6	46,XY,der(4)t(4;15) 45,X
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	3	3	3	48,XX,+15,+16 45,X
前子が多発奇形	1	1	0	
羊水過少	1	1	0	
妊娠中に風疹に罹った	1	0		
理由不明	2	0		
計	293	258	133	

点の母体年齢は26歳～42歳（平均33.2歳）で、数的異常を持つ症例では平均34.7歳となる。母体年齢依存性にトリソミー等の発生率が高くなることは定説となっているが、当所においては症例数も少なく、年齢と異常と流産の関係についてはまだ明らかではない。

検査理由で一番多かったのは、「過去にも流産をしたことがあるため」の16件で、そのうち9件（56.3%）に異常があった。これらの異常はすべて数的異常（22トリソミー4件、ターナー症候群2件、12トリソミー1件、16トリソミー1件、21トリソミー1件）であった。

流産の回数は2～7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。

「初めての流産であるがその原因検索」の理由で2件依頼がありいずれも異常がみられた。1件は69,XXXの3倍体であった。1件は(1;12)の均衡転座型異常と考えられ、両親の核型分析を行うとともにFISH法による分析も行った。その結果、片親が均衡転座保因者であることが判明し、親由来による転座型と考えられたが、流産との関係は不明である。

「前胎児が染色体異常」という理由で1件依頼があり、ターナー症候群の異常がみられた。母体年齢は34歳であった。過去、1男子（健常）出生と3回の流産経験があり、前回の流産胎児が13トリソミーの異常、今回の胎児（9週）がターナー症候群で、数的異常を再発したことになる。

今年度みられた異常12件中、1件の転座型異常を除く11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、当所の結果も今年度で、51.6%となり、ほぼ一致している。

流産胎児の染色体分析が、流産の原因を明らかにしたいと願う夫婦にとって有用であり、次の妊娠の指導方針にも必要である。また遺伝相談の資料として母子医療に役立つと考えられる。

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 道谷真由美¹Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in 2005Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA
and Mayumi MICHITANI¹

要旨 平成17年度の豚における日本脳炎 HI 抗体保有推移は、7月12日から26日の連続3週間陽性と判定される複数の豚がみられたが、新鮮感染が示唆される高抗体価を示す豚は8月17日が最初で2頭認められた。その後は10月11日まで毎週認められた。10月18日、25日は高抗体価を示す豚が95%を占めたが、新鮮感染を示唆する豚は認められなかった。このことから、富山県への日脳ウイルスの侵入は8月中旬と推定され、その後、豚の間で感染が長期間にわたって活発に拡大したと考えられた。一方、ウイルス媒介蚊のコガタアカイエカの発生量は7定点のうち4定点で増加し、とくに、黒部と小杉で顕著であった。減少した3定点は何れも微減であり、16年度と同程度の発生であったと推定される。なお、発消長は7月から8月後半に多くなる消長を示し、16年度よりも約1ヶ月早まった。このことが、増幅動物(豚)での日脳ウイルスの感染拡大を16年度よりも早めた原因と思われた。

コガタアカイエカの発生が多い理由には、高く推移した6~8月の気温が考えられ、幼虫の発育に影響したと推察される。16年に比べ台風などの突発的な気象変化(大雨、強風)が無く、コガタアカイエカが順調に生育したことで、増幅動物(豚)における日脳ウイルスの感染拡大が8月中旬から急速に拡大した理由と思われる。これらの状況は患者が発生する懸念を感じさせたが、幸いに患者発生はみられなかった。

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[1, 3-6]、日本脳炎の脅威は消滅していない。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確になり、ウイルスの拡大に媒介蚊の関与が見事に証明された。そこで、患者の発生を未然に防ぐことを目的に、2004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2005年6月から11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。

1. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りであり、2004年と全く同一である[5]。

調査期間および調査方法は2004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10月18日まで、ライト・トラップ(東京エース製、15W 捕虫円型管)による連日捕集を、他の5定点は6月第1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%エタノールの入ったポリ瓶に移し、それを筆者らが20日毎に回収して捕獲物から蚊類を選り分け、分類・計数した。後5定点は毎週水曜日に畜舎管理者が電源コンセント差込、木曜日の朝に筆者らが電源コンセントを抜き、捕集ケージを回収・交換して、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 捕虫蛍光管)を用いて、隔週の金曜日(7月中旬~9月上旬は毎週)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。

1. 富山県健康課

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17年度, 2005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、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、北東側に排水処理場。水田は最も近いところで30m離れている。
2	上市湯上野	牛舎	上市町湯上野、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	富山市(大山)東黒牧上野、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、乳牛30頭、子牛6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	小矢部鷺ヶ島	牛舎	小矢部市鷺ヶ島、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	富山市婦中町(下)友坂、乗馬倶楽部馬9頭。 丘陵部の裾野、周囲に水田、畑、雑木林、墓、人家が点在。 南東1,000mに牛舎(約50頭)あり。
7	小杉山本新	牛舎	射水市(小杉)山本新、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。
S	神岡下之本	牛舎	岐阜県飛騨市神岡町下之本、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。

2. 調査結果および考察

表2に、全調査定点における毎週水曜日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1週からコガタアカイエカは捕集され、その後急速に増加を示し、8月第1週から4週にピークを形成する消長を示した。結局、7月初中旬に小さなピーク、8月第1週～第4週に大きなピークを形成する発消長を描いた。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74倍に達した(表3)。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22倍であった。

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、「小矢部」で2005年が明らかに少ないが、「黒部」「上市」「富山大井」は2005年の捕集数が明瞭に多くなっている。2005年と2004年の捕集数を比べると、「大山東黒牧」「婦中」と「小矢部」が少なくなったが(減少率はそれぞれ28.3%, 10.3%, 4.7%)、「黒部」「富山大井」と「小杉」が顕著に増加、「上市」も明らかに増加した。

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2004年の1.7倍になり(表3)、2003年から見ると3.8倍に顕著に増加した。日最高捕集数も2004年8月25日の773個体に対し、8月3日の1,440個体に増加した。発消長曲線は8月初中旬に大きな山を形成する年1峰型を示し、2004年の8月下旬～9月中旬に大きな山、7月下旬に小さな山を形成する2峰型とは異なった。

[2.上市湯上野] 年間捕集数は前年の1.3倍、295,817個体に微増した。日最高捕集数は2004年9月15日の46,351個体に対し、8月24日の64,031個体と1.4倍に増加した。発消長曲線は8月第3週から明瞭に増加し、9月4週に顕著に減少するまで2万個体を越える大きな長い山を形成する年1峰性と推定される消長を示した(表2)。7月3週に小さな山を形成するが、前後の捕集傾向からは全体的に1峰性とするべきと判断した。

[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ほどの一級河川「熊野川」が流れ、それに沿って両側に水田が広がっている。定点牛舎に

表2-1. 7 定点 (畜舎) における蚊雌成虫の捕集数 (平成17年, 2005年)

調査日	1. 黒部					2. 上市				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.8	0	40	9	0	49	0	175	0	7	182
15	0	99	14	0	113	25	1,689	8	25	1,747
22	0	244	17	0	261	12	555	43	0	610
29	0	278	34	0	312	17	2,235	144	0	2,396
7.6	0	440	36	0	476	128	2,689	32	0	2,849
13	0	381	15	0	396	256	6,037	64	0	6,357
20	0	493	8	0	501	264	12,112	96	0	12,472
27	0	393	12	0	405	48	7,208	60	3	7,319
8.3	0	1,440	19	0	1,459	192	8,833	64	0	9,089
10	0	417	4	0	421	124	5,944	49	0	6,117
17	0	1,345	2	0	1,347	64	42,688	0	0	42,752
24	0	768	16	0	784	169	64,031	0	0	64,200
31	0	593	2	0	595	174	57,769	0	0	57,943
9.7	0	609	16	0	625	85	25,062	0	0	25,147
14	0	529	13	0	542	78	34,990	0	0	35,068
21	0	265	4	0	269	50	20,754	0	0	20,804
28	0	38	3	0	41	9	2,463	0	0	2,472
10.5	0	17	6	0	23	0	327	0	0	327
12	0	3	0	0	3	0	256	0	0	256
計	0	8,392	230	0	8,622	1,695	295,817	560	35	298,107

※ 2、上市のその他は、オオクロヤブカであった。

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
6.1	-	-	-	-	-	0	521	0	0	521
8	0	214	0	0	214	0	874	0	0	874
15	0	36	0	0	36	0	7	0	0	7
22	1	85	1	0	87	0	1,429	3	0	1,432
29	0	20	0	0	20	0	297	0	0	297
7.6	1	77	0	0	78	0	1,943	0	0	1,943
13	0	68	0	0	68	0	14,421	3	0	14,424
20	0	105	0	0	105	0	1,499	2	1	1,502
27	0	5	0	0	5	1	1,289	2	0	1,292
8.3	0	6	0	0	6	0	9,089	0	0	9,089
10	0	1	0	0	1	0	18,270	5	1	18,276
17	0	50	0	0	50	0	12,092	17	0	12,109
24	0	2,775	0	0	2,775	0	6,947	0	0	6,947
31	0	122	0	0	122	0	7,997	0	0	7,997
9.7	0	331	0	0	331	0	1,194	2	0	1,196
14	0	28	0	0	28	0	9,826	0	0	9,826
21	1	47	0	0	48	0	991	0	0	991
28	0	0	1	0	1	0	124	0	0	124
10.5	0	1	0	2	3	0	21	0	0	21
12	0	3	0	0	3	0	11	0	0	11
計	3	3,974	2	2	3,981	1	88,321	34	2	88,358

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。

表2-2. 7定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数(2005年, 平成17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
6.8	0	78	0	0	78	0	28	1	3	32
15	0	779	0	0	779	0	201	4	2	207
22	0	441	9	0	450	0	160	9	0	169
29	0	1,148	32	0	1,180	0	486	8	0	494
7.6	0	1,089	23	0	1,112	0	736	16	2	754
13	0	785	38	0	823	0	521	41	0	562
20	0	249	0	0	249	0	673	15	0	688
27	0	484	13	0	497	0	191	9	2	202
8.3	0	220	2	0	222	0	976	18	0	994
10	0	265	5	0	270	0	616	16	0	632
17	0	473	2	0	475	-	-	-	-	-
24	0	3,033	0	0	3,033	0	3,328	17	0	3,345
31	0	980	0	0	980	0	2,037	0	0	2,037
9.7	0	308	0	0	308	0	464	0	0	464
14	0	849	0	0	849	0	833	0	0	833
21	0	785	3	0	788	0	111	0	7	118
28	0	165	0	0	165	0	43	0	3	46
10.5	0	25	0	0	25	0	13	2	7	22
12	0	10	0	0	10	0	7	1	1	9
計	0	12,088	127	0	12,293	0	11,424	157	27	11,608

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。

調査日	7. 小杉山本新					As	Ct	Cp	その他	計
	As	Ct	Cp	その他	計					
6.8	0	179	4	0	183					
15	0	199	0	0	199					
22	0	939	8	0	947					
29	0	1,168	8	0	1,176					
7.6	0	2,048	14	0	2,062					
13	0	1,056	13	0	1,069					
20	0	5,377	29	0	5,406					
27	0	1,987	32	0	2,019					
8.3	0	5,247	47	0	5,294					
10	0	6,873	6	0	6,879					
17	0	3,393	4	0	3,397					
24	0	2,560	0	0	2,560					
31	0	2,241	0	0	2,241					
9.7	0	197	0	0	197					
14	0	289	0	0	289					
21	0	720	0	0	720					
28	0	384	0	0	384					
10.5	0	93	2	0	95					
12	0	18	4	0	22					
計	0	34,968	171	0	35,139					
10.1	0	317	1	0	318					
8	0	2	0	0	2					
15	0	2	0	0	2					
計	0	70,078	339	0	70,417					

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
2004	4,880	225,945	3,206	18,526	90,578	468,459	12,758	12,733	20,421
2005	8,392	295,817	3,974	13,291	88,321	735,891	12,088	11,424	34,968

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。上市はさらに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。

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、雑木、杉などで覆われている。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24日の2,775個体であり、2004年の1,608個体(9月15日)の1.7倍に達し、ピークは2004年に比べ3週間早くなった。年間捕集数は前年の約72%に減少した。

[4. 富山大井] 表4に連日捕集成績を示した。調査当初から8月末までは2004年よりも捕集数は多かったが[5]、9月に入り少なく推移した。日最大捕集数は7月3日の31,290個体であり、2004年の9月15日の23,832個体よりも一月以上も早くなった[5]。2005年は6月から8月までは捕集数が多く推移したが、9月は顕著に少なくなったが、年間の捕集数は2004年の1.6倍に増加した(表3)。

[5. 小矢部鷺田] 年間捕集数は2004年の95.3%に減少した。(表3)。日最大捕集数は8月24日の3,033個体で、2004年の3,992個体(8月25日)よりも減少した。発生推移は8月下旬に大きな山、6月下旬～7月上旬に小さな山、8月上旬に谷を形成する典型的な2山型を示した(表2)。

[6. 婦中友坂] 年間捕集数は11,424個体と2004年の12,733個体よりも減少した。日最大捕集数は8月4週の3,328個体と、2004年の2,896個体よりも増加した。この厩舎の捕集数は毎年他の牛舎定点に比べ少ない傾向を示すが(表2)、その原因は動物種の違いなのか、飼養頭数の絶対数が少ない影響なのかは、今後も調査を継続して明らかにしたい。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(表2-2)。

[7. 小杉山本新] 年間捕集数は34,968個体で、2004年の20,721個体よりも明らかに増加した。日最大捕集数も8月10日の6,879個体に対し、2004年は8月18日の4,255個体と明らかに増加した。発生推移は6月5週から8月5週まで千個体を超える長い山を形成する消長を示した(表2)。途中2回減少するが、その減少期間の長さなどから(1週間)、本来は長い一山性であると推察した。

[S.神岡下之本]コガタアカイエカの年間捕集数は1,884個体で、2004年の556個体に比べ顕著に増加した。日最大捕集数も8月13日の1,192個体で、2004年の164個体(8月27日)に比べ明瞭に増加した。シナハマダラカは2004年の250個体に対し、28個体に激減した。その他の蚊種も4種類18個体で、2004年の8種32個体よりも減少した。ただし、この定点では7月上旬から8月上

表4-1. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成17年, 2005年)

調査日	4-2. 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	521	0	0	521
6月2日						0	321	0	0	321
6月3日						0	395	0	0	395
6月4日						0	719	0	0	719
6月5日						0	429	0	0	429
6月6日	0	57	2	3	62	0	404	0	0	404
6月7日	1	143	3	2	149	0	301	1	0	302
6月8日	0	214	0	0	214	0	874	0	0	874
6月9日	0	47	0	3	50	0	189	0	0	189
6月10日	-	-	-	-	-	0	427	5	0	432
6月11日	0	41	0	0	41	0	380	7	0	387
6月12日	-	-	-	-	-	0	4,140	13	0	4,153
6月13日	0	46	1	5	52	0	513	9	0	522
6月14日	2	73	1	1	77	0	8	2	0	10
6月15日	0	36	0	0	36	0	7	0	0	7
6月16日	0	0	0	0	0	0	439	8	0	447
6月17日	0	0	0	0	0	0	2,644	6	0	2,650
6月18日	2	65	0	1	68	0	667	17	0	684
6月19日	3	76	4	2	85	0	1,707	15	0	1,722
6月20日	2	56	3	2	63	0	1,419	24	0	1,443
6月21日	-	-	-	-	-	0	5,943	5	0	5,948
6月22日	1	85	1	0	87	0	1,429	3	0	1,432
6月23日	-	-	-	-	-	0	5,430	6	0	5,436
6月24日	0	0	0	0	0	0	5,749	9	0	5,758
6月25日	0	71	1	1	73	0	15,591	7	0	15,598
6月26日	0	23	0	0	23	0	10,889	8	0	10,897
6月27日	0	145	8	0	153	0	18,080	32	0	18,112
6月28日	-	-	-	-	-	0	151	0	0	151
6月29日	0	20	0	0	20	0	297	0	0	297
6月30日	3	94	3	1	101	0	1,569	8	0	1,577
計	14	1,292	27	21	1,354	0	81,632	185	0	81,817

注. - 印はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す

※その他 (オオクロ、カマ、ヤマト)

表4-2. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成17年,2005年)

調査日	4-2. 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	1	52	2	2	57	0	9,573	5	0	9,578
7月2日	2	127	6	3	138	0	3,720	19	0	3,739
7月3日	0	125	0	0	125	0	31,290	21	0	31,311
7月4日	1	62	4	0	67	0	9,521	14	0	9,535
7月5日	0	40	0	0	40	0	15,933	0	0	15,933
7月6日	1	77	0	0	78	0	1,943	0	0	1,943
7月7日	0	40	0	0	40	0	10,274	18	0	10,292
7月8日	1	39	2	0	42	0	4,307	0	0	4,307
7月9日	1	69	0	0	70	0	7,212	4	0	7,216
7月10日	0	91	1	1	93	0	4,129	0	0	4,129
7月11日	0	1	0	0	1	0	9,500	0	0	9,500
7月12日	2	416	3	1	422	0	3,335	0	0	3,335
7月13日	0	68	0	0	68	0	14,421	3	0	14,424
7月14日	1	182	0	1	184	0	4,969	0	0	4,969
7月15日	0	121	0	0	121	0	9,363	15	0	9,378
7月16日	1	304	0	0	305	0	7,857	0	0	7,857
7月17日	0	27	0	0	27	0	10,186	7	0	10,193
7月18日	0	110	3	0	113	0	5,669	5	0	5,674
7月19日	0	51	0	0	51	0	13,719	9	0	13,728
7月20日	0	105	0	0	105	0	1,499	2	1	1,502
7月21日	0	14	0	0	14	0	4,446	6	0	4,452
7月22日	0	20	0	0	20	0	2,954	4	0	2,958
7月23日	0	7	0	0	7	0	1,949	25	0	1,974
7月24日	0	62	0	0	62	0	1,957	5	0	1,962
7月25日	0	3	0	0	3	0	1,298	19	0	1,317
7月26日	0	10	0	0	10	0	12,138	6	0	12,144
7月27日	0	5	0	0	5	1	1,289	2	0	1,292
7月28日	0	32	0	0	32	0	1,388	0	1	1,389
7月29日	0	30	1	0	31	0	4,116	16	0	4,132
7月30日	0	15	0	0	15	1	3,756	5	0	3,762
7月31日	0	24	0	0	24	0	3,447	2	0	3,449
計	11	2,329	22	8	2,370	2	217,158	212	2	217,374

注. - 印はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す

※ その他 (カマ、ヤマト)

表4-3. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成17年,2005年)

調査日	4-2. 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	34	0	0	34	0	4,455	5	0	4,460
8月2日	0	21	0	0	21	0	9,741	0	0	9,741
8月3日	0	6	0	0	6	0	9,089	0	0	9,089
8月4日	1	45	0	0	46	0	5,916	0	1	5,917
8月5日	0	12	0	0	12	0	2,004	2	0	2,006
8月6日	-	-	-	-	-	0	11,074	0	0	11,074
8月7日	1	100	0	0	101	0	1,457	0	0	1,457
8月8日	0	2	0	0	2	0	1,087	0	0	1,087
8月9日	0	30	0	0	30	1	3,436	2	0	3,439
8月10日	0	1	0	0	1	0	18,270	5	1	18,276
8月11日	0	47	0	0	47	0	8,662	0	0	8,662
8月12日	0	33	0	0	33	0	21,505	0	0	21,505
8月13日	0	39	0	0	39	0	7,463	0	0	7,463
8月14日	-	-	-	-	-	0	20,836	0	0	20,836
8月15日	1	75	0	0	76	0	18,919	0	0	18,919
8月16日	0	46	0	0	46	0	4,625	0	0	4,625
8月17日	0	50	0	0	50	0	12,092	17	0	12,109
8月18日	1	152	0	0	153	0	11,794	0	0	11,794
8月19日	0	56	0	0	56	0	7,105	0	0	7,105
8月20日	-	-	-	-	-	0	13,497	0	0	13,497
8月21日	1	635	0	0	636	0	3,520	0	0	3,520
8月22日	0	587	0	0	587	0	17,348	0	0	17,348
8月23日	0	277	0	0	277	0	4,636	0	0	4,636
8月24日	0	2,775	0	0	2,775	0	6,947	0	0	6,947
8月25日	1	1,203	0	0	1,204	0	11,130	11	0	11,141
8月26日	0	199	0	0	199	0	5,803	2	0	5,805
8月27日	0	169	0	0	169	0	3,913	7	0	3,920
8月28日	0	163	0	0	163	0	4,205	0	0	4,205
8月29日	2	124	0	1	127	0	13,247	0	0	13,247
8月30日	0	168	0	0	168	0	13,136	0	0	13,136
8月31日	0	122	0	0	122	0	7,997	0	0	7,997
計	8	7,171	0	1	7,180	1	284,909	51	2	284,963

注. - 印はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す

※ その他 (ヤマト、トラフ)

表4-4. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成17年, 2005年)

調査日	4-2. 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	90	0	2	92	0	3,942	1	0	3,943
9月2日	0	290	0	0	290	0	3,064	0	0	3,064
9月3日	-	-	-	-	-	0	3,470	0	0	3,470
9月4日	0	467	1	0	468	0	31,838	0	0	31,838
9月5日	0	350	0	0	350	0	20,141	3	0	20,144
9月6日	1	348	0	0	349	0	18,759	0	0	18,759
9月7日	0	331	0	0	331	0	1,194	2	0	1,196
9月8日	0	18	0	0	18	1	3,593	3	0	3,597
9月9日	1	70	0	0	71	0	2,527	3	0	2,530
9月10日	0	39	0	0	39	0	10,207	2	1	10,210
9月11日	1	26	0	0	27	1	6,662	0	0	6,663
9月12日	1	39	0	0	40	0	5,552	0	0	5,552
9月13日	0	46	0	0	46	0	3,670	2	0	3,672
9月14日	0	28	0	0	28	0	9,826	0	0	9,826
9月15日	0	17	0	0	17	0	3,728	0	0	3,728
9月16日	0	87	0	0	87	0	3,893	0	0	3,893
9月17日	1	55	0	0	56	0	2,404	0	0	2,404
9月18日	0	22	0	0	22	0	3,761	5	0	3,766
9月19日	0	14	0	0	14	0	2,477	3	0	2,480
9月20日	0	21	0	1	22	0	3,584	2	0	3,586
9月21日	-	-	-	-	-	0	991	0	0	991
9月22日	1	47	0	0	48	0	481	1	0	482
9月23日	0	13	0	0	13	0	2,474	0	0	2,474
9月24日	0	13	0	1	14	0	1,407	0	0	1,407
9月25日	0	30	1	1	32	0	348	2	0	350
9月26日	0	2	0	0	2	0	717	3	1	721
9月27日	0	5	0	1	6	0	487	1	0	488
9月28日	0	0	1	0	1	0	124	0	0	124
9月29日	0	0	0	0	0	0	124	2	0	126
9月30日	-	-	-	-	-	0	263	1	0	264
計	6	2,468	3	6	2,483	2	151,708	36	2	151,748

注. - 印はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す

※ その他 (オオクロ、キンイロ)

表4-5. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成17年, 2005年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
10月1日	-	-	-	-	-	0	47	0	0	47
10月2日	0	1	0	1	2	0	70	0	0	70
10月3日	0	3	0	0	3	0	38	3	1	42
10月4日	-	-	-	-	-	0	59	0	0	59
10月5日	-	-	-	-	-	0	21	0	0	21
10月6日	0	1	0	2	3	0	4	0	0	4
10月7日	0	1	0	0	1	0	10	1	0	11
10月8日	0	1	0	0	1	0	31	1	0	32
10月9日	0	0	0	0	0	0	40	2	0	42
10月10日	0	1	0	0	1	0	60	1	0	61
10月11日	0	0	0	1	1	0	20	1	0	21
10月12日	0	3	0	0	3	0	11	0	0	11
10月13日	0	1	0	0	1	0	4	1	0	5
10月14日	1	2	0	1	4	0	21	2	0	23
10月15日	0	0	0	0	0	0	25	1	0	26
10月16日	0	6	1	1	8	0	1	1	0	2
10月17日	0	4	0	1	5	0	5	3	0	8
10月18日	0	7	0	0	7	0	17	0	0	17
計	1	31	1	7	40	0	484	17	1	502

注. - 印はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す

※ その他 (ヤマトヤブカ)

旬の丸1ヶ月牛舎に牛がいない期間があり、この期間の捕集数を加算されると、コガタアカイエカの捕集数はかなりの数に達し、その他の蚊も前年の捕集数に匹敵する様になるかもしれない。

本年の6～9月の気温は平年値より幾分高く推移したが、2004年の高温・多照度傾向にはならなかった。しかし、コガタアカイエカは6月の調査開始当初から前年に比べ多く捕集され7月にはほとんどの定点で、過去3年間の中で最も多数が捕集された。最も高い第1ピークは8月に形成されたが、2番目のピークは7月に形成され、この消長は富山県における典型的な発消長の一つである[1]。つまり、コガタアカイエカの発生場所である水田の稲作作業に負う所が大きい。5月初旬に田植を終え、6月中下旬には1回目の中干しが行われ、蚊の幼虫は大打撃を受ける。その後、再入水と同時に気温の上昇により蚊幼虫の発育は加速され、増加する。しかし、7月下旬にはカメムシやニカメイチュウなど

の駆除のために、水田に多量の殺虫・殺菌剤が散布され、成虫羽化数は激減する。そして再び増加するのが8月下旬になる。9月に入り水田の落水が始まり、中旬には稲刈りが始まる。近年、9月に入ってから成虫の捕集数が増加する傾向がみられるが、一つには水田から追い出された成虫が畜舎周辺に移動しトラップに捕集され易くなる。二つには稲刈り後の水田に雨水がたまり、好適な幼虫発生源になることが考えられる。

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5日から10月25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

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17年, 2005年)

調査日	蚊の種類							計
	As	Ct	Cp	Co	Aea	Oj	Cb	
5.7	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	7	0	0	0	0	0	7
6.10	0	14	0	0	0	0	0	14
23	0	116	0	2	0	0	0	118
7.9	0	4	0	0	0	0	0	4
16	2	5	0	1	0	0	1	9
22	0	7	0	1	0	0	0	8
29	0	3	0	2	0	0	0	5
8.5	4	14	0	0	0	0	0	18
13	8	1,192	0	0	0	7	0	1,207
19	2	145	0	0	0	0	0	147
26	6	345	0	0	0	1	0	352
9.9	2	4	0	0	0	0	0	6
22	4	28	1	0	0	1	1	35
10.9	0	0	0	0	0	0	0	0
計	28	1,884	1	6	0	9	2	1,930

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,Cbはカラツイエカを表す。
 7月9日～29日まで牛が不在,8月2日に2頭入り,その後出産13日以降親牛2頭,子牛2頭になる。

表6. 富山県における近年の月別気象要因の年変動 (富山気象台)

因子	月	年 度													平年値
		1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	
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	18.1	16.2	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	22.0	22.8	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	26.8	24.9	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	26.7	26.9	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	23.6	23.9	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	133.6	212.5	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	173.3	157.7	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	196.7	119.6	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	213.3	161.6	200.4
	9	112.5	(156)	129.2	150.4	95.5	125.5	129.9	151.0	134.0	144.9	151.9	112.9	134.4	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	313.5	72.5	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	205.5	182.0	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	214.5	311.0	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	50.0	266.5	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	255.5	190.0	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。

平成18年10月1日

事業検査術式 [7] 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」JaG Ar01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。

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2頭づつを9月末まで13回行っていたが、本年は10月末まで採血を行い合計17回の調査になった。

7月12日～26日の3週間と8月9日に、抗体価が10～20倍と低い豚が10頭みられた (表7)。翌週の8月17日にも抗体保有豚が3頭出現し、その抗体価分布をみると20倍が1例、40倍が1例、640倍以上が1例であった。40倍以上の2頭について2-ME 感受性を調べたところ、2頭とも新鮮感染を示した。その後、抗体保有豚は徐々に増加し、10月4、11日には100%になった。8月中は抗体保有率が15～35%と低かったが、抗体価が40倍以上を示した豚 (8頭) は全て2-ME 感受性であった。9月は抗体保有率が60～85%に推移し、抗体価も320倍以上を示す豚がほとんどになり、2-ME 感受性も77.8～94.1%と高かった。しかし、9月最終週には2-ME 感受性は53.8%に低下した。さらに、10月に入ると抗体保有率は95～100%を示したが、2-ME 感受性は第1週が10%、第2週が42.1%であり、第3週、4週は2-ME 感受性を示す豚は見られなかった。

以上の成績を、昨年と比較すると、2004年は7月13日に抗体保有率が40%になり、2頭の新鮮感染が確認され、その後9月14日には抗体保有率が85%になり、2頭の新鮮感染の豚が確認された。その後、抗体保有率は20～80%と高低を示したが、新鮮感染は11月22、24日になっても確認された。それに対し、2005年は8月3週から抗体保有率が上昇し、10月に100%に達した。新鮮感染は8月3週から10月2週まで確認されたが、そのピークは8月3週から9月3週までと考えられ、日本脳炎ウイルスは8月中旬ごろに富山県内に侵入し、10月中旬まで豚の間で感染が拡大したと考えられる。なお、畜舎周辺で採集したコガタアカイエカ11プール (検査

数180プール; 約7,000個体) から日本脳炎ウイルスが分離・検出され、さらに9月6日、20日採血の豚血清からも日本脳炎ウイルスが分離・検出された (本誌 p. 83～94)。これらの状況は、日本脳炎患者の発生が危惧される状況であったが、幸い患者の発生はみられなかった。

「まとめ」

2005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8月17日に2頭認められ、その後10月11日まで継続して認められる様になった。このことから、富山への日本脳炎ウイルスの侵入は8月中旬と推定され、その後豚の間で感染が拡大・持続したと考えられ、2005年は2004年以上に、富山県における日本脳炎ウイルスの動きは活発であったと推察された。一方、ウイルスを媒介する蚊の発生量と発生消長も2004年と異なり、6月から捕集数は多く推移し、8月に最大ピークを形成する消長を示した。これらの状況は日本脳炎患者が発生する懸念を示したが、幸いに患者発生はみられなかった。

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

[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, 高田ちはる (2002). 富山衛研年報, 25, 74-83.
4. 渡辺 護, 長谷川澄代, 米道暁彦 (2003). 富山衛研年報, 26, 74-84.
5. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道暁彦 (2004). 富山衛研年報, 27, 56-67.
6. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道暁彦 (2005). 富山衛研年報, 28, 52-64.
7. 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。

表7. 平成17年度豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況(2005年)

検体採取日	抗体価								2-ME感受性陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月5日	20 (100)								
12日	17 (85)	3 (15)							
19日	17 (85)	3 (15)							
26日	19 (95)		1 (5)						
8月2日	20 (100)								
9日	17 (85)	3 (15)							
17日	17 (85)		1 (5)	1 (5)				1 (5)	2/2 (100)
23日	13 (76)	2 (12)		1 (6)				1 (6)	2/2 (100)
30日	13 (65)		3 (15)		1 (5)			3 (15)	4/4 (100)
9月6日	8 (40)	2 (10)					2 (10)	8 (40)	9/10 (90.0)
13日	2 (10)						2 (10)	16 (80)	14/18 (77.8)
20日	3 (15)				1 (5)			16 (80)	16/17 (94.1)
27日	5 (25)	2 (10)						13 (65)	7/13 (53.8)
10月4日							3 (15)	17 (85)	2/20 (10.0)
11日			1 (5)		3 (15)			16 (80)	8/19 (42.1)
18日	1 (5)				1 (5)	1 (5)	4 (20)	13 (65)	0/19 (0.0)
25日	1 (5)				2 (10)	1 (5)	12 (60)	4 (20)	0/19 (0.0)
計	173 (51.3)	15 (4.5)	6 (1.8)	2 (0.6)	8 (2.4)	2 (0.6)	23 (6.8)	108 (32.0)	64 (44.8)

- 注 1. 抗体価10倍以上を陽性とみなし、さらに40倍以上を示した血清について2-メルカプトエタノール(2-ME)処理を行ない、ウイルスの新鮮感染を検討した。
2. 表中の数字は観察実数を表わし、括弧内の数字はパーセントを示す。
3. 平成17年度から、2-ME処理によって抗体価40倍から10倍未満に低下した時は2-ME感受性を陽性とした。

富山県の大腸がん発生背景要因に関する 症例対照研究

品川保弘 長瀬博文 松澤孝信 永井美之

A Case-Control Study on the Risk Factors for Colon and Rectum Cancer
in Toyama Prefecture

Yasuhiro SHINAGAWA, Hirofumi NAGASE, Takanobu MATSUZAWA
and Yoshiyuki NAGAI

要 旨 本県における大腸がん発生に関して、特徴的な要因が存在するの可否かを検討するために、県内の大腸がん患者と年齢・居住地域等のマッチする健康対照者との間で、食生活等を比較する症例対照研究を実施した。その結果、ジュースなどの嗜好飲料、これに関連して糖分摂取量の多いこと、また、たらこ・かずのこなどに危険（促進）要因の傾向が見られた。一方、古漬けや山菜、緑黄色野菜や日本茶などは、抑制要因と考えられた。

富山県における大腸がん罹患率ならびに年齢調整死亡率は、近年、男女ともに増加傾向を示している。この背景要因を探るため、富山県がん対策推進事業の一環として、大腸がんに関する疫学的調査を実施した。県下の医療機関において新たに大腸がんと診断された患者と院外対照者との食生活等を比較する、ケース・コントロール・スタディ（症例対照研究）により、大腸がん発生に関与する危険因子や抑制因子を疫学的に解明し、今後の富山県の保健行政に反映させ、大腸がん罹患率の抑制に資することを目的とした。

なお、本研究の内容については、解析データおよび調査に用いた「質問票」等の資料を含めて、別途、報告書を刊行した[1]。

実施方法

1. 概 要

大腸がん患者およびその対照者に、食生活等に関する質問票を配布し、予め記入してもらった。後日、調査員が面接して記入内容を確認し、未記入項目については食品模型等を用いて聞き取りを行い、質問票を完成させて解析用データとした。データは、項目ごとに各患者と対になる対照者との間で解析し、また、量で把握できる項目については、患者群と対照群との間での比較を行った。

医療機関によってはがん告知が積極的に行われているようであるが、告知されていない症例を調査対象と

する場合との条件を一致させる必要があった。また、がんに関する調査であることを明らかにすることが、特に患者にとってバイアスとなる可能性についての事前の検討をなし得なかったことから、本調査にあたっては、症例および対照のいずれに対しても本調査の真の目的は明示せず、食生活を中心とした健康に関する質問調査であるとの趣旨説明を行い、理解を求めた上で協力を要請した。

2. 調査対象

(a) 症例：県内で、大腸がん患者が受診・入院しやすい総合病院の中から、医療圏ごとに1～2の医療機関を選び、最終的に新川医療圏－黒部市民病院・富山労災病院、富山医療圏－県立中央病院、高岡医療圏－厚生連高岡病院、砺波医療圏－砺波総合病院・北陸中央病院の6病院に協力を依頼した。これらの医療機関において新たに大腸がんと診断された患者のうち、154名（男性80名、女性74名）について調査を実施した。面接調査実施時点での患者の最若年者は、男性37歳、女性31歳。最高齢者は男性84歳、女性83歳であった。

昭和62年1月より本県において開始されたがん疫学調査事業（地域がん登録）のデータは、平成14年までの16年分が、「富山県がん疫学調査事業報告書」（富山県厚生部）としてまとめられているが、これをもとにした本調査の聞き取り調査実施期間における大腸がん罹患数の推定値は3,024人であり、患者154名という数

字は、その5%について調査が行われたものと考えられる。

(b) 対照：市町村役場において選挙人名簿を閲覧し、患者1名に対して、性を同じくし、居住地が比較的近く（同一小学校下、ないしは同一投票地区）、年齢差が±5歳以内の人を選挙人名簿より抽出し対照候補者とした。各市町村における地域保健業務担当部局の協力のもと、以下の方法で保健師の方々に対照者の選定をしていただいた。

保健師に候補者リストを当所より送付し、保健師がそのリストの記載順に対照候補者に電話ないし訪問にて調査の趣旨を説明したうえで、協力を依頼した。そして承諾の得られた候補者名を当所担当者に報告していただいた。

報告を受けた対照候補者について、電話帳と住宅明細図により電話番号を確認したうえで、あらためて患者に対して同様の趣旨説明を電話で行い、協力意思を再確認できた方を対照とした。原則、患者1名に対し対照者2名を選定することとした。

候補者のうち、292名について聞き取り調査を実施したが、病歴により1名除外し、最終的に291名が対照群となった。患者：対照 = 1：2でマッチングできたのは139ペアであった。

3. 調査票

平成元年4月から同6年3月にかけて、当所が中心となって行った「富山県における胃がん発生背景要因の疫学的研究」（以下、「胃がん調査」）[2・3]での聞き取り調査に使用した調査票（B5版、見開き8頁）をベースにしたが、これは大阪市立大学医学部公衆衛生学教室で作成された食事調査質問票（改訂第2版、昭和58年7月）を参考にして作成されたものである。これに内外の文献のなかで大腸がん背景要因として記載のある事項を調査項目として新たに加えた。具体的には、家事従事時間（設問11）、運動の有無・種目・時間等（設問12・13）の項目、および排便頻度（設問14）が、その主なものである。また、胃がん調査の際には、淡色野菜ときのこと、饅頭・煎餅類のお菓子とケーキ・スナック菓子のお菓子、ワインとウィスキー等をそれぞれ一まとめにして訊ねていたが、本調査においては区分して調査を行った。

調査票の構成は、「生活」関連14項目、「食事の仕方」関連57項目、「香辛料・調味料」関連12項目、「常用薬など」1項目、「タバコ」関連4項目、「塩味好み（試飲テストを含む）」3項目を加え、合計91項目、小設問249問（必須164問、派生24問、調査員聞き取り61問）とした。調査票は「食生活を中心とした健康に関する

質問票」と題し、A4版、見開き9頁のものを印刷作成した。

4. 調査方法

各医療機関の大腸がん患者担当医あるいは担当看護師長より患者の紹介が入り次第、治療日程と、面接聞き取りを行う調査員の日程とを総合的に勘案し、症例としての最終選定と調査日程を決定した。面接予定日の1日以上前に、看護師長を通じて患者に質問票を渡して、可能な限り事前に記入していただいた。

調査員には栄養士の有資格者6名を依頼した。面接は、調査員が予め決められた日時に医療機関に出向き、各病院内の栄養相談室等の個室を利用して行われた。聞き取りは質問票の質問項目の順番に従い、既に記入してある箇所については再度確認し、未記入箇所については、説明を補足したり、食品模型や食品写真を使用して回答を得たうえで、質問票を完成させていった。

「塩味好み」についての試飲テストは、S社（本社栃木県足利市）より市販されている「粉末お吸いもの」（3g/パック）1袋をお椀に入れ、携帯魔法瓶中の熱湯150ccを注ぎ、粉末が均一に溶解したものを、被面接者の好みの温度まで冷ましてから試飲してもらった。この状態での試飲液の塩分濃度は1.02%であった。

質問項目の中に、家族について訊ねる項目や、食品の摂取量、調理方法を問う項目もあったことから、回答にあたって配偶者その他、家族等の同席を希望される場合は、すべて被面接者側の自由とした。

対照者には、事前に保健師を通じ、または当所より郵便にて質問票を送付し、事前の記入を依頼した。電話にて面接日時を決定したうえで、指定された場所へ調査員が出向き、患者の場合と同様に聞き取り調査を行った。場所については、自宅、職場等を問わず、被面接者の希望を最優先とした。

5. 解析方法と対象

(ア) 定性的データ：既往歴、家族歴、生活に関する項目等、回答が「あり」か「なし」となるような定性的データは、一方を「要因あり」、他方を「要因なし」として、マッチドペア分析によりオッズ比を算出し、「要因あり」と大腸がん罹患との関係を統計学的に検定した。解析対象は、患者：対照 = 1：2 のマッチングが成立した患者139名、対照278名であった。なお、マッチドペア分析において、解析対象者が著しく少数となった場合は、通常の2×2のχ²検定を実施した。

(イ) 順序データ：生活強度、生活習慣、食事の仕方、食品摂取頻度等の順序データは、傾向性のχ²検定

(コクラン・アーミテージ検定)を行い、順序データの上昇(または低下)と大腸がん罹患との関係を検討した。

解析対象は、患者154名、対照291名であった。順序データは、対照群の順序データの分布において、中央値以上またはそれを超えるような群を「要因あり」、それ未満を「要因なし」と定義した。そして、マッチドペア分析によりオッズ比を算出し、「要因あり」と大腸がん罹患との関係を統計学的に検定した。

(ウ) 定量的データ：修学年数や身長、体重、食事時間、喫煙本数、食品(群)摂取量等の定量的データは、患者群と対照群の平均値を、対応のあるt-検定、またはStudentのt-検定にて比較した。解析対象は、患者152名、対照291名であった。

対応のあるt-検定は、患者と対応する対照とを比較することで検定した。

(エ) 結果一覧表(表1-1~表1-4)

各質問項目について、その有意性の有無を、分析・検定法ごとに比較総覧できるよう、一覧表にまとめた。

6. 調査期間

平成10年4月~平成18年3月。

結果

1: マッチドペア分析のオッズ比

婚姻に関して、現在配偶者がいることが、それ以外の場合(未婚・離別・死別)に比べ、リスクを有意に下げている(設問5)。配偶者と死別した場合は、それ以外(未婚・有配偶者・離別)の場合と比較すると、リスクを上げていた。

肥満度判定の指標として一般に知られているBMIに関しては、この値が25以上と25未満との間で比較すると、30年前に当時20歳以上であった場合に限れば、25以上と高値であることがリスクを上げていた(設問6・8)。

家族歴死因について、大腸がん(直腸がんを含む)罹患者が、全家族、両親、同胞のどの範囲内に居たとしても、それが居ないこととの間で、有意差は認められなかった(設問10)。

運動に関しては、「現在、何かしている」ことも、「定期的な運動習慣がある」ことも、リスクにはなんら影響を与えていなかった(設問12)。しかし、現在「運動不足気味であると思う」こと自体が、リスクを下げている(設問13)。

生体にとって有害な物質の、腸内滞留時間と密接に関連すると思われる排便頻度については、なんら関連

は認められなかった(設問14)。

食事の仕方では、昼食や夕食を決まった時間に食べることがリスクを下げている(設問16)。

食事についてなんらかの注意をするものが対照者に多く、そのこと自体がリスクを有意に下げているが、その注意のきっかけは、病気や医師の指示とは無関係であった(設問18)。具体的な注意内容としては、食事全体の栄養バランスに気をつける、塩分の摂取量を減らすよう心掛ける、脂肪分の摂取量を減らすよう心掛ける、ビタミンA含有食品の摂取量を増やすよう心掛ける、ビタミンC含有食品の摂取量を増やすよう心掛ける、刺激の強い香辛料の摂取量を減らすよう心掛ける、無農薬食材を用いた食品の摂取を心掛ける等の注意がリスク軽減につながっていることが窺われた(設問18)。

外食の際に最も多い料理の傾向については、和食・洋食・中華の間で、有意な差異は認められなかった(設問21)。

油料理を食べる頻度を週4回以上と4回未満とで区分して比較したが、有意差は無かった(設問24)。

食事における米飯頻度については、30年前に関し、昼食時の米飯摂取が毎日であることがリスク要因として認められた(設問27)。

めん類摂取杯数は、30年前に関してのみ、1日0.1杯以上の場合が1日0.1杯未満の摂取に比べて、リスクを下げている(設問27)。

米飯の食べ方に関しては、カレー・チャーハンを週1回以上食べることがリスクを上げていた(設問27)。

めん類の食べ方に関しては、うどんを週1回以上食べることがリスクを下げる傾向にあった(設問27)。

パンの食べ方に関しては、マーガリンをつけて食べることがリスクを下げている(設問27)。

日常の食事における個々の食品については、まず、牛乳の摂取頻度を「毎週4回以上」と「4回未満」とで区分した場合に、前者がリスクを下げるということが認められた。この傾向は、最近一年間および30年前のいずれでも認められたが、30年前のほうが、より強く認められた(設問32)。

チーズ類に関しては、30年前については、「月1回以上」と「食べない」で区分した場合、前者がリスクを下げていることが示された(設問34)。

肉類については、現在、30年前ともに、週1回以上食べることが、週1回未満の場合に比べ、リスクを下げる方向にはたっていた(設問35)。

たらこ・かずのこの摂取が月1回以上の場合、食べない場合に比し、リスクを上げていた(設問40)。

一夜漬けの摂取頻度が週1回以上の場合、週1回未満

に比べてリスクを上げていた(設問48)。

一方、古漬けに関しては、現在、30年前ともに、週1回以上食べることが、週1回未満の場合と比べて、リスクを下げていた(設問49)。

山菜については、現在、30年前ともに、月1回以上の摂取が、食べない場合と比較して、リスクを下げる方向が示された(設問52)。

日本酒の摂取については、30年前に月1回以上飲んだ場合が、全く飲まなかった場合に比べ、リスクを下げていた(設問66)。

ビールも同様に、30年前に月1回以上飲んだ場合が、全く飲まなかった場合に比べ、リスクを下げていた(設問67)。

香辛料の中では、にんにくについて、30年前の使用頻度が月1回以上の場合に、全く使用しない場合と比べてリスクを下けていることが認められた(設問74)。

喫煙関連では、家庭や職場で、周囲にタバコを吸う人がいる、つまり多少なりとも間接喫煙を強いられていることが、リスクを上げていることが認められた(設問88)。

塩味の好みについては、「塩辛い味付けを好む・好まない」の違いは、リスクに対してなんら影響を及ぼしていなかった(設問89)。すまし汁の試飲テストでも、日常的に摂取している汁物との比較において、これを塩辛いと感じる場合と、同じあるいは薄いと感じる場合とで、リスクにはなんら差異は認められなかった(設問91)。

2：傾向性の χ^2 検定による量反応関係の検定

職業を尋ねる際、生活活動状況を具体的に尋ね、生活活動強度について傾向性の χ^2 検定を行った。いずれの場合も対照群の生活活動強度が軽い傾向がうかがわれたが、統計学的には有意ではなかった(設問4)。

排便頻度については、女性の場合、最近1年間の1日あたりの頻度が高い傾向が、対照群に有意に認められた(設問14)。

食事の量と満腹感に関する調査では、30年前にいつも満腹感を覚えるくらい摂食するものが患者群に多かった(設問19)。

油料理を食べる頻度に関しては、患者群と対照群との間で、その傾向に差異は認められなかった(設問24)。

めん類の1日平均摂取杯数を30年前で比較すると、対照群で有意に多い傾向が認められた(設問27)。

牛乳を飲む頻度に関しては、30年前の場合、少ない、あるいは全く飲まないものが患者群に多い傾向が明らかに認められた(設問32)。

チーズに関しても、30年前の場合、食べる頻度が低

いか、あるいは全く食べないものが患者群に多かった(設問34)。

肉類に関しては最近1年間および30年前ともに、患者群において、摂食頻度が低い傾向が認められた。最近よりも30年前の有意差が大であった(設問35)。

ハム・ソーセージ類の摂食頻度に関しては、30年前の場合、患者群でその頻度が低い傾向が認められた(設問36)。

たらこ・かずのこを食べる頻度については、最近1年間で、患者群での摂取頻度が高い傾向が認められた(設問40)。

にんじん・ほうれんそうを除く、その他の緑黄色野菜の摂取頻度に関して、最近1年間で、患者群に、摂取頻度の低いものの多い傾向が認められた(設問47)。

古漬は、最近1年間および30年前ともに、患者群で摂食頻度の低い傾向が認められた。最近1年間での差異が、より強く認められた(設問49)。

山菜は、最近1年間および30年前ともに、患者群で摂食頻度が低かった(設問52)。

きのこは最近1年間で、患者群での摂取頻度が低かった(設問54)。

ジュース類の摂取頻度は、患者群で高かった(設問60)。

日本茶の摂取頻度は、最近1年間、30年前ともに、患者群で有意に低かった(設問61)。

ビールについては、患者群で30年前の摂取頻度が低かった(設問67)。

香辛料の中では、唐辛子の使用頻度が患者群で有意に少なかった(設問72)。

にんにくの使用頻度は、最近1年間、30年前ともに、患者群で有意に少なかった(設問74)。

サンプルのすまし汁を「うすい(塩辛くない)」と感じるものが、患者群に有意に多かった(設問91)。

3：対応する2群の平均値の差の検定

生活のこと、食事の仕方、喫煙等について、対応する2群の平均値の差の検定を行った。

生活のことでは、対照群に比較して患者群では有意に修学年数が短かった(設問3)。

体重をみると、最近1年間の体重が、患者群で有意に少なかった(設問7)。また、最近1年間のBMIが小さいことが、患者群に認められた(設問6、7)。

食事時間の長さに、差異は認められなかった(設問17)。

タバコに関しては、喫煙年数、喫煙本数、プリンクマン指数、非喫煙者の場合の受動喫煙曝露時間等のいずれについても、患者群と対照群の間で、有意な差は

認められなかった(設問86~88)。

食事の仕方についてみると、対照群に比べて患者群での摂取量が有意に多かったものは、塩辛・つくだ煮(設問39)、たらこ・かずのこ(設問40)、菓子類(饅頭・煎餅)(設問58)、ジュース類(設問60)、コーヒー(設問64)、砂糖を入れる飲料杯数(設問65)であった。逆に、患者群に比べて対照群での摂取量が有意に多かったものは、かまぼこ・ちくわ(設問41)、にんじん(設問45)、その他の緑黄色野菜(設問47)、古漬け(設問49)、山菜(設問52)、その他の淡色野菜(設問53)であった。

食品群に分けて食物摂取量を比較してみると、患者群では1日当りの野菜類摂取量が有意に少なかった。

考 察

今回の調査結果および解析により、幾つかの大腸がん発生関連要因が浮かび上がってきた。そのひとつが、修学年数の長短である。患者群に比べて対照群の修学年数が有意に長かった。つまり修学年数の長いことが、大腸がん発生リスクを下げる要因となることを示していた。かつて本県において実施した「胃がん調査」の際にも、同様の結果が得られた[2・3]。

修学年数が長い、つまり高学歴であるということは、その後の就業に際し、労作強度、生活活動強度の相違を生ぜしめる可能性がある。しかしながら、今回の調査では生活活動強度の面では、患者群と対照群との差異は認められなかった。一方、学歴の差異は社会階層の高低につながるものが想定されるとともに、職場環境や生活環境によって、入手し得る知識、とくに健康問題やがんに関する情報量に差異が生じている可能性は否定できないと思われる。食事をする上でなんらかの注意を払う、何かを心掛けるといった回答が健康対照群に多い背景のひとつとして、この修学年数の問題は注意しておくべきであろう。

婚姻に関しては、「有配偶者」と「それ以外」とでは前者が罹患リスクを下げる方向に、また、「死別」と「それ以外」とでは前者が罹患リスクを上げる方向に働く要因として認められた。必ずしも一概には言えないが、有配偶者であれば複数の家族で食卓を囲む機会も多いのであろうし、食卓に盛られる食品、料理も多種にわたり、結果としてバランスのとれた食品・栄養摂取が、がんのみならず、種々の生活習慣病の予防に寄与している可能性は十分考えられる。また「有配偶者でないこと」や「死別」により、食事内容のバランスが失われたり、単調になったりすることが、がん罹患のリスクを高める方向に作用することが考えられ

る。

体重について、対照群に比べて患者群の最近1年間の体重が軽いという結果が得られた。しかし、これについては、30年前の体重に差異が認められなかったことから、体重の重いことが罹患リスクを下げるのではなく、がんを罹患することによる体調不良等の理由により、相対的に患者群の体重が減少していると解すべきものと思われる。

BMIに関して、25以上であることが、最近1年間についてはt検定で罹患リスクを下げる方向に、30年前(調査時点で年齢50歳以上の患者のみ対象)についてはマッチドペア分析にてリスクを上げる方向に関連することが示された。BMIの高低に関しては、食事内容、特に脂肪摂取量や、運動負荷の問題に関連付けて考察すべきだと思われるが、本調査における関連質問(運動、油料理)からはこれを裏付けるような明確な傾向は認められなかった。罹患後は、体調の変化やこれにともなう食事内容の変化が多少なりとも影響して、BMIが低値を示したのではないかと想像される。しかしながら、分析手法によっては有意差が認められないことから、さほど強力な要因とは言いがたい。

前項との相関が期待されたテーマであるが、運動に関しては、現在「運動不足気味だと思う」ことが、リスク軽減につながっていることが示された。ただし、たとえ運動不足気味であるという意識があるとしても、それが実際に日常的な運動やスポーツの実践につながっているとの結果は得られなかった。

排便頻度に関しては、発がん関連物質の腸内滞留時間の長短と大腸がん罹患との相関が古くから指摘されていることから、その回答が注目された。最近1年間に関し、女性の場合、毎日1回以上の排便がリスク軽減につながっていることが、傾向性 χ^2 検定で認められた。

決まった時間に食事を摂るか否かに関しては、昼食および夕食を決まった時間に摂っている傾向が対照群に認められた。食事時間の定刻化は、規則正しい日常生活を送る上で必須と考えられ、内臓、とりわけ消化管への過重な負担を回避し、ひいては体調維持管理に資することにより罹患リスク軽減へつながることが推察される。

食事に関して、何らかの注意を払っているかと尋ねた設問では、「食事に注意している」「栄養バランスに気をつける」「塩分摂取量を減らす」「脂肪分摂取量を減らす」「食物せんい摂取量を増やす」「ビタミンA含有食品摂取量を増やす」「ビタミンC含有食品摂取量を増やす」「強刺激香辛料の摂取量を減らす」「無農薬食品摂取を心掛ける」等が、罹患リスクを軽減する要

因になりうることを示された。しかしながら、いくら「気をつける」「心掛ける」と考えていたとしても、実際の摂取量等に裏打ちされた結果と言えるのか否かまでは、解析に至っていない。

食事の量と満腹感に関する聞き取りでは、満腹が罹患リスクを高めることが傾向性の χ^2 検定で見いだされた。具体的には、30年前について、「満腹になるまで食べる」と答えたものが患者群に、「腹八分目ほどで食事を終える」と答えたものが対照群に多かった。満腹感は摂取食事量の多さを示していると考えられるが、このことは消化管に負荷がかかる時間が長く、比例して、消化内容物や糞便との接触時間も長くなることが考えられる。また、本調査では明確な相関を見出すには至っていないが、消化吸收機能や排便頻度、さらには運動量などに差異が無ければ、食事量と体重やBMIとの間には、それなりの相関が生ずると思われることから、満腹感が得られる量の食事を摂り続けることと罹患リスク上昇とを関連づけることは可能と思われる。

設問27から69における、個々の食品・嗜好品の一日あたりの摂取量を計算し、「穀類」「乳類」「肉類」「魚類」「豆類」「野菜類」「果実類」「嗜好飲料類」「アルコール類」に9分し、患者群と対照群との間で、それぞれの平均値を比較した。対照群において野菜類の摂取量が有意に多く、罹患リスク軽減につながっていることが窺えた。大腸がんや洋風食事ないし食生活の欧米化との関連がかねてより指摘されているが、肉類の摂取量に差は無かった。一方、食物繊維による大腸がんリスク軽減の可能性についての研究も少なくないことから、豆類や野菜類の摂取量が注目されたが、野菜類摂取量にのみ差が認められた。しかしながら本調査では、野菜類が栄養素として含有するであろうビタミン類や繊維質と、罹患リスク軽減との間の関連を解析するには至らなかった。

米飯摂取については、30年前に関して、昼食に米飯を食べる頻度が高い（毎日食べる）ことがリスクを上げるとの結果が得られた。詳細は不明ながら、昼食時にもしっかり満腹感の得られる食事量を摂っていると言えるのかも知れない。

めん類の摂取杯数については、1日に0.1杯以上、つまりひと月に3杯以上の摂取（30年前）で、リスクを軽減していることが認められた。しかし、ここでは具体的なめんの名称を把握するには至らなかった。

カレーやチャーハンを週1回以上食べることがリスク上昇につながるとの結果が得られたが、強いて推測するならば、刺激の強い香辛料の摂取量が増加することと関連付けられるかも知れない。

うどんを週1回以上食べることがリスク軽減につながることを示された。摂取量までは把握できなかったが、うどんは一般的に「消化しやすい・腸にやさしい・腹持ちしない」と評されることが多く、「腸内滞留時間が短い」という観点からも、リスク軽減につながる可能性が考えられる。

統計少数例分析ながら、パンにつける調味嗜好品のなかで、マーガリンを使用することがリスク軽減につながることを示された。植物性油脂由来であり、不飽和脂肪酸含有量の多いこと、動物性油脂由来のバターと異なり、肥満やBMI増加につながりにくいという側面があるのかも知れないが、詳細は不明である。

牛乳については、現在および30年前のいずれについても、その摂取がリスク軽減に役立っていることが認められた。富山県民一人あたりの牛乳消費量は、おそらく日本人の平均値とあまり変わらないと思われるが、欧米人に比べると圧倒的に少ないはずである。日本人に比べて大腸がん罹患率が高いといわれる欧米人の牛乳消費量が多いことから、牛乳が大腸がん予防には寄与していないのではないかと考えられるが、むしろ牛乳は栄養価が高くバランスのとれた食品として、リスク軽減に関連しているのではないと思われる。

乳製品のひとつであるチーズについては、月に1回以上食べることが、食べない場合に比してリスク軽減効果のあることが、30年前の摂取について認められた。チーズにも種々あるが、全般的にビタミンAやカルシウムの含有量が豊富であり、また、たんぱく質と脂質のバランスに優れた食品であることが、健康維持といった面でプラスに働いているものと思われる。

肉類の摂取に関しては、最近1年間、30年前ともに、週に1回以上食べることがリスクを下げる要因となっていることが示された。一般的に、肉類摂取量増加、つまりは食事の欧米（洋風）化が我が国の大腸がん罹患数増加と無縁ではないと考えられているが、ことはそう単純な話ではなさそうである。増えてきたとは言え、日本人一人あたりの肉類摂取量は欧米人に比べてまだまだ少ないと思われること、肉類を食す際の付け合せ緑黄色野菜など、日本人の食文化は多様性に富み、またバランスが良いことは、容易に推測できる。肉類が促進要因であると仮定した場合でも、これを消去あるいは中和するのに余りある抑制要因としての野菜類等を摂取していれば、肉類はもはや促進要因とはなりえないだろう。ただし、患者群と対照群との間で、平均値としての一日当たりの肉類摂取量には差異が無いことから、一つの考え方として、頻度的には少ないものの、一度の食事で食べる量については、患者群の方が多という可能性は考えられる。一方、肉にも様々

な種類があるが、本調査においては「牛・豚・鶏・鯨」の全てを一まとめにして訊ねざるを得なかった。また、同じ牛肉であっても、肉の種類、つまり部位によって、さらには調理方法によっても、例えば脂肪分の比率などが変わってくるであろうが、そのあたりまで踏み込んだ聞き取りは、実現できなかった。

ハム・ソーセージ類について、30年前の摂取がリスク軽減に関与している傾向が認められた。全く食べないものが患者群に多く、週4～6回以上食べるものが対照群に多かった。その背景を考察することはいまだ困難であるが、肉の加工品の場合、酸化防止剤としてビタミンCがかなり大量に添加されているため、これが抗酸化的に作用する可能性については検討の余地があるかも知れない。

塩辛・つくだ煮については、患者群での摂取量の多いことが、対応のあるt検定で有意であると認められた。また、データは示していないが、マッチドペア分析においても、摂取頻度の切り分け位置によって、有意となることが確認されている。

たらこ・かずのこについては、今回の解析に用いた全ての分析検定法のいずれによっても、大腸がん罹患リスクを上昇させる傾向を、有意に示した。前述の塩辛等とともに、これらもいわゆる魚介類加工品であり、栄養学的に見ればたんぱく質が占める比率が高い。さらに、たらこに関してはコレステロール含有量が多いこと、また、かずのこについては塩分量の多いことが特徴として指摘しうるが、後者の塩分の問題が注目されるところであろう。食塩は、胃がん発生におけるプロモーター（促進因子）と考えられているが、大腸がん発生に際しても、それ自身がプロモーターに、あるいは別な化学物質からのプロモーター生成に関与していることが推定しうる。

かまぼこ・ちくわが、対応のあるt検定によって、大腸がん罹患抑制因子である可能性が示されたが、これらは一般的には「ねり製品」と総称されるものである。栄養学的にはたんぱく質と糖質が大半を占めているが、蒸しかまぼこ、蒸し焼きかまぼこの特徴としては、エイコサペンタエン酸（EPA）、ドコサヘキサエン酸（DHA）のような、 ω 3系列の不飽和脂肪酸含量が多く、これが発がん抑制に寄与している可能性が考えられる。

にんじん摂取および、その他の緑黄色野菜の摂取が罹患リスクを下げる方向にはたらくことが示された。にんじんと言えば、モロヘイヤやパセリとともに、単位重量あたりのビタミンA含量が非常に多い野菜のひとつであり、ビタミンAに関してはかねてよりがん予防効果が期待されている。しかしながら、近年相次い

で発表された海外での化学予防介入試験の結果からは、ビタミンAや、その前駆物質であるベータカロテンに、強力ながん予防効果は期待できないだけでなく、逆に、がんを促進する可能性までもが示唆されている。一方、広く緑黄色野菜というくくりでは、ほとんどあらゆる部位のがんについて、抑制的に働いていることが多くの疫学研究によって報告されており、本調査における結果は、それらと合致したものと言えるだろう。

一夜漬けと古漬けとでは相反する傾向が示された。つまり、一夜漬けでは罹患リスク上昇、古漬けでは罹患リスク低下である。古漬けに関しては最近一年間および30年前のいずれにおいても、用いた解析法の全てで、抑制要因として有意であると認められた。漬物の仕込みには大量の食塩を使用することから、摂食時に水洗いしてある程度塩分を除去するとは言え、日本人の日常的な食品の中でも、高塩濃度の食品と言えるであろう。それゆえ、一夜漬けについて示されたように、罹患リスクを上げる方向に作用することは容易に理解できるが、古漬けが抑制的に働くことを説明するための十分な知見は、現時点では見いだし得ない。患者群・対照群それぞれにおける一夜漬け・古漬けの摂取量を比較してみると、対照群では両者がほぼ同量であるのに比べ、患者群では古漬けが一夜漬けの半量にも満たない。言い換えれば一夜漬けの摂取量は患者群・対照群ともほぼ同量であるのに、古漬けでは、患者群の摂取量が対照群のほぼ半量となっていることは注目に値するかもしれない。参考までに述べると、以前実施した胃がん調査においても、傾向性の χ^2 検定によって、最近1年間の古漬け摂取頻度の低いものが患者群に多いことが示されていた。

キュウリ・キャベツ・レタス・トマトは一まとめにしてその摂取量や頻度を訊ねたが、この方法は、以前行った胃がん調査時の質問スタイルを踏襲したことによる。トマトについては、これだけが緑黄色野菜に分類されること、また、ビタミンAや、色素成分カロテノイドの一種で近年その抗がん作用が注目されているリコペンを大量に含有することから、切り離した設問とすべきであったと悔やまれる。

山菜についても、本調査に用いた全ての解析法によって、現在および30年前のいずれの場合も、その摂取頻度の高いことが罹患リスク軽減に関与していることが認められた。ひとくちに山菜と言っても、たららの芽やふきのとうは緑黄色野菜であり、たけのこ、うど（軟化栽培もの）、わらびなどは淡色野菜に分類される。緑黄色野菜であれば、カロチンが相当量含有されていることは事実であるが、山菜全体としては、食品標準成分表で見ると、とくにこれといった栄養学上の特

徴は見出せない。また、山菜の大半は旬の時期が限られていることが多く、年間を通した総摂取量から一日あたりの摂取量を計算すると、野菜類の摂取量に占める比率は小さく、このことが患者群と対照群との間の差異を生じやすくしているように思われる。しかしながら摂取頻度に関する傾向性 χ^2 検定においては、明らかに患者群に山菜を全く食べないものの多いことが、最近1年間、30年前ともに、認められている。

他の淡色野菜については、対応のある t 検定によってリスク軽減に資することが示された。つまり、患者群に比し、対照群での摂取量が有意に多かった。本調査における、いわゆる野菜系の食品の中で、一日あたりの摂取量の一番多いのが淡色野菜である。緑黄色野菜に比べて単位重量あたりのビタミン類の含量などについては見劣りするものの、摂取量から換算される食物繊維量といった観点からは、大腸がん罹患リスク軽減に寄与していることが容易に推定しうる。

きのこについては毎日1回以上食べるものが対照群に多く、全く食べないものが患者群に多かった。きのこは生で食することは比較的少ないと思われるので、その調理法まで踏み込んだ調査をすべきであろうが、今回はそこまでには至らなかった。また、きのこはその種類が多いこと、シイタケひとつでも、「生」と「干し」に分けられることなどから、個々のきのこの関連も興味もたれるところである。さらに、干しいたけの場合には、単位重量あたりの食物繊維量は、ほとんどあらゆる野菜類のそれを大きく上回っている。エネルギー量の少ない食品として注目されているが、大腸がん罹患リスクとの関連からは、高食物繊維含有食品との観点こそが重要であろうと思われる。

饅頭・煎餅類の摂取量が患者群で多いとの結果が得られたが、これはやや意外な結果かもしれない。一般的に、和菓子に分類される饅頭や煎餅の場合は脂肪分が少なく、栄養成分の大半を糖質が占める。高脂肪食と大腸がん発生との相関はかねてより指摘されているが、その観点からみると、饅頭や煎餅と大腸がんとは、無縁であることが期待される。しかし、おなじ饅頭と称される菓子のなかにも中華饅頭のようにたんぱく質や脂肪分の多いものもある。煎餅についても、揚げ煎餅の類は脂肪含量が高く、スナック菓子に分類すべきものが含まれる。本調査に使用した質問票を作成する際に、このあとで述べるケーキ・スナック菓子は脂肪分の多い洋菓子として、和菓子からの区別を図ったつもりだが、回答がこの意図に合致しなかったのかもしれない。

ケーキ・スナック菓子については、30年前の状況に関し、月に1回以上食べることに、全く食べないこと

との間で比較するマッチドペア分析では有意差は見られなかったが、切り分け位置を頻度の高い方に変更すると、若干の有意差が生じることが確認されている。しかしその場合、患者群の摂取頻度が若干低い傾向が見られ、一般論として語られる、洋菓子やスナック菓子類の摂取は控えるべきとの説とは相容れない。

ジュース類については、対応のある傾向性の χ^2 検定、 t 検定の両方で、その摂取がリスクを上昇させると分析された。毎日1回以上ジュース類を飲むものの割合は患者群が2倍以上であり、一日あたりの摂取量も2倍近い値が得られている。ひとくちにジュースと言っても、その成分は千差万別ではあるが、糖質源としての位置付けが一般的であろう。

日本茶については、傾向性の χ^2 検定によって、最近1年間・30年前のいずれにおいても、摂取頻度の高いこと、つまり飲む杯数の多いことが大腸がん罹患リスク軽減に寄与していることが示された。データからは、一日2～3杯の日本茶喫飲でリスク軽減効果を得られることが読み取れる。緑茶によるがん予防効果の可能性については、その主要成分であるポリフェノール的一种、カテキン類の作用として多くの研究で言及されているが、一日に5～6杯以上飲むことが必要であるとする報告が多い。これとは逆に、高濃度のカテキンによるDNA損傷の可能性を示唆する実験データが最近公表されており、がん予防、罹患リスクと日本茶との関わりについては、今後なお一層の検討が必要と思われる。

嗜好飲料の代表的なもののひとつであるコーヒーについては、患者群においてその摂取量が高いことが、対応のある t 検定によって示された。近年、コーヒーの健康面へのプラス方向への寄与が喧伝されることが多い。いわゆる善玉コレステロールと称されるHDLの血中濃度を高める、胃液分泌促進を介して消化を助けるといったことがその背景にあるものと思うが、これらとは逆向きの結果が示されたことにより、コーヒーそのものだけでなく、飲み方といったものにも注意を払わねばならないかもしれない。つまり、喫飲のタイミングとしての食後と食間の相違や、同じ食間であっても、コーヒー単独喫飲の場合と、茶菓と組み合わせる場合とでは、消化器系への負荷が異なることも考えられる。さらには喫煙習慣の有無との相関も検討すべきではあるが、現時点では多変量解析をするには至っていない。

コーヒーや紅茶に砂糖を入れるかとの質問に対し、マッチドペア分析においては患者群と対照群との間に差は見られなかったが、対応のある t 検定において、一日当たりの飲料杯数に差のあることが認められた。

本県における胃がん調査においても、同様の結果が得られているが、糖質摂取量の多寡と消化器系がん罹患との関連を探る上で、興味深い知見かもしれない。

アルコール飲料の中では、日本酒とビールについて、30年前の摂取がリスク軽減に関連している可能性が示された。日本酒については、マッチドペア分析によって、ビールについてはマッチドペア分析及び傾向性の χ^2 検定によって、月1回以上の飲酒が罹患軽減に寄与していることが示された。誤解してはならないのは、この結果が、飲酒を積極的に、とりわけ、多飲を推奨するものでは決してなく、量をほどほどに抑えられるのであれば、全く飲まないよりも良さそうだといった意味合いと解すべきことである。本調査対象者の、一日あたりの摂取アルコール飲料総量からアルコール摂取量を計算すると、患者・対照ともに、ほぼ17gである。厚生労働省の多目的コホート研究によれば、アルコール摂取は量依存的にがん死亡や総死亡のリスクを上げるとされているが、全く飲まない場合や、時々飲む場合よりも、週に1~149gの範囲でアルコールを少量摂取する場合の方が死亡率が低下しており、適量の飲酒習慣は相対危険度を下げることがあるとされる。本調査の17gという数値は週あたりに換算すると119gであり、上記の範囲内に収まっている。

香辛料・調味料の中では、唐辛子が傾向性 χ^2 検定(最近1年間)で、にんにくがマッチドペア分析(30年前)と傾向性 χ^2 検定(最近1年間, 30年前とも)によって、リスク軽減への関与が示された。がんのみならず、生活習慣病予防のために気をつけたいこととして、塩分摂取を控えめにするよういわれているが、使用を控えた食塩に替わって、これらのスパイス調味料が愛用されているのかも知れない。しかしながら、香辛料や調味料を単独で喫食することは通常考えられず、これらが使用される料理における他の食材、あるいはその調理法にリスク軽減への鍵が隠されている可能性は否定できない。

喫煙に関しては、本人の喫煙歴、禁煙歴、ブリンクマン指数のいずれも、対応のあるt検定による有意差は見られなかった。しかしながら、家庭や職場で周囲にタバコを吸う人がいるかどうかというかたちで受動喫煙の有無を尋ねたところ、マッチドペア分析により、患者群で受動喫煙ありの傾向が強いことが明らかとなった。専門家による推計では、がんの二大原因は食事と喫煙であり、がん罹患への寄与率はともに30%程度と言われている。また、喫煙と呼吸器系のがんとの関連は容易に想像できるが、消化器系のがんとの関わりは一般の方々には想像しにくい。しかし、内外の成書には、喫煙が大腸がんの罹患リスクを高める可能性がある

ことが明記されている。能動喫煙については有意ではなかったとしても、受動喫煙によるリスク上昇の可能性が示されたことは、興味深い。

最後の質問ではサンプルすまし汁の味見をしていたが、普段の食事の際に飲む汁物と比較して、このすまし汁をうすいと感じるか、同等くらいか、あるいは濃いと感じるかを尋ねた。傾向性の χ^2 検定によって、うすいと感じるものが患者群に、濃いと感じるものが対照群に多いことが明らかとなった。この調査では、塩分摂取量を詳細に把握するような質問票とはなっていないことから、塩味の好みに関する質問への回答内容から推定する手法をとったが、サンプルすまし汁をうすいと感じたことから、患者群の中には、日頃塩分濃度の高い汁物を好んで飲むものが多いという傾向がうかがわれた。

富山県下という限られた地域内で、大腸がんに焦点をあてながら、生活習慣から食習慣などについて、幅広い内容で聞き取りを行うという調査は、平成元年から同6年にかけて実施した胃がん調査に続き、二度目のことであった。ケース・コントロール・スタディ(症例対照研究)であることから、受診患者数の多い、それなりの規模を有する医療機関の協力なしには決して行い得ない調査であったが、幸い県内6つの総合病院の協力を得て、最終的に解析可能なデータを、154名の患者さんから、またこの2倍弱にあたる291名の健康対照者の方々からいただくことができた。得られたデータはすべて解析の対象としたかったが、調理方法に関する聞き取りが不完全であった回答が多く、これに基づく解析評価は断念せざるを得なかった。解析法については、ケース・コントロール・スタディという枠組みの中で最も適切と考えられるいくつかの方法を使い分けたが、複数項目の組合せによる多変量解析など、あらゆる角度からの検討も含めて今後も推し進めたい。

まとめ

富山県における大腸がんは、罹患率・死亡率ともに、全国平均よりやや高めではあるものの、高位順位で見るとほぼ中位である。しかし、部位別がんによる死亡率の変遷を比較すると、平成2年頃より他の部位を圧倒して、急激な死亡率の上昇が本県においても認められる。本県においてもっとも特徴的と言われた胃がんが、ここ20年ほどの間に横ばいから減少に転じているのとは対照的に、肺がんとともに、対策を構ずべきがんの筆頭にあげられる。このような背景から、本県のがん対策推進事業の一環として、本調査は企画・実

施された。過去に内外で行われた分析疫学的研究の中で、大腸がん発生との関連が指摘されている要因および関連が疑われている要因、さらに情報化社会ゆえに一般の方々にも知識として広く認識されているリスク要因と本調査結果との異同について、考察のなかで言及を試みた。

データの解析にはマッチドペア分析、傾向性の χ^2 検定、対応のある平均値の差のt検定を用いた。設問に対する回答方法および集積されたデータによっては、全ての解析方法を適用できないものもあったが、二つ以上の解析方法により有意であると判定された項目は、リスク要因である可能性が高いものと考えられる。

全ての解析方法で有意であると判定された要因は、たらこ・かずのこ（最近の摂取頻度・量の多いことが促進要因）、古漬け（最近の摂取頻度・量の多いことが抑制要因）、山菜（最近の摂取頻度・量の多いことが抑制要因）であった。

二つの解析方法で有意であると判定された要因は、めん類摂取杯数（30年前に1日0.1杯以上の摂取が抑制要因）、牛乳（30年前の摂取頻度の高いことが抑制要因）、チーズ類（30年前の摂取頻度の高いことが抑制要因）、肉類（最近および30年前の摂取頻度の高いことが抑制要因）、他の緑黄色野菜（最近の摂取頻度・量の多いことが抑制要因）、古漬け（30年前の摂取頻度の高いことが抑制要因）、山菜（30年前の摂取頻度の高いことが抑制要因）、ジュース類（最近の摂取頻度・量の多いことが促進要因）、ビール（30年前の摂取頻度の高いことが抑制要因）、にんにく（30年前の摂取頻度の高いことが抑制要因）であった。

以上の結果に、ひとつの解析方法のみで有意と判定された項目を加えて総合的に判断すると、古漬けも含めて、野菜類の摂取量の多いことが抑制要因として認められた。嗜好飲料ではジュース類やコーヒーの摂取が患者で有意に多く、促進要因と考えられた。また、砂糖を入れて飲む飲料の杯数が患者群で有意に多く、

糖分の摂取量の多さが促進要因となっている可能性がうかがわれた。一方、日本茶には抑制要因の傾向が見られた。適量であれば日本酒やビールにも抑制傾向が認められた。調味料としてのにんにくに、抑制傾向が認められた。生鮮魚介類には有意差は認められなかったが、塩蔵製品ともいえる塩辛・つくだ煮、たらこ・かずのこに、促進傾向が認められた。一方、魚介由来の練り製品であるかまぼこ・ちくわには、抑制傾向が見られた。

謝 辞

本研究調査の実施にあたり、快く調査対象となっていたいただいた全ての患者さん、健康対照者の方々、面接調査に関わられた栄養士の方々、医療機関、市町村ならびに厚生センター・保健所の担当者各位に、こころより感謝申し上げます。

また、本研究調査の企画、資料の整理、データ入力等で、当所現旧職員諸氏には多大な労をおかけしました。末筆ながら氏名を記させていただき、重ねて御礼申し上げます。

元がん研究部長・大江浩(新川厚生センター所長)、元所長・北村敬、前がん研究部長・加藤丈士、がん研究部・本田幸子、林美貴子、米田豊、九曜雅子、渡辺護(順不同、敬称略)

文 献

1. 富山県衛生研究所編、富山県における大腸がん発生背景要因の疫学的研究報告書(2006)。
2. 富山県衛生研究所編、富山県における胃がん発生背景要因の疫学的研究報告書(1994)。
3. 品川保弘、柏樹久雄、尾崎米厚、簗輪真澄、桑守豊美、佐藤茂秋(1995)、富山衛研年報、18、33-46。

表1-1 解析結果一覧(その1)

設問番号	項目	結果1参照		結果2参照	結果3参照
		マッチドペア分析	統計少数例分析(2×2表及びt検定)	傾向性χ ² 検定	対応のあるt検定
3	修学年数	-	-	-	** (↓)
4	生活活動強度	-	-	NS	-
5	婚姻(有配偶者とそれ以外)	*(↓)	-	-	-
	婚姻(死別とそれ以外)	*(↑)	-	-	-
	結婚年齢	-	-	-	NS
6	身長	-	-	-	NS
7	体重	-	-	-	** (↓)
8	体重(30年前)	-	-	-	NS
	BMI	NS	-	-	** (↓)
	BMI(30年前:当時20歳以上)	*(↑)	-	-	NS
9	入院や手術経験	NS	-	-	-
	既往歴 乳がん	NS	-	-	-
	既往歴 胃がん	NS	-	-	-
	既往歴 大腸がん	NS	-	-	-
	既往歴 その他のがん	NS	-	-	-
	既往歴 全てのがん	NS	-	-	-
	既往歴 虫垂炎	NS	-	-	-
	既往歴 子宮筋腫	NS	-	-	-
10	家族歴死因 大腸がん 全家族対象	NS	-	-	-
	家族歴死因 がん全般 全家族対象	NS	-	-	-
	家族歴死因 大腸がん 両親	NS	-	-	-
	家族歴死因 がん全般 両親	NS	-	-	-
	家族歴死因 大腸がん 同胞	NS	-	-	-
	家族歴死因 がん全般 同胞	NS	-	-	-
11	家事従事時間	-	-	-	NS
12	現在、何か運動をしている	NS	-	-	-
	定期的運動有り	NS	-	-	-
	定期的運動習慣有り	NS	-	-	-
13	運動不足気味だと思う	*(↓)	-	-	-
	運動不足気味だと思う(30年前)	NS	-	-	-
14	排便頻度	NS	-	*(↓)女性のみ	-
	排便頻度(30年前)	NS	-	NS	-
15	飲料水	NS	-	-	-
	飲料水(30年前)	NS	-	-	-
16	朝食を決まった時間に食べる	NS	-	-	-
	昼食を決まった時間に食べる	*(↓)	-	-	-
	夕食を決まった時間に食べる	*(↓)	-	-	-
	朝食を決まった時間に食べる(30年前)	NS	-	-	-
	昼食を決まった時間に食べる(30年前)	NS	-	-	-
	夕食を決まった時間に食べる(30年前)	NS	-	-	-
17	朝食所要時間	-	-	-	NS
	昼食所要時間	-	-	-	NS
	夕食所要時間	-	-	-	NS
	朝食所要時間(30年前)	-	-	-	NS
	昼食所要時間(30年前)	-	-	-	NS
	夕食所要時間(30年前)	-	-	-	NS
18	食事に注意している	*(↓)	-	-	-
	食事に注意するのは病気のため	NS	NS	-	-
	食事に注意するのは医者の指示	NS	NS	-	-
	食事全体の栄養バランスに気をつける	*(↓)	-	-	-
	食事の量を減らす	NS	-	-	-
	糖分の摂取量を減らすよう心掛ける	NS	-	-	-
	塩分の摂取量を減らすよう心掛ける	*(↓)	-	-	-
	脂肪分の摂取量を減らすよう心掛ける	*(↓)	-	-	-
	たんぱく質の摂取量をふやすよう心掛ける	NS	-	-	-
	食物せいの摂取量をふやすよう心掛ける	*(↓)	-	-	-
	ビタミンA含有食品の摂取量をふやすよう心掛ける	*(↓)	-	-	-
	ビタミンC含有食品の摂取量をふやすよう心掛ける	*(↓)	-	-	-
	カルシウム含有食品の摂取量をふやすよう心掛ける	NS	-	-	-
	飲酒量を減らすよう心掛ける	NS	-	-	-
	刺激の強い香辛料の摂取量を減らすよう心掛ける	*(↓)	-	-	-
	食物添加物の入っている食品の摂取を控えるよう心掛ける	NS	-	-	-
	無農薬食材を用いた食品の摂取を心掛ける	*(↓)	-	-	-

(↑)/(↓):「要因あり」、又は「増加」の場合にリスクが有意に(上昇/低下)することを示す
 対応のあるt検定の場合には患者群が対照群より平均値が(高い/低い)ことを示す

-:解析せず

NS:有意差なし

*:有意確率<0.01

** :有意確率<0.05

表1-2 解析結果一覧(その2)

設問 番号	項 目	結果1参照		結果2参照	結果3参照	
		マッチドペア 分析	統計少数例 分析(2×2表 及びt検定)	傾向性 χ ² 検定	対応のある t検定	
19	食事の量と満腹感	NS	-	NS	-	
	食事の量と満腹感(30年前)	NS	-	**([↑])	-	
20	外食する頻度	NS	-	NS	-	
	外食する頻度(30年前)	NS	-	NS	-	
21	外食の際に最も多い料理の傾向 和食	NS	NS	-	-	
	外食の際に最も多い料理の傾向 洋食	NS	NS	-	-	
	外食の際に最も多い料理の傾向 中華	NS	NS	-	-	
	外食の際に最も多い料理の傾向 和食(30年前)	NS	NS	-	-	
	外食の際に最も多い料理の傾向 洋食(30年前)	NS	NS	-	-	
	外食の際に最も多い料理の傾向 中華(30年前)	NS	NS	-	-	
22	食べ物を良く噛んで食べる方か	NS	-	-	-	
	食べ物を良く噛んで食べる方か(30年前)	NS	-	-	-	
23	お茶やみそ汁の熱さの好み	NS	-	NS	-	
	お茶やみそ汁の熱さの好み(30年前)	NS	-	NS	-	
24	油料理を食べる頻度	NS	-	NS	-	
	油料理を食べる頻度(30年前)	NS	-	NS	-	
25	間食の頻度	NS	-	NS	-	
	間食の頻度(30年前)	NS	-	NS	-	
26	家庭で冷蔵庫が使われ始めた年齢	-	-	-	NS	
食品 群 摂 取 量	穀類摂取量	-	-	-	NS	
	乳類摂取量	-	-	-	NS	
	肉類摂取量	-	-	-	NS	
	魚類摂取量	-	-	-	NS	
	豆類摂取量	-	-	-	NS	
	野菜類摂取量	-	-	-	**([↓])	
	果実類摂取量	-	-	-	NS	
	嗜好飲料類摂取量	-	-	-	NS	
	アルコール摂取量	-	-	-	NS	
	27	朝食米飯	NS	-	-	-
		朝食米飯(30年前)	NS	-	-	-
昼食米飯		NS	-	-	-	
昼食米飯(30年前)		*([↑])	-	-	-	
夕食米飯		NS	-	-	-	
夕食米飯(30年前)		NS	-	-	-	
米飯		-	-	-	NS	
めん類摂取杯数		NS	-	NS	-	
めん類摂取杯数(30年前)		*([↓])	-	*([↓])	-	
精白米を週1回以上食べる		NS	-	-	-	
カレー、チャーハンを週1回以上食べる		*([↑])	-	-	-	
そばを週1回以上食べる		NS	-	-	-	
うどんを週1回以上食べる		*([↓])	-	-	-	
ラーメン、焼きそばを週1回以上食べる		NS	-	-	-	
スパゲッティを週1回以上食べる		NS	-	-	-	
精白米を週1回以上食べる(30年前)		NS	-	-	-	
カレー、チャーハンを週1回以上食べる(30年前)		NS	-	-	-	
そばを週1回以上食べる(30年前)		NS	-	-	-	
うどんを週1回以上食べる(30年前)		NS	-	-	-	
ラーメン、焼きそばを週1回以上食べる(30年前)		NS	-	-	-	
スパゲッティを週1回以上食べる(30年前)		NS	-	-	-	
パン		-	-	-	NS	
パンにバターをつける		NS	-	-	-	
パンにマーガリンをつける		NS	*([↓])	-	-	
パンにジャムをつける		NS	-	-	-	
パンにはちみつをつける		NS	-	-	-	
28		汁物	NS	-	NS	NS
29	汁物(30年前)	NS	-	NS	-	
30	いも類	NS	-	NS	NS	
	いも類(30年前)	NS	-	NS	-	
31	卵	NS	-	NS	NS	
	卵(30年前)	NS	-	NS	-	
32	牛乳	*([↓])	-	NS	NS	
	牛乳(30年前)	*([↓])	-	**([↓])	-	

([↑])/([↓]):「要因あり」、又は「増加」の場合にリスクが有意に(上昇/低下)することを示す
 対応のあるt検定の場合には患者群が対照群より平均値が(高い/低い)ことを示す

-:解析せず

NS:有意差なし

*:有意確率<0.01

**::有意確率<0.05

表1-3 解析結果一覧(その3)

設問番号	項目	結果1参照		結果2参照	結果3参照
		マッチドペア分析	統計少数例分析(2×2表及びt検定)	傾向性χ ² 検定	対応のあるt検定
33	乳飲料	NS	-	NS	NS
	乳飲料(30年前)	NS	-	NS	-
34	チーズ類	NS	-	NS	NS
	チーズ類(30年前)	*(↓)	-	*(↓)	-
35	肉類	*(↓)	-	*(↓)	NS
	肉類(30年前)	*(↓)	-	***(↓)	-
36	ハム・ソーセージ類	NS	-	NS	NS
	ハム・ソーセージ類(30年前)	NS	-	*(↓)	-
37	塩魚・干し魚	NS	-	NS	NS
	塩魚・干し魚(30年前)	NS	-	NS	-
38	生鮮魚介類	NS	-	NS	NS
	生鮮魚介類(30年前)	NS	-	NS	-
39	塩辛・つくだ煮	NS	-	NS	*(↑)
	塩辛・つくだ煮(30年前)	NS	-	NS	-
40	たらこ・かずのこ	*(↑)	-	***(↑)	***(↑)
	たらこ・かずのこ(30年前)	NS	-	NS	-
41	かまぼこ・ちくわ	NS	-	NS	*(↓)
	かまぼこ・ちくわ(30年前)	NS	-	NS	-
42	豆腐・油揚げ	NS	-	NS	NS
	豆腐・油揚げ(30年前)	NS	-	NS	-
43	納豆	NS	-	NS	NS
	納豆(30年前)	NS	-	NS	-
44	あずき・えんどう	NS	-	NS	NS
	あずき・えんどう(30年前)	NS	-	NS	-
45	にんじん	NS	-	NS	*(↓)
	にんじん(30年前)	NS	-	NS	-
46	ほうれんそう	NS	-	NS	NS
	ほうれんそう(30年前)	NS	-	NS	-
47	他の緑黄色野菜	NS	-	*(↓)	***(↓)
	他の緑黄色野菜(30年前)	NS	-	NS	-
48	一夜漬	*(↑)	-	NS	NS
	一夜漬(30年前)	NS	-	NS	-
49	古漬	*(↓)	-	***(↓)	***(↓)
	古漬(30年前)	*(↓)	-	*(↓)	-
50	大根	NS	-	NS	NS
	大根(30年前)	NS	-	NS	-
51	キュウリ・キャベツ・レタス・トマト	NS	-	NS	NS
	キュウリ・キャベツ・レタス・トマト(30年前)	NS	-	NS	-
52	山菜	*(↓)	-	*(↓)	*(↓)
	山菜(30年前)	*(↓)	-	***(↓)	-
53	他の淡色野菜	NS	-	NS	***(↓)
	他の淡色野菜(30年前)	NS	-	NS	-
54	きのこ	NS	-	***(↓)	NS
	きのこ(30年前)	NS	-	NS	-
55	海藻類	NS	-	NS	NS
	海藻類(30年前)	NS	-	NS	-
56	みかん類	NS	-	NS	NS
	みかん類(30年前)	NS	-	NS	-
57	その他の果物	NS	-	NS	NS
	その他の果物(30年前)	NS	-	NS	-
58	饅頭・煎餅類	NS	-	NS	*(↑)
	饅頭・煎餅類(30年前)	NS	-	NS	-
59	ケーキ・スナック菓子	NS	-	NS	NS
	ケーキ・スナック菓子(30年前)	NS	-	NS	-
60	ジュース類	NS	-	*(↑)	***(↑)
	ジュース類(30年前)	NS	-	NS	-
61	日本茶	NS	-	***(↓)	NS
	日本茶(30年前)	NS	-	***(↓)	-
62	その他の茶	NS	-	NS	NS
	その他の茶(30年前)	NS	-	NS	-
63	紅茶	NS	-	NS	NS
	紅茶(30年前)	NS	-	NS	-

(↑)/(↓):「要因あり」、又は「増加」の場合にリスクが有意に(上昇/低下)することを示す
 対応のあるt検定の場合には患者群が対照群より平均値が(高い/低い)ことを示す

-:解析せず

NS:有意差なし

*:有意確率<0.01

**::有意確率<0.05

表1-4 解析結果一覧(その4)

設問番号	項目	結果1参照		結果2参照	結果3参照
		マッチドペア分析	統計少数例分析(2×2表及びt検定)	傾向性χ ² 検定	対応のあるt検定
64	コーヒー	NS	-	NS	*(↑)
	コーヒー(30年前)	NS	-	NS	-
65	コーヒーや紅茶に砂糖を入れるか	NS	NS	-	*(↑)
	コーヒーや紅茶に砂糖を入れるか(30年前)	NS	NS	-	-
66	日本酒	NS	-	NS	NS
	日本酒(30年前)	*(↓)	-	NS	-
67	ビール	NS	-	NS	NS
	ビール(30年前)	*(↓)	-	***(↓)	-
68	ワイン	NS	-	NS	NS
	ワイン(30年前)	NS	-	NS	-
69	ウイスキー等	NS	-	NS	NS
	ウイスキー等(30年前)	NS	-	NS	-
70	辛子	NS	-	NS	-
	辛子(30年前)	NS	-	NS	-
71	わさび	NS	-	NS	-
	わさび(30年前)	NS	-	NS	-
72	唐辛子	NS	-	*(↓)	-
	唐辛子(30年前)	NS	-	NS	-
73	こしょう	NS	-	NS	-
	こしょう(30年前)	NS	-	NS	-
74	にんにく	NS	-	*(↓)	-
	にんにく(30年前)	*(↓)	-	*(↓)	-
75	しょうが	NS	-	NS	-
	しょうが(30年前)	NS	-	NS	-
76	ソース	NS	-	NS	-
	ソース(30年前)	NS	-	NS	-
77	ケチャップ	NS	-	NS	-
	ケチャップ(30年前)	NS	-	NS	-
78	化学調味料	NS	-	NS	-
	化学調味料(30年前)	NS	-	NS	-
79	酢	NS	-	NS	-
	酢(30年前)	NS	-	NS	-
81	しょうゆや塩をよく使う方か	NS	-	-	-
	しょうゆや塩をよく使う方か(30年前)	NS	-	-	-
85	喫煙経験	NS	-	-	-
86	喫煙者 喫煙開始年齢	-	-	-	NS
	喫煙者 喫煙年数	-	-	-	NS
	喫煙者 喫煙本数	-	-	-	NS
	喫煙者 喫煙本数(30年前)	-	-	-	NS
87	禁煙者 喫煙開始年齢	-	-	-	NS
	禁煙者 喫煙中止年齢	-	-	-	NS
	禁煙者 喫煙年数	-	-	-	NS
	禁煙者 喫煙本数	-	-	-	NS
	ブリンクマン指数	-	-	-	NS
88	家庭や職場で周囲のタバコを吸う人	*(↑)	-	-	-
	受動喫煙曝露時間	-	-	-	NS
	受動喫煙曝露期間	-	-	-	NS
	常にタバコの煙が見えるような状態	NS	NS	-	-
89	塩辛いものが好きか	NS	-	-	-
90	30年前の味噌汁(今との比較)	NS	-	NS	-
91	サンプルすまし汁の味見感覚(うすく感じる)	NS	-	***(↑)	-

(↑)/(↓):「要因あり」、又は「増加」の場合にリスクが有意に(上昇/低下)することを示す
 対応のあるt検定の場合には患者群が対照群より平均値が(高い/低い)ことを示す

-:解析せず

NS:有意差なし

*:有意確率<0.01

**::有意確率<0.05

富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査、2005年の成績

渡辺 護 小原真弓 松浦涼子¹ 廣瀬 修¹
長谷川澄代 西尾恵美里² 小林睦生³

Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2005

Mamoru WATANABE, Mayumi OBARA, Ryouko MATSUURA, Osamu HIROSE,
Sumiyo HASEGAWA, Emiri NISHIO and Mutsuo KOBAYASHI

要 旨 従来行って来た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に加え、2003年から海外から侵入が懸念されるウエストナイル熱、デング熱、マラリアなどに関与する蚊の発生実態を把握することを目的に、一般民家とカラスのねぐら近くにおける調査を開始した。

一般住宅7軒を立地環境別に区分し、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) などを媒介する蚊類の発生数と発生活長の調査を行った。全ての定点住宅において、上記感染症をそれぞれ媒介する代表的なアカイエカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカが捕集された。全体ではアカイエカが最も多数捕集され、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカと続いた。都市住宅街および都市周縁部住宅街では、アカイエカとヒトスジシマカがほぼ同数捕集され、郊外大規模団地住宅ではヒトスジシマカが明らかに多かった。海岸混合住宅街ではアカイエカ、農村地域住宅団地ではコガタアカイエカが顕著に多数を占めた。なお、2004年と比較するとほとんどの定点で捕集数が増加した。また、マラリア原虫を媒介するシナハマダラカは、2005年も全定点で採集されなかった。

カラスのねぐら近くでは、都市公園においてはアカイエカが最も多く、都市郊外ではコガタアカイエカが多かった。なお、ヒトスジシマカは地面に近いトラップで捕集される割合が高くなり、高い位置のトラップでは捕集されなかった。2004年に比べ3箇所は捕集数は明らかに増加したが、他の1箇所はわずかに減少した。

捕集蚊10,061個体683プールについてフラビウイルスの検出を行ったところ、ウエストナイルウイルスは分離・検出されなかったが、11プールのコガタアカイエカから日本脳炎ウイルスが分離・検出された。

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(2003年)から調査を開始した。

2004年に引き続き、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らかにすることを目的として、住宅の立地環境別に、また、病原微生物の媒介・増幅に関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、発生活長を調査した。

さらに、富山県において発生する蚊が、ウエストナイル熱や日本脳炎の原因ウイルスを保有しているかを調査するとともに、検査体制を構築し監視調査を整備することも目的とした。

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、住宅の周辺環境を都市中心部の住宅街、都市周縁部の住宅街、同じく周縁部の新興団地、都市郊外の大規模団地、海岸の商・工・住混合地区、農村水田地域の新興住宅団地、農村地域住宅(農家)に区分し、それぞれから1軒ずつ選定した(表1)。また、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定点を3ヶ所選定し、トラップを地上部と高い位置に設置した(表1)。さらに、従来から調査を行っている日本脳炎ウイルス(JEV)媒介蚊監視畜舎定点6ヶ所に、WNVに感受性が高い馬への蚊の吸血飛来をみるために、2003年から厩舎1ヶ所を加えた。また、孤立した山村集落における蚊相を明らかにするために、県境山間地の岐阜県飛騨市(旧神岡町)下之本の牛舎で蚊

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

表1-1. 富山県における WNV 媒介蚊の発生調査定点の概要 (平成17年)

住宅区分	住所	トラップ	設置場所	
1 一般民家	①都市部住宅街	富山市鹿島町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	②都市部周縁住宅	富山市富岡町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	③都市部新興団地	富山市呉羽町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	④郊外大型住宅団地	射水市太閤山	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	⑤海岸地域混合地区	射水市海老江	猪口製、ドライアイス、1台	菜園、地上 1m
	⑥農村地域住宅団地	富山市津羽見	CDC 型、ドライアイス、4台	庭、地上 1m×3台、3.5m
	⑦農村地域住宅	南砺市安居	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
2 カラス	①高岡市古城公園	市立動物園	猪口製、ドライアイス、2台	立木、地上 1m、8m
	②富山市城址公園	市立図書館	猪口製、ドライアイス、3台	回廊、地上 1m、12m、20m
	③衛研隣杉林(鶏舎)	射水市黒河	CDC 型、ドライアイス、2台	立木、地上 1m、6.5m
	④衛生研究所動物舎	射水市中太閤山	E-エス、ドライアイス、2台	壁、地上 2m、6.5m
3 他	①富山空港国際便口	富山市秋ヶ島	CDC 型、ドライアイス、2台	構造物、地上 1m×2台
	②丘陵際農村地域	富山市婦中町友坂	E-エス、ライトトラップ、1台	厩舎(乗馬倶楽部)、3m
	③山間高地農村地域	飛騨市神岡下之本	野沢、ライトトラップ、1台	牛舎(肉牛4頭)、2m

調査定点は前年に加え、3その他に富山空港国際便荷物搬入口を増設した。

トラップの猪口製は猪口鉄工所、CDC型は John W.Hock 製、E-エスは東京E-エス、野沢は野沢製作所を示す。

表1-2. 各調査定点における調査期間と捕集時間帯および調査間隔

住宅区分	調査期間	調査間隔と調査時間
1 一般民家	①都市部住宅街	5/11~10/26 毎週水曜日の午後2時~翌朝8時
	②都市部周縁住宅	5/11~10/26 毎週火曜日の午後6時30分~翌午後6時30分
	③都市部新興団地	5/11~10/26 毎週水曜日の午前7時30分~翌朝7時30分
	④郊外大型住宅団地	5/11~10/5 毎週水曜日の午後1時~翌朝8時
	⑤海岸地域混合地区	5/11~10/26 毎週水曜日の午後1時30分~翌朝7時
	⑥農村地域住宅団地	5/11~10/26 毎週水曜日の午後2時30分~翌朝7時30分
	⑦農村地域住宅	5/11~10/26 毎週水曜日の午前7時~翌朝7時
2 カラス	①高岡市古城公園	6/1~10/12 毎週水曜日の午前11時~翌朝9時
	②富山市城址公園	5/11~10/14 毎週水曜日の午後2時~翌朝8時30分
	③衛研隣杉林(鶏舎)	5/11~10/26 毎週水曜日の午後0時30分~翌朝9時30分
	④衛生研究所動物舎	5/11~10/26 毎週水曜日の午後0時~翌朝7時(自動設定)
3 他	①富山空港国際便口	7/6~10/12 毎週水曜日の午後2時30分~翌朝9時
	②丘陵際農村地域	6/8~10/12 毎週水曜日の午後18時30分~翌朝7時(自動設定)
	③山間高地農村地域	5/7~10/9 8月は毎週、それ以外は隔週のほぼ金曜日の午後~翌朝

の捕集調査を行った(表1)。これらに加えて、富山空港国際線到着便手荷物搬入口にも新たにトラップを設置した。

蚊の捕集方法：一般住宅とカラスのねぐら近く、および空港定点ではドライアイス・ライトトラップ(猪口型もしくは CDC 型)を用いた。ドライアイス 1 kg 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捕集を行った。畜舎定点では、東京E-エス社製のライトトラップ(20W 円形捕虫蛍光管)のみで捕集を行った。ただ、飛騨市神岡町下之本牛舎では野沢式ライトトラップ(6W 直管捕虫蛍光管)を用いた。

トラップの設置場所：一般住宅では、道路に近い庭に

表 2-1. 検査に用いた蚊検体（地点別）

住宅区分		設置場所	プール数	個体数
民家	都市部住宅街	富山市鹿島町	46 (5)	113 (9)
	都市部周縁住宅	富山市富岡町	29 (4)	73 (4)
	都市部新興団地	富山市呉羽町	22	62
	郊外大型住宅団地	射水市(小杉町)中太閤山	22 (3)	72 (3)
	海岸地域混合地区	射水市(新湊市)海老江	49	844
	農村地域住宅団地	富山市(大山町)津羽見 東1m	38 (2)	133 (2)
		富山市(大山町)津羽見 北1m	32	273
		富山市(大山町)津羽見 南西3.5m	27	291
		富山市(大山町)津羽見 南西1m	50 (6)	400 (8)
農村地域住宅	南砺市(福野町)安居	26	132	
カラスの ねぐら	高岡古城公園	地上8m	16	98
		地上1m	26 (3)	57 (5)
	富山城址公園	地上20m	1	1
		地上12m	2	2
		地上1m	22 (2)	69 (2)
	射水市(小杉町)鶏杉林	地上6.5m	24	64
		地上1m	34	138
	射水市(小杉町) 衛研動物舎	地上6.5m	10	50
		地上2m	12	35
空港	富山空港	北	9 (1)	10 (1)
		南	6	6
日本脳炎 定点	豚舎	南砺市	72	2,911
	牛舎	富山市	103	4,119
	牛舎	小矢部市	5	108
		合計	683 (26)	10,061 (34)

カッコ内は♂

表2-2. 検査に用いた蚊検体（種類別）

種名	プール数	個体数
コガタアカイエカ	305 (1)	8,233 (1)
アカイエカ	233 (7)	1,475 (9)
ヒトスジシマカ	115 (15)	318 (21)
ヤマトヤブカ	9 (1)	10 (1)
フタクロホシチビカ	5 (1)	6 (1)
ハマダライエカ	5	5
カラツイエカ	4	4
フトシマツノフサカ	3	5
キンバラナガハンカ	2 (1)	3 (1)
シナハマダラカ	2	2
合計	683 (26)	10,061 (34)

カッコ内は♂

表3. 各定点における蚊種別の捕集数（雌雄合計、平成17年）

1 一般民家

住宅区分	トラップ設置高	蚊の種類							計
		コガタカ	アカイカ	ヒスジ	ヤマト	ハマダラ	ツツサカ	その他	
都市住宅	1m	8	53	53	0	0	0	0	114
都市周縁	1m	7	35	41	0	0	0	0	83
都市団地	1m	6	49	6	0	0	1	0	62
郊外団地	1m	4	8	58	1	0	0	0	71
海岸住宅	1m	82	741	20	0	0	1	0	844
農村団地	1m	101	10	21	1	0	0	0	133
農村住宅	1m	29	101	4	1	2	0	0	137
計		237	997	203	3	2	2	0	1,444

コガタカはコガタカイカ、ヒスジはヒスジシマカ、ヤマトはヤマトヤブカ、ハマダラはハマダライカ、ツツサカはフシツツサカを指す。

2 カラスのねぐら近く

定点名	トラップ設置高	蚊の種類							計
		コガタカ	アカイカ	ヒスジ	ヤマト	キノハラ	ハマダラ	その他	
高岡古城	1m	17	24	15	1	0	0	0	57
	8m	1	95	0	0	0	1	1	98
富山城址	1m	6	60	3	0	0	0	2	71
	12m	0	2	0	0	0	0	0	2
	20m	0	1	0	0	0	0	0	1
衛研隣杉林	1m	76	43	11	1	2	0	2	135
	6.5m	9	54	0	0	0	1	4	68
衛生研究所	1m	31	1	1	0	0	0	1	34
	6.5m	50	2	0	0	0	0	0	52
計		190	282	30	2	2	2	10	518

その他はカツイカ2個体、フシツツサカ4個体、フクロソビ4個体である。

3 その他

定点名	畜種など トラップ高	蚊の種類							計
		コガタカ	アカイカ	ヒスジ	ヤマト	材カ	シハマ	その他	
富山空港	外柱、1m	9	7	0	0	0	0	0	16
丘陵際農村	馬、3m	11,424	323	4	22	1	0	0	11,774
高地農村	肉牛、2m	1,884	1	0	9	0	28	8	1,930
計		13,317	331	4	31	1	28	8	13,720

材カは材カヤブカ、シハマはシハマダラカを指す。
 その他はカツイカ2個体、ハマダライカ6個体である。

茂っている樹木の、高さ約1mに吊り下げた。農村地域住宅団地では、この他に庭の南西隅の柿木の地上約1mと3.5mおよび北側壁面のアオキにもトラップを吊り下げ、蚊類の小分布の観察を行なった。カラスのねぐら近く定点では、樹木の地面近くと可能な限り高い位置、あるいは建物の壁面、回廊を利用してトラップを設置した。空港では荷物搬入口の外側の柱1mの高さに、約10m離して2台吊り下げた。

調査期間、時間：一般住宅とカラスのねぐら近く定点では、5月1週もしくは6月1週から捕集を開始し、10月

2週または4週まで、空港では7月1週から10月2週まで、毎週水曜日の13～15時にトラップを設置稼動し、翌朝8～9時に回収した。畜舎トラップでは、6月1週から捕集を開始し、10月3週までの毎週水曜日に捕集を行った。なお、飛騨市神岡町下之本では、5月7日～10月9日の隔週または毎週（7～8月）金曜日に捕集を行った。これら畜舎定点では照度感受自動スイッチを用いて、調査日の夕方から翌朝まで捕集を行った。

ウイルスの検出方法：ウイルス分離に用いた捕集蚊について表2-1、2-2に示した。ウエストナイル熱媒介蚊

表 4. 農村地域団地の一般住宅敷地における蚊類の小分布 (2005年)

蚊の種名	トラップの設置場所								合 計	
	東道路際1mトラップ		北横 1mトラップ		西南隅 1mトラップ		西南隅 3.5mトラップ			
	捕集数	割合(%)	捕集数	割合(%)	捕集数	割合(%)	捕集数	割合(%)	捕集数	割合(%)
シナハマダラカ	0		0		0		0		0	
コガタアカイエカ	101	75.9	232	86.2	300	75.0	276	94.8	909	83.2
アカイエカ	10	7.5	24	8.9	22	5.5	14	4.8	70	6.4
ハマダライエカ	0		0		0		1	0.3	1	0.1
ヒトスジシマカ	21	15.8	12	4.5	76	19.0	0		109	10.0
ヤマダシマカ	0		0		0		0		0	
ヤマトヤブカ	1	0.8	1	0.4	0		0		2	0.2
キハバラガハカ	0		0		1	0.3	0		1	0.1
7クホソビカ	0		0		1	0.3	0		1	0.1
カラツイエカ	0		0		0		0		0	
その他(不明)	0		0		0		0		0	
計	133	100	269	100	400	100	291	100	1,093	100

調査定点に加え、日本脳炎定点3ヶ所についても、未吸血蚊を捕集し検査した。この3ヶ所は、いずれも水田に囲まれた丘陵部または平野部に存在していた。

捕集蚊は、捕集日・地点・種類・雌雄別に分け、最大50個体までを1プールとして細胞維持培地で磨砕し、遠心上清をヒトスジシマカ由来 C6/36細胞に接種した。同時に、アフリカミドリザル由来の Vero9013細胞にも接種した。いずれも7日間観察し細胞変性の有無を確認後、培養上清を継代接種して培養を続けた。さらに、それぞれをC6/36細胞に継代して観察を続けた。

細胞変性が現れた検体の培養上清と、Vero9013-Vero9013-C6/36細胞の3代目継代培養上清からウイルス RNA の抽出を行い、フラビウイルス NS3領域を対象としたプライマーセットを用いて RT-PCR を実施した。陽性であった検体については、日本脳炎ウイルスエンベロープ領域を対象とした RT-PCR, nested PCR, ウエストナイルウイルスエンベロープ領域を対象とした RT-PCR を行った。

7月～10月に採取された豚血清 (6ヶ月齢、富山県内2ヶ所) のうち、日本脳炎に対する抗体価が10倍未満の173検体からもウイルス分離を行った。血清を Vero9013, C6/36細胞に接種し、2～3代継代したのち細胞変性が現れたものについて RNA を抽出した。さらに、日本脳炎ウイルスエンベロープ領域を対象とした RT-PCR, nested PCR を行った。

蚊と豚から得られた PCR 産物については、ダイレクトシーケンス法を用いて遺伝子配列の解析を行った。

調査結果

1. 一般住宅での捕集成績：表3に、捕集成績をまとめて示した。都市部住宅、都市周縁住宅ではアカイエカとヒトスジシマカがほぼ同数捕集され、都市周縁団地住宅ではアカイエカが最も多く、海岸住宅では圧倒的にアカイエカが多数捕集された。郊外大規模団地住宅ではヒトスジシマカが最も多く、農村地域住宅団地ではコガタアカイエカが最も多かった。農村住宅ではアカイエカがコガタアカイエカの4倍弱捕集された。

カラスのねぐら近くの高岡古城公園では、アカイエカが上下のトラップともに最も多く捕集されたが、上トラップがより多数であった。下トラップでは、コガタアカイエカとヒトスジシマカが比較的多数捕集された。富山城址公園では、高さ20mトラップでアカイエカ1個体、12mトラップでアカイエカ2個体のみの捕集であったが、1mトラップでは71個体捕集され、その大部分がアカイエカであった。小杉衛研隣の杉林では、1mトラップでコガタアカイエカが最も多く、6.5mトラップではアカイエカが最も多数捕集された。この杉林から20mほどの衛研動物舎では、上下トラップともコガタアカイエカが最も多く捕集された。

富山空港では、7～10月の調査でコガタアカイエカ9個体とアカイエカ7個体捕集された。その他の定点として、富山市婦中町の乗馬クラブの厩舎では、圧倒的にコガタアカイエカが多数捕集され、ヤマトヤブカも少数捕集された。標高825mにある飛騨市の牛舎でも、コガタアカイエカが圧倒的に多数捕集されたが、シナハマダラカも少数捕集された。

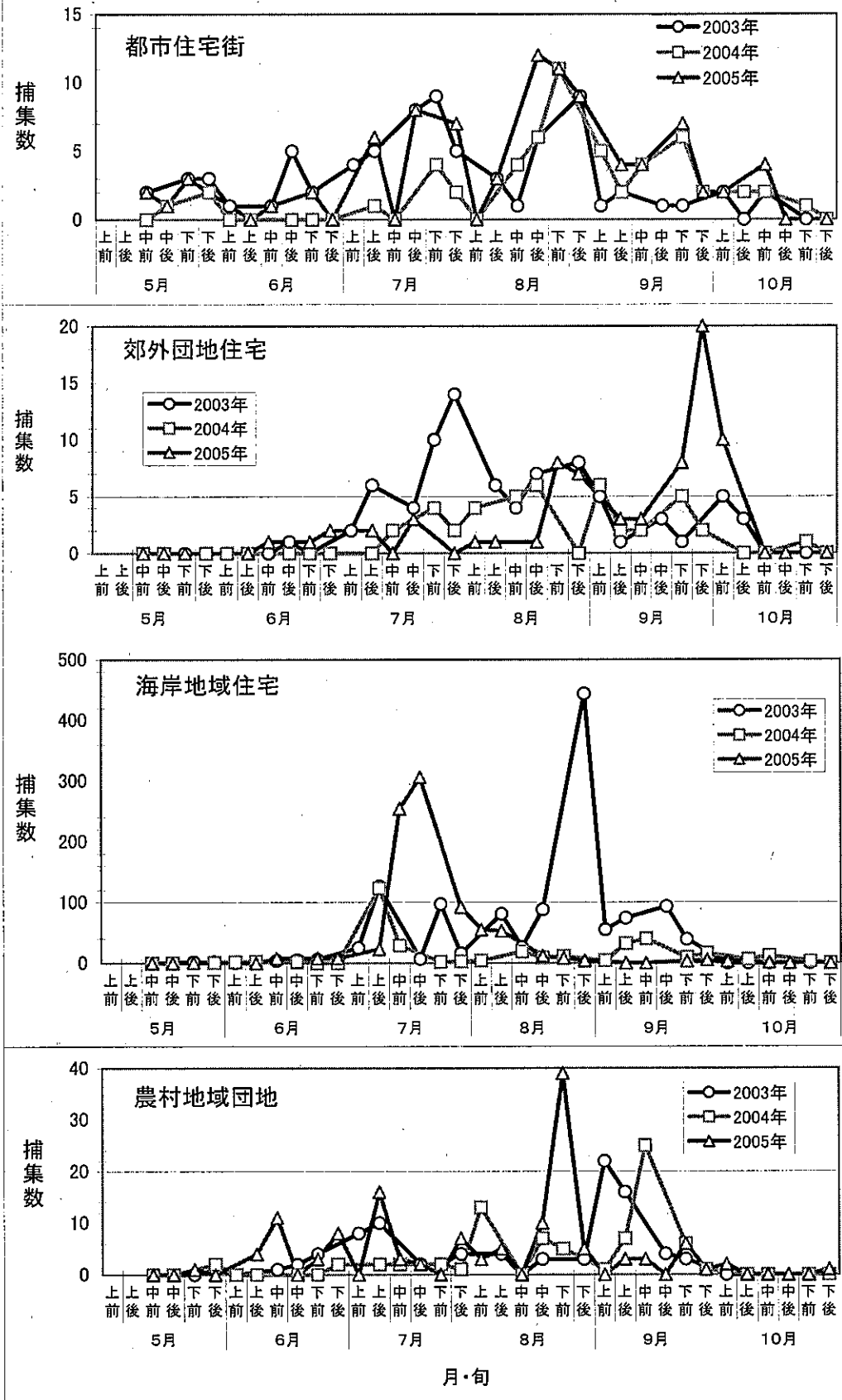


図 1 民家定点における3年間の蚊類の捕集消長

表5 農村地域団地の一般住宅における幼虫調査成績(2005年)

①調査溜水環境の月別有水数と幼虫生息溜水数

②幼虫の生息が確認された溜水環境の生息蚊種と数

溜水環境名	調査数	幼虫生息/有水溜水数				計	調査日	溜水名	生息蚊の種名				計
		6月	7月	8月	9月				アカイエカ	ヒトスジ	ヤマト	トブ	
①-⑧雨水枡	8	1/4	1/4	3/4	2/2	7/14	6月26日	④雨水枡	5	1	0	0	6
⑨金属水盤	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/4		⑩ボール	15	0	0	0	15
⑩ボール	1	1/1	1/1	1/1	0/1	3/4		⑫ゾース缶	0	6	1	0	7
⑪池	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/4		⑭バット	0	18	4	0	22
⑫ゾース缶	1	1/1	1/1	1/1	1/1	4/4	7月24日	④雨水枡	0	1	0	0	1
⑬放置鉢受皿	1	0/1	1/1	1/1	1/1	3/4		⑩ボール	14	0	0	0	14
⑭バット	1	1/1	1/1	1/1	1/1	4/4		⑫ゾース缶	0	15	0	0	15
⑮タイヤカバー	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/4		⑬放置鉢皿	0	1	0	0	1
⑯蛇口洗い場	1	0	0	0/1	0	0/1	8月28日	⑭バット	0	43	5	0	48
計	16	4/11	5/11	7/12	5/9	21/43		④雨水枡	5	9	0	0	14
								⑤雨水枡	4	0	0	0	4
								⑧雨水枡	5	12	0	2	19
							9月25日	⑩ボール	15	0	0	2	17
								⑫ゾース缶	0	13	0	0	13
								⑬放置鉢皿	0	2	0	0	2
								⑭バット	0	31	6	0	37
							計	④雨水枡	6	7	0	0	13
								⑧雨水枡	0	8	0	0	8
								⑫ゾース缶	0	10	0	0	10
								⑬放置鉢皿	0	1	0	0	1
								⑭バット	0	8	0	0	8
								計	69	186	16	4	275

2. 農村地域団地の住宅における蚊類の小分布

農村地域の中規模団地(全体で203戸、造成後20年経過)では、トラップ4台の合計で7種940個体の蚊が捕集された。南西1mトラップで最も多数の5種400個体蚊が捕集され、その75%がコガタアカイエカであった。南西3.5mトラップが次に多く291個体、最も少なかったのは東トラップの133個体であった。各トラップともコガタアカイエカが多数を占め(75~95%)、次いでヒトスジシマカ(0~19%)、アカイエカ(4.8~8.9%)の順であった(表4)。

この敷地内には、蚊幼虫の発生・生育が推察される溜水環境が、雨水枡の8個を含め16個確認された。6月は11個が有水であり、その内4個に幼虫が生息していた(4個/11個、以下同じ)、7月は5個/11個、8月は7個/12個、9月は5個/9個であった。蚊数は全体で275個体、種類はヒトスジシマカ186個体(67.6%)、アカイエカ69個体(25.1%)、ヤマトヤブカ16個体(5.8%)、トラフカクイカ4個体(1.5%)であった(表5)。

3. 蚊類の発生活消長

図1に、都市部住宅街、郊外団地住宅、海岸混合地

域住宅、農村地域団地住宅における捕集蚊全数の2003年からの発生活消長を示した。横軸の捕集日は年度により異なったため、月を6旬(5日間毎)に分けて年別の捕集日をその範囲に当てはめた。各定点とも、毎年ほぼ5月中旬から捕集され始め、10月中旬に終息する消長を示した。都市部住宅街では、20日もしくは30日毎に頂点を作る消長を示し、8月中下旬が最大となった。郊外団地住宅では、調査年により最大頂点が異なり、03年は7月下旬、04年は8月中旬、05年は9月下旬であった。海岸地域住宅でも年により最大頂点が異なり、03年は8月下旬、04年は7月上旬、05年は7月中旬であった。農村地域団地では8月下旬から9月中旬の間に最大頂点が集中した。

高岡古城公園における発生活消長を図2の上二段に示した。上が8mトラップ、下が1mトラップであり、03年は両トラップが近似した消長を示したが、04、05年は全く異なった消長を示した。とくに、05年は8mトラップで多数のアカイエカが捕集されたが、1mトラップでは少数に止まった。なお、ここでは6月中下旬に最大頂点を形成し、8月の盛夏には少なくなる傾向が3年間ともみられた。富山城址公園における発生

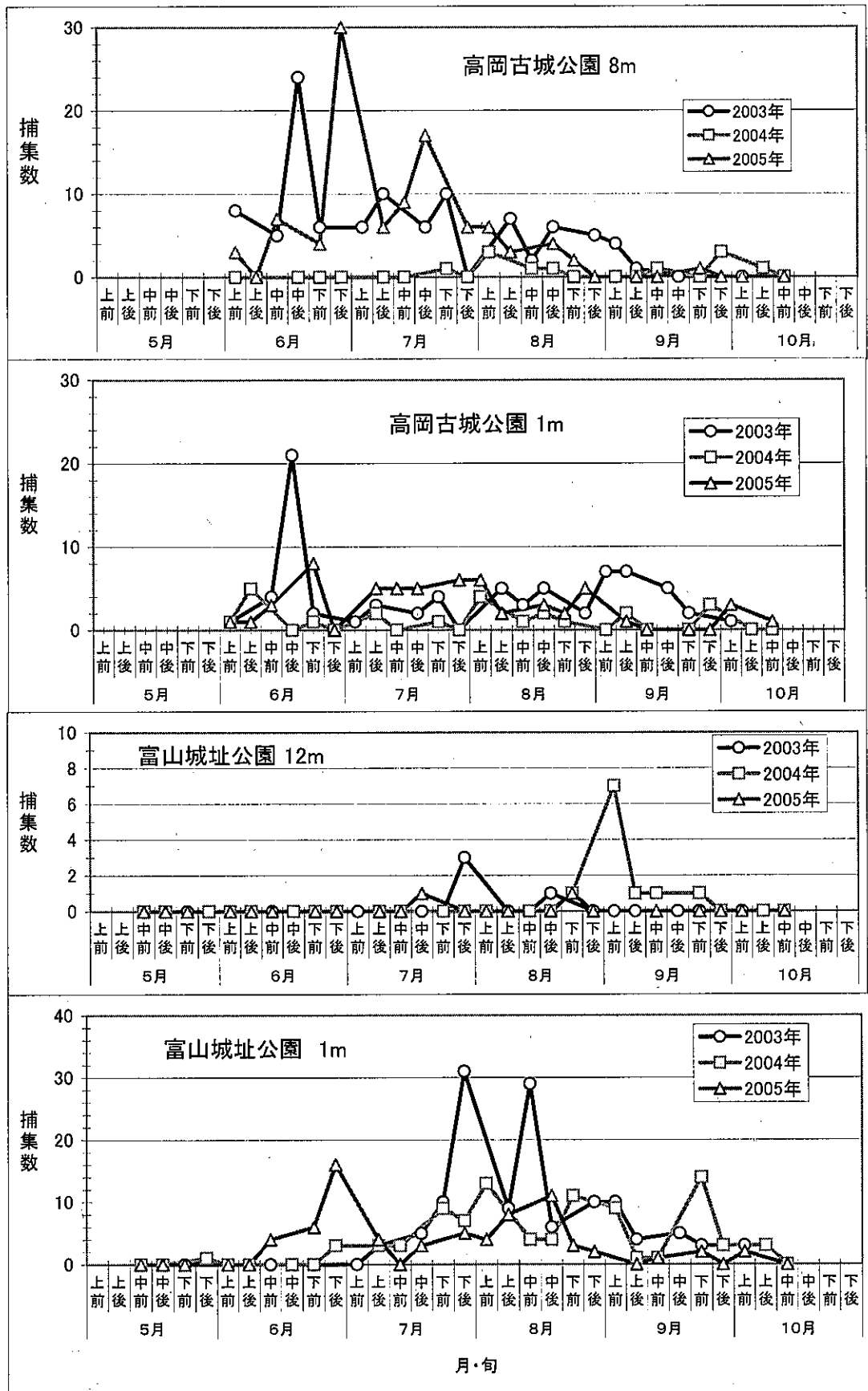


図2 カラスのねぐら近く定点における3年間の蚊類の捕集消長(都市公園)

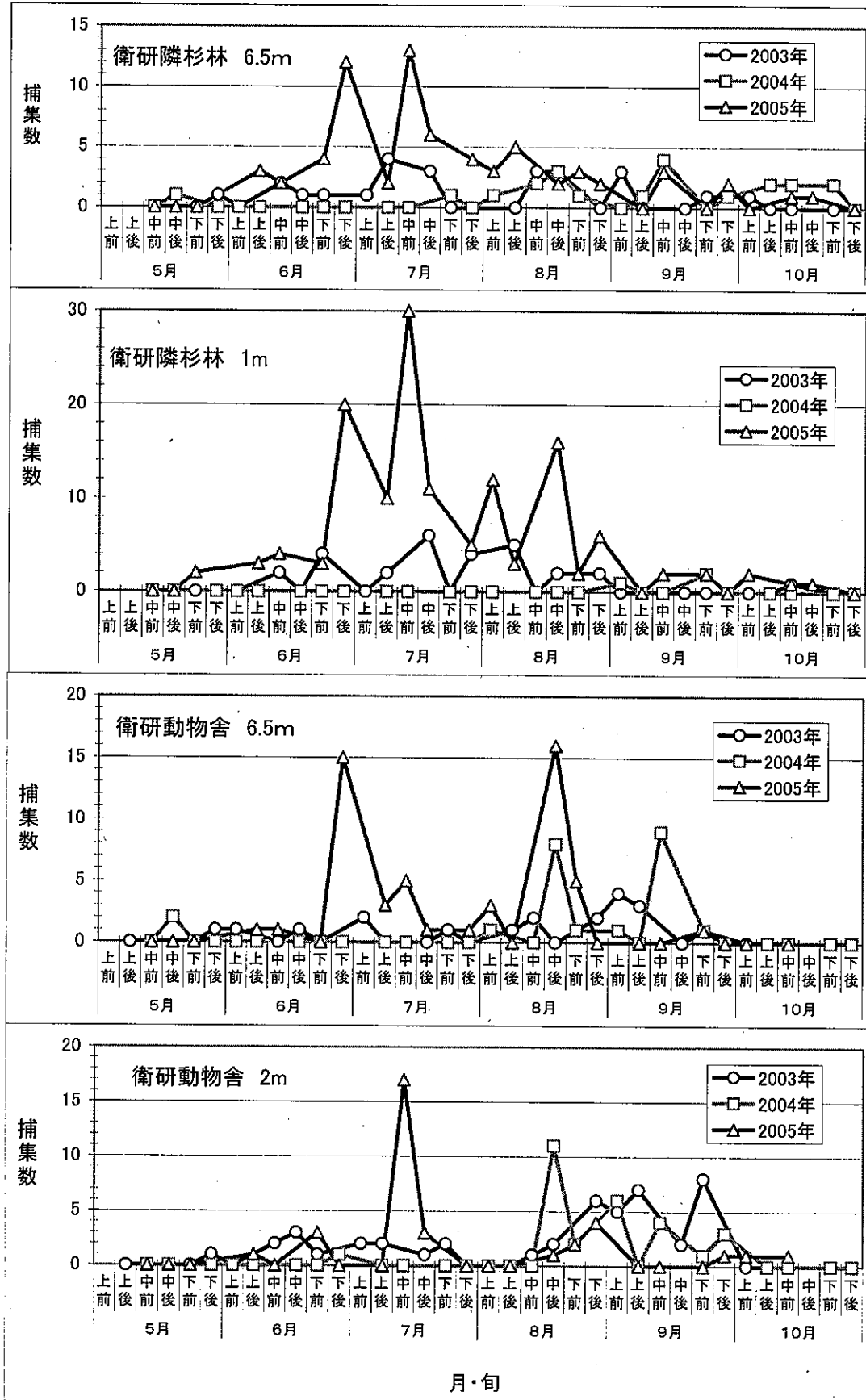


図3 カラスのねぐら近く定点における3年間の蚊類の捕集消長(都市郊外)

表 6. 日本脳炎ウイルスが分離された地点・捕集日別の陽性率

定点名	種名	雌雄	捕集日	検査数 (プール)	陽性数 (プール)	陽性率 (%)
富山市牛舎	コガタアカイエカ	♀	2005/8/17	12	1	8.3
南砺市豚舎	コガタアカイエカ	♀	2005/8/29	3	1	33.3
南砺市豚舎	コガタアカイエカ	♀	2005/9/7	3	2	66.7
南砺市豚舎	コガタアカイエカ	♀	2005/9/12	8	5	62.5
南砺市豚舎	コガタアカイエカ	♀	2005/9/26	4	1	25.0
南砺市豚舎	コガタアカイエカ	♀	2005/10/3	3	1	33.3

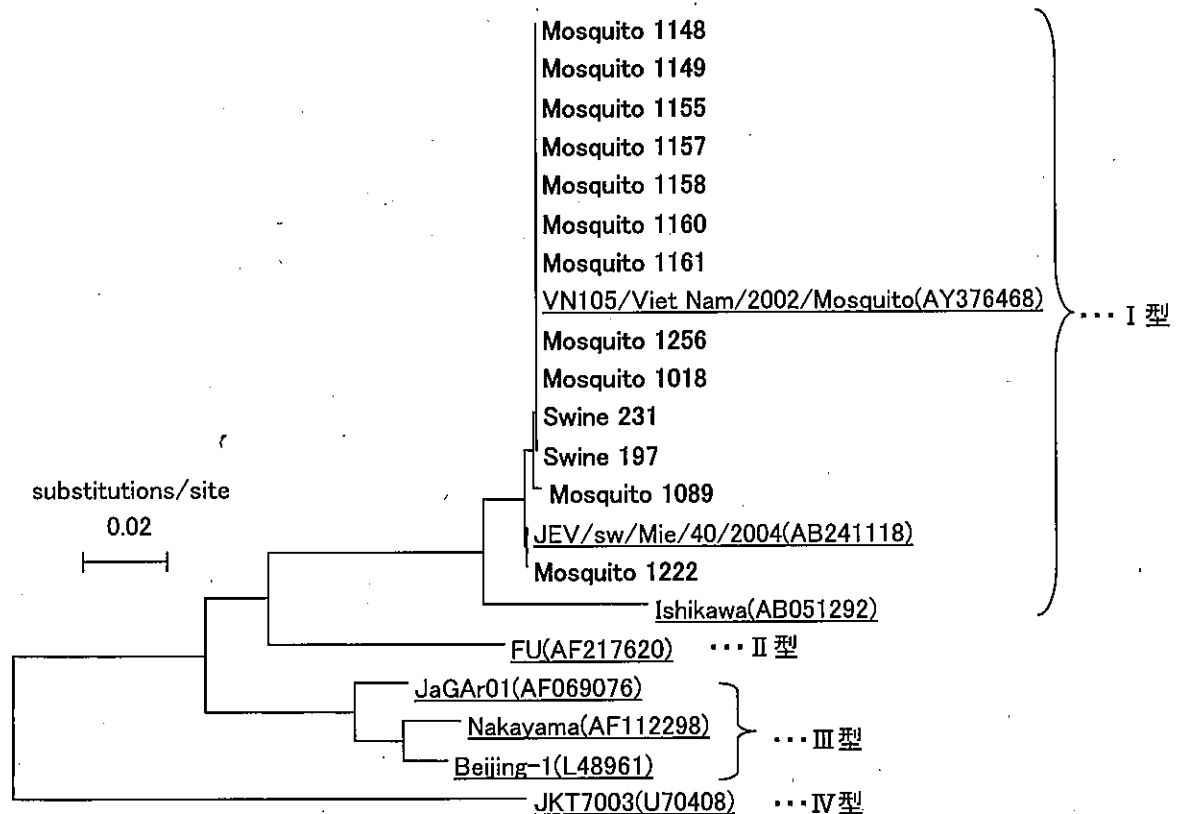


図 4. 分離された日本脳炎ウイルス Envelope 領域 (346bp) の比較
アンダーラインは参考株 (カッコ内は Accession 番号)

消長を図2の下二段に示した。上が12mトラップ、下が1mトラップで、20mトラップの成績は略した。12mトラップは捕集数が少ないが、04年は9月上旬に1日(一晚)で7個体のアカイエカが捕集された。1mトラップは概ね7月下旬~8月下旬が多発生期間と考えられ、前述の高岡古城公園とは大きく相違した。

図3の上二段に、衛生研究所隣の杉林での成績を示した。上が6.5mトラップ、下が1mトラップである。両トラップとも05年に多数捕集され、最大頂点は7月中旬であった。このトラップ設置点から20m程の衛

生研究所動物舎の壁面トラップの消長を下二段に示した。上が6.5mトラップ、下が1mトラップである。6.5mトラップの最大頂点は、03年は9月上旬、04年は9月中旬、05年は8月中旬であった。1mトラップでは、03年は9月下旬、04年が8月中旬、05年が7月中旬であり、6.5mトラップと1mトラップで消長が異なった。

4. 捕集蚊からのフラビウイルスの検出

計11プールより日本脳炎ウイルスが分離された(表6)。ウイルスの分離は、9月前半に最も多かった。豚

表7. 細胞変性陽性、PCR 陰性であった検体数

定 点 名	プール数
富山市鹿島町	1
富山市呉羽町	1
射水市(小杉町)中太閣山	1
射水市(新湊市)海老江	14
富山市(大山町)津羽見 東1m	1
富山市(大山町)津羽見 南西3.5m	1
富山市(大山町)津羽見 南西1m	2
南砺市(福野町)安居	4
高岡古城公園 8m	4
高岡古城公園 1m	1
射水市(小杉町)鶏杉林 6.5m	1
射水市(小杉町)鶏杉林 1m	3
富山市牛舎	6
合 計	40

舎でのウイルス陽性率（陽性プール数／検査プール数）は、最も高い時期で60%を超えた。一方、ウエストナイルウイルスは検出されなかった。また、C6/36細胞に変性が現れたにもかかわらず PCR 陰性であった検体が約40プール存在した（表7）。

豚については、9月6日、9月20日採血分の計2検体より日本脳炎ウイルスが分離された。豚と蚊から分離された日本脳炎ウイルスは、エンベロープ領域346bpを比較した系統樹解析により、いずれも I 型であると考えられた（図4）。

考 察

一般住宅においては、全ての定点において WNV の主要媒介蚊と推定されるアカイエカ、DENV を媒介するヒトスジシマカ、JEV を媒介するコガタアカイエカの3種が捕集されたが、その構成割合は環境で異なっていた。すなわち、アカイエカはほとんどの環境区分で多数捕集され、ヒトスジシマカは都市部住宅街など純住宅街で多く捕集される傾向がみられた。コガタアカイエカは農村地域で圧倒的に多数捕集される一方、水田（発生源）が近くに見られない様な都市部でも捕集され、飛翔行動などを考慮する必要が考えられた。また、海岸地域の住宅ではアカイエカが顕著に多く捕集され、その発生源調査を行ったところ放置されたプランター、花火の燃え滓を始末したプラスチックバケツおよび生ごみを堆肥化する容器の蓋の窪みな

どに多数の幼虫を確認した。03年時には排水溝と公共雨水枡に幼虫を確認しており、この地域一帯にアカイエカの発生源があることを示唆している。また、犬も複数飼われており、その内の1頭は設置トラップから10m 程の野外に繋がれている。発生源と吸血源の近接がアカイエカの多発生を維持していると推察され、蚊発生の制御を考えた場合の重要な注意点になる。

カラスのねぐら近くの高岡古城公園、富山市城址公園においてはアカイエカが最も多く捕集され、トラップの設置場所が高くなるに従ってその傾向は強くなるように思われた。このことは、木々の先端に巣を構える野鳥の吸血と関連していることが示唆された。ヒトスジシマカは高い位置のトラップではほとんど捕れず、低い位置のトラップで捕集されたが、その実数は一般民家よりも少ない傾向を示した。

なお、05年は全般的に蚊の捕集数が04年に比べ増加した。気温および日照時間は04年よりも低く推移したが、7～8月の降水量は04年よりも多く、また、04年に比べ台風の影響なども少なかったことが、蚊の発生を促した要因と考えられる。

農村地域の住宅における蚊の小分布をみると、明らかに蚊の多い場所と少ない場所が狭い面積・空間でみられ、発生源の溜水環境ばかりでなく、交尾場所などに必要な休息場所の存在が重要であることが推察される。このことは、万一の防除の場合に、庭の隅々まで丁寧的的確に作業する必要性を示唆している。

蚊の季節的消長は、調査年によって異なったが、お

おむね、一般民家およびカラスのねぐら定点とも毎年5月中旬から発生し、10月中旬には終息する消長を示した。定点によって最大頂点が異なり、蚊の発生は地域的であることが理解され、駆除を考えた場合、事前調査の必要性が示唆される。

調査した蚊683プール(10061個体)からはウエストナイルウイルスは検出されなかったため、富山県内にウエストナイルウイルスの侵入はないと考えられる。一方、コガタアカイエカと豚から日本脳炎ウイルスが分離されたことで、現在もコガタアカイエカ(媒介者)と豚(増幅動物)の関係が保たれていることが示唆された。日本脳炎ウイルスが分離されたのは、コガタアカイエカが多い郊外の豚舎や牛舎付近であり、民家・カラスのねぐら・空港といったコガタアカイエカの少ない地点では分離されなかった。一方、民家、カラスのねぐら、牛舎の約40プールで蚊特異的と思われるウイルスが分離された。これらは、蚊由来細胞のみから分離されること、細胞変性の特徴などから、2003年、2004年の蚊からも分離されている、新規の昆虫フラビウイルスであると推察される[6,7,8]。

今回の調査により、水田に囲まれた豚舎のような、増幅動物と媒介蚊のいる地点では、現在も濃厚に日本脳炎ウイルスが存在していることが確認された。さらに、その遺伝子型はかつての流行を担っていたNakayama株・JaGAR01株のようなⅢ型ではなく、近年全国で検出されているⅠ型であることを確認した[8,9,10]。

まとめ

全ての調査定点でWNV, DENV, 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。アカイエカはほとんどの環境区分で多数捕集され、ヒトスジシマカは都市部住宅街など純住宅街で多く捕集される傾向がみられた。また、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。このように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、都市部はアカイエカが多く、郊外ではコガタアカイエカが多いことが明らかになった。

捕集蚊からはウエストナイルウイルスは分離・検出されなかったが、日本脳炎ウイルスは分離・検出された。

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、新潟検疫所富山出張所の関係者の皆様、一般民家での調査にご協力頂いた当研究所元職員石倉康宏博士、現職員林美貴子博士、米田豊氏、堀元栄詞氏、岩井雅恵氏、また高岡古城公園での調査にご協力頂いた高岡厚生センター高田正耕次長はじめ衛生課の皆様にも厚くお礼申し上げます。

さらに、ウイルス検出・分離のご指導を頂いた国立感染症研究所、高崎智彦先生に衷心より感謝申し上げます。

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.
3. 国立感染症研究所編(2004). ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル(第3版)
4. 伊藤寿美代・藤戸貞男・杜下治三郎・中村 央(1979). 衛生動物, 27:145-152.
5. Wada, Y., Kawai, T., Oda, I., Miyagi, O., Suenaga, J., Nishigaki, J. and Omori, N. (1969). Trop. Med., 15:11-22.
6. 沢辺京子, 佐々木年則, 伊澤晴彦, 高崎智弘, 伊藤美佳子, 西海 功, 久居宣夫, 濱尾章二(2004) 感染症媒介ベクターの実態, 生息防止対策に関する研究. 厚労科研費・新興・再興感染症研究事業・平成15年度総括・分担研究報告書, p.167-178.
7. 沢辺京子, 伊澤晴彦, 星野啓太, 佐々木年則, 小滝 徹, 高崎智弘, 津田良夫, 小林睦生(2005) 感染症媒介ベクターの実態, 生息防止対策に関する研究. 厚労科研費・新興・再興感染症研究事業・平成16年度総括・分担研究報告書, p.227-235.
8. 押部智宏, 山岡政興(2004) 兵庫県立健康環境科学研究所センター紀要, 第1号 p15-18.
9. 矢野拓弥, 中野陽子, 西香南子, 久保晶, 杉山明, 中山治(2003) 三重県保健環境研究所年報, 第5号 p70-74.
10. 永安聖二, 戸梶彰彦, 森山ゆり, 千屋誠造, 小滝徹, 高崎智彦, 倉根一郎(2005) 高知県衛生研究所報, 51号 p29-31.

ポリオ流行予測調査

岩井雅恵 滝澤剛則 長谷川澄代 堀元栄詞
小原真弓 永井美之 中澤保文¹ 田中桂子²
加藤丈士³ 米道暁彦⁴ 嶋尻悟志⁵

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture

Masae IWAI, Takenori TAKIZAWA, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO
Mayumi OBARA, Yoshiyuki NAGAI, Yasufumi NAKAZAWA¹, Keiko TANAKA²,
Takeshi KATO³, Akihiko YONEMICHI⁴ and Satoshi SHIMAJIRI⁵

要 旨 平成17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6歳までの乳幼児81名から糞便を採取し、ウイルス分離を実施した。その結果、アデノウイルス2型、コクサッキーウイルス B3型、エコーウイルス3型がそれぞれ1名から検出され、エコーウイルス25型が8名から検出された。ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査は、乳児から成人(0歳～72歳)の295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して抗体価4倍以上の中和抗体価を保有する割合は、1型では93.2%、2型では95.9%、3型では77.6%であった。また、各型に対する平均抗体価は、1型は92.7倍、2型は61.8倍、3型は29.1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。本年度は感染源調査および感受性調査が委託された。両調査結果を合わせて報告する。

富山県における過去25年間の感染源調査では、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、2004年度に同2型が1株分離された。これら6株はすべてワクチン由来であり、野生型は分離されなかった。一方、感受性調査では、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抗体保有状況にあると考えられた。しかしながら、1～3型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にとどまっていると推定された。

世界保健機関(WHO)によって1988年に決議され、開始されたポリオ根絶計画により、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いても、2000年10月に根絶が宣言された[1]。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ウイルスが存在する。さらに、野生株フリーとなっていたアフリカの国々やインドネシアでは、2002年から2005年にナイジェリア由来と考えられるポリオ伝播が起き、また、レバノンやアンゴラ、ネパール等では、インド由来と考えられる輸入症例が報告されている[2]。ワクチン由来ポリオウイルス(VDPV)についても、2000-2001年ハイチおよびドミニカ共和国、2001年フィリピン、2001-2002年マダガスカルなどで流行が報告されている[3, 4, 5]。これらの国は、いずれも野生株フリーが達成され、ワクチン接種率が低下していた。このように、海外からのポリオウイルスの侵入を阻止し、VDPVの発生を監視するために、また、集団および個人レベルの感染防御を保つためにも、県民の抗体保有状況を把握することは極めて重要であると考えられる。

なお、検体を採取するにあたり、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、承諾の得られた場合のみ検査を行った。

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

I 感染源調査 調査および検査方法

健康な乳幼児を対象にして、砺波厚生センター管内の小矢部市では、春期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成17年9月に、新川厚生センター管内の黒部市では、秋期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成18年1月に、採取された糞便についてウイルス分離検査を実施した。年齢区分ごとの検査対象者数は、小矢部市では0歳児8名、黒部市では0歳児1名、1歳児4名、2歳児5名、3歳児18名、4歳児18名、5歳児15名、6歳児12名の計73名、両市の合計は81名であった。また、ポリオワクチン接種歴なども調査した。

ウイルスの検索は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[6]に準じて行った。採取した糞便に Eagle-MEM 培養液(日水製薬KK)を加えて約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。得られた上清に抗生物質を加えて、ウイルス分離材料とした。分離用細胞として Vero, MA104, RD-18S, HEp-2を使用し、細胞変性効果を指標とした。

結果および考察

黒部市の3歳児1名からアデノウイルス2型が、小矢部市の0歳児からコクサッキーウイルス B3型、エコーウイルス3型がそれぞれ1名から、また、黒部市の2~5歳児8名からエコーウイルス25型が検出された。ポリオウイルスは検出されなかった (Table1)。したがって、これらの地域でのポリオウイルス野生株、およびワクチン由来株の浸淫の可能性は少ないと考えられた。

II 感受性調査 調査および検査方法

平成17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295名 (0~72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」[6]に準じて行った。被験血清を Eagle-MEM 培養液で4倍希釈し、56℃30分間非働化した後、その50 μ l を96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50 μ l となるように調製した1~3型の弱毒セービンウイルス50 μ l を加えてよく混和し、37℃、3時間の中和反応を行った。中和

Table 1. Virus isolation from feces of children

Area	Age (Year)	No. of feces	Virus isolation positive		Type of virus			
			No.	(%)	Adeno2	CoxB3	Echo3	Echo25
Kurobe	0	1	0	0				
	1	4	0	0				
	2	5	4	80				4
	3	18	3	17	1			2
	4	18	1	6				1
	5	15	1	7				1
	6	12	0	0				
	Subtotal	73	9	12	1			8
Oyabe	0	8	2	25		1	1	
	1	0	-	-				
	2	0	-	-				
	3	0	-	-				
	4	0	-	-				
	5	0	-	-				
	6	0	-	-				
	Subtotal	8	2	25		1	1	
Total		81	11	13.6	1	1	1	8

Date of survey: Kurobe; Jan.30-31, 2006. Oyabe; Sep.14-15, 2005.

*: Adeno2; Adenovirus type2, CoxB3; Coxsackievirus typeB3, Echo3; Echovirus type3, Echo25; Echovirus type25.

Table 2. Numbers of sera possessing neutralizing antibodies

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	25	5	0	0	1	1	0	1	2	0	15	20	80.0	548.7
2~3	16	0	1	0	0	0	1	0	4	5	5	16	100	346.7
4~9	35	1	0	0	1	1	5	0	9	9	9	34	97.1	313.9
10~14	50	0	1	0	0	6	8	10	11	9	5	50	100	166.6
15~19	11	0	0	1	0	1	1	3	3	0	2	11	100	145.2
20~24	22	2	0	2	3	2	5	3	1	1	3	20	90.9	78.8
25~29	13	3	0	0	2	6	0	1	1	0	0	10	76.9	39.4
30~34	22	3	4	6	1	5	2	1	0	0	0	19	86.4	14.9
35~39	19	1	2	1	2	4	5	1	0	1	2	18	94.7	48.9
40~49	27	3	1	3	4	1	7	3	4	1	0	24	88.9	50.8
50~59	29	1	2	4	5	8	4	3	2	0	0	28	96.6	29.7
60~	26	1	2	1	7	6	6	2	1	0	0	25	96.2	30.3
Total	295	20	13	18	26	41	44	28	38	26	41	275	93.2	92.7
(%)	100	6.8	4.4	6.1	8.8	13.9	14.9	9.5	12.9	8.8	13.9	93.2		

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	25	4	0	0	0	0	0	1	3	10	7	21	84.0	546.9
2~3	16	0	0	0	0	3	2	3	4	2	2	16	100	166.0
4~9	35	1	0	0	1	5	3	9	12	4	0	34	97.1	138.9
10~14	50	0	0	2	8	16	10	8	6	0	0	50	100	49.9
15~19	11	0	0	1	1	2	6	1	0	0	0	11	100	43.9
20~24	22	2	0	2	4	7	4	3	0	0	0	20	90.9	34.3
25~29	13	1	1	0	3	2	5	0	1	0	0	12	92.3	35.9
30~34	22	0	0	4	2	9	4	3	0	0	0	22	100	32.0
35~39	19	1	1	2	1	2	7	3	2	0	0	18	94.7	48.9
40~49	27	1	4	2	4	2	6	7	0	0	1	26	96.3	36.6
50~59	29	2	2	4	4	6	7	4	0	0	0	27	93.1	29.6
60~	26	0	2	3	4	2	4	4	5	2	0	26	100	53.1
Total	295	12	10	20	32	56	58	46	33	18	10	283	95.9	61.8
(%)	100	4.1	3.4	6.8	10.8	19.0	19.7	15.6	11.2	6.1	3.4	95.9		

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	25	7	2	1	1	0	1	3	6	2	2	18	72.0	118.5
2~3	16	2	1	1	2	4	2	2	1	1	0	14	87.5	43.1
4~9	35	4	4	6	4	4	4	6	2	1	0	31	88.6	30.6
10~14	50	9	6	9	10	6	5	4	1	0	0	41	82.0	19.3
15~19	11	2	3	1	1	2	1	1	0	0	0	9	81.8	16.0
20~24	22	12	2	4	0	4	0	0	0	0	0	10	45.5	12.1
25~29	13	4	0	3	5	1	0	0	0	0	0	9	69.2	13.7
30~34	22	11	2	4	3	1	1	0	0	0	0	11	50.0	11.7
35~39	19	5	2	2	4	1	3	1	0	1	0	14	73.7	25.0
40~49	27	4	1	4	3	3	5	4	0	2	1	23	85.2	45.9
50~59	29	5	0	3	8	3	7	3	0	0	0	24	82.8	31.1
60~	26	1	3	1	5	5	6	2	1	2	0	25	96.2	36.8
Total	295	66	26	39	46	34	35	26	11	9	3	229	77.6	29.1
(%)	100	22.4	8.8	13.2	15.6	11.5	11.9	8.8	3.7	3.1	1.0	77.6		

Table 3. Numbers of sera possessing neutralizing antibodies against poliovirus in relation to vaccination history among age groups

Type1											
Age group (years)	No. of sera	History 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	25	12/12	100	8/9	88.9			0/3	0	0/1	0
2~3	16	12/12	100	2/2	100	1/1	100			1/1	100
4~9	35	24/24	100	2/2	100	4/4	100	0/1	0	4/4	100
10~14	50	38/38	100	2/2	100	4/4	100			6/6	100
15~19	11	9/9	100							2/2	100
20~24	22	8/8	100	1/1	100	7/8	87.5	2/2	100	2/3	66.7
25~29	13	2/2	100							8/11	72.7
30~34	22					4/5	80.0			15/17	88.2
35~39	19					5/5	100			13/14	92.9
40~49	27			1/1	100	4/5	80.0	1/1	100	18/20	90.0
50~59	29					2/2	100	1/1	100	25/26	96.2
60~	26									25/26	96.2
Total	295	105/105	100	16/17	94.1	31/34	91.2	4/8	50.0	119/131	90.8
				152/156	97.4%						

Type2											
Age group (years)	No. of sera	History 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	25	12/12	100	9/9	100			0/3	0	0/1	0
2~3	16	12/12	100	2/2	100	1/1	100			1/1	100
4~9	35	24/24	100	2/2	100	3/4	75.0	1/1	100	4/4	100
10~14	50	38/38	100	2/2	100	4/4	100			6/6	100
15~19	11	9/9	100							2/2	100
20~24	22	8/8	100	1/1	100	7/8	87.5	2/2	100	2/3	66.7
25~29	13	2/2	100							10/11	90.9
30~34	22					5/5	100			17/17	100
35~39	19					5/5	100			13/14	92.9
40~49	27			1/1	100	5/5	100	1/1	100	19/20	95.0
50~59	29					2/2	100	1/1	100	24/26	92.3
60~	26									26/26	100
Total	295	105/105	100	17/17	100	32/34	94.1	5/8	62.5	124/131	94.7
				154/156	98.7%						

Type3											
Age group (years)	No. of sera	History 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	25	11/12	91.7	5/9	55.6			1/3	33.3	1/1	100
2~3	16	10/12	83.3	2/2	100	1/1	100			1/1	100
4~9	35	23/24	95.8	1/2	50.0	3/4	75.0	0/1	0	4/4	100
10~14	50	30/38	78.9	2/2	100	3/4	75.0			6/6	100
15~19	11	7/9	77.8							2/2	100
20~24	22	4/8	50.0	0/1	0	3/8	37.5	1/2	50.0	2/3	66.7
25~29	13	1/2	50.0							8/11	72.7
30~34	22					4/5	80.0			7/17	41.2
35~39	19					3/5	60.0			11/14	78.6
40~49	27			1/1	100	5/5	100	0/1	0	17/20	85.0
50~59	29					2/2	100	1/1	100	21/26	80.8
60~	26									25/26	96.2
Total	295	86/105	81.9	11/17	64.7	24/34	70.6	3/8	37.5	105/131	80.2
				121/156	77.6%						

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

Table 4. Numbers of sera possessing neutralizing antibodies against different types of poliovirus among age groups

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	25	2			2	5	1		15	(60.0)
2~3	16					2			14	(87.5)
4~9	35		1	1		2			31	(88.6)
10~14	50					9			41	(82.0)
15~19	11					2			9	(81.8)
20~24	22	2				10			10	(45.5)
25~29	13	1		2		1			9	(69.2)
30~34	22			1		10	2		9	(40.9)
35~39	19	1				4			14	(73.7)
40~49	27	1				3	2		21	(77.8)
50~59	29		1			4	1	1	22	(75.9)
60~	26					1	1		24	(92.3)
Total	295	7	2	4	2	53	7	1	219	
(%)	(100)	(2.4)	(0.7)	(1.4)	(0.7)	(18.0)	(2.4)	(0.4)	(74.2)	

後、Vero 細胞浮遊液(1~2×10⁵細胞/ml)を100μl ずつ加え、37°C、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1週間観察し、中和抗体価を測定した。各検体は同時に2回ずつ測定した。弱毒セービンウイルスは、平成15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3代継代したものを使用した。

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。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が95.9%(283/295)で最も高く、次いで1型が93.2%(275/295)、3型は77.6%(222/295)であった。これらの結果は、昨年度の調査結果(1型95.5%、2型96.5%、3型82.7%)とほぼ同様であり、いずれの型に対しても集団免疫として十分な状況であった[7]。各年齢区分をみると、1型では25~29歳が76.9%で最も低く、次いで0~1歳が80.0%、30~34歳が86.4%、40~49歳が88.9%であった。それ以外の年齢区分では、90%以上の人が抗体を保有していた。2型では、0~1歳が84.0%であったが、それ以外の年齢区分では90%以上の抗体保有率であった。一方、3型は20~24歳が45.5%と最も低く、次いで30~34歳が

50.0%、25~29歳が69.2%、0~1歳が72.0%、35~39歳が73.7%、それ以外の年齢区分が80%以上であり、1型や2型に比べて低かった。

平均抗体価(幾何平均)は、1型では30~34歳の14.9倍から0~1歳の548.7倍までを示し、平均は92.7倍であった。2型では50~59歳の29.6倍から0~1歳の546.9倍までを示し、平均は61.8倍であった。一方、3型では30~34歳の11.7倍から0~1歳の118.5倍までを示し、平均は29.1倍であり、1型や2型と比べて低かった。

Table 3 にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。ワクチン接種者全体の抗体保有率は、1型97.4%(152/156)、2型98.7%(154/156)であり、1回のみでも十分な抗体獲得率を示していた。しかし、3型の場合の陽性率は77.6%(121/156)にとどまり、1型や2型と比べて低かった。なお、ポリオ生ワクチンは、日本では1961年に導入され、全国の乳幼児を対象に一斉に投与された。1963年からは2回接種が定期的に行われている[8]。

各年齢層における複数の型に対する抗体保有状況を Table 4 に示した。1~3のすべての型に対する抗体保有率は、全体では74.2%(219/295)であったが、保有率が比較的低い年齢としては、30~34歳の40.9%(9/22)、20~24歳の45.5%(10/22)、0~1歳の60.0%(15/25)であった。今回の調査では、1型に対する抗体保有率が低い

とされている昭和50年(1975年)から52年(1977年)生まれ[9]の検体が1名あったが、すべての型の抗体を有していた。一方、すべての型に対して抗体を持っていなかったのは、0~1歳2名、20~24歳2名、25~29歳1名、35~39歳1名、40~49歳1名の計7名であった。その内、ワクチン歴は0~1歳の2名は無し、20~24歳の1名は回数不明、その他は接種不明であった。いずれかの型に対して抗体を持っていなかったのは76名(25.8%)で、このうち2回の接種が済んでいる人は19名、1回が7名、0回が6名、回数不明が12名、接種不明が32名であった。

野生型ポリオウイルスは、インドやアフリカなどで依然として感染が続いており、これらの地域からウイルスが侵入する可能性があるため、その監視は続けなければならない。一方、生ワクチン株が腸管内で増殖する過程で毒性が復帰する可能性も考慮しておかなければならない。毒性復帰株に由来する二次感染は、約580万回に1回発生するといわれており[10]、子供から二次感染によって家族がポリオ麻痺を発症した事例も報告されている[11]。このような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が検討されている[12]。ワクチン由来のポリオウイルスは、通常、ワクチン接種後約1ヶ月間便に排泄され、免疫不全者ではさらに長期間にわたることがある[13, 14, 15, 16]。ウイルス増殖が繰り返されるほど変異は蓄積される可能性があるため、生ワクチンを使用している限り、高い集団免疫状況を保つことが大切であると考えられる。今回の調査では、25.8%の人が3種類のポリオウイルスのうち、いずれかの型に対する抗体を持っていないことが判明した。これらの人は、海外渡航時や育児に携わる期間には注意が必要であると考えられる。

まとめ

感染源調査：平成18年1月、平成17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81名を対象に調査した。その結果、アデノウイルス2型、コクサッキーウイルス B3型、エコーウイルス3型がそれぞれ1名から検出され、エコーウイルス25型が8名から検出された。ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：0歳から72歳までの295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93.2%、2型95.9%、3型77.6%であった。また、平均抗体価(幾何平均)は1型92.7倍、2型61.8倍、3型29.1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。しかしながら、いずれかの型の抗体を保有していない人が25.8%おり、海外からのポリオウイルス侵入に対する警戒や、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あたり、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 (2000). Weekly epidemiological record, No.49, 75, 397-408
2. WHO (2006). Weekly epidemiological record, No.7, 81, 61-68
3. Kew, O., Morris-Glasgow, V., Landaverde, M. et al. (2002). *science*, 296, 356-359
4. Shimizu, H., Thorley, B., Paladin, F.J., et al. (2004). *J. Virol.*, 78, 13512-13521
5. WHO (2002). Weekly epidemiological record, No.29, 77, 241-248
6. 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). 感染症流行予測調査事業検査術式, 1-8
7. 岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 他 (2005). 平成16年度富山県衛生研究所年報, 28, 73-79
8. 厚生労働省, 国立感染症研究所 (2001). IDWR, 第3巻, 第26号, 8-11
9. 厚生省通知, (平成8年11月28日). 健医感発第147号.
10. 日本ポリオ研究所, 日本薬局方・経口生ポリオワクチン(セービン) I・II・III型混合添付文書.
11. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課(2001). 病原微生物検出状況月報, 22, 63
12. 清水博之, 武田直和, 宮村達男 (2004). 総合臨牀. 53, 6, 1860-1865
13. WHO (2001). Polio Laboratory Manual, 13
14. Cherkasova EA, Korotkova EA, Yakovenko ML, et al. (2002). *J. Virol.*, 76, 6791-6799
15. Kew, O.M., Sutter, R.W., Nottay, B.K., et al. (1998). *J. Clin. Microbiol.*, 36, 2893-2899
16. Martin, J., Dunn, G., Hull, R., et al. (2000). *J. Virol.*, 74, 3001-3010

インフルエンザ流行予測調査

堀元栄詞 小原真弓 岩井雅恵 長谷川澄代
滝澤剛則 永井美之 田中桂子¹ 朝野芳明²
中澤保文³ 米道暁彦⁴ 宮田英喜⁵

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2005-2006

Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA,
Takenori TAKIZAWA, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA¹, Yoshiaki ASANO²
Yasufumi NAKAZAWA³, Akihiko YONEMICHI⁴, 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、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295名の抗体保有状況について、4種類のインフルエンザ抗原を用いて調べた。血球凝集阻止 (HI) 価40倍以上の力価を示す抗体保有率は、ワクチン株の A/New Caledonia/20/99(H1N1)株, A/NewYork/55/2004 (H3N2) 株および B/Shanghai/361/2002株 (山形系統), そして参考株の B/Hawaii/13/2004株 (Victoria 系統) に対して、各々34.2%, 41.0%, 37.6%, 5.8%であった。B型 (Victoria 系統) に対する抗体保有率は依然低く、流行が危惧された。
2. インフルエンザ患者の発生は1月上旬 (第1週) より上昇し、1月下旬 (第5週) をピークにして4月上旬 (第14週) に一旦終息した。その後、4月下旬 (第17週) をピークとする地域的な小さな流行があり、5月中旬に終息を迎えた。その間に、休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が52施設でとられ、届け出累積患者数は1292名であった。
3. インフルエンザウイルス分離については、AH1型が38株、AH3型が67株、B型が9株、合計114株が分離された。シーズン前半はAH3型が多く分離され、それに続いてAH1型が分離されたのに対し、B型はシーズン終盤で分離された。分離株の抗原解析の結果、AH1型およびAH3型分離株ではワクチン株とほぼ同じ抗原性であったが、B型分離株はワクチン株と抗原性が異なる Victoria 系統株であった。

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) とウイルス検索 (感染源調査) を行い、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。

1 ヒト感受性調査

インフルエンザ流行期前の県民の抗体保有状況を調べ、次シーズンの流行に対する感受性者を予測する。

調査および検査方法

1. 調査期間

2005年6~9月

2. 調査対象

県内住民295名 (0~72歳)

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。HI 価は血清希釈1:10から2倍段階希釈により測定し、血清希釈倍数のみで表記した (WHO 方式)。抗原は、ワクチン株の A/New Caledonia/20/99(H1N1)株, A/NewYork/55/2004 (H3N2) 株および B/Shanghai/361/2002株 (山形系統), そして参考株の B/Hawaii/13/2004株 (Victoria 系統) を用いた。ワクチン株はデンカ生研製で、それ以外は国立感染症研究所より配布された。血球は AH1型と B型は0.5%ニワトリ血球を、AH3型については、0.5%ガチョウ血球を使用

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

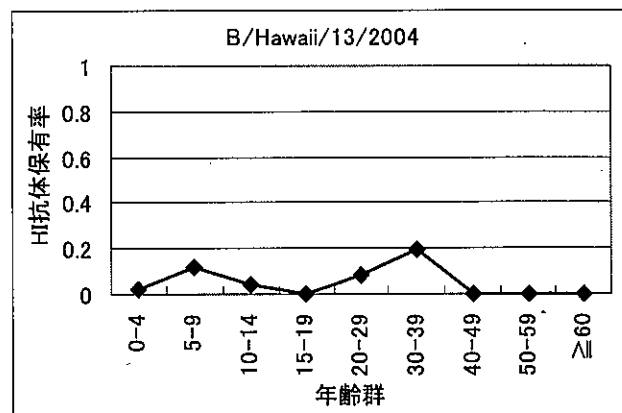
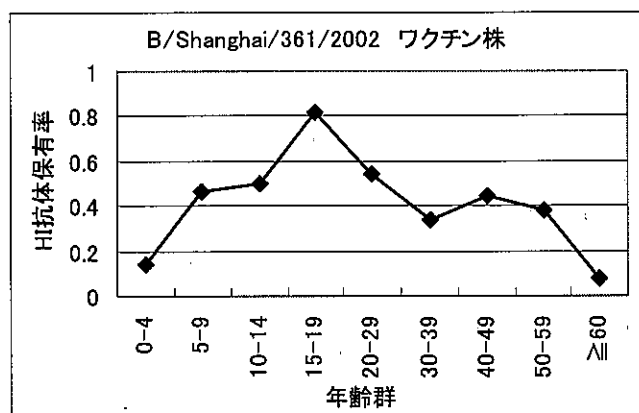
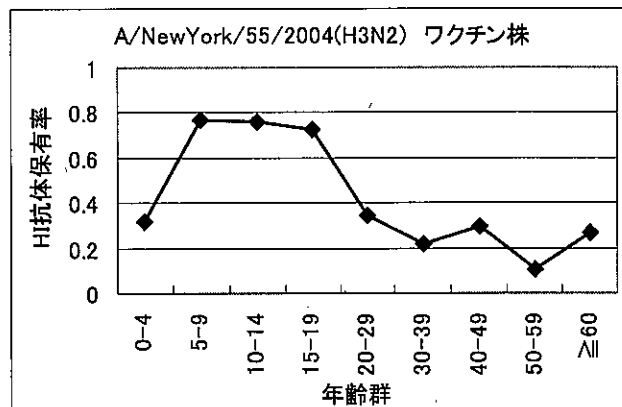
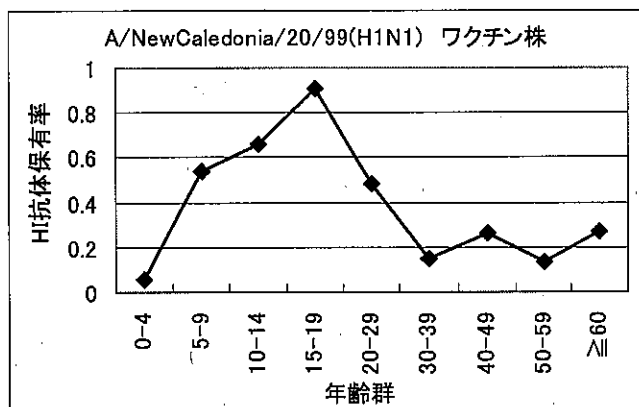
した。

結果および考察

年齢別検体数は0～4歳:50例, 5～9歳:26例, 10～14歳:50例, 15～19歳:11例, 20～29歳:35例, 30～39歳:41例, 40～49歳:27例, 50～59歳:29例, 60歳

以上:26例, 合計295例である。これらの検体について、AH1型, AH3型およびB型インフルエンザウイルスに対するHI価を測定し、40倍以上のHI価を示す抗体保有率を年齢群別に示した(図1)。40倍以上のHI価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



◆ HI価: ≥1:40

図1. インフルエンザウイルスに対する年齢別抗体保有状況 (2005年6～9月)

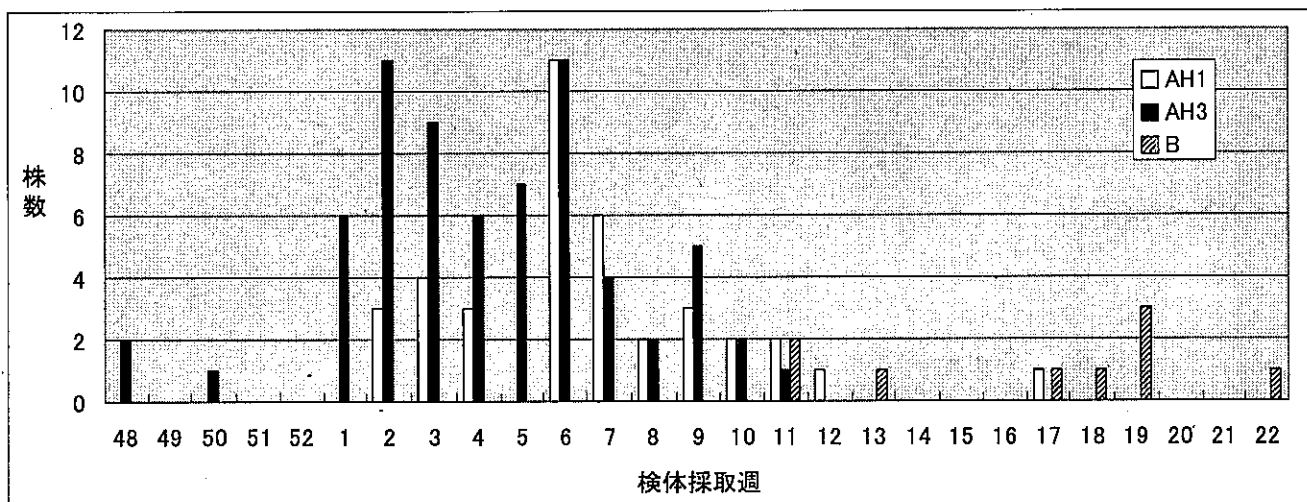


図2. インフルエンザウイルス型別分離状況 (2005/2006年)

表1. インフルエンザウイルスの検出状況

厚生センター・保健所	施設名	区分	ウイルス検出検査					
			咽頭(鼻腔)ぬぐい液		ウイルス分離			
			採取日	検体数	分離数	型別内訳		
					AH1	AH3	B	
新川	二本垣医院	定点	2005.12.4-2006.3.16	17	14		12	2
中部	池田内科医院	定点	2006.1.17-3.27	18	18	5	12	1
高岡	小栗小児科医院	定点	2006.1.9-3.13	17	17	11	6	
砺波	正木医院	定点	2005.12.13-2006.5.29	35	33	3	24	6
富山市	坂本小児科医院	定点	2006.1.10-3.2	19	19	14	5	
中部	高野小学校	集団	2006.1.16-21	4	4		4	
富山市	奥田北小学校	集団	2006.2.7-10	6	6	4	2	
高岡	中田小学校	集団	2006.2.23-2.27	5	3	1	2	
合計				121	114	38	67	9

(注) 検体は1人1検体ずつ採取

有率：本株に対する HI 価40倍以上は平均34.2% (101/295) であった。年齢別では、15～19歳が90.9%と最も高く、5～9歳、10～14歳、20～29歳では、それぞれ53.8%、66.0%、48.6%と比較的高かったが、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上では、14.6%、25.9%、13.8%、26.9%と比較的低く、0～4歳群では、6.0%と極めて低かった。

A/NewYork/55/2004 (H3N2) 株に対する抗体保有率：本株に対する HI 価40倍以上の抗体保有率は平均41.0% (121/295) であった。年齢別では、5～9歳、10～14歳、15～19歳で、それぞれ76.9%、76.0%、72.7%と高く、0～4歳、20～29歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上では、それぞれ32.0%、34.3%、22.0%、29.6%、10.3%、26.9%と比較的低かった。

B/Shanghai/361/2002株 (山形系統) 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および遺伝学的に異なる2つの系統 (山形系統と Victoria 系統) がある。本株に対する HI 価40倍以上の抗体保有率は平均37.6% (111/295) であった。年齢別では、15～19歳で81.8%と最も高く、次いで、5～9歳、10～14歳、20～29歳、40～49歳で、それぞれ46.2%、50.0%、54.3%、44.4%と比較的高かったが、30～39歳と50～59歳では、34.1%と37.9%と中程度であり、0～4歳と60歳以上では、14.0%と7.7%と低かった。

B/Hawaii/13/2004株 (Victoria 系統) に対する抗体保有率：本株に対する HI 価40倍以上の抗体保有率は平均5.8% (17/295) であった。年齢別では、0～4歳、5～9歳、10～14歳、20～29歳、30～39歳で、それぞれ2.0%、11.5%、4.0%、8.6%、19.5%であり、15～19歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上では0%であった。

富山県感染症発生動向調査によると、昨シーズンのインフルエンザ患者の報告は過去10年間で最多であり [1]、また、分離されたウイルスは、AH3型が56株 (49%)、B型 (山形系統) が59株 (51%) であった [2]。昨シーズン AH1型が分離されていないのにも関わらず、10～29歳での抗体保有率が昨年度の調査より上昇した [2]。これはワクチンを連続して接種することによる効果と推測された。AH3型については、昨年度の調査とほぼ同様の抗体保有率であった。

B型については、B型 (山形系統) に対する抗体保有率が乳幼児と高齢者を除いた年齢層で、昨年度の調査より著しく増加した。しかし、B型 (Victoria 系統) に対する抗体保有率は昨年度の調査同様、全年齢層で低かった [2]。これは、昨シーズンの流行が B型 (山形系統) によるもので、自然感染により抗体保有率が上昇したと推測された。

表 2. 標準抗血清に対する A 型分離株の HI 価

抗原 (分離株)	抗血清		抗原 (分離株)	抗血清	
	抗 A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	抗 A/New York/55/2004 (H3N2)		抗 A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	抗 A/New York/55/2004 (H3N2)
A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	640	-	A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	640	-
A/New York/55/2004 (H3N2)	-	1280	A/New York/55/2004 (H3N2)	-	1280
1 A/富山/57/2005	-	1280	54 A/富山/51/2006	-	1280
2 A/富山/58/2005	-	1280	55 A/富山/52/2006	160	-
3 A/富山/59/2005	-	1280	56 A/富山/53/2006	-	1280
4 A/富山/1/2006	640	-	57 A/富山/54/2006	160	-
5 A/富山/2/2006	640	-	58 A/富山/55/2006	320	-
6 A/富山/3/2006	-	2560	59 A/富山/56/2006	-	1280
7 A/富山/4/2006	-	2560	60 A/富山/57/2006	320	-
8 A/富山/5/2006	-	2560	61 A/富山/58/2006	160	-
9 A/富山/6/2006	-	2560	62 A/富山/59/2006	-	2560
10 A/富山/7/2006	-	2560	63 A/富山/60/2006	-	2560
11 A/富山/8/2006	-	2560	64 A/富山/61/2006	-	2560
12 A/富山/9/2006	-	640	65 A/富山/62/2006	160	-
13 A/富山/10/2006	-	640	66 A/富山/63/2006	320	-
14 A/富山/11/2006	-	1280	67 A/富山/64/2006	320	-
15 A/富山/12/2006	320	-	68 A/富山/65/2006	160	-
16 A/富山/13/2006	640	-	69 A/富山/66/2006	320	-
17 A/富山/14/2006	-	640	70 A/富山/67/2006	-	1280
18 A/富山/15/2006	-	1280	71 A/富山/68/2006	-	1280
19 A/富山/16/2006	-	1280	72 A/富山/69/2006	160	-
20 A/富山/17/2006	-	1280	73 A/富山/70/2006	160	-
21 A/富山/18/2006	-	1280	74 A/富山/71/2006	-	1280
22 A/富山/19/2006	-	1280	75 A/富山/72/2006	-	2560
23 A/富山/20/2006	-	1280	76 A/富山/73/2006	320	-
24 A/富山/21/2006	-	1280	77 A/富山/74/2006	-	1280
25 A/富山/22/2006	320	-	78 A/富山/75/2006	-	640
26 A/富山/23/2006	-	1280	79 A/富山/76/2006	-	640
27 A/富山/24/2006	320	-	80 A/富山/77/2006	320	-
28 A/富山/25/2006	-	2560	81 A/富山/78/2006	320	-
29 A/富山/26/2006	-	2560	82 A/富山/79/2006	320	-
30 A/富山/27/2006	-	2560	83 A/富山/80/2006	320	-
31 A/富山/28/2006	-	2560	84 A/富山/81/2006	320	-
32 A/富山/29/2006	-	1280	85 A/富山/82/2006	-	1280
33 A/富山/30/2006	-	640	86 A/富山/83/2006	80	-
34 A/富山/31/2006	320	-	87 A/富山/84/2006	160	-
35 A/富山/32/2006	320	-	88 A/富山/85/2006	160	-
36 A/富山/33/2006	-	1280	89 A/富山/86/2006	160	-
37 A/富山/34/2006	-	1280	90 A/富山/87/2006	320	-
38 A/富山/35/2006	-	1280	91 A/富山/88/2006	-	1280
39 A/富山/36/2006	160	-	92 A/富山/89/2006	-	1280
40 A/富山/37/2006	160	-	93 A/富山/90/2006	-	1280
41 A/富山/38/2006	-	1280	94 A/富山/91/2006	-	1280
42 A/富山/39/2006	-	1280	95 A/富山/92/2006	-	1280
43 A/富山/40/2006	-	1280	96 A/富山/93/2006	-	1280
44 A/富山/41/2006	-	1280	97 A/富山/94/2006	-	1280
45 A/富山/42/2006	160	-	98 A/富山/95/2006	160	-
46 A/富山/43/2006	-	2560	99 A/富山/96/2006	-	1280
47 A/富山/44/2006	-	1280	100 A/富山/97/2006	-	640
48 A/富山/45/2006	-	1280	101 A/富山/98/2006	-	640
49 A/富山/46/2006	-	1280	102 A/富山/99/2006	320	-
50 A/富山/47/2006	-	1280	103 A/富山/100/2006	-	640
51 A/富山/48/2006	-	640	104 A/富山/101/2006	160	-
52 A/富山/49/2006	-	1280	105 A/富山/102/2006	320	-
53 A/富山/50/2006	-	1280			

-: HI 抗体価 <1:10

A/New Caledonia /20/99 (H1N1) ワクチン株
A/New York/55/2004 (H3N2) ワクチン株

表 3. 標準抗血清に対する B 型分離株の HI 価

抗原 (分離株)	抗血清	
	抗 B/Shanghai/361/2002	抗 B/Brisbane/32/2002
B/Shanghai/361/2002	320	160
B/Brisbane/32/2002	-	640
1 B/富山/1/2006	-	5120
2 B/富山/2/2006	-	5120
3 B/富山/3/2006	-	1280
4 B/富山/4/2006	-	5120
5 B/富山/5/2006	-	1280
6 B/富山/6/2006	-	1280
7 B/富山/7/2006	-	1280
8 B/富山/8/2006	-	2560
9 B/富山/9/2006	-	1280

-: HI 抗体価 <1:10

B/Shanghai/361/2002 (山形系統株) ワクチン株

B/Brisbane/32/2002 (Victoria 系統株) 参考株

II 感染源調査 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、流行株の性状を把握し、それに基づく次シーズンのワクチン株の選定や、新型インフルエンザ出現監視に資することを目的に調査を行った。

調査および検査方法

1. 調査期間

2005年12月～2006年6月

2. 調査対象

定点医療機関として、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（南砺市）、坂本小児科医院（富山市）の協力を得た。「集団かぜ」については、3施設の患者について検討した。

3. 検査方法

ウイルスは咽頭ぬぐい液、一部鼻腔ぬぐい液を MDCK 細胞に接種して分離した。分離したウイルスは、国立感染症研究所から配布された抗 A/New Cal edonia/20/99(H1N1)株血清、抗 A/New York/55/2004 (H3N2) 株血清、抗 B/Shanghai/361/2002株 (山形系統) 血清および抗 B/Brisbane/32/2002株 (Victoria 系統) 血清を用いた HI 試験によって同定した。血球は A 型・B 型ともに 0.75% モルモット血球を用いた。

結果および考察

1. インフルエンザ患者の発生状況

感染症発生動向調査によると、富山県のインフルエンザ患者は、2005年11月下旬から散発的に報告されたが、年明け第1週に定点当たり1.0人を越えて流行期に入った。報告はその後増加し、第5週（1月30日～2月5日）にピーク（40.69人/定点）を迎えたが、その後減少し、第14週（4月3～9日）には0.94人/定点となり、一旦流行は終息した。その後、砺波および中部厚生センター管内で再び報告数が増加し、第17週（4月24～30日）をピーク（1.65人/定点）とする小規模の流行となったが、5月中旬には終息した。

また、「集団かぜ」は1月16日の小学校での学級閉鎖に始まり、2月27日までに、休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が54施設でとられた。累積患者数は1292名であった。

2. インフルエンザウイルスの検出状況

2005年12月～2006年5月までに、定点医療機関で採取された106検体と、「集団かぜ」（3施設）で採取された15検体、合計121検体についてインフルエンザウイルスの分離を試みた。成績を表1に示す。

今シーズンは、新川厚生センター管内で12月4日に採取された患者検体から AH3型が最初に分離された。シーズン前半は AH3型が多く分離され、その後やや遅れて AH1型が分離された。また、B 型については、シーズン終盤で分離された (図2)。ウイルス分離は

AH1型が38株, AH3型が67株, B型が9株, 合計114株であった。

標準抗血清に対するA型分離株のHI価を表2に示す。抗A/New Caledonia/20/99(H1N1)株血清に反応するAH1型の分離株(38株)のHI価は, 80~640倍(ホモ価640倍)であった。ホモ価と8倍以上違うHI価を示した分離株は1株だけであり, 分離株のほとんどはワクチン株と抗原性が類似するものであった。抗A/New York/55/2004(H3N2)株血清に反応するAH3型の分離株(67株)のHI価は, 640~2560倍(ホモ価1280倍)であった。全てホモ価と2倍以内のHI価であり, 分離株のほとんどはワクチン株と抗原性が類似するものであった。

標準抗血清に対するB型分離株のHI価を表3に示す。抗B/Brisbane/32/2002株血清に反応するB型分離株(9株)のHI価は, それぞれ1280~5120倍(ホモ価640倍)であり, ホモ価と8倍以上違うHI価を示した株が4株あった。また, 抗B/Shanghai/361/2002株血清に対しては, すべて<10(ホモ価320倍)であった。このことより, 今シーズン分離されたB型は全てVictoria系統の株であった。

今シーズンの富山県におけるインフルエンザの流行は, 患者発生状況からみて大流行した昨シーズンよりも小規模であった[1]。患者報告は, 1月下旬をピークに持つ一峰性の曲線を描き, これは, A型ウイルスの単独流行に特徴的であった。

また, シーズン終盤に小さな流行を認めたが, 全国でも同じような流行が認められた[3]。同時期に採取された検体からB型が分離されたことと, 全国でもB型による流行が報告されたことから, 同時期の流行はB型によるものと推測された。

ウイルス分離については, AH1型が33.3%, AH3型が58.8%, B型が7.9%であった。富山県でのAH1型の分離は, 2001/2002年シーズン以来4年ぶりの分離であった[4]。全国の集計では, 2006年6月20日現在, AH1型25.9%, AH3型66.6%, B型7.5%であり, 富

山県とほぼ同様の傾向だった[5]。

分離株の抗原解析の結果, A型分離株については, その多くがワクチン選定株と類似する抗原性を示した。B型分離株については, 昨シーズン流行した山形系統に代わり全てVictoria系統であった。この傾向は全世界的に同様で, WHOは2006/2007年インフルエンザシーズンワクチン(北半球の冬)のB型の推奨株をVictoria系統であるB/Malaysia/2506/2004類似株に変更した[6]。

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. 富山県衛生研究所編集・発行(2006). 富山県感染症発生動向調査事業報告書(平成17年), p16
2. 堀元栄詞, 松浦久美, 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(2005). 富山県衛生研究所年報, 28, 85-92
3. 国立感染症研究所編(2006). 病原微生物検出情報, 27,150-153
4. 松浦久美, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 中山喬, 安藤秀二, 永井美之, 田中桂子, 金木潤, 遠藤京子, 田中有易知, 中村由紀子, 宮田英喜(2002). 富山県衛生研究所年報, 25,91-98
5. 国立感染症研究所感染症情報センター(2006). IASR, <http://idsc.nih.gov/iasr/prompt/graph-kj.html>
6. 国立感染症研究所編(2006). 病原微生物検出情報,27,126

2002年の富山県におけるエコーウイルス13型検出状況と血清疫学調査

岩井雅恵 滝澤剛則 松浦久美子 吉田弘¹
中山喬 長谷川澄代 小原真弓
堀元栄詞 永井美之

Detection of Echovirus Type 13 in Toyama Prefecture in 2002 and Epidemiological Surveillance

Masae IWAI, Takenori TAKIZAWA, Kumiko MATSUURA, Hiromu YOSHIDA¹
Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA
Eiji HORIMOTO, Yoshiyuki NAGAI

要旨 日本でエコーウイルス13型(E13)による無菌性髄膜炎が流行した2002年に、富山県においても、5名の無菌性髄膜炎患者、および3河川からE13が分離された。これらの分離株について、VP1領域遺伝子を比較したところ、塩基配列で0~2.1%の違い、アミノ酸でも最大で2ヶ所の違いのみであった。このように、患者および河川分離株の間の相同性が高かったため、河川水由来株は、地域で流行しているウイルスを反映することが示唆された。また、GenBankから得られた国内外27株のE13と比較したところ、富山県の分離株は、2000年から2002年に分離されたGenBankの21株と同じクラスターに属し、塩基配列で0.3~4.7%、アミノ酸で0~1.7%の違いであり、相同性が高いことがわかった。一方、富山県住民の2002年前後におけるE13感染状況を調べるために、2000年および2003年における県民のE13に対する中和抗体価を測定したところ、2000年においては39歳以下ではほとんど抗体を保有していなかったが、2003年では特に0~14歳の若年齢層で、抗体保有率および平均抗体価が顕著に上昇していた。以上から、2000~2003年の間に世界的に認められたE13の流行が富山県内でも起きていたことが推定された。

エコーウイルス13型(E13)は、ピコルナウイルス科エンテロウイルス属に属し、接触感染や糞口感染によって感染する[1]。E13は2000年頃までは稀なウイルスであり[2]、日本でも1980年以来2001年まで分離報告がなかったが[3]、2000年から2002年にかけて世界各地で流行が認められた[4, 5, 6, 7, 8]。国内では2001年の秋頃から福島、大阪、福井などで分離され始め、2002年の夏をピークに全国的に検出例が急増した。2002年は全国で無菌性髄膜炎が流行し、患者の多くからE13が分離された[3]。富山県においても、無菌性髄膜炎患者および3河川からE13が検出された[9]。今回、これらの患者および河川からのE13分離状況をまとめ、分離株のVP1領域遺伝子解析、流行前後の富山県住民の抗体保有状況を調査したので報告する。

なお、検体を採取する場合、個人情報の保護に対する適切な予防措置が行われること等について説明し、承諾の得られた場合のみ調査を行った。

材料と方法

1. 感染症発生動向調査(患者発生状況)

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」(平成11年4月施行、平成15年11月改正)および「感染症発生動向調査実施要綱」に従い、実施した。このうち、無菌性髄膜炎については、県内5箇所(基幹定点病院)から患者情報や患者数を収集、解析した。

2. ウイルス分離

(1) 検体

2002年6月から7月にかけて、県内の病原体定点病院および一般病院から検査依頼を受けた無菌性髄膜炎7症例について、ウイルス分離を行った。検体数は、糞便5、咽頭拭い液7、髄液7であった。また、2002年5~12月に富山県内の3河川から分離された12株のE13を用いた。E13標準株としてDelCarmenを用いた。

DelCarmen はフィリピンで1953年に健康者から分離された株である。

(2) 無菌性髄膜炎患者からのウイルス分離

検体として、糞便、咽頭拭い液、髄液を用いた。糞便は、Eagle MEM (日水製薬 K.K.) を加えて10%乳剤とし、4°Cで3,000回転15分間、10,000回転30分間遠心した上清に抗生物質を加えた。咽頭拭い液は、ピジョンを加えて攪拌後、4°Cで10,000回転30分間遠心し、その上清に抗生物質を加えた。髄液はそのまま用いた。これらの検体を、ローラチューブに培養した Vero, MA104, RD-18S, HEp-2および Caco-2細胞に0.1~0.2ml ずつ接種し、細胞変性効果を指標としてウイルス分離を行った。

(3) 河川水からのウイルス分離

富山県内の3河川に定点を設置し (Fig.1, I, S, O), 2002年4月から2003年3月までの間、月2回河川水を採取した。I 定点は、富山市の中心部を流れるいたち川の下流域、S 定点は高岡市内を流れる千保川の下流域、O 定点は県西部を流れる小矢部川の下流域である。約50g の脱脂綿で作製したタンポン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約800ml を調査試料とした。採取した河川水を4°Cで3,000回転30分間遠心し、その上清に MgCl₂ を0.05M となるように加えた。さらに0.5NHCl を加えて pH3.5 に調整後、陰電荷膜 (Cellulose nitrate membrane filter, pore size 0.45 μm, ADVANTEC) にろ過して、ウイルスを吸着させた。このフィルターを10ml の3% Beef extract 液に入れ、5分間超音波処理してウイルスを誘出させた。誘出液は、4°C10,000回転1時間の遠心 (2回) により雑菌を除去した後、抗生物質を添加し、培養細胞に接種することによりウイルス分離を行った。

(4) ウイルスの同定

ウイルスは、抗エンテロウイルスプール血清 (国立感染症研究所分与およびデンカ生研)、エンテロウイルス単味抗血清 (デンカ生研) を用いた中和試験により同定した。

3. E13分離株の遺伝子解析

分離株から RNA 抽出キット (QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAGEN) を用いて RNA を抽出した後、Oberste らのプライマー (187, 188, 189, 012, 040, 011, 222) を用いて RT-PCR を実施し、さらに、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。得られた VP1 領域の 703bp (DelCarmen の position:2579-3281) について、MEGA3.1 を用いて解析を行った。ClustalW によって、GenBank に登録

されている27株の E13の塩基配列[4, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 14]とアライメントを行った。進化距離は Kimura-2-parameter 法で計算し、neighbor-joining 法で分子系統樹を作製した。ブーツストラップ値は100回繰り返して求めた値である。GenBank から得た E13は、株名をアクセッション番号/国または都市/年/番号で表した。

4. E13に対する中和抗体価測定

(1) 対象

2000年7月から10月に採取した0歳から82歳までの血清229件、および2003年6月から9月に採取した0歳から73歳までの血清197件を用いた (Table 1)。

Table 1. Age distribution of sera used for neutralizing test against E13.

Age group (years)	No. of sera	
	2000	2003
0~1	20	8
2~3	18	8
4~6	23	12
7~9	9	14
10~14	20	14
15~19	19	25
20~29	28	14
30~39	27	25
40~49	15	23
50~59	25	26
60~	25	28
Total	229	197

(2) 中和抗体測定方法

血清を Eagle-MEM で4倍希釈し、56°C30分間非働化した後、その50 μl を96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50 μl となるように調整した E13標準株 DelCarmen, または2002年に県内の無菌性髄膜炎患者からの分離された株である2002-240-SF を50 μl 加えてよく混和し、37°C3時間の中和反応を行った。中和後、RD-18S 細胞浮遊液 (1~2×10⁵細胞/ml) を100 μl ずつ加え、37°C, 5%CO₂の条件下で培養した。1週間観察し、50%の細胞変性効果を示した血清の最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とし、中和抗体価4倍以上を陽性とした。各血清は同時に2回ずつ測定した。

結果

1. 患者発生状況

感染症発生動向調査により、富山県内の5ヶ所の基

Table 2. Aseptic meningitis cases in Toyama Prefecture (1999-2004)

Area	No. of Monitoring hospital	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Toyama City	1	15	14		1		
Niikawa	1	2	1				
Takaoka	1						
Chubu	1			1			
Tonami	1	1	2	1			

Table 3. Clinical symptoms of aseptic meningitis patients and cultured cells used for isolation of E13.

Patient		Symptoms				E13 isolation						
No.	Age	Onset	Fever (°C)	Head-ache	Vomitting	Specimens *	Date of sampling	Vero cells	MA104 cells	RD-18S cells	HEp-2 cells	Caco-2 cells
2002-240	8Y	2002/6/12	39	○	○	NP	2002/6/26	-	-	-	-	-
						SF	2002/6/18	-	-	+**	-	+
2002-241	2Y	2002/6/23	38.6	○	○	FC	2002/6/26	-	+**	+	-	-
						NP	"	-	-	-	-	+
						SF	2002/6/23	-	-	-	-	-
2002-243	6Y	2002/6/25	38.6	○	○	FC	2002/6/26	-	+	+	-	-
						NP	"	-	-	-	-	-
						SF	2002/6/25	-	-	+**	-	+
2002-245	8Y	2002/6/21	38.5	○	○ (Nausea)	FC	2002/6/22	-	+	+	-	-
						NP	"	-	-	+**	-	-
						SF	"	-	-	-	-	-
2002-257	4Y	2002/7/15	38.8	○	○	NP	2002/7/18	-	-	+**	-	+
						SF	2002/7/18	-	-	-	-	-

○ : with clinical symptoms
 - : without cytopathic effect, +: with cytopathic effect.
 *: FC; feces, NP; nasopharyngeal swab, SF; cerebrospinal fluid.
 **: Isolates used for phylogenetic analysis

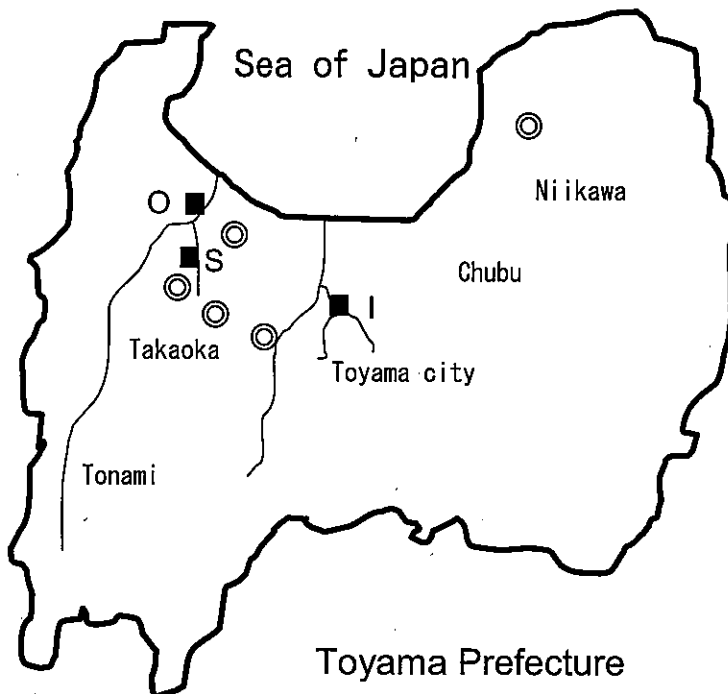


Fig. 1. The location of three rivers (I: Itachi, S: Sembo and O: Oyabe) in Toyama Prefecture. ■: the fixed points for sampling water, ○: the locations where aseptic meningitis patients lived.

Table 4. E13 isolates from 3 rivers.

Isolates	Cell	Date of sampling	Rivers
S3(1)-1	RD-18S	2002/5/7-9	Sembo
O3(1)-1	RD-18S	2002/5/7-9	Oyabe
I5(1)-1	RD-18S	2002/6/4-6	Itachi
S7(1)-2	RD-18S	2002/7/2-4	Sembo
S7(1)-3	RD-18S	2002/7/2-4	Sembo
S7(1)-4	RD-18S	2002/7/2-4	Sembo
S7(1)-5	RD-18S	2002/7/2-4	Sembo
S7(2)-6	RD-18S	2002/7/2-4	Sembo
O7(1)-1	RD-18S	2002/7/2-4	Oyabe
S11(1)-4	RD-18S	2002/9/10-12	Sembo
O11(2)-1	RD-18S	2002/9/10-12	Oyabe
S17(2)-6	RD-18S	2002/12/9-11	Sembo

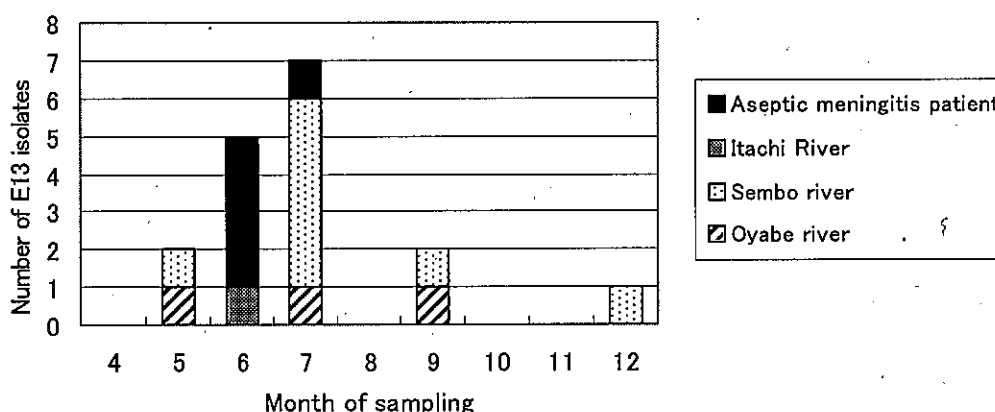


Fig.2. Number of isolation of E13 from aseptic meningitis patients and 3 rivers in 2002

幹定点病院から報告のあった無菌性髄膜炎患者数を Table 2に示した。1999年は18症例，2000年は17症例，2001年は2症例，2002年は1症例の報告があり，2003年および2004年は報告がなかった。

2. 無菌性髄膜炎患者からのウイルス検出状況

2002年6月および7月に，定点病院に来院し感染症発生動向調査事業の対象となった無菌性髄膜炎患者，およびそれ以外の病院から検査依頼のあった患者，計7名のうち5名から E13が検出された (Table 3)。患者の年齢は2~8歳であり，髄液からの検出が2，咽頭拭い液からの検出が2，便からの検出が3であった。Fig. 1にこれらの患者が発生した地域を示した。

3. 河川水からのウイルス検出状況

2002年4月から2003年3月まで，県内の3河川の定点でウイルス調査を行った結果，5月，6月，7月，9月および12月に，E13が計12株検出された。3河川における月別検出状況を，無菌性髄膜炎患者からの検出状況

とともに Fig. 2に示した。河川と患者からほぼ同時期に検出された。これらのことから，富山県でも E13が流行していたことがわかった。

E13の他に，ポリオウイルス2型，E7，E11，コクサッキーウイルス B2型 (CB2)，CB3，CB4，レオウイルス1型 (R1)，R2，R3が検出された。

4. VP1領域遺伝子解析

遺伝子解析に用いた無菌性髄膜炎患者，および河川水由来 E13分離株をそれぞれ Table 3，Table 4に示した。VP1領域は，ウイルス表面のカプシドタンパクをコードする領域であり，抗原性に関与するとされている。ウイルスの抗原変異や遺伝距離を推定し，また，患者由来株と河川水由来株との相関性を見る目的で，塩基配列やアミノ酸の変異率を調べた。患者由来分離株と河川水由来分離株間で，VP1領域の一部分 (703 bp, DelCarmen の position: 2579-3281) について比較したところ，塩基配列では0~2.1%の違いであり，アミノ酸でも最大で2ヶ所のみ違いであった。これ

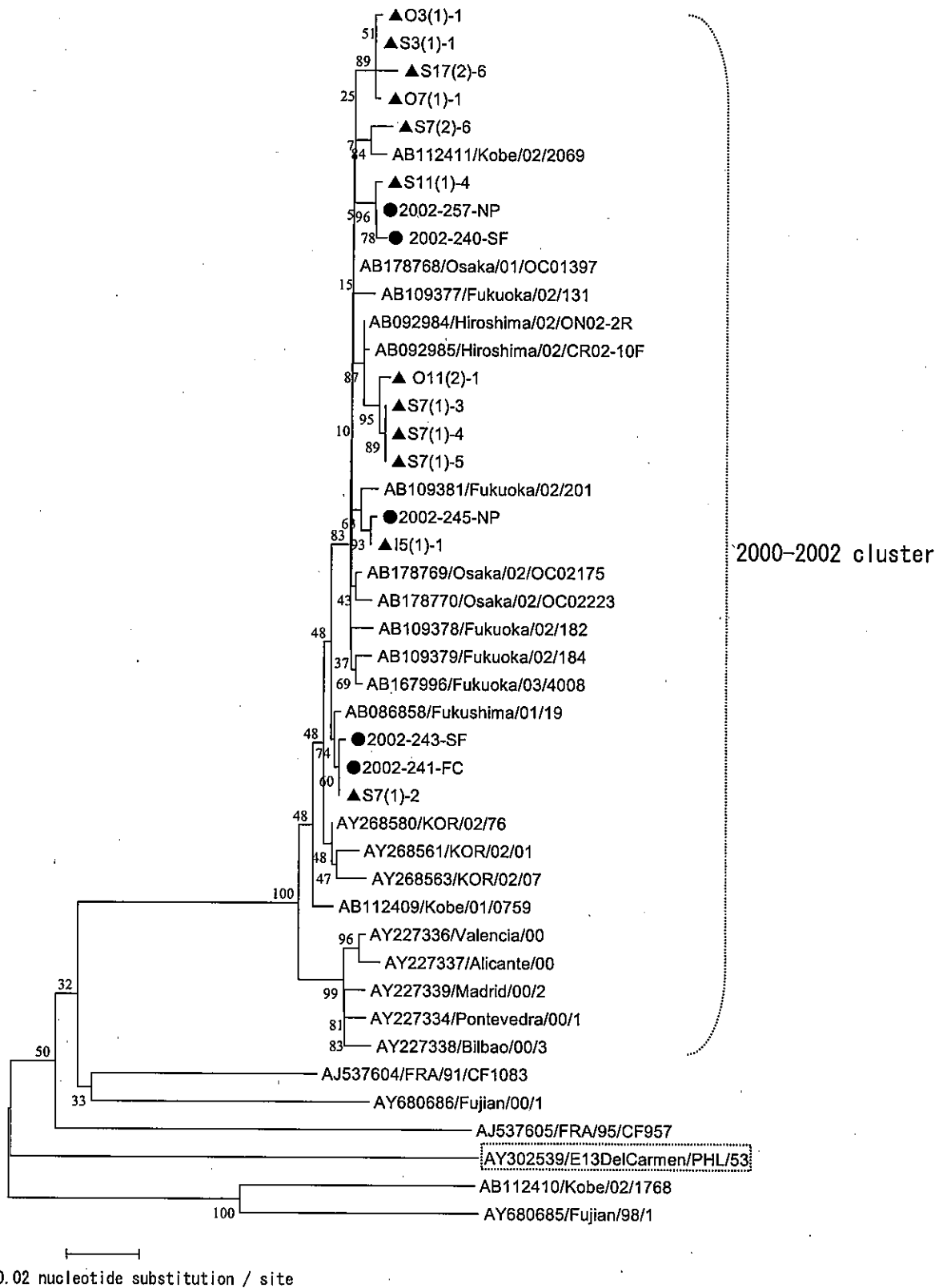
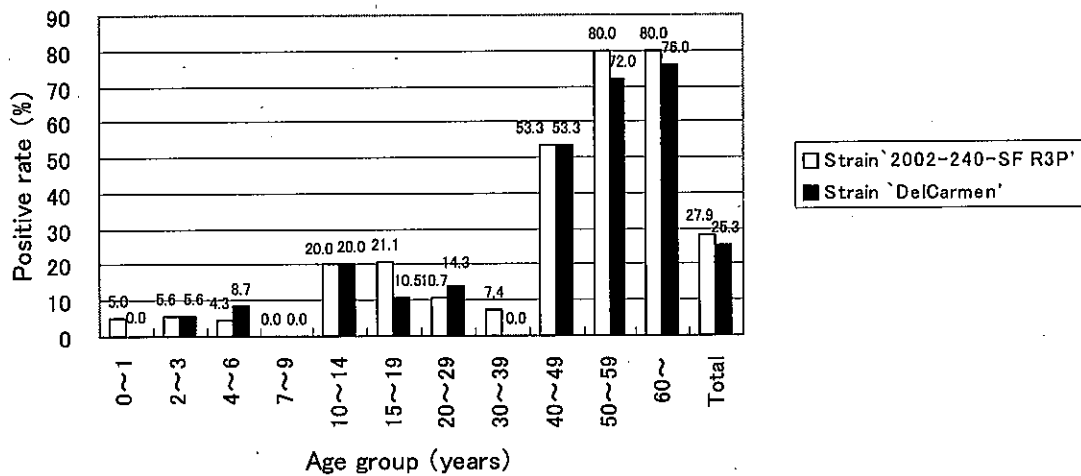


Fig.3. Phylogenetic tree based on the partial sequence of VP1 region.
 ●: Isolates from aseptic meningitis patients in Toyama. ▲: Isolates from 3 rivers in Toyama.

4-a. In 2000



4-b. In 2003

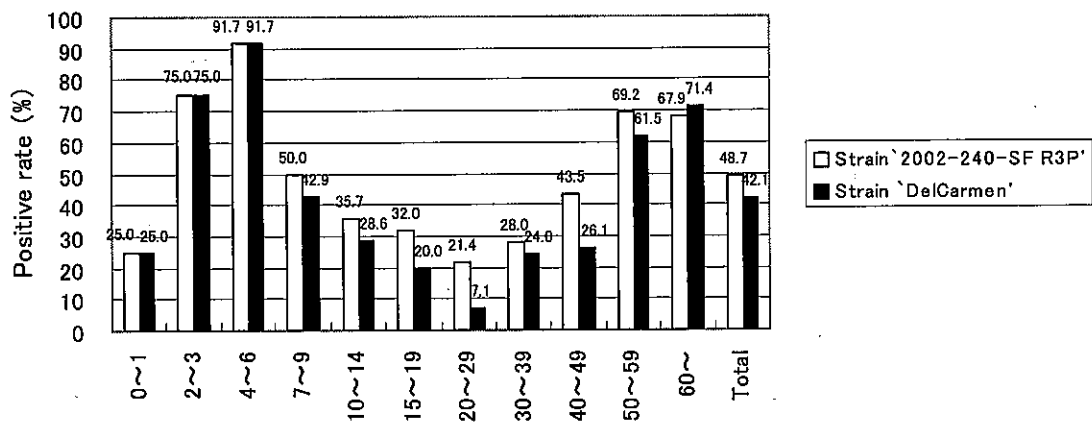


Fig. 4. Seropositive rate of neutralizing antibodies against E13 isolate or DelCarmen in 2000 (4-a) and 2003 (4-b).

らの分離株と E13標準株の DelCarmen とは、塩基配列では19~20%，アミノ酸では1.9~3.7%の違いであった。

富山の分離株と GenBank から得られた27株の E13 と遺伝子とを比較したところ、富山の分離株は2000年から2002年に国内外で分離された21株と同じクラスターを形成した (Fig.3)。クラスター内においては、塩基配列では0.3~4.7%，アミノ酸では0~1.7%の違いであった。

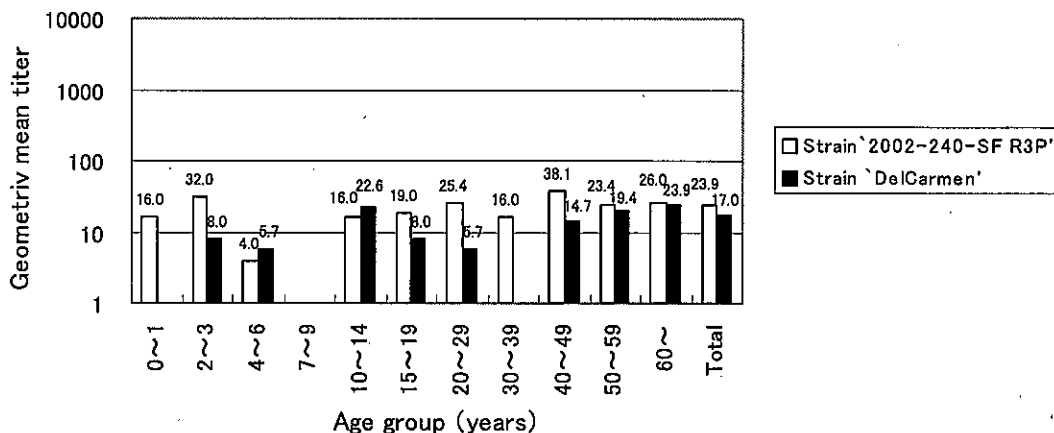
5. 富山県住民の E13 に対する中和抗体保有状況の変化

2000年および2003年の富山県住民の、各年齢層における E13 に対する中和抗体保有率を Fig.4 (4-a, 4-b) に示した。2000年では、40歳以上で、半数以上が分離

株および標準株に対する抗体を保有していたが、39歳以下では、0~21.1%しか抗体を保有していなかった。一方、2003年では、40歳以上の抗体保有率は2000年とはほぼ同等であったが、幼児や学童の抗体保有率が上昇し、特に2~3歳で75%、4~6歳で91.7%と顕著に増加した。

2000年および2003年の各年齢層における平均抗体価を Fig.5 (5-a, 5-b) に示した。2000年では、分離株に対しては、4~6歳の4倍から40~49歳の38.1倍の平均抗体価を示し、全年齢層平均は23.9倍であった。標準株に対しては、4~6歳および20~29歳の5.7倍から60歳以上の23.9倍を示し、全年齢層平均は17.0倍であった。一方、2003年では、分離株に対しては、50~59歳の10.5倍から0~1歳および2~3歳の1024倍を示し、全年齢層平均で65.4倍であった。標準株に対しては、50

5-a. In 2000



5-b. In 2003

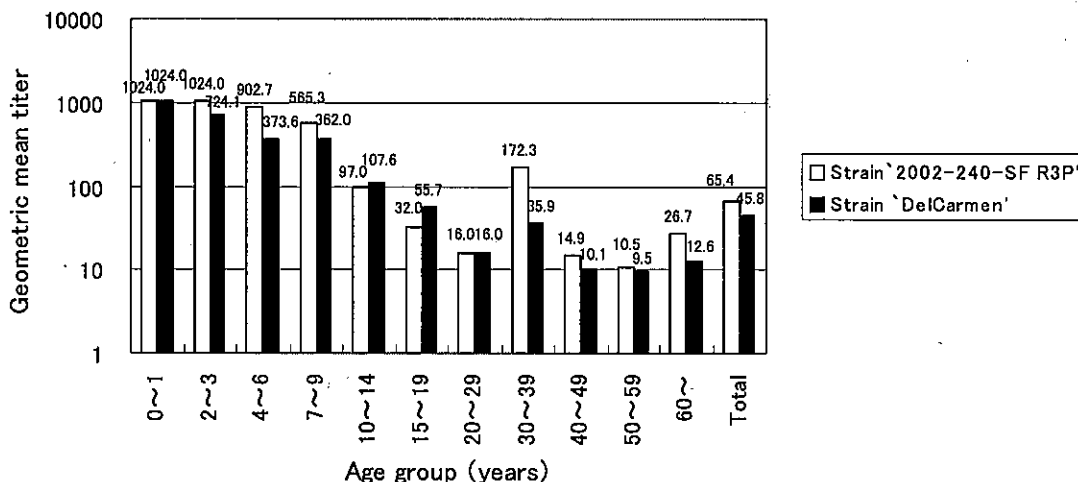


Fig. 5. Geometric mean titers of neutralizing antibodies against E13 isolate or DelCarmen in 2000 (5-a) and 2003 (5-b).

~59歳の9.5倍から0~1歳の1024倍までを示し、全年齢層平均で45.8倍と、分離株とほぼ同じ増加傾向を示した。このように、2003年における平均抗体価は、2000年よりも全般的に高く、特に0~9歳では約100倍と顕著に上昇した。

血清検体ごとの、分離株と標準株に対する抗体価を比較した (Fig.6 (6-a, 6-b))。2000年では、n=229名、 $r=0.8656$ ($P<0.001$)、2003年ではn=197名、 $r=0.9388$ ($P<0.001$)であり、どちらの年もよく相関した。2000年では、分離株の方が標準株よりも4倍 (2管) 以上高かった人は19名、標準株の方が4倍以上高かった人は4名、2倍 (1管) 以内の人は206名であった。2003年では、分離株の方が標準株よりも4倍以上高かった人は32名、標準株の方が4倍以上高かった人は5名、

2倍以内の人は160名であった。2000年、2003年ともに、分離株に対する抗体価の方が標準株に対する抗体価よりも高い傾向が認められた。

考 察

E13が分離された患者の発生場所は、新川、中部、高岡の各地に分布しており、県内全域で感染が起きていたことが考えられる。患者からの検出時期とほぼ一致して、2002年5月から12月にかけて3河川からもE13が12株分離された。したがって、この時期に地域の人由来のE13が河川を汚染したか、あるいは、河川等の環境から人に感染した可能性が考えられる。

VP1領域の塩基配列は、河川水由来株と患者由来株

2000年においても、富山県住民の40~49歳で53%、50歳以上で約8割の人が抗体を保有していたことから、過去にもE13が感染を起こしていたことが推定される。

このように、実際のE13感染者数は多かったことが推測され、感染症発生動向調査の実数が流行状況を必ずしも反映していない可能性がある。今後、県内関係機関と協力して、患者発生状況のみならず、環境からの病原体の検出などを行い、感染症発生動向の把握に努める必要があると考えられる。

謝 辞

E13標準株を分与くださいました国立感染症研究所および、調査を行うにあたりご協力いただきました、厚生センター等関係各位に深謝いたします。

文 献

1. White, D.O., Fenner, F.J. (1996). 医学ウイルス学 (北村敬訳), 349-352 近代出版.
2. 国立感染症研究所感染症情報センター(2002). 病原微生物検出情報, 23, 3, 69-70
3. 国立感染症研究所感染症情報センター (2002). 病原微生物検出情報, 23, 8, 193-196
4. Archimbaud, C., Bailly, J. L., Chambon, M., Tournilhac, O., Travade, P. & Peigue-Lafeuille, H. (2003). *J Clin Microbiol*, 41, 4605-4610
5. Thoelen, I., Lemey, P., Donck, I. V. D., Beuselinck, K., Lindberg, A. M., Ranst, M. V. (2003). *J Med Virol*, 70, 420-429
6. Avellon, A., Casas, I., Trallero, G., Perez, C., Tenorio, A., Palacios, G. (2003). *Emerging Infectious Diseases*, 9, 8, 934-941
7. Mullins, J. A., Khetsuriani, N., Nix, W. A., Oberste, M. S., LaMonte, A., Kilpatrick, D. R., Dunn, J., Langer, J., McMinn, P., Huang, Q. S., Grimwood, K., Huang, C. & Pallansch, M. A. (2004). *Clinical Infectious Disease*, 38, 70-77
8. Cheon, D. S., Lee, J., Lee, K., Lee, S., Park, K., Ahn, J., Jee, Y., Yoon, J. & Cho, H. (2004). *J Med Virol*, 73, 439-442
9. 岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之, 吉田弘 (2004). 富山県衛生研究所年報, 27, 101-105
10. 高尾信一, 島津幸枝, 福田伸治, 桑山勝, 宮崎佳都夫 (2002). 広島県保健環境センター研究報告, 10, 29-33
11. Oberste, M. S., Maher, K., Pallansch, M. A. (2004). *J Virol*, 78, 2, 855-867
12. Keino, M., Kanno, M., Hirakawa, K., Watari, T., Nikawa, M., Saito, K., Kato, K., Katayose, M., Yoshida, H. (2001). *Jpn J Infect Dis*, 54, 249-250.
13. Kaida, A., Kubo, H., Iritani, N., Murakami, T., Haruki, K. (2004). *Jpn. J. Infect. Dis.*, 57, 127-128
14. 秋吉京子, 須賀知子, 伊藤正寛, 春田恒和, 小林健一郎, 山崎謙治 (2003). 臨床とウイルス, 375-382
15. White, D.O., Fenner, F.J. (1996). 医学ウイルス学 (北村敬訳), 53-54 近代出版.
16. 東方美保, 中村雅子, 春木伸一, 松本和男, 堀川武夫 (2004). 福井県衛生環境研究センター年報, 3, 147-150
17. Mizuta, K., Abiko, C., Murata, T., Itagaki, T., Katsushima, N., Akiba, T., Sakamoto, M., Ootani, K., Murayama, S. (2003). *Journal of Infection*, 47, 243-247
18. 藤井彰人, 国井悦子, 野田衛, 池田義文, 平崎和孝, 萩野武雄 (2003). 広島市衛生研究所年報, 22, 57-60
19. 内野清子, 前田章子, 三好龍也, 岩上泰雄, 馬場宏一, 奥野良信, 田中智之 (2003). 堺市衛生研究所年報, 21, 54-61
20. 国立感染症研究所感染症情報センター (2002). 病原微生物検出情報, 23, 11, 19
21. Kobayashi, K., Haruta, T., Kubota, M., Akiyoshi, K., Suga, T., Ito, M. (2005). *Pediatrics International*, 47, 185-189

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について (2005年度)

長谷川澄代 小原真弓 岩井雅恵 堀元栄詞 滝澤剛則 永井美之

Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2005

Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae Iwai, Eiji HORIMOTO
Takenori TAKIZAWA and Yoshiyuki NAGAI

要 旨 2005年4月から2006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事例が17件あった。これら全てがノロウイルス感染によるものであった。
2. 発生施設別にみると飲食店等5件、学校5件、老人保健施設等5件、家族内1件、祭り会場1件であった。
3. 飲食店等のうち、1件はカキの喫食により、他の4件は感染者からのノロウイルスで食品等が汚染されることによって発生したと考えられた。
4. 学校、老人保健施設等での発生は、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。
5. ノロウイルスのカキの喫食により直接発症したと考えられる1事例では、Genogroup I と Genogroup II が同時に検出され、それ以外は、一事例を除いてそれぞれの事例からひとつの遺伝子型のみが検出された。
6. Genogroup II が17事例中16事例から検出され、多数を占めた。

はじめに

ノロウイルス (Norovirus:NV) は、冬季に散発及び集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスであり、乳幼児から成人にいたる全年齢層に経口感染する [1]。NV はヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便中に排泄され、吐物には1g あたり $10^3 \sim 10^6$ 個、糞便には 10^9 個もの NV が含まれている [2]。NV は、感染者から2週間以上にわたり排泄され [3]、環境中でも長期間感染性を維持し、100個以下で感染・発病させるといわれている [4]。また、調理従事者の手指を介して食品が NV に汚染され、急性胃腸炎の集団発生を引き起こすこともある [5]。ヒトから排泄された NV は、海に入り、カキなどの2枚貝の中腸腺に蓄積される [6]。2枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって起こる急性胃腸炎は、NV による食品媒介事例の約40%を占めている [2]。一方、NV は食中毒のみならず、冬季に小児の間で散発、あるいは集団

発生する感染性胃腸炎の流行も引き起こすことが知られている。しかしながら、2004年には5,6月にも NV が検出されるなど [7]、冬季以外にも NV の流行が認められるようになってきた [8]。また、富山県ではウイルス性胃腸炎の集団発生が2003年度に10事例、2004年度には20事例と年々増加傾向にあり、それらの殆んどが、NV によるものである。そこで、原因ウイルスの特徴と発生傾向を把握するために、ウイルス性胃腸炎の集団発生事例の個別調査を実施した。

材料と方法

検査対象事例および検査材料

- (1) 2005年4月～2006年3月までに調査した集団発生事例22事例を対象とした。検体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。
- (2) Rota ウイルスの検出方法
デンカ生研のロタ-RPHA「生研」を用いて糞便からロタウイルスA群とC群の検索をした。

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 (患者数/喫食者数)		ウイルス検出		推定 伝播経路
				検出数/検査数		
1	2005年4月11日 ～4月12日	祭り会場 (34/164)	患者	5/5	G I	食品
			焼き鳥	0/1		
2	4月12日 ～13日	飲食店 (11/29)	患者	6/8	G II	食品
			従業員	1/3	G II	
3	4月23日 ～24日	飲食店 (38/54)	患者	12/13	G I (1), G II (8)	岩ガキ
			従業員	0/2	G I + G II (2)	
			岩ガキ	0/1		
4	4月24日 ～27日	小学校 32	患者	4/5	G II	ヒト→ヒト
			調理員	0/2		
5	4月27日 ～28日	小学校(3年生1クラス) 16	患者	3/5	G II	ヒト→ヒト
6	5月3日 ～17日	老人保健施設 33	患者	4/5	G II	ヒト→ヒト
7	10月8日 ～9日	飲食店(県外) (69/380)	患者	1/5	G II	食品
8	12月3日 ～5日	飲食店(県外) (14/92)	患者	1/1	G II	食品
9	12月8日 ～12日	小学校(1年生) 15	患者	5/5	G II	ヒト→ヒト
10	12月11日 ～12日	家族内 6	患者	2/2	G II	ヒト→ヒト
11	2006年1月11日 ～13日	高校(1年生1クラス) 29	患者	4/5	G II	ヒト→ヒト
12	1月9日 ～18日	障害者施設 14	患者 入所者	3/4	G II	ヒト→ヒト
13	1月10日 ～30日	小学校(全学年) 61	患者	3/4	G II	ヒト→ヒト
14	1月4日 ～24日	老人保健施設 31	入所者・職員	3/4	G II	ヒト→ヒト
15	1月27日 ～2月21日	老人保健施設 34	入所者・職員	7/7	G II	ヒト→ヒト
16	2月1日 ～2日	飲食店 (31/101)	患者	14/20	G II	食品
			調理員	2/9		
17	3月5日 ～9日	老人保健施設 16	入所者・職員	3/4	G II	ヒト→ヒト

G I, G II は NVG I, NVG II を表す。

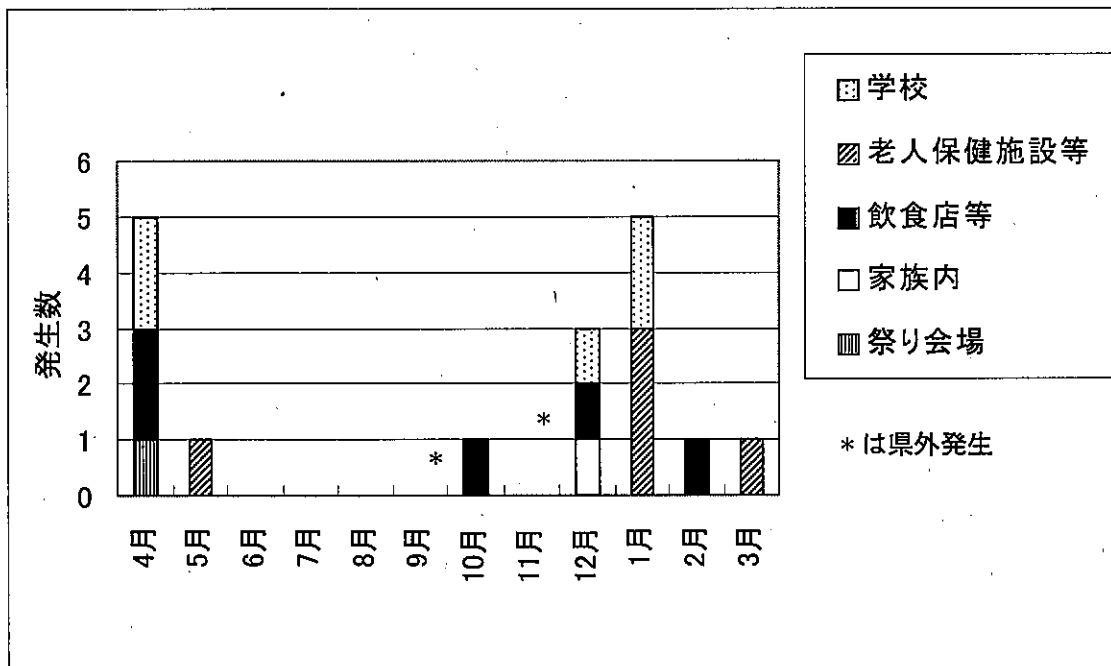


図1. 月別発生状況 (初発日)

(3) NVの検出方法

糞便からの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 [9] に準じて行った. PCR産物の一部は, ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した[10].

結果

感染性胃腸炎の集団発生22事例のうち, 17事例からウイルスが検出された(表1).

(1) 月別及び施設別発生事例数

月別発生状況を図1に示した. 集団発生は4, 5, 10, 12, 1, 2, 3月に発生し, 件数は4月と1月がそれぞれ5件と多かった. 飲食店等での発生は, 10, 12, 2月に各1件, 4月に2件, 老人保健施設等での発生は, 3, 5月に各1件, 1月に3件だった. 学校は12月に1件, 1, 4月に各2件だった. 祭り会場は4月, 家族内は12月であった.

(2) 施設別発生状況とウイルス検出状況

1) 祭り会場

事例1: 祭りに参加し, 翌夕から発熱, 吐き気の食中毒症状を呈した一家族を発端として, 祭りに参加した164名中34名が発症していることがわかった. 5名の糞便が採取された. 全員からNV Genogroup I (GI) が検出され, これらの塩基配列が一致した. 発生状況から, 単一暴露型の感染が考えられ, 原因食として焼き鳥が疑われたが, ウイルスは検出されなかった.

2) 飲食店等 事例2: 飲食店で29人が会食し, そのうち11名が下痢, 嘔吐, 発熱の症状を呈した. 患者8名と, 従業員3名の糞便のウイルス検査を行ったところ, 患者6名と, 従業員1名からNV Genogroup II (GII) が検出された. 患者と従業員のNVGIIの遺伝子配列が一致したことから, 従業員のNVが食品を汚染することにより発生したと考えられた.

事例3: 飲食店で, 2グループ54人が刺身や岩ガキを食べ, 翌日に, 下痢, 嘔吐, 発熱の症状を呈した. 患者13名の糞便を検査した結果, 2名からNVGI, 9名からNVGII, また, 2名からNVGIとNVGIIが検出された. 従業員からは検出されなかった. 患者3名のNVGIの遺伝子配列は一致した. NVGIIは, 9名のうち8名の塩基配列は一致したが, 残り1名は相同性が77.2%であった. 岩ガキからは, ウイルスは検出されなかった. しかしながら, カキ等の二枚貝には多種類のウイルスが蓄積されているため[7], 本事例は, NVに汚染されたカキの喫食により感染したと考えられた.

事例16: セレモニーホールを利用した4家族(101名)のうち3家族(30名)が, 翌日から下痢, 嘔吐の食中毒症状を呈した. 患者20名, 従業員9名の糞便中, 患者14名, 従業員2名(調理員, 盛り付け係)からNVGIが検出された. 塩基配列を検討した患者6検体, 従業員2検体のうち, 4患者, 1従業員の塩基配列は一致したが, 他の2患者は相同性が76.8%, 残り1従業員のNVGIIも異なっていた. このように本事例では,

検出された NVG II が3つのクラスターに分けられた。調理人1名と患者4名の塩基配列が一致したことから、発症にはこの調理員が関与していたと考えられた。一方、塩基配列が異なる患者2名については、同時期に感染したと考えられたが、感染源は特定出来なかった。他の従業員から検出された NVG II は、本事例とは無関係と考えられた。

3) 老人保健施設等

事例6：入所者25名、職員14名が下痢、嘔吐、発熱の症状を呈した。入所者4名、職員1名の糞便中、入所者4名から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。職員が最初に発症していることから、職員によって NV が持ち込まれ、その後、糞便、嘔吐物などを介してヒト-ヒトに感染が広まったと考えられた。

事例12：障害者施設で14名が嘔吐、下痢の症状を呈して発症した。患者は10日間に渡り発生した。患者4名の糞便中3名から NVG II が検出された。最初に発症した患者の汚物を処理した介護職員が発症していることから、汚物を介してヒト-ヒト感染で、施設内に広がったと考えられた。

事例14：入所者15名、ショートステイ2名、職員4名が嘔吐、下痢の症状を呈して発症した。患者（入所者）4名の糞便中、3名から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。患者が21日間発生し続けたことから、ヒト-ヒト感染が次々と発生し NV が広がったと考えられた。

事例15：入所者25名、職員9名が発症した。入所者6名、職員1名の糞便から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。患者は1月27日から2月21日まで26日間発生した。長期間発生したことから、NV がヒト-ヒト感染により次々と発生し広がったと考えられた。感染源は特定できなかった。

事例17：入所者15名、職員1名が6日間に渡り、嘔吐、吐き気の症状を呈し発症した。入所者3名、職員1名の糞便を検査したところ、入所者2名、職員1名から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。患者が比較的長期間発生したことから、ヒト-ヒト感染が次々と発生し NV が広がったと考えられた。感染源は特定できなかった。

4) 学校

事例4, 5, 9, 13：いずれも小学校での発生事例である。事例4では在校生81名のうち32名が発症し、患者は全学年に渡っていた。患者5名（生徒4名、教員1名）と調理従事者2名の糞便が採取された。生徒3名、教員1名から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。事例5は、3年生の1クラス40人中16名

（担任の教員含む）が発症した。教員1名、生徒4名の糞便中、教員1名、生徒2名から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。事例9は、1年生の1クラスの生徒35名中14名、教員1名、教務主任の1名が発症した。患者糞便全てから NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。事例13は全学年で患者が11日間にわたり発生した。患者4名の糞便中、3名から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。

事例4, 13は、生徒の欠席状況から全学年に渡り患者が出ていたと考えられ、NV が学校に持ちこまれヒト-ヒト感染で全学年に広がったと考えられた。

事例5は、他の学年クラスでは患者は全く出ていないこと、患者発生時期が集中していること、調理関係者は健常であったことから、単一暴露型の感染が考えられた。感染者が NV をこのクラスに持ち込んだと考えられたが、感染源は特定できなかった。

事例9は、初発患者が学校で嘔吐を繰り返し、その翌日に同じクラス内で患者が発生したことから、NV が初発患者からこのクラスに広がったと考えられた。

事例11：高校での発生事例である。一クラス（40名）で15名が欠席し、14名が嘔吐、下痢、発熱の症状を呈した。患者5名のうち4名から NVG II が検出された。患者の発生が1クラスに限られ、また、生徒が発症する前に担任の教員が胃腸炎症状を発症していたことから、担任により NV が持ち込まれた可能性が考えられたが、担任の教員の糞便は検査できなかった。

考 察

飲食店ではウイルスで汚染されたカキが関与した場合と、感染者が食品を二次汚染させた場合があり、カキ関連の事例よりも二次汚染による事例の患者数が多い傾向がみられた。NV の塩基配列の解析は発生原因の有用な判断材料となると考えられた。一方、老人保健施設等、学校では、患者の吐物や糞便からヒト-ヒトへ伝播したと考えられた。

NV の集団発生は冬季に多いが、学校、老人保健施設等では4, 5, 10月にも発生があり、ヒトからヒトへの2次感染が起こりやすいと考えられる施設では、冬季以外にも注意が必要であると考えられた。

富山県感染症発生動向調査によれば、本年度も一昨年・昨年同様に感染性胃腸炎の患者の報告数は多く、第1位を占めていた。また、これらの発生は感染性胃腸炎が多発していた時期と一致していた。

小野ら[11]は、学校給食従事者(健康者)の糞便を検査し、NV の遺伝子が、年間を通じて4.7%の割合で検出されることを報告している [11]。このことは、

無症状や、あるいは発症後に回復したヒトが、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を示唆している。感染症発生動向調査情報により患者発生状況を監視し、食中毒と感染症の両方の観点から事例ごとの個別調査研究を積み重ね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、高岡厚生センター氷見支所、高岡厚生センター射水支所、中部厚生センター、新川厚生センター、砺波厚生センター小矢部支所の関係者各位に感謝します。

文 献

1. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班：国立予防衛生研究所(1995).
2. 西尾 治, 新川奈緒美(2002). 日本医事新報, 5, 6-9.
3. 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 徳竹由美, 山口 卓, 秋山美穂, 西尾 治(2004). 臨床とウイルス, 32, (3), 189-194.
4. Glass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R., Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S. (2000). J. Infect. Dis. 2, S254, 181.
5. 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 (2004). 富山衛研年報, 27, 106-111.
6. 染谷雄一 (2000) ウイルス, 50, (2), 173.
7. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 堀元栄詞, 永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 93-98.
8. 2005年病原微生物検出情報, 月報, 12, 1-2.
9. 厚生労働省医薬食品局食品案全部監視安全課長 (2003) 食安監初115001号.
10. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 滝澤剛則, 永井美之 (2006). 富山衛研年報, 29, 121-125.
11. 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.

2005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 堀元栄詞 滝澤剛則 永井美之

Genotyping of Noroviruses from gastroenteritis in Toyama Prefecture
in the fiscal year 2005

Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO
Takenori TAKIZAWA and Yoshiyuki NAGAI

要旨 2005年度に発生した感染性胃腸炎のうち、ノロウイルス (NV) が検出されたものについて遺伝子解析を行った。遺伝子型別は Genogroup I (G I) が2つ、Genogroup II (G II) が5つのクラスターに分けられた。最も発生が多かったのは G II/3型であり、12月から2月に集中していた。2004年度に流行していた G II/4型は4~5月に多かった。各々の検体間で遺伝子配列が100%一致する集団発生事例が10存在し、同一の NV に起因する集団発生であると思われた。一方、異なる事例同士でも遺伝子配列が一致する例が4組存在し、事例同士の関連性を示唆していた。カキを喫食していた食中毒事例では複数の NV が検出された。二枚貝に関連しない2事例において、患者から数種類の NV が検出されたが、短期間での変異や数種類のウイルスによる集団発生が考えられた。

ノロウイルス (NV) はカリシウイルス科のノロウイルス属に属し、冬季のウイルス性胃腸炎の原因となる。汚染された二枚貝の喫食や、感染者から2次汚染された食品の喫食、ヒトとヒトとの接触などによって感染する。遺伝子解析により、NV は Genogroup I (G I) と Genogroup II (G II) に分けられる。研究者によって若干異なるものの、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、PCR 法による遺伝子検出を行い、さらに塩基配列決定を行うことで、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を調査している。今回、2003~2004年度[5, 6]に引き続き、2005年度に発生した感染性胃腸炎で検出された NV 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

2005年4月から2006年3月までの間に発生した感染性胃腸炎集団発生事例 (食中毒事例、県内者の県外感染事例を含む) と散发例のうち、遺伝子検出で NV が

確認された糞便74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[7]に準じ、2004年度[6]と同様に行った。

PCR 産物は、ダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した。また、ダイレクトシークエンス法で解析できなかった一部の検体については、PCR 産物を TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen) を用いてクローニングし、塩基配列を決定した。得られた塩基配列はプライマー部分を除き、ClustalW (DDBJ) にてアライメントを行った。さらに Njplot により分子系統樹を作成した。参考株は、2004年度[6]と同様、片山らの分類に従い[3]、CaliciWeb (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calici/>) よりダウンロードした塩基配列を使用した。

結果および考察

得られた系統樹を図1に示す。塩基配列は全部で18種類、7つのクラスターに分けられた。G II/3型が最も多く11事例あり、G II/4型が6事例、G II/6型が3事例、G I/3型、G I/11型、G II/5型、G II/10型が1事例であった (表2)。

2005年度は、富山県でウイルス検査を行った集団発生22事例 (県外発生事例を含む) のうち、NV が原因

表1. 遺伝子解析に用いた検体 (2005年度)

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 (Genogroup)
集団	04/2005	1	5	2005/274-278(G I)
集団	04/2005	2	6	2005/279,280,282,284,286,287(G II)
集団	04/2005	3*	11	2005/295,301,302(G I)2005/295,297-300,304-307(G II)
集団	04/2005	4	4	2005/310,312-314(G II)
集団	04/2005	5	3	2005/330-332(G II)
集団	05/2005	6	4	2005/334-337(G II)
集団	12/2005	8 県外発生	1	2005/392(G II)
集団	12/2005	9	3	2005/393,395,396(G II)
集団	12/2005	10	1	2005/399(G II)
散発	12/2005	—	1	2005/403(G II)
散発	01/2006	—	1	2006/1(G II)
集団	01/2006	11	3	2006/16,18,20(G II)
集団	01/2006	12	1	2006/37(G II)
集団	01/2006	13	3	2006/40,42,43(G II)
集団	01/2006	14	3	2006/51,52,53(G II)
散発	01/2006	—	1	2006/134(G II)
集団	01/2006	15	7	2006/136-142(G II)
集団	02/2006	16	12	2006/143,144,147,148,150,153,156,159,165,167,170,171(G II)
散発	02/2006	—	1	2006/216(G II)
集団	03/2006	17	3	2006/229,231,232(G II)
計			74	

*はカキ関連事例
 検体番号下線は無症状調理従事者

であると考えられたものは17事例であった。今回解析した集団発生事例16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13事例あり、そのうち10事例は各事例内で患者の増幅領域の塩基配列が100%一致した。これらは、同一ウイルスによる発生と思われた。

異なる事例であっても塩基配列が一致した例は散発例を含めて4組あり、時期も近接していることが多い。ため(表2)、事例間で何らかの関わりがあった可能性が考えられる。

今回、集団発生の中で複数種の NV が検出された事例は3例 (No.3, 11, 16) があった。事例 No.3は、G

I が1種類、G II が2種類得られた。カキの喫食があったため、複数種の NV に汚染されたカキから直接感染したと思われる。事例 No.11は、3名中2名 (検体 No.2006/16,20) から同じ塩基配列が得られ、残り1名 (検体 No.2006/18) から得られた配列は1塩基のみが異なっていた。始めから異なるウイルスが存在していた可能性もあるが、ウイルスが感染と増殖を繰り返すうちに変異した可能性も考えられる。

一方、事例 No.16は、少なくとも4種類の G II が得られ、G II /3, G II /6, G II /10 (2種類、相同性99.7%) の遺伝子型に分けられた。G II /3型は患者のみ、G II /10型は無症状従業員のみのみ、また G II /6型は患者、

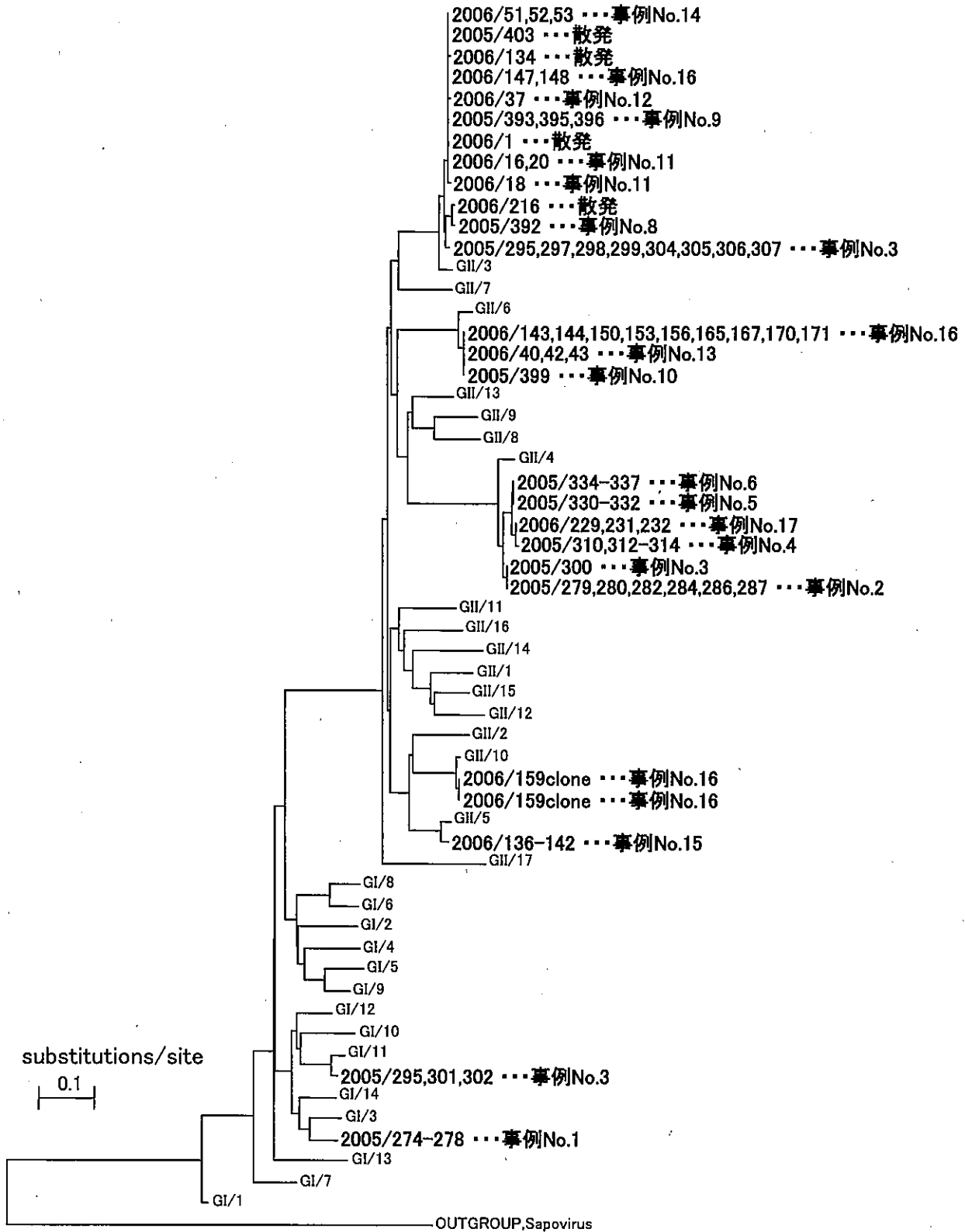


図1. 2005年度の NVG I, NVG II 系統樹

表2. 各事例の NV 遺伝子型 (2005年度)

発生日/年	集団発生事例番号 または検体番号	検出 NV の遺伝子型	一致
04/2005	1	GI/3	
04/2005	2	GII/4	☆
04/2005	3	GI/11,GII/3,GII/4	☆
04/2005	4	GII/4	
04/2005	5	GII/4	○
05/2005	6	GII/4	○
12/2005	8	GII/3	
12/2005	9	GII/3	△
12/2005	10	GII/6	*
12/2005	2005/403	GII/3	△
01/2006	2006/1	GII/3	△
01/2006	11	GII/3(2種類)	△
01/2006	12	GII/3	
01/2006	13	GII/6	*
01/2006	14	GII/3	
01/2006	2006/134	GII/3	
01/2006	15	GII/5	
02/2006	16	GII/3,GII/6,GII/10	△*
02/2006	2006/216	GII/3	
03/2006	17	GII/4	

△*○☆の同じ記号は同じ遺伝子配列であったことを示す。

無症状従業員の両者から検出された。この場合は、患者発生要因に少なくとも2種類の NV が関わっていただろうと推定される。異なる感染源からたまたま同時期に感染が起こった可能性、同一感染源に2種類のウイルスが混在していた可能性などが考えられる。無症状従業員 (2006/159) のみから得られた GII/10型は、発症に直接関連なく、偶然感染していた可能性が高いと思われる。なお、この検体からクローニングによって得た15クローンを比較してみると、各クローンで1塩基のみが異なるという部分が6ヶ所存在した。また、10クローンはグアニンであり、5クローンはアデニンであるという箇所もあった。このように、クローンで塩基配列が異なるのは、PCR 反応等におけるエラー、異なるウイルスが同時に存在していた可能性が考えられる。今回は、10クローンと5クローンが一致していた場合をウイルスの多型と判断して、系統樹作成に用いた。このように、クローン間でも100%相同とは限らず、全く異なるクローンが得られることもある[8]。調理従事者の検体は、発生原因の重要な指標となるため、社会的影響力等を考慮して、場合によっては、クローニングも考慮する必要があると思われる。

2005年度の特徴として、4~5月までは、GIとGII

/4型が多い2004年度の流行が続き、12月からは、GII/3型が主となる流行様式に変化していた。このように、NV は、夏を境として流行の変化を起こしていると推定される。また、今回初めて、二枚貝とは関わりなく、患者から2種類以上のウイルスが検出された集団発生事例を経験したが、ウイルスの変異や感染源の異なる可能性が考えられた。

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に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,

平成18年10月1日

- 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, CL., Brown, DW., Koopmans, MP. (2000). *Arch. Virol.*, 145, 223-241
5. 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, 27, 112-115
6. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之(2005). 富山衛研年報, 28, 99-104
7. 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.
8. 埼玉県衛生研究所(2006). 地域保健推進特別事業報告書, p2-23

細菌検査分野への塩基配列決定法の最適化と応用事例

綿引正則 清水美和子 磯部順子 木全恵子 嶋智子 田中大祐 永井美之

Optimization of DNA Sequencing Policy in the Bacterial Testing Field
and the Case Examples.Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA¹ and Yoshiyuki NAGAI²

要 旨 16本キャピラリー DNA シーケンサーを用いた塩基配列決定技術を基盤とした、迅速で再現性が高く、コストパフォーマンスに優れたシステムの導入を行った。多くの細菌ゲノムが明らかになっている現在、本システムと公的な塩基配列データベース及び独自のデータベースを併用することで緊急時の細菌検査のひとつの手法として利用することが可能になったと考えられる。本法の迅速性は、複数サンプルを用いたモデル実験で、鋳型調製から、データ解析まで一日で終了することから示された。また、腸管出血性大腸菌感染症事例で、本感染症の早期探知に役立った。今後は、塩基配列多型を利用した細菌の型別法としての応用が期待されている。

近年、様々な生物のゲノム解析が行われ、塩基配列決定技術は安定した技術として定着しつつある。また、これに付随して公的な遺伝子配列データベースが充実し、さらにその利便性は高くなりつつある。細菌学分野では、病原細菌のゲノム配列が次々に明らかにされ、病原性の解明、治療への応用等に大きなインパクトを与えている。しかし、細菌検査領域においては、PCRのプライマー設計のための情報として利用、あるいは遺伝子確認のためのPCR産物の塩基配列決定作業といった限定的な利用に限られている。この理由のひとつには、塩基配列を決定するために必要な装置および試薬、あるいはそれに付随する一連の工程のコストが高いことが挙げられる。そして、ゲノム解析が進むなかで、膨大な塩基配列データベースが簡単に利用できる基盤が整備され、塩基配列を解析するアプリケーションもインターネットを通じて簡単に利用できるようになってきている。従って、細菌検査領域でこのような道具を積極的に利用するメリットは非常に大きいと思われる。

特に細菌のゲノム解析から、多様性と環境への適応能力が示され、考えられている以上に動的なゲノムの姿が浮き彫りになってきた[1,2]。このような多様性は、細菌によっても異なるが、詳細にみれば染色体レベルあるいは塩基配列レベルの多様性として、検出可能である。そして、このような遺伝子多型は、病原細菌の感染ルート解明のために利用され、これまでパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)、繰り返し配列数多型

(VNTR)、制限酵素断片長多型 (RFLP) といった遺伝子多型を検出する方法が開発されて利用されている。また、最近では、塩基配列多型を利用して分離された細菌集団中の遺伝的関連を調べようとする Multilocus Sequence Typing (MLST) [3]が注目を集めている。

一方では、塩基配列の決定技術は、これまで主に研究レベルで使用されている感が強く、細菌検査部門で、必ずしも積極的に利用されていない。しかし、今後、MLSTのような塩基配列の多型解析を利用した検査法が PFGE 等と同様、感染源探索を目的として導入されれば、まだ解決しなければならない問題点はあるが、その効果は公衆衛生に大きく貢献すると思われる。そこで、当研究部に導入された16本キャピラリーにより同時16サンプルの解析が可能な ABI3100 Genetic Analyzer を用いて、迅速で、しかも再現性とコストパフォーマンスの高いシステム化への最適化を試みたので報告する。また、このシステムを用いた迅速化の事例を、市販鶏肉からカンピロバクターを分離された寒天平板上に複数のコロニーの16S rDNAの配列解析と腸管出血性大腸菌感染症の早期探知に役立った事例を報告する。

実験方法

細菌 DNA の調製 細菌ゲノム DNA の調製は、寒天平板上に生育した新鮮コロニーを掻き取り、10~200

μL のTE緩衝液(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.8)に懸濁後, Chelex-100法[4]を用いて行った。鑄型調製 塩基配列決定に用いる鑄型は, PCRによって増幅されたDNA断片から調製した。PCR産物は, QIAquick PCR Purification Kit(キアゲン社)を用いて, 未反応のプライマー及びヌクレオチド等を除去した後, 塩基配列決定の鑄型として使用した。また, PCR産物を低融点アガロース電気泳動後のゲル中から抽出する場合には, エチジウムブロミド染色後, UV照射して目的DNA断片を切り出し, MonoFas DNA精製キットI(ジューエル・サイエンス社)を用いて精製した。

塩基配列の決定 サイクルシーケンス法を原理とするアプライドバイオシステム社のBigDye Terminator Cycle Sequencing Kit Version 3.1を使用した。DNAシーケンサーは, ABI3100 Genetic Analyzer(以下, ABI3100シーケンサー)を使用した。

ダイターミネーター除去 DyeEX 2.0 Spin Kit(キアゲン)あるいは96穴のタイタープレートタイプでフィルター付きMultiScreen-HV(ミリポア社)に膨潤済みのSephadex G-50 Fine(アマシャム・バイオサイエンス社)を一穴あたり乾重量30mg相当を入れたものを自家調製し; サイクルシーケンス反応物から未反応のダイターミネーターを除去するためにゲル濾過を行った。

配列データの解析 シーケンサーから得られた生データは, 本シーケンサーに添付のSequencing Analysis Version5.1で解析(ベースコーリング)し, 次にSequencher V4.2(日立ソフトウェアエンジニアリング), MEGA3.1[5]を用いて編集, 加工後, 国立遺伝研DDBJ[6]のBlastnプログラムで相同性解析を行った。

結果

鑄型調製法の最適化 安定的な塩基配列データを得るためには鑄型として用いるDNAの質に影響される。通常, 迅速な方法を用いた場合, しばしば満足するデータが得られないことがある。従って, 迅速でしかもその後利用する酵素反応を阻害しない精製度の高い鑄型の調製法を用いることが先ず重要であると考えた。そこで, Chelex-100を使用した[4]方法を採用し, 最適化を行った。寒天平板上に生育した純培養コロニーを白金耳あるいは白金線を用いて掻きとり, 菌量が少ない場合は10~50 μL , 十分な菌量がある場合は, 100~200 μL のTE緩衝液に懸濁し, 等量の10% Chelex-100懸濁液を加え, 100 $^{\circ}\text{C}$ 8分間処理した遠心上清をゲ

ノムDNA溶液とした。また, このDNA溶液は, 使用まで-20 $^{\circ}\text{C}$ で凍結して保管した。このように調製されたDNA溶液の1~2 μL をPCRに用いた。PCRは通常, 反応容量は30 μL とし, 使用するプライマーは1 μM 濃度のものを各3 μL , Taq DNA polymerase 0.3単位を使用した。PCR後の増幅産物の精製は, QIAquick PCR Purification Kit(キアゲン社)を用いて行い, 添付の溶出液(EB液)50~80 μL を用いて溶出した。このように精製された鑄型はサイクルシーケンス法で安定した塩基配列データが得られることが判った。以上の方法で, 塩基配列決定作業を10回以上可能な鑄型量を得ることができた。

塩基配列決定 塩基配列の決定は, BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit Version 3.1を用いて行った。また, キットに含まれるReady Reaction Mixは, キット購入とともに添付される5xReaction Bufferを用いて, 適宜希釈して使用し, その他, サイクルシーケンスの条件等, 添付プロトコールに準じた。今回の検討で, Ready Reaction Mixを16倍希釈しても良好な結果が得られているが, 安定したデータを得るために8倍希釈を採用した。今回一連の条件下で, 再現性の高い良好な結果が得られた。

サイクルシーケンス反応物の精製 通常, サイクルシーケンス反応後, 未反応のヌクレオチドを除去する必要がある。これは, キャピラリーシーケンサーが自動的にサンプルをインジェクションする際, 未反応のプライマーやヌクレオチドが残存していると正常にインジェクションされず, 配列データを再現性よく得ることが出来ないためである。そのための精製方法として, キットに添付されているプロトコールでは, ゲル濾過カラムの使用, あるいはエタノール沈殿法による精製法が推奨されているが, 前者の方法は, 市販のゲル濾過カラムを使用することで再現性の高いデータを得ることが出来る反面, コスト高となる。また, 濾液は一度乾固, ホルムアミドに溶解して使用する。一方後者は, 試料にエタノールを添加後, 遠心操作, サンプルの乾燥, ホルムアミドに溶解するという手順で行うことになっており, いずれの方法を用いるにしても, サンプルが多くなると時間がかかり, 迅速性に欠ける等の問題があり, 今回の検討の目的である迅速性という観点から改良が必要であった。そこで, 膜フィルターの付いた96穴のタイタープレートおよびゲル濾過担体としてSephadex G-50を用い, 複数試料を同時にゲル濾過処理可能なプレートの作成方法を検討した。Sephadex G-50は, 滅菌水で, 5% (w/v)濃度

で予め膨潤させたものを、プレートのウェルあたり200 μL ずつ加え、1,000 $\times g$, 3分間遠心し、余分な水分を除いた。これを3回繰り返す。最終的にプレートのウェルあたり600 μL とした。一方で、ゲル濾過後、濃縮あるいはエタノール沈殿操作をすることなく、濾液を直接、シーケンサーにインジェクションする方法が提示されており、迅速性の上から有効であると思われることから検討を加えた。その結果、問題なくデータが得られることが判明した。本シーケンサーは、一回の泳動で同時に16サンプル解析可能なため、最大192サンプルをセットすると12回の連続泳動が可能である。現在、一回の泳動は約2時間のプログラムを用いており、すべての解析が終了するまで、24時間以上は必要である。従って、ゲル濾過サンプルの濾液を直接インジェクションする方法では、反応サンプルを数十時間放置することになり、サンプルの安定性、特にサンプルの蒸発の問題が生じる。そこで、蒸発を防ぐ

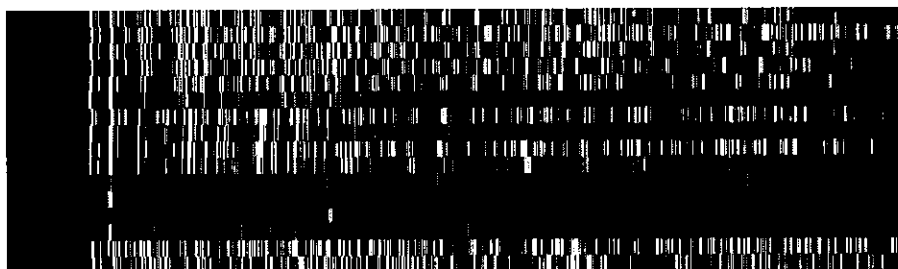
ために、アプライドバイオシステム社の推奨するホルムアミド（商品名、HiDi ホルムアミド）をサイクルシーケンス反応液に10 μL 添加した。この効果を確認するために192サンプルをDNA シーケンサーにセットし、連続運転したところ、安定なデータを再現性よく得られることが判明した。

しかし、一方で上述の方法でゲル濾過を行い、直接シーケンサーにインジェクションする方法を採用したところ、プライマーから10塩基程度のところに異常な蛍光シグナルが時折出現し（Figure 1）、その部分の解読が出来なくなることを経験した。そこで、アプライドバイオシステムズ社のプロトコールにおいて、エタノール沈殿を用いてサンプルを精製する際、エタノール添加前に5 μL の125mM EDTA を添加することを推奨していることから、反応物20 μL に、5 μL の125mM EDTA を加えてゲル濾過したところ、全体的に安定なデータが得られることが判明した。

Procedure

1. Purification of PCR products by Qiagen PCR purification kit
- ↓
2. Cycle sequencing; 20ul volume; BigDye Terminator CS Ver 3.1: x8 dilution
- ↓
3. Addition or no addition of 5ul of 125 mM EDTA
- ↓
4. Gel filtration with MultiScreen/Sephadex G-50 Fine
- ↓
5. After the addition of 10 ul of Hi-Di formamide, direct injection to 3100 Analyzer.

Addition
of 5 μL H_2O



Addition
of 5 μL EDTA

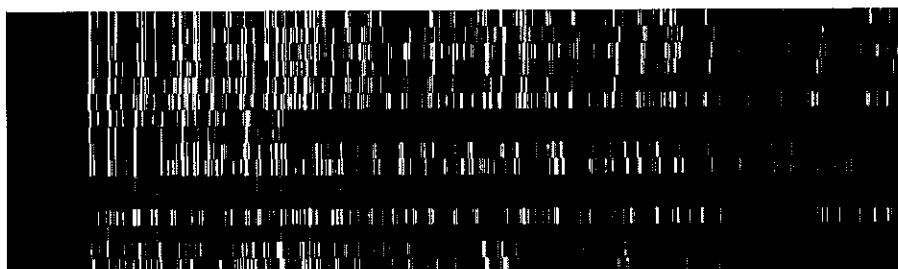


Fig.1 Effect of EDTA on the Clean-up of Cycle Sequencing Reactants by Gel Filtration using Sephadex G-50/MultiScreen

Table 1. Blast Searching of 16S rDNA Sequences of Bacterial Isolates from Chicken Meat

Isolates	Query (bps)	Score (bits)	Definition
#1	624	1237	AY738400 <i>Acinetobacter baumannii</i>
#2	624	1237	AY738400 <i>Acinetobacter baumannii</i>
#3	624	1237	AY738400 <i>Acinetobacter baumannii</i>
#4	594	1130	DQ356905 <i>Ochrobactrum intermedium</i>
#5	594	1130	DQ356905 <i>Ochrobactrum intermedium</i>
#6	602	1193	CP000233 <i>Lactobacillus salivarius</i>
#7	602	1193	CP000233 <i>Lactobacillus salivarius</i>
#8	601	1191	CP000025 <i>Campylobacter jejuni</i>

Table 2. Outline of the Evaluation Procedure of the PCR Products

Sample No.	Condition ¹	Additional process	Primer for sequencing	Condition ²
1	VT1 PCR 2 rounds	→	VT1	VT1
2	VT1 PCR 1 round	→	VT1	VT1
3	VT1 PCR 2 rounds			
4	VT2 PCR 1 round			
5	VT1 PCR			
6		→	VT2	ND ³
7		→	VT2	VT2

1. Information for having been preparing the sample.

2. Results by Blast searching.

3. Not determined

また、膜フィルターの付いた96穴のタイタープレートは、使用した後、Sephadex G-50レジンを廃棄し、洗浄することにより繰り返し使用可能であった。現在、5~10回程度使用しても問題ないことを確認している。

事例報告1 16S rDNA 配列解析による迅速同定のモデル実験：市販鶏肉のカンピロバクターの汚染調査時に検出されたコロニーの同定

カンピロバクターは、食中毒の原因として近年、上位を占める重要な細菌である。また、市販の鶏肉に高頻度（60~70%）に検出されており、われわれも、市販鶏肉から定期的にカンピロバクターの検出を試み、その細菌学的な性質を明らかにし、臨床由来株の遺伝的な関係を調査している[7]。そこでは最終的にカンピロバクター分離用の平板寒天培地上でコロニーを形成させ、カンピロバクターを検出するものであるが、しばしば、カンピロバクターのための微好気培養でカンピロバクター以外の細菌も検出される。通常はこのような菌は、検査対象から除外されるが、鶏肉からカンピロバクターの培養条件でともに生育してくる複数の細菌を迅速に同定できるかどうかを確かめることで、

今回の塩基配列解析を危機管理に利用できるかどうかの評価とした。今回は、この寒天培地上に形成される非カンピロバクターと思われる複数のコロニーから直接DNAを抽出し、16S rDNAの部分配列を解析することにより、迅速な塩基配列解析のモデルケースとした。

実際には、寒天培地上で42℃、2日間培養後、生育した非カンピロバクターコロニー7つと明らかにカンピロバクターと思われるコロニー1つの合計8つのコロニーを白金線で軽く突き、20μLのTE緩衝液に懸濁し、Chelex100法でゲノムDNAを抽出した。このDNA抽出液1μLを用いて、前報[8]に従い、16S rDNAの部分配列を解析した。今回の一連の工程により、8検体のサンプルから、DNAを抽出、PCR、精製、サイクルシーケンス反応、ゲル濾過、ABI3100シーケンサーによる電気泳動及びBlast検索を一日で完了することができた。その結果は、Table 1に示した。すなわち、今回カンピロバクター以外の細菌は、*Acinetobacter* 属、*Ochrobactrum* 属及び *Lactobacillus* 属であった。

Table 3. Comparison of Each Steps of DNA Sequencing Procedure between a Established and this Improved Practice.

Steps of a Procedure	the Time Required (hrs)		the Cost Required*	
	Established**	Improved	Established**	Improved
1. Template preparatin				
DNA isolation	0.5	0.5	100	100
PCR	2.5	2.5	100	100
Qiagen Kit	0.5	0.5	100	100
2. Sequence Reaction				
BigDye Cycle Sequencing Kit Ver.3.1	2.5	2.5	100	13
Clean-up	0.5			
Drying out	1.0	0.1	100	4
Resuspension	0.5			
3. DNA sequencer				
ABI3100 Genetic Analyzer	2.0	2.0	100	100
Base Calling	0.2	0.2		
4. Edit and Analysis				
Sequencher V4.2***	1.0	1.0		
MEGA3.1***				
G-InfoBio***				
Total	11.2	9.3	100	30

* relative scale

** established practice

*** application software used in this time

事例報告2 検査結果の判断に迷うPCR産物の解析

平成17年6月下旬、T市の厚生センターは、EHEC検出のためにVT遺伝子をターゲットとしてPCRを行った。しかし、増幅されるPCR産物がわずかであり、判定が困難であったので、一回目のPCR産物の一部を鋳型として2回目のPCRを行ったところ、明確なPCR産物が検出された。そこで、この結果についてどう判断するか相談を受けた事例である。この時点では、まだ菌の分離は成功していなかったが、医療機関において、同一患者の腸粘膜サンプル培養物の免疫アッセイを実施し、ペロ毒素陽性と報告されていたため、EHEC感染症が極めて疑われていた。そこで、このPCR産物の確認を、直接塩基配列を決定することで行うこととし、PCR産物の残試料の提供を受けた。厚生センターから提供を受けた試料の概要及び今回の作業内容、及び結果の概要はTable 2に示した。この解析の結果、これらのPCR産物から、VT1およびVT2配列の一部が確認された。そこで患者本人から菌の分離は成功していなかったが、この結果に基づき直ちに接触者検便が行われ、家族から腸管出血性大腸菌O157が検出された。その後の詳細な経過は、病原微生物検出情報にまとめられている[9]。

その作業手順については、以下の通りであった。搬入された試料のうち、配列解析に使用できそうな検体(Table 2, 検体番号1および3)についてはそのまま、試料が極少量であった検体番号2および4については、厚生センターで実施されたPCRの条件を基に、さらにPCRを行った(Table 2, 検体番号5~7)。その結果、PCR産物の電気泳動像から、プライマーダイマーと思われる産物が観察された。従って、このままでは塩基配列の解析に使用できないので、アガロース電気泳動を行い分画し精製することとした。使用したアガロースはアガロースからDNAを最大限効率よく抽出するために低融点アガロースを用いた。また、UV照射して、目的DNA断片をアガロースゲルから切り出す際にUVからDNAの損傷を最小限とするため、保護剤(クエンチング剤)として、最終濃度2mMのグアノシンを含んだTAE緩衝液を用いた電気泳動を行った。泳動後、エチジウムブロミドでDNAを染色し、UV照射下、DNAを切り出した[10]。切り出したDNA断片は、MonoFasDNA精製キットIを用いて精製し、最終的に10 μ Lの溶出液で溶出、精製DNA溶液とした。キアゲン社の製品もアガロース電気泳動後、DNA断片の精製は可能であるが、MonoFas DNA精製キットIは、10 μ L程度での回収率が優れているため、試料が非常に少ないとき利用価値が高い。次にこの試料を5 μ Lずつ2つに分け、鋳

型調製に使用したPCR用プライマーのフォワード及びリバース方向のそれぞれを、サイクルシーケンス法のプライマーとして用いた。反応後、ダイターミネーター除去後、3100シーケンサーで電気泳動を行った。結果として、得られた配列をDDBJのBlastnプログラムを用いて、相同性解析の結果、VT1とVT2の配列を確認し、搬入されたPCR産物は、確かに腸管出血性大腸菌のペロ毒素遺伝子の一部であることが確認された。

以上の操作により、PCR産物が当所に搬入された翌日の午後には結果を返すことが出来た。

コスト 塩基配列決定のための装置、試薬類は、まだまだ高価である。従って、多本架キャピラリーシステムのシーケンサーにおいて、鋳型調製から、最終的に塩基配列を得るまでのトータルのコストは決して安くはない。今回は、塩基配列を決定する各工程の見直しを行い、迅速でしかも安定にデータが得られるように最適化を行ったが、コストの面でも考慮して検討を行った。その結果、サイクルシーケンス用の試薬を希釈して使用すること及びダイターミネーターを除去するためのゲル濾過工程に使用する器材を自家調製することで、これまでのコストの70%削減に成功した。

考 察

PCR産物を鋳型として塩基配列を決定しようとする場合、PCR産物の精製や塩基配列決定の試薬、サイクルシーケンス反応の精製のためのキット等は既に市販されており、製品のプロトコールに従えば、そのほとんどは失敗なく安定なデータを得ることができる。従って、塩基配列データの汎用性や利便性を考慮すると、膨大な公的塩基配列データベースを利用しようという方向性は今後、ますます強くなると思われる。しかし、利便性の高いマルチキャピラリーシーケンサーやそれに使用する試薬等は、まだまだ高価であり、細菌検査部門で大量のシーケンス作業をルーチンに行うには解決しなければならない問題点も多いのが現状である。従って、塩基配列決定技術を細菌検査分野でルーチン化し、危機管理に使用可能とすることを目的として、その最適化に際し、以下の4点について考慮した。

- 1) 迅速であること
- 2) 安定なデータが得られること
- 3) 操作が簡単であること
- 4) コストパフォーマンスが高いこと

まず、1) 迅速性については、16本キャピラリーを

持つ ABI3100シーケンサーを最大限利用し、PCR による鋳型調製（反応時間約2.5時間）、サイクルシーケンス反応（同約2.5時間）および ABI シーケンサーの泳動（1 ランあたり約2時間）を効率よく行うことにより、達成すると考えられた。解析する検体数にも依存するが、8~16検体であれば、その日のうちに結果が得られる迅速性を有していた。また、2) 及び3) については、キャピラリーシーケンサーの場合は、鋳型の質に影響されると言われていたが、今回示した細菌ゲノム DNA 抽出に Chelex-100法を採用し、また、PCR 産物の精製を行うことで、安定なシーケンスデータが得られるようになった。また、4) については、サイクルシーケンス用の試薬を希釈して使用すること及びダイターミネーターを除去するためのゲル濾過工程に使用する器材を自家調製することで、これまでのコストの70%削減に成功したことと、ゲル濾過後の濾液を直接、シーケンサーにインジェクションすることで、大幅に時間的な節約を達成した (Table 3)。

以上のように、多本架キャピラリーシーケンサーを用いた迅速でコストパフォーマンスの高い塩基配列決定のための操作手順を導入した。今後は、このシステムを用いて、病原細菌の感染源調査といった疫学調査に利用できるシステムへと発展させることも可能であると思われる。そのためには、ターゲット遺伝子として何を使うかが今後の課題である。特に迅速な検査結果が求められる腸管出血性大腸菌、培養時間が長くこれまで遺伝子検査に時間のかかっているレジオネラ菌及び結核菌等での応用が期待される。また、富山県内で分離された細菌由来の配列データベースを作成することによって迅速性が要求される緊急時において、公

的な塩基配列データベースと併用することでより価値が高いシステムになると考えられる。

文 献

1. Daubin, V. and H. Ochman, H.. (2004). *Cur. Opin. Gen. Devel.*, 14, 616-619
2. 大西 真, (2004). *日本細菌学雑誌*, 59, 449-455
3. Maiden, M.C.J., Bygraves, J.A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J.E., Urwin, R., Zhang, Q., Zhou, J., Zurth, K., Caugant, D.A., Feavers, I.M., Achtman, M., and Spratt, B.G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 3140-3145, 1998.
4. Walsh, P.S., Metzger, D.A. and Higuchi, R. (1991). *Biotechniques*, 10, 506-513
5. Kumar, S. Tamura, K. and Nei, M. (2004). *Briefings in Bioinformatics*, 5, 150-163
6. DDBJ <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>
7. 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則 (2005). *富山県衛生研究所年報*, 28, 156-158
8. 綿引正則, 清水美和子, 嶋 智子, 磯部順子, 田中大祐, 木全恵子, 松永明信, 永井美之 (2005). *富山県衛生研究所年報*, 28, 110-119
9. 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 嶋 智子, 田中大祐, 綿引正則, 水木路男, 金木 潤, 清原美千代, 松原勝博, 藤崎啓子, 井波恵子, 三井千恵子 (2006) *病原微生物検出情報*, 26, 274-275
10. Grundemann, D. and Schomig, E. (1996). *Bio Techniques*, 21, 898-903

富山県で発生した腸管出血性大腸菌感染症の疫学的解析
(1996～2005)

磯部順子 木全恵子 田中大祐 清水美和子 綿引正則 永井美之

An Epidemiological Study of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infection
in TOYAMA, 1996 - 2005

Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU
Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI

要旨 1996年から2005年までの10年間に富山県内で発生した腸管出血性大腸菌感染症について、感染症発生動向調査票、病原体検出情報調査票から①発生件数②発生様態③年齢④性別⑤症状について調査した。結果について述べる。

1. 1996年から2005年までの10年間に富山県内で発生した腸管出血性大腸菌感染症は195例で、もっとも多かったのは2001年の45例であった。それらのうち68例が集団感染で、さらにその52.9%にあたる36例が家族内感染であった。
2. 腸管出血性大腸菌感染者数は550名で、1998年(178名)がもっとも多かった。感染者は男性257名、女性293名とわずかに女性が多かった。また、年齢別では0～10歳で298名54.2% (うち0～5歳感染者数238名43.5%) ともっとも高かった。
3. 原因となった腸管出血性大腸菌の血清型にみると O157による事例が133件(68.2%)、O26による事例が50件(25.6%)、O111による事例が8件(4.0%) の順に多く、全国的にも分離数が多いこれら3血清型による事例が全体の97.9%を占めた。
4. 有症者の割合は感染者全体では340/550(61.8%)であった。家族内感染ではそのおよそ70%にあたる25例が初発の感染者のみが有症という事例であった。
5. 集団感染の主な発生場所は保育関連施設が14例、飲食店が5例の順に多かった。2001年以降では家庭内での感染が増加した。
6. 感染源が特定できた事例が5例、疫学的調査から感染源が推定された事例は3例で、結果として、散在型集団発生いわゆる diffuse outbreak を探知できた事例もあった。
7. 腸管出血性大腸菌感染症の発生を地域別に見ると、富山市、高岡市に多く、O157とO26の割合は事例数ではそれぞれ25.4%と28.9%で大きな差は認められなかった。
8. 腸管出血性大腸菌感染症者から分離された菌株の血清型は、保有する毒素遺伝子型別に、最も多かったのが O157:H7(VT1,2)93株(47.9%)、次いで O157:H7(VT2)26株(13.4%)、O26:H11(VT1)25株(12.9%) の順であった。毒素遺伝子型でみると VT1,2保有が101株と52.0%を占め、VT1保有が61株(31.4%)、VT2保有が33株17.0%であった。

腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*:EHEC,あるいは Vero 毒素産生性大腸菌 Vero toxin-producing *E. coli*, 志賀毒素産生大腸菌 Shiga toxin-producing *E. coli*) は Vero 毒素 (志賀毒素あるいは志賀菌様毒素) を産生し、下痢、腹痛などの症状をはじめ、しばしば激しい出血性の下痢を呈する。時には溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome:HUS)やTTP(血栓性血小板減少

性紫斑病 thrombotic thrombocytopenic purpura) 等の重篤な症状を併発、死に至ることもある。EHEC 感染症は1982～1983年に米国及びカナダで発生したハンバーガーまたは牛ひき肉を原因とする食中毒事例 [1]において世界的に関心を集めるようになった。わが国においては、1990年10月埼玉県浦和市の幼稚園で EHEC による集団感染症で園児2名が死亡した事件[2]を契機に注目されるようになった。そして1996年には

5月に岡山県邑久町で2名の児童が HUS を併発し死亡した事例をはじめとし、大阪府堺市で今までに類を見ない大規模な集団感染症が発生したことで、本菌は「病原性大腸菌 O157」として広く知れ渡ることとなった[3]。そして本菌感染症は1996年8月指定伝染病（旧伝染病予防法）に、1999年4月感染症法において第3類感染症と位置づけられ、現在に至っている[4-6]。

本菌感染症が日本中を震撼させ、指定伝染病に位置づけられてから10年が経過したことから、われわれは富山県における本菌感染症の疫学的特徴を明らかにすることを目的とし、感染症発生動向調査事業および病原体検出状況調査事業で得られた情報及び分離菌について疫学的解析を試みた。

対象と方法

1. 対象事例

1996年6月から2005年の間に発生した EHEC 感染症 195事例および関連の患者、無症状病原体保有者（以下 EHEC 感染者）から分離された EHEC195株の検査を対象とした。結果は、PCR法によるVT遺伝子検出と、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による遺伝子解析によった。

2. 疫学情報の収集と解析方法

疫学情報は感染症発生動向調査票、病原体検出情報調査票から、①発生件数②発生様態③年齢④性別⑤症状について調査した。感染源が同じであると判断された感染者および集団内での2次感染が強く疑われた感染者については同一集団として、1事例とした。⑥分離菌の毒素及び血清型別については感染症発生時、当所において調べた結果に基づいた。また、感染者が二人以上の集団感染について、感染者が家族内に限定された場合を家族内感染、集団感染から家族内感染を除いた事例を集団感染とし、それらを合わせた集団を全集団感染として解析上区別した。

結果

1. EHEC 感染症発生状況

EHEC 感染症発生状況を図1に示した。EHEC 感染症発生事例数(以下事例数)は調査した10年間の合計が195例、もっとも多かったのは2001年45例(23.1%)、ついで2005年の21例(10.8%)であった。195例のEHEC 感染症のうち67例(34.4%)が全集団感染で、これら全集団感染のうち36例(53.7%)が家族内感染であった。2001年は散発事例、集団事例ともに多く、なかでも家族内感染14例は10年間に発生した家族内感染の

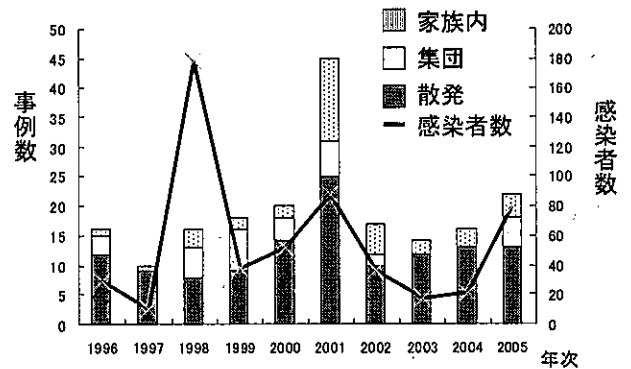


図1. 富山県で発生したEHEC感染症発生状況(1996-2005)

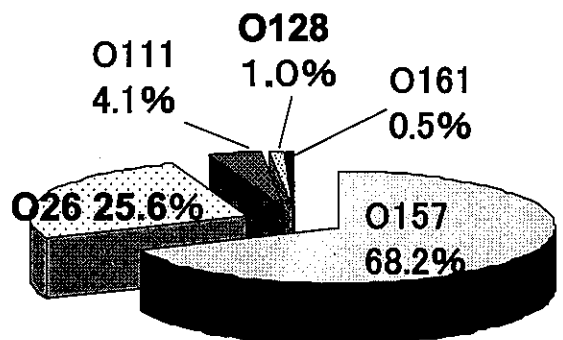


図2. 富山県で発生したEHEC感染症分離株血清型別割合

38.9%を占めた。この年は全国的にも EHEC 感染症の報告数が多く、同一の PFGE タイプの EHEC O157:H7(以下 O157)が広域に流行した[7,8]。富山県でも県西部を中心に6~9月にこの PFGE タイプの O157による感染症が多く発生したが感染源は不明であった。一方、EHEC 感染者数(以下感染者数)は10年間の合計が550名で、1998年178名(30.9%)がもっとも多く、次いで2001年88名(16.0%)、2005年78名(14.1%)の順であった。1998年は事例数に対し、感染者数がきわめて多いが、これは高岡市内の7つの保育園で発生した血清型 O26:H11による感染者数132名の大規模な集団事例による[9]。

EHEC 感染症を、原因である EHEC の血清型別にみると、血清型 O157による事例(以下 O157感染症)が133件(68.2%)、O26による事例(以下 O26感染症)が50件(25.6%)、O111による事例が8件(4.1%)の順に多く、全国的にも分離数が多いこれら3血清型による事例が全体の97.9%を占めた(図2)。これらの血清型の年次推移を図3に示した。O157および O26感染症は10年間毎年発生し、その事例数は O157では2001年(39件)が、O26では2002、2004年(5件)がもっとも多かった。O157感染症は年次によって事例数が大

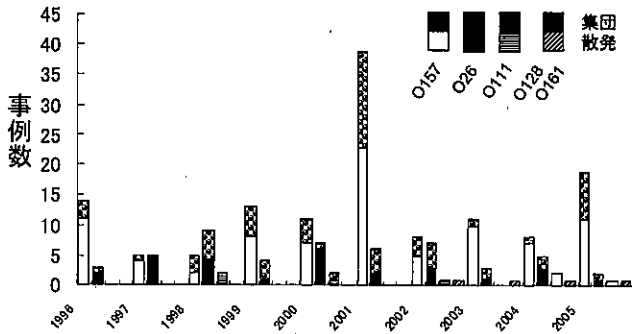


図3. EHEC 血清型別事例数

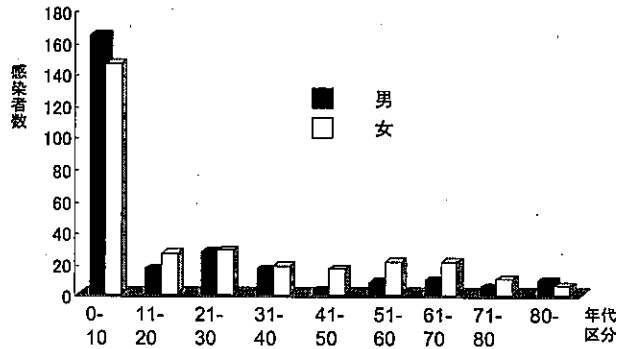


図6. 男女別年代別 EHEC 感染者数 (1996-2005)

きくばらついたが、O26感染症は2~7件と年次による事例数に大きなばらつきは認められなかった。血清型別に、全集団感染が散発事例を含む全事例に対して占める割合は、O26が22/50(44.0%)、O157が44/133(33.1%)、O111が1/8(12.5%)であった。さらに全集団感染に対する家族内感染の割合はO157、O26それぞれ61.4%、45.5%とO157感染症で高かった。

2. 年齢別 EHEC 感染者数

図4~5に年齢別感染者数とその割合について示した。10年間に於ける EHEC 感染者の年齢別割合は、不明の10名を除き、0~10歳が298名54.2% (うち0~5歳感染者数238名43.2%) ともっとも高く、ついで21~30

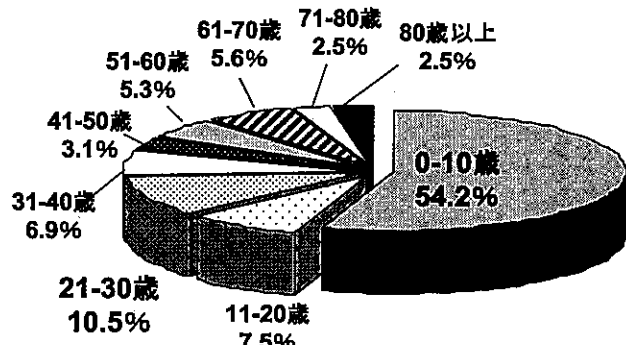


図4. 富山県における年齢別 EHEC感染者数 (1996-2005)

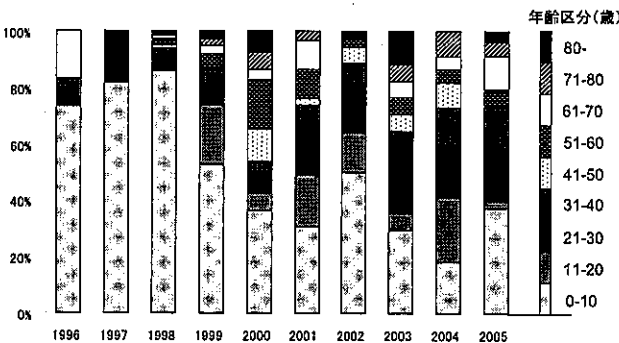


図5. EHEC 感染者年齢別割合

歳が58名10.5%、その他の年齢は14~41名で10%以下と低かった(図4)。0~10歳の感染者数が多いという傾向は2004年を除くすべての年次で認められた(図5)。

3. 男女別感染者数

男女別の感染者数は10年間で男性257名、女性292名と女性が多かった(図6)。これを年齢別にみると、20歳以下ではほとんど差はなく、21歳以上で女性の感染者が多いという結果であった。この結果は全国統計でも同様のことが報告されている[10]。

4. 有症者

有症者について年齢別にその年次推移を表1に示した。有症者の割合は感染者全体では340/550名(61.8%)であった。年齢別では0~10歳の68.7%がもっとも高く、次いで80歳以上の64.3%、もっとも低かったのは41~50歳の29.4%で、抵抗力が弱いとされる年代で高かった。また、HUSを呈した感染者は20歳以下(1~16歳)7名と80歳以上2名で、男性が5名、女性が4名であった(表2)。内1名は死に至っている。HUSを呈した感染者は1名がEHEC O161:H16、他の8名はO157:H7の感染であった。一方、年次別では1997年で11名すべてが何らかの症状を呈したのに対し、2000年では有症者は52名中17名(32.7%)と少なかった。2000年は上市町で病院給食を原因とする15名の集団事例が発生し、感染者はいずれも無症状であったことにより、この年次の有症者の割合が低くなったと考えられる。有症者を血清型別にみると、O157、O26、O111の有症者の割合はそれぞれ65.4%、59.3%、42.9%で、O157で高かった(図7)。

5. 集団事例

富山県で発生した1事例あたりの感染者が2名以上の67例全ての集団事例を表3に示した。年次別では2001年の20例がもっとも多く、1997年は1例のみと少なかった。原因となったEHECの血清型は集団感染ではO157が16例、O26が12例と大きな差は見られなかったが、家族内感染ではO157が27例(72.9%)で、O26を

表3. 富山県内で発生した集団感染症事例(1996~2005)

事例 No.	発生年次	O	H	発生場所	感染者数	有症者数	発生日	発生場所	感染源	初発感染者
1	1996	157	7	富山市	2	2	6/27	保育園		
2		26	11	高岡市	8	4	8/9	保育園		
3		157	7	富山市	4	4	8/26	保育園		
4		157	7	上市	2	1	10/10	家庭		
5	1997	157	7	黒部・小杉	2	2	9/6	牧場	動物施設・焼肉	
6	1998	26	11	高岡	132	88	3/12	7保育園	給食(推定)	
7		157	7	黒部他	19	14	6/3	寿司屋・家庭	いくら	
8		157	7	富山市	2	1	6/4	家庭		
9		26	NM	高岡	4	2	6/16	幼稚園		
10		26	11	高岡市	4	1	6/16	幼稚園		
11		26	11	砺波市	3	0	8/6	家庭		定期検便
12		26	NM	高岡	3	0	10/9	保養施設		定期検便
13		157	7	富山市	4	1	12/29	家庭	牧場施設ふき取り	
14		1999	26	11	高岡市	8	1	6/21	中学校	
15	26		11	上市町	6	3	10/2	保育園		
16	26		11	富山市	3	1	10/28	保育園		
17	157		7	富山市	2	1	10/15	家庭		
18	157		7	福岡町	2	1	10/29	家庭		
19	157		7	福岡町	5	4	11/8	小学校		
20	157		7	小矢部市	2	1	11/8	家庭		
21	2000	26	11	氷見市	2	1	5/7	介護		
22		157	7	上市	15	0	5/24	病院	黄金焼き(調理済鰯)	定期検便
23		157	7	入善	2	2	7/1	家庭		
24		157	7	大沢野	4	1	8/21	保育所		HUS
25		111	Nm	婦中町	14	2	8/28	保育園		
26		157	7	富山市	2	1	8/30	家庭		
27	2001	157	7	高岡市	2	2	3/14	ファミリーレストラン	ステーキ	
28		26	11	富山市	5	1	5/10	家庭・保育園		
29		157	7	富山市他	4	1	5/19	水泳合宿		
30		26	Nm	富山市	2	2	6/6	飲食店		
31		157	7	砺波	2	0	6/8	家庭		定期検便
32		157	7	高岡市	3	1	6/13	家庭		
33		157	7	富山市	6	1	6/23	家庭		
34		157	7	高岡市	2	1	6/27	家庭		
35		157	7	富山魚津	6	2	6/28	飲食店	焼肉(推定)	
36		157	7	高岡市	2	1	7/3	家庭		
37		157	7	高岡市	2	2	7/26	家庭		
38		157	7	高岡市	2	1	7/30	家庭		
39		157	7	高岡市	3	1	8/3	家庭		
40		26	Nm	大島	3	1	8/6	家庭		
41	157	7	氷見市	2	1	8/6	家庭			
42	157	7	富山市	2	1	8/6	家庭			
43	26	NM	小杉	2	1	8/27	家庭			
44	157	7	高岡市	2	1	9/10	家庭			
45	157	7	福光	2	2	9/19	家庭			
46	157	7	滑川市	7	6	10/4	保育所			
47	2002	157	7	氷見市	8	6	5/12	飲食店	ステーキ(推定)	
48		26	NM	富山市	2	1	5/21	家庭		
49		26	NM	富山市	3	3	7/5	家庭		
50		157	7	氷見市	3	0	7/6	家庭		定期検便
51		26	NM	庄川町	2	1	7/24	家庭		
52		157	7	朝日町	2	2	8/21	家庭		HUS
53		26	NM	高岡市	6	1	10/29	保育園		
54	2003	26	11	富山市	2	1	8/14	家庭		
55		157	7	小杉町	3	3	12/13	家庭		
56	2004	26	11	富山市	4	1	5/26	家庭		
57		157	7	富山市	2	1	8/17	家庭		
58		26	11	富山市	3	2	10/19	家庭		
59	2005	157	7	魚津市	14	8	3/31	飲食店	牛レバー(推定)	
60		157	7	朝日他	4	4	4/21	飲食店		
61		157	7	入善町	2	2	6/17	家庭		
62		157	7	福岡町	13	4	6/25	ボランティア	弁当	
63		26	11	富山市	2	1	8/4	家庭		
64		157	7	富山市	2	1	8/10	家庭		
65		157	7	富山市	22	15	9/5	保育所		
66		157	7	小矢部市	3	3	9/15	祭り		
67		157	7	富山市	3	1	9/14	家庭		

表4. 分離菌の毒素および血清型別

		8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	Total	
O	H	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005		
VT1,2		7	15	3	4	8	4	29	3	8	7	13	94
	O157	NM				1					1		2
		UT											0
		NT											0
	O26	11						1					1
		NM			1			1	1				3
	O111										1	1	
	O128	NM								1		1	
	Total		15	3	5	9	4	31	4	8	9	14	102
	VT1		7				4						4
O157		NM							1			1	
		UT					1					1	
		NT							1			1	
O26		11	2		7	3	2	2		2	5	2	25
		NM	1	4	1	1	1	2	6				16
		UT		1									1
		NT					4						4
O111		NM			1		2		1		2		6
		UT			1								1
128	NM							1			1		
Total		3	5	10	4	14	4	8	3	7	2	60	
VT2		7	2		4	1	9	4			6	26	
	O157	NM								1		1	
		UT			1					1		2	
		NT					1	1	1			3	
	O26	11											0
		NM											0
		UT											0
	O111	NM											0
		UT											0
	161	16							1			1	
Total		0	2	1	4	2	10	5	3	0	6	33	
Total		18	10	16	17	20	45	17	14	16	22	195	

事例 No.12は病院の給食従事者から定期検便時に EHEC が検出され、その後の調査で、14名の患者と従業員、および給食として入院患者らに提供された食品から EHEC が検出されたが有症者はいないという稀な集団感染症であった。集団感染のおもな発生場所は保育関連施設15例(41.3%)、飲食店5例(17.2%)が多く、前者での発生は、流行の前半にあたる1996～2000年の5年間に10例と多かった。後半の2001年から発生場所は家庭内へとその中心を移している。発生場所として特記すべきはNo.5のふれあい牧場であろう。感染源が特定できた事例が5例(No.5, 7, 13, 22, 27)あり、感染源はそれぞれ牧場施設、イクラの醤油漬け、

牧場施設、調理済鱈、ステーキである。動物と触れ合うことができる牧場施設での感染はおそらく国内で初めての報告[11]であったと思われる。いくら、ステーキを原因とする感染症は散在型集団発生(diffuse outbreak)として、県内だけでなく他県でも感染者が報告され、分離菌について情報及び菌株の交換等により、同一クローンであることが確認された[11-14]。また、食品から原因菌は分離されなかったが、疫学的状況から焼肉、ステーキ、牛レバーが原因食品であると推定された事例(No.35, 47,59)もあった。

6. 地域別感染症発生状況

感染者の多いO157およびO26感染症発生状況を市

町村別に図7に示した。事例数は、ひとつの事例で二つ以上の市町村で感染者が確認された場合、それを再掲したのでその総数は前述データより若干多くなっている。事例数は富山市(59件, 31.2%), 高岡市(38件, 20.1%)で多かった。事例数の人口10万人対(2005年の人口)では小矢部市が24.2ともっとも多く、高岡市の22.3, 富山市18.4の順であった。発生事例数が10例以上である富山市, 高岡市を比較すると, O157とO26の割合は事例数ではそれぞれ25.4%と28.9%で大きな差は認められなかったが, 感染者数では富山市, 高岡市それぞれO157が93名, 33名, O26が32名, 172名で, 富山市ではO157が, 高岡市でO26が多かった。

7. 分離菌の毒素型別

EHEC感染者から分離された菌株のうち, 同一集団からの分離株を1株として, 血清型ごとに毒素遺伝子型を調べた結果を表4に示す。遺伝子型別はPCR法により決定した。10年間で最も多かったのはO157:H7(VT1,2)94株(48.2%), 次いでO157:H7(VT2)26株(13.4%), O26:H11(VT1)25株(12.9%)の順であった。毒素遺伝子型でみるとVT1,2保有が102株と52.3%を占め, VT1保有が60株(30.8%), VT2保有が33株17.0%であった。HUSを呈した感染者からの分離株はVT1,2保有5株, VT2そ単独保有が1株であった。O128:HNMはVT2に計上したが, 変異型の毒素遺伝子 *stx 2₁* 保有株で, このO128:HNMはわが国でヒトから初めて検出, 報告された株である[15]。

8. おもな集団感染事例の概要

①ふれあい牧場における腸管出血性大腸菌O157感染症(No.5)

1997年6月幼児2人のEHEC O157:H7感染症が発生した。二人の行動調査の結果, 同じ日に同一のふれあい牧場を利用したことが判明し, この牧場施設での感染が強く疑われた。県の厚生部と農林水産部, 厚生省(現 厚労省)と農水省との協議の末, 牧場の牛について検査したところ, 感染者分離菌1株と牛舎のふき取り検体から分離された菌株でPFGE, 薬剤感受性, プラスミドプロファイル等が一致し, この牧場を原因施設と断定した事例である[9]。この事例では感染者2人からの分離菌のうち, 1株でPFGEパターンが僅かに異なることからその同一性が問題となった。刑部らは保管された菌株でPFGEパターンにしばしば解離が見られることを報告した[16]。

②高岡市内保育園腸管出血性大腸菌O26感染症(No.6)
1998年3月高岡市内の7つの保育園でEHEC O26:H11(VT1)による感染者数132名の大規模な集団感染症が発生した。患者から分離されたEHECはすべてPFGEパターンが一致した。感染源は保育園で提供された

共通の食品であると考えられたが, 感染者の発生のピークがひとつではないことから, 食品による同一暴露のあと, 園内において人→人感染等で二次的に感染が広がったと推定された。当所では原因食品を検出するため, 食材550検体, 検食448検体, ふき取り検査156検体について検査を実施したが, 原因であるEHEC O26:H11は検出されなかった。当時は市販のO26免疫磁気ビーズがなかったため, 関係機関からの情報, 協力により, 免疫磁気ビーズを作製しながら検査を進める状況であった。

③北海道産イクラ醤油漬けによる腸管出血性大腸菌O157感染症(No.7)[12,13]

1998年5月~6月北海道産のイクラ醤油漬けを原因とするO157感染症が発生した。富山県内の感染者は19名であったが, 神奈川県, 東京都等7都府県において計62名の感染者が確認され, いずれもイクラの醤油漬けを使用した寿司等を喫食したか, あるいはその二次感染であった。富山県においては, 5月下旬から6月上旬のO157の感染者が多発していることから, 早い段階で感染者の行動調査, 分離菌の分子疫学解析を積極的に進めた。その結果, 感染者は富山市, 黒部市の寿司店あるいは寿司販売店を利用し, いずれもイクラ寿司を喫食していることを突き止めた。また, プラスミドプロファイル, 薬剤感受性, PFGEパターン等から, 分離菌は同一クローンである可能性が極めて高いとして, 一連の感染症の原因食品としてイクラが疑われると発表した。

④ファミリーレストランで発生した腸管出血性大腸菌O157感染症(No.27)

1999年3月同じ系列のファミリーレストランで「ビーフ角切りステーキ」を食べた2人がEHEC O157:H7に感染した。このファミリーレストランは全国展開のチェーン店で, 滋賀, 奈良県でも感染者が確認された。調査の結果, レストランで保管されていたステーキ用牛肉から原因菌が検出された。このステーキは原料肉をテンダライズ, タンプリング処理した加工食肉であった。このような加工食肉は内部まで細菌汚染されるリスクがあり, 内部まで十分加熱する必要があったにもかかわらず, 加熱不十分で提供されたことにより感染したものと考えられた[18]。

⑤牛生レバーが原因と考えられた腸管出血性大腸菌O157感染症(No.59)

2005年3月飲食店で食事をした3グループの14名からEHEC O157:H7が検出された。感染源として最も疑われたのは共通食であるレバー(生食)であった。調査によって感染者14名のうち13名がレバー(生食)を喫食していたことが判明した。提供されたレバーの残

品および同一ロットのレバーがなかったことから検査はできなかったが、このレバーは生食用として流通しているものではなかったことが明らかになった。レバーの生食は汚染リスクが大きいことを改めて示す事例であった[14]。

考 察

はじめに述べたように、1996年に大規模な EHEC 感染症が発生してから10年が経過した。富山県ではこの1996～2005年の10年間に195件の EHEC 感染症事例が発生し、感染者は550名であった。米国等で牛肉関連食品を感染源とする EHEC 感染症が報告[1]されてから、小林らは遡り調査により EHEC 感染症事例を報告し[19]、この菌に対して警戒するよう提言していた。今回の解析の中には含めなかったが、県内においても1996年までにもわずかではあるが EHEC 感染者が確認されている。県内で初めての EHEC 感染症は、1991年4月に6歳の女兒とその母親が EHEC O157:H7 に感染した事例で、その分離菌が Vero 毒素を産生することを当所で確認している[20]。さらに1992年には血便を呈した感染者から O26 が分離され、以降1995年を除き EHEC は毎年分離され、現在に至っている。1996年の堺市の大規模感染症発生以降、県内で初めての EHEC 感染者は7歳の男児で、1996年6月24日 O157:H7 による腸炎のため入院した。その後、6月28日に同じ幼稚園に通う2人の女兒が EHEC に感染し、うち一人は HUS を併発している。これが県内で初めての EHEC 集団感染事例であると思われる。それ以降の発生状況は全国と同様で、1996年から2000年の5年間に EHEC 集団感染症は保育園や幼稚園、小学校などを中心として発生した。近年は小学校での集団発生は著しく減少しているが、衛生教育が行き届きにくい保育園での感染症は後を絶たず、県内では2005年にも感染者22名、うち有症者15名の集団感染症が発生している[14]。保育園は園児の指しゃぶりやおむつなど独自の行動様式により、人から人へ二次感染する危険性が極めて高い施設である。すでに述べたが、1998年に高岡市で発生した O26:H11 による感染症は、はじめは給食による同時暴露であったと思われるが、感染者の発生日が緩やかな二峰性であることから後半は二次感染による感染症であった可能性が高いと報告されている[9]。われわれはこの事例の後、感染者の症状と糞便中の O26 の菌数との関係について調査したが、かなり多くの菌を排出しているにもかかわらず、症状がまったくないという園児が多くみられ、保育園で二次感染が広がるのを裏付ける結果であった[21]。この結

果は、保育園での集団事例 No.10,16,24,28,53 で初発感染者以外は無症状であったという事実からも支持される。学校での感染症の発生が減少する傾向とは逆に、家族内で発生する感染症の報告は増加している。この傾向は富山県だけではなく、全国的な傾向である。結果にも記述したが、2001年の事例数の増加は家族内感染の増加によるものであった。家族内での発生は同じ食品を摂取したのか、濃厚接触による人から人への二次感染なのか、感染源や感染経路を明らかにすることが極めて困難な場合が多い。しかし、興味深いことに、今回の調査では家庭内感染のおよそ7割が初発感染者のみ有症であった。さらに初発感染者は10歳以下が多く、その家族の中の無症状感染者は女性、とりわけ母と姉が多いという事実は、家庭内感染での感染経路は、同じ食品を摂取するという場合よりも、接触の機会が多い人から人への感染という経路による場合が多いことを示唆するものである。そして、初発感染者の感染原因は不明である場合が多い。

この初発感染者の症状は、O157の汚染実態を把握する上で大きく影響すると思われる。今回の調査で明らかになったように、定期検便で初めて感染が確認された集団感染や家族内感染があるという事実は、一方で、おそらく無症状がゆえに検査により確認がなされていない感染者が多くいることを想像させる。このような無症状の感染者が EHEC 感染症の流行にどのように関わっているのか、どの程度まで把握しなければならないのか、実態調査が必要であろう。また、症状の有無、重症化する人、しない人等感染者の症状は実に多様であり、その原因が宿主側にあるのか細菌側にあるのか、未だ解明されていない点が多い。摂取した食品が必ずしも均一に汚染されていないことが一つの要因として考えられるが、全員が無症状であった集団感染事例等、それだけでは説明できない事例も多い。この感染機序が解明されることが、治療に繋がるものと期待される。

EHEC による腸炎は初め食中毒という扱いであったが、少ない菌数で感染が成立し、人から人への感染も起こりうるとして、指定感染症と位置付けられたように、その感染菌量は 10^2 オーダーと推定されている。実際の感染症事例で食品から原因菌が検出された事例はきわめて少ない。これはやはり食品中の EHEC の菌数がかかなり少ないことによるものと考えられる。一方、感染源特定のため、集団給食施設においては検食および食材を2週間分保管するということが義務付けられた。このため、学校や保育園等でひとたび感染症が発生すると、実に多くの食品、食材、ふき取り検体について検査を実施しなければならない。7つの保育

園で発生した感染症事例では、保健所の応援の下で1000件以上の検査を実施したが、最終的に感染源となった食品を特定できなかった。当時はまだO26免疫磁気ビーズが市販されていなかったため、厚生省の協力の下、北海道立衛生研究所が中心となって開発された「O26検出用免疫磁気ビーズ」を用いてO26の検出を試みたが、原因食品を特定するには至らなかった。現在、食品からのEHECの検出法は改良が重ねられ、LAMP法による検出や特異酵素基質を利用する選択培地などを使用することで、検出感度は確実に上がっている[22-24]。しかしながら、この10年間で食品からEHECが分離され、感染源が特定されるに至った事例がある。代表的な事例として、北海道産のイクラ事例はあまりにも有名であるが、疫学的に推定される食品を含めると、さまざまな食品が感染源となることがわかる[25, 26]。県内でもイクラ事例以外に3事例で感染源が特定されている。その中の加工食肉は全国展開のレストランで提供されるステーキ肉であったため、早期探知は感染拡大防止に実に有効であることが示された。逆に、感染源が特定できなかった事例として、2001年に多発した家族内感染が挙げられる。これらの感染症が流行した時期は、全国的に同一もしくは類似のPFGEパターンを示す株による感染症が流行していた。これらの感染症は北海道、東北地方を除く全県で発生していたにもかかわらず、感染源は特定されなかった。県内でも同一クローンと思われる感染症が1か月で14例も発生するなど、汚染された食品が流通している可能性が強く疑われた。そしてその流行は5~9月と5か月にも及んだ。唯一和風キムチから菌が分離されたとの報告もあったが、これは一部の限定された地域での流通であった。このように広域に流行したO157感染症が、PFGEパターンが一致していることが解明されていたにもかかわらず、その感染源を突き止められなかったという事実によって、O157の汚染の拡がりや原因特定の難しさの問題が改めて認識された。近年は食品が全国に広くしかも短期間に流通する時代であることから、その感染源を早期に特定することはきわめて重要な課題である。一方、感染者との関連性や感染源を特定するため、分離菌間の関連性を探る方法としてPFGEによる分子疫学的解析法が確立、定着したのもこのEHEC感染症の流行によるところが大きい[17]。当所ではEHEC流行以前からこの手法を研究にとり入れていたため、集団の把握、感染源特定にはすばやく対応できた。しかし、PFGE法は結果が出るまでに少なくとも3~5日を要する。近年の流通システムの中で、この検査時間は感染の拡大を最小限にとどめるといふ目的としては長すぎるとい

わざるを得ない。分子疫学的解析法については、さらに迅速性が求められるばかりでなく、感染研を含めた全国の地方衛生研究所でのデータの互換が可能となるよう、今後検討しなければならない。

検査法は迅速かつ正確さを求める技術の進歩に伴い今後さらに発展すると思われる。しかし、今回の疫学的解析によって明確になった事は、感染症の拡大防止という観点からもっとも重要なことは早期探知と迅速で積極的な疫学調査であるということであった。われわれが提出する検査結果は、いずれも関係者の聞き取りや検体採取に頼るところが大きい。また、疫学的な情報により検査方法が決まることも経験した。関係者が情報を早期に共有することは感染症対策の基本である。そして、ふれあい牧場の事例、イクラの事例等いずれの事例においても保健所や県庁関係課の多大な努力と積極的な姿勢が事件解明につながったことは明らかである。

感染症に対して、感染源を絶つという観点から、農水省などの機関と連携して対応することが必須となっている。さらに、近年、食の安全を求める消費者の要求は年々厳しくなっている。これはこの10年、食にまつわる様々な問題が発覚した当然の結果であるといえよう。2005年から、副知事を本部長とし、農水や厚生部という管轄を超えた行政全体の連携の下で食品安全推進本部が立ち上がった。部局を超えた連携によって、食の安全、感染症の発生抑制に効果を発揮するものと期待したい。

謝辞：稿を終えるに当たり、ご指導ご協力を頂きました児玉博英博士、刑部陽宅博士をはじめ、当細菌部に在籍された諸先生方、また、県庁および旧保健所の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. Riley, L.W., Remis, R.S., Hergerson, S. D., McGee, H. B., Wells, J. G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E. S., Johnson, L. M. (1983). *New Eng. J. Med.*, 308, 681-685
2. 城 宏輔 (1991), *臨床と微生物*, 18, 457-465
3. 堺市学童集団下痢症報告書 (平成9年), 堺市学童集団下痢症対策本部, 堺市環境保健局衛生部地域保健課.
4. 厚生省告示第199号 (平成8年8月6日付け)
5. 厚生省令第47号「腸管出血性大腸菌感染症について適用される伝染病予防法の規定等を定める省令」 (平成8年8月6日付け)

6. 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成10年10月2日）法律第114号
7. 国立感染症研究所編，病原微生物検出情報（2002）. 6, 137-141
8. 国立感染症研究所編，病原微生物検出情報（2003）. 6, 129-132
9. 国立感染症研究所編，病原微生物検出情報（1998）. 6, 128-129
10. 国立感染症研究所編，病原微生物検出情報（2006）. 6, 141-143
11. 飯田恭子，園家敏雄，尾崎博子，島田正雄，島田賢三，川原たま子，刑部陽宅（2000）. 北陸公衆衛生学雑誌，27, 43-47
12. 北海道産イクラ醤油漬による腸管出血性大腸菌 O157食中毒事件報告書（1999）. 北海道中標津保健所.
13. 国立感染症研究所編，病原微生物検出情報（2000）. 9, 193-194
14. 国立感染症研究所編，病原微生物検出情報（2006）. 6, 138-139.
15. 磯部順子，木全恵子，霧島正浩，細呂木志保，田中大祐，刑部陽宅（2004），感染症学雑誌，78, 1000-1005
16. 刑部陽宅，平田清久，細呂木志保，磯部順子，田中大祐，北村 敬（2000）. 富山衛研年報，23, 134-138
17. 伊豫田淳，寺嶋淳，和田昭人，泉谷秀昌，田村和満，渡辺治雄（1998）. 食品微生物学雑誌，15, 141-146
18. 磯部順子，細呂木志保，田中大祐，清水美和子，香取幸治，永井美之（2001），富山衛研年報，25, 176-182
19. 小林一寛，原田七寛，中務光人，神野逸郎，石井経康，下辻常介，田村和満，坂崎利一（1985）. 59, 1056-1060
20. 児玉博英，林美千代，刑部陽宅，吉田喜美子，岩口力男（1992）. 富山衛研年報，15, 192-193
21. 刑部陽宅，磯部順子，細呂木志保，田中大祐（1998）. 富山衛研年報，22, 133-138.
22. 佐多 辰，大沢 朗，古川一郎，山井志朗（1999）. 日本細菌学雑誌，54, 659-665
23. 前原智史，中本成彦，森河内巖，井川久史（1999）. 日本食品微生物学会誌，16, 181-185
24. 池戸正成（2005），日本臨床微生物学会誌，15, 1-7
25. 伊藤 武（1997）. 予防医学，39, 5-11
26. ITO Y., SUGITA-KONISHI Y., KASUGA F., IWAKI M., HARA-KUDO Y., SAITO N., NOGUCHI Y., KONUMA H., KUMAGAI S.（1998）. Appl. Environ. Microbiol., 64, 1532-1535

成長期女子の生活習慣の変化と骨密度増加との関連

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¹

Relationship between Change of Lifestyle-related Factors and Bone Mass Acquisition in Adolescent Female

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

要旨 中学2年生女子の橈骨骨密度、骨代謝指標、生活習慣を高校3年生までの5年間追跡調査し、成長期女子の骨密度と骨代謝指標の加齢変化および初経年齢との関係を明らかにした。さらに、中学時と高校時の生活習慣変化と骨密度変化率、骨代謝指標との関連を検討した。

骨密度は学年が上がるに従って有意に増加し、骨代謝指標は低下した。初経年齢との相関は、中学2年生時は骨密度は負の、骨代謝指標は全ての指標で正の相関を示したが、学年が上がるに従ってその関連は弱くなり、高校3年生時では有意な相関はみられなかった。

生活習慣を中学時と高校時で比較すると、高校時には運動習慣があるもの、牛乳摂取量、睡眠時間が減少していた。これらの習慣それぞれについて、変化があった群となかった群を比較したところ、高校で運動を止めた群では骨形成指標と高校1年から3年までの骨密度増加率が低値を示した。高校で運動を止めた群には牛乳摂取が少なく、多様な食品を取るよう考えていないものが多い、という食習慣の問題点があり、これらと運動習慣がなくなったことの両方が影響して骨密度増加率が低値を示したと推測された。また、中学と高校ともに牛乳摂取量が2本未満の群で骨密度増加率が低い傾向を示した。これらのことから、成長期に骨量を増加させるには、牛乳摂取や運動の習慣を形成し、継続することが重要であると考えられた。

女性の成長期における骨量増加に影響する要因を検討するために、女子中学生を対象として、中学2年から高校3年生時までの5年間の骨密度、骨代謝指標の追跡調査を実施した。これまでの中学2年生および高校1年生時の調査結果では、骨密度は運動習慣があり、牛乳摂取量が多いもので高く、生活習慣の影響を受けることを報告した [1,2]。一方で、追跡期間中に中学時と高校時の生活習慣を比較すると、運動実施者や牛乳摂取量はどちらも高校時に大きく減少していた [1, 2]。そこで、今回、成長期女子の5年間の骨密度および骨代謝指標について成長による変化を示すとともに、中学時と高校時の生活習慣の変化との関連を検討した。

対象および方法

対象者は中学2年生から年1回追跡調査している富山県内の女子生徒であり、そのうち中学2年生(中2)から高校3年生(高3)までの5年間全て調査ができたものである。解析に際しては、骨代謝に影響を与えるよ

うな疾患があるもの、早発月経(初経発来10歳未満)および遅発月経(初経発来15歳以上)の可能性のあるものを除き、39名を対象とした。対象者には事前に本調査についての説明を文書により行い、受診者と保護者から承諾書を得た。なお、本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会の承認を受けた。

骨密度(Bone Mineral Density: BMD)の測定はDXA法(DTX-200 OSTEOMETER社製)により非きき腕の前腕骨を測定した。骨密度の変化率(BMD%)は中学2年から高校1年まで(BMD%中2-高1:{(高校1年-中学2年)/中学2年骨密度×100%})と、高校1年から3年まで(BMD%高1-3: {(高校3年-1年)/高校1年骨密度×100%})の各2年間の変化率を算出した。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)、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。骨代謝指標は対数正規分布を

1. 北陸予防医学協会

表1. 対象者の基本統計値

	骨密度 (g/cm ²)		PYD [#] (nmol/mmolCr)		DPD [#] (nmol/mmolCr)		Hyp [#] (mg/gCr)		BAP [#] (BLU)	
	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD
中2	0.352	(0.039)	74.17	(1.36)	13.57	(1.47)	86.06	(1.41)	3.08	(1.50)
中3	0.380	(0.041)	50.93	(1.35)	9.56	(1.43)	65.83	(1.39)	2.16	(1.40)
高1	0.400	(0.037)	41.90	(1.31)	7.96	(1.32)	51.63	(1.30)	1.88	(1.37)
高2	0.418	(0.028)	34.22	(1.25)	6.61	(1.31)	42.43	(1.30)	1.55	(1.26)
高3	0.429	(0.039)	28.07	(1.27)	5.75	(1.34)	43.19	(1.35)	1.30	(1.28)

n 人数、SD 標準偏差
** p<0.01 ,*** p<0.001

幾何平均値、幾何標準偏差

表2. 初経年齢と骨密度、骨代謝指標の相関係数

	骨密度 相関係数		PYD 相関係数		DPD 相関係数		Hyp 相関係数		BAP 相関係数	
	相関係数	p	相関係数	p	相関係数	p	相関係数	p	相関係数	p
中2	-0.616	p<0.001	0.732	p<0.001	0.728	p<0.001	0.670	p<0.001	0.746	p<0.001
中3	-0.519	p<0.01	0.582	p<0.001	0.564	p<0.001	0.677	p<0.001	0.656	p<0.001
高1	-0.469	p<0.01	0.472	p<0.01	0.476	p<0.01	0.539	p<0.001	0.505	p<0.01
高2	-0.394	p<0.05	0.271	ns	0.342	p<0.05	0.209	ns	0.430	p<0.01
高3	-0.271	ns	0.109	ns	0.166	ns	0.075	ns	0.190	ns

n 人数

示したので、以下の解析では対数変換値を用いた。身長および体重は検診当日に測定し、初経発来の時期および生活習慣（運動部参加状況、1日牛乳摂取本数、朝食欠食など食習慣、食事を減らすようなダイエット経験の有無、睡眠時間等）を自記式の質問票で調査した。統計的検定は、平均値にはt検定または一元配置分散分析によって行い、多重比較はBonferroniの方法を用いた。相関の検討にはPearsonの相関係数を用いた。

結 果

表1に各学年別に対象者の骨密度、骨代謝指標値を示した。骨密度は学年が上がるに従って増加し、各学年の値の間には有意な差があった(中2から高2はいずれの間も p<0.001, 高2 vs 高3 p<0.01)。骨密度変化率は、中2-高1は平均14.1±7.0%、高1-3は平均7.3±6.2%の増加であり、学年が上がると、骨密度の増加が低下していた。骨代謝指標はBAP, PYD, DPD, Hyp いずれの指標も学年が上がるに従って低下した(PYDとBAPは中2から高3いずれの間も p<0.001, DPDは中2から高2の間は p<0.001, 高2 vs 高3 p<0.01, Hypは中2から高1の間は p<0.001, 高1 vs 高2 p<0.01, 高2 vs 高3 有意差なし)。

初経年齢と骨密度、骨代謝指標との関係を見ると(表2)、中2では骨密度は初経年齢と負の相関を示し、

骨代謝指標は、全ての指標で正の相関を示した。しかし、骨密度、骨代謝指標ともに学年が上がるに従ってその相関は弱くなり、高校3年生時では初経年齢との間に有意な相関は認められなかった。

対象者の生活習慣を中学時と高校時で比較した(表3)。運動ありは中学時に比べ高校時は減少し、高校から運動を始めた者はいなかった。牛乳摂取量を1日2本以上飲むものと2本未満のものに分けると、2本以上飲むものは中学時26% (10/39人)、高校時10% (4/39人)で高校時に減少し、高校時に牛乳摂取が増え、2本以上飲むようになったものはいなかった。朝食の欠食やダイエットでは、いずれもその習慣を有するものが中学に比べて高校で増加する傾向にあったが有意ではなかった。睡眠時間について1日7時間以上と未満に分けると、7時間以上は中学時87% (34/39人)、高校時59% (23/39人)で、高校時は7時間以上睡眠をとるものが減っていた。

そこで、中学時から高校時に習慣の変化がみられた運動、牛乳摂取、睡眠時間についてこれらの習慣の変化がその後の骨密度変化率(BMD%高1-3)、骨代謝指標に影響するか検討した。対象者を中学時・高校時の各習慣の有無別で群分けし、骨密度およびその変化率、骨代謝指標を表4, 5に示した。運動習慣については(表4)、高校で運動をやめた"中学のみ運動あり"のBMD%高1-3年は他の2群に比べて低値を示した。骨密度変化率は体重変化率、初経年齢の影響をうけるため

表3. 中学時と高校時の生活習慣の比較

<table border="1"> <tr> <td>高校運動</td> <td>あり</td> <td>なし</td> <td>McNemar 検定</td> </tr> <tr> <td>中学運動</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		高校運動	あり	なし	McNemar 検定	中学運動				あり	なし	p<0.01
		高校運動	あり	なし	McNemar 検定							
中学運動												
あり	21	8										
		なし	10									
<table border="1"> <tr> <td>高校牛乳</td> <td>2本未満</td> <td>2本以上</td> <td>McNemar 検定</td> </tr> <tr> <td>中学牛乳</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		高校牛乳	2本未満	2本以上	McNemar 検定	中学牛乳				2本未満	2本以上	p<0.05
高校牛乳	2本未満	2本以上	McNemar 検定									
中学牛乳												
		2本未満	0									
		2本以上	4									
<table border="1"> <tr> <td>高校朝食欠食</td> <td>あり</td> <td>なし</td> <td>McNemar 検定</td> </tr> <tr> <td>中学朝食欠食</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		高校朝食欠食	あり	なし	McNemar 検定	中学朝食欠食				あり	なし	ns
高校朝食欠食	あり	なし	McNemar 検定									
中学朝食欠食												
		あり	1									
		なし	29									
<table border="1"> <tr> <td>高校ダイエット</td> <td>あり</td> <td>なし</td> <td>McNemar 検定</td> </tr> <tr> <td>中学ダイエット</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		高校ダイエット	あり	なし	McNemar 検定	中学ダイエット				あり	なし	ns
高校ダイエット	あり	なし	McNemar 検定									
中学ダイエット												
		あり	0									
		なし	31									
<table border="1"> <tr> <td>高校睡眠時間</td> <td>7時間未満</td> <td>7時間以上</td> <td>McNemar 検定</td> </tr> <tr> <td>中学睡眠時間</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		高校睡眠時間	7時間未満	7時間以上	McNemar 検定	中学睡眠時間				7時間未満	7時間以上	p<0.01
高校睡眠時間	7時間未満	7時間以上	McNemar 検定									
中学睡眠時間												
		7時間未満	1									
		7時間以上	22									

表中の数値は各習慣における人数

両者を共変量として調整した平均値を求めたところ、中学・高校運動あり 8.0%、中学のみ運動あり 3.6%、中学・高校運動なし 8.7% となり、有意な差はみられなかったものの (p=0.165)、中学のみ運動あり群が最も低い値であった。また、骨代謝指標では高2のBAPが中学のみ運動あり群で低い値を示した。

次に、牛乳摂取量を1日2本未満、2本以上に分け中学および高校時の摂取量別で比較したところ、有意な差はみとめられなかったが中学・高校2本未満群のBMD%高1-3が低い値を示し、骨代謝指標では中学・高校2本未満群の高校3年生時の骨吸収指標PYD、DPDが低値を示した(表5)。

睡眠時間については7時間未満と7時間以上にわけ比較したところ、BMD%高1-3年は中学・高校7時間以上群は8.5% (n=22)、中学のみ7時間以上群7.7% (n=12)、中学・高校7時間未満群0.0% (n=4) であり、高校で睡眠時間が短くなったものに違いはみられなかったが、中学高校と継続して7時間未満群の変化率が低値であっ

た(一元配置分散分析 p<0.05)。この傾向は初経年齢、体重変化率を共変量として調整した値(順に8.3%、7.5%、1.5% p=0.08)においてもみとめられた。骨代謝指標に差はみられなかった(表なし)。

考 察

骨粗鬆症の1次予防には成長期の最大骨量をできるだけ高くすることが重要であるといわれている[3]。そこで我々は成長期の骨密度増加に影響する要因を明らかにするため、中学2年生女子を対象に高校3年生まで追跡調査を実施し、骨密度および骨代謝指標の成長や第二性徴による変化、生活習慣との関連を調査した。骨密度の加齢変化についてMatsukuraらは、中高生の橈骨について断面調査の結果では、15-16歳頃(高校1年生)まで増加し、その後有意な差はみられなかったと報告している[4]。今回測定した対象者では骨密度は高校3年生まで増加していたが、高校3年生の

表4. 中学時と高校時の運動習慣有無別骨密度変化率, 骨代謝指標

		中学・高校運動あり (n=21)		中学のみ運動あり (n=8)		中学・高校運動なし (n=10)		一元配置 分散分析
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	
骨密度 (g/cm ²)	高1	0.406	0.040	0.415	0.028	0.378	0.029	
	高2	0.421	0.030	0.427	0.027	0.403	0.022	
	高3	0.438	0.046	0.422	0.028	0.415	0.024	
骨密度変化率	高1-3	8.0 ^a	6.08	1.7 ^{ab}	4.13	10.2 ^b	5.53	p<0.01
PYD# (nmol/mmolCr)	高1	40.1	1.34	38.4	1.32	49.3	1.11	
	高2	32.5	1.27	35.3	1.16	37.1	1.22	
	高3	29.7	1.25	24.6	1.21	27.7	1.31	
DPD# (nmol/mmolCr)	高1	7.9	1.37	7.3	1.36	8.6	1.17	
	高2	6.4	1.33	7.2	1.27	6.6	1.30	
	高3	6.3	1.32	4.9	1.21	5.5	1.44	
Hyp# (mg/gCr)	高1	49.7	1.27	48.4	1.33	59.0	1.31	
	高2	40.9	1.28	47.0	1.45	42.1	1.20	
	高3	44.3	1.34	39.7	1.33	43.8	1.41	
BAP# (BLU)	高1	1.9	1.39	1.5	1.38	2.1	1.19	p<0.05
	高2	1.6	1.27	1.3 ^a	1.20	1.7 ^a	1.21	
	高3	1.3	1.23	1.1	1.37	1.4	1.27	

n 人数、SD 標準偏差 # 幾何平均値、幾何標準偏差
群間の比較 a p<0.05, b p<0.01

表5. 中学時と高校時の牛乳摂取量別骨密度, 骨代謝指標

		中学・高校2本以上 (n=4)		中学のみ2本以上 (n=6)		中学・高校2本未満 (n=29)		一元配置 分散分析
		平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	
骨密度 (g/cm ²)	高1	0.406	0.047	0.370	0.028	0.406	0.036	
	高2	0.427	0.035	0.401	0.020	0.420	0.029	
	高3	0.450	0.059	0.413	0.039	0.429	0.036	
骨密度変化率	高1-3	10.8	7.49	11.6	8.03	5.9	5.23	
PYD# (nmol/mmolCr)	高1	44.6	1.36	48.2	1.29	40.4	1.30	
	高2	38.3	1.17	36.4	1.32	33.3	1.24	
	高3	37.2 ^a	1.13	30.8	1.29	26.5 ^a	1.24	
DPD# (nmol/mmolCr)	高1	7.9	1.40	9.6	1.29	7.7	1.31	
	高2	6.9	1.17	7.3	1.23	6.4	1.34	
	高3	7.0	1.23	7.0	1.41	5.4	1.31	
Hyp# (mg/gCr)	高1	51.5	1.32	52.8	1.24	51.4	1.32	
	高2	41.4	1.19	40.7	1.28	42.9	1.32	
	高3	47.7	1.30	46.8	1.47	41.9	1.34	
BAP# (BLU)	高1	1.9	1.40	2.4	1.27	1.8	1.36	
	高2	1.7	1.24	1.6	1.43	1.5	1.23	
	高3	1.4	1.24	1.4	1.35	1.3	1.27	

n 人数、SD 標準偏差 # 幾何平均値、幾何標準偏差
群間の比較 a p<0.05

平均値 (0.429g/cm³) は20~50 歳代の有経女性の平均値として報告されている値 (0.476g/cm³[5]) より低値を示した。この対象者の骨密度がこの後あまり増加しないならば、現代の若年者では中高年齢者に比べて最大骨量が低下している可能性がある。しかし、一方で骨代謝指標はいずれの指標も、20~50歳代の有経女性の値[1]より高い値を示しており、骨代謝は成人に比べまだ亢進していると考えられる。また、これまでの調査では女子大生(20歳頃)においても骨代謝指標は成人値より高値であることが観察されており[6]、対象者の骨密度は今後更に増加するものと考えられる。

第二次性徴と骨代謝との関連については、初経年齢が早いもので骨密度は高く、骨代謝指標は低値であり、初経年齢と関連があることをこれまで報告した[1]。今回、中学2年生時から高校3年生時までの骨密度、骨代謝指標と初経年齢との関連を検討したところ、学年が上がるに従って初経年齢の影響は徐々に小さくなることが明らかとなり、初経発来年齢が正常であれば初経年齢はこの後到達するであろう最大骨量に影響しないと思われる。

ライフスタイルと骨密度との関連についてはこれまでに、運動習慣があるものや牛乳摂取量が多いもので骨密度が高いことを報告した[1, 2]。今回の対象者について追跡期間中の生活習慣を中学時と高校時で比べると、高校時は運動習慣、牛乳摂取量、睡眠時間が減少しており、骨代謝にも影響を及ぼす可能性があると考えられた。そこで、これらの習慣が高校で減少した群についてその後の骨密度変化や骨代謝指標を減少しなかった群と比較した。その結果、骨密度変化率に差が認められたのは運動習慣の変化で、高校で運動を止めたものは骨形成指標の BAP および骨密度増加率が低い傾向を示した。尾上らは、19-25歳の女性について、骨形成指標の BAP は身体活動量と正の相関を示したと報告し、骨形成は初経後期間とともに鎮静するが、運動の実施によりその鎮静化を抑え、骨量増加につながる可能性があるとして述べている [7]。今回の調査結果では、運動を止めることで骨形成が低下しており、その結果、骨密度の増加が抑えられたものと考えられる。しかし、一方で、中学・高校とも運動習慣がなかったものの骨密度増加率は高校で運動を止めたものより高かった。そこで、運動を止めた群と、運動習慣がなかった群のその他の生活習慣を比較すると、運動を止めた群は高校での牛乳摂取量が平均0.4本で運動習慣がなかった群(平均0.6本)よりも少なかった。また、多様な食品を食べると答えたのはわずか8人中1人(12.5%)で、運動習慣がなかった群(10人中6人、60%)より少なく、このような食習慣の悪さと運動習

慣がないことの両方が影響して骨密度増加率の低下をもたらした可能性がある。また、他に変化のあった生活習慣として牛乳摂取や睡眠時間についても検討したところ、中学・高校時ともに牛乳摂取量や睡眠時間が少なかったもので骨密度の増加が少ない傾向を示した。そこで、これら骨密度増加率の低下に影響していた生活習慣について互いの関連をみたところ、"高校で運動を止めた"、"睡眠時間7時間未満"のものはそのほとんどが"牛乳摂取量2本未満"であり、中学、高校時に牛乳摂取量が少ないことが他の2つの習慣でみられた骨密度増加率の低値に影響した可能性が示唆された。しかし、牛乳摂取量2本未満のものについて中学・高校時の運動習慣有無で骨密度変化率を比較すると、やはり高校で運動を止めたものが最も低い骨密度増加率を示し、運動を中断することも骨密度の増加を抑える要因になると考えられた。

今回実施した追跡調査では、成長期において牛乳摂取量が少ないことや運動を中断することは、骨量獲得期における骨量増加を抑制するように働くことが示された。このことから、女性の最大骨量を高めるためには、成長期に牛乳摂取や運動の習慣を形成するとともに、その後もこれらの習慣を維持するような対策が重要であると考えられる。

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

1. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 山上孝司(2002). 富山衛研年報, 25, 155-161.
2. 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(2004). 富山衛研年報, 27, 174-176.
3. 清野佳紀 (1997). Osteoporosis Japan, 5, 785-786.
4. T.Matsukura, S.Kagamimori, T.Yamagami, H.Nisnino, M.Iki, E.Kajita, Y.Kagawa, H.Yoneshima, T.Matsuzaki, F.Marumo(2000). Osteoporosis International, 11, 858-865.
5. 折茂 肇, 杉岡洋一, 福永仁夫, 武藤芳照, 佛淵孝夫, 五來逸雄, 中村哲郎, 串田一博, 田中弘之, 猪飼哲夫 (1996). Osteoporosis Japan, 4, 643-653.
6. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 萩原千佳子, 飯田恭子, 高井なおみ, 加藤一之, 守

田万寿夫, 福島啓子, 木屋 昭, 松倉知晴 (2001).
富山衛研年報, 24, 147-155.

7. 尾上佳子, 黒田龍彦, 宮原優子, 吉形玲美, 原田
亜紀子, 岡野浩哉, 佐々木敏, 太田博明 (2005).
Osteoporosis Japan, 13, 597-599.

肥満男性のウォーキングによる体重減少

—歩数、速歩時間との関連—

田中朋子 堀井裕子 長瀬博文 荒谷哲雄
大下喜子¹ 山上孝司²

The Relationship between Weight Loss and Number of Walking Steps or Minutes of Brisk Walking in Obese Men

Tomoko TANAKA Yuko HORII Hirofumi NAGASE Tetsuo ARATANI
Yoshiko OHSHTA¹ and Takashi YAMAGAMI²

要旨 BMIが25以上の肥満男性について長期間記録型万歩計を用い、4ヶ月間のウォーキングプログラムを実施したところ、運動習慣のない肥満者では速歩時間の増加が体重減少に寄与する可能性が示された。

生活習慣病のリスクが高い肥満男性の減量に種々の運動プログラムが提供されている。中でも手軽に始めることができること、安全性が高いことからウォーキングが推奨されている[1]。しかし、実際にプログラム参加者の運動の量や質と体重の減少との関係を詳細に解析した報告は少ない。

そこで、BMI25以上の肥満者を対象に、長期間記録型万歩計（ライフコーダ）を用いてウォーキングの歩数と速歩時間の影響を検討した。

対象と方法

研究の趣旨に同意の得られた42歳～58歳のBMI25以上の肥満男性（平均48.5歳，平均BMI28.3）36名を対象に4ヶ月間（平成16年11月～平成17年3月）ライフコーダを用いたウォーキングプログラムを実施した。ライフコーダの記録から、調査開始前7日間の歩数の平均値を“開始前歩数”，同じく速歩時間の平均値を“開始前速歩時間”とし，調査期間内の“平均歩数”，“平均速歩時間”と比較した。身体状況は開始時に身長，体重を測定し，さらに終了時に体重を測定した。アンケートにより病歴，運動歴等を調べた。食習慣については開始時と終了時に飲酒，間食の有無を調査した。厚生省健康指針策定委員会による簡易食物摂取状況調査表[2]により，総エネルギー換算値を求め，増減を検討した。

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

全対象者36名についてみると，体重は開始時が81.8±9.8kg，終了時が82.3±10.0kgであり，開始時と終了時に有意な変化は認められなかった（表1）。BMIについても開始時と終了時はそれぞれ28.3±3.0，28.5±3.1であり有意な変化は認められなかった。体重の増減は-11.1kg～+4.5kgまで個人差があった。

表1 全対象者の身体状況

	開始時		4ヶ月後	
	平均値	S.D.	平均値	S.D.
年齢（歳）	48.5	4.91	—	—
身長（cm）	169.9	5.66	—	—
体重（kg）	81.8	9.8	82.3	10.0
BMI	28.3	2.98	28.5	3.06

“平均歩数”は“開始前歩数”と有意な差はなかったが，“平均速歩時間”は“開始前速歩時間”に比し約5分増加していた（ $P < 0.05$ ，表2）。体重差（終了時体重－開始時体重）と“平均歩数”とは負の傾向を示し（ $r = -0.302$ ， $p < 0.1$ ），“平均速歩時間”とは有意な負の相関が認められた（ $r = -0.434$ ， $p < 0.01$ ）。さらに歩数差（“平均歩数”－“開始前歩数”），速歩時間差（“平均速歩時間”－“開始前速歩時間”）をそれぞれ求め，体重差との

1. 熊本県立大学 2. 北陸予防医学協会

表2 運動習慣の有無と運動状況

	全対象者 (n=36)		習慣あり(n=10)		習慣なし(n=26)		2群間の比較
	平均値	S.D.	平均値	S.D.	平均値	S.D.	
開始前歩数	8766	3310	11537	4086	7700	2252	*
開始前速歩(分)	31.1a	19.5	49.8	24	23.9	11.4	***
平均歩数	8991	3083	12173	2787	7768	2215	***
平均速歩時間(分)	36.0a	20.4	57.7	18.7	27.6	13.7	***

a: p<0.05(paired t-test)

表3 運動習慣の有無別身体状況

		運動習慣あり(n=10)		運動習慣なし(n=26)	
		平均値	S.D.	平均値	S.D.
開始時	体重(kg)	78.9	5.7	83.0a	10.9
	BMI	27.5	1.56	28.7b	3.34
4ヵ月後	体重(kg)	78.6	5.4	83.8a	11.0
	BMI	27.4	1.63	28.9b	3.38

a,b: p<0.05(paired t-test)

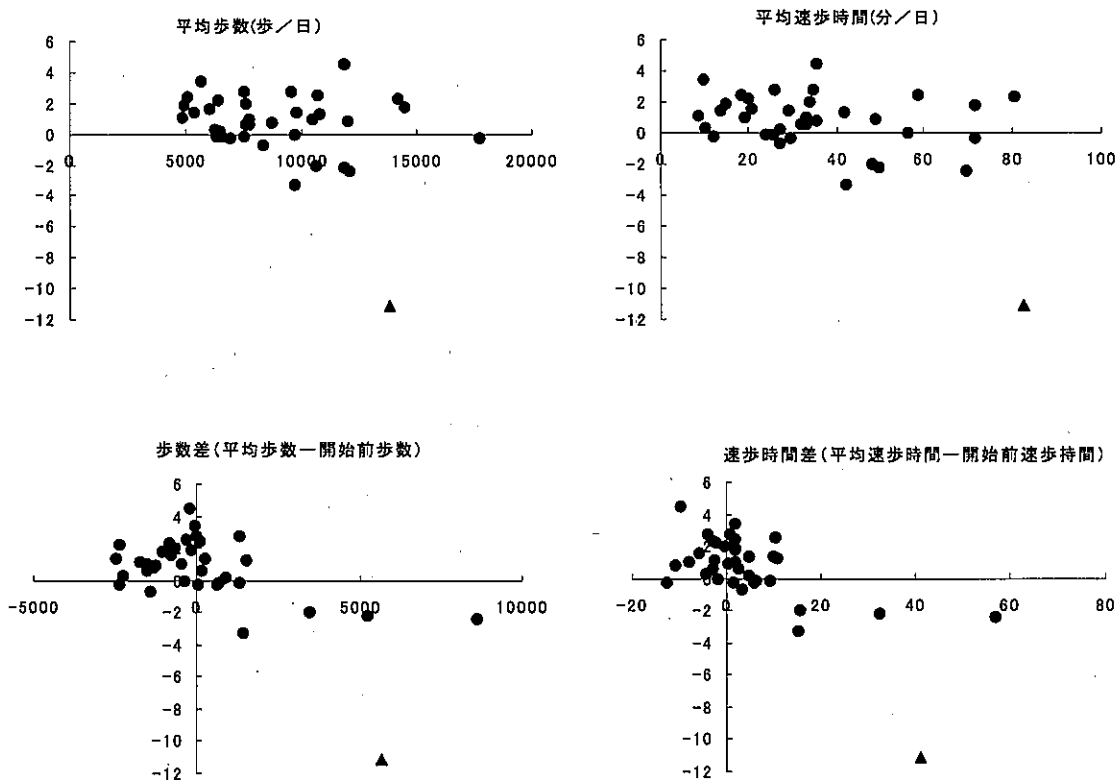


図1 歩数・速歩時間と体重変化

関連をみるとそれぞれ、 $r=-0.600(p<0.001)$, $r=-0.674(p<0.001)$ で負の相関が認められた(図1)。これらの関連について、特に大きく体重減少を認めた1例(-11.1kg)を除いた相関係数についても図中に示した。平均歩数、平均速歩時間との関連は消失したが、歩数差、速歩時間差との関連は1例を除いても認められた。

開始時のアンケートにより日頃の運動状況をみると、運動を毎日実施しているとした10名(運動習慣あり)はそれ以外の26名(運動習慣なし)に比べ歩数、速歩時間ともに開始前から有意に高く、期間内も高値を示した(表2)。

次に、体重変化を開始前の運動習慣の有無でみると、

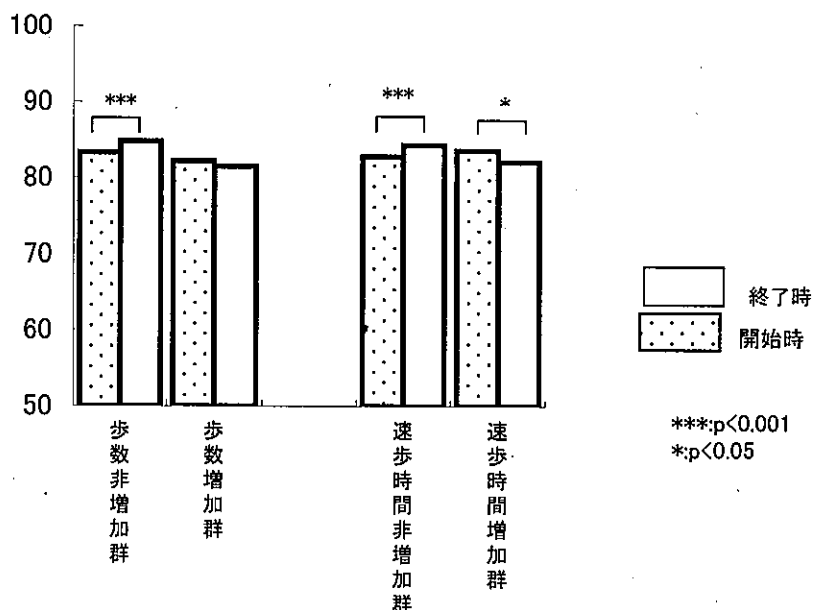


図2 運動習慣なしの期間中の歩行状態と体重変化

運動習慣ありでは期間内の変化は認められなかったが、運動習慣なしでは4ヶ月後に有意な体重増加が認められた ($p < 0.05$, 表3)。なお、先の11.1kg減少者は運動習慣ありに含まれ、それを除いても、歩数、速歩時間は運動習慣なしより高く、体重変化も認められなかった。

食習慣について、間食、飲酒習慣の変化と体重変化の間には関連は認められなかった。さらに、簡易食物摂取状況調査表により換算した総エネルギー量についてもその変化量と体重変化との間に関連は認められなかった。

考 察

全対象者では開始前に比し有意に速歩時間が増加したにもかかわらず、体重減少がみられなかった。中でも、運動習慣のない者では有意な体重増加が認められた。これらのことは、肥満者の体重減少がいかに困難であるかを示したものと考えられる。逆に、歩数や速歩時間の変化と、体重変化には関連が認められたことから、運動量の少ない者で体重が増加しただけではないかとも考えられた。

そこで、開始時に運動習慣のない26名(全体としては体重が増加)についてプログラム前後における1日

平均歩数と平均速歩時間の変化に着目し、体重変化との関連性を検討した。1日平均歩数の増加が230歩(増加歩数の平均値)以上増えた群とそれ未満の群で比較したところ、歩数増加群($n=8$)では体重減少は認めなかったが、歩数非増加群($n=18$)では、体重が増加していた ($p < 0.001$, 図2)。一方、1日平均速歩時間が5分(増加速歩時間の平均値)以上増えた群とそれ未満の群に分けて比較したところ、速歩時間増加群($n=6$)は体重減少を認め ($p < 0.05$)、速歩時間非増加群($n=20$)は体重が増加していた ($p < 0.001$)。

これらのことから、運動習慣のない肥満者の体重減少には、ある一定以上の速歩時間の増加が寄与すると思われる。

本研究は、文部科学省科学研究補助金基盤研究(C)16500469の一部補助を受けた。

文 献

1. 日本医師会(2005). 運動療法処方せんマニュアル, 日本医事新報社
2. 日本医師会(2002). 食事指導のABC, 日本医事新報社

市販のお茶飲料および中国茶葉浸出液中のフッ素濃度

新村哲夫 長瀬博文¹ 荒谷哲雄 鏡森定信²

Fluoride Levels in Various Tea-Based Beverages of Japan and in Chinese Tea Infusions

Tetsuo SHIMMURA, Hirofumi NAGASE¹, Tetsuo ARATANI
and Sadanobu KAGAMIMORI²

要旨 先に中国内モンゴル自治区の飲料水およびタン茶浸出液のフッ素濃度が高い草原地域において、骨吸収の亢進がみられることを報告した。日本では、お茶飲料が数多く市販されており、またインターネットによって中国の茶葉を容易に購入することができることから、これらのフッ素濃度調査を行った。

富山県内で市販されていた75検体のお茶飲料のフッ素濃度は、烏龍茶（16検体）が最も高く、平均1.13 mg/l（範囲0.76~1.62 mg/l）、続いて緑茶（30検体）0.92 mg/l（0.50~1.78 mg/l）、紅茶（7件）0.70 mg/l（0.44~0.91 mg/l）であった。茶葉の使われていない麦茶やそば茶からはフッ素は検出されず、茶葉が使われたブレンド茶からはフッ素が検出された（0.23~2.04 mg/l）。

インターネットを使って集めた中国茶葉28検体の浸出液中のフッ素濃度は、烏龍茶（6検体）の平均1.09 mg/l（範囲0.79~1.58 mg/l）、紅茶（6検体）の0.90 mg/l（0.54~1.53 mg/l）が高く、緑茶（4検体）は0.81 mg/l（0.48~1.00 mg/l）であった。タン茶と同じ種類とされている黒茶（プーアル茶を含む、9検体）では1検体のみ高かった（平均0.84 mg/l、範囲0.39~2.25 mg/l）。

今回測定したお茶飲料や中国茶葉浸出液には、WHOの曝露閾値（大人で1日4mg）を超えるようなものはなかったが、飲料水の基準である0.8 mg/lを超えるものはお茶飲料では7割、中国茶葉浸出液では5割にのぼり、お茶飲料からのフッ素摂取量が大いことが示唆された。これまで検討されてこなかったフッ素の骨吸収への影響に関する疫学的調査研究を行い、フッ素の摂取基準およびお茶飲料の基準設定が必要であると考えられた。

先に中国内モンゴル自治区の飲料水中フッ素濃度が高い草原地域において、骨吸収の亢進がみられることを報告した[1,2]。さらに、同地域で常飲されているタン茶浸出液のフッ素濃度は高く、お茶飲料によるフッ素摂取量を考慮する必要を報告した[2,3]。日本では、清涼飲料水としてお茶飲料が数多く市販されており、またインターネットによって中国の茶葉を容易に購入することができる。そこで、日本のお茶飲料および中国茶浸出液中のフッ素濃度について調査を行った。

材料および方法

調査対象としたお茶飲料は、平成17年8月から10月にかけて、富山県内で市販されていたペットボトル入り、缶入りおよび紙パック入りのお茶飲料（清涼飲料水）である。製造者や種類が異なる75検体を収集した。種類別に表1に掲げた。

中国茶葉は、インターネットを通じて入手できたものである。種類や輸入代行業者が異なる28検体を収集した。種類別に表2に示した。茶葉に添付されている説明書の方法に従って、中国茶葉から浸出液を作製した。緑茶は、茶葉4gに70℃の蒸留水120mlを加えて1分間浸出した。青茶（烏龍茶）は、茶葉4gに100℃の蒸留水120mlを加えて1分間浸出した。白茶、黄茶、紅茶および黒茶は添付方法の通り浸出した。浸出後直ちに、ろ紙（ADVANTEC 5A）を用いて浸出液から茶葉等残存物を取り除いた。

フッ素の測定には、イオンメーターオリオン社製920A+型を使用した。市販のお茶飲料についてはそのまま測定試料とした。中国茶葉については浸出液を測定試料とした。イオン強度調整剤TISAB III（Thermo社製）を5倍に希釈し、試料に等量加えて測定した。精度管理にはNIST 2671aのFluoride in Freeze-Dried Urineを用いた。

1. 兼高岡厚生センター射水支所 2. 富山大学大学院医学薬学研究部

表1 収集したお茶飲料の販売者名および品名

1. 緑茶 30検体
アサヒ（若武者）伊藤園（おーいお茶、おーいお茶京都宇治茶、おーいお茶京都宇治冷茶、おーいお茶濃い味、おーいお茶極匠、口切り一番茶、緑茶カテキン）花王（ヘルシア緑茶）カルピス（グルコサミン緑茶、冴え緑茶）キリン（茶来、生茶、生茶八女玉露入り）ゴールドパック（緑茶安曇野天然水仕立て）コカコーラ（はじめー）サッポロ（テアニン緑茶）白川園（白川茶）JT（茶話茶）ガイドー（葉の茶）富永食品（神戸居留地緑茶）ニットー（お茶）ネスレ（かぶせ茶）創健社（緑茶）パロー（緑茶）日田天領水（日田天領水のお茶）フジフード（お茶京都利休園）共同乳業（農協緑茶）森永乳業（緑茶やすらぎ茶房）
2. ほうじ茶 2検体
ハイピース（越前茶）山本山（ほうじ茶）
3. 烏龍茶 16検体
伊藤園（ウーロン茶）エルビー（黄金桂入り烏龍茶）花王（ヘルシア烏龍茶）キリン（烏龍茶極鳥）ゴールドパック（烏龍茶安曇野天然水仕立て）コカコーラ（煌烏龍茶）サッポロ（武夷山烏龍茶）サンガリア（烏龍茶、烏龍茶一休茶屋）サントリー（烏龍茶、やわらか烏龍茶）富永食品（神戸居留地烏龍茶）ニットー（烏龍茶）ハイピース（減肥烏龍茶）パロー（烏龍茶）フジフード（烏龍茶）
4. 紅茶 7検体
伊藤園（アップルティー、レモンティー）キリン（午後の紅茶）小岩井（午後の紅茶、午後の紅茶ミルクティ、午後の紅茶レモンティ）サントリー（リプトンリモーネ）
5. ブレンド茶 11検体
アサヒ（十六茶）伊藤園（ゆず緑茶）カルピス（黒豆黒茶、健茶王、ダイエットカルニチン茶）コカコーラ（Love Body Beauty Queen、爽健美茶、爽健美茶緑茶ブレンド、七色亜茶）大正製薬（グルコケア）中北薬品（活命茶）
6. 麦茶 5検体
伊藤園（むぎ茶）カゴメ（六条麦茶、六条麦茶香ばし焙煎）共同乳業（メイトー麦茶）サッポロ（爽麦茶）
7. その他 4検体
伊藤園（さらさらそば茶）日本薬剤（ルイボイス茶）フジッコ（黒豆茶）ヤクルト（蕃爽麗（グアバ）茶）

表2 収集した中国茶葉の品名および生産地

1. 緑茶
明前黄色毛峰・雀舌（安徽省）六安瓜片（安徽省）明前太湖碧螺春（江蘇省）明前西湖龍井（浙江省）
2. 白茶
白牡丹（福建省）
3. 黄茶
君山銀針（湖南省）霍山黄芽（安徽省）
4. 青茶（烏龍茶）
黄金桂（福建省）安溪鉄観音（福建省）武夷岩茶大紅包（福建省）岩茶肉桂（福建省）岩茶水仙（福建省）凍頂烏龍茶（台湾）
5. 紅茶
祁門紅茶（安徽省）九曲紅梅（浙江省）雲南紅茶（雲南省）英徳紅茶（広東省）正山小種（福建省）デン紅沱茶（雲南省）
6. 黒茶
熟茶（雲南省）緑印小沱茶（雲南省）竹筒茶（雲南省）沱茶（雲南省）宮廷プーアール茶（雲南省）不知年プーアール（雲南省）陳年プーアール（雲南省）特急プーアール（雲南省）千両茶（湖南省）

表3 烏龍茶による添加回収実験結果

Sample	n	Before addition(mg/l)	Added(mg/l)	Total recovered(mg/l)	Recovery(%)
	5	0.74±0.01	0.20	0.89±0.01	95
Woolon tea	5	0.74±0.01	2.0	2.52±0.07	92
	5	0.74±0.01	20	20.7±0.1	100

表4 尿標準検体による精度管理結果

Sample	n	Mean±SD (mg/l)	CV (%)	Certified Conc. (mg/l)
NIST SRM2671a Low	8	0.55±0.03	5.9	0.55±0.03
NIST SRM2671a Elevated	8	5.6±0.1	1.5	5.7±0.3

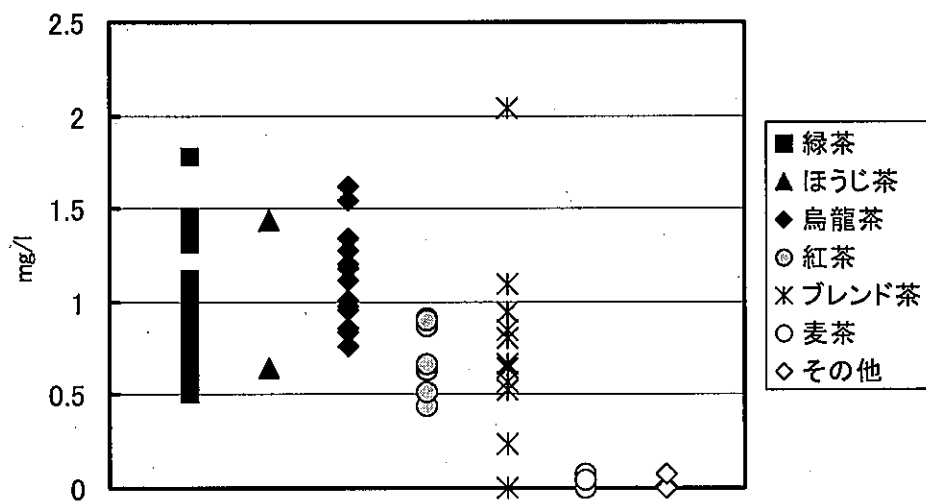


図1 お茶飲料中のフッ素濃度測定結果

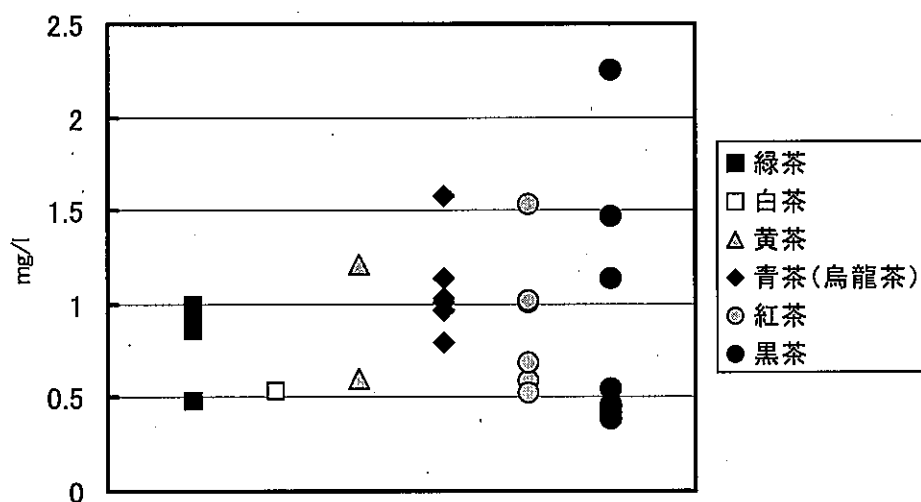


図2 中国茶葉浸出液中のフッ素濃度測定結果

結果

今回の調査に用いたイオンメーターによるフッ素の測定について、烏龍茶を用いた添加回収実験の結果を表3に示した。添加量0.2~20 mg/l に対して、92~100%の回収率が得られた。お茶浸出液の標準検体がないため、尿標準検体を用いて精度管理を行った。その結果を表4に示した。良好な結果が得られた。

お茶飲料中フッ素濃度の測定結果を種類別に図1に示した。お茶飲料で最も高濃度を示したのは、烏龍茶であった。16検体の平均は、1.13mg/l であり、最小値は0.76 mg/l、最大値は1.62mg/l であった。つづいて、緑茶が高く、30検体の平均は0.92 mg/l、最小値0.50mg/l、最大値1.78mg/l であった。ほうじ茶については、測定検体が少ないが (n=2)、平均1.02 mg/l であった。紅茶の7検体の平均は0.70 mg/l、最小値0.44mg/l、最大値0.91mg/l であった。原材料として茶葉および茶葉以外のものを複数以上使用しているお茶飲料をブレンド茶とした。茶葉の使われていない1検体からはフッ素は検出されなかった。それを除いた10検体の平均は0.84 mg/l、最小値0.24mg/l、最大値2.04mg/l であった。また、その他に分類した麦茶 (5検体)、ルイボイス茶、グアバ茶、黒豆茶、そば茶からはフッ素は検出されないか、0.1mg/l 未満であった。

中国茶葉の浸出液中フッ素濃度の測定結果を図2に示した。中国茶葉の浸出液では、烏龍茶 (6検体) の平均1.09mg/l (範囲0.79~1.58 mg/l)、紅茶 (6検体) の0.90mg/l (0.54~1.53 mg/l) が高く、緑茶 (4検体) は0.81 mg/l (0.48~1.00 mg/l) であった。白茶 (1検体) は0.54 mg/l、黄茶 (2検体) は0.60~1.21 mg/l であった。タン茶と同じ種類とされている黒茶 (プーアール茶を含む、9検体) では1検体のみ高かった (平均0.84 mg/l、範囲0.39~2.25 mg/l)。

考察

先に中国内モンゴル自治区の草原地域で常飲されているタン茶の浸出液のフッ素濃度が高いことを報告した[3]。お茶飲料にフッ素が含まれていることは専門家の間では知られたことである[4]。現在の日本では、お茶飲料は個人が家庭や職場で茶葉から入れるだけでなく、ペットボトルや缶入り清涼飲料水として多種多様なものが大量に販売されている。おりからの健康ブームから市販清涼飲料水の主流となっている。しかしながら、これまでに市販のお茶飲料 (清涼飲料水) のフッ素を測定した報告はなかった。そこで、これらのお茶

飲料からのフッ素曝露量を把握するため調査を行った。今日インターネットにより輸入代行業者を通して簡単に中国茶葉を手に入れることができる。そのため、タン茶のように高濃度にフッ素を含む茶葉を入手して喫飲する可能性が考えられる。そこで、中国茶葉をインターネットで入手して実際に浸出液の作製を行い、フッ素濃度を測定した。

今回調査を行ったお茶飲料では、茶葉を使用していない麦茶やそば茶、ブレンド茶などからは、フッ素は検出されないことが確認された。茶葉を原材料として使用されている65検体のフッ素濃度は、平均0.94mg/l であり、中国内モンゴルのタン茶浸出液でみられた高濃度のものはみられなかったが、我国の飲料水の基準である0.8mg/l を超えるものは70%あり、ミネラルウォーターの基準である2.0 mg/l を超えるものも1例みられた。

種類別にみると、烏龍茶が緑茶に比べて有意に高値を示した ($p<0.05$)。ブレンド茶では、茶葉の使用量が多いもの、濃い味のもの、茶成分を強化したものが、フッ素濃度が高い傾向を示した。

中国茶葉の浸出液については、茶葉を浸出する際の茶葉の量およびお湯の量、温度によってフッ素濃度が異なることから、方法の項に記した茶葉に添付してあった説明書に従って浸出する方法と、全ての茶葉1gに100℃、100mlの蒸留水を加え1分間浸出する方法で茶葉による違いを検討した。この方法でのフッ素濃度の平均は、0.37mg/l (範囲0.20~1.09 mg/l) であり、説明書の方法で高いものは、この方法でも高かった。茶葉を多くした場合、湯量を少なくした場合、湯温を高くした場合にフッ素濃度は高かった。また、中国茶葉については、何度も浸出する (煎ずる) ことができるとされていることから、2回目の浸出液 (二煎目) のフッ素濃度を測定した。説明書の方法による二煎目のフッ素濃度は、一煎目に比較して平均して14%減少することがわかった。種類別に見ると、緑茶 (白茶、黄茶) 類は30%減少するのに対し、青茶 (烏龍茶) が14%、紅茶が10%、黒茶 (プーアール茶含む) は5%しか減少しないことがわかった。

今回測定した中国茶葉浸出液では、タン茶のように高レベルのフッ素を検出したものは1検体のみであったが、飲料水の基準である0.8 mg/l を越えるものは5割以上にのぼった。また、タン茶のように高くはなくとも、お茶飲料と同様に、青茶 (烏龍茶) 類は緑茶類に比べて高い傾向がみられた。国内の紅茶飲料では、フッ素濃度の高いものはなかったが、中国紅茶の浸出液では、青茶 (烏龍茶) のように高いものがみられた。タン茶と同じ種類とされている黒茶のなかでは、測定

したプーアール茶に高いものはみられなかった。タン茶のように発酵させて固めた茶葉製品に高い傾向がみられ、2mg/lを超えるものが1検体（上述）みられた。このように例数は少ないとはいえ、国内においても、浸出液のフッ素濃度が高い茶葉を入手して喫飲する可能性が示唆された。

なぜ、お茶飲料や茶葉浸出液中のフッ素濃度が高いのであろうか。それは、茶（草木としての）が属する樺科（樺、サザンカなど）の植物はフッ素含有量が多いためと考えられる[5]。植物のフッ素含有量は、土壌・肥料・気候・品種・時期などによって変わるが、茶の葉に多い、しかも若葉より古葉に多いことは事実のようである[5]。茶の樹皮、小枝、幹にはフッ素は少なく、葉にもっとも濃縮されるようである[5]。

中国茶葉は、製法によって大きく6種類に分けられている。摘んだ茶葉を直ちに過熱して発酵を止める緑茶。摘んだ茶葉を揉まずにその場で乾燥させる白茶（軽発酵・弱発酵・微発酵）。黄茶（後発酵・堆積発酵）。半発酵の総称である青茶（烏龍茶が属す）。完全発酵茶である紅茶。後発酵茶の総称でプーアール茶やタン茶が属す黒茶である。

タン茶などが高濃度のフッ素を含有する理由として、生産地である湖南省や湖北省の土壤中のフッ素濃度の影響や、発酵させた茶葉をレンガのように固めるために使用する石炭中のフッ素濃度が影響していることも考えられるが、製法上発酵に使用する茶葉が成熟した古葉であることが一番の問題ではないかと示唆される。中国の研究者によると、茶木の一番先端にある芽や葉を使った高級な茶葉製品のフッ素含有量は低い、茶木の下部の古葉を使った品質の悪い製品のフッ素含有量は高いことが報告されている[6]。

今回調査を行ったお茶飲料や中国茶葉浸出液のフッ素レベルを評価するには、日本におけるフッ素の摂取基準については定められていないので、WHOが提案している曝露閾値（4.0mg/day）を参考にすると[7]、成人が1日あたり1,500ml飲料するとしてフッ素濃度として2.5mg/lとなる。今回の調査でこれを超えるものはみられなかった。しかし、我国の飲料水の基準である0.8mg/lを超えるものはお茶飲料で70%、中国茶葉浸出液で50%以上あり、お茶飲料からのフッ素摂取量が大きいことが示唆された。

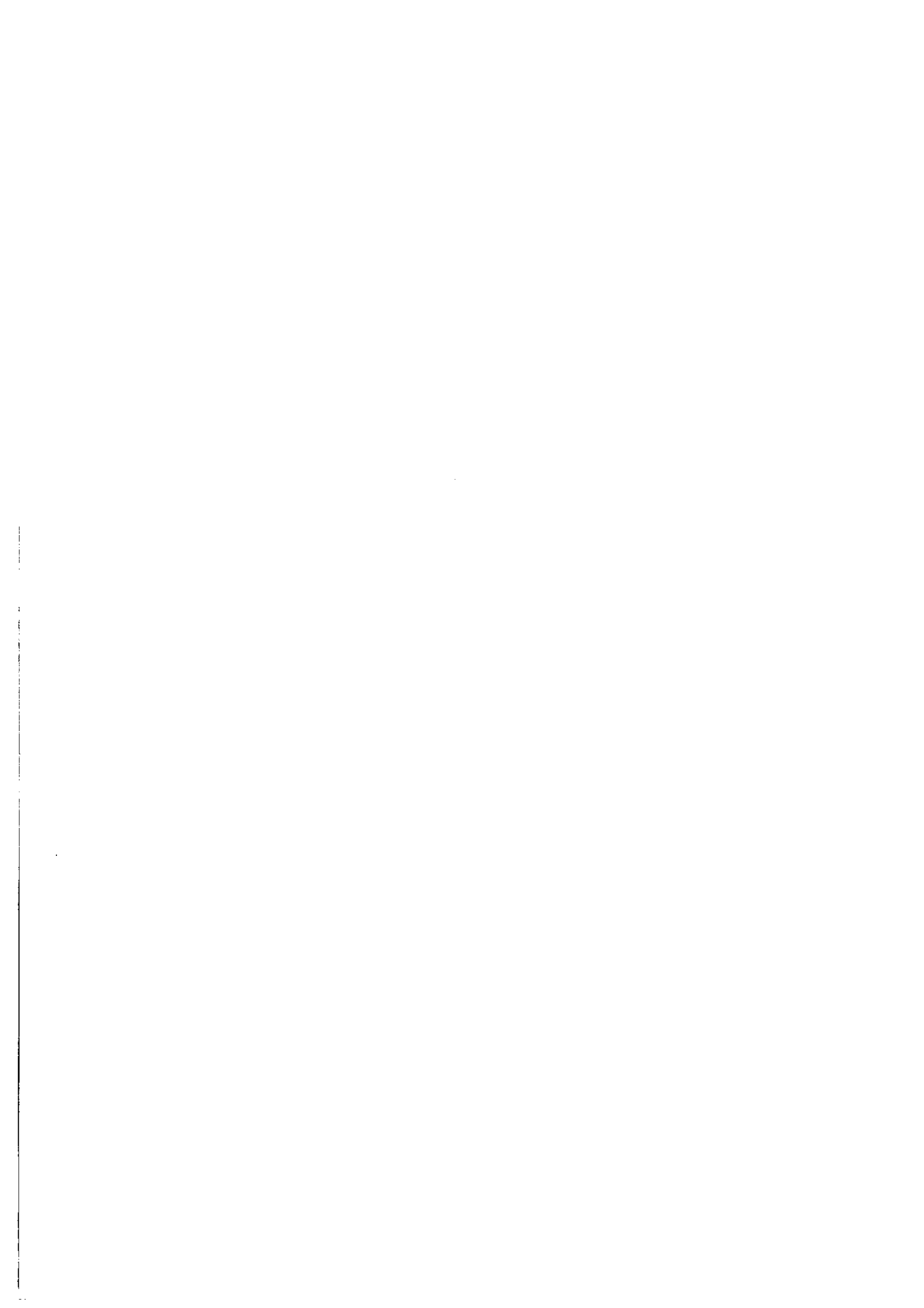
さきに報告したように、中国内モンゴル自治区の草原地域で飲料水およびタン茶によるフッ素曝露により骨吸収の亢進がみられた[1, 3]。この地域におけるフッ素曝露量はこれまで報告されてきた骨障害としての骨硬化症を生じる量よりも少ないものであり、フッ素の摂取基準を定めるにあたって留意すべきことを述べた[3]。タン茶は内モンゴルの草原地帯だけでなく、新疆ウイグル自治区など中国の草原地帯で広く飲用されている[3]。また、お茶は紅茶として全世界で飲まれており、他地域で生産されたお茶飲料からも高いフッ素濃度が検出されている[8]。そのことから、お茶の飲用によるフッ素の健康影響については、世界的規模での疫学的調査研究が行われるべきだと考える。その成果に基づき、フッ素の摂取基準が定められ、お茶飲料のフッ素基準が定められるべきであると考え。

文 献

1. 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 焱, 鏡森定信, 畢 力夫 (2000). 富山衛研年報, 23, 184-186.
2. 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 (2004). 富山衛研年報, 27, 142-148.
3. 新村哲夫, 張 焱, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 西野治身, 梶田悦子, 江藤真紀, 王 紅兵, 鏡森定信, 畢 力夫 (2003). 富山衛研年報, 26, 136-139.
4. 日本薬学会編, 衛生試験法注解1995追補版 (1995), 71-73, 588-589.
5. 松浦新之助, 国分信英著, フッ素の研究—自然界における分布とその役割— (1972), 東京大学出版会, 東京.
6. Cao, J., Zhao, Y., Li, Y., Deng, H.J., Yi, J. and Liu, J.W. (2006), Food and Chemical Toxicology 44, 1131-1137.
7. International Program on Chemical Safety: Environmental Health Criteria 36: Fluorine and Fluoride (1984). World Health Organization, Geneva.
8. 未発表データ

3. 資

料



富山県の新生児マス・スクリーニングで発見された TSH 低値クレチン症例

九曜雅子 米田 豊

Reports of Congenital Hypothyroidism Patients with low level of TSH detected by Neonatal Mass-screening in Toyama Prefecture

Masako KUYO and Yutaka YONEDA

クレチン症は、新生児マス・スクリーニングの対象疾患の中でも、最も発生頻度の高い疾患である。富山県においては1/2,700であり、全国レベルの1/3,600に比べると有意に高い発見率となっている[1]。

検査法は、1987～1989年頃を境にRIA から ELISA に移行し、現在は、全国のスクリーニング施設49ヶ所すべてが ELISA によるマススクリーニングを実施している。図1に示したように、ELISA での患者発見率は、RIA での発見率の2～3倍となっている。この要因としては、ELISA が感度、精度に優れた方法であるため、検査指標である TSH (Thyroid-stimulating Hormone) が低い値で発見される患者が多くなってきたことがあげられる。

そこで、本県で発見されたクレチン症患者のうち TSH 低値の症例について検討した。

さらに、未熟児は生後4～6日と、体重が2,500g に達した時点か1か月時のいずれか早い時期との2回検査が実施されている[2]が、このシステムが確立した1987年頃からは、生後4～6日時の初回検査では正常であっても、生後1か月頃の2回目検査で発見される患者

の存在が明らかになってきた。このような患者についてもあわせて検討した。

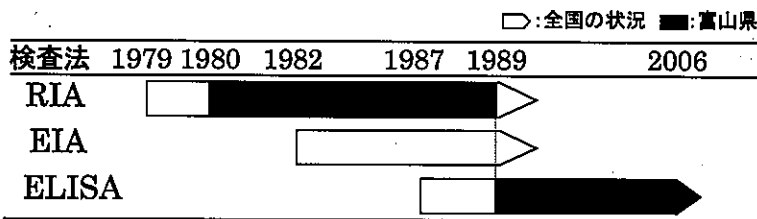
スクリーニング施設のカットオフ値

全国の施設のカットオフ値を表1に示した。TSH 7.5～12 μ U/ml の範囲で設定されていた。当所は8 μ U/ml で設定しており、全国的には低めのカットオフ値といえる。

TSH 低値クレチン症例

当所でのカットオフ値8 μ U/ml から、全国で最も高いカットオフ値である12 μ U/ml の範囲で、本県で発見された患者を調査した。

表2に、検査法別の患者数を示した。検査法が ELISA に替わってからは、患者総数の26.2%が TSH 低値で発見されている。当所では、カットオフ値は、一般新生児の TSH 値分布を作成したうえで、おおよそ上位1%値となるように設定したが、他のスクリーニング施設でも同様に設定されていると考えられる。施設間で新生児の TSH 値の分布に差がないとすれば、



検査法		RIA	ELISA	計
富山県	検査人数	115,435	181,500	296,935
	患者数	25	84	109
	発見率	1/ 4,600	1/ 2,200	1/ 2,700
全国	検査人数	12,868,523	19,458,241	32,326,764
	患者数	1,849	7,075	8,924
	発見率	1/ 7,000	1/ 2,800	1/ 3,600

図1 クレチン症マス・スクリーニングの検査法と発見率

表.1 全国のクレチン症マス・スクリーニング施設のカットオフ値
(H18.5 スクリーニング精度管理センター調査結果より)

TSH 値 (μ U/ml 全血表示値)	施設数
7.5	1
8	3
9	11
9.4*	2
10	31
12	1
計	49

*: 血清表示値で15 μ U/ml

表.2 初回検査 TSH8~12 μ U/ml で発見されたクレチン症例数

時 期	主な検査法	発見された患者総数	TSH8~12 μ U/ml の患者数 (率)
1980.4-1989.3 (9年間)	RIA	25	1 (4%)
1989.4-2006.3 (17年間)	ELISA	84	22 (26.2%)

表.3 カットオフ値付近で発見された症例

TSH: μ U/ml
FT₄: ng/dl

No.	性別	初回採血結果		再採血結果		精密検査結果			病型	備考
		日齢	TSH 値	日齢	TSH 値	日齢	TSH 値	FT ₄		
1	M	5	8.0/ 8.1	10	16.0/16.9	24	8.6	1.4		
2	F	5	8.2/ 9.3	18	18.6	27	59.7	0.4	ホルモン合成障害	
3	M	5	8.7/11.1	10	10.6/11.5	64	10.8	1.0		
4	F	5	8.9/ 9.4	13	12.8/13.5	250	22.9	1.0		
5	M	4	8.9/10.3	13	16.4/17.2	20	67.8	0.6		
6	M	6	9.0/ 9.8	11	20.8/22.3	30	45.4	0.7		
7	F	15	9.0/ 9.3	22	25.5/26.8	30	71.8	0.5	甲状腺腫性 異所性	
8	F	6	9.4/12.6	12	18.2	14	16.9			
9	M	5	9.6/10.9	12	12.5/13.0	18	35.9	0.9		
10	M	5	9.6/11.2	9	9.8/ 9.9	16	23.2	1.6		
11	F	10	9.8/10.1	17	17.0	24	27.0	1.2	ホルモン合成障害	
12	F	5	9.8/11.3	16	19.1/20.5	25	66.9	0.6		
13	M	5	9.9/10.0	13	17.7/17.9					
14	F	5	9.9/10.2	12	13.2	30	25.0	1.1		
15	M	5	10.0/10.2	10	10.4	27	96.4	0.5		
16	M	5	10.6/11.7	13	21.0/22.0	17	41.1	0.8		
17	F	5	10.9/11.3	15	25.4/28.2	35	59.1	1.0		
18	M	5	11.3/11.3	12	25.6/29.1	21	54.1	0.9		
19	M	5	11.6/13.4	13	83.1/84.0	31	333.0	0.4		
20	F	6	11.7/11.8	21	26.6/26.8	28	172.5	0.8		
21	F	6	11.9/12.8	33	11.9					出生時体重1,819g
22	M	5	12.1/14.9	22	48.4	45	180.0			

表.4 未熟児初回検査正常で発見されたクレチン症例数

時 期	主な検査法	発見された患者総数	初回検査正常の患者数 [率]
1980.4-1987.3 (7年間)	RIA	25	0 [0%]
1987.4-2006.3 (19年間)	ELISA	84	7 [8.3%]

表.5 未熟児2回採血により発見された症例

TSH : μ U/ml
FT₄ : ng/dl

No.	性別	初回採血結果		再採血結果		精密検査結果			出生時体重 (g)
		日齢	TSH 値	日齢	TSH 値	日齢	TSH 値	FT ₄	
1	F	6	0.92	31	32.7/34.9	35	74.0		1,518
2	M	6	1.4	30	59.5/57.6				1,364
3	M	10	3.6	37	22.4/20.6	47	51.2/45.9		2,151
4	M	10	3.6	37	7.3/ 8.3	47	17.5/16.5		2,166
5	M	5	1.0	39	43.6/39.2	49	22.4	0.8	668
6	M	5	1.0	35	29.5/35.3	42	75.8	0.6	2,312
7	F	4	3.8	40	18.8/20.8	53	75.3	0.5	1,548

カットオフ値を高く設定した場合、たとえば 12μ U/mlと設定した施設では、当所で発見されたこれらのTSH 低値クレチン症は見逃していた可能性が考えられた。

表3に各症例の検査結果を示した。初回検査でのTSH 値が低い患者から列記した。また、病型を把握している患者についてはそれも示した。概ね、約2週間後の再検査では、TSH 値の上昇が認められたが、No.15のように約1か月経って遅れてTSH 値が上昇した例やNo.3, 8, 21のように日数が経ってもTSH 値の上昇が認められない例、またNo.1のようにTSH 値が上昇したり低下したりする例もあり、クレチン症の多様な病態を表している。

未熟児2回検査により発見された症例

未熟児の2回検査のシステムが確立した前後での患者数を調査したところ、表4に示すように、システム確立後に、未熟児の初回検査正常であった患者が7人発見されており、このシステムの効果が認められた。

表5に各症例の結果を示した。No.3,4,6は、出生時体重が $2,001\text{g}$ 以上で成熟児と同様の扱いとなり、本来2回目の採血の必要はないが、主治医の判断で再採血された例である。

まとめ

初回検査でTSH が低い値で発見された症例を報告した。

このような症例を見逃しなく発見するには、カットオフ値を低く設定することが必要であるが、そうすると、False positive 例が増加し、マススクリーニング効率が低下するとともに、採血される新生児の負担および家族の不安を増長させる結果となってしまう。カットオフ値を設定する際には、十分検討し、慎重に値を決定する必要がある。

また、未熟児については、TSH 上昇が遅れて認められるケースがあるため、未熟児採血のガイドラインに沿って、2回検査のシステムの徹底が必要と考えられた。

文 献

1. 九曜雅子, 米田 豊 (2006). 富山衛研年報, 29, 23-33.
2. 厚生省児童家庭局母子衛生課長通知 (1987). 児母衛第11号.

富山県における平成17年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

岩井雅恵 長谷川澄代 堀元栄詞
小原真弓 滝澤剛則 永井美之

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2005

Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO,
Mayumi OBARA, Takenori TAKIZAWA, Yoshiyuki NAGAI

平成17年度に実施した感染症発生動向調査事業、感染症流行予測調査事業、行政依頼検査、一般依頼検査および調査研究におけるウイルスおよびリケッチア検出結果を報告する。検査の実施方法は、検体の種類や状態に応じて常法に従って行った。

平成17年4月から平成18年3月までに受け付けた被検者は388例、検体別では便245、咽頭拭い液126、鼻腔拭い液20、髄液8、血液11の計410であった。また、食中毒事例に関連した食材2件についても検査を行った。被検者388例中230例からウイルスあるいはリケッチアが検出された。

以上の成績を疾患別、患者別に表1に示し、若干の解説を加えた。

インフルエンザおよび呼吸器疾患：定点病院および当該厚生センター・保健所から依頼のあった136症例（咽頭拭い液116、鼻腔拭い液20）について、検査を行った。昨シーズン（平成16/17）終期の4月に7症例からAH3型インフルエンザウイルス、12症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。また、6月にも1症例からAH3型インフルエンザウイルスが検出された。

今シーズン（平成17/18）は、平成17年12月から平成18年3月の間に、34症例からAH1型インフルエンザウイルス、69症例からAH3型インフルエンザウイルス、2症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。さらに、集計には加えていないが、平成18年3月以降4月までA H1型インフルエンザウイルスが、また、4月から5月までB型インフルエンザウイルスが検出された。このように今シーズンは、AH1型、AH3型およびB型の3種類のウイルスが混合流行していた。流行は12月上旬から始まり、2月上旬をピークとして3月末に一旦終息したが、4月から6月にも発生した。休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が54施設

（届出累積患者数1292名）でとられ、流行の規模は昨シーズン（計50施設、届出累積患者数1397名）と同等であった。

感染性胃腸炎：集団発生および有症苦情13事例（糞便65）を含む77症例（糞便77）について、ウイルス検索を行った。このうちウイルスが検出された47症例のうち、43症例（91.5%）からノロウイルス（NV）Geno group (G) IIが検出された。

集団発生または有症苦情例は、4月に2事例、5月に2事例、9月に1事例、12月に2事例、1月に4事例、2月に1事例、3月に1事例発生した。上記の内4月の2事例、5月の1事例、12月の2事例、1月の4事例、2月の1事例、3月の1事例の計11事例は、NVG IIによる感染性胃腸炎と判断された。

定点医療機関からの散発例の検体（糞便12）は、平成17年4月に1事例、11月に4事例、12月に1事例、平成18年1月に2事例、2月に2事例、3月に2事例であった。11月の1名からはサポウイルスが、12月の1名、1月の2名、2月の1名からはNVG IIが、2月と3月のそれぞれ1名からはA群ロタウイルスが検出された。

食中毒：4月に3事例、7月、8月、10月、12月、1月および2月にそれぞれ1事例ずつ、計9事例の食中毒（糞便80）についてウイルス検索を行った。4月の3事例中1事例からNVG Iが検出され、4月の他の1事例（飲食店）、および10月、12月、1月、2月の事例からNVG IIが検出された。4月の飲食店の事例では、無症状の従業員からもNVG IIが検出され、患者のNVG IIと遺伝子型が一致した。カキに関連した事例（4月の残り1事例）では、NVG IおよびNVG IIが検出された。同事例では、同一患者から複数のウイルスが検出された。

食中毒に関連して、食材2件（カキ、焼き鳥）についてもウイルス検査を行ったが、ウイルスは検出され

表1. 平成17年4月～平成18年3月 疾患別、月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

検出病原体	平成17年												平成18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) 21		2							4	[42]	[51]	16	136		
AH1型インフルエンザ											8	[19]	7	34		
AH3型インフルエンザ	7		1							3	[34]	[27]	5	77		
B型インフルエンザ	12												2	14		
感染性胃腸炎*1	(被検者数) [12]*3	[7]				[11]			4	[8]	[20]	[9]	[6]	77		
ノロGII	[6]	[5]								[8]	[13]	[8]	[3]	43		
サボ								1						1		
A群ロタ												1	2	3		
食中毒	(被検者数) [31]*3			[7]*3	[1]		[5]			[1]	[5]	[29]		79		
ノロGI	[6]													6		
ノロGII	[16]*3						[1]			[1]		[16]		34		
ノロGI+ノロGII	[2]													2		
脳炎・脳症	(被検者数) 1		1	1	1									4		
無菌性髄膜炎	(被検者数)			1	1	1			2					5		
エコー30型				1										1		
コクサッキー A16型							1							1		
ツツガムシ病	(被検者数)								4	1				5		
ツツガムシ病リケッチア										3				3		
無症状 (ポリオ流行予測調査)	(被検者数)							8				73		81		
アデノ2型												1		1		
コクサッキー B3型							1							1		
エコー3型							1							1		
エコー25型												8		8		
その他*2	(被検者数)											1		1		
症例合計	(被検者数)	65	7	3	9	3	20	5	10	15	140	89	22	388		
病原体検出者数		49	5	1	1		3	1	4	12	64	71	19	230		
食材	(検体数)	2												2		

*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; 12月の1症例は急性弛緩性単麻痺。

*3: 無症状の施設関係者を含む。

[]: 集団発生事例を含む。

なかった。

脳症: 4月, 6月, 7月, 8月に計4症例(髄液4, 咽頭拭い液4, 便4, 血液1)の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。

無菌性髄膜炎: 7月, 8月, 9月, 11月に計5症例(咽頭拭い液5, 便2, 髄液4, 血液3)の検査を行った。このうち7月の症例からエコーウイルス30型が検出され, 手足口病を併発していた9月の症例からコクサッキーウイルス A16型が検出された。全国の無菌性髄膜炎患者からは, ムンプスウイルス, エコーウイルス9型, 30型, コクサッキーウイルス B3型, A9型など様々なウイルスが検出されていた[1]。

ツツガムシ病: 11月に4症例, 12月に1症例(血清5)の検査を行った。11月の4症例中3症例で, ツツガムシ病リケッチア(Kawasaki型)がPCRにより検出された。11月の残りの1症例, および12月の1症例では, リケッチアに対する抗体価の上昇が確認された。

無症状: ポリオ流行予測調査事業により, 0~6歳までの健康な乳幼児の糞便を対象にウイルス検索を行った。9月および1月に計81名の検査を行ったが, ポリオ

ウイルスは検出されなかった。しかしながら, 9月には1名からコクサッキーウイルス B3型が, 1名からエコーウイルス3型が検出され, また, 1月には1名からアデノウイルス2型が, 8名からエコーウイルス25型が検出された。

その他の疾病: 12月の急性弛緩性麻痺1症例(便, 咽頭拭い液, 髄液, 血清)からは, ウイルスは検出されなかった。

ウイルス分離検査は結果が判明するまでに時間がかかりますが, 今後の感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となります。ご多忙の中でご理解, ご協力を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. 厚生労働省 / 国立感染症研究所 (2005), IDWR, 第44週, 第44号, 10

富山県における2005年の病原微生物検出情報

木全恵子 嶋智子 田中大祐 清水美和子
磯部順子 綿引正則 永井美之

Detection of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2005

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU
Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI

富山県衛生研究所細菌部は県内10か所の公立病院検査室、4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所を定点として病原細菌の検出情報を収集している。2005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1,668株で前年比99.2%とやや減少していた。そのうち最も多かったのは大腸菌783株であるが、前年比134%と増加していた。腸管出血性大腸菌 (EHEC/VTEC) は78株で、その内訳は血清型 O157が74株、O26が3株、O111が1株であった。腸管出血性大腸菌は集団発生事例 (家族内発生事例も含む) が9件発生したため、前年比355%と大幅に増加した。次に多かったのは黄色ブドウ球菌509株 (そのうち MRSA は58.7%) であり、前年比83.9%であった。カンピロバクターは集団食中毒が4件発生したため、301株で前年比111%と増加した。サルモネラは23株で、前年比36.5%と減少していた。腸炎ビブリオは、22株で前年比19.5%と減少していた (図1)。2類感染症では、赤痢菌が6株分離された。その内訳は *S. flexneri* 3株、*S. sonnei* 3株であった。分離された *S. flexneri* 3株はそれぞれベトナム旅行歴、インド旅行歴、ベトナム・カンボジア旅行歴のある患者からの分離であった。また、*S. sonnei* 3株のうち2株はペルー、ベトナム旅行歴のある患者から、1株は海外渡航歴の

ない患者からの分離であった。

【穿刺液】分離株総数223株、前年比83.2%で、黄色ブドウ球菌 (MRSA は41.7%)、大腸菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌などが多く分離された (図2)。

【髄液】分離株総数15株、前年比71.4%で、インフルエンザ菌、肺炎球菌、黄色ブドウ球菌 (内 MRSA は66.7%) が分離された (図3)。

【血液】分離株総数922株、前年比116%で、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌、大腸菌、黄色ブドウ球菌 (MRSA は52.8%) が多く分離された (図4)。

【咽頭および鼻咽喉】分離株総数1,875株、前年比81.2%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 (図5)。

【喀痰、気管吸引液および下気道】分離株総数6,752株、前年比113%で、分離株数が最も多い検査材料であった。黄色ブドウ球菌 (MRSA は71.3%)、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 (図6)。

【尿】分離株総数5,622株、前年比102%であった。大腸菌、腸球菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌 (MRSA は69.3%) が特に多かったが、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌、肺炎桿菌なども多かった (図7)。

【陰部尿道頸管擦過 (分泌) 物】分離株総数1,815株、前年比88.5%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 (図8)。なお、*Chlamydia trachomatis* は抗原検出による報告である。

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

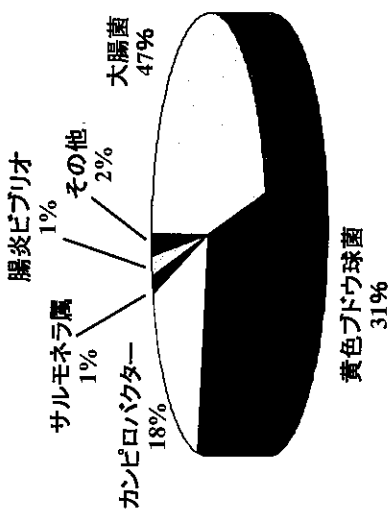


図1 糞便由来

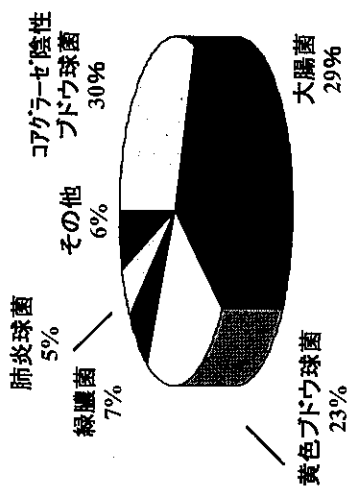


図4 血液由来

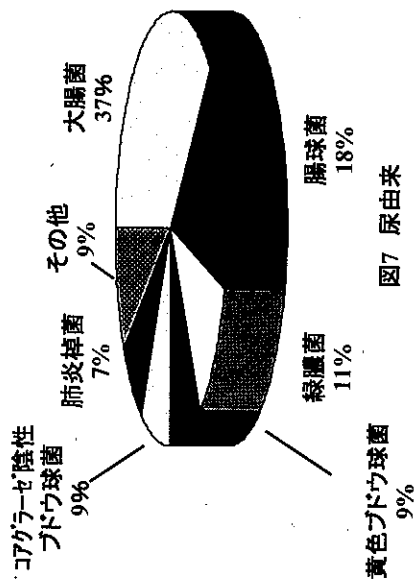


図7 尿由来

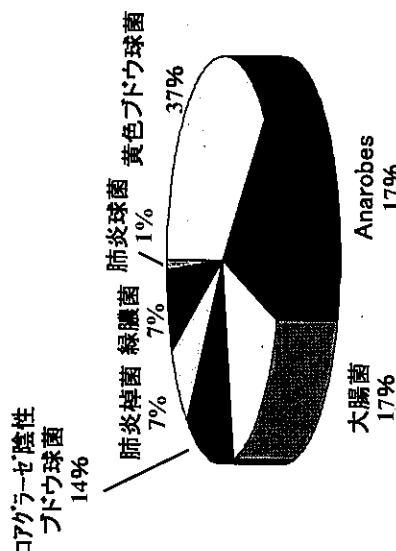


図2 穿刺液由来

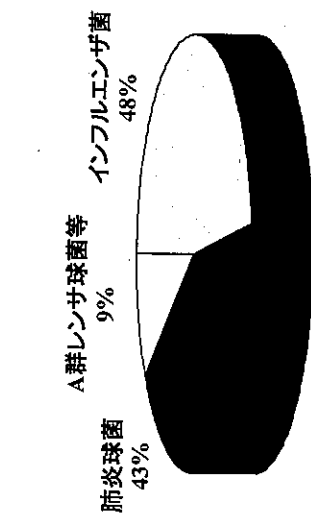


図5 咽喉及び鼻咽喉由来

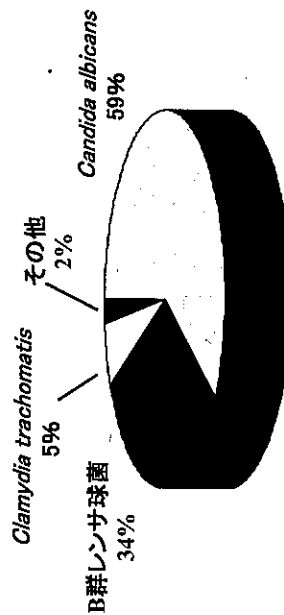


図8 陰部尿道頸管擦過(分泌)物由来

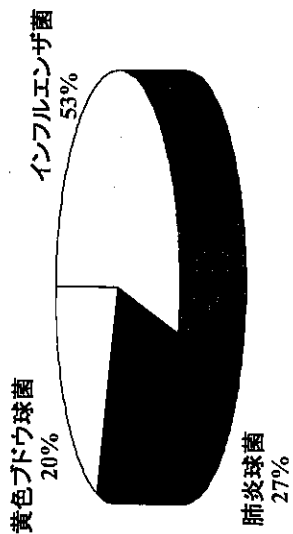


図3 髄液由来

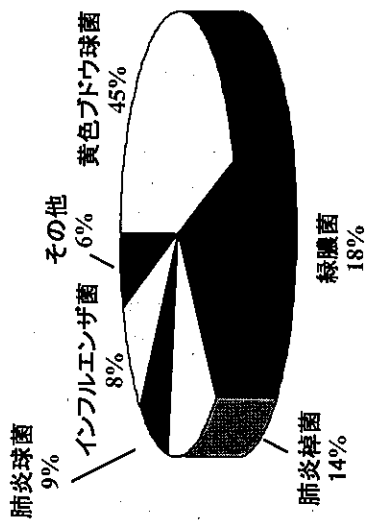


図6 喀痰、気管吸引液及び下気道由来

月別・菌種別の病原微生物検出状況 (2005年)

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Salmonella Typhi													
Salmonella Paratyphi A													
Salmonella O4	1		1	1				3	1				7
Salmonella O7				1	1	2			4	2			10
Salmonella O8						1		1					2
Salmonella O9						3	1						4
Salmonella その他													
Salmonella 群不明													
Yersinia enterocolitica								1				1	2
Y. pseudotuberculosis													
Vibrio cholerae O1													
Vibrio cholerae O139													
Vibrio cholerae O1,139以外													
Vibrio parahaemolyticus						1	6	10	5				22
Vibrio fluvialis													
Vibrio mimicus													
Aeromonas					1	2	3	2	1	1	1		11
Plesiomonas shigelloides				1		2	1					1	5
Campylobacter	27	(24)	13	31	46	(23)	28	45	(24)	(2)	11	8	301
Staphylococcus aureus	54	43	47	41	55	41	33	36	37	46	45	31	509
Clostridium perfringens			2			2		1					5
Clostridium botulinum													
Bacillus cereus												1	1
Entamoeba histolytica													
Escherichia coli組織侵入性			2	1	1	1	1	1		1	1		9
Escherichia coli毒素原性	7	7	11	7	4	17	3	3	5	1		2	67
Escherichia coli病原大腸菌	58	36	35	44	35	41	25	35	44	25	20	35	433
Escherichia coliEHEC/VTEC				(18)	(2)	(5)	(14)	(7)	(31)		1		78
Escherichia coliその他、不明	(20)	11	7	4	17	25	13	55	11	15	7	11	196
Shigella				1(1)		2(2)		1(1)	2(1)				6(5)
合計	167	121	118	150(1)	162	168(2)	128	201(1)	165(1)	112	87	89	1668(5)

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		3	9	3	2	4	3	4	1	5	1	2	37
Klebsiella pneumoniae	1	3	1		1	2	2	2		2		1	15
Haemophilus influenzae													
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa				1		3	2	4	1	1	1	2	15
Mycobacterium spp.													
Staphylococcus aureus	4	5	4	6	13	10	3	9	6	6	7	11	84
Staphylococcus コアグラーゼ陰性	3	2	5	1	1		4	2	4	2	4	4	32
Streptococcus pneumoniae	1	1											2
Anaerobes	1	6	3		4	1	4	6	3	6	2	2	38
Mycoplasma pneumoniae													
合計	10	20	22	11	21	20	18	27	15	22	15	22	223

平成18年10月1日

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli													
Haemophilus influenzae					1					2	4	1	8
Neisseria meningitidis													
Listeria monocytogenes													
Staphylococcus aureus			1		1	1							3
Streptococcus, B													
Streptococcus pneumoniae			1			2						1	4
合計	0	0	2	0	2	3	0	0	0	2	4	2	15

4) 分離材料：血液

Escherichia coli	27	27	21	19	21	30	25	20	19	12	21	27	269
Salmonella Typhi													
Salmonella Paratyphi A													
Salmonella spp.													
Haemophilus influenzae	1	2	1	1	1						3	1	10
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	9	3	6	2	2	8	4	8	6	4	10	3	65
Staphylococcus aureus	21	11	13	22	21	18	19	16	18	22	17	18	216
Staphylococcus コクサリス 陰性	22	13	19	24	29	19	27	27	20	28	25	25	278
Streptococcus, B	3	1			1				1			3	9
Streptococcus pneumoniae	2	3	3	5	4	4	3	1	1	6	7	4	43
Anaerobes	1	4	1	2	4		2	2	3	1	5	5	30
Plasmodium spp.	2												2
合計	88	64	64	75	83	79	80	74	68	73	88	86	922

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

Bordetella pertussis			1										1
Haemophilus influenzae	63	58	85	95	118	80	63	60	32	50	89	104	897
Neisseria meningitidis													
Streptococcus, A	16	20	27	20	23	15	12	4	6	7	10	16	176
Streptococcus pneumoniae	45	44	41	76	91	79	44	50	30	70	128	103	801
C. diphtheriae													
合計	124	122	154	191	232	174	119	114	68	127	227	223	1875

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

Mycobacterium tuberculosis	1	2	1	2	4	3	4	2	1	3	1	3	27
Klebsiella pneumoniae	81	74	68	89	68	87	82	101	92	81	71	60	954
Haemophilus influenzae	59	52	72	48	59	64	37	45	27	30	34	45	572
Legionella pneumophila								1					1
Pseudomonas aeruginosa	101	92	107	84	83	107	100	135	123	98	106	101	1237
Staphylococcus aureus	280	222	315	268	248	277	223	261	213	224	262	223	3016
Streptococcus, A	1	1	6	3	1	3	3	1	2	1		2	24
Streptococcus, B	37	22	20	28	27	27	19	25	39	20	30	31	325
Streptococcus pneumoniae	43	62	70	71	55	46	46	43	22	39	59	38	594
Anaerobes								1	1				2
Mycoplasma pneumoniae													
合計	603	527	659	593	545	614	514	615	520	496	563	503	6752

7) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	190	158	136	151	196	221	179	202	186	140	152	164	2075
<i>Enterobacter</i> spp.	7	11	6	8	10	13	9	23	24	19	21	13	164
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32	35	34	28	34	27	36	39	38	38	35	28	404
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	7	40	4	5	2	3	8	5	2	4	2	84
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48	50	45	39	47	62	59	59	61	60	51	54	635
<i>Staphylococcus aureus</i>	45	44	39	36	38	42	34	38	44	41	58	40	499
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	39	42	33	30	30	42	46	52	48	37	53	35	487
<i>Enterococcus</i> spp.	66	67	89	60	68	83	79	106	97	93	108	75	991
<i>Candida albicans</i>	24	16	18	18	23	20	16	36	24	35	30	23	283
合計	453	430	440	374	451	512	461	563	527	465	512	434	5622

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	7	1		2	2	3	3	4	5	0			27
<i>Streptococcus</i> , B	64	49	47	44	59	62	53	53	55	43	38	46	613
<i>Chlamydia trachomatis</i>	10	10	13	3	8	10	10	13	6	7	8	1	99
<i>Ureaplasma</i>								11					11
<i>Candida albicans</i>	117	85	85	81	81	90	100	98	91	91	80	66	1065
<i>Trichomonas vaginalis</i>													
合計	198	145	145	130	150	165	166	179	157	141	126	113	1815

平成18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	34	25	29	26	33	21	17	21	25	23	23	22	299
	MSSA	20	18	18	15	22	20	16	15	12	23	22	9	210
	未検査 件数	54	43	47	41	55	41	33	36	37	46	45	31	509
穿刺液	MRSA	3	1	1	4	9	1		3	1	3	4	5	35
	MSSA	1	4	3	2	4	9	3	6	5	3	3	6	49
	未検査 件数	4	5	4	6	13	10	3	9	6	6	7	11	84
髄液	MRSA			1		1								2
	MSSA						1							1
	未検査 件数	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3
血液	MRSA	11	8	4	13	13	8	12	9	11	10	6	9	114
	MSSA	10	3	9	9	8	10	7	7	7	12	11	9	102
	未検査 件数	21	11	13	22	21	18	19	16	18	22	17	18	216
呼吸器	MRSA	196	154	223	199	178	195	162	191	156	163	178	154	2149
	MSSA	84	68	92	69	70	82	61	70	57	61	84	69	867
	未検査 件数	280	222	315	268	248	277	223	261	213	224	262	223	3016
尿	MRSA	33	27	31	23	21	29	23	24	32	31	43	29	346
	MSSA	12	17	8	13	17	13	11	14	12	10	15	11	153
	未検査 件数	45	44	39	36	38	42	34	38	44	41	58	40	499
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査 件数													

漁港における腸炎ビブリオ調査(2005年)

嶋 智子 磯部順子 木全恵子 清水美和子 綿引正則 吉田 毅¹*Vibrio parahaemolyticus* Surveillance at Fishing Ports in Toyama PrefectureTomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU
Masanori WATAHIKI and Takeshi YOSHIDA¹

2005年の全国の食中毒発生状況によると、腸炎ビブリオは、病因物質別の発生件数ではノロウイルス、カンピロバクター、サルモネラ属菌に次いで第4位、患者数ではノロウイルス、サルモネラ属菌、カンピロバクター、ウエルシュ菌に次いで第5位であった。また、2005年富山県では、腸炎ビブリオによる集団食中毒の発生は1件であった。

県厚生部では、夏期に多く発生する腸炎ビブリオ食中毒防止のため、飲食店等に対する衛生指導に加え、富山湾における腸炎ビブリオの汚染実態調査を実施している。富山県衛生研究所では、1979年から1995年まで市販魚介類の腸炎ビブリオ調査を実施し、1996年からは「Vp (腸炎ビブリオ) マリン実態調査」として、県内の漁港の海水、海泥中の腸炎ビブリオの実態調査を行い、県民への食中毒注意報発令や効率的な監視指導のための基礎資料としている。ここでは2005年の調査結果を報告する。

材料と方法

1. 調査定点

Fig. 1に示す富山県内の主要5漁港(生地, 魚津, 四方, 新湊および水見)の海水について調査した。各漁港では併設市場前を検体採取場所とした。

2. 調査期間

調査は6~9月の間は隔週月2回, 10月および11月は月1回の計10回実施した。

3. 検体採取

表層と底層の海水を採取した。前者は柄杓で、後者はハイロート採水器で水深2m付近を採取した。検体は県厚生センターと富山市保健所が採取し、採取後4時間以内に検査した。

4. 腸炎ビブリオ数の測定

食塩ポリミキシンブイオン培地を用いたMPN3本

法で測定した [1]。

5. 海水の塩分濃度の測定

赤沼式比重計を用いて測定した [2]。

6. *tdh* 遺伝子の検出

前報 [3]に従った。

7. 海水からのTDH産生性腸炎ビブリオの分離

前報 [4] に従い、*tdh* 遺伝子が検出された検体について、血清型 O3:K6 を対象とし、K6免疫磁気ビーズ処理 [5]を行って菌を分離した。

8. 海水から分離した腸炎ビブリオの遺伝子解析

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 Matsumoto ら [6] の PCR 法 (group-specific PCR) で行った。

また、ヒト由来株との相同性は、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE : Pulsed-field gel electrophoresis) で調べた。PFGE のプラグは、国立感染症研究所の New Protocol in 2004 (STEC, Shigella) [7] に準じて作製した。制限酵素は Not I を使用し、6V/cm, 4-8s 9hr, 8-50s 13hr の条件で電気泳動した。

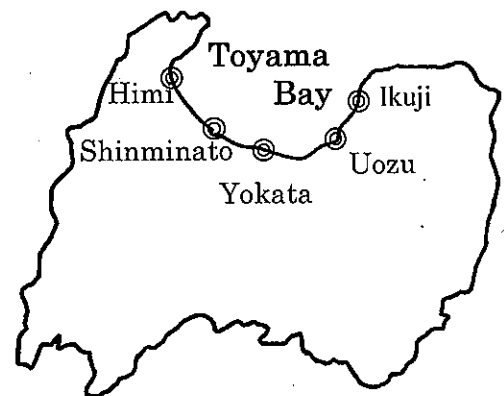


Fig. 1. Location of fishing ports for sampling in Toyama Prefecture

1. 富山県食品生活衛生課 (現・生活衛生課)

結果

1. 漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数の月別変動

6～11月の間、漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数は、 $<3\sim 2.4 \times 10^3 / 100\text{ml}$ であった (Table 1)。菌数は7月後半から増加し9月前半に最も多くなり、11月まで検出された。また、過去3年 (2002～2004年) の各定点における平均腸炎ビブリオ菌数の月別変動と2005年の結果を Fig.2に示した。ただし、魚津漁港については2004年から現漁港となったため、採水場所が変更している。2005年は、7月から9月前半にかけて過去3年間の平均菌数を上回っており、とくに9月前半の菌数が多い傾向であった。それ以外の時期は過去3年間の平均菌数と同程度か、または下回っていた。

2. 漁港海水からの *tdh* 遺伝子検出と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の分離状況

海水1L中の *tdh* 遺伝子と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の検出状況を Table 2に示した。海水100検体中9件 (9%) から *tdh* 遺伝子が検出された。遺伝子は7月後半から9月後半にかけて検出された。過去3年の *tdh* 遺伝子検出率は、2002年 34件/100検体 (34%)、2003年 45件/100検体 (45%)、2004年 46件/120検体 (38%) であり、これらと比較すると今年の検出率はきわめて少ない結果であった。

tdh 遺伝子が検出された検体から TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の分離を試みたところ、*tdh* 遺伝子陽性9検体中2件より3株 (9/5氷見漁港底層 1株および9/12新湊漁港表層 2株) 分離された。分離された腸

炎ビブリオ O3:K6について group-specific PCR を行った結果、3株中2株 (9/5氷見漁港 1株および9/12新湊漁港 1株) が新型クローンであった。

3. 漁港海水より分離された腸炎ビブリオ O3:K6の PFGE によるヒト由来株との相同性

2005年に漁港海水から分離された腸炎ビブリオ O3:K6、富山県内で発生した集団食中毒患者から分離された腸炎ビブリオ O3:K6および O3:K29について、PFGE を実施した結果を Fig.3に示した。患者由来の O3:K6および O3:K29は同一の食中毒事例から2種類の血清型が分離されたものである。患者由来の O3:K6 (レーン1～3) と海水由来の O3:K6 (レーン4, 5) は同一のパターンを示した。group-specific PCR によって新型クローンではなかった海水由来の O3:K6 (レーン6) はレーン1～5とは異なるパターンであった。また、患者由来の O3:K29 (レーン7～9) はレーン1～6の O3:K6株とは全く異なるパターンを示した。

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

2000～2005年の富山県におけるヒト由来の腸炎ビブリオ菌株数、漁港海水からの *tdh* および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の検出状況について Fig.4に示した。近年、県内の腸炎ビブリオによる集団食中毒発生数は減少傾向であるため、食中毒発生の指標をヒトからの腸炎ビブリオ分離菌株数とした。これについては、富山県感染症情報センター (衛生研究所内) が厚生センターと県内の主な10か所の公立病院の細菌検査室に

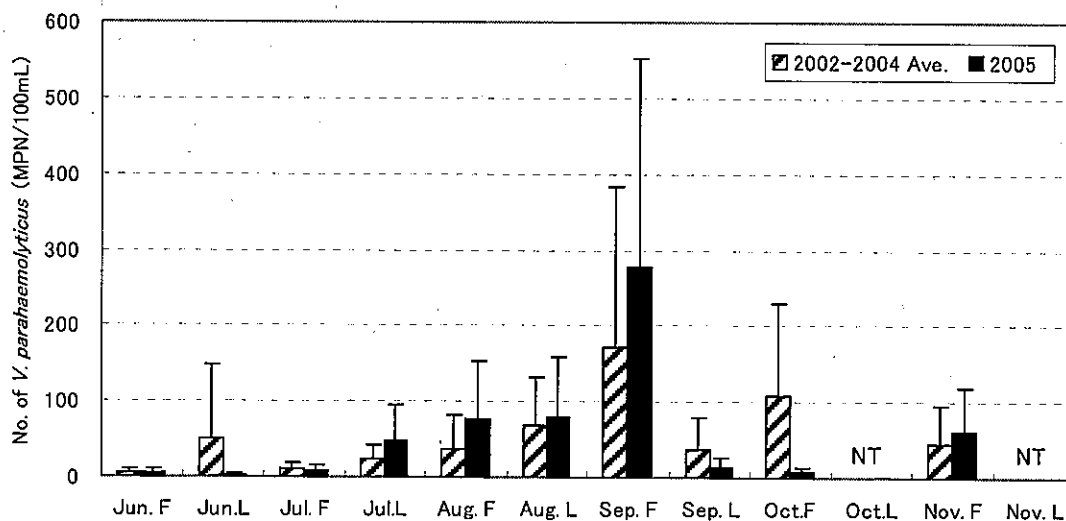


Fig. 2. Monthly distribution of *V. parahaemolyticus* in seawater of fishing ports (F; The first half, L; The later half)

Table 1. The number of *V. parahaemolyticus*, water temperature (WT) and salinity in seawater of fishing ports

Fishing Port		Date									
		6/6	6/20	7/4	7/25	8/8	8/22	9/5	9/12	10/3	11/7
Ikuji	V.p [Surface]	< 3 *	< 3	4.3 × 10 ¹	2.3 × 10 ¹	7.5 × 10 ¹	2.1 × 10 ¹	9.3 × 10 ²	1.5 × 10 ¹	2.0 × 10 ¹	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	17.2	24.2	20.6	20.8	22.0	21.5	20.1	20.9	18.8	15.5
	Salinity (‰)	12.4	7.6	7.9	9.5	5.9	8.6	9.3	6.3	11.3	6.3
	V.p [Bottom]	< 3	< 3	3.0	2.1 × 10 ¹	4.3 × 10 ²	2.4 × 10 ²	2.4 × 10 ²	2.9 × 10 ¹	2.9 × 10 ¹	2.4 × 10 ²
	WT (°C)	17.6	23.3	21.1	23.8	26.8	26.0	24.9	24.5	22.7	18.2
	Salinity (‰)	34.1	33.2	32.6	32.4	29.8	28.7	32.3	31.1	31.1	32.1
Uozu	V.p [Surface]	< 3	< 3	< 3	9.3 × 10 ¹	< 3	2.4 × 10 ²	9.1	2.3 × 10 ¹	1.5 × 10 ¹	< 3
	WT (°C)	18.7	20.8	20.7	25.0	25.5	26.4	23.5	24.0	21.3	16.0
	Salinity (‰)	25.7	15.6	7.5	28.2	13.5	26.7	18.2	22.1	23.8	14.1
	V.p [Bottom]	1.5 × 10 ¹	7.4	1.5 × 10 ¹	2.3 × 10 ¹	9.3 × 10 ¹	2.1 × 10 ¹	1.1 × 10 ¹	7.4	< 3	2.0 × 10 ¹
	WT (°C)	17.5	20.2	21.3	25.1	28.1	27.1	25.2	24.8	22.1	18.2
	Salinity (‰)	36.2	34.1	33.1	30.2	26.0	31.7	31.4	29.9	30.8	32.4
Shin-minato	V.p [Surface]	< 3	3.0	4.3 × 10 ¹	2.0 × 10 ¹	1.5 × 10 ²	2.4 × 10 ²	2.4 × 10 ³	9.2	< 3	4.3 × 10 ¹
	WT (°C)	18.0	22.0	22.0	27.0	26.0	27.0	26.0	23.0	20.0	19.5
	Salinity (‰)	19.1	24.0	12.6	17.3	22.7	31.8	25.9	22.5	25.8	34.2
	V.p [Bottom]	3.0	< 3	7.4	3.6 × 10 ¹	3.6 × 10 ¹	2.4 × 10 ²	2.9 × 10 ¹	3.6 × 10 ¹	9.3	2.4 × 10 ²
	WT (°C)	17.0	22.0	22.0	27.0	27.0	27.0	27.0	25.0	23.0	20.0
	Salinity (‰)	32.0	34.1	31.6	27.6	32.8	32.7	31.5	32.3	32.3	34.9
Himi	V.p [Surface]	9.2	< 3	6.2	7.4	2.9 × 10 ¹	2.0 × 10 ¹	2.4 × 10 ²	3.0	9.4	2.3 × 10 ¹
	WT (°C)	18.0	22.0	22.0	26.0	29.0	28.0	25.0	25.0	23.0	19.0
	Salinity (‰)	35.4	34.8	25.7	28.2	33.3	32.8	27.6	33.1	34.9	33.6
	V.p [Bottom]	2.3 × 10 ¹	< 3	3.0	1.5 × 10 ¹	4.3 × 10 ²	1.5 × 10 ¹	4.3 × 10 ¹	2.0 × 10 ¹	6.1	2.4 × 10 ²
	WT (°C)	18.0	23.0	23.0	26.0	29.0	26.0	25.0	24.0	22.0	18.5
	Salinity (‰)	35.3	34.9	16.6	29.2	33.5	32.9	27.6	33.4	34.6	33.7
Yokata	V.p [Surface]	3.0	7.4	3.0	2.4 × 10 ²	1.6 × 10 ¹	1.1 × 10 ¹	1.5 × 10 ¹	7.4	2.0 × 10 ¹	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	20.0	24.9	23.2	27.2	28.9	27.6	27.8	26.7	23.6	20.0
	Salinity (‰)	27.5	24.3	16.3	25.5	27.0	28.0	32.1	25.2	31.3	34.8
	V.p [Bottom]	3.6	6.2	7.4	4.4 × 10 ¹	9.2	9.2	2.0 × 10 ¹	2.9 × 10 ¹	7.4	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	19.4	21.3	22.7	27.0	28.7	27.7	27.8	26.7	24.3	20.0
	Salinity (‰)	33.2	34.4	34.2	30.1	32.8	32.5	32.8	33.6	33.5	34.2

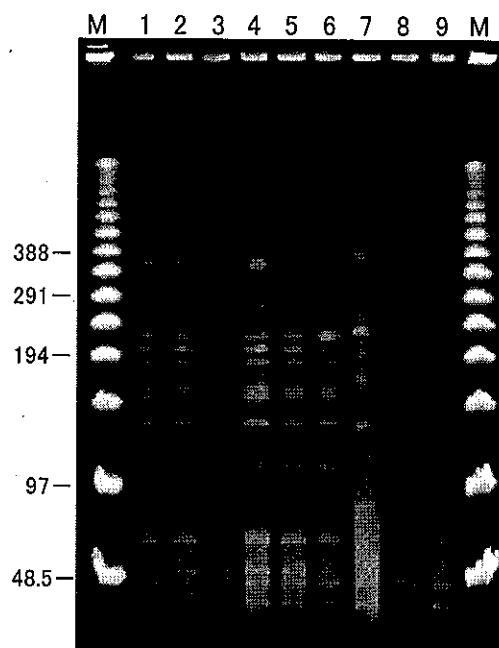
* No. of V.p (*V. parahaemolyticus*) in 100 ml of seawater by MPN method

Table 2. Detection of *tdh* gene and TDH+ *V. parahaemolyticus* O3:K6 in seawater of fishing ports

Fishing Port		Date										Total
		6/6	6/20	7/4	7/25	8/8	8/22	9/5	9/12	10/3	11/7	
Ikuji	<i>tdh</i>	0 / 2*	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E**	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 1	N.E	N.E	N.E	0 / 1
Uozu	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	2 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	2 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 2	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 2
Shin-minato	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	2 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 1	N.E	1 / 1	N.E	N.E	1 / 2
Himi	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	1 / 1	N.E	N.E	N.E	1 / 1
Yokata	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	2 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	3 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	0 / 2	N.E	N.E	N.E	0 / 1	N.E	N.E	0 / 3
Total	<i>tdh</i>	0 / 10	0 / 10	0 / 10	2 / 10	0 / 10	3 / 10	2 / 10	2 / 10	0 / 10	0 / 10	9 / 100
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	0 / 2	N.E	0 / 3	1 / 2	1 / 2	N.E	N.E	2 / 9

* No. of positive / No. of samples examined

** Not examined.



Lane 1-3: O3:K6 isolated from food poisoning case
 Lane 4: O3:K6 isolated from seawater (9/5, Himi)
 Lane 5: O3:K6 isolated from seawater (9/12, Shinminato)
 Lane 6: O3:K6 isolated from seawater (9/12, Shinminato)
 Lane 7-9: O3:K29 isolated from food poisoning case
 Lane M: Size marker (Lambda ladder)

Fig. 3. PFGE pattern of *V. parahaemolyticus* isolated from seawater of fishing ports and food poisoning case in Toyama prefecture.

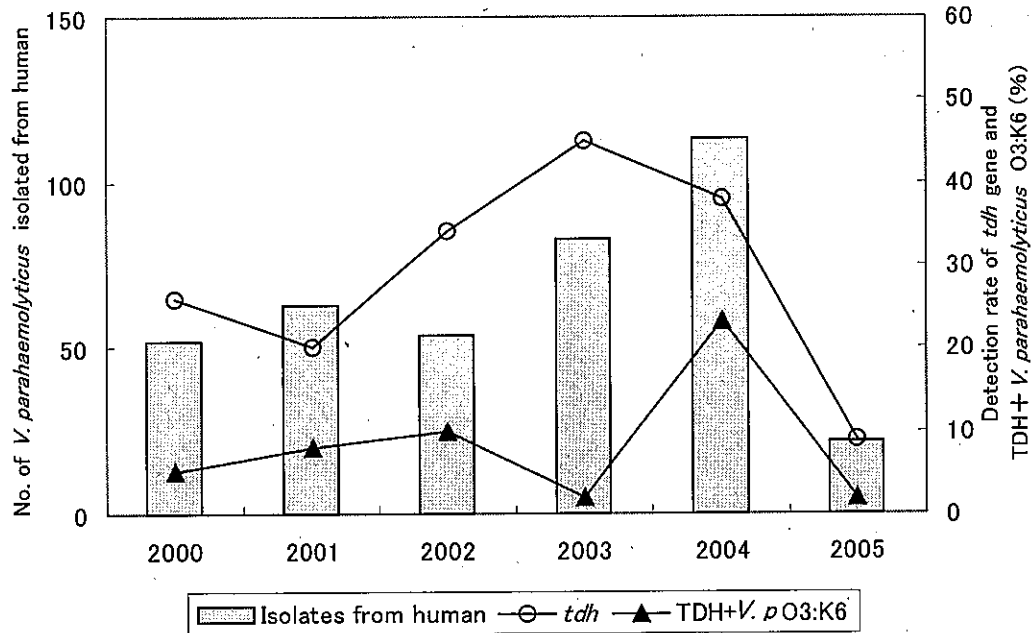


Fig. 4. Relationship between the distribution of TDH+ *V. parahaemolyticus* and incidence of food poisoning

対して情報収集を行ないまとめている「病原微生物検出情報」を参照し集計した。この菌数には、集団および散発的発生例が含まれている。

富山県におけるヒトからの腸炎ビブリオ分離菌株数は、2003年から2004年にかけて漸増傾向であったが、2005年は22株と過去5年のうちで最も少なく、本年の腸炎ビブリオによる食中毒発生は少なかったと推測される。また、漁港海水からの *tdh* 検出率および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 分離率も非常に低く、これらの結果はよく相関していた。

考 察

昨年(2004年)の本調査では、富山湾漁港海水中の *tdh* 遺伝子検出率および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 分離率はともに高かった [8] が、2005年はどちらも低い結果であった。また、病原微生物情報の腸炎ビブリオ分離菌株数が少なかったことから、富山県内における腸炎ビブリオによる食中毒発生も少なかったことが推測され、海水中の TDH 産生性腸炎ビブリオの分布状況と相関性がみられた。

tdh 遺伝子は、7月後半から9月後半にかけて各漁港海水中から検出され、そのうち TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 は9月に2検体から分離された。富山県内の腸炎ビブリオによる集団食中毒は8月下旬に1件発生したが、この集団食中毒の患者から分離された腸炎ビ

ブリオ O3:K6 は、9月に漁港海水から分離された O3:K6 と同一の PFGE パターンを示し、これらは Pandemic clone であった。

今後も、漁港海水中の腸炎ビブリオの動態をモニタリングし、本菌による食中毒発生との関連をさらに明らかにするために、本調査を継続していく必要があると思われる。

謝 辞

本調査の検体採取は、富山県食品生活衛生課(現・生活衛生課)で作成された計画に基づき、各厚生センター及び富山市保健所職員により行われました。これらの方々に深謝いたします。また、富山県で発生した食中毒事例に関連して、菌株の分与を戴いた岐阜県保健環境研究所及び高岡厚生センターの関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 細呂木志保, 田中大祐, 平田清久, 磯部順子, 刑部陽宅, 城石将幸, 長沢憲嗣 (1997). 富山衛研年報, 20, 184-186
2. 小久保清治 (1969). 海洋生物学, 恒星社厚生閣水産学全集11, 200-202
3. 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子,

平成18年10月1日

- 香取幸治, 刑部陽宅, 永井美之, 竹内 崇 (2002). 富山衛研年報, 25, 179-182
4. 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 (2004). 富山衛研年報, 27, 129-137
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村敬 (2000). 日食微誌, 17, 5-10
6. 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
7. 寺嶋淳ら, 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究, 新興・再興感染症研究事業平成17年度総括・分担研究報告書及び平成15~17年度総括・総合研究報告書, 88-95
8. 嶋 智子, 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 木全恵子, 綿引正則, 永井美之, 松澤留美子(2005). 富山衛研年報, 28, 152-155

富山県におけるカンピロバクター分離状況 (2005年)

清水美和子 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 田中大祐 綿引正則

Status of *Campylobacter* Isolated in Toyama Prefecture (2005)Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Keiko KIMATA,
Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA and Masanori WATAHIKI

カンピロバクターは、散発下痢症患者から検出される病原菌の中でも分離数が多く、カンピロバクターによる集団食中毒も増加傾向にある[1]。富山県においても、病原微生物検出情報によると過去5年間のカンピロバクターの分離数は年々増加している(表1)[2-6]。また、県内でカンピロバクター食中毒は2005年に5件発生し、病因物質の中で最も多かった。今回、2005年に当所でおこなった市販鶏肉汚染実態調査におけるカンピロバクターの検出状況について述べる。さらに、その調査で分離した鶏肉由来株および厚生センターまたは医療機関で分離されたヒト由来株の血清型別、薬剤感受性試験結果について報告する。

材料および方法：

1. 検査対象：2005年5～11月に市販鶏肉70検体(レバー33検体、手羽先32検体、モモ肉3検体、むね肉1検体)についてカンピロバクターの汚染実態調査をおこなった。
2. 供試菌株：鶏肉由来株は *Campylobacter jejuni* (*C.jejuni*) 75株、*Campylobacter coli* (*C.coli*) 19株を用いた。なお、鶏肉1検体から4～8株を分離し、パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)をおこない、同一検体で同じパターンを示したものは代表株1株を供試した。

ヒト由来株は、厚生センターで食中毒患者から分離された *C.jejuni* 3株、*C.coli* 2株、また県内の医療機関2か所で分離された *C.jejuni* 38株、*C.coli* 4株を用いた。

3. 鶏肉からのカンピロバクターの分離方法：鶏肉25gに滅菌生理食塩水100mlを加えストマッカー処理し、5倍乳剤とした。これを2倍濃度プレストン培地(Oxoid) 10mlと2倍濃度ボルトン培地(Oxoid) 10mlにそれぞれ10mlずつ加え、42℃1日間微好気培養した。培養後、CCDA培地(Oxoid)に塗抹し、42℃2日間微好気培養した。疑わしいコロニーを定法[7]

に従って同定した。

4. 鶏肉のカンピロバクター菌数：小野ら[8]の方法に従い、直接塗抹法でカンピロバクターの定量をおこなった。前述の5倍乳剤を5枚のCCDA培地に0.2mlずつコンラージ棒で塗抹し、42℃2日間微好気培養した。培養後、培地上の疑わしいコロニーを同定し[7]、カンピロバクターのコロニー数をカウントし、5枚の平板を合計した数を5倍して1gあたりの菌数とした。

5. PFGE：国立感染症研究所の方法[9]に準じた。制限酵素 *Sma* I (Wako) で染色体DNAを切断後、電圧6V/cm、パルスタイム0.5～25秒、泳動時間20時間、バッファー温度12℃の条件で泳動し、その泳動パターンを比較した。

6. 血清型別：*C.jejuni*について、市販のカンピロバクター血清型別キット(デンカ生研)を用い、Pennerの血清型を調べた。

7. 薬剤感受性試験：Brain Heart Infusion ブイヨン(Difco)で培養し、ミューラーヒントンII寒天培地(BBL)に塗抹後、センシディスク(BBL)を置き37℃2日間微好気培養して阻止円を測定した。薬剤は、ノルフロキサシン(NFLX)、オフロキサシン(OFLX)、シプロフロキサシン(CPFX)、ナリジクス酸(NA)、エリスロマイシン(EM)、テトラサイクリン(TC)の6剤を用いた。

結果および考察

1. 鶏肉からのカンピロバクター検出状況：調査した鶏肉70検体中55検体(78.6%)からカンピロバクターが検出された。部位別で見ると、レバー33検体中26検体、手羽先32検体中27検体、モモ肉4検体中2検体からカンピロバクターが検出された。分離菌種別では、*C.jejuni*のみ検出されたものが39検体、*C.coli*のみ検出されたものが2検体、*C.jejuni*と*C.coli*が両方検出されたものが14検体であった。また、市販鶏肉は、単一ではなく複数の遺伝子型の菌により汚染されている

という報告があるため[10]、鶏肉1検体から4~8株を分離し、PFGEをおこなった。その結果、鶏肉1検体から複数のPFGEパターンの*C.jejuni*が分離された検体は55検体中23検体(41.8%)であった。

2. 鶏肉のカンピロバクター菌数：結果を表2に示した。直接塗抹法でカンピロバクターが検出された検体は、70検体中41検体(58.6%)であった。今回の調査では、検体を主にレバーと手羽先に限定したために他の部位との比較はできなかったが、手羽先の菌数が32検体すべて 10^3 cfu/g未満であったのに対し、レバーの菌数は33検体中13検体で 10^3 cfu/g以上であり、多かった。これはレバーのカンピロバクターの汚染菌数が、肉の部位よりも多いという小野らの報告[8,11]と一致していた。

3. 血清型別：*C.jejuni*のPennerの血清型は、鶏肉由来では75株中57株(76.0%)、ヒト由来では41株中31株(75.6%)が型別可能であった(表3)。鶏肉由来株ではB群が20株と最も多く、次いでC群とD群が7株であった。ヒト由来株でもB群が10株と最も多く、D群が6株、C群が5株であった。鶏肉由来株とヒト由来株の血清型の傾向が一致していることから、鶏肉のカンピロバクターの汚染がカンピロバクター食中毒に深く関わっていることが示唆される。

4. 薬剤感受性試験：表4に結果を示した。調査した6剤すべてに感受性を示したのは、*C.jejuni*が鶏肉由来では75株中34株(45.3%)、ヒト由来では41株中17株(41.5%)、*C.coli*が鶏肉由来では19株中2株(10.5%)、ヒト由来では6株中3株(50.0%)であった。ニューキノロン系薬剤であるNFLX、OFLX、CPFX、NAの4剤に耐性を示したのは、*C.jejuni*の鶏肉由来では75株中24株(32.0%)、ヒト由来では41株中14株(34.1%)であり、*C.coli*の鶏肉由来では19株中12株(63.2%)、ヒト由来では6株中1株(16.7%)であった。近年、ニューキノロン系薬剤の耐性菌が増加していることが世界的に問題になっており[1]、富山県においても同様に増加していることがわかった。また、TCに対する耐性菌の割合も高かった。第一選択薬剤として推奨されているマクロライド系のEMは、*C.jejuni*に比べて*C.coli*が耐性菌の出現率が高く[12,13]、今回の調査でも*C.jejuni*はすべて感受性であったが、*C.coli*では鶏肉由来株で19株中4株(21.1%)にEMの耐性が認められた。ヒト由来ではEMに対する耐

性菌は認められなかったが、ヒトへの感染源として重要視されている鶏肉から分離されたことから、今後もこの耐性菌の動向に注目していきたい。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力いただいた富山県立中央病院細菌検査室、厚生連高岡病院細菌検査室、厚生センターの関係各位に深謝いたします。

文献

1. IDWR, (2005), 第19週, 第19号, 11-13
2. 清水美和子, 細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 永井美之 (2002). 富山衛研年報, 25, 183-185
3. 木全恵子, 清水美和子, 細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 永井美之 (2003). 富山衛研年報, 26, 162-166
4. 木全恵子, 嶋智子, 田中大祐, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之 (2004). 富山衛研年報, 27, 152-155
5. 木全恵子, 嶋智子, 田中大祐, 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 148-151
6. 木全恵子, 嶋智子, 田中大祐, 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之 (2006). 富山衛研年報, 29, 162-167
7. 坂崎利一ら (2000), 食水系感染症と細菌性食中毒, 中央法規出版, 336-362
8. 小野一晃, 安藤陽子, 重茂克彦, 品川邦汎 (2002). 日獣会誌, 55, 447-449
9. 寺嶋淳ら, 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究, 新興・再興感染症研究事業平成17年度総括・分担研究報告書及び平成15~17年度総括・総合研究報告書, 88-95
10. 小野一晃, 安藤陽子, 川森文彦, 尾関由姫恵, 柳川敬子 (2005). 日食微誌, 22(2), 59-65
11. 小野一晃, 土井りえ, 安藤陽子, 大塚佳代子, 柴田穰, 尾関由姫恵, 佐藤秀美, 増谷寿彦, 小林留美子, 柳川敬子 (2004). 日食微誌, 21(2), 151-155
12. 三澤尚明 (2003). 日食微誌, 20(3), 91-97
13. 高山貞男, 佐竹幸子, 石原加奈子 (2005). 感染症誌, 79, 169-175

表 1. 富山県の病原微生物検出情報による過去 5 年間のカンピロバクター検出状況

年	2001	2002	2003	2004	2005
カンピロバクター 検出株数	143	169	228	270	301

分離材料は糞便

表 2. 鶏肉のカンピロバクター菌数別検体数

部 位	(cfu/g)			
	<1	10 ¹	10 ²	>10 ³
レバー	9	6	5	13
手羽先	16	12	4	
モモ肉	3	1		
むね肉	1			

表 3. *C. jejuni* の血清型別

Penner 型	株 数	
	鶏肉由来	患者由来
A 群	6	1
B 群	20	10
C 群	7	5
D 群	7	6
E 群	1	
G 群	5	1
I 群	1	
J 群	3	1
K 群	1	
O 群	2	1
P 群	1	
R 群	1	2
Y 群	2	4
型別不能	18	10
計	75	41

平成18年10月1日

表4. カンピロバクター分離株の薬剤感受性

耐性パターン	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>	
	鶏肉由来	ヒト由来	鶏肉由来	ヒト由来
TC	17	10	3	2
EM, TC			2	
NFLX, OFLX, CPFX, NA	14	10	2	
NFLX, OFLX, CPFX, NA, TC	10	4	8	1
NFLX, OFLX, CPFX, NA, EM, TC			2	
すべて感受性	34	17	2	3
計	75	41	19	6

溶血レンサ球菌感染症流行予測調査 (平成17年度)

嶋 智子 田中大祐 田中桂子¹ 米道暁彦²

Epidemiological Surveillance of Hemolytic Streptococcal Infections in Toyama Prefecture

Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Keiko TANAKA¹ and Akihiko YONEMICHI²

富山県では、溶血レンサ球菌（溶連菌）による感染症の流行状況を把握し、流行を予測することを目的として、健康な保育所園児の咽頭における溶連菌保菌状況を調査している。

ここでは、平成17年度の調査結果を報告する。

調査対象および方法：

1. 調査対象

調査は県内の東西2ヶ所の保育所で行った。調査対象は、県東部の黒部市 M 保育所では、平成18年1月31日に2～6歳の園児62名、県西部の小矢部市 I 保育所では、平成18年2月23日に2～6歳の園児39名であり、保護者から承諾を得た上で調査を実施した。

2. 検査方法

園児の咽頭ぬぐい液を採取し、分離培養はヒツジ血液寒天培地（BBL）を用いて行い、SEB 培地（日水）を用いた増菌培養を併用した。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った。A 群溶連菌の T 型別及び B 群溶連菌の型別は、市販血清（デンカ生研）を用いてスライド凝集反応法で行った。

結果および考察：

平成17年度の調査における保育所園児の溶連菌保菌状況を Table 1 に示した。

黒部市内保育所では、62名中1名（1.6%）が溶連菌

陽性であった。この保菌率は、昨年（8.1%）と比較して低かった。検出菌は G 群1株であった。菌陽性者に感冒様症状は認められなかった。

また、小矢部市内保育所では、39名中10名（25.6%）が溶連菌陽性であった。検出菌は A 群 T25 型9株、A 群 T14/49型1株であった。菌陽性者のうち2名は、調査の前週に感冒様症状を示していた。

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 [1, 2]。今年度の調査では、小矢部市内保育所園児から分離された溶連菌のうち9株が、同じ A 群 T25 型であった。しかし、今年度富山県内で患者から分離された A 群溶連菌についての調査では、T25 型の検出率は特に高くなかった。

謝辞：本調査にご協力頂いた保育所の関係各位に感謝いたします。

文 献

1. 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
2. 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

平成18年10月1日

Table 1. Isolation of Hemolytic Streptococci from Throat Swabs of Children during January and February 2006

Place of nursery schools	Age (yr)	No. of children examined	Positive		Serogroup and serotype of isolates	No. of isolates
			No.	%		
Kurobe	2	2	0	0.0		0
	3	17	0	0.0		0
	4	14	0	0.0		0
	5	14	1	7.1	G	1
	6	15	0	0.0		0
Subtotal		62	1	1.6		1
Oyabe	2	6	0	0.0		0
	3	11	2	18.2	A T25	2
	4	7	3	42.9	A T25	2
					A T14/49	1
	5	7	1	14.3	A T25	1
6	8	4	50.0	A T25	4	
Subtotal		39	10	25.6		10
Total		101	11	10.9		11

富山県内で患者から分離された溶血レンサ球菌の血清型と薬剤感受性

嶋 智子 田中大祐 磯部順子 綿引正則
林 喜代志¹ 中村政雄² 遠藤美代子³

Serotypes and Drug Susceptibilities of Clinical Isolates of Hemolytic Streptococcus in Toyama Prefecture

Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI
Kiyoshi HAYASHI¹, Masao NAKAMURA² and Miyoko ENDO³

A群溶血レンサ球菌(溶連菌)は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起病菌となり、感染症法では、本菌による咽頭炎が小児科定点報告の5類感染症に位置づけられている。さらに近年、本菌による重篤な劇症型溶血レンサ球菌感染症や食品を介した集団発生も報告されている[1]。また、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。2005年の富山県におけるA群溶連菌咽頭炎患者報告数は、年間2,303人(79.41人/定点)であった[2]。

ここでは、富山県で患者から分離された溶連菌について、血清型および薬剤感受性の調査結果を報告する。

材料と方法：

分離菌株：

2005年に富山県内2か所の公立病院で患者から分離された溶連菌(A群68株およびB群57株、計125株)について、A群のT型別およびB群の型別を調べた。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で行った。

薬剤感受性試験：

アンピシリン(ABPC)、セフジニル(CFDN)、セファレキシン(CEX)、セフトロレン(CDTR)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、エリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、リンコマイシン(LCM)の9薬剤について、微量液体希釈法で測定した。測定は東京都健康安全研究センターにて行った。また、MIC値16 μ g/ml以上を示すものを耐性菌とした。

結果および考察：

1. A群溶連菌のT型別

2005年に分離されたA群68株のT型別結果をTable 1およびFig. 1に示した。分離率が高いT型は、順にT6型(18株, 26.5%)、T11型(10株, 14.7%)、T12型(10株, 14.7%)、T1型(5株, 7.4%)、T28型(5株, 7.4%)であった。昨年と比較して、T6型とT11型が増加し、T12型、T25型、T28型は減少していた。

2. B群溶連菌の型別

2005年に分離されたB群57株の型別結果をTable 2およびFig. 2に示した。分離率が高い型は、順にVI(NT6)型(25株, 43.9%)、V型(8株, 14.0%)、Ib型(7株, 12.3%)、VIII(JM9)型(5株, 8.8%)、Ia型(4株, 7.0%)であった。

VI型の分離率が最も高く、この傾向は1996年以来続いている。本年の分離率43.9%は、1995年以降最も高い値であった。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1992~1999年に調査したところ、VI型、VIII型、III型、Ia型、IV型、Ib型の順に多かったと報告しており、VI型が最も多い点は同様であった。

VIII型はVI型に次いで2番目に多く分離されていたが、その分離率は1998年の26.3%をピークに減少傾向であり、本年は初めて分離率が10%を下回った。

3. 溶連菌の薬剤感受性

2005年に分離された溶連菌のうち47株(A群34株、B群13株)について実施した薬剤感受性試験の結果をTable 3に、またその薬剤感受性パターンをTable 4に示した。A群溶連菌34株では、TCに対して23.5%(T28型3株、T9型1株、TB3264型1株、T型別不能3株、合計8株)が耐性であった。B群溶連菌13株では、TCに対して15.4%(V型2株、III型1株、合計3株)、EM、

1. 富山県立中央病院 2. 富山市民病院 3. 東京都健康安全研究センター

Table 1. Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Streptococci in 2005

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1			1	1		1						2	5	7.4
T-2													0	0.0
T-3													0	0.0
T-4				1		1						1	3	4.4
T-6	4	3	5	2		1			3				18	26.5
T-8													0	0.0
T-9					1								1	1.5
T-11	1			2		4			1	1	1		10	14.7
T-12	1	1	3	1	1	1		1				1	10	14.7
T-13				1	1								2	2.9
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25	2												2	2.9
T-28	1			1	1		2						5	7.4
T-B3264			1						1				2	2.9
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypable	2	1	1	2		2					2		10	14.7
Total	11	5	11	11	4	10	2	1	5	1	3	4	68	100.0

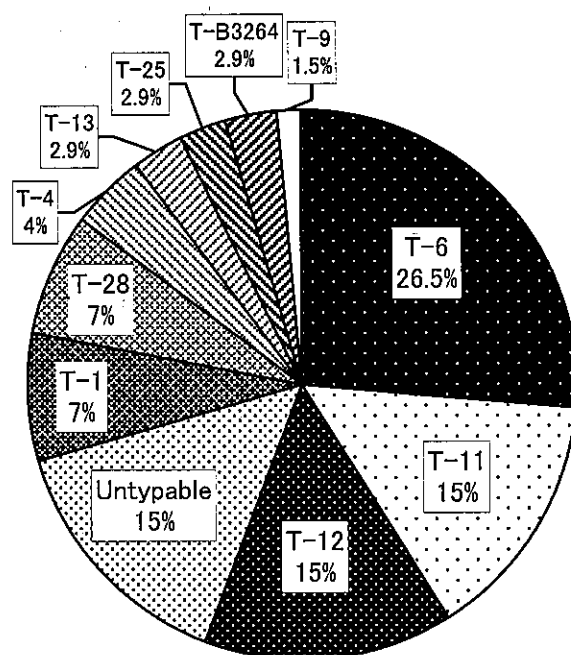


Fig. 1. Proportion of T Serotypes of Clinical Group A Streptococci in 2005

Table 2. Monthly Distribution of Serotypes of Clinical Group B Streptococci in 2005

Type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a		1	1		1	1							4	7.0
I b					1	1		1	1	1		2	7	12.3
II										1			1	1.8
III				1									1	1.8
IV													0	0.0
V	1		1					2	1	1	1	1	8	14.0
VI	3	3	1	1	3	1	3		3	1	4	2	25	43.9
VII													0	0.0
VIII		1	1		1		1				1		5	8.8
Untypable		1			1		2		2				6	10.5
Total	4	6	4	2	7	3	6	3	7	4	6	5	57	100.0

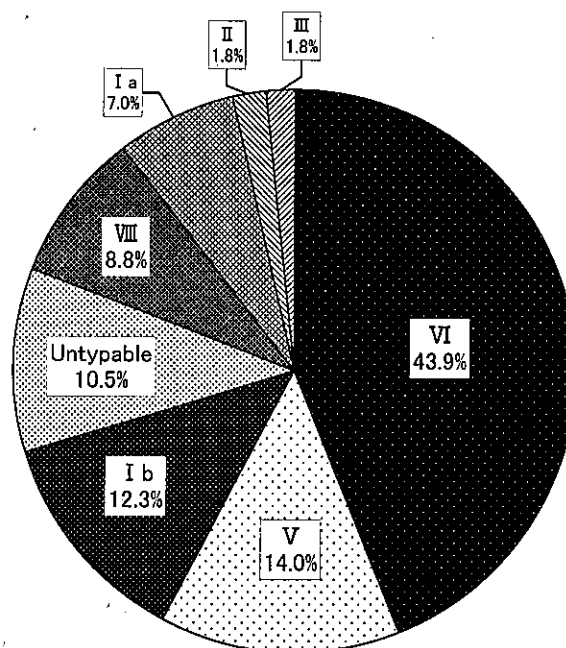


Fig. 2. Proportion of T Serotypes of Clinical Group B Streptococci in 2005

CAM および LCM に対して 7.7% (V 型 1 株) が耐性であった。

A 群溶連菌では、TC 単剤耐性菌が 8 株 (23.5%) であった。B 群溶連菌では、TC, EM, CAM および LCM の 4 剤耐性菌が 1 株 (7.7%), TC 単剤耐性菌が 2 株 (15.4%) であった。B 群溶連菌については調査数が少ないものの、2003 年以降毎年 TC, EM, CAM および LCM の 4 剤耐性菌が検出されており、多剤耐性菌の出現に注意が必要である。A 群, B 群ともに β ラクタム系薬剤 (ABPC, CFDN, CEX, CDTR) に対しての耐性菌は認められなかった。

文献

1. 国立感染症研究所編 (2004). 病原微生物検出情報, 25 巻 10 号, 252-253
2. 富山県衛生研究所編集・発行 (2006). 富山県感染症発生動向調査事業報告書 (平成 17 年), p19
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

Table 3. Antibiotic Susceptibilities of Hemolytic Streptococci in 2005

Group	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Antibiotics									
		ABPC	CFDN	CEX	CDTR	TC	CP	EM	CAM	LCM	
A	>64										
	64					2					
	32					5					
	16					1					

	8							2			
	4						1		2		
	2						33				
	1										
	0.5			33				2	1		
	0.25			1			17		1		5
	0.12						9		1		25
	0.06							27	6		4
	0.03							2*	24		
	0.015	34	4		2						
0.008		30		32							

* $\leq 0.03 \mu\text{g/ml}$

Group	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Antibiotics									
		ABPC	CFDN	CEX	CDTR	TC	CP	EM	CAM	LCM	
B	>64							1		1	
	64					1					
	32					1					
	16					1			1*		

	8										
	4			11			6				
	2			2			7				
	1										
	0.5					3		1			4
	0.25					7			1		8
	0.12	9						6	1		
	0.06	4	2		1			5	10		
	0.03		11		11						
	0.015				1						
0.0075											

* $> 16 \mu\text{g/ml}$

Table 4. Antibiotic Resistance Pattern of Hemolytic Streptococci in 2005

Resistant pattern	No. of strains (%)	
	Group A	Group B
TC, EM, CAM, LCM		1 (7.7)
TC	8 (23.5)	2 (15.4)
Susceptible	26 (76.5)	10 (76.9)
Total	34 (100.0)	13 (100.0)

平成17年度富山県食品衛生検査の精度管理調査 —微生物学的検査—

磯部順子 清水美和子 田中大祐 綿引正則 松澤孝信

Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice
in Toyama Prefecture

Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Daisuke TANAKA, Masanori WATAHIKI
and Takanobu MATSUZAWA

富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき、平成11年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として微生物学的精度管理調査を実施している。平成17年度の微生物学的検査の精度管理調査は、牛乳中に添加した細菌数の測定及び食品中のサルモネラ検査とした。検査用試料は、当研究所で調製、各検査機関に配布し、各々の検査結果の報告を受けて集計と評価を行ったので報告する。

材料及び方法

(1) 参加機関

新川厚生センター、中部厚生センター、高岡厚生センター、砺波厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所

(2) 調査日程

平成18年1月23日～2月17日

(3) 検査項目と検査試料

細菌数測定：菌数が1,000～10,000 cfu/mlとなるよう市販品「枯草菌6633'栄研」を牛乳（常温保存可能な市販牛乳）に添加した。牛乳原液の生菌数は0 cfu/mlであった。

サルモネラ属菌の定性試験：擬似食品は原料を鶏肉ミンチとし、以下に示す3種類を調整した。

使用したミンチのサルモネラによる汚染状況を予備調査したところ、採取部位によってはサルモネラ（*S. Infantis*）が検出された。しかし、ミンチのサルモネ

ラによる汚染は均一ではなく、その汚染菌量もMPN法で130/100gと僅かであった。

(4) 検査方法

今回実施した細菌数測定及びサルモネラ属菌の定性試験は、各機関の検査実施標準作業書(SOP)に準拠することとした。

調査結果

(1) 牛乳中細菌数の測定値の集計

各機関の2回の実測値とその平均である測定値で解析した。解析は標準偏差(SD)、変動係数、Zスコアを活用して全体のバラツキを客観的に判断した。

(2) 鶏肉ミンチ中のサルモネラ属菌検査結果の解析方法

各機関で実施されたサルモネラの検査の詳細は、成績書に記載された検査結果だけではなく、提出された検査手順を記録した資料やワークシートより、検査に使用した培地、分離されたサルモネラの検査項目および性状についても解析し、考察を加えた。

結果の解析

(1) 牛乳の細菌数測定

各機関の成績は表1に示した。報告された測定値(実測値2回を平均した値)の平均は 9.31×10^3 cfu/ml、最大値 1.04×10^4 cfu/ml、最小値 8.30×10^3 cfu/ml、標準偏差(SD)は6.78、変動係数は7.3であった。測定値はいずれも一般的管理限界範囲である平均値 ± 2 SDの範囲内であり、また、変動係数は良好とされる値(10%以下)の範囲内であった。一方、各機関の2回の実測値で解析すると、平均は 9.29×10^3 cfu/ml、標準偏差6.71となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2 \times$ SDの範囲内

試料名	添加細菌
食品 A	<i>Salmonella Enteritidis</i>
食品 B	<i>Citrobacter freundii</i>
食品 C	菌未接種

表1. 牛乳中の生菌数の測定結果

機関名	測定値 (cfu/ml) ^{a)}	実測値	偏差 ^{b)}	Z-スコア ^{c)}
A	9.65×10 ³	10.0 ×10 ³	7.071	1.054
		9.3 ×10 ³	0.071	0.011
B	8.95×10 ³	8.9 ×10 ³	-3.929	-0.586
		9.0 ×10 ³	-2.929	-0.437
C	8.30×10 ³	8.2 ×10 ³	-10.929	-1.629
		8.4 ×10 ³	-8.929	-1.331
D	9.4×10 ³	9.1 ×10 ³	-1.929	-0.288
		9.6 ×10 ³	3.071	0.458
E	8.85×10 ³	8.8 ×10 ³	-4.929	-0.735
		8.9 ×10 ³	-3.929	-0.586
F	1.04×10 ⁴	10.4 ×10 ³	11.071	1.651
		10.4 ×10 ³	11.071	1.651
G	9.6×10 ³	9.5 ×10 ³	2.071	0.309
		9.6 ×10 ³	3.071	0.458
平均値	9.31×10 ³	9.29 ×10 ³		
標準偏差	6.78	6.71		
変動係数	7.3			

a) 成績書に記載されていた2回の実測値の平均

b) log10(測定値-平均値)

c) (偏差/標準偏差)

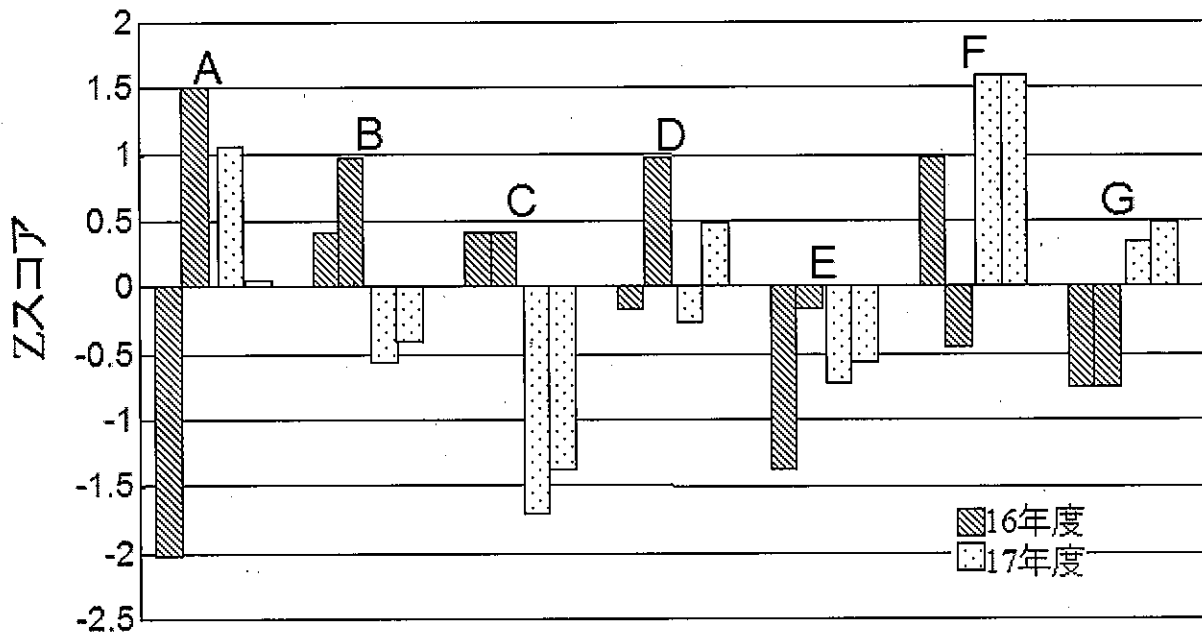


図1. 牛乳中の生菌数測定値の機関別成績
(過去2年間のZスコア値の比較)

表2. サルモネラ属菌検査結果

試料	検査機関	結果	分離サルモネラ血清型
模擬食品 A	A	+	Infantis, Enteritidis
	B	+	Infantis, Enteritidis
	C	+	Enteritidis
	D	+	Simonella O9群
	E	+	Enteritidis
	F	+	Enteritidis
	G	+	Enteritidis
模擬食品 B	A	-	
	B	-	
	C	-	
	D	+	Infantis
	E	+	Infantis
	F	+	Infantis
	G	-	
模擬食品 C	A	-	
	B	-	
	C	+	Infantis
	D	+	Infantis
	E	+	Infantis
	F	+	Infantis
	G	+	Infantis

であった。また、データのバラツキ度合を評価するため、Zスコアを算出した。Zスコアは別名「標準測定」と呼ばれ、「 $Z = (\text{測定値} - \text{測定値平均}) / \text{測定値標準偏差}$ 」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定値の評価をおこなうことができる。判断基準は $|Z| \leq 2$ のとき「良好」、 $2 < |Z| < 3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」、 $3 \leq |Z|$ のとき「改善措置を要する」となっている。今回の調査において、各機関の結果は平均に対するZスコアがいずれも2未満で、測定は「良好」と判断された。

これらの結果から、牛乳の細菌数の測定に関して、いずれの機関もよく管理されていた。また、各々のZスコアを求めてみると、機関によりバラツキ度合に差がみられた。Zスコアが $|Z| \leq 2$ の範囲内にあってもプラス側、マイナス側と差が大きい機関があった。機関Aは平成16、17年度ともにその傾向にあり、改善できるよう施設の中での精度管理の検討が必要かと思われた。担当者は自分のバラツキ度合を把握し、バラツキを少なくする工夫をすることが必要であろう。しかし、これは担当者だけでなく、機関としても実施されるべきである。

また、表記方法として機関DとGが小数点以下1位までの結果としていたが、小数点の3桁目を四捨五

入した結果を記載するよう指示がある場合、小数点以下2位まで記載することが必要である。

(2) サルモネラ属菌の検査

検査試料の項目で記載したように、ミンチ中にサルモネラ (*S. Infantis*) が存在する可能性があることから、今回の調査では管理目標はあくまでも添加したサルモネラ (*S. Enteritidis*) を検出することとした。各機関の成績を試料別に表2に、分離されたサルモネラの検査項目および性状を表3に、また、各機関が検査のために使用した培地を表4に示した。

はじめに試料別の成績(表2)について解析する。

食品A: 試料は *S. Enteritidis* が添加されていた。すべての機関がサルモネラ (*S. Enteritidis*) を検出し、検査が良好に実施されていると思われた。機関A,Bはこの血清型のほかに *S. Infantis* も検出した。これは予備実験で検出されたサルモネラの血清型と同一であることから、ミンチそのものに存在していたサルモネラであると考えられた。

食品B: 試料はサルモネラによく似た性状を示す *Citrobacter freundii* が添加されていた。従って、結果は陰性で正解である。しかし、先に述べたように、*S. Infantis* の存在する試料が配布された機関において

表3. 分離サルモネラの血清型および生化学性状

施設名	血清型名/O 抗原	試料	逆相誘導回数	生化学性状						
				TSI	LIM	VP	SIM	リジン	SC	IPAa)
A	S. Infantis	A	1回	-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
	S. Enteritidis	A	2回	-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
B	Infantis	A		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	-
	Enteritidis	A		-/AGS	+, -, +	-		+	+	-
C	S. Enteritidis	A	1回 (3日観察)	-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	-
	S. Infantis	C	1回	-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	-
D	Salmonella. O9群	A	3回	-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
	S. Infantis	B		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
	S. Infantis	C		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
E	S. Enteritidis	A	2回	-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
	S. Infantis	B		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
	S. Infantis	C		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	
F	Enteritidis	A		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +			
	Infantis	B		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +			
	Infantis	C		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +			
G	S. Enteritidis	A		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	-
	S. Infantis	C		-/AGS	+, -, +	-	+, -, +	+	+	-

a)トリプトファンデアミナーゼ

は、この血清型サルモネラが検出されたものと思われる。機関D,E,FではS. Infantisを検出している。

食品C：試料は何も添加していない、市販ミンチであった。従って、正解は陰性であるが、先に述べたと同じく、S. Infantisの存在するミンチが配布された機関においては、この血清型サルモネラが検出されたものと思われる。機関C~GはS. Infantisを検出した。

次に各機関が検出したサルモネラについて、報告書にある血清型および生化学性状(表3)を比較した。血清型は機関DがSalmonella O9群、その他の機関はS. Enteritidis, Enteritidisあるいはenteritidisと回答した。今回添加したサルモネラはH抗原II相がマイナスの菌であり、I相の抗原吸収に時間を要し、その操作を数回実施した機関もあった。このようにII相がマイナスのサルモネラの場合、マイナスであると決定するのに時間がかかるだけでなく、何回の吸収操作でマイナスと決定するか判断に迷うところである。吸収操作について記載のない機関がどのように決定したかは不明であるが、機関AとDについては詳細に記載されており、いずれもその判断は正しいと思われる。ただし、サルモネラの血清型は学名と異なり、坂崎・田村らの「腸内細菌」によると亜種Iでは固有名詞をそのままローマン体で、頭文字を大文字にして記載し、亜種以外の血清型は従来どおり抗原構造で記入することとされている。したがって、S. Enteritidis, Sal-

monella EnteritidisあるいはSalmonella O群9などと記載されるべきであろう。生化学性状はいずれの機関もSOPに従い、確認されていた。分離されたサルモネラはすべての株が定型的な性状を示していた。トリプトファンデアミナーゼいわゆるIPAテストはSIM培地でも確認できる試験法である。

表4に各機関が使用した培地を記載した。希釈および増菌培地による差異は認められなかった。しかし、選択分離培地については、提出されたワークシートを参考にその分離状況を表5に示したが、明確な差が認められた。この表には多くの機関で使用されたMLCB, CHROMagar Salmonella (以下CHROMagar)及びDHL培地の3種類について、釣菌数あたりのサルモネラと同定された割合を示した。CHROMagarを使用した場合は、増菌培地および検査機関に関係なく、釣菌したコロニーのほとんどがサルモネラと同定され、その同定確率は94.5%と非常に高かった。ついでMLCBの69.2%で、DHLは14.1%と同定確率は低かった。この差の原因の一つは、CHROMagarが特異酵素基質培地であるためサルモネラをコロニー自体の色で識別できるが、他2つはpHや硫化水素産生等の菌の代謝産物による培地の色の変化を見る培地であり、コロニーが密集した場合にはサルモネラを選択することが難しいことにある。また、当所でおこなった試験によると、CHROMagar

表 4. 機関別分離サルモネラと使用培地

施設名	検体名	結果	分離サルモネラ	希釈液	検体量	増菌培地	分離平板
A	食品 A	陽性	S.infantis, S.enteritidis	BPW 培地 (Difco, MERK) EEM 713 培地 (栄研化学)	25 g - 10 g	RV 培地 (栄研器材) ルナ・トリチル酸塩培地 (栄研器材) TT 培地 (栄研器材) リボ・ト培地 (栄研化学)	MLCB 培地 (日本製薬) DHL 培地 (日本製薬) 知研カ-物研培地 (CHROMagar)
	食品 B	陰性					
	食品 C	陰性					
B	食品 A	陽性	Infantis, Enteritidis	BPW (知研ト) L-トリチル加	25 g	RV 培地 (栄研器材)	MLCB (日本) XLD・DHL・ES 物研 II (栄研) 知研カ-物研培地 (知研ト)
	食品 B	陰性					
	食品 C	陰性					
C	食品 A	陽性	S. Enteritidis	BPW 培地 (栄研化学)	25 g	RV 培地 (栄研器材) TT 培地 (栄研化学)	DHL 培地 (日本製薬) ES 物研寒天培地 II (栄研) 知研カ-物研 (CHROMagar)
	食品 B	陰性					
	食品 C	陽性	S. Infantis				
D	食品 A	陽性	Salmonella. O9群	BPW 培地 (知研ト)	25 g	ルナ・トリチル酸塩基礎培地 (栄研器材)	DHL 寒天培地 (日本製薬) 知研カ-物研 (CHROMagar)
	食品 B	陽性	infantis				
	食品 C	陽性	infantis				
E	食品 A	陽性	Enteritidis	緩衝バブト水 (栄研器材)	25 g	RV (栄研器材) TT (栄研器材)	MLCB (日本) DHL (栄研化学) 知研カ-物研 (CHROMagar) ES 物研 II (栄研器材) リボ・ト (栄研化学)
	食品 B	陽性	infantis				
	食品 C	陽性	infantis				
F	食品 A	陽性	Enteritidis	Buffered Pepton Water (OXID)	25 g	Rappaport-Vassiliadis (RV) Enrichment Broth (Oxid) TT Broth Base HAJNA (Difco)	Chromagar Salmonella 知研カ-物研 寒天培地 栄研
	食品 B	陽性	infantis				
	食品 C	陽性	infantis				
G	食品 A	陽性	Enteritidis	Buffered Pepton Water (0.2g/l L-トリチル加, Difco)	25 g	リボ・ト-ト-トリチル加培地 (日本) TT Broth Base Haina (5 g/l ト-ト-トリチル加 8g/l ヨウ化カルシウム加, Difco)	MLCB (日本製薬) CHROMagar Salmonella (CHROMagar)
	食品 B	陰性					
	食品 C	陽性	Infantis				

表5 使用培地によるサルモネラの分離

試料	検査機関	検査結果	RV				TT			
			MLCB	DHL	CHROM	合計 (%)	MLCB	DHL	CHROM	合計 (%)
A	A	+	2/2	0/2	2/2	4/6		1/2	2/2	3/4
	B	+	1/1	1/1	1/1	5/14				
	C	+		0/2	2/2	4/6		0/2	2/2	4/6
	D	+						2/2	3/3	5/5
	E	+	1/1	1/1	1/1	5/5	1/1	0/2	1/1	4/5
	F	+		3/5	5/5	8/10		0/5	40/40	40/45
	G	+	5/5		5/5	10/10	0/7		3/3	3/10
B	A	-	0/1	0/3	0/1	0/5		0/2		0/2
	B	-								
	C	-		0/3		0/6		0/3		0/6
	D	+						0/3	2/2	5/5
	E	+	1/1		2/2	5/5	1/1	0/1		3/4
	F	+		0/10	10/10	10/20		0/10	9/9	9/19
	G	-								
C	A	-			0/4	0/4				
	B	-								
	C	+		2/2	2/2	6/6		2/2	2/2	6/6
	D	+						0/3	3/3	6/6
	E	+	1/1		1/1	3/3		0/10		
	F	+		0/10	9/10	9/20			9/10	9/19
	G	+	5/5		5/1	10/10				
合計 (%)			16/17 (94.1)	7/39 (17.9)	45/51 (88.2)		2/9 (22.2)	5/46 (10.9)	76/77 (98.7)	

は他の培地に比べ、選択性にすぐれ、サルモネラ属以外の菌の発育をかなり抑制することが分かっている。このことは、同定の確率を上げるための培地の選択に関して、日頃の検証や管理が、細菌の正確な同定を効率よく行うために重要であることを示していると思われる。

考 察

細菌数の測定は、細菌検査を行う上での基本的な定量方法であり、同一試料を用いた測定値を比較することで精度管理調査を行うことは非常によい管理方法である。機関内部でも精度管理を実施し、手技の向上を心がけるべきである。

一方、サルモネラ属菌は重要な食中毒の原因菌で、鶏肉や鶏卵との関連性については数多くの報告があり、このような知識を得ることは検査精度向上のために重要である。しかし、食肉製品と鶏卵等では検査法が異なるという現状があり、さらに検査法は日々改良が加えられ、検査担当者は検査だけでなく、情報にも最新

の注意を払わなければならない時代になっている。今回の調査で市販ミンチを使用し、本来の検査状況を再現できるような試料としたが、実際にそのミンチにサルモネラ (S. Infantis) が混入していた。その汚染実態は詳細に調べてないが、菌数は少なく、均一ではなかったと考えられた。したがって今回の調査で S. Infantis の検出結果がばらついた原因のひとつは、配布した試料そのものの汚染状態がばらついていたことによると考えられる。もうひとつの理由は、選択分離培地から釣菌する場合、偶然 S. Enteritidis だけを選んだ可能性も否定できない。しかし、機関 F ではかなり多くの菌を調べても S. Infantis が検出されなかった。後者の理由である可能性はかなり低いと思われる。

今回、使用した培地によるサルモネラ属菌の分離精度のデータは、参考用として配布したワークシートより抜粋し作成したものである。しかし、実際に使用する培地については、検査担当者がその時の状況等により判断されるべきであり、ここで示した培地の選択性については、それぞれの機関でさらに検討し、確認し

ておくことが重要であると思われる。

月16日

2. 坂崎利一他(1992). 腸内細菌<上巻>, p78-79. 近代出版.

文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食1,229号, 平成10年12

平成17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 齊藤行雄

On the External Quality Control of the Quantification of Total Organic Carbon and Bromate in Water

Tomoko KEMMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and Yukio SAITO

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事業は、県内の水質検査機関の参加により平成8年度から継続して実施されてきた。平成17年度は全有機炭素(TOC)および臭素酸について実施された。当所は配布試料の調製、参加機関から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：平成18年2月16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条に規定する登録検査機関3機関、厚生センター・保健所5機関及び当所の計12機関である。
- (3) 実施項目：全有機炭素(TOC)および臭素酸
- (4) 配布試料：TOC用試料は当所にて精製した超純水(MilliQ SP.TOC.)に市販フタル酸水素カリウム標準液(和光純薬製、C:1mg/ml)を添加して作製した20Lを、あらかじめクリーンNLにて洗浄・乾燥し、直前に超純水でゆすいだ1Lガラス瓶に、2回共洗い後小分けしたもので、TOCの濃度範囲は0.5~5.0mg/Lであると明示した。臭素酸測定用試料は当所にて精製した超純水(MilliQ SP.TOC.)に市販臭素酸イオン標準原液(関東化学製、1000mg/l)を添加して作製した2Lを100ml丸型ポリ瓶に2回共洗い後小分けしたもので、臭素酸の濃度範囲は、0.001~0.01mg/Lであると明示した。
- (5) 測定方法及び測定結果：測定は当該検査項目の検査担当者が日常の検査業務と同じ方法を用い試料配布後速やかに開始することとした。測定は、5回の併行測定とし、TOCについては小数点以下1桁で、臭素酸については小数点以下4桁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、所定の様式により当所へ報告することとした。

結果

(1) 全有機炭素(TOC)

TOCについては12機関がすべて参加した。TOC測定用試料を配布当日に測定を行った機関は10機関、翌日に行った機関が2機関であった。

精度管理用試料は配布前日に当所にて精製した超純水に3.0mgC/Lとなるよう市販TOC標準原液を添加し作製した。配布当日に5試料についてビン間変動をみたところ、その変動係数は0.3%とビン間に差はなかった。また、配布当日及び翌日にそれぞれ1試料について5回の併行測定を行なったが、測定値に差はなかった。

各機関から小数点以下1桁で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下2桁まで求め各機関の測定値とした。この測定値を、大きさの順に従いTable 1に示す。各機関から報告されたTOCの検査結果は概ね良好であった。全機関の測定値の平均値±標準偏差は 3.103 ± 0.044 mgC/Lであり、室間変動係数は1.4%と10%を下回っていた。各機関内での併行測定における室内変動係数は、0.0~1.7%とすべて10%未満であり、機関内・機関間のばらつきは小さかった。

TOCの \bar{x} -R管理図をFig.1に示す。機関No.1, 12以外の機関の測定値が平均値±2標準偏差の範囲(3.015~3.191mgC/L)内に収まった。試料の調製濃度3.0mgC/Lを真の値と仮定した場合の回収率が0.9~1.1である範囲(2.70~3.30mgC/L)をはずれた機関はなかった。R管理図においてUCL(上方管理限界)を超えた機関は機関No. 11の1機関であった。

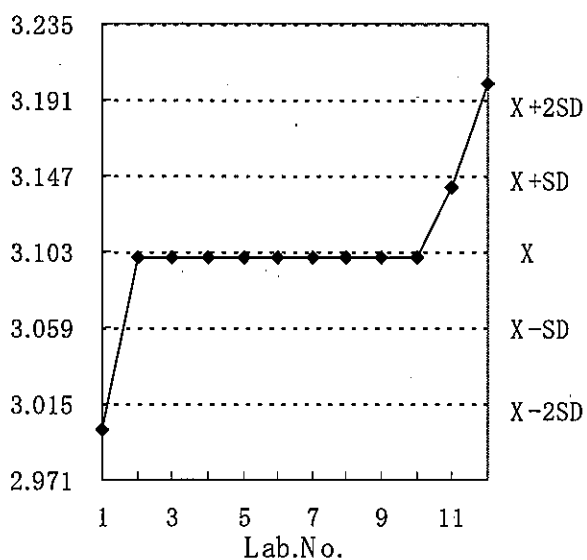
TOCにおけるzスコアの順位をFig.2に示す。機関No. 1,12を除く10機関の|z|は2未満で「満足」と評価された。

TOCは平成15年5月30日付けの水質基準の改正により新たに水質基準となった事項で、経過措置を経て平成17年4月1日より実施されていることから今回精度管

Table 1. Summary of Quantification of TOC

Laboratory No.	TOC (mgC/L) Mean value of 5runs	CV (%)	Recovery (=TOC/3.0)
1	3.00	0.0	1.00
2	3.10	0.0	1.03
3	3.10	0.0	1.03
4	3.10	0.0	1.03
5	3.10	0.0	1.03
6	3.10	0.0	1.03
7	3.10	0.0	1.03
8	3.10	0.0	1.03
9	3.10	0.0	1.03
10	3.10	0.0	1.03
11	3.14	1.7	1.05
12	3.20	0.0	1.07
<hr/>			
Number of lab.	12	12	12
Max	3.20	1.7	1.07
Min	3.00	0.0	1.00
Average	3.103	0.15	1.034
SD	0.044	0.504	0.015
CV	1.4	—	1.4

x (mgC/L)



z-score

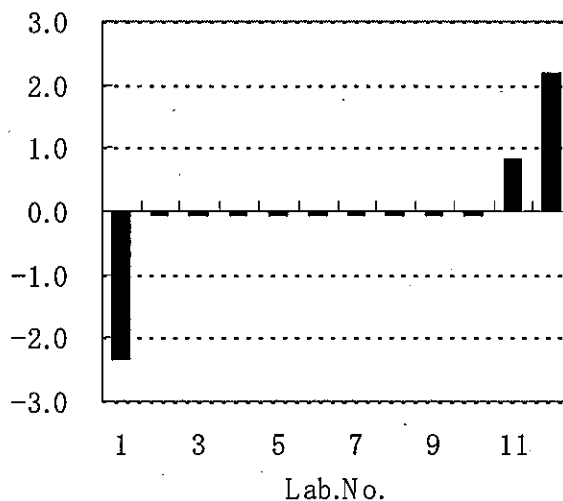


Fig.2 Z-score Order of TOC

R

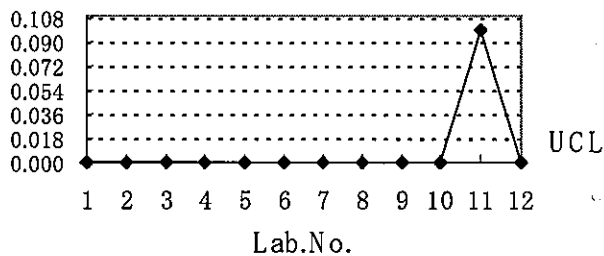


Fig.1 x bar-R Chart of TOC

X: Average
SD: Standard Deviation
UCL: Upper Control Limit

理の対象とした。全機関が島津製作所製全有機体炭素計を用いており、その購入時期は平成15-17年であった。機器のメンテナンスとして、6機関が購入後1-2年経過した時点で触媒、燃焼管等の交換を行っていた。酸、加湿器の水、希釈水の交換については、ほとんどの機関が精度管理にあわせて行なっていた。分析条件もほぼ同一であったが、添加塩酸濃度、注入量において他と異なる機関があった。精製水として超純水を用いた機関が8機関、蒸留水を用いた機関2機関、イオン交換水を用いた機関1機関、購入した高速液体クロマトグラフ用蒸留水を用いた機関1機関であったが、どの機関においても検量線の直線性は0.999以上であった。

(2) 臭素酸

臭素酸については、12機関のうち7機関が参加した。臭素酸測定用検体を配布当日に測定を行った機関は5機関、翌日に行った機関が1機関、4日後に行った機関が1機関であった。

精度管理用試料は配布前日に当所にて精製した超純水に0.004mg/Lとなるよう臭素酸イオン標準原液を添加し作製した。あらかじめ予備実験として冷蔵庫保管により、作製後1週間は測定値に変化が見られないことを確認した。

各機関から小数点以下4桁で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下4桁まで求め各機関の測定値とした。この測定値を、大きさの順に従いTable 2に示す。TOCにおける機関No.と臭素酸のそれは一致しない。報告された臭素酸の検査結果は概ね良好であった。全機関の測定値の平均値±標準偏差は 0.00389 ± 0.00028 mg/Lであり、室間変動係数は7.2%と10%を下回っていた。Grubbsの異常値検定(危険率5%)の結果、棄却される値はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数は、0.0~5.9%とすべて10%未満であり、機関内・機関間のばらつきは小さかった。

臭素酸の \bar{x} -R 管理図を Fig.3に示す。すべての

機関の測定値が平均値±2標準偏差の範囲(0.00333~0.00445mg/L)内に収まった。試料の調製濃度0.004mg/Lを真の値と仮定した場合の回収率が0.9~1.1である範囲(0.0036~0.0044mg/L)をはずれた機関は1機関(機関No. 1)であった。R管理図においてUCL(上方管理限界)を超えた機関は1機関(機関No. 7)であった。

臭素酸におけるzスコアの順位をFig.4に示す。すべての機関の|z|は2未満で「満足」と評価された。

臭素酸もTOC同様、平成15年5月30日付けの水質基準の改正により新たに水質基準となった事項で、平成16年4月1日より実施されている。全機関が臭素酸の定量下限値を0.001mg/Lとしていた。検量線作成にあたり、ピーク面積を用いた機関が6機関、ピーク高さを用いた機関が1機関であった。ピーク高さを用いた機関は、ベースラインが安定しないため通常はピーク面積を用いているところを今回はピーク高さとのことであった。やはり、ベースラインが安定しないためピーク高さを用いることを検討したいという機関もあり、定量下限値が低いため、各機関とも機器のメンテナンス・安定化に注意する必要がある。

考 察

今年度の水道水質精度管理においては、ともに新たに水質基準項目となったTOCと臭素酸を対象とし、それぞれ超純水に標準原液を添加した試料を用いた。両者ともに機関内・機関間のばらつきが小さく、報告された検査結果は概ね良好であった。

TOCについては全12機関が島津製作所製全有機体炭素計を用いており、分析条件もほぼ同一であった。購入後1-2年経過した分析機器がほとんどで、今後機器のメンテナンスが必要となる。

臭素酸については、定量下限値が0.001mg/L(基準値の1/10)と低いため、ベースラインが安定している必要があり、機器のメンテナンスが重要である。

Table 2. Summary of Quantification of Bromate

Laboratory No.	Bromate (mg/L) Mean value of 5runs	CV (%)	Recovery (=Bromate/0.004)
1	0.0035	0.0	0.88
2	0.0037	2.2	0.93
3	0.0038	1.2	0.96
4	0.0039	1.2	0.97
5	0.0039	2.3	0.99
6	0.0040	1.4	0.99
7	0.0044	5.9	1.11
<hr/>			
Number of lab.	7	7	7
Max	0.0044	5.9	1.11
Min	0.0035	0.0	0.88
Average	0.00389	2.01	0.973
SD	0.00028	1.86	0.070
CV	7.2	—	7.2

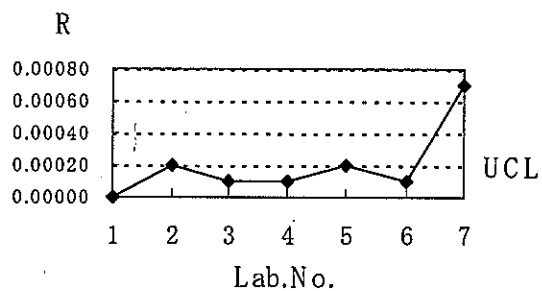
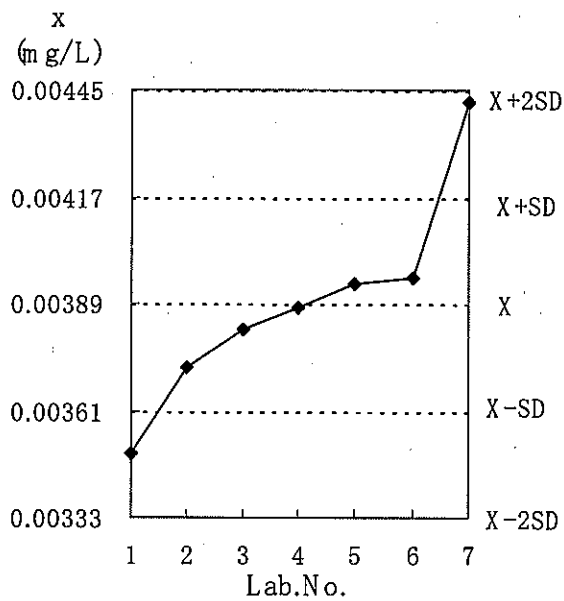


Fig.3 x bar-R Chart of Bromate
 X: Average
 SD: Standard Deviation
 UCL: Upper Control Limit

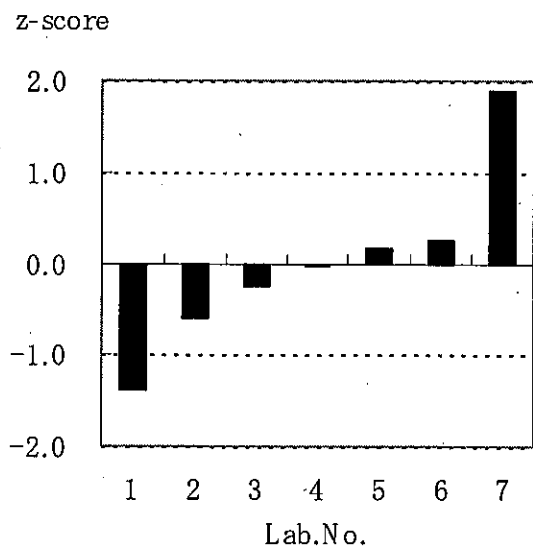


Fig.4 Z-score Order of Bromate

平成17年度富山県内食品衛生（理化学）検査機関の精度管理調査について

中山恵理子 大戸幹也 齊藤行雄 松澤孝信

Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice
In Toyama Prefecture

Eriko NAKAYAMA, Mikiya OHTO, Yukio SAITO and Takanobu MATSUZAWA

本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき、平成11年度から県内の公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を実施している[2-7]。今年度は、トマトペースト中の残留農薬試験について実施し、調査項目をピレスロイド系農薬のフェンバレレートとした。各食品衛生検査機関に試料を配布し、各検査機関の検査結果の報告を求め、当所で測定値を集計して解析と評価を行った。今回、その結果について報告する。

調査方法：

- (1) 実施期間：平成18年1月23日～2月10日（測定期間：平成18年1月23日～2月3日）。
- (2) 対象および調査項目：トマトペースト中の農薬（フェンバレレート）定量試験。
- (3) 調査試料の作製及び保管方法：予め農薬が検出されないことを確認したトマトをペースト状にし、十分混合後、各検査機関の作業手順書を参考に、検査使用重量分（1試料あたり10.0g、一機関分のみ5.0g）を20mlの共栓試験管に分取して秤量し、60試料分作成した。各試料に添加用フェンバレレートのアセトン溶液（5 μ g/ml $f=0.970$ ）0.1ml（衛生研究所用のみ0.05ml）を添加し、密栓した後、配布時まで試験品保管庫（-24～-28 $^{\circ}$ C）で保管した。
- (4) 測定方法及び検査結果等の処理：各検査機関の標準作業書に基づいて実施し、5回併行測定した値（単位は μ g/gで、有効数字4桁までの定量値）及びその検査経過記録の提出を求め、各検査機関の測定結果の集計と評価を行った。

結果と考察：

集計結果をTable 1に示した。測定機関数は5機関で、測定機関の測定平均値の最大値は0.04886 μ g/g、最小値は0.04630 μ g/g、その平均値（全機関測定値範囲の平均値） \pm 標準偏差は、0.04785 \pm 0.000958 μ g/gであった。機関間の変動係数は2.00%であった。各

機関間の併行測定における機関内変動係数は2.13～6.25%の範囲にあり、その平均値は3.93%であった。

定量に際し、GC-ECD使用機関である3機関が検出したピークのピーク高さを、GC/MSを用いた2機関がピーク面積を用い、それぞれフェンバレレートの2本の異性体の合計値について検量線を作成し、測定結果を算出していた。

検量線の濃度範囲は、1機関を除く4機関について、試料から調製した試験溶液の濃度を含んでおり、かつその検量線は、相関係数が0.99以上の良好な直線性が得られていた。

フェンバレレート添加濃度（0.0485 μ g/g）を仮に真の含有量（仮定真値）とした場合、最も測定平均値が低いB機関の誤差率は、-4.5%であり、最も測定平均値の高いA機関の誤差率は0.7%であった。誤差率は全ての機関が-10%～+10%の範囲にあって「良好」とであると評価できた[8]。

\bar{X} -R管理図[8,9]を作成してFig. 1に示す。 \bar{X} 管理図においては、検査機関全てが \bar{X} 値（平均値）が \bar{X} 値（全機関測定値範囲の平均値） $\pm 2 \times SD$ （標準偏差）の範囲内にあり、「良好」であった。R管理図においても検査機関全てが上方管理限界（UCL）以内にあり「良好」と判断できた。

zスコアの順位をFig. 2に示した。全ての機関についてその絶対値は2以内であり、「充管理されている」と判断できた。

本調査の測定対象項目であるフェンバレレートを含むピレスロイド系農薬の場合、異性体を持つため、クロマトグラム上複数のピークが検出される。そのため、定量計算に際し、異性体ピークの高さ、あるいは面積についてそれぞれ合計して計算する必要がある。

今回の調査においても、試料から検出される異性体ピークの高さ（面積）の比率と各機関で調製した標準溶液から検出される異性体ピークの比率がかなり異なるとして複数の参加機関から報告があった。当初は農薬が古くなることで混合比が変わる可能性も考えていた

が、参加機関から提出された標準品のクロマトグラムを比較していると、新しい、古いが主要因であるとは言いきれないことが分かった。同一メーカーの同一名称の農薬標準品を使用しているも、異性体比率は同一ではなく、製造ロット毎に異性体比率が常に一定である保証は無いと言えそうである。同じように考えて、標準品の異性体比率と試料中の異性体比率が同一である保証は無いし、農産物中で各異性体の代謝分解速度が一定である保証も無い。同一農薬標準品で、表示純度が同じであっても、製造メーカーが違うためか、試薬の状態（性状）から異なっているものもある。しかしながら、農薬の基準値は成分名で定められているので、フェンバレレートを含め、異性体ピークが複数存在する農薬の場合でも、それぞれ異性体ピークの合計値に基づいて定量を行えば、特に大きな問題は無いものと考えられる。実際に、今回の調査結果でも、機関間の報告値のばらつきは非常に小さかった。

ピーク高さ法あるいは面積法どちらを採るかについては、検討した結果、試験溶液中の夾雑物質が少ない場合では、どちらを採用しても大差は無かった。また、それぞれの方法では、波形処理方法によるばらつきはそれほど大きくないことが分かった。しかし、夾雑物質の影響が大きい場合にはピーク高さ法を採るほうが有効であると考えられる。

前処理での精製が充分に行われてないと、測定用試料中の夾雑物質の影響が大きくなり、その結果、標準

液に比べ、試料の測定値が高め（場合によっては低め）になる結果を与えることがある。特に低濃度の場合にその影響が大きく現れるため、注意が必要である。十分な精製を心がけることが肝要であるが、農薬を含まない試料の抽出液に標準品を添加して検量線用標準液とすることで条件を近づけることも有効な手段となる。

文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食第1,229号. 平成10年1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. 齊藤行雄, 大戸幹也, 松永明信, 坂森寛治 (2004). 富山衛研年報, 27, 163-166.
7. 大戸幹也, 齊藤行雄, 坂森寛治 (2005). 富山衛研年報, 28, 177-180.
8. 日本水道協会(2001). 上水試験法解説編.p19-29
9. 日本規格協会(1994). JIS Z 9021

Table 1. Analytical Results of Fenvalerate in Quality Control Sample

検査機関名	測定平均値 [$\mu\text{g/g}$]	変動係数 [%]	測定値範囲 [$\mu\text{g/g}$]
A	0.0489	2.13	0.0026
B	0.0463	6.25	0.0059
C	0.0481	2.48	0.0030
D	0.0477	6.10	0.0059
E	0.0483	2.70	0.0036

機関数	5	-	-
最大値	0.0489	6.25	0.0059
最小値	0.0463	2.13	0.0026
平均値 (\bar{X})	0.04785	3.93	0.0042
標準偏差 (SD)	0.000958	-	-
変動係数 CV [%]	2.00	-	-

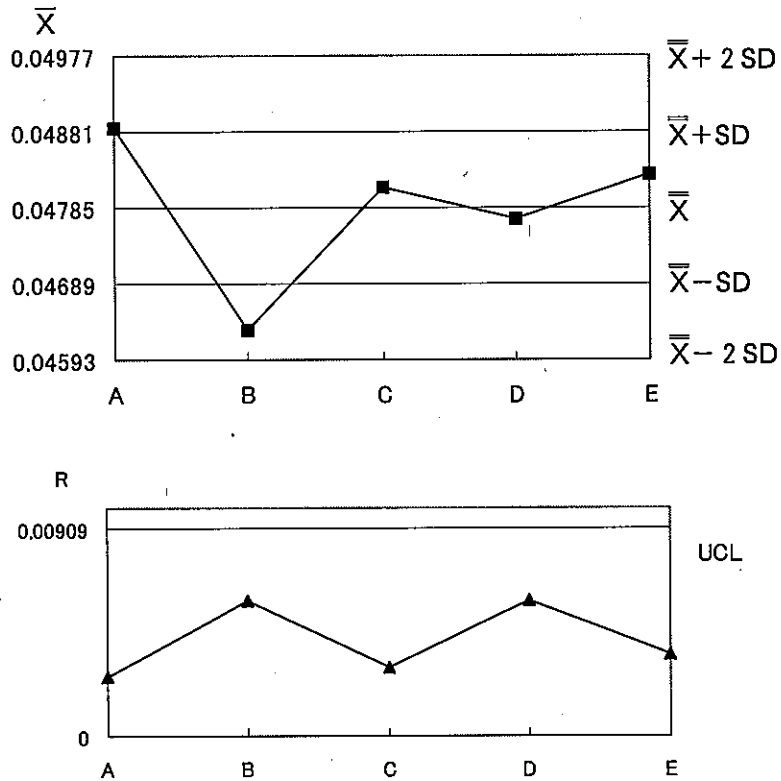


Fig.1. \bar{X} -R control chart of Fenvalerate

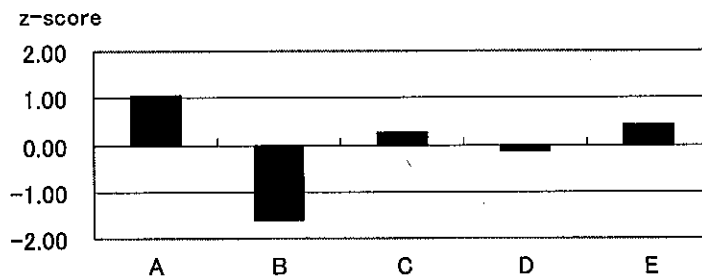


Fig.2. z-score of Fenvalerate

歩数計を使った運動プログラムにおける運動継続に関連する要因

堀井裕子 田中朋子 長瀬博文 荒谷哲雄 大下喜子¹ 山上孝司²

Factors Related to Exercise Adherence in the Walking Program Using a Pedometer

Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI, Yoshiko OHSHITA¹ and Takashi YAMAGAMI²

肥満の改善や生活習慣病の予防には運動習慣を持つことが重要であり、様々な運動実践の場が提供されている。しかし、はじめた運動を継続させ習慣として定着させるのは容易ではなく、運動習慣形成には個人の生活習慣や心理的な要因が大きくかかわると考えられる[1]。そこで、本調査では長期間記録型万歩計(以下ライフコーダ)を使った運動プログラムへの参加者が、運動を続けるのに励みとした要因と運動量を調査し、運動継続に関連する要因を検討した。

対象および方法：対象は県内のウォーキング推進活動を展開しているN工場従業員で、今回の調査に同意した男性22名(36-56歳)である。調査の概要を図1に示した。ウォーキング推進活動期間3ヶ月〔運動推進期間〕(H15.9-12)、その後の観察期間3ヶ月〔観察期間〕(H15.12-H16.3)の計6ヶ月間ライフコーダ(スズケン社製)で運動量を記録し、その4ヶ月後〔追跡時〕(H16.7ライフコーダ非装着)に追跡調査を行った。ウォーキング推進活動期間には昼休み中に工場敷地内でウォーキングを実施し、その後の期間は全体での運動活動はしなかった。ライフコーダ装着期間中(運動推進期間、

観察期間)は定期的に運動状況レポートを打ち出し、個々人が運動量の確認をすることとした。調査項目は、開始時、3、6ヶ月後、追跡時の体重測定、質問票調査(運動継続の要因[3ヶ月後]、歩数計使用の有無[追跡時])である。運動継続の要因としては以下の3項目

1. ライフコーダの解析結果をみることで運動を続けられた(以下、ライフコーダ)、2. 一緒に運動する仲間がいたから運動を続けられた(以下、仲間)、3. 体調改善などの効果が感じられたので続けられた(以下、体調改善)、のそれぞれに該当するか否かを質問票で聞き、それぞれの運動継続要因と歩数、体重との関連を検討した。なお、本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会の承認を得た。

結果および考察：全対象者の開始時、3ヶ月後、6ヶ月後、追跡時の体重を表1に示した。調査期間中、体重には有意な変化はみられなかった

運動推進期間終了時に調査した運動継続の各要因について、励みになったと答えたもの(有効群)と励みにならなかったと答えたもの(非有効群)に分け、運動推進期間の歩数を比較した(表2)。いずれの要因に

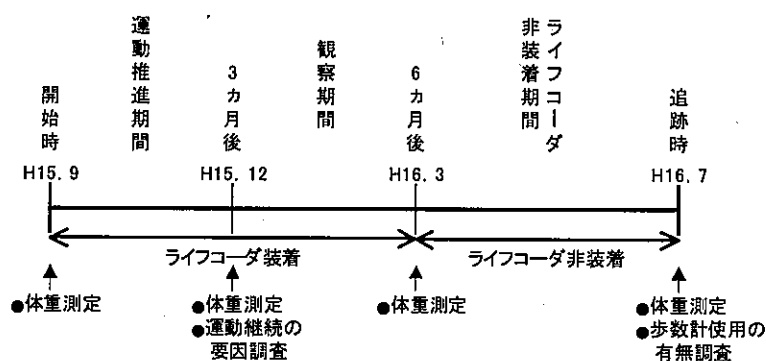


図1 調査の概要

1. 熊本県立大学 2. 北陸予防医学協会

表1 対象者の身長、体重測定値

	n=21			
	身長(cm)		体重(kg)	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差
開始時	169.1	5.6	72.7	7.3
3ヵ月後	—	—	73.1	7.2
6ヵ月後	—	—	72.3	7.1
追跡時	—	—	71.9	6.7

表2 運動継続要因別運動推進期間の歩数

要因	有効群			非有効群		
	人数	平均	標準偏差	人数	平均	標準偏差
仲間	16	9969	3189	6	9535	531
ライフコーダ	13	10185	2773	9	9368	2871
体調改善	11	9070	682	11	10631	940

においても、有効群と非有効群の間に歩数の有意な差はみられなかったものの、"仲間"と"ライフコーダ"では有効群の歩数が多い傾向であったのに対して、"体調改善"では有効群の歩数が少ない傾向を示し、運動推進期間には仲間、ライフコーダが有効であったものが運動を多く実施できたと考えられた。

次に、運動推進期間において運動継続に有効であった"仲間"と"ライフコーダ"の2要因について、その有無別で対象者を"仲間とライフコーダ有効(11人)"、"仲間のみ有効(5人)"、"ライフコーダのみ有効(2人)"、"仲間、ライフコーダ共に非有効(4人)"の4群に分け、運動推進期間とその後の観察期間の歩数、体重変化を比較した(図2, 3)。歩数については、全体では運動推進期間に比べて観察期間は有意に減少していた。継続要因群別では、"仲間とライフコーダが有効"群では歩数はほとんど減少していなかったが(-166歩)、"仲間のみ有効"(-1635歩)、"ライフコーダのみ有効"群(-2630歩)では大きく減少していた。体重変化については、全体では運動推進期間に体重は増加したものの(+0.3kg)、観察期間には減少し(-0.7kg)、両期間の体重変化量には有意な差があった($p<0.05$)。継続要因群別では、"仲間とライフコーダが有効"群において観察期間に体重が大きく減少し(-1.7kg)、運動推進期間の体重変化量と有意差があった($p<0.05$)。

次に、観察期間において運動が継続できた"仲間とライフコーダ有効"群について、追跡時の歩数計使用の有無で、観察期間終了時から追跡時までの体重変化量を比較した(図4)。歩数計ありでは体重が引き続き減少する傾向を示したが、歩数計なしは増加し、この期間の体重変化量には歩数計の有無で有意な差がみられた($p<0.05$)。

今回の運動プログラムは、運動推進期間終了後は特に全体での運動指導はなく、ライフコーダのデータの確認のみおこなうという内容である。それにもかかわらず、"ライフコーダと仲間"が有効だった群では、運動指導が無い時期においても歩数が減少せず、運動が継続していたことから、自発的な運動の継続には、自分の運動量を自分で把握できるようにすることと共に運動の仲間をつくるようにすることが有効要因であると考えられた。運動習慣への動機づけについて、ライフコーダと同様な加速度計を使用しその有用性を検討した調査においても、運動による消費エネルギー量の定量的な把握が有用であると報告され、加えて記録をつけることによる反省を行える余裕のある時間を持つことが重要であると報告されている[2]。さらに、今回の調査では、運動を継続できた"仲間とライフコーダ有効"群においてライフコーダ装着終了後も歩数計を自発的に着けていたものでは体重が減少傾向を示し

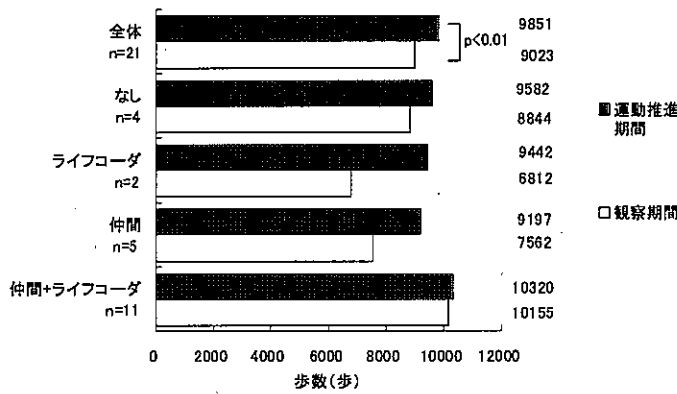


図2 運動継続の要因別，運動推進期間と観察期間の歩数の比較
図中の数値は各群の歩数平均値

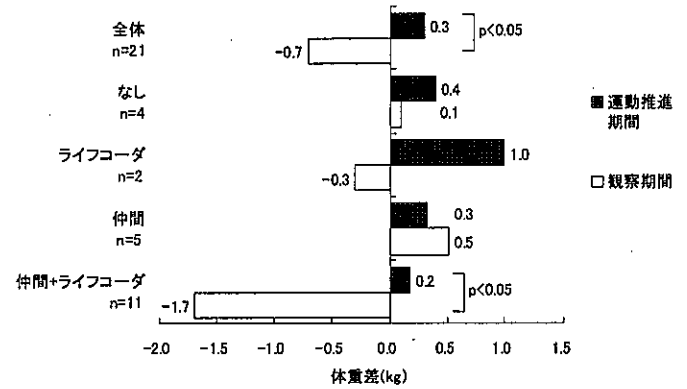


図3 運動継続の要因別，運動推進期間と観察期間の体重変化
図中の数値は各群の体重平均値

たのに対し，歩数計を着けていなかったものでは体重が増加傾向を示した。この歩数計を着けていたものについて追跡時のおおよその1日歩数を調査したところ，約9,500歩であり，それらの観察期間の歩数（平均9,748歩）と差はみられなかったことから，歩数計を使用するという行動がその後の運動の継続につながったと考えられた。

本調査では，運動量を自分で定量的に把握することができるツール（ライフコーダ）を用いた運動プログラムを実施し，ライフコーダの使用は運動習慣の形成およびその後の運動継続のための動機づけに有用であることが明らかとなった。運動継続の要因としては運動の仲間を持つことも重要であることが示され，今後さらに生活習慣や家庭環境など他の要因についても検討したいと考えている。

この調査研究は，文部科学省科学研究費補助金基盤研究(C) 16500469の一部補助を受けた

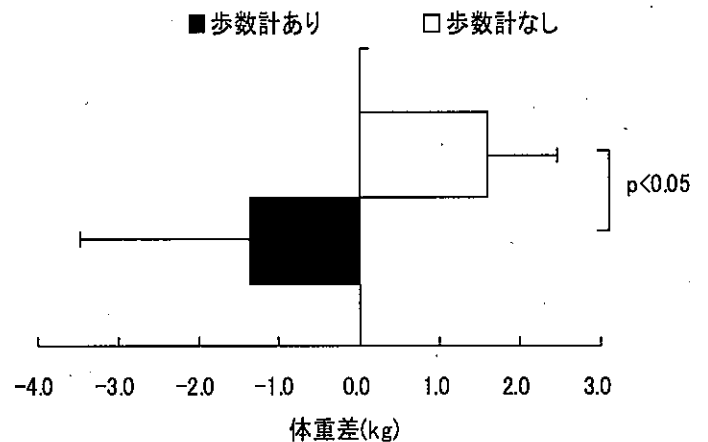


図4 仲間とライフコーダ有効群における歩数計使用の有無別体重差

文 献

1. 村上雅彦(2005). 体育の科学, 55, 10-14.
2. 山田誠二(1991). 産業医科大学雑誌, 13, 235-240.

小学生の尿中アルキルリン酸検出状況

中崎美峰子 新村哲夫 荒谷哲雄

Detection of Urinary Alkylphosphates among School Children

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Tetsuo ARATANI

尿中のアルキルリン酸は、アルキルリン酸エステル型の有機リン系農薬グループに共通の代謝物であり、これらの農薬に対する曝露指標として用いられる。我々はこれまで、有機リン系農薬に対して職業的な曝露のない一般住民において、年間を通して尿中にアルキルリン酸が検出されること、検出率や濃度レベルが季節によって異なることを報告した[1, 2]。

今回は、学童を対象として尿中アルキルリン酸排泄状況の調査を行ったので報告する。

対象と方法：対象は、富山県内の1小学校の児童246名(1学年から6学年)で、このうち保護者の承諾が得られた218名について、学校の健康診断の際に提出された尿の一部を提供してもらい、分析に供した。

測定項目はアルキルリン酸としてジメチルリン酸(DMP)、ジメチルチオリン酸(DMTP)、ジエチルリン酸(DEP)、ジエチルチオリン酸(DETP)の4種とクレアチニンである。アルキルリン酸は前報[2]と同様にFPD-GCにて分析した。検出下限値は、DMPが $0.7 \mu\text{mol/l}$ 、DMTP、DEP、DETPは $0.5 \mu\text{mol/l}$ であった。

結果および考察：各種アルキルリン酸の検出率を学年別に Table 1 に示した。最も検出率が高かったのはDMPであり、DETPは最も検出率が低かった。DMPとDMTPをあわせてジメチル型、DEPとDETPをあわせてジエチル型とすると、ジメチル型

の検出率は100%、ジエチル型は76.1%となり、ジメチル型の検出率が有意に高かった($p < 0.001$)。アルキルリン酸の検出率に学年による違いは見られなかった。

各アルキルリン酸濃度の50および90パーセンタイル値を学年ごとに Table 2 に示した。いずれの学年でもDMTPの濃度レベルが最も高く、ジエチル型はジメチル型に比べて低いレベルであった。2003年に発表された米国CDCの報告書「Second National Report of Human Exposure to Environmental Chemicals」[3]から、米国の6~11歳の471名におけるデータを参照し比較したところ、今回の調査結果は、DMPがCDCのデータよりやや高いものの、DMTP、DEP、DETPはほぼ同レベルと考えられた。

検出限界以下のものに検出下限値の1/2値を与え、ジメチル型、ジエチル型それぞれのアルキルリン酸濃度の幾何平均値を算出したところ、ジメチル型は $0.105 \mu\text{mol/l}$ 、ジエチル型は $0.011 \mu\text{mol/l}$ であった。これは成人6名の追跡調査[2]における同時期の濃度レベルに比べると、やや高い値であった。学年別にみると(Fig.1)、低学年でジメチル型の濃度がやや高い傾向がみられ、クレアチニン補正值では実測値でみられた傾向がより顕著となり、6学年のジメチル型濃度に比べて1, 2, 3学年が有意に高かった($p < 0.05$)。尿中クレアチニン値はその人の筋肉量を反映するといわれており、今回の調査でも成人の値に近い高学年に比べて低学年のクレアチニン値が低かったため、補正值がより高値となったものと考えられた。

Table 1. Detection rate of urinary alkylphosphates (%)

age	(grade)	n	DMP	DMTP	DEP	DETP
6	(1st)	37	97.3	97.3	75.7	24.3
7	(2nd)	43	100	97.7	79.1	11.6
8	(3rd)	37	100	100	73	32.4
9	(4th)	36	100	97.2	86.1	19.4
10	(5th)	35	100	97.1	60	14.3
11	(6th)	30	100	96.7	80	16.7
total		218	99.5	97.7	75.7	19.7

Table 2. Selected percentiles of urinary alkylphosphate concentrations ($\mu\text{g/l}$)

age	(grade)	DMP		DMTP		DEP		DETP	
		50%	90%	50%	90%	50%	90%	50%	90%
6	(1st)	8.5	20.2	10.7	39.2	2.0	7.8	<0.5	2.7
7	(2nd)	6.0	12.5	15.2	38.6	1.4	4.8	<0.5	<0.5
8	(3rd)	8.4	20.1	10.7	50.2	2.0	11.0	<0.5	3.8
9	(4th)	8.6	15.2	10.5	25.4	2.0	4.4	<0.5	0.6
10	(5th)	8.7	15.5	8.6	18.8	1.2	4.9	<0.5	<0.5
11	(6th)	6.3	9.6	7.9	20.4	1.6	4.1	<0.5	0.6
total		7.6	15.4	10.6	37.2	1.6	5.6	<0.5	2.0
6~11*		1.0	10.0	4.1	40.0	1.4	10.0	0.59	1.7

* Reported by CDC (2003)

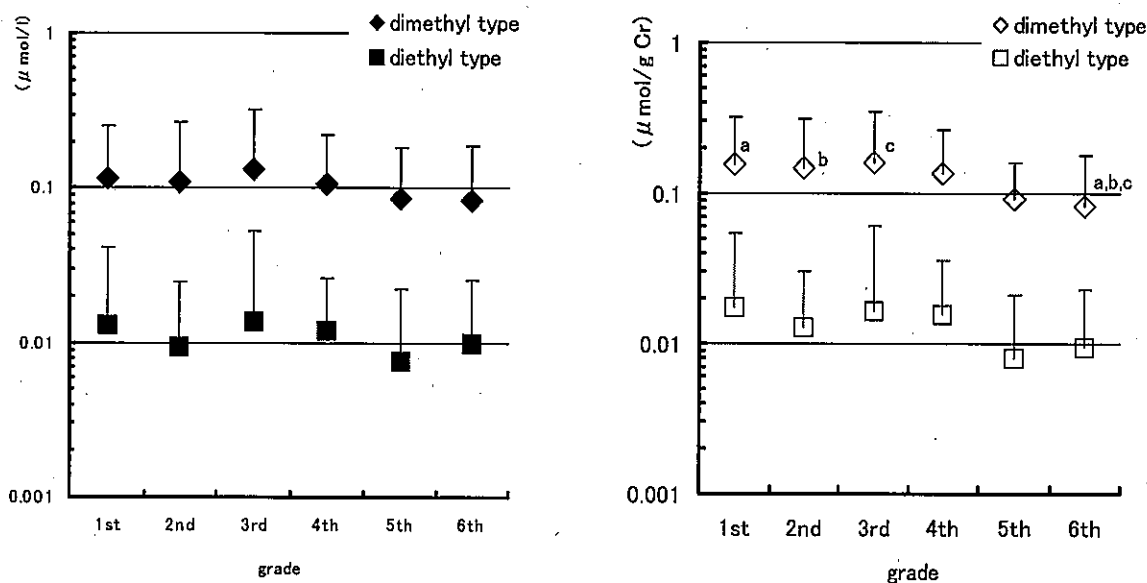


Fig.1. Geometric mean of urinary alkylphosphate concentrations in school children (in micromole/liter and creatinine adjusted)
a,b,c : significantly different, $p < 0.05$

対象となった小学校は、市街地近郊の田園地帯に近い住宅地に位置する。採尿の時期は4月下旬であり、殺虫剤等が使用される時期ではないが、分析した検体のすべてから1種以上のアルキルリン酸が検出され、学童についても成人と同様に、有機リン系農薬に対する恒常的な曝露があることが示唆された。今後、幅広い年齢層や、居住環境の異なる集団等に対象を広げ、有機リン系農薬に対する曝露状況についてさらに検討を進めたい。

謝辞：本調査の実施に当たり、ご協力いただいた小学校の教諭、児童ならびに保護者の方々、教育委員会の関係各位に対し、心から感謝いたします。

文 献

1. 中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄 (2003). 富山衛研年報, 26, 140-143.
2. 中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄 (2005). 富山衛研年報, 28, 134-137.
3. Centers for Disease Control and Prevention (2003). Second National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, 159-172.

4. 業

績



(1) 誌 上 発 表

[原 著]

1) ELISA による濾紙血液中17- α -Hydroxyprogesterone(17-OHP)測定の実験簡易化の試み

九曜雅子, 米田 豊

日本マス・スクリーニング学会誌, 15(3), 69-74, 2005

先天性副腎過形成症のマス・スクリーニング用キットである『ENZAPLARTE Neo-17- α -OHP』(バイエルメディカル社)を使用して, 17-OHPの測定操作を簡易化するために測定条件(抗原抗体反応温度, 反応時間, 発色試薬濃度)の検討を行った。その結果, 発色試薬の濃度は測定値に影響しないことが判明した。このことから, 短時間法(抗原抗体反応4時間法)とOver Night法(同20時間法)では発色試薬の濃度を替える必要がなくなり, 従来は, 濃度の異なる発色試薬が2種類キットに添付されていたものが, 一濃度に一本化することが可能となった。これは, 操作ミスの減少にも繋がるものと考えられた。

また, 一般新生児の測定値は, 温度や時間の設定条件により有意に異なるため, それぞれの測定条件での測定値の分布を把握し, 20時間法と4時間法のそれぞれの測定条件でのカットオフ値を設定する必要があると考えられた。

2) Birth after intracytoplasmic sperm injection of ejaculated spermatozoa from a man with mosaic Klinefelter's syndrome

Takuya Akashi*, Hideki Fuse*, Yasuo Kojima*, Mikiko Hayashi, Sachiko Honda

Asian Journal of Andrology 7(2),217-220,2005

Aim:To report a birth after intracytoplasmic sperm injection(ICSI) of ejaculated spermatozoa from a man with mosaic Klinefelter's syndrome detected by fluorescence in situ hybridization(FISH) analysis. Methods:A-35-year-old man with a normal appearance consulted our hospital because of sterility over a 5-year period.Chromosome analysis showed low-incidence mosaic Klinefelter's syndrome.Using FISH,we examined 200 ejaculated spermatozoa and no hyperploidy was found. Results:The 33-year-old female partner of the male patient underwent an uncomplicated controlled ovarian hyperstimulation sequence using a combined recombinant-follicle stimulating hormone (rec-FSH)+human menopausal gonadotrophin(hMG) protocol, following late luteal phase pituitary down regulation.This culminated in the retrieval of seven oocytes,six of which were fertilized with ICSI.One ICSI attempt led to clinical pregnancy with a healthy baby girl. Conclusion:We report a male patient with low-incidence mosaic Klinefelter's syndrome whose ejaculated spermatozoa were identified as being haploid by FISH before ICSI,leading to the successful pregnancy of his wife and the birth of a healthy baby girl.

3) Nordihydroguaiaretic acid (NDGA) blocks the differentiation of C2C12 myoblast cells

Hidenori Ito*, Hiroshi Ueda*, Ikuko Iwamoto*, Yutaka Inaguma*, Takenori Takizawa, Tomiko Asano*, Kanefusa Kato*

Journal of Cellular Physiology, 202, 874-879, 2005

Addition of nordihydroguaiaretic acid (NDGA) to the differentiation medium of C2C12 mouse myoblast cells caused severe inhibition of the formation of myotubes and suppressed differentiation-dependent elevation in the levels of the creatine kinase M isozyme (CKM). Under these conditions, NDGA did not cause significant increase of damaged cells, as detected by annexin-V-FITC assay, or induction of heat shock proteins, known to be a response against extracellular stress. The results suggest that NDGA itself is not toxic but can effectively blocks the differentiation-dependent increase of CKM during C2C12 differentiation. The levels of muscle specific bHLH proteins MyoD, Myf5, and myogenin were also decreased by addition of NDGA, indicating a block of the initial step of the myogenesis through downregulation of muscle specific genes. NDGA is known to be a lipoxygenase inhibitor but other examples, like MK-886 and CDC, did not exert the same effects on differentiation of muscle cells, indicating that mechanisms of NDGA action are independent of its influence on lipoxygenase.

4) Endoplasmic reticulum stress induces the phosphorylation of small stress heat shock protein, Hsp27

Hidenori Ito*, Ikuko Iwamoto*, Yutaka Inaguma*, Takenori Takizawa, Koh-ichi Nagata*, Tomiko Asano*, Kanefusa Kato*

Journal of Cellular Biochemistry, 95 932-941 2005

There are several reports describing participation of small heat shock proteins (sHsps) in cellular protein quality control. In this study, we estimated the endoplasmic reticulum (ER) stress-induced response of Hsp27 and alphaB-crystallin in mammalian cells. Treatment targeting the ER with tunicamycin or thapsigargin induced the phosphorylation of Hsp27 but not of alphaB-crystallin in U373 MG cells, increase being observed after 2-10 h and decline at 24 h. Similar phosphorylation of Hsp27 by ER stress was also observed with U251 MG and HeLa but not in COS cells and could be blocked using SB203580, an inhibitor of p38 MAP kinase. Other protein kinase inhibitors, like Go6983, PD98059, and SP600125, inhibitors of protein kinase C (PKC), p44/42 MAP kinase, and JNK, respectively, were without major influence. Prolonged treatment with tunicamycin but not thapsigargin for 48 h caused the second induction of the phosphorylation of Hsp27 in U251 MG cells. Under these conditions, the intense perinuclear staining of Hsp27, with some features of aggresomes, was observed in 10%-20% of the cells.

5) Augmentation of fatality of influenza in mice by inhibition of phagocytosis

Yuichi Watanabe*, Yumi Hashimoto*, Akiko Shiratsuchi*, Takenori Takizawa, Yoshinobu Nakanishi*

Biochemical and Biophysical Research Communications, 337, 881-886, 2005

Influenza virus-infected cells undergo apoptosis and become susceptible to phagocytosis by macrophages, and this leads to the inhibition of virus propagation in vitro. To assess if this were also true in vivo, mice infected with influenza A/WSN (H1N1) virus were administered with phagocytosis inhibitors and examined for the progress of influenza. Administration of the inhibitors caused a decrease in the level of phagocytosis observed with bronchoalveolar lavage cells. We found that both the lethality

平成18年10月1日

in mice and the extent of inflammation in the lung were augmented in those mice. These results suggest that phagocytosis of virus-infected cells helps suppress the progress of influenza in mice.

6) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of tick-borne encephalitis using subviral particles

Obara M, Yosii K*, Kawata T*, Hayasaka D*, Goto A*, Mizutani T*, Kariwa H*, Takashima I*

Journal of Virological methods, 134(1-2),55-60,2006

The similarity of symptoms produced by tick-borne encephalitis (TBE) and Japanese encephalitis (JE) and the high degree of cross-reactivity between TBE and JE viruses by serological tests make the development of a differential diagnostic test a priority. In this study, recombinant prM/E proteins of TBE virus strain Oshima 5-10 expressed in mammalian cells resulted in the release of subviral particles (SPs) into the culture medium. Using the SPs as antigens, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) systems were developed to detect TBE virus-specific IgM and IgG antibodies, designated SP-IgG and SP-IgM ELISA, respectively. Of 83 serum samples from encephalitis patients in Khabarovsk, Russia, which were positive with the neutralization test (NT), 82 were positive by the SP-IgG ELISA, for a sensitivity of 98.8%, which was higher than that of a commercial ELISA kit. All 12 NT-negative samples were also negative by the SP-IgG ELISA (specificity, 100%). Of 17 patient samples that were NT-positive, 16 (94.1%) were positive by the SP-IgM ELISA. Of 15 paired serum samples that yielded equivocal results by NT, 11 had positive results with the SP-IgM ELISA, indicating a diagnosis of TBE infection. The SP-IgG and SP-IgM ELISAs showed no cross-reactivity with antibodies to the JE virus. The results indicate that these ELISAs will be useful for the detection of TBE-specific antibodies.

7) Close correlation of streptococcal DNase B (*sdaB*) alleles with *emm* genotypes in *Streptococcus pyogenes*.

Matsumoto M*, Sakae K*, Hashikawa S*, Torii K*, Hasegawa T*, Horii T*, Endo M*, Okuno R*, Murayama S*, Hirasawa K*, Suzuki R*, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C*, Tamaru A*, Tomita M*, Ogata K*, Ikebe T*, Watanabe H*, Ohta M*; Working Group for Group A Streptococci in Japan.

Microbiology and immunology. 49(10), 925-929, 2005

DNase B is a major nuclease and a possible virulence factor in *Streptococcus pyogenes*. The allelic diversity of streptococcal DNase B (*sdaB*) gene was investigated in 83 strains with 14 *emm* genotypes. Of the 15 alleles identified, 11 alleles carried only synonymous nucleotide substitutions. On the other hand, 4 alleles had a non-synonymous substitution other than synonymous substitutions, resulting in the substitution of a single amino acid. The distribution of each allele was generally *emm* genotype-specific. Only *sdaB7* was found in both *emm2* and *emm4*. The promoter region was highly conserved and DNase B protein was similarly expressed in all alleles.

8) 咽頭炎及び皮膚感染症由来 A 群レンサ球菌における発熱性毒素遺伝子の遺伝子型別の検討

田中大祐, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 綿引正則

感染症学雑誌, 79 (7), 443-450, 2005

咽頭炎と皮膚感染症の患者から分離された A 群レンサ球菌について T 血清型別, *emm* 型別, 発熱性毒素遺伝子の遺伝子型別を行ったところ, 以下の結果を得た. 1) 2000~2004年の最近5年間に分離された130株について T 血清型と *emm* 型を調べた. 最近5年間の分離株と以前に調べた1990年代の分離株とでは, 皮膚由来株の優勢菌型に違いが認められた. 2) 1990~2004年の15年間の分離株について発熱性毒素遺伝子の保有状況を検討したところ, 皮膚由来株は咽頭由来株に比べ, *speA* 及び *speC* の保有率がいずれも有意に低かった (それぞれ $p < 0.01$). *speB* は1株 (A 群抗原を有する *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*) を除きすべての分離株が保有していた. 3) *speA* の対立遺伝子 (allele) を調べたところ, *emm* 型と *speA* allele に関連が認められた. すなわち, *emm1* は *speA2*, *emm3* は *speA3*, *emm6* は *speA4*, *emm11* は *speA2*, *emm18* は *speA1* と関連していた.

9) PCR 法による水, 食肉および野菜中の大腸菌と大腸菌群の検出に関する検討

刑部陽宅, 田中大祐, 清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 香取幸治, 永井美之

日本食品微生物学雑誌, 21 (3), 187-192, 2004

PCR 法を水と食品の大腸菌および大腸菌群検査に適用するための検討を行った. PCR 法では, 大腸菌の transferase 遺伝子 (*wecF*), β -galactosidase 遺伝子 (*lacZ*) および *E. coli* 16S rRNA 遺伝子 (*E. coli* 16S rRNA) を標的としたプライマーを使用した. 結果は次のようであった. 1) ヒトおよび食品由来大腸菌の *wecF*, *lacZ* および *E. coli* 16S rRNA 遺伝子保有率はそれぞれ12/12 (100%), 99/99 (100%), 食品由来 *Klebsiella* 属, *Citrobacter* 属などの大腸菌群の *wecF*, *lacZ*, *E. coli* 16S rRNA 遺伝子保有率はそれぞれ28/63 (44%), 70/177 (39%), 0/177 (0%) であった. 2) 食品69検体 (食肉23検体, 野菜46検体) の BGLB 培養液からの *wecF*, *lacZ*, *E. coli* 16S rRNA 遺伝子検出率はそれぞれ, 73%, 65%, 37% であった. *E. coli* 16S rRNA 検出と大腸菌検出との間には, 統計的に有意な相関が認められた. しかし *E. coli* 16S rRNA 遺伝子検出と大腸菌群検出との間に有意な相関は認められなかった. *wecF* あるいは *lacZ* 遺伝子検出と大腸菌群検出との間にも, 有意な相関は認められなかった. 3) 水道の原水など153検体の水の大腸菌汚染をコリラート培地を用いた特定酵素基質法で調べたところ, *E. coli* 16S rRNA 遺伝子検出と大腸菌検出との間に有意な相関が認められた. 以上の結果から, *E. coli* 16S rRNA 遺伝子を標的とした PCR 法では, 水および食品中の大腸菌を迅速, かつ特異的に検出する目的に使用できることが示唆された.

10) Rapid Categorization of Pathogenic *Escherichia coli* by Multiplex PCR

Keiko Kimata, Tomoko Shima, Miwako Shimizu, Daisuke Tanaka, Junko Isobe,
Yotaku Gyobu, Masanori Watahiki, and Yoshiyuki Nagai

Microbiology and Immunology, 49, 485-492, 2005

A one-shot multiplex polymerase chain reaction (PCR) was developed for detecting 12 virulence genes of diarrheagenic *Escherichia coli*. In order to differentiate between the five categories of diarrheagenic *E. coli*, we selected the target genes: *stx1*, *stx2*, and *eaeA* for enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC); *eaeA*, *bfpA*, and EAF for enteropathogenic *E. coli* (EPEC); *invE* for enteroinvasive *E. coli* (EIEC); *elt*, *estp*, and *esth* for enterotoxigenic *E. coli* (ETEC); CVD432 and *dggR* for enteroaggregative *E. coli* (EAggEC);

平成18年10月1日

and *astA* distributed over the categories of diarrheagenic *E. coli*: In our multiplex PCR system, all the 12 targeted genes (*stx1*, *stx2*, *eaeA*, *invE*, *elt*, *estp*, *astA*, *esth*, *bfpA*, *aggR*, EAF, and CVD432) were amplified in a single PCR reaction in one tube and detected by electrophoresis. Using our multiplex PCR, the 208 clinically isolated strains of diarrheagenic *E. coli* in our laboratory were successfully categorized and easily analyzed for the presence of virulence plasmids.

11) Chiral ligand exchange micellar electrokinetic chromatography using borate anion as a central ion

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Reiko Iio*, Sen-ichi Aizawa*, Kazuya Nakagomi*, Kazuichi Hayakawa*

Electrophoresis, 26, 3884-3889, 2005

Three compounds having 1,2-diol structure (1-phenyl-1,2-ethanediol, 3-phenoxy-1,2-propanediol and 3-benzyloxy-1,2-propanediol) were enantioseparated by ligand exchange micellar electrokinetic chromatography using (1*S*, 2*S*, 3*R*, 5*S*)-pinanediol as a chiral selector and borate anion as a central ion together with sodium dodecyl sulfate. When (1*S*)-1,2-propanediol, (1*S*)-1,2,4-butanetriol, or (1*S*)-3-tert-butylamino-1,2-propanediol were used as the chiral ligand instead of (1*S*, 2*S*, 3*R*, 5*S*)-pinanediol, these three compounds were not enantioseparated. When borate was replaced with 2-aminoethane-1-sulfonate or N-cyclohexyl-3-aminopropanesulfonate, no chiral separation was achieved. Therefore, the hydrophobic interaction between the selector and analytes of the ternary complex may play an important role in the enantioseparation by the proposed method.

12) A Sulfonated Capillary that gives Reproducible Migration Times for Capillary Zone Electrophoresis and Micellar Electrokinetic Chromatography

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Hiroyuki Terashima *, Yoshitaka Honda*, Atsushi, Taga*, Susumu Honda*

Electrophoresis, 26, 4070-4078, 2005

To obtain reproducible migration times and rapid analyses of analytes, sulfonate groups were chemically introduced to an inner wall of untreated fused silica capillary with 2-(4-chlorosulfonylphenyl)ethyltrichlorosilane. The sulfonated capillary showed relatively constant electroosmotic mobility, which was greater than that obtained by an untreated fused silica capillary over the pH range studied (pH 2-9). In both capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography, the relative standard deviations of the migration times of analytes with the sulfonated capillary were less than 0.2 %, which were significantly lower than those obtained with an untreated fused silica capillary (0.5-3.5 %). When background electrolytes were set at pH 7.0 for capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography, the analysis times with the sulfonated capillary were about half those obtained with an untreated fused silica capillary. These results indicate that the sulfonated capillary can provide for the highly reproducible and rapid analyses in capillary electrophoresis.

13) Mechanism of enantioseparation of DL-pantothenic acid in ligand exchange capillary

electrophoresis using diol-borate system

Sen-ichi Aizawa*, Atsushi Yamamoto*, Shuji Kodama

Electrophoresis, 27, 880-886, 2006

Borate complexes formed in the ternary system at pH 9.2 containing borate, (S)-3-amino-1,2-propandiol (SAP) and DL-pantothenic acid (DL-PTA) were identified by ^{13}C and ^{11}B NMR, and it is confirmed that the binary complexes, $[\text{B}(\text{OH})_2(\text{SAP})]$, $[\text{B}(\text{SAP})_2]^+$ $[\text{B}(\text{OH})_2(\text{D- or L-PTA})]^{2-}$ and $[\text{B}(\text{D- or L-PTA})_2]^{3-}$ (including $[\text{B}(\text{D-PTA})(\text{L-PTA})]^{3-}$), and the ternary complexes, $[\text{B}(\text{SAP})(\text{D- or L-PTA})]^-$, coexist at equilibrium in the ternary system. Thermodynamic experiments by variable temperature ^{11}B NMR revealed that the ternary complex, $[\text{B}(\text{SAP})(\text{D-PTA})]^-$, is entropically more stable than $[\text{B}(\text{SAP})(\text{L-PTA})]^-$. Because two geometrical isomers are possible for the respective ternary complexes, semiempirical molecular orbital calculations were performed by PM5, PM3 and AM1 methods in order to obtain the optimized structures. It is indicated from the calculated heats of formation and experimentally obtained thermodynamic parameters that (S) isomer is more probable for the respective ternary complexes with D- and L-PTA. In the optimized structure of (S)- $[\text{B}(\text{SAP})(\text{D-PTA})]^-$ in water, the SAP and D-PTA ligands were oppositely oriented to form a rather linear structure, while the diastereomer, (S)- $[\text{B}(\text{SAP})(\text{L-PTA})]^-$, have a folded structure. Because such a difference in the solvated structure of the ternary complexes can give different electrophoretic velocity in capillary electrophoresis, the enantioseparation of DL-PTA in capillary electrophoresis is reasonably attributed to a difference in the observed electrophoretic mobility for the equilibrated ternary systems containing the respective ternary complexes.

[著書・総説・解説]

1) 海洋深層水および濃縮水の温浴による健康作用に関する研究

新村哲夫

北陸公衆衛生学雑誌, 32(1), 1-7, 2005

Deep sea water experience facility "THALASSOPIA" was opened in 1998 in Namerigawa City, Toyama Prefecture. There were no scientific researches on thalathotherapy using deep sea water and its concentrated water which are rich in mineral contents and clean.

In order to clarify effects of deep sea water bathing on relaxation and sleep, comparison examinations were carried out with empty bath, tap water bath and bath of surface sea water, in subjects of daytime duty persons and night duty persons using physiological and psychological index. It was indicated that there was hyperemia effect in deep sea water bathing which is easy to warm and is difficult to cool. Deep sea water bathing showed better subjective sleep latency for sleep questionnaire and significantly better vigor status for mood questionnaire among 4 kinds of bathing.

Equipments which concentrated deep sea water of about 3.4% salinity using reverse osmosis membrane to about 15% salinity and to about 30% salinity by evaporation were developed. It was reported that floating bath was possible using the concentrated water as well as "Dead Sea". To study relaxation effects by floating bath during 15 minutes in the concentrated water of about 30% salinity,

平成18年10月1日

participated persons in "Namerikawa deep sea water fair 2003" were examined. By floating bath using the concentrated water, it was indicated that mental refresh effect and relaxation effect of muscles were obtained.

[報 告]

1) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査；成虫の発生动態と捕集蚊からのフラビウイルスの検出

小林睦生*, 渡辺 護, 小原真弓

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17年度総括・分担研究報告書，129-142，2006

平成17年度に調査を行った，一般民家7軒，カラスのねぐら近く4箇所，その他空港等3箇所におけるドライア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．さらに，捕集蚊からフラビウイルス群の検出を行った．

2) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査；幼虫発生源調査

小林睦生*, 渡辺 護, 小原真弓

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17年度総括・分担研究報告書，143-151，2006

3) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査；炭酸ガス製剤による野外蚊の駆除実験

小林睦生*, 渡辺 護, 小原真弓

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17年度総括・分担研究報告書，153-158，2006

4) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態と捕集蚊からのフラビウイルスの検出と炭酸ガス製剤による駆除実験

小林睦生*, 渡辺 護, 小原真弓

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15～17年度総合研究報告書，69-73，2006

5) 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，がん研究部)，富山県厚生部

平成16年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書, 2005

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てきた。平成16年度は、引き続き検体の保存を行った。また、ウエストナイル熱やマラリア等の感染症を媒介する蚊の分布調査とフラビウイルス分離を行った。さらに、厚生センター等の協力を得て蚊の幼虫分布調査を行った。

6) 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, がん研究部), 富山県厚生部

平成17年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書, 2006

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17年度は、検体の保存とともに、腎症候性出血熱及びツツガムシ病の汚染状況を調査した。また、ウエストナイル熱やマラリア等の感染症を媒介する蚊の分布調査とフラビウイルス分離を行った。前年に引き続き、厚生センター等の協力のもと蚊の幼虫分布調査も行った。さらに、蚊媒介性感染症発生時を想定して炭酸ガス製剤による野外蚊の駆除実験を行った。

7) 富山県における大腸がん発生背景要因の疫学的研究報告書

富山県衛生研究所 (2006年3月)

すでに本県においても死亡率原因のトップであるがんの中で、大腸がん罹患数の増加は近年著しい。本県における大腸がん発生に関して、特徴的な要因が存在するの否かを検討するために、県内の大腸がん患者と、年齢・居住地域等のマッチする健康対照者との間で、食生活等を比較する患者対照研究を実施した。その結果、ジュースなどの嗜好飲料、これに関連して糖分摂取量の多いこと、また、たらこ・かずのこに危険(促進)要因の傾向が見られた。一方、古漬けや山菜は抑制要因と考えられた。

8) 平成17年度東海・北陸地方8地方衛生研究所と豊田市衛生検査所による腸管出血性大腸菌 O157を用いたパルスネット構築のための精度管理

主任研究者: 寺嶋淳*, 分担研究者: 松本昌門*, 研究協力者: 鈴木匡弘*, 倉本早苗*, 白木豊*, 田中保知*, 田中大祐, 石畝 史*, 岩出義人*, 藪谷充孝*, 奥村貴代子*

厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究」平成17年度総括・平成15~17年総合研究報告書, p.88-101

「パルスネットジャパン」構築のための準備活動として東海・北陸地方8地方衛生研究所と豊田市衛生検査所により腸管出血性大腸菌 O157を用いた精度管理を計2回実施した。これらの内容について報告した。

9) 分担研究・*Salmonella* Typhimurium と *Shigella sonnei* (ソソネ菌) のパルスフィールド電気泳動画像デー

平成18年10月1日

データベース構築とそのデータベースを用いた分子疫学的解析

主任研究者：寺嶋淳*，分担研究者：松本昌門*，研究協力者：鈴木匡弘*，白木豊*，倉本早苗*，田中大祐

厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究」平成17年度総括・平成15～17年総合研究報告書， p282-295

愛知県，岐阜県，石川県，及び富山県で検出された *Salmonella* Typhimurium 及び愛知県で検出された *Shigella sonnei* についてパルスフィールド電気泳動の分子疫学的解析について報告を行った。

10) 脳卒中情報システム事業のまとめ -在宅療養支援調査結果等をふまえて-

分担執筆（環境保健部；長瀬博文），厚生部健康課，2005

富山県脳卒中情報システム事業により実施されている保健指導や福祉サービスの提供状況ならびに患者の日常生活の状況を把握することにより，患者の自立度や，その改善や悪化に関する要因を分析した。さらに介護保険サービス導入後の脳卒中患者の自立度とそれらに影響する保健・福祉サービスの関与などを調査解析した。その結果，各種サービスの早期提示の重要性，自立度低下プロセスを考慮した支援の必要性，脳卒中発症における閉じこもり対策の重要性，保健師の訪問による支援の必要性が明らかになった。

(2) 特別講演等

1) タラソテラピー：富山湾海洋深層水風呂

第70回日本温泉気候物理医学会総会モーニングレクチャー

新村哲夫

平17. 5. 27 富山県宇奈月町

(3) 学会発表等

1) 濃縮海洋深層水による浮遊浴の健康増進効果の検討 2 一心電図および脳波測定による検討

新村哲夫，長瀬博文，荒谷哲雄，アリナセルモアデリ*，王紅兵*，直井明*，アレックスガイナ*，金山ひとみ*，鏡森定信*

第70回日本温泉気候物理医学会総会，平17.5.27～28，富山県宇奈月町

2) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査(2003～4年)

渡辺 護，小原真弓，出村尚子*，松澤留美子*，小林睦生*

第56回日本衛生動物学会，平17.6.1～3，札幌市

3) 飛越高原アブ

渡辺 護

第56回日本衛生動物学会, 平17.6.1~3, 札幌市

4) 2002-2003年富山県内河川水から分離されたエコーウイルス13型について

岩井雅恵, 松浦久美子*, 吉田弘*

第46回日本臨床ウイルス学会, 平17.6.3~4, 福岡市

5) 濃縮深層海水を用いた浮遊浴のリラクゼーション効果の心電図による検討

新村哲夫, 長瀬博文, 荒谷哲雄, アリナセルモアデリ*, 王紅兵*, アレックスガイナ*, 金山ひとみ*, 鏡森定信*

第16回日本微量元素学会, 平17.6.30~7.1, 京都市

6) 富山県における感染症媒介蚊, ウイルスの検出

小原真弓, 渡辺 護, 長谷川澄代

北陸病害動物研究会, 平17.7.2, 金沢市

7) 体重減少に効果的なウォーキング

田中朋子, 長瀬博文, 堀井裕子, 荒谷哲雄, 大下喜子*, 山上孝司*

第15回体力・栄養・免疫学会 平17.8.20~21, 宇部市

8) 長期間記録型万歩計による運動プログラムでの運動継続性と心理尺度, 健康実践との関連

長瀬博文, 田中朋子, 堀井裕子, 荒谷哲雄, 大下喜子*, 山上孝司*

第64回日本公衆衛生学会 平17.9.14~16, 札幌市

9) 長期間記録型万歩計を使った運動プログラムによる運動継続の動機づけについて

堀井裕子, 長瀬博文, 田中朋子, 荒谷哲雄, 大下喜子*, 山上孝司*

平成18年10月1日

第64回日本公衆衛生学会 平17.9.14~16, 札幌市

10) ボロスピラン形成に基づく配位子交換キャピラリー電気泳動における DL-パントテン酸のキラル分離メカニズム

會澤宣一*, 山本敦*, 小玉修嗣

日本分析化学会第54年会, 平17.9.14~16, 名古屋市

11) 有機リン系農薬の尿中代謝物追跡調査

中崎美峰子

平成17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17.9.29~30, 名古屋市

12) 長期間記録型万歩計を用いたウォーキング推進活動と体重減少

田中朋子

平成17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17.9.29~30, 名古屋市

13) 思春期女子の骨密度増加とライフスタイル

堀井裕子

平成17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17.9.29~30, 名古屋市

14) Type III secretion system 2領域に遺伝子欠損を示す *tdh+*, *trh+*の腸炎ビブリオについて

嶋 智子, 磯部順子, 田中大祐, 木全恵子, 清水美和子, 綿引正則, 永井美之

第39回腸炎ビブリオシンポジウム, 平17.10.6~7, 新潟市

15) 一般健常者における尿中ジアルキルリン酸年間追跡調査

中崎美峰子, 荒谷哲雄

第54回日本農村医学会学術総会, 平17.10.21~22, 長野県軽井沢町

16) 2002-2003年富山県内河川水ウイルス調査で分離されたエコーウイルス13型について

岩井雅恵, 松浦久美子*, 吉田弘*

第7回富山県薬学大会, 平17.10.22, 富山市

17) 濃縮海洋深層水による浮遊浴のリラクゼーション効果に関する研究—脳波測定による検討

新村哲夫, 長瀬博文, 荒谷哲雄, アリナセルモアデリ*, 王紅兵*, 直井明*, アレックスガイナ*, 金山ひとみ*, 鏡森定信*

第9回海洋深層水利用研究全国大会2005室戸大会, 平17.11.10~11, 高知県室戸市

18) ノロウイルス食中毒患者から EaggEC O44:H8が検出された事例

木全恵子, 磯部順子, 尾崎博子*, 奥村 開*, 小原真弓, 長谷川澄代, 綿引正則, 永井美之

第26回日本食品微生物学会学術総会, 平17.11.10~11, 金沢市

19) 野外蚊の緊急的防除に炭酸ガス製剤は有効か?

渡辺 護, 小原真弓

第21回日本ペストロジー学会, 平17.11.10~11

20) 富山県における溶血レンサ球菌分離株の型別調査—流行予測事業分離株と臨床株の10年の集計—

田中大祐, 磯部順子, 綿引正則, 清水美和子, 木全恵子, 嶋 智子, 永井美之, 田中桂子*, 田中有易知*

第33回北陸公衆衛生学会, 平17.11.11, 福井市

21) マイクロチャンバーアレイチップを用いた病原性微生物検出

古川光一郎*, 山村昌平*, 小林正昭*, 高村 禪*, 綿引正則, 民谷栄一*

日本生物工学会, 平17.11.15, つくば市

22) 平成16年度の東海・北陸地域におけるノロウイルスの検出状況と遺伝子解析

小林慎一*, 小原真弓, 長谷川澄代, 大矢英紀*, 尾西 一*, 東方美保*, 猿渡正子*, 青木 聡*, 田中保和*, 柴田伸一郎*, 中野陽子*, 杉山 明*, 榮 賢司*

平成18年10月1日

第53回日本ウイルス学会, 平17.11.20~22, 横浜市

23) 富山県の新生児マススクリーニングで発見された TSH 低値クレチン症

九曜雅子, 米田 豊

第26回北陸先天異常研究会学術集会, 平17.11.20, 富山市

24) 双胎間輸血症候群を呈した男女児の染色体分析について

本田幸子, 林美貴子, 倉本 崇*, 尾上洋一*

第26回北陸先天異常研究会学術集会, 平17.11.20, 富山市

25) FISH を用いて精子性染色体分析を行ったクラインフェルター症候群の1例について

林美貴子, 本田幸子, 小嶋康夫*, 明石拓也*, 布施秀樹*

第26回北陸先天異常研究会学術集会, 平17.11.20, 富山市

26) Biological Monitoring of Organophosphorus Pesticide Exposure among Children in Rural Communities of Western Java, Indonesia

M. Nakazaki, T. Shimmura, T. Aratani, M. Sekiyama*, C. Watanabe*

The 10th Asian Congress of Agricultural Medicine and Rural Health 平17.11.24~26 栃木県鬼怒川

27) 2002-2003年富山県内河川水から分離されたエコーウイルス13型について

岩井雅恵, 松浦久美子*, 吉田 弘*

第37回北陸信越薬剤師学術大会, 平17.11.26, 長野市

28) 海洋深層水を利用した口腔にうるおいを与えるサプリメントの開発

藤井 侃*, 土岐隆広*, 沖村謙一*, 三上寿枝*, 中村和美*, 荒谷哲雄, 新村哲夫

第10回環日本海機能水バイオ研究会講演会, 平17.12.10, 富山県射水市

29) Chiral ligand exchange capillary electrophoresis using borate anion as a central ion

Shuji Kodama, Sen-ichi Aizawa*, Atsushi Yamamoto*

Pacificchem 2005 congress, 2005.12.14~20, Hawaii, USA

30) VT2遺伝子バリエントも検出するVT2プライマーの設計とそれによる腸管出血性大腸菌の検出

木全恵子, 磯部順子, 綿引正則

第17回日本臨床微生物学会総会, 平18.1.28

31) ウイルス性胃腸炎の集団発生について (平成16年度)

長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子*, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 永井美之

第40回富山県公衆衛生学会, 平18.2.9, 富山市

32) 大量注入方式GC/MSによる食品等の残留農薬分析事例

中山恵理子, 齊藤行雄

平成17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18.2.16~17, 福井市

33) 東海北陸支部におけるウイルス性胃腸炎の発生状況とウイルスの検出状況

長谷川澄代, 小原真弓

平成17年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平18.3.9~10, 名古屋市

34) 富山県におけるインフルエンザの流行について

滝澤剛則, 堀元栄詞

平成17年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平18.3.9~10, 名古屋市

35) 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, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 永井美之

平成17年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平18.3.9~10, 名古屋市

36) 富山県における平成17年の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況

平成18年10月1日

磯部順子

平成17年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平18.3.9~10, 名古屋市

37) Type III secretion system² 領域に遺伝子欠損を示す *tdh+*, *trh+* の腸炎ビブリオについて

嶋 智子

平成17年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平18.3.9~10, 名古屋市

38) ノロウイルス食中毒患者から EaggEC O44:H8 が検出された事例

磯部順子

平成17年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平18.3.9~10, 名古屋市

39) 溶血レンサ球菌レファレンス事業

綿引正則

平成17年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平18.3.9~10, 名古屋市

40) 市販お茶飲料中のフッ素含有量について

新村哲夫, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 鏡森定信*

第76回日本衛生学会総会, 平18.3.25~28, 山口県宇部市

41) インドネシア西ジャワ農村における農薬曝露状況の検討 (その1)

関山牧子*, 田中美加*, 新村哲夫, 中崎美峰子, 渡辺知保*

第76回日本衛生学会総会, 平18.3.25~28, 山口県宇部市

42) インドネシア西ジャワ農村における農薬曝露状況の検討 (その2)

田中美加*, 関山牧子*, 新村哲夫, 中崎美峰子, 渡辺知保*

第76回日本衛生学会総会, 平18.3.25~28, 山口県宇部市

43) クロマトグラフィ-ナノカラムとしての垂直配向型メソポーラスシリカ薄膜の利用-分子透過速度解析-

山下智富, 齊藤行雄, 小玉修嗣, 大戸幹也, 中山恵理子, 長谷川澄代, 寺前紀夫*, 山口央*, 高柳信孝, 健名智子

日本化学会第86春季年会, 平18.3.27~30, 船橋市

44) ナノリッターチャンバーアレイを用いた On-chip 微生物検出システムの開発

古川光一郎*, 山村昌平*, 高村 禅*, 綿引正則, 民谷栄一*

日本化学会第86春季年会, 平18.3.27~30, 船橋市

45) 還元性単糖誘導体のポロスピラン形成に基づくキラル分離

小玉修嗣, 山下智富, 健名智子, 齊藤行雄, 會澤宣一*, 山本敦*, 多賀淳*

日本薬学会第126年会, 平18.3.28~30, 仙台市

46) 国内で分離された A 群 *S.dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の遺伝子型の解析

田中大祐, 綿引正則, 遠藤美代子*, 奥野ルミ*, 熊谷奈々子*, 池辺忠義*, 渡辺治雄*

第79回日本細菌学会総会, 平18.3.29~31, 金沢市

47) 腸管出血性大腸菌プロフェージ配列をターゲットとした Multilocus Sequence Typing (MLST)の開発

綿引正則, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 田中大祐

第79回 日本細菌学会総会, 平18.3.31, 金沢市

(4) 受賞, 学位授与, 資格取得

1) 渡辺 護

厚生労働大臣表彰

受賞日 平成17年11月10日

2) 林 美貴子

日本公衆衛生協会会長表彰

受賞日 平成17年11月10日

編 集 委 員

委 員 長 三 井 博
委 員 中 村 美千代
林 美貴子
長谷川 澄 代
嶋 智 子
小 玉 修 嗣
堀 井 裕 子

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成17年度 (2005) 第29号

2006年10月1日

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所
〒939-0363

富 山 県 射 水 市 中 太 閤 山 17 - 1

電 話 (0766) 56-5506(代)

F A X (0766) 56-7326

印 刷 あげぼの企画株式会社

富 山 市 住 吉 町 1 - 5 - 18

電 話 (076) 424-1755

