



—輝くあおもり新時代—
活彩あおもり

I S S N 0917-1924

青森県環境保健センター研究報告

Bulletin

of

Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

No. 9 1998

青森県環境保健センター

はじめに

“水が危ない，空気が危ない，食が危ない，緑が危ない…” このところ“危ない”という言葉をよく聞きます。人間は，豊かになるために貪欲に地球上の資源を経済活動につぎ込んで来ました。その反動がこの“危ない”につながっている様に思えてなりません。私たちの業務の大半は，この“危ない”をさまざまな手法で解明したり，又，手法そのものの研究に費やしてきました。

21世紀を目前にして，人間は，今こそ真剣に“危ない”を“安全”に置き換える努力を地球的規模でしなければならないと思います。

今回の研究報告も“危ない”に関する報告となりましたが，できるだけ早く“安全”を確認した報告となるよう願っています。

ご一読のうえ，ご意見，ご教示をいただければ幸いに存じます。

1999年1月

青森県環境保健センター

所長 櫻田 守美

目 次

I 報 文	
分化型Caco-2細胞を用いたSRSVの培養	
佐藤 孝 三上 稔之 畑山 一郎	1
PCR法によるつつが虫病リケッチア遺伝子の検出	
下山 純子 佐藤 孝 三上 稔之	5
食中毒に起因するSRSVの分子疫学的解析	
三上 稔之 佐藤 孝 下山 純子 畑山 一郎	9
ヒト血液細胞における神経芽細胞腫候補遺伝子p73の多型解析	
武沼 浩子 石川 和子 下山 純子 畑山 一郎	12
青森県における神経芽細胞腫マススクリーニング実施状況	
石川 和子 武沼 浩子 金田 量子 下山 純子	16
青森県の温泉中のヒ素およびフッ素含有量について	
高橋 政教 平出 博昭 高橋ひとみ 村上 淳子 阪崎 俊璽 安田 徳彦 石塚 伸一	21
記憶喪失性貝毒素ドウモイ酸分析法の検討	
中谷 実 今井 美代子 三浦 啓徳 高橋 政教	27
堤川水系における泡の発生機構解析(Ⅱ) -泡の構成成分-	
三上 一 野澤 直史	31
II ノ ー ト	
青森県における腸炎ビブリオ感染症発生動向調査	
筒井 理華 対馬 典子 大友 良光	37
青森県における志賀毒素産生性大腸菌(STEC)の発生状況 -1996年~1998年10月-	
対馬 典子 筒井 理華 大友 良光	41
青森県におけるインフルエンザウイルスの疫学的調査	
三上 稔之 佐藤 孝 下山 純子	44
大気浮遊じん中の全 α 及び全 β 放射能濃度について -モニタリングカーによる測定-	
佐々木 守 野田 正志	47
III 他誌投稿抄録	51
IV 学会等発表抄録	53

CONTENTS

I Original Articles

SRSV cultivation with differentiated Caco-2 cells Takashi SATO, Toshiyuki MIKAMI and Ichiro HATAYAMA	1
Detection of <i>Orientia tsutsugamushi</i> genes by PCR method Junko SHIMOYAMA, Takashi SATO and Toshiyuki MIKAMI	5
Analysis of SRSV of a pathogen for food poisoning by molecular epidemiology Toshiyuki MIKAMI, Takashi SATO, Junko SHIMOYAMA and Ichiro HATAYAMA	9
Analysis of polymorphism on a possible causative gene of neuroblastoma (p73) in human hemocytes Hiroko TAKENUMA, Kazuko ISHIKAWA Junko SHIMOYAMA and Ichiro HATAYAMA	12
The current status of mass screening for neuroblastoma in Aomori Prefecture Kazuko ISHIKAWA, Hiroko TAKENUMA Ryoko KANEDA and Junko SHIMOYAMA	16
Arsenic and fluorine contents of hot spring water in Aomori Prefecture Masanori TAKAHASHI, Hiroaki HIRAIDE, Hitomi TAKAHASHI, Atsuko MURAKAMI, Shunji SAKAZAKI, Tokuhiko YASUDA, and Shinichi ISHIZUKA	21
Study of analytical methods for domoic acid, amnesic shellfish poisoning (ASP) Minoru NAKAYA, Miyoko IMAI, Hironori MIURA and Masanori TAKAHASHI	27
Analysis of the foam generation mechanism in the Tsutsumi River system (II) – Constituent elements of foam – Hajime MIKAMI and Naofumi NOZAWA	31
II Notes	
Surveillance for <i>Vibrio parahaemolyticus</i> infection in Aomori prefecture Rika TSUTSUI, Noriko TSUSHIMA and Yoshimitsu OTOMO	37
Occurrence of Shiga-toxin producing <i>Escherichia coli</i> (STEC) infection in Aomori prefecture – From 1996 to October, 1998 – Noriko TSUSHIMA, Rika TSUTSUI and Yoshimitsu OTOMO	41
Epidemiology of influenza virus in Aomori prefecture Toshiyuki MIKAMI, Takashi SATO and Junko SHIMOYAMA	44
Gross α and gross β Radio Active Concentrations in Dust – Measurement using monitoring car – Mamoru SASAKI and Masashi NODA	47
III Summaries of Other Publications	51
IV Abstracts of Presentation in Society Meeting	53

I 報 文

分化型Caco-2細胞を用いたSRSVの培養

佐藤 孝 三上 稔之 畑山 一郎

小型球形構造ウイルス (small round structured virus: SRSV) の未分化型および分化型Caco-2細胞への感染・増殖に関して reverse transcriptase-polymerase reaction (RT-PCR) を用いて比較検討した。Caco-2へのSRSV感染4時間後に細胞を洗浄してフリーのウイルスを除去し、さらに10日間の培養を行った。SRSV遺伝子は分化型Caco-2の凍結融解遠心上清及び沈殿に確認された一方、未分化型Caco-2では沈殿のみに検出された。この結果は、分化型Caco-2においてSRSVの増殖とウイルス放出があるのに対し、未分化型Caco-2では感染の不成立またはウイルス粒子の形成不全があることを示唆する。

Key words : SRSV, Caco-2, RT-PCR

1. はじめに

食中毒起因ウイルスのひとつである小型球形構造ウイルス (small round structured virus: SRSV) は、原型であるNorwalk様ウイルスゲノムの塩基配列が解明され^{1,2)}、遺伝子増幅による検出が可能になった³⁻⁵⁾。しかし、本ウイルスには変異によるゲノムの多様性が存在するため、遺伝子検出におけるプライマーの不一致による不検出があることから簡便な免疫反応による検出法が望まれている。

SRSVには培養系が確立されていないため、感染・増殖に関与する蛋白因子などのウイルス学的解析や免疫学的解析が、他のウイルスに比較して遅れている。また、一部の研究室で行われているSRSV遺伝子の組換え体による抗原や抗体の作成も、多様なゲノムを有するSRSV全般に適用できるまでには到っていない。従って、SRSVの培養系の確立が今後の基礎研究や患者や食品からのウイルス検出という実際の活用に必須であると思われる。

SRSVは、ヒト腸管細胞の受容体に結合して感染し増殖するウイルスであり、動物の生体実験でも成功例は報告されていない。一方、SRSVの培養系として受容体を持つヒト初代腸管培養細胞を用いる系が最適と考えられるが、癌細胞を用いた系では受容体の発現低下などによりSRSVの増殖には成功していない。

Caco-2は、培養につれてglutathione S-transferase α の発現や形態的变化を示して見かけ上容易に正常細胞へと分化していくヒト結腸癌株化細胞である⁶⁾。我々は、Caco-2は分化に伴って正常腸管細胞と同様にSRSVに対する細胞受容体の発現が亢進するとの作業仮説から、分化型Caco-2細胞へのSRSVの感染・増殖に関して検討した。

2. 方法

2・1 試薬

GIT培地は日本製薬、牛胎児血清 (FBS) は大日本製薬、RNA PCR kit (AMV) はTakara、PCR (polymerase chain reaction) システムは和光純薬、アガロースはナカライテスク、ISOGENは和光純薬からそれぞれ購入した。プライマーはグライナー・ジャパンで合成したものを使用した。

2・2 細胞とウイルス

Caco-2細胞 (国立公衆衛生院より入手) の培養には3%FBSを含むGIT培地を培養液として用いた。培養には96穴平底プレート (Linbro) を使用し、1穴あたり3,000個のCaco-2細胞を接種し37℃で培養した。培地交換は3日に1回行った。細胞がコンフルエント直前の状態を未分化型として、またコンフルエント後3週間を経て形態的变化が顕著になった状態を分化型Caco-2細胞として用いた。感染用SRSVには糞便材料からNorwalk様ウイルスであることが判明しているものを濃縮して使用した。

2・3 ウイルス感染

ウイルス感染は、分化型および未分化型Caco-2細胞を培養しているプレートに1穴あたり10 μ lのSRSV浮遊液を添加して35℃で1時間行った。感染操作後、90 μ lの培地を加え35℃で4時間培養した。その後、フリーのSRSVを除去するために200 μ lの培地で細胞を20回洗浄してから35℃で10日間培養を行った。

2・4 PCRによる遺伝子検出

培養終了後、200 μ lの培地で12回洗浄してから凍結融解操作を行った。凍結融解後12,000rpm, 15分間の遠心上清と、200 μ lの培地で2回洗浄した沈殿をSRSV遺伝

子の検出材料とした。また、陰性対照としてSRSV未感染の分化型および未分化型Caco-2細胞を同様の操作で処理したのもを使用した。洗浄培養液、凍結融解後の遠心上清及び沈殿からのRNAの抽出は、ISOGENを用いて行った。cDNAの合成にはRNA PCR kit (AMV) を用いた。SRSVの検出は、プライマー-NV36, 51⁵⁾による1st PCRとプライマー-NV81, 82⁷⁾による2nd PCRのnested PCRによった。

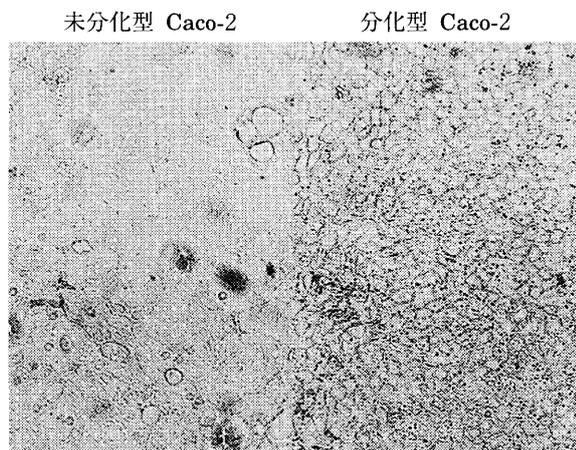


図1 未分化型, 分化型のCaco-2細胞

3. 結果

SRSVの宿主として用いたCaco-2細胞の形態を図1に示す。未分化型Caco-2は集塊状の敷石構造をとる一方、分化型Caco-2は層状の増殖を示して部分的な間隙を持つようになる。この2つの状態のCaco-2細胞にSRSVを感染させ、ウイルスの増殖について比較検討した。

感染4時間後の分化型Caco-2の培養液および洗浄液におけるSRSV遺伝子のPCRによる検出を行ったところ、図2に示すように増幅DNAの330bpのバンドは5回洗浄液には認められたが、10回以降の洗浄液には検出されなくなった。同様の結果は未分化型Caco-2でも得られた。この結果は、10回の洗浄により培養液にはフリーのSRSVは存在していないことを示す。最終的に20回の洗浄操作を経てから培養を継続した。

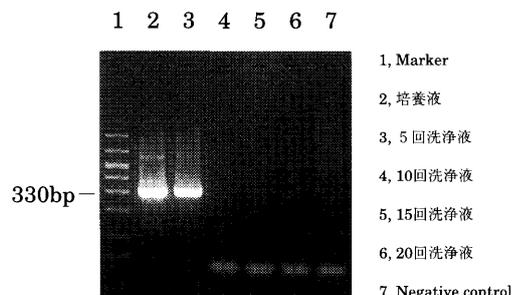


図2 SRSV接種後の洗浄液中のSRSV遺伝子

次に、10日間の培養に伴うSRSVの増殖と細胞からの放出に関して、分化型及び未分化型Caco-2の培養液と洗浄液を調べた。図3のように、分化型および未分化型Caco-2の培養液中にはSRSVに特異的なDNAバンドが検出されたが、1回洗浄液については分化型Caco-2にのみ確認された(レーン4, 8)。この結果は、培養10日前の洗浄によりフリーのSRSVは除去されたが、未分化型Caco-2に非特異的に付着していたSRSVが培養中に培養液に浮遊してきたことを示唆する。一方、分化型Caco-2の場合は、細胞内で増殖したSRSVが培養に伴って培養液に放出された可能性を示す。洗浄は、次の細胞凍結融解操作に入る前に12回行った。

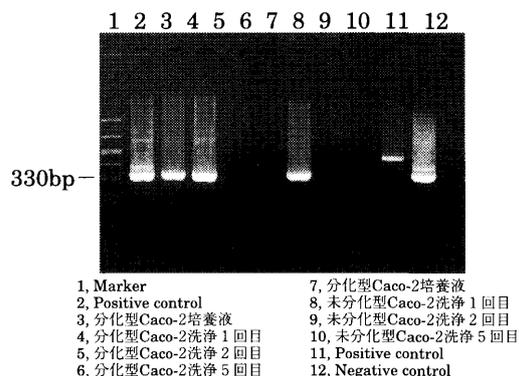


図3 凍結融解直前の洗浄液中のSRSV遺伝子

細胞内のウイルスの存在様式を明らかにするため、凍結融解遠心上清と沈殿のSRSV遺伝子をPCRで調べた。図4に示すように、SRSVは分化型及び未分化型Caco-2の遠心沈殿に検出されたが(レーン3,5)遠心上清については分化型Caco-2にのみ認められた(レーン4,6)。対照の未感染細胞には、特異的な増幅DNAバンドが確認されなかった。この結果は、未分化型Caco-2では感染が成立せずにSRSVが細胞膜等に付着しているだけか或いはウイルス粒子の形成がないのに対し、分化型Caco-2においては細胞内で増殖したSRSV粒子が、凍結融解により遠心上清に一部回収されてくることを示唆する。

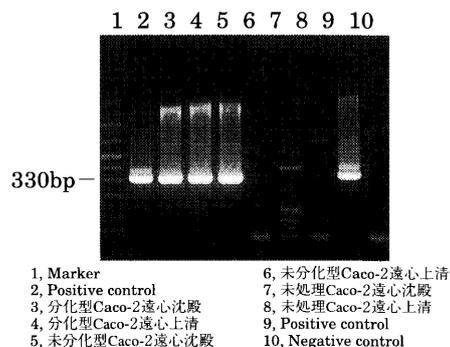


図4 遠心分離後の上清及び沈殿中のSRSV遺伝子

4. 考 察

SRSVは他のウイルスと異なり培養が出来ないため、便材料に大量のウイルスが存在しないと電子顕微鏡による検出が困難である。最近開発されたPCRによる遺伝子検出法においても、SRSV遺伝子の多様な変異のため、最適に設定したプライマーを用いても検出されない例が少なくない。従って、これまでと違った観点から再度SRSVの培養実験に取り組む必要があると思われる。

一般的に、ウイルスの培養にはHeLa, RD, Vero等の癌細胞が使用されている。これらの細胞はウイルスに対する受容体を発現しているために感染が成立する。これまでSRSVの培養が成功していないのは、検討されてきた細胞にはSRSV特異的受容体が発現していないと思われる。我々は、SRSVはヒト腸管細胞に感染することから、培養系における宿主細胞としてヒト結腸癌株化細胞Caco-2を選択した。正常細胞にある種々の細胞膜受容体は、癌化に伴って発現量が低下していくことが知られている⁸⁾。Caco-2は、長期培養に伴い容易に正常細胞に分化していく細胞である。従って、分化型Caco-2にはSRSV特異的受容体が発現してくることが予想される。

SRSVの分化型および未分化型Caco-2に対する感染・増殖能の実験結果は、分化型Caco-2において、SRSVの増殖や細胞からの放出があることを示唆した。現在、電子顕微鏡による細胞内ウイルス粒子の観察を検討している。さらに長期培養による未分化から分化型Caco-2への形質変化のみならず、酪酸⁹⁾のような分化誘導剤の有効性についても検討を進めている。

5. ま と め

今回の実験により、未分化Caco-2ではウイルスの感染が成立せずに細胞膜等に附着しているのみか、もしくはウイルス粒子の生成が無いのに対し、分化型Caco-2においては、ウイルス粒子が増殖している可能性が示唆された。

文 献

- 1) Jiang, X. et al : Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science*, 250, 1580-1583, 1990
- 2) Matuui, S. M. et al : The isolation and characterization of a Norwalk virus-specific cDNA. *J. Chin. Invest.*, 87, 1456-1461. 1991
- 3) DeLeon, R. et al : Detection of Norwalk virus in stool specimens by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and nonradioactive oligoprobes. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 3151-3157. 1992
- 4) Jiang, X. et al : Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 2529-2534, 1992
- 5) Moe, C. L. et al : Application of PCR detect Norwalk virus in fecal specimens from outbreaks of gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.*, 32, 642-648, 1994
- 6) Vecchini, F, et al : Decrease activity of inducible nitric oxide synthase type2 and modulation of the expression of glutathion S-transferase α bcl-2, and metallothioneins during the differentiation of Caco-2 cells. *Cell growth and differentiation.*, 8, 261-268, 1997
- 7) 宇田川悦子 : 臨床とウイルス. 23, 184-189, 1995.
- 8) Carr, B. I. et al : Effects of diethyl-nitrosamine on hepatic receptor binding and autophosphorylation of epidermal growth factor and insulin in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 77, 219-225, 1986
- 9) Kamitani, H. et al : Expression of 15-lipoxygenase by human colorectal carcinoma Caco-2 during apoptosis and cell differentiation. *J. Biol. Chem.*, 273, 21569-21577, 1998

Abstract

SRSV cultivation with differentiated Caco-2 cells

Takashi Sato, Toshiyuki Mikami and Ichiro Hatayama

SRSV (small round structured virus) infection into and proliferation in undifferentiated or differentiated Caco-2 cells were investigated by reverse transcriptase-polymerase chain reaction method (RT-PCR). Four hours after infected with SRSV, Caco-2 cells were washed to remove free viruses. After cultivation for successive 10 days, the culture media was frozen and thawed, and then centrifuged. Both supernatant and precipitate of differentiated Caco-2 culture contained SRSV genes, although SRSV genes were detected merely from the precipitate of undifferentiated Caco-2 culture. This finding suggests that SRSV could proliferate in and released from differentiated Caco-2 cells, while it fails to infect to or generate intact viral particles in undifferentiated Caco-2 cells.

Key words : SRSV, Caco-2, RT-PCR

PCR法によるつつが虫病リケッチア遺伝子の検出

下山 純子 佐藤 孝 三上 稔之

つつが虫の病因となるつつが虫病リケッチア (*O. tsutsugamushi*) についてPCR法により遺伝子検出を試み、早期診断の有用性について検討した。1998年4月から9月までの間に間接免疫ペルオキシダーゼ反応 (IP法) で陽性と判定された3名の患者血液を用いてPCR法を実施した結果、急性期の1検体から*O. tsutsugamushi*のKarp株遺伝子が検出されたが、回復期検体からは検出されなかった。このことから、急性期には*O. tsutsugamushi*遺伝子の検出が可能であるが、抗体が産生される回復期には*O. tsutsugamushi*が消失するのではないかと考えられる。また、PCR法では、IP法より早期に*O. tsutsugamushi*感染が診断可能であること、IP法では困難であった型別が可能であることが示唆された。

Key words : *Orientia tsutsugamushi*, PCR, indirect immunoperoxidase test

1. はじめに

つつが虫病は、病原体であるつつが虫病リケッチア (*Orientia tsutsugamushi* : 以下 *O. tsutsugamushi*) を保有するツツガムシ (ダニの一種) に刺され発症する感染症であり¹⁻⁷⁾、本県においては毎年10件前後の届出がある¹⁾。

本病の主要所見および症状は、刺し口、高熱、発疹、リンパ節腫脹等であり、ときに汎発性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation : DIC) を併発し、死に至る場合もある²⁻⁴⁾。1995年の全国統計では発生数529名、死亡者数3名と報告されている⁵⁾。

つつが虫の検査法として*O. tsutsugamushi*の分離あるいは血清診断があげられるが、主に血清中の特異抗体を検出する血清診断が行われている。血清診断法には間接免疫ペルオキシダーゼ反応 (indirect immunoperoxidase test : 以下IP法)、間接免疫蛍光抗体法 (IFA)、補体結合反応 (CF)、Weil-Felix反応 (WF) があり⁶⁾、本県ではIP法³⁾が用いられている。しかし、*O. tsutsugamushi*に感染してから発病まで10日間程度、抗体産生まではさらに3~4日の日数を要するため^{2,3)}、発病初期では抗体の検出が困難な場合が多い。

そこで、polymerase chain reaction (以下PCR) 法⁷⁾を用いて、*O. tsutsugamushi*遺伝子の検出を試み、早期診断の有用性について検討した。

2. 材料および方法

2・1 材 料

1998年4月から9月までにつつが虫の疑いで検査依頼があった検体のうち、IP法で陽性と判定された3

名の患者血液を材料とした。

IP法には血漿または血清を使用した。PCR法では全血 (急性期1検体、回復期3検体) を使用した。

2・2 IP法

*O. tsutsugamushi*のGilliam, KarpおよびKatoの3株をスライドガラス上にスポットし、乾燥固定後、2倍段階希釈した被検血漿または血清を反応させた。次に、ペルオキシダーゼラベル抗ヒトIgG、IgMウサギ血清 (DAKO社) を反応させ、ペルオキシダーゼ基質液 (3,3'-ジアミノベンジジン四塩酸塩 : DAB, ナカライテスク社) で発色させた。光学顕微鏡による観察で、抗原としたリケッチア粒子が褐色に染まって見える最高希釈倍数の逆数をIP抗体価とした。

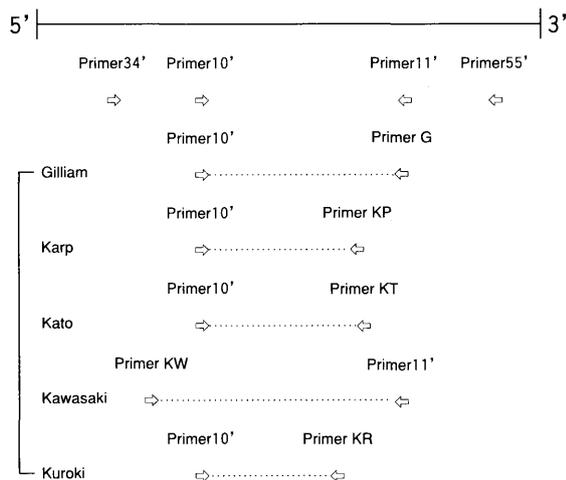
判定は、原則として急性期と回復期のペア血清 (血漿) の抗体価を比較し、回復期抗体価に4倍以上の上昇があったものを陽性とした。

2・3 PCR法

2・3・1 DNA抽出

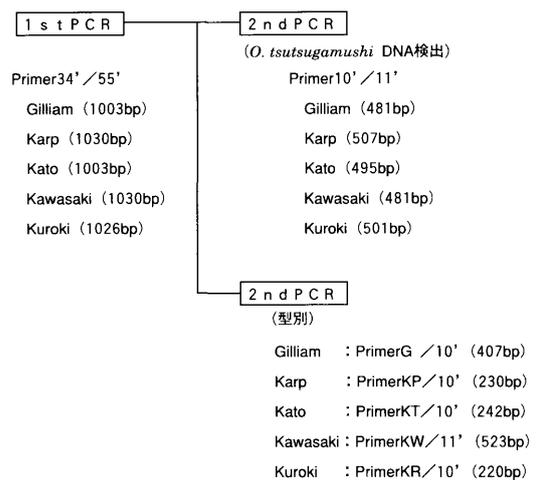
全血からDNA抽出には、DNA Extractor WB Kit (和光純薬) を用いた。

全血0.5mlに溶解液0.5mlを加え、4℃で12,000rpm、20秒遠心し、上清を除いた。再び溶解液1.0mlを加え、4℃で12,000rpm、20秒遠心し、上清を除いた。これに酵素反応液200 μ lとタンパク分解酵素10 μ lを加え、37℃で1時間保温した。次に、よう化ナトリウム溶液300 μ lとイソプロピルアルコール0.5mlを加え、室温で12,000rpm、10分遠心し、上清を除いた。洗浄液A (40% イソプロピルアルコール) を1.0ml加え、室温で12,000rpm、5分遠心し、さらに洗浄液B (エタノール) を1.0ml加え、



(第1回恙虫病の遺伝子診断法技術講習会資料より引用)

図1 つつが虫病リケッチア遺伝子検出用プライマー



(第1回恙虫病の遺伝子診断法技術講習会資料より引用)

図2 つつが虫病リケッチア遺伝子のnested PCR

室温で12,000rpm, 5分遠心した。上清除去後, 沈殿をデシケーターで乾燥し, 滅菌蒸留水30 μ lで溶解した。これを鋳型DNAとし, PCRに5 μ l使用した。

2・3・2 プライマー

プライマーは, 「第1回恙虫病の遺伝子診断法技術講習会」(衛生微生物技術協議会検査情報委員会・恙虫病小委員会主催1998・2・25)より分与され, 次のように合成されている。

- Primer34' : 5'-ATTGCTAGTGCAATGTCTGC-3'
- Primer55' : 5'-CTGCTGCTGTGCTTGCTGCG-3'
- Primer10' : 5'-CCTCAGCCTACTATAATGCC-3'
- Primer11' : 5'-CGACAGATGCACTATTAGGC-3'
- PrimerG : 5'-CTTTATATCACTATATATCTT-3'
- PrimerKP : 5'-ACAATATCGGATTTATAACC-3'
- PrimerKT : 5'-GAATATTTAATAGCACTGGA-3'
- PrimerKW : 5'-ATGCTGCTATTGATACAGGC-3'
- PrimerKR : 5'-CACCGGATTTACCATCATAT-3'

nested PCRの1st PCRで*O. tsutsugamushi* DNAの増幅, 2nd PCRで5株(Gilliam, Karp, Kato, KawasakiおよびKuroki)の型別を行う目的で, 上記プライマーを図1, 2に示したように組み合わせた。すなわち, アウタープライマーをPrimer34' / 55' とし, インナープライマーを各株特異プライマー / Primer10' とした。ただし, Kawasaki株に限りPrimerKW / 11' とした。これらのプライマーで増幅される各株のDNAサイズは, 図2に示したようにGilliam407bp, Karp230bp, Kato242bp, Kawasaki523bpおよびKuroki220bpである。

2・3・3 PCR条件

nested PCRは全量50 μ lのシステムで行われ, 図3のように調整した反応液を用いた。変性94 $^{\circ}$ C (30秒), アニリング57 $^{\circ}$ C (2分), 伸長70 $^{\circ}$ C (2分)を1サイクルとして30サイクル行った。2nd PCRは1st PCR産物5 μ lを使用してさらに30サイクル行った。遺伝子増幅装置としてTaKaRa PCR Thermal Cycler 480を使用した。

1st PCR		2nd PCR	
H ₂ O	33.25 μ l	H ₂ O	33.25 μ l
10 \times Buffer	5.0 μ l	10 \times Buffer	5.0 μ l
dNTP's Mix (2.5mM)	4.0 μ l	dNTP's Mix (2.5mM)	4.0 μ l
Primer34' (10mM)	1.25 μ l	Primer10' または11' (10mM)	1.25 μ l
Primer55' (10mM)	1.25 μ l	株特異Primer (10mM)	1.25 μ l
Taq polymerase (5U/ μ l)	0.25 μ l	Taq polymerase (5U/ μ l)	0.25 μ l
DNA	5.0 μ l	1st PCR product	5.0 μ l
計	50.0 μ l	計	50.0 μ l

図3 反応液の調整

2・3・4 DNAのアガロースゲル電気泳動

PCRで増幅されたDNA 5 μ lを用いて1.5%アガロースゲルによる電気泳動を行った。電気泳動には0.5 μ g/ ml のエチジウムブロミドを含む1 \times TAE泳動緩衝液を用い, 泳動後, DNAのバンドをトランスイルミネーター上で写真撮影した。DNAサイズマーカーとしてBioMarker Low (フナコシ)を用いた。

今回試みたPCR法では、急性期すなわち抗体産生以前に*O. tsutsugamushi*遺伝子の検出が可能であった。一方、抗体産生後の回復期検体からは本遺伝子が検出されなかった。片山ら⁷⁾は、抗体価の上昇している検体ではDNAの増幅が確認できなかつたと述べており、抗体の出現に伴い*O. tsutsugamushi*が消失するためではないかと推察される。

また、同じ報告で片山らは、血餅をホモジナイザーでつぶしてからDNAの抽出を行っているが、抗凝固剤を加えた血液中のリンパ球層からDNAを抽出できれば、操作が簡単で効率的であると述べている。今回我々は、抗凝固剤添加血液を使用してDNA抽出操作を行い、PCRにより目的とするDNAの増幅を確認することができた。DNAの回収率低下を防ぐためにも抗凝固剤を加えた血液の使用が望ましいと考えられる。

PCR法では*O. tsutsugamushi*遺伝子を直接検出することができ、しかもIP法より早期に*O. tsutsugamushi*感染の診断が可能と思われる。また、各株に特異的なプライマーを使用することにより、IP法で困難であった型別が可能であることが強く示唆された。

今後さらに臨床側に迅速で的確な検査情報を提供できるよう検討を重ね、早期診断法の確立に努めていきたい。

5. ま と め

つつが虫病患者血液からPCR法による*O. tsutsugamushi*

遺伝子の検出を試み、早期診断の有用性について検討した。PCR法により急性期検体から*O. tsutsugamushi*遺伝子を検出できたことから、*O. tsutsugamushi*感染の早期診断が可能であることが示唆された。

稿を終えるにあたり、ご協力いただいた保健所関係各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 佐藤孝, 他: 1989年から1996年までのツツガムシ病の疫学的検討. 第1回青森県保健医療・福祉・環境研究発表会抄録, 97-98, 1997
- 2) 須藤恒久: リケッチア症. 臨床とウイルス, 23, 382-393, 1995
- 3) 須藤恒久: 本邦における恙虫病の現状とその迅速病原診断法. メディアサークル, 30, 497-510, 1985.
- 4) 橘宣祥: 恙虫病の臨床像. 臨床とウイルス, 15, 511-515, 1987
- 5) 国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核感染症課: 〈特集〉つつが虫病 1991~1995. 病原微生物検出情報 (月報), 18, 197-198, 1997
- 6) 坪井義昌: リケッチア症の検査法. 臨床とウイルス, 23, 394-399, 1995
- 7) 片山丘, 他: PCRによる恙虫病患者の遺伝子診断. 神奈川衛研報告, 22, 1-6, 1992

Abstract

Detection of *Orientia tsutsugamushi* genes by PCR method

Junko Shimoyama, Takashi Sato and Toshiyuki Mikami

Genetical detection of *O. tsutsugamushi*, a pathogen of tsutsugamushi disease, was performed to investigate usefulness of early diagnosis. Blood samples from 3 patients that were positive for indirect immunoperoxidase reaction (IP test) were examined by PCR method. Genes of Karp strain were detected in the specimen from a patient in the acute phase of illness, although none from specimens from patients in the recovery phase. This finding suggests that *O. tsutsugamushi* genes be detectable during the acute phase, although they are undetectable during the recovery phase, where antibody production starts, probably because *O. tsutsugamushi* is eliminated. It also suggests that PCR method could identify *O. tsutsugamushi* infection earlier than IP test and detect *O. tsutsugamushi* strains, which was impossible by IP method.

Key words : *Orientia tsutsugamushi*, PCR, indirect immunoperoxidase test

食中毒に起因するSRSVの分子疫学的解析

三上 稔之 佐藤 孝 下山 純子 畑山 一郎

1997年5月30日付、食品衛生法の一部改正により食中毒の原因物質としてSRSVおよびその他のウイルスが追加された。本県においては追加後のウイルスによると思われる食中毒発生は1997年12月末と年が明けた1月、2月に届け出があり、電子顕微鏡法によるウイルス粒子検索とPCR法によるウイルス遺伝子検出を行った。その結果両方法においてSRSVが確認された。また、ウイルス遺伝子が検出された(1事例において)非発症者のウイルス排泄追跡調査では4日間以上ウイルスを保有していること、また、SSCPによる検出遺伝子解析により同一のウイルス感染によることで示唆された。

Key words : SRSV, RT-PCR, SSCP.

1. はじめに

1997年5月30日付の食品衛生法改正により、小型球形構造ウイルス(small round structured virus ; SRSV)は食中毒原因ウイルスとして位置付けられることになった。本県においては、SRSVの集団発生は1997年12月末、年が明けた1月、2月と立て続けに3事例生じたのでその詳細について報告する。SRSVの検索には電子顕微鏡(電顕)法とnested PCR法を用いた。また、検出ウイルス遺伝子のsingle-strand conformation polymorphism (SSCP)⁴⁾による分子疫学的解析から感染経路および感染源に関して検討を加えた。

2. 材料及び方法

2・1 検査材料

ウイルス性食中毒集団発生の発症者便、非発症者便、調理従事者便、食品、喫食残品等(特に生カキ)を用いた。

2・2 電顕試料及びRNA抽出

電顕試料は、便を滅菌蒸留水で10から20%乳剤として3000rpm、20分遠心処理後、等量のダイフロン処理、ポリエチレングリコールで濃縮、さらに150,000×g、150分の超遠心により得た。ウイルスRAは、電顕試料を出発材料としてISOGEN(ニッポンジーン)を用い抽出した¹⁾。

2・3 DNA解析

cDNA合成には、RNAPCR Kit(Takara)を用いた。nested PCRは、アウタープライマー35'/36'²⁻³⁾、インナープライマーNV81/82、SM82を用いた³⁾。SSCP法による解析は斎藤博之博士(秋田県衛生科学研究所)の協力によった。

3. 結 果

表1には、3事例の概要を示した。1997年12月末に飲食店で生カキによる感染と思われる12名の急性胃腸炎発症者が確認された。また、年が明けた1月にも生カキによる感染と思われる発生が複数の団体客に見られた。さらに2月には原因食品が推定できない集団発生が見られた。それらの発症者及び非発症者便を対象に、電顕法によるウイルス粒子の検索とnested PCR法による330bpのSRSV遺伝子検出を実施した。電顕法ではA、B事例で4検体からSRSV粒子が確認された(図1)。一方、PCR法では12月末のA事例で8検体中5検体から、また、1月のB事例では21検体中17検体からSRSV遺伝子が検出された(図2)。また、A事例の3検体とB事例の4検体の不検出例は、すべて非発症者のものであった。

2月のC事例では4検体中3検体からSRSV遺伝子が検出された。検出された3検体のうち1検体は非発症者であった。本事例の非発症者について、PCR法によるウイルス排泄追跡調査を行った。図3に示すように、発

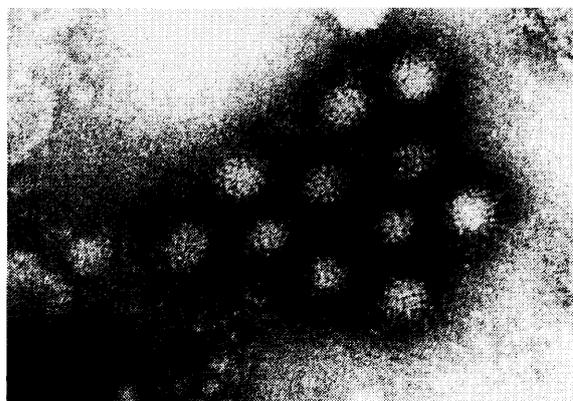


図1 1事例からのSRSV電顕像(直径約30nm)

表1 青森県内で集団発生した食中毒3事例の概要

区 分	事 例		
	A	B	C
発生年月	H9年12月	H10年1月	H10年2月
発生場所	A	B	C
患者数	12名	15名	22名
発生率	12/27(44%)	15/19(79%)	22/39(55%)
主症状	下痢, 嘔吐 腹痛, 発熱	下痢, 嘔吐 腹痛	下痢, 嘔吐 腹痛, 発熱
材料名(検体数)	便 (8)	便 (21)	便 (4)
検査結果(細菌)	陰性	陰性	陰性
ウイルス(電顕)	2/8	2/21	-
〃 (PCR)	5/8	17/21	3/4
喫食状況	生ガキ	生ガキ	推定食品無

生日から4日間はウイルス遺伝子が検出されたが、7日、10日目の便からは検出されなくなった。食品についてはA事例で残品の生カキからは不検出である一方、B事例では残品がなく、同一ロットの市販生カキからSRSVと疑われる増幅DNAが認められた。しかし、そのDNAがSRSVであることはサザンハイブリダイゼーションにより否定された(図4)。

図5には、SSCP法によるC事例のSRSV遺伝子の分子疫学パターンを示した。3検体のDNAは、電気泳動解析により同じパターンを示し、同一のウイルスであることが示唆された。

4. 考 察

A, B 2事例では、発症者すべての便からPCR法により330bpのSRSV遺伝子が検出された。感染食品と推

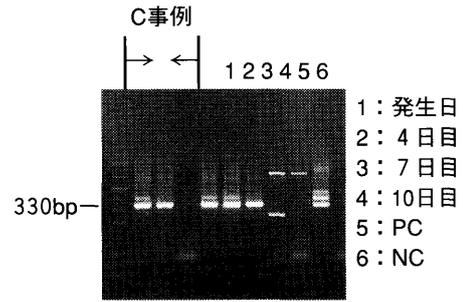


図3 C事例のSRSV遺伝子検出

測されるA事例の殻付き生カキ6枚からはSRSV遺伝子是不検出であった。一方、B事例の生カキからはSRSVに特異的と思われる330bpの増幅DNAが認められたが、サザンハイブリダイゼーションからはそれがSRSV遺伝子であるという証明は得られず否定された。しかし、結果の差異は、用いたプローブが発症者のPCR産物であるのに対し、生カキは残品そのものではなく同一ロット

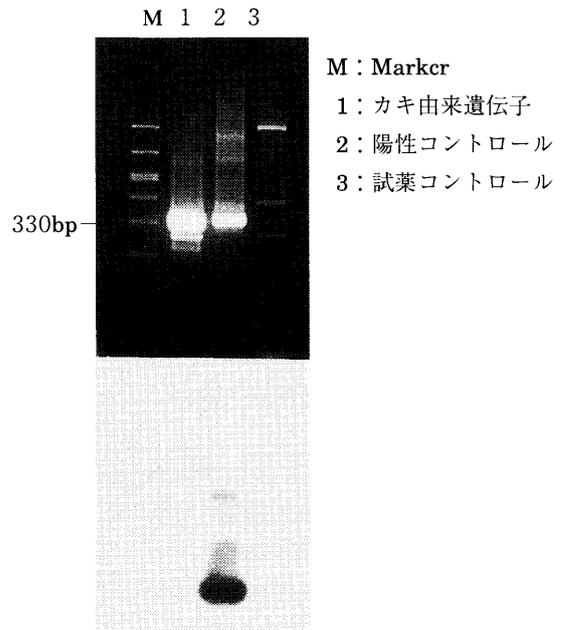


図4 サザンハイブリダイゼーションによる確認

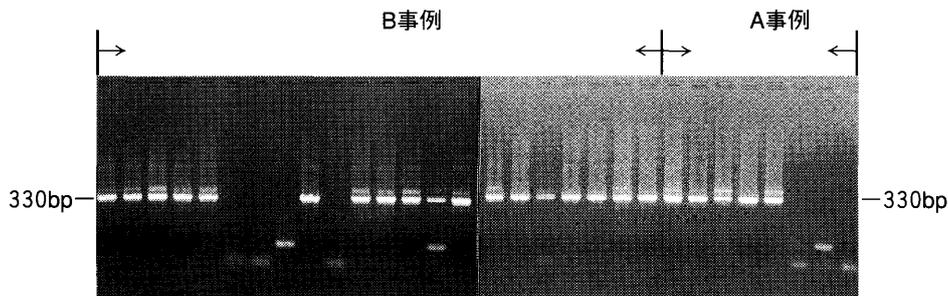


図2 A, B事例におけるSRSV遺伝子検出

の市販品であったことに起因していることも考えられる。また、SRSVは多様な遺伝子変異をもつため、温度や塩濃度を変えて塩基配列の厳密性を低くしたハイブリダイゼーションも検討する必要がある。なお、今回SRSV遺伝子の検出にはnested PCR法を用いたが、さらに汚染機会が少なく、迅速化ができる1回PCRによる検出を検討予定である。



図5 C事例のSSCP

C事例では、発症者と非発症者（調理者）からSRSV遺伝子が検出されたことにより非発症者が感染源と考えられたが、疫学的調査からは否定的であった。しかしながら、SSCP法での解析により検出された3検体のDNAは同一のもので、感染源は特定できないが人→食品→人への感染が推測された。以上の結果から、無症状のウイルス保有者による伝播が集団発生につながる可能性を考慮する必要がある。無症状のウイルス保有者、特に調理従事者等における検出が今後検討を要するものと思われる。

Abstract

Analysis of SRSV of a pathogen for food poisoning by molecular epidemiology

Toshiyuki Mikami, Takashi Sato, Junko Shimoyama, and Ichiro Hatayama

A partial revision of the Food Sanitation Law as of May 30, 1997 newly covered some viruses including SRSV. After the revision, the occurrences of food poisoning probably caused by these viruses were reported in Aomori at the end of December 1997 and in January and February 1998. Viral particles were explored by electron microscopy and viral genes were screened by PCR. Both tests detected SRSV in the specimens. In one case of food poisoning, study of viral excretion showed that carriers from which the viral genes were detected harbored the pathogenic virus for at least 4 days. Genetic analysis with SSCP also suggested that they were all infected with an identical virus.

Key words : SRSV, RT-PCR, and SSCP

5. ま と め

1997年12月末、1998年1月、2月の食中毒疑いの3事例は電顕法およびPCR法によりSRSVによるものであった。

B事例において感染源食品と推測された生カキはサザンハイブリダイゼーションにより否定された。

C事例では非発症者でウイルス遺伝子が検出された。非発症者のウイルス排泄追跡調査から4日間以上ウイルスを保有していること、また、SSCPにより同一ウイルスによる感染が示唆された。

最後に貴重な疫学調査資料を提供していただきました八戸、青森県保健所環境衛生課担当諸氏に深謝します。本調査研究の一部は県研究事業と厚生省厚生科学特別研究事業により行った。

文 献

- 1) 三上稔之, 他, : 食中毒様発生事例からのSRSVの疫学的調査. 第1回青森県保健医療・福祉・環境研究発表会抄録, 95-96, 1997
- 2) Moe, CL. et al. : Application of PCR detect Norwalk virus in fecal specimens from outbreaks gastroenteritis, *J, Clin. Microbiol.* 32 (3) 642-648, 1994
- 3) Saito, H. et al. : Application of RT-PCR Designed from the Sequence of the Local SRSV Strain to the Screening in Viral Gastroenteritis Outbreaks. *Microbiol. Immunol.*, 42 (6), 439-446, 1998
- 4) 斎藤博之, 他, : SRSVに起因する食中毒における疫学指標としてのSSCP解析の検討. 日本ウイルス学会抄録, 11F08 (234), 1998

ヒト血液細胞における神経芽細胞腫候補遺伝子*p73*の多型解析

武沼 浩子 石川 和子 下山 純子 畑山 一郎

最近、神経芽細胞腫 (neuroblastoma: NB) の候補遺伝子として、癌抑制遺伝子*p53*と構造的、機能的類似性の高い*p73*が報告された。マススクリーニング用新生児血液ろ紙を用いた*p73*遺伝子エクソン2のpolymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) の結果、対立遺伝子が共にG4/C14の例は61%, G4/C14とA4/T14からなる例は35%, そしてA4/T14の例は4%であった。ヒト神経芽細胞腫IMR-32でもA4/T14への変異が認められた。この結果は、NBの成因に*p73*エクソン2のG4/C14→A4/T14変異が関わっていることを示唆する。

Key words : neuroblastoma, *p73*, PCR-RFLP

1. はじめに

神経芽細胞腫 (neuroblastoma: NB) は、神経冠細胞起源で、交感神経節や副腎髄質への分化の途上で腫瘍化したものである。腫瘍細胞はカテコールアミンを産生・分泌する特性があるため、NB患児は尿中へカテコールアミンやその代謝産物を排泄する。これらの終末代謝産物であるvanillylmandelic acid (VMA), homovanillic acid (HVA)を測定し、治療可能な1歳未満の症例を早期に発見しようという考えに基づいて6カ月児を対象にマススクリーニングが行われている。図1はスクリーニング実施前のNBの2峰性の年齢分布を示している¹⁾。スクリーニング実施により1歳未満のNB発見例数である第1のピークは増加したのに対し、1歳以後の例はそれに見合う分の減少を示さなかった。1歳以後の発症例はより悪性で死亡率の高いことが知られており、NBマススクリーニングでは、後者の早期発見が重要な課題となっている。そして、スクリーニングで発見される1歳未満のNBとスクリーニングでは発見されず1~2歳以上で発症するNBの間には遺伝子レベルでの相違があると考えられている。

これまで、NBの成因についてはヒト第1染色体短腕の変異が指摘されてきたが²⁾、最近、癌抑制遺伝子*p53*と構造的、機能的に類似した*p73*遺伝子が1p36に位置することが判明した³⁻⁶⁾。そして、*p73*はNB以外の悪性腫瘍においては欠失例や変異例が少ないため、NBの候補遺伝子として注目されている。本研究では、*p73*遺伝子の変異がNBへの感受性の指標になるかどうか、NBマススクリーニング検査6カ月以前に採取した代謝異常検査用血液ろ紙DNAを用いて、正常ヒトの*p73*遺伝子の変異、特にエクソン2のG4/C14からA4/T14への変異につ

いて検討した。

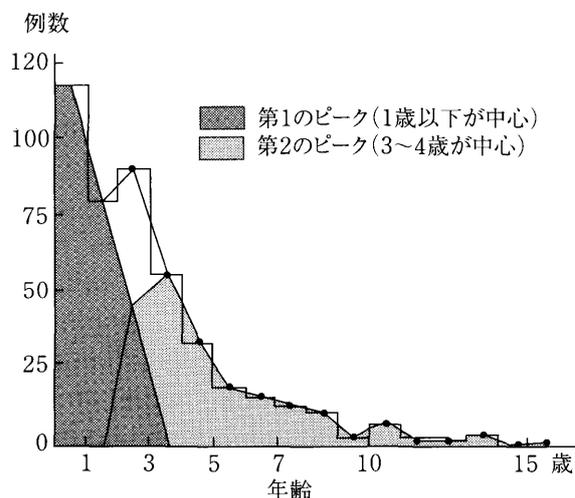


図1 マススクリーニング実施前、455例の神経芽細胞腫の年齢分布 (日本)

2. 材料及び方法

2・1 試薬

アガロースLEはナカライテスク、*Taq* DNA polymerase, dNTP, 制限酵素*Sly* IIは和光純薬から購入した。PCR用プライマーはグライナージャパンで合成されたものを使用した。DNAサイズマーカーとしてフナコシのBiomarkerを用いた。

2・2 DNAの調製

代謝異常検査用血液ろ紙の血液浸透部分直径3mmを切り出して微量遠心管に移した後、メタノールを50 μ l加えて5分間室温に放置した。メタノールの揮発操作後、60 μ lの蒸留水を加えて15分間煮沸し、12000rpm、5分の遠心上清をPCRの鋳型とした。ヒト神経芽細胞腫株

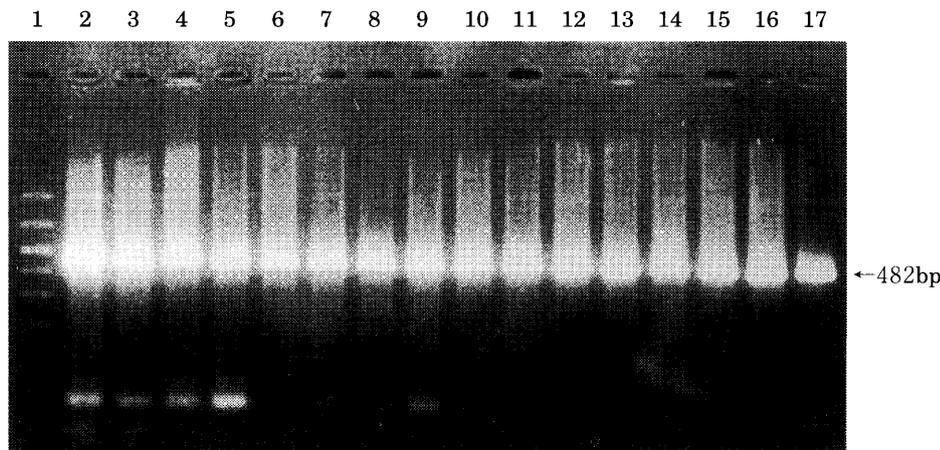


図2 正常ヒト血液細胞*p73*遺伝子のPCR. 1; サイズマーカー, 2; IMR-32, 3~17; ヒト血液細胞

化細胞IMR-32およびNB-1はヒューマンサイエンス振興財団から入手し、継代培養後DNA抽出用として用いた。DNAはSepaGene (三光薬品)を用いて抽出した。子宮頸癌HeLa細胞, 結腸癌Caco-2細胞, 喉頭癌Hep#2細胞および胎児横紋筋腫RD細胞のDNAも同様に抽出した。

2・3 PCR-RFLP

Nested PCRのプライマーとして1回目にsense: 5'-CACCTGCTCCAGGGATGC, antisense: 5'-AAAATAGAAGCGTCAGTCを, 2回目にsense: 5'-CAGGCCCACTTGCCCTGCC, antisense: 5'-CTGTCCCAAGCTGATGAを用いた³¹。最初のPCR反応は, 終濃度200 μ M dNTPおよび2 μ Mプライマーと5 μ l DNAからなる50 μ lの溶液で行われた。増幅反応は, 94 $^{\circ}$ C/30秒, 58 $^{\circ}$ C/1分, 72 $^{\circ}$ C/1分の30サイクルで行われた。2回目のPCR反応は, 鋳型DNAとして1回目のPCR産物2 μ lを用いた以外は同様であった。DNA増幅装置としてTakara PCR Thermal Cycler 480を使用した。Restriction fragment length polymorphism (RFLP) は, nested PCR産物5 μ lを*Sty* I (0.16Units/ μ l) で37 $^{\circ}$ C, 4時間処理することで行われた。

2・4 DNAのアガロースゲル電気泳動

PCRおよびRFLP終了後の反応液5 μ lを用いて2%アガロースゲル電気泳動でDNAの分離を行った。泳動緩衝液には1 \times TAEを用いた。アガロースゲルおよび緩衝液には0.5 μ g/mlのエチジウムブロミドを加えて使用した。

3. 結 果

100検体の正常ヒト血液ろ紙DNAを用いた*p73*遺伝子のPCRではいずれも482bpのバンドが検出され, 非特異的なバンドは認められなかった。図2にその典型的なパターンを示す。また, ヒト神経芽細胞腫株化細胞IMR-32も482bpの増幅DNAのバンドを示した。

制限酵素*Sty* IのRFLPでは, 消化されずに482bpのバンドのみがあるもの, 完全消化を受けて376bpと106bpの2本のバンドがあるもの, 一部消化により482bp, 376bp, 106bpの3本のバンドがある3種のパターンが確認された。代表的なパターンを図3に示す。IMR-32は, 既報²⁾のように完全に消化される一方, 正常ヒトDNAのREL_Pでは上記3種のパターンが混在していた。

正常ヒトでは*Sty* Iで消化されないG4/C14の例は61%, 片方の対立遺伝子に変異があって部分消化されるG4/C14;A4/T14の例は35%, そして両方の対立遺伝子に変異があり完全消化されるA4/T14例は4%であった(表1)。*p73*遺伝子のエクソン2は5'-AGGGACCTGCCGTCCGAGGCCGGCとなっており, 1本のDNA鎖内でG4とC14の水素結合によるループを形成している。*Sty* IはそのうちG4のA4への変異を認識して切断することから, 切断はG4/C14→A4/T14への変異のあることを意味する。そして, *p73*対立遺伝子エクソン2のG4/C14からA4/T14への変異がNBの発生に深く関与していることを示唆する。

次に, IMR-32以外の癌細胞について*Sty* IのRFLPを行

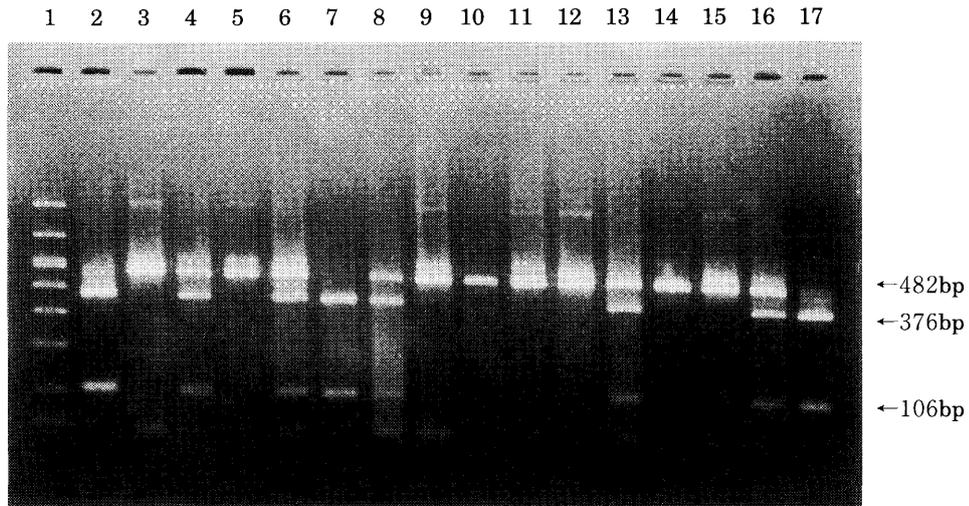


図3 正常ヒト血液細胞*p73*遺伝子の*Sty I*によるRFLP. 1; サイズマーカー, 2; IMR-32, 3~17; ヒト血液細胞

った。IMR-32と同様の神経芽細胞腫株化細胞NB-1には、エクソン2のG4/C14→A4/T14変異は認められなかった(図4)。神経芽細胞腫以外の癌細胞ではCaco-2が*Sty I*で完全消化されたが、HeLa, Hep[#]2, RD細胞では切断が確認されなかった。

4・考 察

マススクリーニングでは早期に発見されるNBは、アポトーシスなどにより未治療でも自然消退するケースがあり、NBマススクリーニングの意義を問い直す意見がある。一方、現行のマススクリーニングでは発見されないNBの発症前検出法の開発が待たれている。さらに、遺伝性のNB^{7,8)}も報告されており、それらの成因の分子レベルでの解析を進める必要がある。本研究において、正常ヒトの*p73*遺伝子のエクソン2は、対立遺伝子が共にG4/C14の場合が主体であるが、G4/C14; A4/T14のヘテロ型に加えてA4/T14のホモ型が4%確認された。神経芽細胞腫株化細胞IMR-32はA4/T14のホモ型であることから、マススクリーニングで正常と判定されたA4/T14の*p73*遺伝子を持つ小児の今後の動向を追跡する必要がある。

本研究では、神経芽細胞腫株化細胞NB-1はIMR-32と異なって、*p73*遺伝子のエクソン2はA4/T14のホモ型ではなかった。しかし、G4/C14ではなくC4/G14やT4/A14の可能性があるので、現在PCR産物の塩基配列の解析を進めている。また、神経芽細胞腫以外の4種の癌細胞の内、Caco-2細胞の*p73*にA4/T14の変異が確認されたが、Caco-2はNB細胞と同様に容易に分化する細

表1 *p73*エクソン2の変異パターン

対立遺伝子	出現率 (%) *
G4/C14	61
G4/C14; A4/T14	35
A4/T14	4

*100検体の結果から算出した

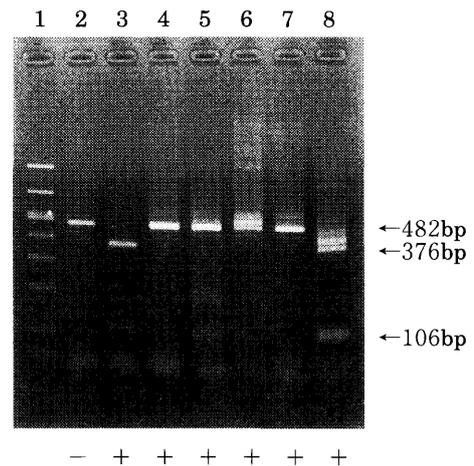


図4 種々の癌細胞*p73*遺伝子のPCR-RFLP. 1; サイズマーカー, 2-3; IMR-32, 4; NB-1, 5; HeLa, 6; Hep[#]2, 7; RD, 8; Caco-2. +, -は*Sty I*による処理の有無を示す。

胞⁹⁻¹⁰⁾であり、*p73*の変異は分化感受性腫瘍細胞に共通の性質であるかも知れない。

最近、*p73*についての報告が多く見られるようになったが、*p73*がNBの原因遺伝子と断定できる証拠はない。さらに、*p73*遺伝子エクソン2の変異が単なる多型なのかNBの成因の一つとなっているのか、さらに検討する必要がある。また、NBは*p73*遺伝子の変異のみで発生するのではなく、*p73*に加えて他の因子が必要である可能性は否定できず、*p73*ノックアウトマウスを用いたNB発生など、より直接的な研究が必要である。

5. ま と め

正常ヒト血液細胞の*p73*のエクソン2の遺伝子変異に関して、PCRと*Sty I*によるRELPで解析した。対立遺伝子が共にG4/C14である例が61%、G4/C14とA4/T14のヘテロ型が35%、A4/T14のホモ型が4%であった。神経芽細胞腫IMR-32もA4/T14ホモ型であったことから、A4/T14の遺伝子型とNB成因に関連性のある事が示唆された。

文 献

- 8) 社会福祉法人、恩賜財団母子愛育会編：神経芽細胞腫スクリーニング精度管理、(中央出版)、10-21、1994
- 9) Brodeur, G. M. et al : Chromosomal aberrations in human neuroblastoma. *Cancer*, 40, 2256-2263, 1977
- 10) Kaghad, M. et al : Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers. *Cell*, 90, 809-819, 1997
- 11) Jost, C. A. et al : p73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis. *Nature*, 389, 191-194, 1997
- 12) Dickman, S. : First p53 relative may be a new tumor suppressor, *Science*, 277, 1605-1606, 1997
- 13) Oren, M. : Lonely no more : p53 finds its kin in a tumor suppressor haven. *Cell*, 90, 829-832, 1997
- 14) Maris, J. M. et al : Molecular genetic analysis of familial neuroblastomas. *Eur. J. Cancer*, 33, 1923-1928, 1997
- 8) Tonini, G. P. et al : Loss of heterozygosity for chromosome 1p in familial neuroblastoma. *Eur. J. Cancer*, 33, 1953-1956, 1997
- 11) Vecchini, F. et al : Decrease activity of inducible nitric oxide synthase type2 and modulation of the expression of glutathione S-transferase α , bcl-2 and metallothioneins during the differentiation of Caco-2 cells. *Cell Growth Different.*, 8, 261-268, 1997
- 12) Li, R. X. et al : Inhibition of endogenous gangliosidosis does not block neurite formation by retinoic acid-treated neuroblastoma cells. *J. Biol. Chem.*, 272, 1349-1354, 1997

Abstract

Analysis of polymorphism on a possible causative gene of neuroblastoma (*p73*) in human hemocytes

Hiroko Takenuma, Kazuko Ishikawa, Junko Shimoyama, and Ichiro Hatayama

p73, structurally and functionally analogous to *p53* tumor repressor gene, has been presented as a candidate gene of neuroblastoma (NB) induction. Exon 2 of *p73* was investigated by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis using mass screening filter paper for neonatal blood. PCR-RFLP analysis showed G4/C14+G4/C14 in 61%, G4/C14+A4/T14 in 35%, and A4/T14+AT/T14 in 4%. A4/T14 mutation was detected also in human neuroblastoma IMR-32. These findings suggest that mutation of G4/C14 into A4/T14 in exon 2 of *p73* likely involve in development of neuroblastoma.

Key words : neuroblastoma, *p73*, PCR-RFLP

青森県における神経芽細胞腫マスキリング実施状況

石川 和子 武沼 浩子 金田 量子 下山 純子

昭和59年12月から平成9年3月までの13年間に、青森県では約18万人の6～7カ月児が神経芽細胞腫マスキリングを受検し、15人の患児が発見された。小児慢性特定疾患では神経芽細胞腫に認定されている患児の中には、マスキリング陰性後からの発病例、未受検者からの発病例があった。神経芽細胞腫マスキリングが始まり十数年経過し、神経芽細胞腫の特性も徐々に明らかになり、現在行われている実施時期が適切であるのか検討が始まっている。本県においては、マスキリングを円滑に進め、マスキリングの成果を確実に把握するためにも連絡協議会の早期設置が望まれる。

Key words : neuroblastoma, mass-screening, number of incidence

1. はじめに

神経芽細胞腫 (Neuroblastoma : NB) は、小児期の悪性腫瘍の中で白血病について多い疾患である。また、NBは交感神経節細胞へ分化していく途上で発生する腫瘍であるから交感神経節細胞と同様に腫瘍細胞もカテコールアミンを産生、分泌する機能があり代謝産物であるバニルマンデル酸 (Vanillymandelicacid : VMA)、ホモバニリン酸 (Homovanillic acid : HVA) が尿中に排泄されることになる¹⁾。そのVMA, HVAを測定し、NB患者を早期に発見するマスキリングが、国の事業として昭和58年ころより全国で実施されるようになった。

青森県においては、昭和59年12月より実施され、開始から平成9年3月までに約18万人の6～7カ月児がマスキリングを受検し、15名の患児が発見された。本報告では、本県における13年間の成績とマスキリングの現況について概説する。

2. 対象及び方法

2・1 対象

(1)昭和59年12月から平成9年3月までに神経芽細胞腫検査をした6～7カ月児を対象とした。

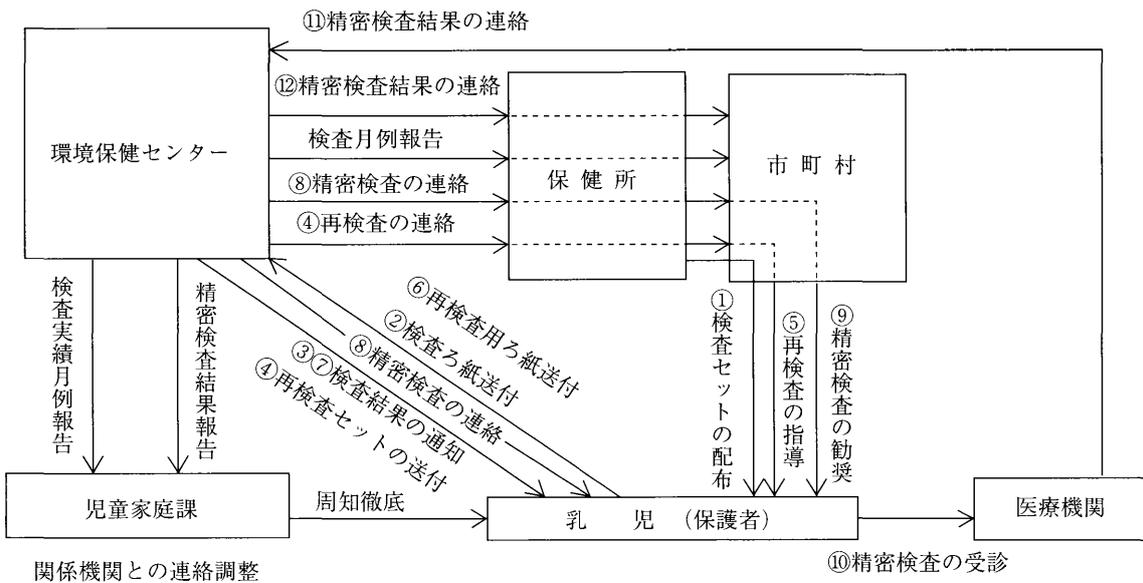


図1 神経芽細胞検査のフローチャート

(2)マススクリーニング以外で発見された症例については、平成4年度から平成9年度までに小児慢性特定疾患に認定されている患児を対象とした。

2・2 マススクリーニング

本事業は、「青森県神経芽細胞腫検査実施要綱」²⁾に基づいて行われている。フローチャートを図1に示した。

2・3 検査方法

(1)昭和59年12月～昭和60年1月

VMAスポット法による定性法を用いた。

(2)昭和60年2月～昭和60年8月

VMAスポット法と簡易ペーパークロマトグラフ法を併用して行った。

(3)昭和60年9月～平成2年7月

一次検査に、VMAスポット法による定性法を、二次検査に、蛍光検出器を用いた高速液体クロマトグラフィー(High Performance Liquid Chromatography : HPLC)によるVMA, HVA, の定量法を用いた。クレアチニン(Creatinine : CRE)濃度は、Jaffe法で測定した。クレアチンの最終代謝産物CREは、通常の状態では1日に尿中に排泄される量が一定であり変動が少ないことから³⁾, VMA, HVA値はCRE濃度で補正して示した。カットオフ値はVMA25, HVA32 μ g/mgCREとしていずれか一方でもカットオフ値以上示したものを疑陽性とした。

表1 年度別検査実施状況

年 度	一 次 検 査			二 次 検 査			
	受理件数 (受検率)	疑陽性	不備検体	受理件数	要精査数	患者数	
S59年12～60年3	8,693		93	43	100	0	0
60年4～8	6,265	(75.2)	185	44	215	2	0
9～3	8,770		328	31	314	0	0
61年	15,153	(79.6)	409	47	432	1	1
62年	14,805	(84.2)	647	56	614	3	0
63年	14,282	(86.7)	609	32	579	0	0
H元年	13,495	(84.8)	350	5	352	0	0
2年4～7	4,352	(87.3)	224	1	205	0	0
8～3	8,670		78	537	561	2	1
3年	13,279	(89.3)	81	1,344	1,392	6	0
4年	13,141	(89.1)	112	1,262	1,453	23	3
5年	12,939	(91.5)	184	1,180	1,468	23	2
6年	12,967	(88.9)	108	404	528	14	2
7年	12,625	(88.4)	146	336	503	14	4
8年	12,263	(87.9)	214	368	612	17	1
9年	12,222	(89.8)	220	407	663	22	1

表2 マス・スクリーニングで発見された症例

症例	性別	MS判定 月日(M)	MS結果 VMA:HVA	原発部位	病期	触知	転移	手術月例 (M)	腫瘍の大きさ (cm)	手術	化学療法	予後
症例1	女	6	① 土	左副腎	I	+	-	7	6×7×3	全摘	施行	生存
症例2	男	7	② 104.2 : 64.3 ① 140.3 : 155.8 ② 293.1 : 155.8	右副腎	Ⅲ	+	-	9	8×6×3	全摘	施行	生存
症例3	女	7	① 75.1 : 214.8 ② 148.6 : 214.8	右副腎	I	+	-	8	6×6×6	全摘	施行	生存
症例4	女	8	① 27.5 : 19.7 ② 30.0 : 29.9	左副腎	I	-	-	9	3×2.8×2	全摘	施行せず	生存
症例5	男	8	① 45.9 : 41.8	左副腎	I	+	-	9	5.8×4.5×5	全摘	施行	生存
症例6	男	12	① 22.1 : 25.8 ② 63.0 : 89.9	後腹膜	Ⅲ	+	リンパ +	17	8×53×2.8×5×2.5	全摘	施行	死亡 (その他の病期)
症例7	女	6	① 56.3 : 92.5	左副腎	I	-	-	7	6×5×3	全摘	施行せず	生存
症例8	男	10	① 24.9 : 34.0 ② 35.5 : 47.5	右副腎	Ⅱ	-	-	11	5.5×4.2	全摘	施行	生存
症例9	女	7	① 36.4 : 53.7 ② 32.6 : 55.6	左副腎	I	-	-	7	4.8×4.2×2	全摘	施行	生存
症例10	男	17	① 38.4 : 32.1 ② 83.6 : 33.9	骨 盤	Ⅳs	+	-	17 (経過観察後) 9	5×4.5×4.5	全摘	施行	生存
症例11	男	6	① 214.5 : 169.4	右副腎	Ⅲ	-	-	9	4×1.5×1×6	全摘	施行	生存
症例12	女	8	① 42.4 : 40.2 ② 46.7 : 33.2	肝右葉	Ⅲ	-	-			全摘	施行	生存
症例13	女	6	① 37.8 : 75.2 ② 65.0 : 79.9	後縦隔神経幹	Ⅱ	-	-	7	5.3×5.1×2.3	全摘	施行	生存
症例14	男	7	① 51.0 : 80.5	右後腹膜	I	+	-	7	4.5×3×2.5	全摘	施行	生存
症例15	女	8	① 28.6 : 37.3 ② 23.7 : 31.1	頸部	I	-	-	9	2×1.4×1	全摘	施行	生存

(4)平成2年8月～平成8年3月

VMA, HVAの定量は、蛍光検出器から電気化学検出器を使用するHPLC法で測定し、CREは従来法と同じJaffe法で測定した。カットオフ値はVMA18, HVA29 $\mu\text{g}/\text{mgCRE}$ とした。

(4)平成9年度以降

VMA, HVA, CREの定量は、HPLCにより同時に測定する方法である。VMA, HVAの検出器は従来通り電気化学検出器を使用し、CREは紫外可視分光光度計検出器を使用し測定している。カットオフ値はVMA16, HVA27 $\mu\text{g}/\text{mgCRE}$ とした。

3. 結 果

表1に年度別検査実施状況を示した。昭和59年12月から平成9年3月までの検査総数は、188,912件（一次検査178,921件：再検査9,991件）であった。平成元年までの一次検査受検率は、75～85%であったが平成2年以降87～90%と高くなっている。一次検査の再検率は、スポット法で3.84%（疑陽性3.52%：不備検体0.32%）であった。HPLC法では再検率が7.12%（疑陽性1.17%：不備検体5.95%）であった。一次検査及び再検査の結果、疑陽性と判定された127人（スポット法：6人：HPLC法112人）の保護者に対し医療機関での精密検査受診を

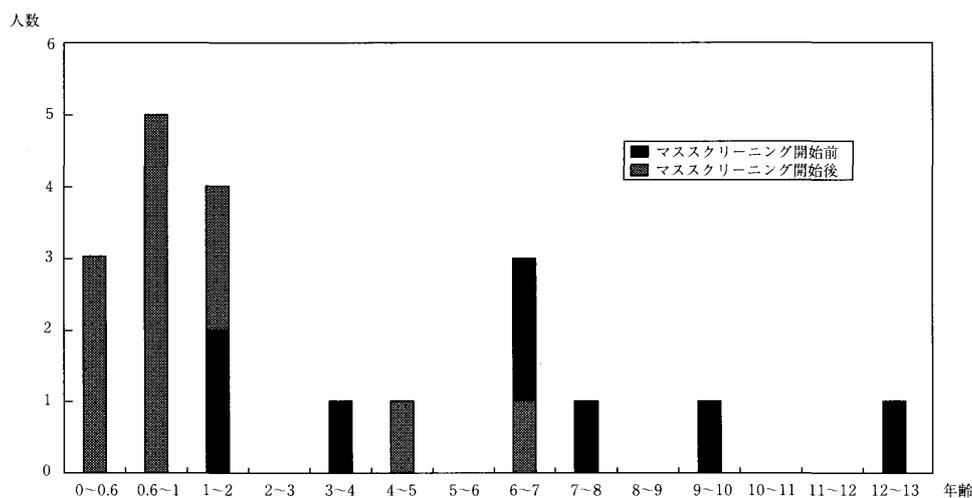


図2 マススクリーニング開始前後の患児年齢分布

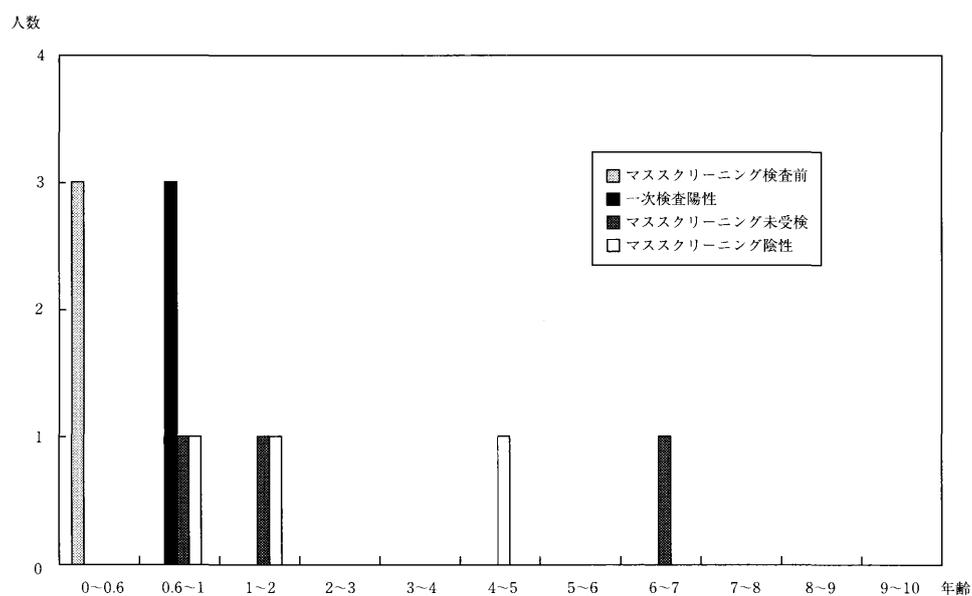


図3 マススクリーニング開始後の小児慢性特定疾患認定者内訳

勧奨した。その結果15人(スポット法1人:HPLC法14人)の患児が発見された。昭和59年12月~平成2年7月までの患者発見頻度は、約1/81,000、平成2年8月から平成9年までは約1/7,000であった。全国では1/5,000~1/5,800である。

マスキリーニングで発見された検査結果、臨床所見等を表2に示した。性別は男7例、女8例で、NB判定年齢は6~17カ月(平均8.2カ月)であった。精査時のVMAとHVA値は予後良好な早期例(病期I:II:IVs)で各々平均65.3と74.0 μ g/mgCRE、進行例(病期III:IV)で各々平均131.8と112.1 μ g/mgCREであった。原発部位は腹部12例(副腎8例:後腹膜2例:骨盤1例:左腎頭1例)で全体の80%を占めた。その他肝右葉1例、後縦隔1例、頸部1例であった。病期は、早期例が全体の73%(I期7例:II期2例:IVs期1例)で、進行例は27%(III期4例)であった。腹部発生例で腫瘤を触知し得たのは6例(40%)であり、不明例を除き、他の例は触知できなかった。12例が1歳以下で治療が開始され腫瘍摘除術、化学療法は100%行われていた。15例のうち1例がNB以外の病気で死亡しているが、他は生存している。

平成4年から平成9年までに、NBで小児慢性特定疾患に認定された小児は35名(マスキリーニング:15名、マスキリーニング以外:20名)であった。マスキリーニング以外で発見された患児20名の発病時期が、マスキリーニング開始前なのか後なのかを示した年齢分布図が図2である。マスキリーニング開始前の発症年齢は、2歳以上が75%を占めていた。マスキリーニング開始後は、2歳以下が80%以上を占めるようになった。

図3にマスキリーニング開始後の小児慢性特定疾患に認定された12人(マスキリーニング以外)の内訳を示した。マスキリーニング検査実施前に発症した患児3名、一次検査疑陽性で病院を受診した患児3名、未受検の中から発症した患児3名、陰性後発症した患児3名であった。マスキリーニング以外で発見された患児20名の予後は、生存13名、死亡4名(NB3名:他の病気1名)不明3名であった。NBで死亡した3名はマスキリーニング開始前に7歳で発見された症例、未受検で6.8歳で発見された症例と一次検査陽性で発見された症例であった。

マスキリーニング以外で発見された患児の受診理由として、腹部腫瘤30%(6/20)、発熱30%(6/20)、腹痛20%(4/20)、左頸部腫瘍10%(2/20)、腰痛10%(2/20)、その他に、前額部腫瘍、眼球突出、下痢、動悸、頭痛、前胸部痛、腹部膨満、関節痛、肝肥大、上気道炎などであった。

4. 考 察

青森県におけるNBマスキリーニングは、昭和59年12月よりVMAスポット法による定性法で開始された。平成2年8月より一次検査にHPLC法による定量法が導入され精度が高まり、患児の発見率も1/81,000から1/7,000と高くなった。

HPLCによるVMA、HVAの定量化に伴って、疑陽性率は著明に低下した。しかし、採尿ろ紙への尿が薄いまたはろ紙の不十分な乾燥による細菌汚染という、HPLCによる測定には適さない不備検体が多くなった。また、不良検体(量不足、採尿後10日以上)の検体、生後5カ月未満児の尿)や、検査申込み用紙の記載不備などもいづらか見られる。今後、これらの点について、検査セットの配布時に保護者への協力を働きかけていく必要がある。⁴⁾受検率は、過去10年間85~90%を維持し、全国平均より上回っている。しかし、マスキリーニング未受検者の中からNB患児が発見されており、さらに受検率を高める必要がある。そのため平成10年に事務処理用コンピューター導入時、新生児マスキリーニングの受検率が100%を超えていることから、6カ月後に行うNB検査受検者と連動させ、NB検査を実施していない受検者を選びだし受検するよう勧奨することとした。

マスキリーニングが行われて十数年経過し、6カ月マスキリーニングの成果と同時に、次のような問題点も指摘されるようになった。⁵⁾マスキリーニングによって発見される無症状の乳児例の予後は一般的に極めて良好であり、分子生物学的に予後不良因子を持つ例は少ないこと、さらにマスキリーニングの実施で増加した乳児例に相当する分の減少がその後の年齢群でみとめられないことから、乳児例には自然消退例が多く含まれている可能性があるという点である。しかし、マスキリーニングの評価には死亡数の検討が必要である。

立花⁶⁾は、青森県においてマスキリーニングがNBの発生にどのように影響しているかをマスキリーニング開始前5年間(1980~1984)とマスキリーニング開始後8年間(1985~1992)について調査した。調査方法は、県内主要病院の小児科及び外科へのアンケート、小児慢性特定疾患申請状況、マスキリーニング結果などから患者数を把握した。その結果、マスキリーニング開始前までは2歳以上が70%以上を占め、大部分は進行例である病期III、IV期であった。そのため予後は悪く、15例中13の死亡例があった。マスキリーニング開始後は1歳未満が最も多く、1才以上が減少傾向にあった。病期はI、II、IVsの早期例が増加する傾向にあり17例中11例が生存中であり、マスキリーニングの効果を報告している。

我々のマスキリーニングで発見された症例は、15例

で早期例が全体の73%，進行例は27%であった。予後は、1例がNB以外の病気で死亡している他は良好であり、全国と同様の傾向を示した。小児慢性特定疾患での認定者の発病年齢をマススクリーニング開始前と開始後で比較した結果は、マススクリーニング開始前までは2歳以上が75%を占め、開始後は2歳以下が80%以上を占めるようになり、立花の報告と一致した。

小児慢性特定疾患認定者（マススクリーニング以外：20名）の中には、マススクリーニング陰性後発症した患児3名が含まれていたが、予後は良好である。6カ月マススクリーニングで発見できなかった理由としては、尿中のVMA、HVAが異常値を示すほどの大きさに達していなかった。NBがあったのにVMA、HVAの排泄しないカテコールアミン非分泌型であったなどが考えられる。

20名の予後は、生存13名、死亡4名、不明3名であった。NB死亡例は3例で、マススクリーニング開始前に7歳で発見された症例、未受検で6.8歳で発見された症例。一次検査陽性で発見された症例であった。最後の症例は、マススクリーニング一次検査でのVMA、HVA値が16.8、27.4 $\mu\text{g}/\text{mgCRE}$ で、病期Ⅲ、N-myc遺伝子増幅有りの予後不良因子を含む進行例であった。

今回のNB死亡数は、マススクリーニングと小児慢性特定疾患認定者の中に限られたため本県でのマススクリーニング後のNB死亡数を正確に把握できなかった。

マススクリーニングの目的は、予後不良因子のある無症状の例を発見することである。現在おこなわれている実施時期では、40%近く発見できない例があることが報告⁷⁾されており、それらの多くは進行例として発見される場合が多々ある。進行例になる前に発見するためには、マススクリーニング実施時期の見直しも必要であり、再マススクリーニングを実施している県もある。

本県においては、マススクリーニングを円滑に進め、

マススクリーニングの成果を確実に把握するためにも、行政、医療機関、保健所、市町村、検査機関の連携が必要である。そのためにも連絡協議会の早期設置が望まれる。

本稿をまとめるにあたり、ご協力をいただいた児童家庭課母子保健班、ならび保健所等関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 社会福祉法人、恩賜財団母子愛育会編：改定版神経芽細胞腫マススクリーニング，中央出版，東京，26-29，1989
- 2) 青森県：青森県神経芽細胞腫検査実施要綱及び青森県神経芽細胞腫検査取扱要綱第2版改正 平成2年6月11日（青公衛第368号）
- 3) 社会福祉法人、恩賜財団母子愛育会編：改定版神経芽細胞腫マススクリーニング，中央出版，東京，142-147，1989
- 4) 厚生省児童家庭局母子衛生班：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特殊ミルク情報33，99-101，1997
- 5) 澤田淳：神経芽細胞腫マススクリーニングの現状と今後，小児科，(39)，225-235，1998
- 6) 立花直樹：青森県における神経芽細胞腫マススクリーニングの現状，青森県立中央病院医誌，(36)，8-14，1993
- 7) Sawada, T. et al :Changes in the age distribution and incidence of patients with neuroblastoma before and after mass screening for neuroblastoma in infants in Japan, International society of paediatric oncology (SIOP) 24th meeting, Hanover, 1014, 1992

Abstract

The current status of mass screening for neuroblastoma in Aomori Prefecture

Kazuko Ishikawa, Hiroko Takenuma, Ryoko Kaneda, and Junko Shimoyama

Neuroblastoma is designated as specific child chronic disease. Since December 1984 through March 1997, 15 out of about 180 thousand infants aged 6-7 months living in Aomori Prefecture were diagnosed as having neuroblastoma from the results of mass screening. However, some infants with a negative finding developed neuroblastoma. Mass screening for neuroblastoma has been of receiving mass screening is under study in various places. A conference for conducting mass screening efficiently and grasping results of the screening firmly should be organized also in Aomori Prefecture as soon as possible.

Key words : neuroblastoma, mass-screening, number of incidence

青森県の温泉中のヒ素およびフッ素含有量について

高橋 政教 平出 博昭 高橋ひとみ 村上 淳子
阪崎 俊璽¹ 安田 徳彦² 石塚 伸一³

青森県における温泉中のヒ素およびフッ素含有量を把握するとともに、他の化学成分との関連性について検討した。ヒ素は262検体中115検体(43.9%)に検出され、平均値は0.033mg/lであった。地域別では、中津軽郡が0.160mg/lと最も濃度が高く、また、源泉別では青森市(No11)での2.638mg/lが最高値であった。ヒ素の検出頻度はpH7~8、温泉40~60℃、塩素イオン250mg/l未満で最も高かった。また、2.0mg/l以上の高濃度のヒ素はpH1~3の酸性およびpH7~8のアルカリ性、温泉40℃以上、塩素イオン250mg/l未満および1000~10000mg/lの範囲で検出された。

フッ素は262検体中230検体(87.8%)に検出され、平均値は0.89mg/lであった。地域別では南津軽郡が1.92mg/lと最も高く、源泉別では平賀町(No20)での11.4mg/lが最高値であった。フッ素の検出頻度はpH7~8、温泉40~60℃、塩素イオン1000~10000mg/lの範囲で最も高かった。また、5.0mg/l以上の高濃度のフッ素はpH2~3およびpH8~9の範囲、温泉40℃以上、塩素イオン250mg/l未満および1000~10000mg/lの範囲で検出された。

Key words : hot springs, arsenic, fluorine, Aomori prefecture

1. はじめに

ヒ素およびフッ素は温泉水にごく普通に存在する微量元素であり、これらの元素は温泉の起源を解明するうえで重要である。また、フッ素は過剰摂取による斑状歯という問題も含んでいる。

著者らは昭和63年度から平成9年度当所で分析した青森県の温泉中のヒ素およびフッ素含有量を明らかにするとともに、他の化学成分との関連性について検討し、若干の知見を得たので報告する。

2. 調査方法

2・1 対象

当所で分析した262件の温泉を対象とした。地域別では南津軽郡が50件と最も多く、ついで青森市の37件であった。対象源泉およびその地域分布は表1、図1に示した。

泉質別内訳では塩化物泉151件、単純温泉66件、硫酸塩泉28件、冷鉱泉7件、炭酸水素塩泉6件、硫黄泉4件であり、塩化物泉が57.6%を占めた(表2)。

2・2 調査時期

昭和63年度から平成9年度

2・3 調査項目

pH, 泉温, 塩素イオン, ヒ素, フッ素

1: 三沢保健所

2: 消費生活センター

3: 環境政策課

2・4 分析方法

鉱泉分析法指針¹⁾に準じた。

3. 結果および考察

3・1 pHについて

pH値は1.5~9.8の範囲であった。地域別では三沢市および東津軽郡の8.0と最も高く、中津軽郡の6.7、三戸郡の6.8と低かった。中津軽郡では岩木町嶽地域の酸性泉、三戸郡では田子町の酸性泉を含むため低いpH値になっている。源泉では青森市(No11)の1.5が最も低く、福地村(No2)の9.8が最も高い値であった(表3)。

3・2 泉温について

泉温は9.9~98℃の範囲であった。地域別では五所川原市の53.9℃が最も高く、ついで黒石市の52.1℃、中津軽郡での51.3℃であった。一方、八戸市が26.9℃、東津軽郡の30.4℃、三戸郡の32.4℃と低かった。本県における温泉は津軽地域に高温泉(42℃以上)が多く認められ、南部地域は低温泉(25~42℃)が多い(表3)。

3・3 塩素イオンについて

塩素イオンは4.9~21270mg/lの範囲であった。地域別ではむつ市が12387mg/lと最も多く、ついで八戸市の5988mg/l、西津軽郡の4386mg/lであった。一方、三戸郡が101.7mg/l、下北郡の368.9mg/lと低かった(表3)。

3・4 ヒ素について

温泉中のヒ素は262検体中115検体(43.9%)に検出され、平均値は0.033mg/lであった。温泉中に高濃度の

表1 対象源泉

地域	源泉数	地域	源泉数	市町村名
青森市	37	東津軽郡	7	平内町4, 蓬田村1, 今別町1
弘前市	25	中津軽郡	19	岩木町14, 西目屋村4, 相馬村1
八戸市	10	南津軽郡	50	平賀町21, 大鰐町11, 碓ヶ関村8, 尾上町3,
黒石市	18			田舎館村3, 浪岡町3, 藤崎町1
五所川原市	11	西津軽郡	22	深浦町5, 鱒ヶ沢町4, 柏村4, 森田村3,
十和田市	4			稲垣村2, 木造町2, 車力村1, 岩崎町1
三沢市	6	北津軽郡	9	鶴田町2, 金木町2, 中里町2, 小泊村2, 板柳町1
むつ市	2	上北郡	29	十和田湖町9, 天間林村4, 東北町3, 下田町3,
				上北町2, 七戸町2, 六戸町2, 六ヶ所村2,
				野辺地町1, 横浜町1
		三戸郡	6	新郷村2, 福地村2, 倉石村1, 田子町1
		下北郡	7	川内町4, 大畑町1, 佐井村1, 東通村1
合計			262	源泉

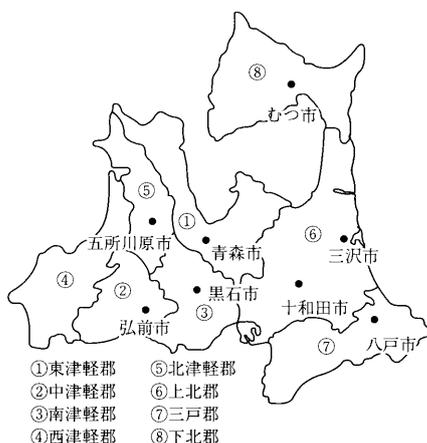


図1 源泉の地域分布

表2 泉質による分類

泉質	件数	割合(%)
塩化物泉	151	57.6
単純温泉	66	25.2
硫酸塩泉	28	10.7
冷鉱泉	7	2.7
炭酸水素塩泉	6	2.3
硫黄泉	4	1.5
計	262	100

注：単純温泉はアルカリ性単純温泉も含む

ヒ素が含まれていることはすでに知られており、天然水中のヒ素濃度平均値は、温泉で0.3mg/l、雨水では0.6μ

g/l、河川水では1.3μg/l、海水中では2～3μg/lと報告されている²⁾。本県における温泉での成績は全国平均値より低かった。

図2にヒ素含有量の頻度分布を示した。ヒ素濃度は0.005mg/l未満が56.1%、ついで0.005～0.1mg/lが31.3%であり、0.1mg/l未満が87.4%を占めていた。

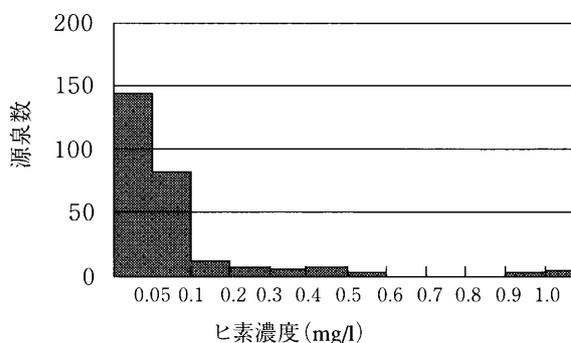


図2 源泉のヒ素含有量の頻度分布

地域別では中津軽郡が0.160mg/lと最も高く、ついで青森市の0.133mg/l、西津軽郡の0.114mg/lの順であった。一方、八戸市、三沢市、むつ市および東津軽郡では0.005mg/l未満であった(表3)。

源泉では青森市(No11)での2.638mg/lが最も高く、ついで岩木町(No14)の2.290mg/l、平賀町(No11)の2.046mg/lの順であった(表4)。

図3にヒ素含有量とpHとの関係を示した。ヒ素の検出頻度はpH7～8のアルカリ性で51.3%と最も高く、ついでpH8～9の30.4%、pH6～7の13.1%であった。また、

表3 地域別温泉成分成績

地 域	(mg/ℓ)									
	pH		泉 温(℃)		塩素イオン		ヒ 素		フッ素	
	min~max	ave	min~max	ave	min~max	ave	min~max	ave	min~max	ave
青 森 市	1.5~9.0	7.4	26.5~76.1	43.6	8.9~18440	1875	<0.005~2.638	0.133	0.00~ 2.30	0.65
弘 前 市	6.4~8.0	7.4	25.0~69.5	43.6	14.2~12320	3750	<0.005~0.139	0.011	0.00~ 3.20	0.84
八 戸 市	7.0~8.4	7.6	12.6~50.6	26.9	505.2~16140	5988	<0.005~0.840	<0.005	0.00~ 3.10	0.54
黒 石 市	7.2~8.8	7.6	26.4~98.0	52.1	9.9~11700	812.4	<0.005~0.198	0.006	0.00~ 2.80	0.88
五所川原市	7.2~8.4	7.8	47.7~62.4	53.9	321.2~ 5810	3372	<0.005~0.025	0.005	0.00~ 3.90	1.74
十和田市	7.4~8.2	7.9	32.0~46.6	38.6	6.4~ 3492	1297	<0.005~0.021	0.013	0.00~ 1.90	0.74
三 沢 市	7.6~8.4	8.0	43.0~47.5	45.1	109.9~ 992.7	735.1	<0.005~0.005	<0.005	0.00~ 1.40	0.67
む つ 市	7.0~7.4	7.3	37.5~39.7	38.6	6166. ~18590	12387	<0.005~0.008	<0.005	0.00~ 0.30	0.25
東津軽郡	7.2~8.6	8.0	13.8~50.1	30.4	18.4~21270	3730	<0.005~0.022	<0.005	0.00~ 2.40	0.77
中津軽郡	2.0~8.4	6.7	27.6~82.0	51.8	53.2~ 7710	2364	<0.005~2.290	0.160	0.00~ 7.10	1.03
南津軽郡	5.6~9.2	7.9	13.2~78.5	50.9	11.3~ 7524	850.0	<0.005~0.552	0.049	0.00~11.40	1.92
西津軽郡	6.4~8.0	7.4	27.3~63.4	47.3	24.1~16030	4386	<0.005~2.046	0.114	0.00~ 2.40	0.60
北津軽郡	7.4~8.2	7.6	31.6~67.6	44.1	530.6~14990	3124	<0.005~0.020	0.005	0.00~ 2.10	0.84
上 北 郡	5.8~8.8	7.7	19.5~68.3	43.5	11.3~17060	1941	<0.005~0.464	0.007	0.00~ 2.00	0.61
三 戸 郡	3.9~9.8	6.8	9.9~45.5	32.4	4.9~ 491.4	101.7	<0.005~0.026	0.009	0.00~ 0.70	0.50
下 北 郡	7.4~8.3	7.8	30.5~67.2	48.3	7.8~ 595.6	368.9	<0.005~0.370	0.018	0.00~ 6.70	1.47
total	1.5~9.8	7.6	9.9~98.0	43.3	4.9~21270	2922	<0.005~2.638	0.033	0.00~11.40	0.89

表4 源泉中のヒ素含有量

源泉番号	ヒ素(mg/ℓ)
青 森 市 (No 1)	2.638
岩 木 町 (No14)	2.290
岩 崎 村 (No 1)	2.046
平 賀 町 (No 1)	0.552
十和田湖町 (No 2)	0.464
岩 木 町 (No13)	0.450
十和田湖町 (No 3)	0.440

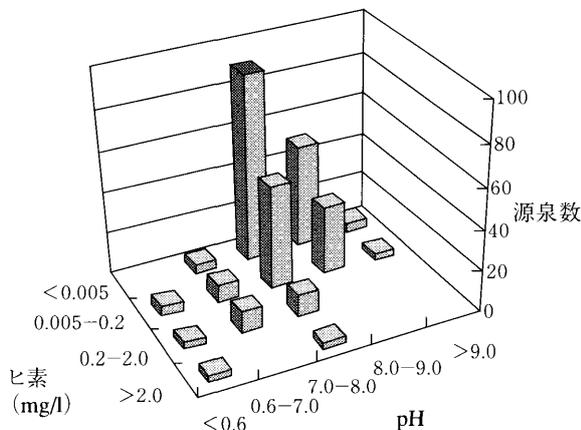


図3 源泉のヒ素含有量とpH

2.0mg/l以上の高濃度のヒ素が検出されたのはpH 1～3の強酸性で2検体、pH 7～8のアルカリ性で1検体であった。中谷³⁾は温泉水中のヒ素含有量はアルカリ側になるにつれて減少し、酸性側に平均して含有していると報告している。一方、野口⁴⁾はヒ素はアルカリ性の高熱水に多く含まれているが、塩酸酸性を示す熱水にも多いと述べている。本成績ではpH 1～3の硫酸酸性泉およびpH 7～8のアルカリ性温泉に高濃度のヒ素が検出された。一方、pH 9以上の強アルカリ性温泉では高濃度のヒ素は検出されなかった。本県では硫酸酸性泉の酸ヶ湯温泉(最高値5.5mg/l)、アルカリ性温泉の碓ヶ関・平賀地域の温泉に高濃度のヒ素が検出されている⁵⁾。

図4に温泉のヒ素含有量と泉温との関係を示した。ヒ素の検出頻度は泉温が40～60℃で53.4%と最も高く、ついで20～40℃の26.7%であった。0.2mg/l以上のヒ素はすべて40℃以上の高温泉であった。一方、20℃以下の温泉ではすべて0.05mg/l以下の低濃度であった。泉温とヒ素の関係では、中谷³⁾、野口⁴⁾らは泉温の高いほど多く含有していると報告しているが、本成績でも同様な成績が得られた。

図5に温泉のヒ素と塩素含有量との関係を示した。ヒ素の検出頻度は塩素イオンが250mg/l未満で31.3%と最も高く、ついで1000～10000mg/lで23.8%であった。一方、2mg/l以上の高濃度のヒ素は、塩素イオン1000～10000

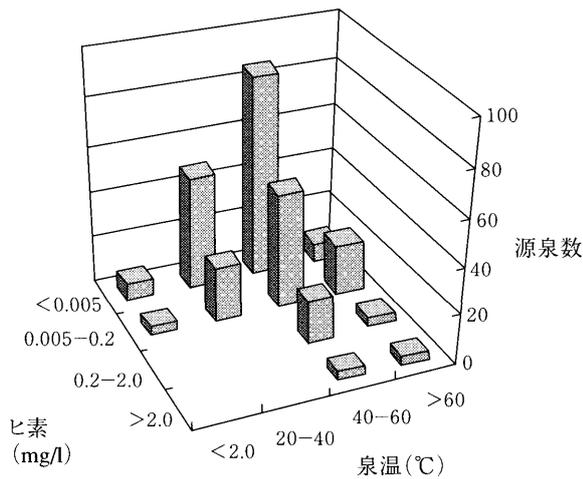


図4 源泉のヒ素含有量と泉温

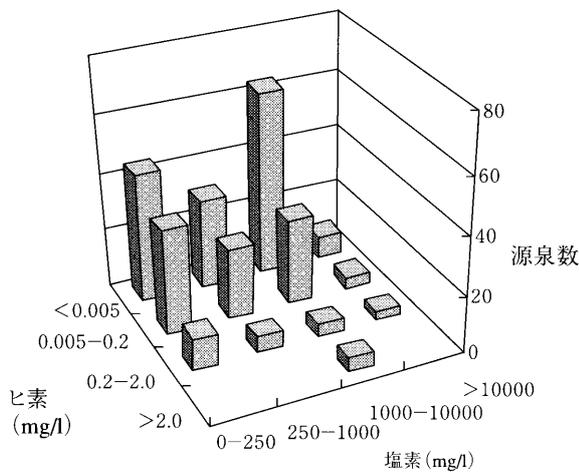


図5 源泉のヒ素と塩素含有量

mg/lの範囲内で3検体認められた。しかし、ヒ素と塩素イオンとの間に相関関係は認められなかった。泉質別によるヒ素含有量は、硫化水素泉に多く認められ北海道では食塩泉>硫化水素泉>単純温泉>硫酸塩泉の順であると報告³⁾されているが、本成績では硫化水素泉、硫酸塩泉の検体数が少ないため、泉質別については今後検体数を増やして検討したい。

3・2 フッ素について

温泉中のフッ素は262検体中230検体(87.8%)に検出され、平均値は0.89mg/lであった。図6に温泉中のフッ素含有量の頻度分布を示した。フッ素濃度は0~0.5mg/lが39.7%、ついで0.5~1.0mg/lが24.4%、1.0~1.5mg/lが13.7%であり、1.5mg/l未満が77.8%を占めており、平均値は0.89mg/lであった。

フッ素は温泉水中に一般的に含まれている元素であり、我が国の温泉・鉱泉の平均フッ素濃度は1.9mg/lと報告⁶⁾されている。本成績においては、全国平均値よりも低い成績であった。

地域別では南津軽郡が1.92mg/lと最も高く、ついで五所川原市の1.74mg/l、下北郡の1.47mg/lの順であった。一方、むつ市は0.25mg/l、三戸郡では0.50mg/lと低濃度であった(表3)。

源泉では、平賀町(No20)が11.4mg/lと最も高く、ついで浪岡町(No1)の7.50mg/l、岩木町(No14)の7.10mg/lであった(表5)。

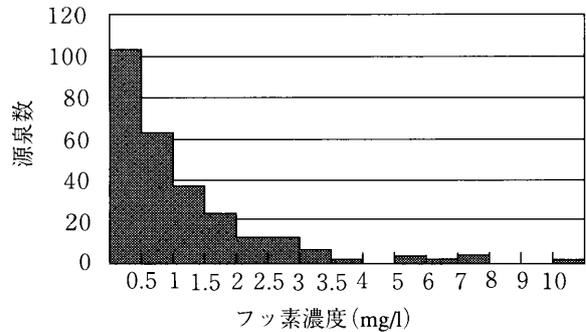


図6 源泉のフッ素含有量の頻度分布

表5 源泉中のフッ素含有量

源泉番号	ヒ素(mg/l)
平賀町(No20)	11.4
浪岡町(No1)	7.50
岩木町(No14)	7.10
東通村(No1)	6.70
尾上町(No1)	5.60
五所川原市(No8)	3.90
五所川原市(No1)	3.40

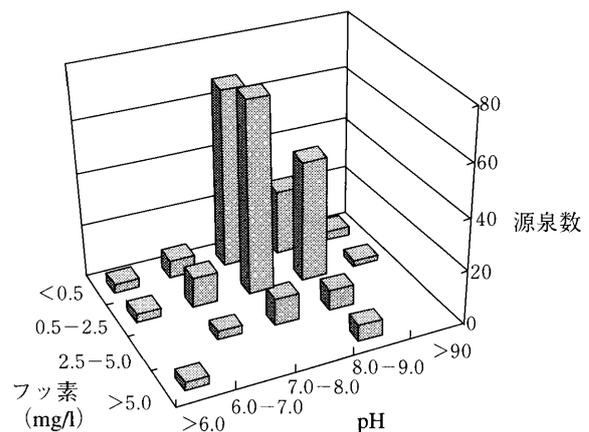


図7 源泉のフッ素含有量とpH

図7に温泉のフッ素含有量とpHとの関係を示した。フッ素の検出頻度はpHが7~8のアルカリ性で57.3%

と最も高く、ついでpH8～9の31.3%であった。一方、pH6未満では2.7%、pH9以上では1.5%の低い検出頻度であった。また、5mg/l以上の高濃度のフッ素はpH2～3の範囲に2検体、pH8～9の範囲に5検体認められた。フッ素とpHとの関係では、フッ素は強酸性および強アルカリ性の温泉に多いと報告されている²¹⁷⁾。一方、フッ素は酸性泉に少なく、アルカリ性になるにつれての急激に増加するとの報告もなされている³¹⁸⁾。本成績ではフッ素の検出頻度はpH7～8のアルカリ性で最も高く、また高濃度のフッ素が検出された。一方、酸性では検出頻度は低いが、pH2～3で高濃度のフッ素が検出された。

図8に温泉のフッ素含有量と泉温との関係を示した。フッ素の検出頻度は泉温が40～60℃で58.4%と最も高く、ついで20～40℃の26.7%、60～80℃の10.7%の順であった。フッ素と泉温については、相関関係があるという報告がなされている⁹⁾。一方、泉温とは相関関係はないとの報告もある³¹¹⁰⁾。本成績では3.0mg/l以上の高濃度のフッ素はすべて40℃以上の高温泉であり、泉温の高い温泉において明らかに高濃度のフッ素が検出された。一方、20℃以下の温泉ではすべて0.05mg/l未満の低濃度であった。

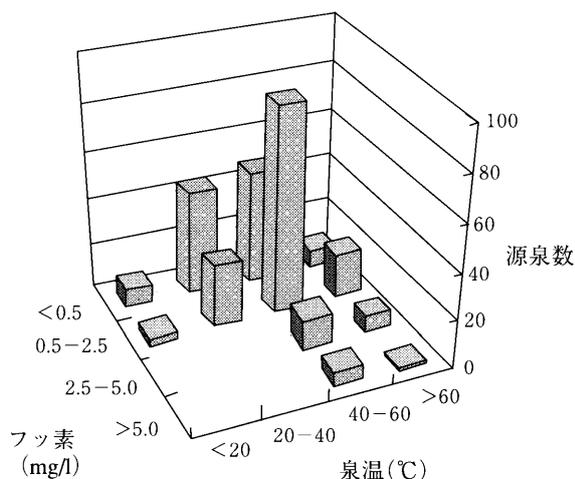


図8 源泉のフッ素含有量と泉温

図9に温泉のフッ素と塩素含有量との関係を示した。フッ素の検出頻度は塩素イオンが1000～10000mg/lの範囲で37.4%と最も高く、ついで250mg/l未満の34.7%であった。また、5.0mg/l以上の高濃度のフッ素は、塩素イオンが250mg/l未満および1000～10000mg/lの範囲内で認められた。フッ素と塩素イオンとの間には相関関係が認められなかった。しかし、今回は全体の成績について検討した結果であり、今後は地域別に分けてを検討する必要がある。なお、本県では岩木町嶽地域の強酸性泉、津軽地域のNa-Cl泉、単純温泉に高濃度のフッ素が含ま

れていることはすでに報告¹¹⁾している。

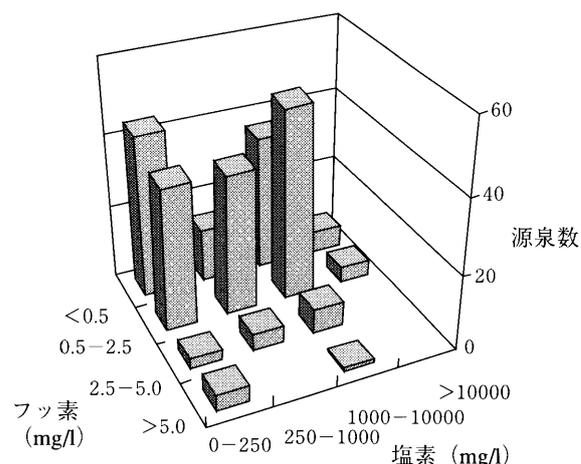


図9 源泉のフッ素と塩素含有量

4. ま と め

青森県の温泉中のヒ素およびフッ素含有量を検討するため、昭和63年度から平成9年度に当所で分析した262件の温泉を対象として検討したところ、次の結果が得られた。

(1) ヒ素について

- ア. 検出率は43.9%であり、地域別では十和田市の75.0%が最高値で、ついで下北郡の71.4%であった。一方、八戸市は10.0%、北津軽郡は11.1%と低い検出率であった。
- イ. 濃度は0.1mg/l未満の源泉が87.4%を占めた。平均値は0.033mg/lであり、全国平均値に比して低い値であった。地域別では青森市(No11)の2.638mg/lが最高値で、ついで岩木町(No14)の2.290mg/lであった。
- ウ. pH7～8、泉温40～60℃、塩素イオン1000～10000mg/lの範囲で最も検出頻度が高かった。また、pH1～3およびpH7～8、泉温40℃以上の温泉に2.0mg/l以上のヒ素が検出された。

(2) フッ素について

- ア. 検出率は87.8%であり、地域別では黒石市、五所川原市および北津軽郡では100%であった。一方、むつ市は50.0%、八戸市は60.0%と低い検出率であった。
- イ. 濃度は1.5mg/l未満の源泉が77.8%を占めた。平均値は0.89mg/lであり、全国平均値に比して低い値であった。地域別では平賀町(No20)の11.4mg/lで、ついで浪岡町(No1)の7.50mg/lであった。
- ウ. pH7～8、泉温40～60℃、塩素イオンは1000

～10000mg/lの範囲で最も高い検出頻度であった。
また、pH2～3およびpH8～9、泉温40℃以上、
塩素イオン250mg/l未満および1000～10000mg/l
の範囲で5 mg/l以上の高濃度のフッ素が検出さ
れた。

文 献

- 1) 環境庁自然保護局：鉱泉分析指針（改定），1978
- 2) 酒井幸子，他：群馬県下の温泉中のヒ素含有量．温
泉科学，26（1），13-25，1975
- 3) 中谷省三：鉱泉中に含まれる微量有害元素 第一報
北海道の鉱泉に含まれる砒素及び弗素．北海道衛生
研究所報，10，94-102，1953
- 4) 野口喜三雄，他：宮城県鳴子温泉群および鬼首温泉
のヒ素含量．温泉科学，19（1），40-47，1968
- 5) 桶田幾代，他：青森県における温泉水中の重金属含
有量調査．青森県衛生研究所報，14，36-41，1976
- 6) 菅原 健：用水と廃水．6，61-63，1964
- 7) 松浦新之助，国分信英：フッ素の研究．東京大学出
版，1973
- 8) 野口喜三雄，他：イエローストーン国立公園のフッ素
含有量．温泉科学，24（1），26-33，1972
- 9) 世取山守他：栃木県の温泉中のフッ素イオンと泉温
の関係について．栃木県衛生研究所報，21，62-67，
1991
- 10) 川本 博他：濃度相関マトリックスによる下呂温泉
群の相互関連性の検討．温泉科学，33，1-8，1982
- 11) 桶田幾代，他：青森県における温泉水中のフッ素濃
度について．青森県における温泉の概況，37-40，
1981

Abstract

Arsenic and fluorine contents of hot spring water in Aomori Prefecture

Masanori Takahashi, Hiroaki Hiraide, Hitomi Takahashi, Atsuko Murakami, Shunji Sakazaki¹,
Tokuhiko Yasuda² and Shinichi Ishizuka³

Arsenic (As) and fluorine (F) contents of hot spring water in Aomori Prefecture were determined to investigate their relationship with other chemical elements. As was detected from 115 (43.9%) out of 262 specimens with an average concentration of 0.033 mg/l. The average As concentration was highest in hot spring in Nakatsugaru District (0.160 mg/l). The hot spring with the highest As concentration (2.638 mg/l) is located in Aomori City (No.11). As was most frequently detected in hot spring water of pH 7-8, at 40-60℃ with a Cl concentration of <250 mg/l. As concentration was high (2.0 mg/l or higher) in the hot spring water of pH 1-3 or 7-8 at 40℃ or higher with a Cl concentration of <250 mg/l or 1,000-10,000 mg/l.

F was detected from 230 (87.8%) out of 262 specimens with an average concentration of 0.89 mg/l. The average F concentration was highest in hot spring in Minami-tsugaru District (1.92 mg/l). The highest F concentration (11.4 mg/l) was observed in the hot spring in Hiraga Town (No.20). F was most frequently detected in hot spring water of pH 7-8 at 40-60℃, and Cl concentration of 1,000-10,000 mg/l. High F concentration (5.0 mg/l or higher) was detected in the hot spring water of pH 2-3 or 8-9 at 40℃ or higher with a Cl concentration of <250 mg/l or 1,000-10,000 mg/l.

Key words : hot springs, arsenic, fluorine, Aomori Prefecture

記憶喪失性貝毒素ドウモイ酸分析法の検討

中谷 実 今井 美代子 三浦 啓徳 高橋 政教

ドウモイ酸の分析法として、AOAC法及びHatfield法について比較検討を行った。両方ともに欧米各国での規制値の $20\mu\text{g/g}$ を下回る濃度での検出が可能であり、Hatfield法は検出感度及び試料溶液の安定性において優れていた。また平成9年度中に採捕したむつ湾産ホタテガイ8検体について、Hatfield法によりドウモイ酸の分析を行った結果、すべて不検出であった。

Key words : scallop, amnesic shellfish poisoning (ASP), domoic acid, neurotoxin

1. はじめに

ドウモイ酸は記憶喪失性貝毒の原因となるアミノ酸で、紅藻類のハナヤナギや数種の珪藻により生産されることが知られている^{1,2)}。魚介類のドウモイ酸による毒化は珪藻に由来するものであり、毒化の報告されている生物は二枚貝のみにとどまらず、アンチョビーやダンジネスクラブをはじめとするカニ類にまで及んでいる^{3,4)}。

ドウモイ酸は中枢神経伝達物質のL-グルタミン酸に対し拮抗作用をもち、記憶中枢である海馬のC3領域を選択的に破壊する。このために、記憶喪失という特徴的な中毒症状がもたらされる²⁾。

1987年にカナダ大西洋岸で発生した養殖ムラサキイガイによる中毒事例では、食後1~10時間で、吐き気、腹痛、下痢、頭痛、食欲減退などの症状が現れ、重症者には痙攣、昏睡、見当識障害、記憶障害などがみられた。診断が確定した患者107人のうち4人が死亡し、12人に記憶障害の後遺症が残った。患者のドウモイ酸推定摂取量と症状の関係については、60~110mgの摂取では軽症だが、115~290mgでは神経障害を起こすことが判明した^{2,5)}。

わが国においてはこれまでドウモイ酸による被害は確認されていない^{1,2)}。しかしドウモイ酸を生産するとされる珪藻である*Pseudonitzschia*及び*Nitzschia*は日本各地で見つかっており⁶⁾、近隣では大船渡湾のムラサキイガイ及びホタテガイから低濃度ながらもドウモイ酸の検出報告がなされている³⁾。

今回、むつ湾産ホタテガイ貝毒モニタリング検査のためのドウモイ酸検査法として、AOAC法⁷⁾及びHatfield法⁸⁾の比較検討を行った結果、若干の知見を得たので報告する。

2. 調査方法

2・1 試料

平成9年5月から平成10年3月にかけて採捕し、冷凍保存したむつ湾産ホタテガイを用いた。

2・2 試薬

ドウモイ酸標準溶液：Sigma社製、Domoic acid 1mg、10%アセトニトリル溶液に溶解し、 $100\mu\text{g/ml}$ の濃度に調製した後、4℃で遮光保存した。

SAXミニカラム：varian社製、Bond Elut LRC SAX 10CC/500MG、使用する直前にメタノール5ml、水5ml、50%メタノール溶液5mlにより平衡化した。

フィルター ($0.45\mu\text{m}$)：Gelman Sciences社製、GHP Acrodisc13

2・3 装置

高速液体クロマトグラフ：津島製作所製、LC-10A

検出器：UV検出器SPD-10AV及びフォトダイオードアレイ検出器SPD-M10A

2・4 HPLCの測定条件

カラム及びガードカラム：資生堂社製、CAPCELL PAK C18 UG120 $5\mu\text{m}$ $4.6\times 250\text{mm}$ 、CAPCELL C18 UG120 $4.0\times 10\text{mm}$

カラム温度：40℃

測定波長：242nm

試料溶液注入量： $20\mu\text{l}$

(1) AOAC法

移動相：8.5%リン酸・水・アセトニトリル(2:873:125)

流速：0.8ml/min

(2) Hatfield法

移動相：トリフルオロ酢酸・水・アセトニトリル(1:900:100)

流速：1.0ml/min

2・5 試料溶液の調製

AOAC法はムラサキイガいの検査法を準用した。

Hatfield法はカラム溶出条件を一部変更して用いた。

(1) AOAC法

調製方法を図1に示した。ホモジナイズしたむき身50gに0.1N塩酸50mlを加え、攪拌しつつ5分間煮沸した後、素早く冷却し、100mlに定容した。遠心分離後の上澄液5mlを採り、水を加えて50mlに定容し、その一部を0.45 μ mのフィルターにより濾過して試料溶液とした。

(2) Hatfield法

調製方法を図2に示した。ホモジナイズしたむき身5gに50%メタノール溶液20mlを加え、3分間ホモジナイズした。遠心分離後の上澄液を0.45 μ mのフィルターにより濾過し、そのうちの2mlをSAXミニカラムに供した。0.1M塩化ナトリウム-10%アセトニトリル溶液5mlで洗浄した後、1.0M塩化ナトリウム-10%アセトニトリル溶液による溶出液5mlを採取して試料溶液とした。

表1 添加回収試験 (n=5)

	添加回収率(%)	SD(%)
AOAC法	82.4	5.5
Hatfield法	87.1	3.0

検体50g
 — 0.1N 塩酸50ml
 — 攪拌しつつ煮沸, 5min
 — 0.1N 塩酸を加え, 100mlに定容
 — 遠心分離 3000rpm, 5min
 上澄液 (5ml)
 — 水を加え, 50mlに定容
 — 0.45 μ mのフィルター (GHP Acrodisc13) により濾過
 HPLC (20 μ l)

図1 AOAC法による試料溶液調製

検体5g
 — 50%メタノール20ml
 — ホモジナイズ, 3min
 — 遠心分離 3000rpm, 20min
 上澄液
 — 0.45 μ mのフィルター (GHP Acrodisc13) により濾過
 上澄液 (2ml)
 — SAXミニカラムにのせる
 — 0.1M塩化ナトリウム-10%アセトニトリル5mlで洗浄
 — 1.0M塩化ナトリウム-10%アセトニトリル5mlで溶出
 HPLC (20 μ l)

図2 Hatfield法による試料溶液調製

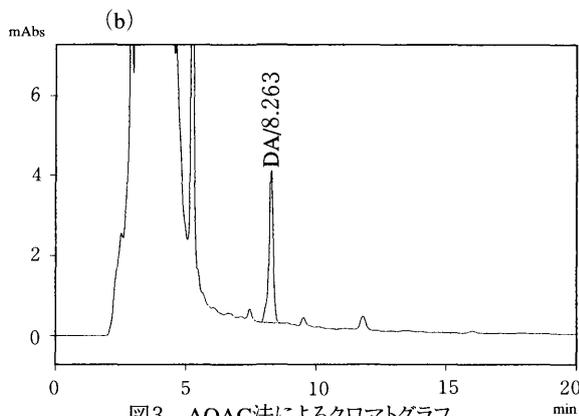
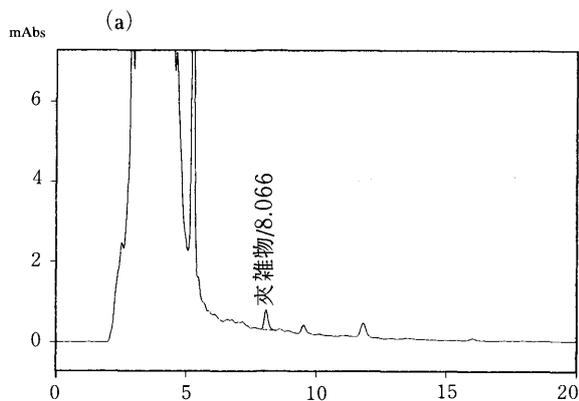


図3 AOAC法によるクロマトグラフ

(a)は無添加検体、(b)は添加検体(0.45 μ g/ml)

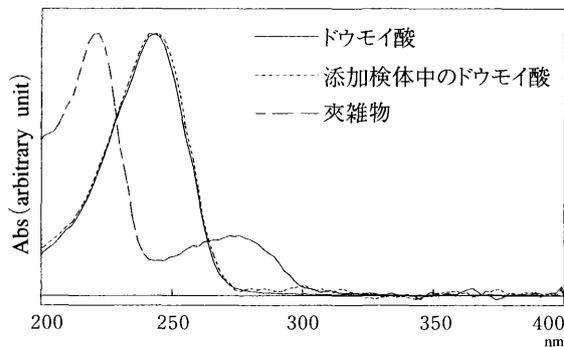


図4 SPD-M10Aによる吸光スペクトル

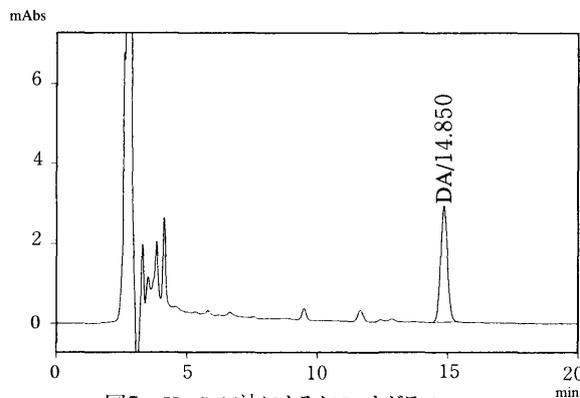


図5 Hatfield法によるクロマトグラフ

添加検体(0.68 μ g/ml)

3. 結果及び考察

3・1 添加回収試験

EU, 米国及びカナダにおけるドウモイ酸の規制値は可食部当たりで $20 \mu\text{g/g}$ である。添加量はこの半分の $10 \mu\text{g/g}$ とし, AOAC法, Hatfield法ともに5回ずつの回収試験を行った。表1に回収率及び標準偏差を示した。

AOAC法の分析条件では, 図3の(b)に示すようにドウモイ酸はクロマトグラム上で約8分に溶出した。ドウモイ酸のピークに近接する夾雑ピークが確認され, これが定量値に影響を与えることが懸念された。夾雑ピーク面積値に比して, 定量範囲の下限に相当する濃度の標準品のピーク面積値が十分に大きくなるように, 定量範囲の下限に相当する標準溶液として $0.125 \mu\text{g/ml}$ の標準溶液を用いて分析を行った。この濃度は検体中での $5 \mu\text{g/g}$ に相当する。図4に示すようにドウモイ酸標準品と添加検体中のドウモイ酸の吸光スペクトルは一致し, 問題となる夾雑物の吸光スペクトルとは明らかに区別された。

図5にHatfield法によるクロマトグラムを示した。ドウモイ酸は約15分で溶出し, 周辺の夾雑物の影響が無かったため, 定量範囲の下限に相当する標準溶液として $0.04 \mu\text{g/ml}$ の標準溶液を用いて分析を行った。この濃度は検体中での $0.5 \mu\text{g/g}$ に相当する。

表2 AOAC法による試料溶液の安定性

試料溶液調製後の日数	定量値(初期値に対する%)
1	88.2
2	79.6
3	67.4
7	54.9

表3 Hatfield法による試料溶液の安定性

試料溶液調製後の日数	定量値(初期値に対する%)
5	97.2
10	97.2
15	98.6

表4 Hatfield法による検査結果

採捕日	採捕地点	ドウモイ酸定量値
H9/ 5/19	野内	ND
5/19	野辺地	ND
8/ 4	野内	ND
8/ 4	野辺地	ND
11/25	野内	ND
11/25	野辺地	ND
H10/ 2/ 9	野内	ND
2/ 9	野辺地	ND

ND: 不検出, 定量下限: $0.5 \mu\text{g/g}$ ・むき身

両分析法ともに規制値以下での検出が可能であり, かつ湾産ホタテガイ貝毒モニタリング検査のためのドウモイ酸検査法として適用できると考えられるが, HPLCのクロマトグラム上での夾雑物の有無, 及び必要とされる検体量の違いから, Hatfield法が検出感度の面で比較的優れていることが示唆された。

3・2 ドウモイ酸試料溶液の安定性

表2及び表3に, 両法により調製した標準添加試料溶液を 4°C にて冷蔵保存した際の, それぞれの分析法のHPLC条件でのピーク定量値の経日変化を示した。

AOAC法による試料溶液では日を追うごとにドウモイ酸含量が減少しており, 試料溶液調製当日の分析が必要であることが示唆された。これに対し, Hatfield法による試料溶液では, 調製後2週間を過ぎても定量値はほとんど変化せず, 安定性は高いと考えられる。

3・3 検査結果

表4にむつ湾産ホタテガイのHatfield法による検査結果を示した。全検体についてドウモイ酸は不検出であった。

4. ま と め

- (1) ドウモイ酸の分析法として, AOAC法及び, Hatfield法は共に, 欧米各国での規制値を下回る濃度での検出が可能であった。
- (2) 両法を比較すると, Hatfield法の方が検出感度及び試料溶液の安定性において優れていた。
- (3) 平成9年度中に採捕したむつ湾産ホタテガイ8検体について, Hatfield法によりドウモイ酸の分析を行ったところ, すべて不検出であった。

5. 謝 辞

本研究を行なうにあたり, 資料提供及び研修により御指導下さった, 国立公衆衛生院の町井研士博士に深く感謝します。

文 献

- 1) 安元健: 化学と生物, **28**, 703-704, 1990
- 2) 日本食品衛生協会: 食品衛生検査指針, 追補 I, 306-300, 1993
- 3) 小瀧裕一: ぶんせき, **6**, 474-476, 1995
- 4) Lawrence, J. F. et al. : Comparison of high-performance liquid chromatography with radioimmunoassay for the determination of domoic acid in biological samples, *Journal of Chromatography A*, **662**, 173-177, 1994
- 5) Wright, J. L. C. et al. : Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island,

- Canadian Journal of Chemistry, **67**, 481-490, 1989
- 6) 水産庁：平成7年度貝毒対策事業結果検討会資料, 1996
- 7) AOAC INTERNATIONAL : AOAC Official Method **991.26** Domoic Acid in Mussels, First Action 1991, AOAC Official Methods of Analysis, **35. 1. 22**, 1997
- 8) Hatfield, C. et al. : Salt clean-up procedure for the determination of domoic acid by HPLC, Natural Toxins, **2**, 206-211, 1994

Abstract

Study of analytical methods for domoic acid, amnesic shellfish poisoning (ASP)

Minoru Nakaya, Miyoko Imai, Hironori Miura and Masanori Takahashi

Two analytical methods for domoic acid were compared. Both AOAC and Hatfield methods detected domoic acid at the level lower than the regulatory concentration of Western countries ($20\mu\text{g/g}$). Hatfield method was superior to AOAC method in sensitivity and stability of the test solution. Domoic acid was not detected from 8 scallops gathered within the Mutsu Bay in fiscal 1997 when examined by Hatfield method.

Key words : scallop, amnesic shellfish poisoning (ASP), domoic acid and neurotoxin

堤川水系における泡の発生機構解析 (II) 一泡の構成成分一

三上 一 野澤 直史

青森市東部を貫流し、陸奥湾に注ぎ込む堤川中流域では春～夏季に泡が発生することから水質、泡の構成成分から発生機構解明を行った。水質調査では、最上流では磷が低かったが、中流域では磷が著しく高くなり高濃度の磷発生源の存在が疑われた。泡の発生する地点はpH5～6で、不溶性の磷、鉄、アルミニウムが増加していた。

泡の構成成分をみると磷、鉄、アルミニウムの濃度が高く、磷は鉄結合型磷 (Fe-P)、アルミニウム結合型磷 (Al-P) として存在していた。このことから、泡の発生は海水の遡上によりpHが5～6付近となり、磷と鉄、アルミニウムとが凝集沈殿反応によりフロックを形成し、これが泡となるものと考えられた。このことから、泡の発生抑制には磷の負荷量収支の把握と削減対策が必要になるものと思われる。

Key words : acid river, foam, phosphorus, iron, aluminium, flocculant.

1. はじめに

青森市東部を貫流し、陸奥湾に注ぎ込む堤川の中流域では春～夏季に川一面を覆う泡が発生し、景観を損なうことから苦情が寄せられ、その解決が求められていた。

著者等は前報¹⁾において、泡の生成機構を解明するためにモニター及び水質調査を行った。

発生機構解明に至らなかったが、以下のことが泡の生成に関与していることが示唆された。

- (1) 堤川水系がpH3.5～4.5の酸性河川であること。
- (2) ラバーダムにより水が混合・攪拌すること。
- (3) 磷が関与していること。
- (4) 泡の消長には潮汐が関連していること。

その後、周辺地域の宅地化の進行により、農業用水確保のための、ラバーダム使用がなくなり、泡の発生頻度は減少したことから堤川水系における泡の問題は終息したものと思われた。しかしながら、発生頻度は減ったものの、依然として発泡現象が認められることから機構解明と対策が求められている。

ここでは、水質調査とともに泡の構成成分を明らかにし、泡の発生機構解明を行ったので報告する。

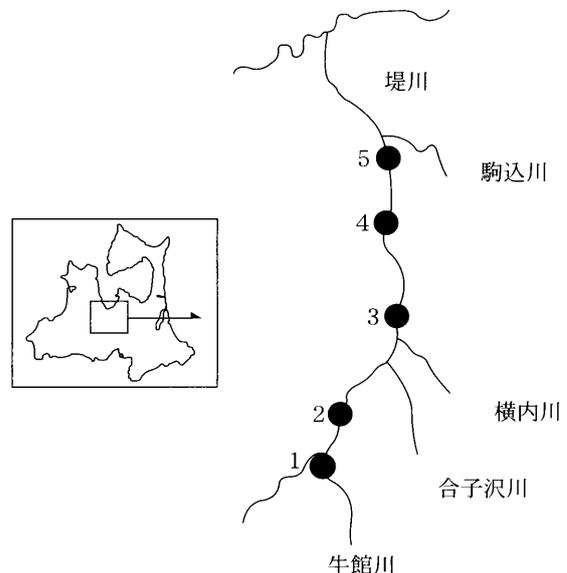
2. 調査方法

堤川水系における調査地点を図1に示す。採水及び泡の採取は1997年7月24日、筒井橋における底質の採取は1998年4月11日に行った。

調査項目は水質は流量、pH、DO、BOD、COD、SS、T-P、DTN、T-P、DTP、PO₄-P、MBAS、T-AI、S-AI、T-Fe、S-Feで、溶解性成分はwhatman GF

／F (孔径約0.7μm)でろ過したろ液を用いた。

底質及び泡は強熱減量、Fe、Mn、Al、MBAS、クロロフィル分解物、炭素、窒素 (CNコーダー計による)、磷で、Fe、Mn、Alはフッ素分解-原子吸光法、T-Pは硝酸-過塩素酸分解-アスコルビン酸還元モリブデン青法、無機態磷の形態別定量は関谷の方法²⁾によった。



- 1) 牛館橋
- 2) 間屋橋
- 3) ラバーダム堰堤下
- 4) 筒井橋
- 5) 桜川橋

図1 調査地点

3. 結果と考察

3・1 水質の概要

調査時における泡の発生状況をみると、最上流の牛館橋、問屋橋では泡の発生がみられなかったが、ラバーダム堰堤下では細かい泡が多く認められた。筒井橋は満潮時で、大量の泡の滞留が認められたが(写真1)、桜川橋では泡は認められなかった。

ここでは、堤川での泡の発生に関与すると考えられる水質項目について検討した。

pHは3.9~6.0で、下流になるにつれてpHの上昇が認められた(図2)。pHの上昇は堤川と合流する中性河川である横内川、合子沢川の影響と、堤川水系は感潮河川で、調査時には筒井橋下流域が滞留であったことから海水の遡上によるものと考えられた。

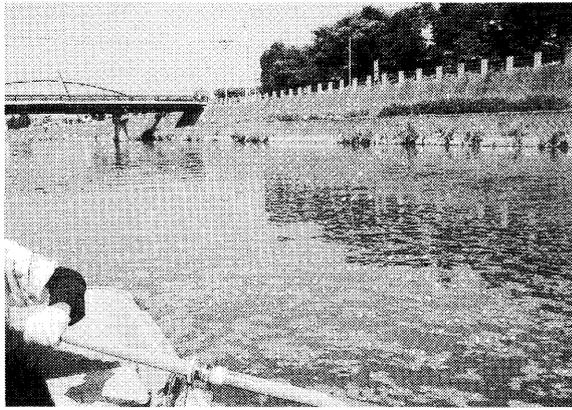


写真1 筒井橋における泡の発生状況

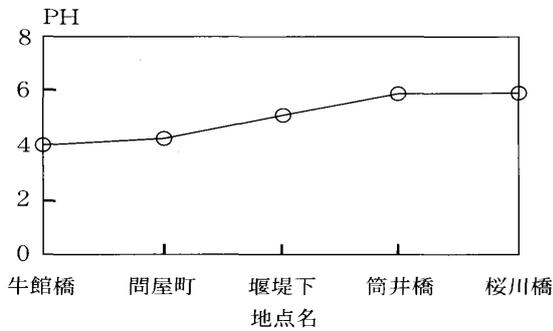


図2 堤川水系におけるpHの推移

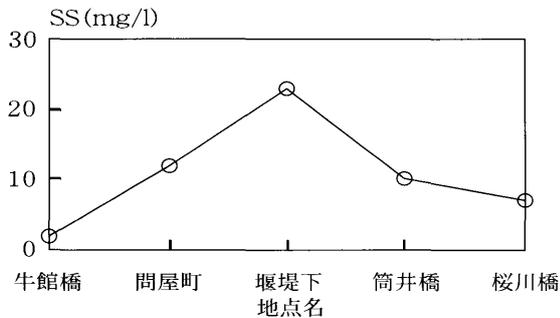


図3 堤川水系におけるSSの推移

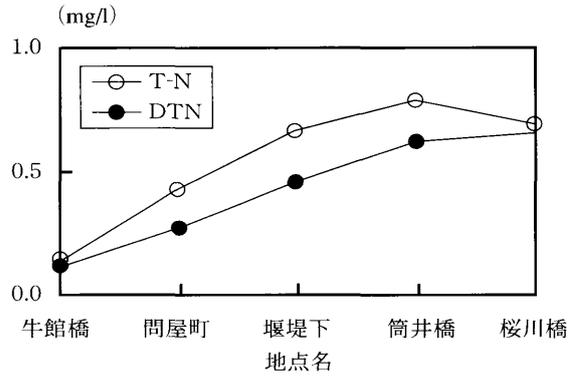


図4 堤川水系における窒素の推移

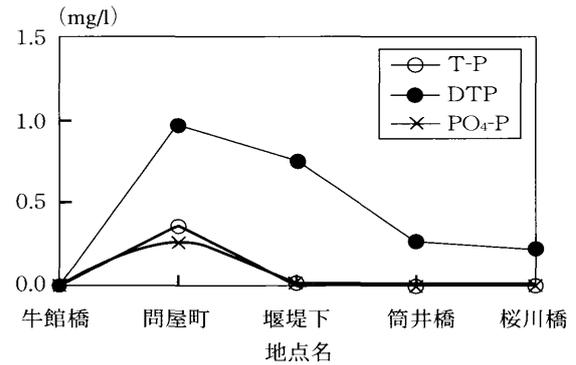


図5 堤川水系における磷の推移

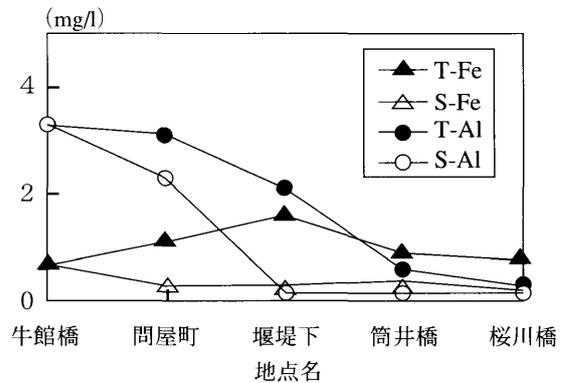


図6 堤川水系における鉄、アルミニウムの推移

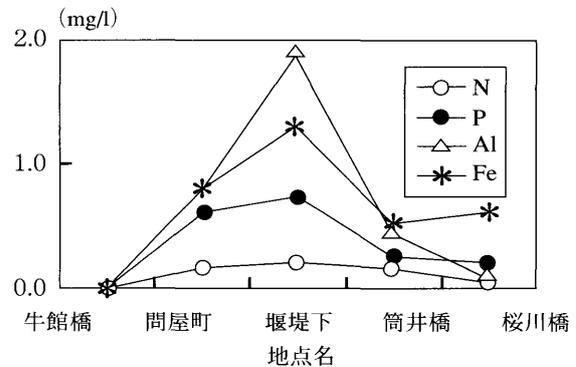


図7 堤川水系における不溶性成分の推移

SSは最上流である牛館橋では低いが、問屋橋で増加し、ラバーダム堰堤下では最大となり、下流の桜川橋ではSSが低下した(図3)。SSの挙動は泡の発生強度とほぼ同じ挙動を示すことから泡の構成成分が不溶性成分に由来することが示唆された。

窒素は下流になるとともに増加する傾向にあるが、多くは溶解性窒素であった(図4)。

磷は最上流の牛館橋では低いが、問屋橋では急激に上昇し、下流になるとともに低下していた。磷を形態別にみると、小さな泡の発生が多数認められたラバーダム堰堤下では溶解性の DTO 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ が著しく減少し、全磷から溶解性磷を差し引いた不溶性の磷の生成が認められた。このことから、溶解性の $\text{PO}_4\text{-P}$ が不溶性成分となり、これがフロック状の泡となっていることが示唆された。また、問屋橋を中心とする地点には泡の発生要因の一つと考えられる高濃度の磷発生源の存在が疑われた(図5)。

鉄、アルミニウムをみると、最上流の牛館橋ではpH 3.9で、酸性であることから鉄、アルミニウムともに溶解性の型で存在しているが、pHの上昇とともに不溶解化し、ラバーダム堰堤下ではその傾向が著しかった(図6)。

ここで、不溶性の窒素、磷、鉄及びアルミニウムをみると、窒素を除いた3成分は問屋橋、ラバーダム堰堤下での増加が大きく、SSと似た挙動を示しており、泡の発生への関与が示唆された(図7)。

上記の項目のほかに発泡現象に関与すると考えられる項目についてみると、

- (1) 界面活性剤であるMBAS濃度は0.12~0.27mg/lで、大量の泡が滞留している筒井橋では0.10mg/lと最も低いことから泡の発生はMBAS由来でないものと考えられた。
- (2) 中禅寺湖では落葉や水生植物から溶出した高分子糖類^{3,4)}に由来する泡の発生が報告されている。植物体由来の発泡物質であるサポニン様物質の主要成分である窒素は泡の発生強度と必ずしも一致したパターンを示していないことから糖類が関与していないものと考えられた。
- (3) 海岸域では植物プランクトンに由来する浪の華による発泡現象が見られる。顕微鏡での観察では植物プランクトンが殆ど確認されなかったことから植物プランクトン由来でないものと考えられた。

以上のことから、堤川での発泡現象の原因物質は界面活性剤や有機物成分ではなく無機態の磷、鉄、アルミニウムの3者が関与しているものと考えられた。

3・2 泡の構成成分

乾燥した泡は茶褐色の粉末で、有機物に富む土壤に類

表1. 底質及び泡の主要成分(乾泥換算)

項目	泡	底質
強熱減量(%)	38.4	18.1
T-C (mg/g)	113	60.7
T-N (mg/g)	16.1	6.59
T-P (mg/g)	22.7	4.27
Al (mg/g)	97.5	29.9
Fe (mg/g)	60.6	22.6
Mn (mg/g)	4.13	0.11
NBAS (mg/g)	0.06	0.04
クロロフィル分解物*	110	3.5

*:SCDPD/g

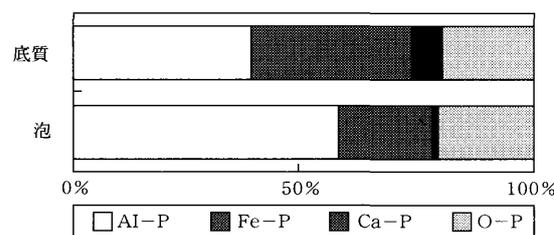


図8 泡及び底質中の磷の存在形態

似した外観をしていることから泡と筒井橋の底質中の構成成分について比較検討した。

その結果、底質では強熱減量が少なく、主要な無機成分である鉄、アルミニウム、マンガンは酸性水による溶脱化作用により低かった。一方、泡では有機物量とともに鉄、アルミニウム、マンガン、磷が高く、特に、磷が著しく高いのが特徴であった(表1)。

泡に高濃度の磷が含まれていることから、磷に着目し、その存在形態について検討した。磷を無機態磷と有機態磷とに区別してみると、底質中の無機態磷は大きく鉄結合型磷(Fe-P)、アルミニウム結合型磷(Al-P)、カルシウム結合型磷(Ca-P)に区分され、非アパタイト型磷であるFe-P、Al-Pは底質に吸着・脱離しやすいこと⁵⁾が知られている。

関谷の方法により無機態磷をFe-P、Al-P、Ca-Pに区分すると、大部分がFe-P、Al-Pで、含有率がおよそ80%と高いことから無機態磷、鉄、アルミニウムの3者が関与していることがわかる(図8)。

3・3 泡の発生機構

それでは、この3者がどのようにして反応して泡の発生を引き起こすのかを推定した。

ここで、泡の発生を別な視点から眺めると、泡の発生により溶解性の $\text{PO}_4\text{-P}$ が著しく除去されることから、磷の物理化学的な除去法と極めて類似した現象とみなすことができる。

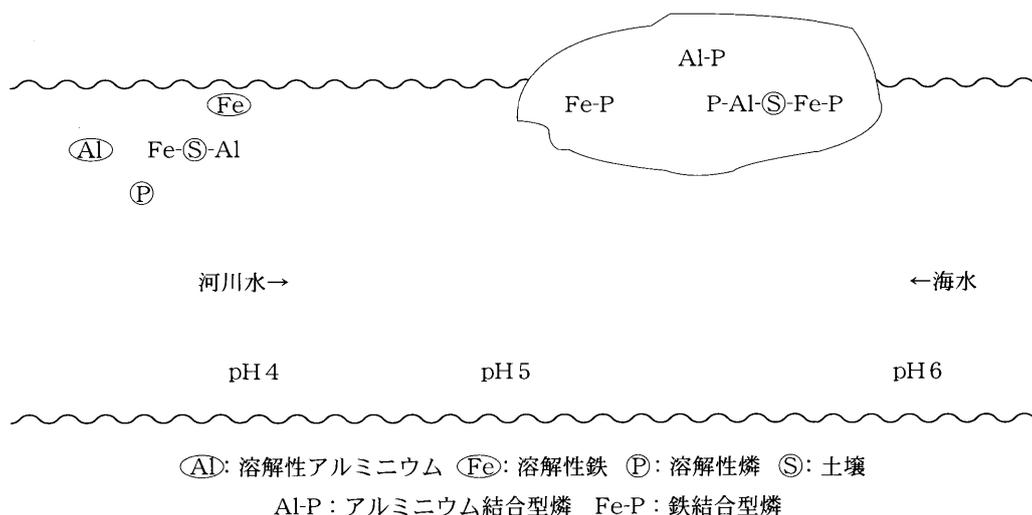


図9 堤川水系における泡の発生機構モデル

磷は閉鎖性水域では富栄養化をもたらすことからその削減対策が様々に試みられている。そのうちで鉄、アルミニウムに関連する除去法として凝集沈殿反応がある。両者ともに凝集沈殿反応を引き起こすのに最適なpH領域があり、アルミニウムはpH 6付近、鉄はpH 5付近で、 PO_4-P と反応してそれぞれ $AlPO_4$ 、 $FePO_4$ のフロックが形成される⁶⁾といわれている。

これまでのモニター及び水質調査、泡の構成成分分析から堤川での泡の発生は磷と鉄、アルミニウムとの凝集沈殿反応に基づくもので、その発生機構は以下のように考えられた。

モニターの結果では、泡の消長は潮汐に関連し、満潮時に多く出現する傾向が認められている。これは酸性河川である堤川が感潮域に位置し、満潮時には海水の遡上によりpHが上昇し、凝集沈殿反応に最適なpH 5～6となり、泡を生成すると同時に生成した泡が満潮時に滞留したためである。

一方、泡の発生時には河川水には高濃度の PO_4-P が認められている。このようにpH 5～6となり、高濃度の PO_4-P が出現した時に、河川水及び土壌由来の鉄、アルミニウムが磷と凝集沈殿反応を引き起こしてフロックを形成し、これが泡となって滞留し、流下するものである。

このため泡中に高濃度の磷、鉄及びアルミニウムが含まれ、構成成分に反映されたことになる(図9)。

発生例が少ないが、このような発泡現象は酸性河川である駒込川でも認められることから、高濃度の磷汚濁が進行し、pH 5～6である酸性河川に特有な現象と考えられる。

このことから、堤川や駒込川のような酸性河川での泡の発生抑制には磷の削減対策が必要で、以下のことに留

意することが必要である。

堤川水系には多くの事業場が点在し、問屋橋付近では高濃度の磷発生源の存在が疑われる。その他にも生活雑排水が流入する小排水路付近でも泡の発生が認められることから、磷負荷量を明らかにするうえで、事業場排水のほかにも生活雑排水をも念頭に入れて調査を進めることが重要である。また、泡は春～夏季に多く出現することから、その季節変動の要因を探ることも課題である。

4. ま と め

青森市東部を貫流し、陸奥湾に注ぎ込む堤川水系では春～夏季に泡の発生が認められることから水質及び泡の構成成分調査により泡の発生機構解明を試みた。

その結果、

- (1) 堤川は酸性河川であるが、感潮域に位置することから海水の遡上により泡の発生する地点ではpH 5～6であった。
- (2) 最上流の牛館橋では磷濃度が低いが、問屋橋では磷濃度が高くなることから高濃度の磷排出源の存在が疑われた。
- (3) 河川水の溶解性の磷、鉄及びアルミニウムは泡の発生しているラバーダム堰堤下以降では著しく減少した。
- (4) 泡の構成成分をみると磷、鉄及びアルミニウムが高濃度に含有されていた。
- (5) 泡中の磷は無機態磷で、大部分がFe-P、Al-Pとして存在していた。
- (6) このことからラバーダム堰堤下～筒井橋では磷と河川水、土壌に由来する鉄、アルミニウムとが凝集沈殿反応を引き起こし、フロックを形成し、これが泡となって滞留するものと考えられた。

- (7) 同様な発泡現象は同じ酸性河川である駒込川でも認められたことから、このような発泡現象は磷汚濁の進行した酸性河川に特有な現象と考えられた。
- (8) 堤川水系における泡の発生を抑制するためには磷の負荷量収支の把握と磷の削減対策が必要になるものと考えられた。

文 献

- 1) 三上一, 他: 堤川水系における泡の発生機構解析(I) —水質特性—. 青森県環境保健センター研究報告, 4, 72-80, 1993
- 2) 関谷宏三: 土壌養分分析法. 229-239, 養賢堂, 1978
- 3) 世取山守, 他: 中禅寺湖のアワ発生機構(1)アワ成分とその起源についての検討. 水質汚濁研究, 10, 31-38, 1987
- 4) 小山次郎, 他: 中禅寺湖の湖水中糖類の起源—アワ発生に関連して—. 水質汚濁研究, 12, 353-357, 1989
- 5) 細見正明, 他: 湖沼底泥からのリンの溶出に関する研究. 水質汚濁研究, 第2, (3), 157-162, 1972
- 6) 小越真佐司: 物理化学リン除去技術. 第25回日本水環境学会セミナー; 窒素, リン規制の動向と排水処理技術(その2)講演資料集. 124-136, 1994

Abstract

Analysis of the foam generation mechanism in the Tsutsumi River system (II) —Constituent elements of foam—

Hajime Mikami and Naofumi Nozawa

In the intermediate reaches of the Tsutsumi River, whose waters flow through eastern Aomori City into Mutsu Bay, foam was generated during spring and summer. Water quality and constituent elements of foam were surveyed to clarify the mechanism behind foam generation. The water quality survey showed a relatively low phosphorus concentration in the uppermost Tsutsumi but a markedly increased concentration in the intermediate reaches, leading us to suspect a highly concentrated phosphorus source. For water where foam was generated, the pH was 5 to 6 and contained increased insoluble phosphorus, iron, and aluminium. The analysis of constituent elements of foam showed that phosphorus, iron, and aluminium accounted for a large percentage. Phosphorus took the form of iron-combined phosphorus (Fe-P) and aluminium-combined phosphorus (Al-P), leading us to conclude that the foam generation mechanism involves a pH on the order of 5 to 6 due to upstream seawater, then phosphorus, iron, and aluminium form floc through agglomeration/precipitation, then the flocculant generates foam. This suggests that foam generation control requires an understanding of ways to balance phosphorus loading and reduction.

Key words : acid river, foam, phosphorus, iron, aluminium, flocculant

ト ー ノ Ⅱ

と

青森県における腸炎ビブリオ感染症発生動向調査

筒井 理華 対馬 典子 大友 良光

青森県内における腸炎ビブリオ食中毒の発生の予防に資するため、県内5医療機関等から得られた病原微生物検出情報をもとに、1993年から1997年の5年間における腸炎ビブリオ感染症の発生実態を解析した。その結果、青森県は全国に比し、腸炎ビブリオ食中毒件数および届出のない散発患者が多いこと、また、患者の発生は主に6月から10月に認められ、8月をピークとする一峰性の発生形態であり、6月に感染者が認められた年は年間100人以上の患者数となっていることが判明した。このことから、初発患者の発生月日を迅速に把握することにより、発生の規模および発生地域の予測、更にはこれらの情報を基にした腸炎ビブリオ食中毒の発生を予防できる可能性のあることが示唆された。

Key words : *Vibrio parahaemolyticus*, sporadic infection, food poisoning, infectious agents surveillance

1. はじめに

腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) は海洋に生息^{1,2)}、主に夏季に魚介類に付着して上陸し、ヒトに食中毒を起こす菌として知られている。本菌食中毒の予防には、食品等からの汚染菌除去及び食品の低温保存による菌の増殖抑制が効果的であるとされているが、その発生数は一向に減少しておらず、むしろ増加傾向にあるのが現状である。一方、食中毒としての届出はないものの、医療機関で個別に治療を受けている散発腸炎ビブリオ患者数(散発患者数)は膨大と思われるが、その発生実態についての解析と報告は少ない。そこで、国立感染症研究所と共同で行っている「病原微生物検出情報 月報」のデータのうち、1993年から1997年の5年間における情報を基に、腸炎ビブリオによる散発患者の発生動向調査を行い、本菌食中毒との関連等について解析し、その予防の可能性を検討した。

2. 方 法

1993年から1997年の5年間における国及び青森県の腸炎ビブリオ食中毒情報を集計すると共に、県内各地域を代表する5医療機関等(弘前市医師会成人病検診センター、五所川原市立西北中央病院、青森県立中央病院、むつ総合病院、八戸市立市民病院)の協力を得て毎月集計している「病原微生物検出情報 月報」から、腸炎ビブリオ検出数(散発患者数)を集計し、食中毒及び散発事例の発生状況について、年別、月別、地域別にグラフ化し解析した。

3. 結 果

3・1 青森県の腸炎ビブリオ食中毒発生状況

(1) 年別発生状況

事件数は1996年に急増しているが、件数と患者数とは必ずしも関連性がない(図1)。

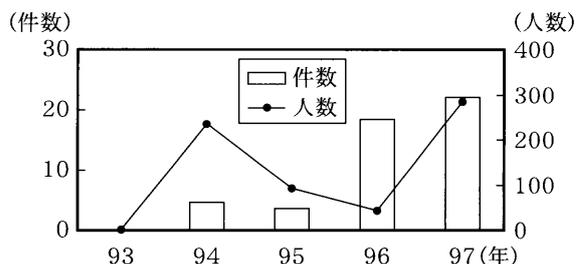


図1. 青森県の年別腸炎ビブリオ食中毒発生状況

(2) 月別発生状況

腸炎ビブリオ食中毒は6月から10月にかけて発生し、件数は8月をピークとする一峰性の発生形態を示した。また、件数と患者数はほぼパラレルに推移した(図2)。

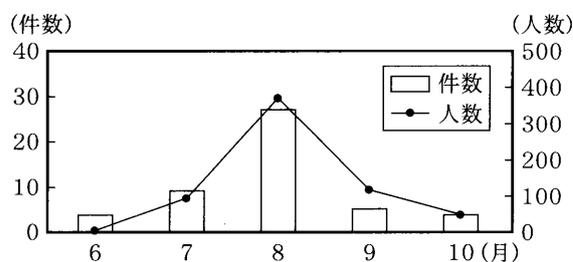


図2. 青森県の月別腸炎ビブリオ食中毒発生状況

3・2 全国及び青森県の腸炎ビブリオ散発患者発生状況

(1) 年別発生状況

全国の散発患者数は、1993年から増加し、1995年には約2倍となり、以後900人程度となっている。これに対し、青森県の散発患者数は、1996年から増加し、1997年には全国比35.2%（903人中318人）と高い発生率を示した（図3）。

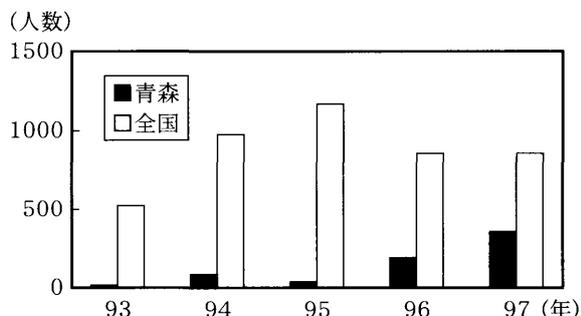


図3. 全国および青森県の年別腸炎ビブリオ散発患者発生状況

(2) 月別発生状況

全国的に散発患者は2月と3月を除いて毎月見られ、その数は6月から増加し、8月にピークとなり、10月以降に減少している。青森県の全国に対する散発患者数の割合は7月に7.9%（955人中75人）、8月に17.4%（2,108人中367人）、9月に9.4%（1,161人中109人）と高率であった（図4）。

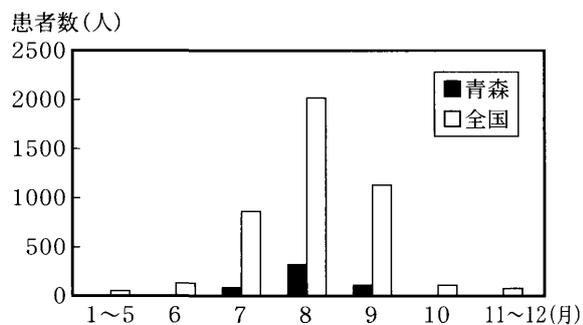


図4. 全国および青森県の月別腸炎ビブリオ散発患者発生状況

3・3 青森県の腸炎ビブリオ食中毒と散発患者発生状況

(1) 1993年の発生状況

1993年には腸炎ビブリオ食中毒の届出は無かったが、散発患者数は合計10人確認されている。患者数が最も多かったのは8月の7人であり、その内訳は弘前1人、青森5人、むつ1人であった（図5）。

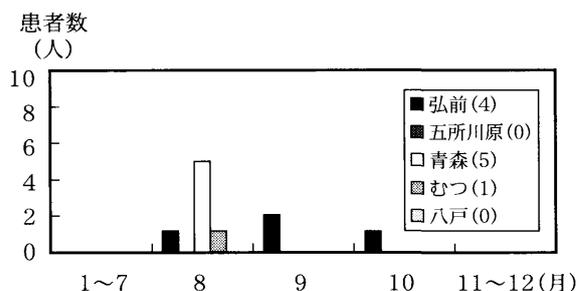


図5. 1993年青森県の月別・地域別腸炎ビブリオ散発患者発生状況

(2) 1994年の発生状況

ア 月別食中毒発生状況

腸炎ビブリオ食中毒は8月と10月に発生しており、各月の全食中毒件数に対する発生割合は8月が80%（5件中4件）、10月が25%（4件中1件）であった（図6）。

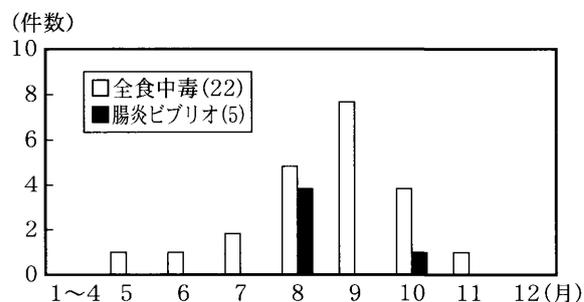


図6. 1994年青森県の月別腸炎ビブリオ食中毒発生状況

イ 月別・地域別散発患者発生状況

散発患者は7月から9月まで見られ、腸炎ビブリオ食中毒発生件数と同様に8月に最大であった。散発患者発生が多い地域は、弘前地域とむつ地域で、その数はそれぞれ36人、25人であった（図7）。

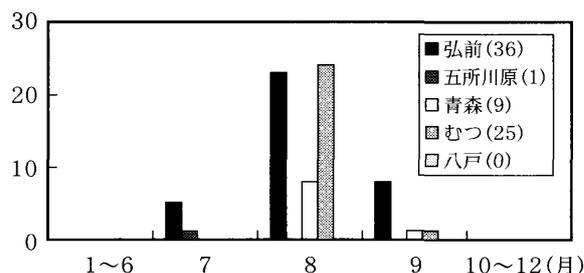


図7. 1994年青森県の月別・地域別腸炎ビブリオ散発患者発生状況

(2) 1995年の発生状況

ア 月別食中毒発生状況

腸炎ビブリオ食中毒は8月と10月に発生し、各月の全食中毒件数に対する発生割合は8月が25%（4件中1件）、10月が50%（6件中3件）であった（図8）。

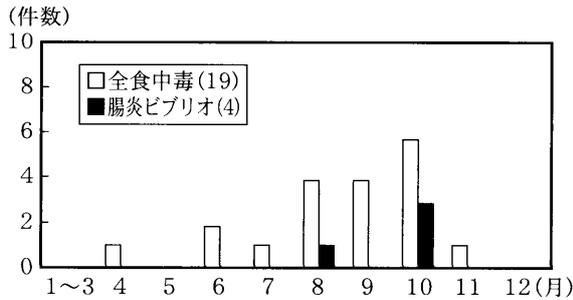


図8. 1995年青森県の月別腸炎ビブリオ食中毒発生状況

イ 月別・地域別散発患者発生状況

散発患者は8月と9月に見られ、9月に最も多かったが、9月には腸炎ビブリオ食中毒の届出はなされていない。散発患者発生の多い地域は、弘前地域と青森地域で、その数はそれぞれ9人、8人であった(図9)。

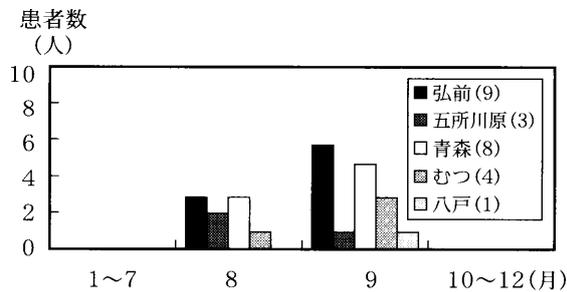


図9. 1995年青森県の月別・地域別腸炎ビブリオ散発患者発生状況

(2) 1996年の発生状況

ア 月別食中毒発生状況

腸炎ビブリオ食中毒は19件と多く、前年の4件に比べ約4.8倍に増加すると共に、全食中毒39件に占める割合も48.7%と高率であった。各月の全食中毒件数に対する発生割合は8月が81.3%(16件中13件)と著しく高かった(図10)。

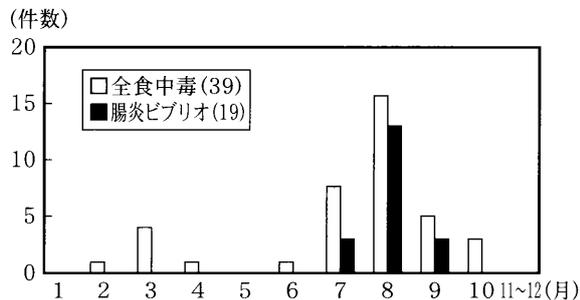


図10. 1996年青森県の月別腸炎ビブリオ食中毒発生状況

イ 月別・地域別散発患者発生状況

腸炎ビブリオ食中毒の多発に呼応するように、散発患者は6月から見られ、その数も漸次増加し、8月には100人を超えた。散発患者発生の多い地域は弘前地

域とむつ地域で、その数はそれぞれ43人、25人であった(図11)。

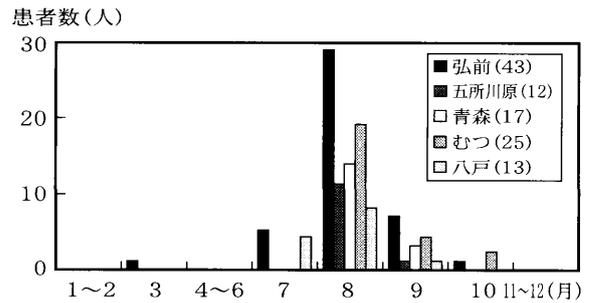


図11. 1996年青森県の月別・地域別腸炎ビブリオ散発患者発生状況

(2) 1997年の発生状況

ア 月別食中毒発生状況

腸炎ビブリオ食中毒は24件あり、前年の19件に比べて更に増加すると共に、発生時期が早まり6月に既に4件発生した。発生時期は6月から9月に集中し、8月には発生した全食中毒の84.6%(13件中11件)が腸炎ビブリオ食中毒であった(図12)。

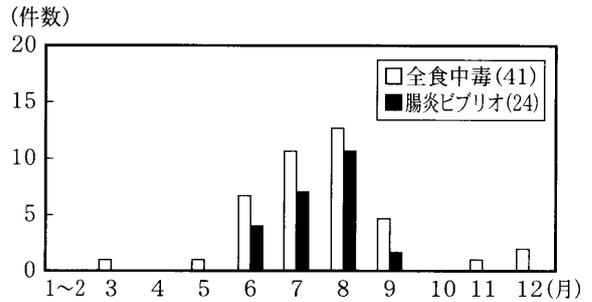


図12. 1997年青森県の月別腸炎ビブリオ食中毒発生状況

イ 月別・地域別散発患者発生状況

散発患者は319名と過去5年間で最も多く、前年同様6月から9月に多く見られ、8月には一ヶ月の集計としてはこれまで最大の175名であった。散発患者発生の最も多い地域は弘前地域で、その数は157名であった。青森地域とむつ地域の患者数も共に58名と多かった(図13)。

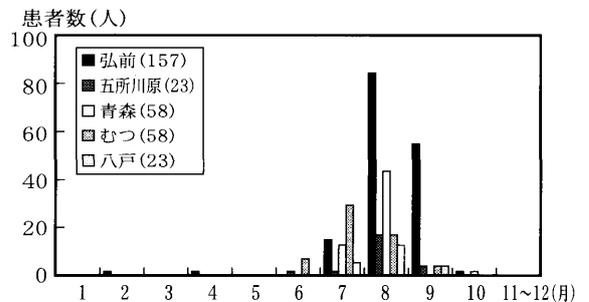


図13. 1997年月別・地域別腸炎ビブリオ散発患者発生状況

4. 考 察

腸炎ビブリオ食中毒の歴史は古く、その予防方法はほぼ確立されている。しかし、わが国での発生数は減少するどころか、毎年、食中毒の中で1位あるいは2位を保っている。このように発生数が多いにも拘わらず、未だに予防措置の徹底がなされていない。最近、腸管出血性大腸菌O157感染症の重症例やサルモネラ・エンテリテイディスによる食中毒の顕著な増加がクローズアップされるあまり、予後の比較的良いと思われる腸炎ビブリオ食中毒が軽視されがちなのかもしれない。しかし、腸炎ビブリオ発見当時の事件や³⁾酒田駅弁食中毒事件⁴⁾に見られるように腸炎ビブリオ食中毒では死者が出ることもあり、また、その経済的損失は計り知れないものがある⁵⁾。

腸炎ビブリオ感染症発生動向の解析はこれまで、食中毒事例についてのみであった。今回、届出の無い腸炎ビブリオ散発事例について解析した結果、いくつかの特徴が見られた。第一に、青森県は全国的にも集団食中毒患者の他、散発患者が多いこと、第二に、散発患者の発生は6月から10月に認められ、8月をピークとする一峰性の発生形態を示し、6月に患者が認められた年は100名以上の患者数となっていること、第三に、散発患者は弘前地域に多い傾向があること、等が判明した。これらのうち、第二の散発患者の初発が早ければ夏季の患者数が増大する傾向があることは、初発患者を迅速に察知できれば、早い予防措置がとられる可能性を示唆している。

腸炎ビブリオ食中毒の原因食品の多くは海産魚介類の刺し身であるが、単一食品の特定は困難である。これは食品から患者由来菌と同一の菌が検出されにくいという技術的な検出法に問題があるものと考えられる。これに対し、主に家庭内での散発事例の場合には、喫食食品の種類が少ないため、菌検査なしに原因食品の特定が容易と思われる。

腸炎ビブリオ散発患者が発見された場合、それが潜在的な集団食中毒（diffused infection）の可能性も有り得

ることを考慮すれば、散発事例の把握は極めて重要となる。そこで、真の腸炎ビブリオ感染症発生実態と言える散発患者数について解析し、新たな視点に立った予防の方策を構築することが望まれる。多忙な医療の現場で、個々の散発事例について集団食中毒と同様な疫学調査を行うことは容易でない。しかしながら、医療の現場に他の医療機関の患者発生状況や分離菌の血清型別情報がリアルタイムに提供できれば、原因物質の特定に至る情報もたらされる可能性が十分に有り得る。今後、散発事例の迅速な情報収集と解析は、腸炎ビブリオのみならず他の食中毒原因物質についても重要な課題になると考えられる。

5. ま と め

青森県内の5医療機関等から得られた病原微生物検出情報の月報をもとに、1993年から1997年の5年間における腸炎ビブリオ感染症の発生動向調査を実施した。その結果、青森県は全国に比し、腸炎ビブリオ食中毒及びその散発患者が多いこと、並びに初発の散発患者を迅速に把握することにより、発生の規模および発生地域の予測、更にはこれらの情報を基にした腸炎ビブリオ食中毒の発生を予防できる可能性のあることが示唆された。

文 献

- 1) 辺野喜正夫，：原色食品衛生図鑑．第1版，14-15，株式会社建帛社，東京，1981
- 2) 坂崎利一：食水系感染症と細菌性食中毒．15-179，中央法規出版株式会社，東京，1991
- 3) 竹田美文，他：ビブリオ感染症．第1版，25-37，医歯薬出版株式会社，東京，1982
- 4) 山形県環境衛生課：酒田駅駅弁食中毒事件について．食品衛生研究，26，2，110-120，1976
- 5) 阿部和夫，他：我が国における食中毒損害賠償金額からみた社会的損失額の推定．日本食品衛生学会誌，15，55-60，1998

青森県における志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) の発生状況 —1996年～1998年10月—

対馬 典子 筒井 理華 大友 良光

1996年～1998年10月末現在の青森県内における志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) による感染事例は、45事例 (8年：7事例, 9年：19事例, 10年：19事例) であった。これらの事例及びそれらから得られた58菌株について考察した結果、感染月は、例年6～9月に多く、検出年齢層は、低年齢層に加え近年はそれ以外の年齢層にも見られる。血清型別ではO157が依然として多いが、O26, O55, O103, O121等の血清型も散見された。1997年からは全国的な傾向と同様、O26の検出が多く見られるため、今後、注意を要する。家族内感染における母子の感染形態も特徴的であるが、3年間で、感染源を特定するに至った事例は、1997年8月に発生した2事例についてのみであり、今後、感染源と感染経路の究明が必要とされる。

Key words : Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), O157, O26

1. はじめに

1996年に全国的に志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *Escherichia coli* : 以下STECと略す。) 感染症患者が多発し、大きな社会問題となったが、本県においても、これまで集団発生はないものの、1996年以降、散発事例あるいは家族内感染事例が相次いで発生している。そのため、感染の拡大を防ぐための感染源及び感染ルートの究明が必要とされるが、1996年以降発生した45事例中、可能性の高い感染源が絞り込まれたのは、2件¹⁾にすぎない。

今回、1996年～1998年10月末現在に分離された菌株の疫学的特徴を考察した。

2. 材料と方法

2・1 検体

1996年～1998年10月末現在までに青森県内で分離されたO157等STEC58株を対象とした。

なお、保健所および医療機関で分離された菌株については、保健所を経由し入手した。

2・2 血清型

市販の血清 (デンカ生研社) を用い、型別を行った。

また、市販の血清型に合わない場合は、国立感染症研究所に他の血清型別についての検査を依頼した。

2・3 毒素型

遺伝子学的検査方法として、PCR (Polymerase Chain Reaction) 法により、市販のプライマー (TAKARA社) を用いて志賀毒素 (*stx1*, *stx2*) 遺伝子の検出を行う一方、産生される志賀毒素 (*stx1*, *stx2*) の検出は、逆受身ラテッ

クス凝集反応 (Reversed Passive Latex Agglutination : RPLA) 法により、市販のキット (デンカ生研社) を用いて行った。

3. 結果と考察

3・1 STECの血清型と毒素型

本県におけるSTECの血清型及び毒素型別検出数を表1に示した。検出数は、1997年には1996年の3倍に増加し、1998年 (10月末現在) は、1997年とほぼ同数である。各年とも最も多く分離された血清型はO157 : H7であるが (1996年：88%, 1997年：70%, 1998年：65%), 1996年以降、O26, O103, O121そして、O55と検出数こそ少ないが、O157以外の血清型が多様に検出されている。このうち、1997年5月に母と子から分離された2株²⁾の*stx1*単独のO103 : H2は、1996年7月に秋田県において子牛が感染源と考えられたSTEC O103 : H2の株⁴⁾と非常に類似している。なお、1997年に、他に*stx1*単独のO103 : H2が分離されたのは鳥根県のみである。

また、わが国においては、1998年4月24日現在の報告数³⁾では、1997年に*stx2*単独のO121 : H19が3件報告されているが、このうちの1件は、1997年8月に分離された本県の株である。

1998年5月には、全国で未報告O55 : H25が1株分離されている。ちなみに、山形市において、1998年の5月に*stx1*単独のO55 : H-が、6月に*stx1,2*両毒素型のO55 : H-が分離されている。

O157は横ばい傾向である一方、O26がわずかではあ

表1 志賀毒素産生性大腸菌の血清型と毒素型別発生状況 (1996~1998年)

血清型	毒素型(1996~1998)			年 別		
	stx1	stx2	stx1&stx2	1996	1997	1998
O157:H7	—	6	35	7	20	14
O157:HNM	—	1	0	—	—	1
O26:H11	10	1	1	1	4	7
O103:H2	2	—	—	—	2	—
O121:H19	—	1	—	—	1	—
O55:H25	1	—	—	—	—	1
合 計	13	9	36	8	27	23

るが増加傾向にある。

なお、隣県である秋田県では、1996~1997年は、O157よりもそれ以外のSTECによる感染事例が多く、更に19事例中、O26:H11によるものが10事例と最も多く、国内で報告例の少ない血清型もみられる⁵⁾。1998年は、non-O157 STEC 8件中7件がO26であり、今後も注意していく必要がある。

また、O157については、stx1+stx2の両毒素を保持している率が高いが(85%)、他の血清型のもはstx1単独またはstx2単独の傾向を示している。O157以外では、1996年に分離されたO26が唯一両毒素型である。これは全国的にも数少ない。

表2 志賀毒素産生性大腸菌月別発生状況

月	1996	1997	1998
1	—	—	—
2	—	—	—
3	—	4	—
4	—	2	—
5	—	—	3
6	1	—	6
7	2	4	2
8	2	12	6
9	3	2	5
10	—	3	1
11	—	—	—
12	—	—	—
合計	8	27	23

3・2 月別発生状況

各年とも、検出数は6~9月に多く、1996年は検出数全体の100%、1997年は67%、1998年は83%を占め

ており(表2)、この時期は注意を要する。

3・3 1996~1998年のSTEC感染事例

検出年齢分布については、“0-9歳”の低年齢層に検出数が最も多く分布しており、全体の41%を占めているが(表3参照)、1997年からは、平均してそれ以外の年齢層にも見られる。

また、事例別では、1996~1998年の間に、散发事例37名(37件)、家族内感染例21名(8件)の計58名(45件)であった(表4)。性別で見ると、“0-29歳”及び“60歳以上”では男性の方が女性よりやや多い傾向にあるが、“30-59歳”は女性に多い傾向にある(12名中10名が女性)。その中間年齢層の女性については、ほとんどが散发事例としては見受けられず、子供(0~9歳の低年齢層)と母親(あるいは父も含めて)に感染している家族内感染事例である。

表3 志賀毒素産生性大腸菌検出の年齢別発生状況

年齢(歳)	人数	性 別		年 別		
		男	女	1996	1997	1998
0-9	24	10	14	5	11	8
10-19	13	9	4	1	4	8
20-29	2	1	1	1	1	—
30-39	8	2	6	1	5	2
40-49	1	—	1	—	—	—
50-59	3	—	3	—	1	2
60-69	4	2	2	—	3	1
70-79	2	1	1	—	1	1
80~	1	1	—	—	1	—
合 計	58	26	32	8	27	23

4. ま と め

最近でも、血清型はO157:H7 (*stx1+stx2*)が多いが、1996年からはO157以外のSTEC (O26, O103, O121, O55)も徐々に報告されており、毒素型は*stx1*単独または*stx2*単独の傾向である。

感染源を推測するに至ったのは、1997年8月に発生した2事例のみであるが、これはO157:H7による同一感染事例で、感染源は患家の家畜の便であり、食物との間をイエバエが媒介した可能性の高いことが、分離菌株のDNA解析から示唆されている。しかし、それ以外の事例では感染源がつきとめられていないことから、今後O26等に注意を払いながら、原因の特定に努めていく必要がある。

なお、分離菌株を提供いただいた保健所に謝意を表します。

表4 散発・家族内感染例別発生件数

年	感染例別	検出者数	発生件数
1996	散発	6	6
	家族内	2	1
1997	散発	15	15
	家族内	12	4
1998	散発	16	16
	家族内	7	3
計		58	45

文 献

- 岡典子ら：青森県内における志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) による感染症学—1993年～1997年9月—。青森県環境保健センター研究報告, 8, 1-5, 1997
- 大友良光ら：〈情報〉志賀毒素産生性大腸菌O103:H2による家族内感染。病原微生物検出情報 (国立感染症研究所), 18, 157, 1997
- 国立感染症研究所：〈特集〉腸管出血性大腸菌 (Vero毒素産生性大腸菌) 感染症 1996～1998. 4. 病原微生物検出情報 (国立感染症研究所), 19, 122-123, 1998
- 八柳潤ら：〈情報〉子牛が感染源と考えられた腸管出血性大腸菌O103:H2家族内感染事例について。病原微生物検出情報 (国立感染症研究所), 18, 132-133, 1997
- 八柳潤ら：〈情報〉秋田県で最近分離されたNon-O157腸管出血性大腸菌の解析。病原微生物検出情報 (国立感染症研究所), 18, 204-205, 1997

青森県におけるインフルエンザウイルスの疫学的調査

三上 稔之 佐藤 孝 下山 純子

青森県における1982から1997年の16年間のインフルエンザ集団発生状況を見ると早い集団発生が1984年10月15日で、一番遅いのが1991年2月2日の発生であった。また休校、学級閉鎖、短縮授業等の措置を行った学校数、り患者数からみると小規模流行が1993年の15校、1,354人で、大規模流行は1994年の346校、49,707人であった。1982年から1990年の9年間はAソ連(H₁N₁)型、A香港(H₃N₂)型、B型の三つの型が2年間隔で定期的に流行していた。しかし、1990年以降は一つの型が2年から3年以上連続して出現し、それに別の型が加わった混合流行がみられた。その混合流行からは常にA香港(H₃N₂)型が検出されている。ウイルス分離成績は、年により検体数は異なるが平均分離率が29%であった。ワクチン株と青森分離株との交叉性では古い分離株では最近のワクチン株と交叉が認められず、また、最近の分離株では古いワクチン株と交叉が認められなかった。

Key words : Influenza virus, influenza virus A(H₁N₁), influenza virus A(H₃N₂), influenza virus B.

1. はじめに

インフルエンザ(図1)は冬季を中心に毎年流行し、患者の発生数も多い。特にインフルエンザウイルス感染による高齢者への健康被害、新生児、小児における脳炎、脳症、心筋炎¹⁾、また、新型と思われる香港での病原性の強いトリ型インフルエンザウイルスの出現など²⁾⁹⁾、社会における重要な感染症の一つである。青森県におけるインフルエンザはA香港(H₃N₂)型、Aソ連(H₁N₁)型、B型が交互に2年間隔で流行していたが、近年はインフルエンザ流行期にA香港型ウイルスが常に検出されている状況にある。昨年の香港における病原性の強いトリ型インフルエンザウイルスA(H₃N₁)型出現²⁾⁹⁾国内における同型の連続流行、混合流行等からウイルスや流行に新しい局面を迎えつつあるように思える。

今回我々は青森県における、過去16年間の集団発生およびウイルス分離状況と分離株の抗原性について検討した。

2. 材料と方法

2・1 ウイルス分離材料

分離材料として検査定点からの咽頭ぬぐい液と集団発生のり患者10数名からの咽頭うがい液(0.5%BSAを含むハンクス液)を採取した。これに最終濃度が300 μ g/mlになるように硫酸ゲンタマイシン、硫酸カナマイシンの抗生物質を添加し、4 $^{\circ}$ C30分静置後、3,000回転、20分遠心、その上清を接種材料とした。

2・2 ウイルス分離および同定

分離はイス腎臓細胞(Madin-Darby Canine kidney ;

MDCK細胞)を用い、確認は細胞変性効果(cytopathic effect ; CPE)の観察と赤血球凝集試験により行った。また、血清型は国立感染症研究所から配布されたフェレット免疫血清を用い、赤血球凝集抑制試験で同定した。

2・3 分離ウイルスの抗原性

国立感染症研究所から同定用に配布されたA香港(H₃N₂)型の1991, 1992, 1993, 1994, 1995年のワクチン株フェレット免疫血清を用い、過去の青森県におけるA香港(H₃N₂)型分離株(1985, 1989, 1990, 1991, 1994, 1995, 1996, 1997年各々2株)との交叉性を赤血球凝集抑制試験により行った。

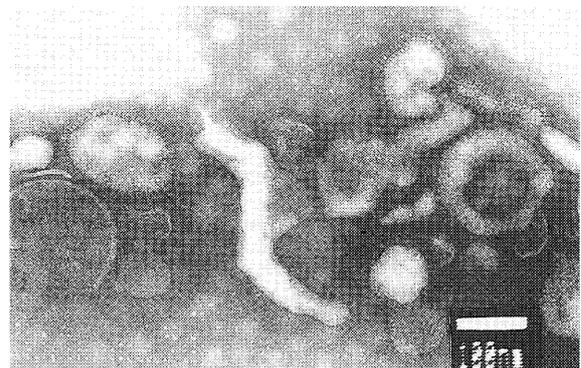


図1. A香港(H₃N₂)型インフルエンザウイルス(1995年1月の分離株、直径約100nm)

3. 結果と考察

1982年から1997年までの県内における集団施設(小、中、高等学校)のインフルエンザ発生状況を表1に示し

表1 県内の集団カゼ発生状況

年度	措置学校数	り患者数	流行ウイルス型
S57	80	9,076	A (H ₁ N ₁)
58	116	14,291	A (H ₁ N ₁)
59	114	24,689	B
60	114	24,176	A (H ₃ N ₂)
61	46	4,849	A (H ₁ N ₁)
62	81	6,855	A (H ₃ N ₂)-B
63	84	10,620	A (H ₁ N ₁)
H元	203	28,921	A (H ₃ N ₂)-B
2	201	32,577	A (H ₃ N ₂)-A (H ₁ N ₁)
3	50	3,229	A (H ₁ N ₁)
4	203	25,189	A (H ₃ N ₂)-B
5	15	1,354	A (H ₁ N ₁)-B
6	346	49,707	A (H ₃ N ₂)-B
7	71	4,798	A (H ₃ N ₂)-A (H ₁ N ₁)
8	130	17,621	A (H ₃ N ₂)-B
9	315	29,925	A (H ₃ N ₂)

青森県教育庁スポーツ健康課 年度別発生状況より

た。16年間の発生状況において初発日を比較すると早い発生が1984年の10月15日であり、遅い発生が1990～1991年シーズンの2月2日であった。休校、学級閉鎖、短縮授業等の措置を行った学校数とり患者数からみると、1993年の15校、1,354人が最も少なく、逆に1994年の346校49,707人が最も多かった。過去16年間においておよそであるが、措置学校数、り患者数が少ない小規模流行の翌年は大規模流行につながっているように思われ、その要因の一つとして小規模流行のため十分な免疫を得られないなどが考えられる。1982年から1990年の9年間はAソ連 (H₁N₁) 型、A香港 (H₃N₂) 型、B型の3つの型がおよそ2年間隔で規則的に流行を繰り返していた³⁾。しかし、1990年以降は一つの型が2年連続や3年以上連続して出現し、それに別の型が加わった混合流行がみられる。その混合流行からA香港 (H₃N₂) 型が常に検出されている状況にあり、本ウイルスの動向に注意が必要と思われる。

表2 ウイルス分離成績

年度	検体数	分離数	分離率(%)	ウイルス型	全国(ウイルス型)
S57	-	-	-	A (H ₁ N ₁)	A (H ₁ N ₁)
58	52	22	42	A (H ₁ N ₁)	A (H ₁ N ₁)
59	28	10	36	B	B
60	33	8	24	A (H ₃ N ₂)	A (H ₃ N ₂)
61	42	16	38	A (H ₁ N ₁)	A (H ₁ N ₁)
62	145	32	22	A (H ₃ N ₂)-B	A (H ₃ N ₂)-B
63	148	62	42	A (H ₁ N ₁)	A (H ₁ N ₁)
H元	135	29	22	A (H ₃ N ₂)-B	B-A (H ₃ N ₂)
2	113	23	20	A (H ₃ N ₂)-A (H ₁ N ₁)	A (H ₁ N ₁)-B-A (H ₃ N ₂)
3	128	44	34	A (H ₁ N ₁)	A (H ₃ N ₂)-A (H ₁ N ₁)
4	81	24	30	A (H ₃ N ₂)-B	B-A (H ₃ N ₂)
5	102	39	38	A (H ₃ N ₂)-B	A (H ₁ N ₁)
6	72	13	18	A (H ₃ N ₂)-B	A (H ₁ N ₁)-B-A (H ₃ N ₂)
7	86	26	30	A (H ₃ N ₂)-A (H ₁ N ₁)	A (H ₃ N ₂)-A (H ₁ N ₁)
8	96	24	25	A (H ₁ N ₁)-B	A (H ₁ N ₁)-B-A (H ₃ N ₂)
9	92	17	19	A (H ₃ N ₂)	A (H ₁ N ₁)

表2にはウイルス分離成績と本県と全国の流行ウイルス型を示した。検体数は年度によりバラツキがみられた。ウイルス分離成績は検体数が多いと分離数も多いが、分離率では1994年の18%が最も低く、1988年が最も高い42%であった⁴⁾。平均では29%で分離効率が少し悪いように思われる。流行型は1982年から1988年までは全国と同様の発生状況であった。しかし、1989年以降において流行の主流ウイルスの他に、全国では1990年B型、1991年Aソ連 (H₃N₂) 型、1994年にはB型、Aソ連 (H₁N₁) 型が検出されている⁵⁻⁹⁾。本県においては検出されなかったが、流行の主流ウイルスは全国と同じであった。

表3 A香港 (H₃N₂) 型ワクチン株と年別分離株の交叉性

抗原	抗血清 A/Guizhou/54/89 ('91.7ワクチン株)	A/Beijing/352/89 ('92.7ワクチン株)	A/Beijing/352/89 ('92.7ワクチン株)	A/Wuhan/359/95 ('95.7ワクチン株)
A/青森/5/85	512	64	16	<16
A/青森/10/85	512	128	32	<16
A/青森/10/89	2048	256	32	<16
A/青森/14/89	2948	256	32	<16
A/Guizhou/54/89	2048	32	-	-
A/青森/2/90	2048	256	32	<16
A/青森/4/90	2048	256	32	<16
A/Beijing/352/89	2048	2048	-	-
A/青森/9/91	512	512	32	<16
A/青森/11/91	512	1024	64	<16
A/Kitakyusyu/159/93	128	32	2048	-
A/青森/19/94	128	64	1024	64
A/青森/23/94	128	64	1024	64
A/Wuhan/359/95	<16	32	64	2048
A/青森/5/95	32	16	512	128
A/青森/13/95	32	16	512	128
A/Wuhan/359/95	<16	32	64	2048
A/青森/6/96	<16	32	128	1024
A/青森/7/96	<16	32	512	1024
A/Wuhan/359/95	<16	32	64	2048
A/青森/10/97	<16	32	128	512
A/青森/11/97	<16	32	128	512

表3にはA香港 (H₃N₂) 型ワクチン株免疫血清1991, '92, '94, '95年と本県での1985, '89, '90, '91, '94, '95, '96, '97年の分離株各々2枚ずつ用いた交叉試験成績を示した。1991年にワクチン株に用いたA/Guizhou/54/89免疫血清に対して1985, '89, '90, '91, '94年の分離株は抗体価2,048倍と高い交叉を示したが、'95, '96, '97年分離株では95年の分離株で32倍と若干の交叉が認められただけである。1995年ワクチン株A/Wuhan/359/95免疫血清に対して'85, '89, '90, '91年分離株は16倍未満と全く交叉が認められず、'94, '95, '96, '97年分離株では抗体価2,048倍と高い交叉が認められた。これは抗原連続変異によるものと考えられ、徐々にウイルスの抗原性が変異したことが示唆された。

今後、ウイルス変異および流行状況などの変化および動向に注意しながら調査を実施し、また、感染症サーベイランス情報等を加えた解析を進めたい。

4. ま と め

青森県における1982から1997年の16年間のインフルエンザ集団発生状況からは措置を行った学校数、り患者数からみて、数が少ないものを小規模流行し、小規模流行の次の年は大規模であることが推察された。

また、ワクチン株に対する青森分離株の抗原性では最近のワクチン株分離株に対して古い分離株ワクチン株に対してはいずれも交叉性は認められなかった。

最後に本調査研究にご協力いただきました小笠原小児科医院 小笠原二郎先生、さいとう小児科医院 斎藤文彦先生、並びに各保健所、県教育庁スポーツ健康課の関係諸氏に深謝致します。

文 献

- 1) 松園嘉裕, 他: インフルエンザの臨床. モダンメディア, 43, 9, 1997
- 2) 菅谷憲夫: 新型インフルエンザとその対策. 第2回 SRL感染症フォーラム, 57-64, 1997
- 3) 三上稔之他: 青森県におけるインフルエンザについて (昭和57年度から61年度), 青森県衛生研究所報, 24, 25-28, 1987
- 4) 三上稔之他: 昭和63年度インフルエンザウイルス分離状況. 青森県衛生研究所報, 26, 91, 1989
- 5) 国立感染症研究所: 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課: 病原微生物検出情報 (特集インフルエンザ 1988/1989), 10, 249, 272, 1989
- 6) 国立感染症研究所: 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課: 病原微生物検出情報 (特集インフルエンザ 1992/1993), 14, 265-266, 1993
- 7) 国立感染症研究所: 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課: 病原微生物検出情報 (特集インフルエンザ 1994/1993), 16, 269-270, 1995
- 8) 国立感染症研究所: 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課: 病原微生物検出情報 (特集インフルエンザ 1995/1996), 17, 268-269, 1996
- 9) 国立感染症研究所: 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課: 病原微生物検出情報 (特集インフルエンザ 1996/1997), 18, 299-300, 1997

大気浮遊じん中の全 α 及び全 β 放射能濃度について —モニタリングカーによる測定—

佐々木 守¹ 野田 正志²

モニタリングカーの測定地点である六ヶ所村，隣接市町村及び比較対照の青森市において，集じん直後の全 α ，全 β 放射能濃度を把握するため調査を実施した。その結果，測定地点，季節による違いはあまり見られなかった。また全 α ，全 β 放射能濃度の間により相関が認められた。

Key words : monitoring car, dust, gross, α , gross β

1. はじめに

青森県は，原子燃料サイクル施設に係る環境放射線等のモニタリングを，「原子燃料サイクル施設に係る環境放射線等モニタリング構想，基本計画及び実施要領」に基づき実施している。この中で大気浮遊じん中全 α 及び全 β 放射能濃度についてはモニタリングステーションで測定しているが，1週間集じん・72時間放置後の測定であるため，集じん直後の全 α ，全 β 放射能濃度については必ずしも明らかでない。

今回，原子燃料サイクル施設周辺において，モニタリングカーによる採取直後の大気浮遊じん中全 α 及び全 β 放射能濃度調査を行ったので報告をする。

2. 方法

2・1 調査期間

平成7年4月から平成9年3月まで，四半期に1回測定した。なお，全 α 放射能濃度は平成8年4月から行った。

2・2 調査地点

モニタリングカーの測定地点である24地点で行った（表1，図1）。

表1 市町村別調査地点数

区分	地点数
六ヶ所村	18
横浜町	3
野辺地町	2
青森市（比較対照）	1
計	24

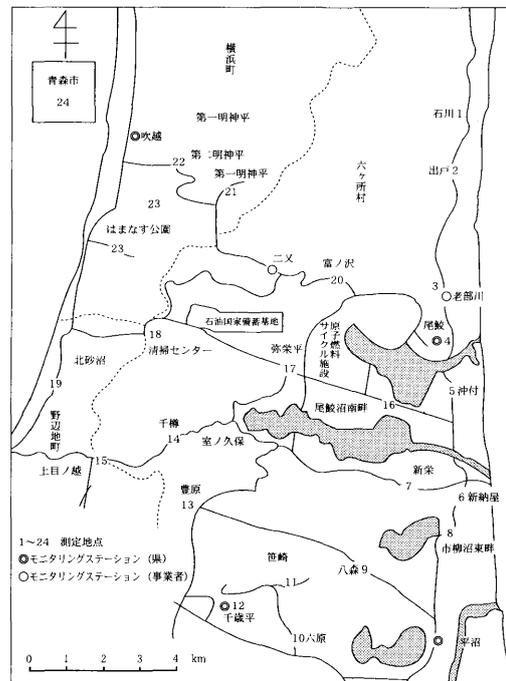


図1 測定地点図

2・3 測定方法

モニタリングカーに搭載している空気中放射性物質測定装置を用いて行った（表2）。試料採取前に，配管内の空気置換のために約1分間の吸引を行った。また全 α 放射能測定用集じんと全 β 放射能測定用の集じんには約20分の時間差がある。

なお，平成7年12月から平成8年10月にかけて，積算流量計の不良（平成8年8月で積算流量が実流量より約16%多い）から，測定値が高い時期があったと思われる。

1：六ヶ所放射線監視局

2：八戸公害事務所

表2 大気浮遊じん中の全 α 及び全 β 放射能濃度測定方法

	全 α 放射能濃度	全 β 放射能濃度
集じん口高さ	約2.07m	約2.07m
集じんろ紙	HE-40T(直径60mm)	HE-40T(直径60mm)
吸引量	1000ℓ(50ℓ×20分)	1000ℓ(50ℓ×20分)
検出器	Znsシンチレーション検出器	GM管検出器
測定時間	集じん直後から5分間	集じん直後から5分間

3. 結果

3・1 測定値の最大値、最小値及び平均値

モニタリングカーの測定地点である六ヶ所村，周辺市町村及び比較対照地点の青森市において全 α 放射能は95個，全 β 放射能は191個の測定結果が得られた。

全 α 放射能濃度は、 $<0.21\sim 2.1\text{Bq/m}^3$ で、平均値は 0.62Bq/m^3 と、各市町村ともほぼ同じレベルであった(表3)。

全 β 放射能濃度は、 $<0.5\sim 8.4\text{Bq/m}^3$ で、平均値は 2.9Bq/m^3 と、各市町村ともほぼ同じレベルであった(表3)。

表3 全 α 及び全 β 放射能濃度の最大値、最小値、平均値

地点数	全 α 放射能濃度(Bq/m^3)				
	個数	最大値	最小値	平均値	
六ヶ所村	18	71	1.7	<0.21	0.59
横浜町	3	12	1.1	0.25	0.71
野辺地町	2	8	0.89	<0.21	0.52
青森市	1	4	2.1	0.53	1.1
計	24	95	2.1	<0.21	0.62

地点数	全 β 放射能濃度(Bq/m^3)				
	個数	最大値	最小値	平均値	
六ヶ所村	18	143	6.7	0.5	2.8
横浜町	3	24	4.6	1.0	3.1
野辺地町	2	16	4.9	<0.5	2.4
青森市	1	8	8.4	1.3	3.5
計	24	191	8.4	<0.5	2.9

なお、平成8年度第2四半期の六ヶ所村(笹崎)は欠測。

3・2 測定値の濃度分布

(1) 全 α 放射能濃度

全 α 放射能濃度の濃度分布は各市町村とも、 $0.25\sim 1.0\text{Bq/m}^3$ の濃度範囲への分布が多かった(図2)。

(2) 全 β 放射能濃度

全 β 放射能濃度の濃度分布は各市町村とも、 $1.1\sim 4.0\text{Bq/m}^3$ の濃度範囲への分布が多かった(図3)。

3・3 測定値の季節変動

全 α 放射能濃度の四半期別平均値は約 0.62Bq/m^3 で、全 β 放射能濃度の四半期別平均値は約 2.8Bq/m^3 であった。各市町村とも四半期による変化は見られなかった(表4)。

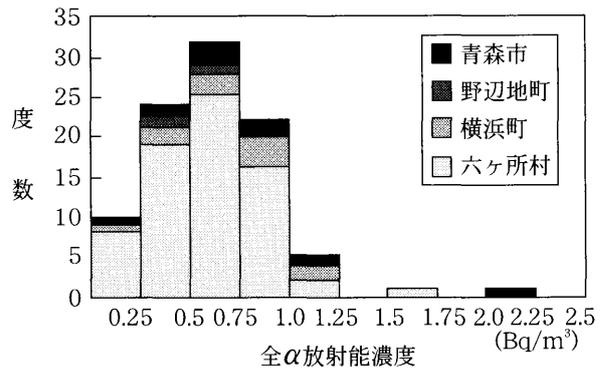


図2 大気浮遊じん中の全 α 放射能濃度分布

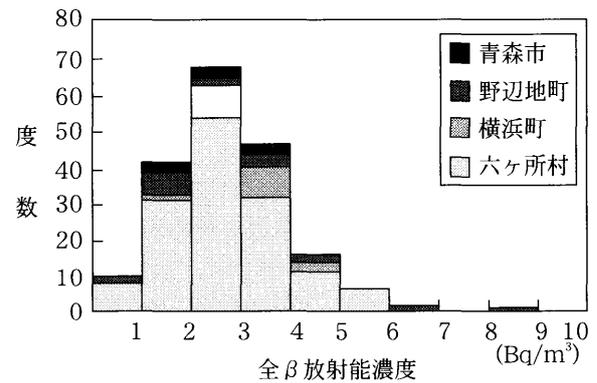


図3 大気浮遊じん中の全 β 放射能濃度分布

表4 全 α 及び全 β 放射能濃度の四半期別平均値

	全 α 放射能濃度(Bq/m^3)			
	第1四半期	第2四半期	第3四半期	第4四半期
六ヶ所村	0.59	0.59	0.62	0.55
横浜町	0.61	0.97	0.87	0.40
野辺地町	0.54	0.32	0.63	0.60
青森市	2.1	0.73	1.1	0.53
計	0.65	0.62	0.67	0.54

	全 β 放射能濃度(Bq/m^3)			
	第1四半期	第2四半期	第3四半期	第4四半期
六ヶ所村	2.4	2.7	2.9	3.3
横浜町	2.7	3.3	3.3	2.9
野辺地町	1.8	2.1	2.4	3.5
青森市	5.2	2.0	3.8	3.1
計	2.5	2.7	2.9	3.3

3・4 全 α 放射能濃度と全 β 放射能濃度の関係

平成8年度の測定結果を用いて、大気浮遊じん中の全 α 放射能濃度と全 β 放射能濃度の関係をみたところ、両者には高い相関関係があった(図4)。

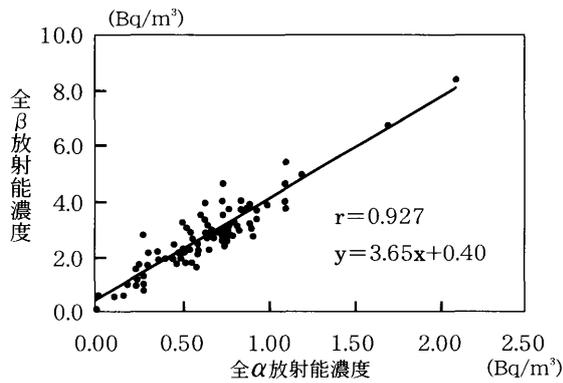


図4 全α放射能濃度と全β放射能濃度の関係

4. ま と め

集じん直後の大気浮遊じん中全α及び全β放射能濃度を把握するためにモニタリングカーを用いて原子燃料サイクル施設周辺において調査を実施し、次の結果が得ら

れた。

- (1) 調査期間中の全α放射能濃度は、平均値で0.62 Bq/m³。また、全β放射能濃度は、平均値で2.9Bq/m³。全α放射能濃度、全β放射能濃度ともに各市町村ともほぼ同じであった。
- (2) 全α放射能濃度の濃度分布は各市町村とも、0.25～1.0Bq/m³の濃度範囲への分布が多かった。
全β放射能濃度の濃度分布は各市町村とも、1.1～4.0Bq/m³の濃度範囲への分布が多かった。
- (3) 全α放射能濃度の四半期別平均値は約0.62Bq/m³で、全β放射能濃度の四半期別平均値は約2.8Bq/m³であった。
各市町村とも四半期毎の変化は見られなかった。
- (4) 平成8年度の測定結果を用いて、大気浮遊じん中の全α放射能濃度と全β放射能濃度の関係を見たところ、両者には高い相関関係があった。

Ⅲ 他誌投稿抄録

他誌投稿抄録

志賀毒素産生性大腸菌O103:H2による家族内感染

大友良光¹, 野呂キヨウ¹, 岡典子¹, 筒井理華¹: 病原微生物検出情報 月報, 18, 7, 5.

1997年5月保育園児1名の便から志賀毒素産生性大腸菌O103:H2 (Stx1) が分離された。患者は4月下旬に腹痛・下痢の症状が出現し, 病院に受診後入院したが, その後経過が良く短期間で退院した。本菌の血清型別は市販品が無いため感染症研究所に依頼して決定された。今後, 志賀毒素産生性大腸菌については多種類の血清型の出現が考えられるので十分な注意を要する。

1: 青森保健所

青森県における無菌性髄膜炎患者からのエコーウイルス9型の分離 三上稔之¹, 佐藤孝¹, 佐々木伸也¹, 田名部宗之²: 病原微生物検出情報, 18, 12, 8.

1997年9月, 当センターではウイルス分離のために搬入された検体からエコーウイルス9型を分離した。これは, むつ総合病院の無菌性髄膜炎患者3名の咽頭ぬぐい液(3), 髄液(1)の4検体のうち, 9月22日発病した患者の咽頭ぬぐい液から, 更に, 八戸市立市民病院9月25日発病した患者1名の便, 髄液からそれぞれ分離し, これらの患者の主症状は発熱38.0℃以上, 髄膜炎を示した。ウイルス分離にはRD, Hela, vero細胞を用い, 強い感受性を示したvero細胞よりウイルスを分離した。同定は分与エンテロプール血清, 市販単味血清を用いて, 中和試験により行った。一方, この時期(1997年9月)の青森県感染症サーベイランス情報によると青森, 八戸, むつの3市患者定点から11名の無菌性髄膜炎患者が報告されており, その年齢は0歳3名, 2歳1名, 3歳2名, 4歳1名, 5~9歳3名, 15~19歳1名であった。9月下旬のエコーウイルス9型による無菌性髄膜炎患者の発生は本県では散発的であると推測され, 東北地区においては遅い患者発生である。

1: むつ総合病院小児科

2: 八戸市立市民病院小児科

Epitope mapping a monoclonal antibody to human glutathione transferase P1-1 the binding of which is inhibited by glutathione T. Takahata¹, S. Tsuchida¹, M. Oomura¹, T. Matsumoto¹, J. Azumi¹, I. Hatayama¹, M. Hayakari¹, J. Kimura¹, I. Kakizaki¹, H. Kano¹, K. Satoh¹: Biochem. J., 321, 531-536, 1997.

ヒトGST P1-1に対するモノクローナル抗体のうち, C-未198-208のアミノ酸残基をエピトープとする抗体がGST P1-1の活性を抑制した。グルタチオンは, この抗体の酵素活性抑制作用を阻害することから, 198-208の部分G部位の一部を構成しているものと思われた。

1: 弘前大学医学部

An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements K.Itoh¹, T. Chiba¹, S. Takahashi¹, T. Ishi¹, K. Igarashi¹, Y. Katoh¹, T. Oyake¹, N. Hayashi¹, K. Satoh², I. Hatayama¹, M. Yamamoto¹, Y. Nabeshima¹: Biochem. Biophys. Res. Commun., 236, 313-322, 1997.

これまでantiioxidant response element(ARE)の転写因子は不明であった。本研究においては, マウスNrf2 cDNAのクローニング, Nrf2ノックアウトマウスの作製, そして抗酸化剤BHAによる遺伝子活性化実験からNrf2がAREに結合する転写因子であることを明らかにした。

1: 筑波大学基礎医学研究所

2: 弘前大学医学部

化学組成からみた宇曾利山湖(恐山湖)の水質構造

三上一¹, 奈良忠明¹: 月刊「水」第40巻, 72-77, 1998.

pH3.4~3.8の強酸性湖である宇曾利山湖(別名: 恐山湖)の水質構造を解明するため, 湖内及び流出入河川における化学組成について調査した。

その結果,

- (1)湖岸北~北東部に位置し, pH1.6~3.4を示す河川及び自噴温泉群。
- (2)湖内及び流出河川である正津川で, pH3.7のほぼ同じ値を示す群。
- (3)湖岸南西部に位置し, pH4.4~7.1の弱酸性~中性を示す群。

3群に区分され, 湖内の水質はCl⁻, SO²⁻に富む流入河川水及び湖底からの湧水から成り立っているものと考えられた。

1: 青森保健所

青森県における環境放射線量測定の現状 工藤英嗣¹: 日本分析センター広報, No32, 1998年1月.

原子燃料サイクル施設に係る環境放射線等モニタリング調査を実施している。平成元年から8年度までの空間放射線量率測定結果では, 六ヶ所村周辺の空間放射線量

率は平均20～23nGy/hであり、降雨（雪）による影響で最大50nGy/h程度上昇すること、積雪により減少すること、また、自然現象以外では医療用RI投与者やレン

トゲンカー等からの影響で上昇することが観測された。

1：県原子力安全対策課

IV 学会等発表抄録

学会等発表抄録

遺伝子導入によるEchovirus30の増殖 佐藤 孝, 三上稔之, 佐藤允武¹, 畑山一郎: 第38回日本臨床ウイルス学会, 箱根, 1997, 6, 5~6.

SRSVと同様の遺伝子構成を持つEchovirus30 (E30) を用いて遺伝子導入によるウイルスの増殖に関して調べ, SRSVの応用の可能性について検討した。種々の数のE30 RNAをLipofectamineを用いHeLa細胞に導入したところ, 8×10⁶個/we11 (96穴マイクロタイタープレート使用) までCPEが観察された。同法を用いてSRSVのin vitroでの増殖が示唆された。

1: 弘前保健所

青森県における新生児マス・スクリーニングの検査成績 下山純子, 石川和子, 野呂キョウ¹: 第46回東北公衆衛生学会, 弘前市, 1997, 7, 18.

新生児マス・スクリーニング事業は, 先天性代謝異常症等を早期発見, 早期治療することにより障害の発現を防止するために, 全国的な規模で実施されている。

青森県では昭和53年7月から本事業を開始しており, 事業開始から平成9年3月までの約19年間の検査成績についてまとめた。受検者数は346,687名, 精密検査依頼数は276名であり, 医療機関において59名が患者と診断された。

新生児マス・スクリーニングの有効性の指標とするため, 発見された患者の情報を各自自治体ごとに把握することが求められている。しかし, 本県では追跡調査体制の確立がいまだなされていないことから, 行政機関, 医療機関および検査機関で組織するスクリーニング委員会の設置が早急に望まれる。

1: 青森保健所

青森県における食中毒起因菌の感染源調査成績について 野呂キョウ¹, 大友良光, 佐藤孝, 三上稔之: 第46回東北公衆衛生学会, 弘前市, 1997, 7, 18.

細菌性食中毒検査においては, 原因菌は判明するが, 原因食品や原因菌の感染経路, さらには感染源に至るまで明確になった事例は極めて少ない。そこで1994年から1996年にかけて青森県内で発生した食中毒事件のうち, 原因菌が明らかになった食中毒事件について, 分離菌についての各種疫学マーカー試験成績をまとめ, 感染源についての考察を行った。その結果, 感染源としてサルモネラは鶏卵, 腸炎ビブリオは生鮮魚介類が疑われたが,

腸管出血性大腸菌は全く不明であった。その他, エルシニア・エンテロコリチカ血清型O8菌については野ネズミが感染源として疑われた。

1: 青森保健所

青森県におけるつつが虫病の発生状況 三上稔之, 佐藤 孝: 第46回東北公衆衛生学会, 弘前市, 1997, 7, 18.

つつが虫病は伝染病予防法の届け出を必要とする13疾患の1つである。県内においては毎年10件前後の届け出があり, 地方衛生研究所全国協議会では1989年よりつつが虫病の調査事業を全国の患者把握と防疫対策の資料を得ることを目的として実施している, そこで, 我々は本県における1989年から1996年の過去8年間の調査結果をまとめ, 本病の予防および啓蒙を図るためつつが虫の発生状況について検討した。

青森県環境保健センターへの試験検査精度管理 (GLP) 体制の導入について 畑山一郎, 三星陽子¹, 高橋政教: 第46回東北公衆衛生学会, 弘前市, 1997, 7, 18.

食品衛生法の改正に伴って1997年4月より食品全般の検査はGLP体制で行うことになったが, 当センターでは1995年以来, むつ湾産ホタテガイのEUへの輸出に係る検査のためにGLP体制の整備をすすめてきたので, 他の衛生研究所よりも若干GLPに対する意識や組織体制が先行していると思われる。本会では当センターのGLP組織を中心として現状を報告した。

1: 十和田食肉衛生検査所

腸炎エルシニア血清型O8菌感染症の疫学 大友良光, 野呂キョウ¹, 岡典子, 筒井理華: 第17回青森県感染症研究会, 青森市, 1997, 7, 26.

腸炎エルシニア血清型O8菌による感染症の感染源追及と予防を目的に, 青森県並びに一部は秋田県の医療機関の協力を得て患者発生状況を調査すると共に, 分離菌の病原性状, 並びに感染源調査を行った。その結果, 患者は1995年から1997年までに49名確認され, 患者の多くが15歳以下の低年齢層で, しかも散発の個発例であった。また, 患者は津軽地域の山間部に多いが, 六ヶ所村など他の地域にも見られ, 1994年には秋田県内でも確認された。死者は確認されていない。本性例の感染源及び感染経路については全く不明であるが, 本菌が野生のネズミ, 沢水,あるいはブタ腸管から分離されており, こちらが感染源とし重要な役割を担っていると考えられる。

1：青森保健所

細胞内酸化によるエンテロウイルス群の増殖抑制，

三上稔之，佐藤 孝，畑山一郎：第14回青森感染症研究会，青森市，1997，7，26.

エンテロウイルス群は特に乳幼児や低年齢の児童に経口感染し，カゼ様症状，手足口病，ヘルパンギーナや，また，無菌性髄膜炎，心筋炎のような疾病を誘発して重篤な例も報告されている。エンテロウイルスの感染機構や宿主の反応機構の解明はウイルス学的重要性のみならず，治療面における有効な情報を与えるものと考えられる。我々は，*in vitro*でのエンテロウイルスのエコー9（E9）感染によりCPEに先立ちアポトーシスが誘導されることを電気泳動的にDNAの断片化として確認したことから，他のエンテロウイルスのアポトーシス誘導能について，また，細胞内の酸化還元状態の変化はウイルスの感染増殖に大きな影響を与えることがHIVにおいて指摘されていることから，細胞内を酸化還元状態にすることによりウイルス増殖への影響について検討した。

クロフィブレート誘発マウス肝腫瘍におけるglutathione S-transferase (GST) 分子種の発現変化 三浦啓徳，佐藤公彦，土田成紀，畑山一郎：第56回日本癌学会総会，京都市，1997，9，25-27.

非遺伝子毒性発癌剤のペロオキシゾーム増殖剤クロフィブレートで誘発した雄B6C3F1マウスの肝前癌病巣においては， α クラスのGST-Iとペロオキシゾーム酵素enoyl CoA hydratase (ECH) が著明に減少し，病巣の陰性マーカーとしての有用性が明らかにされた。また，癌遺伝子産物c-JUNはクロフィブレートの場合には発現が認められず，マーカーとしては無効であった。

1：弘前大学医学部第2生化学

The low H-site hydrophobicity of rat and human Pi class GSTs K. Satoh¹, T. Takahata¹, M. Hayakari¹, K. Sato¹, T. Shimizu¹, S. Tsuchida¹, I. Hatayama¹ : International workshop on glutathione transferases, Rome(Italy), 1997, 11, 7-10.

ラットとヒトGST蛋白のH-サイトの疎水相互作用の定量評価に関して，直線自由エネルギー関係理論による解析をした。PiクラスGSTはAlphaやMuクラスよりも低い疎水性を示し，幅広い基質特異性をもつアイソザイムであることが判明した。

1：弘前大学医学部

イエバエからの志賀毒素産生性大腸菌（STEC）および腸炎エルシニア菌の分離に関する研究 大友良光，野呂キョウ¹，岡 典子，筒井理華：青森県保健医療・福祉・環境研究発表会，青森市，1997，12，10-11.

1996年佐賀県内で発生した腸管出血性大腸菌O157集団感染症の感染源調査でイエバエからO157が分離されたことを契機に，厚生省では全国的にO157の保菌調査を行うこととなった。これを受けて本県でも1998年7月から8月にかけて県内の畜舎周囲，公園内，食品加工場近辺のゴミ置場等の16地点で，1地点当たり20匹をめぐりに合計380匹のイエバエ捕獲し検査を行った。その結果，畜舎付近で採取されたイエバエ1匹から腸管出血性大腸菌O157:H7が検出された。分離菌は*eaeA*遺伝子，*stx1*と*stx2*遺伝子を保有していた。

1：青森保健所

PCR法による志賀毒素産生性大腸菌（STEC）の病原遺伝子検出と分子疫学に関する研究 岡 典子，野呂キョウ¹，筒井理華，大友良光：第1回青森県保健医療・福祉・環境研究発表会，青森市，1997，12，10-11.

1993年から1997年9月までに青森県内で発生した志賀毒素産生性大腸菌（STEC）感染症の発生状況をまとめる一方，分離33菌株の血清型別，PCR法による志賀毒素遺伝子（*stx1*，*stx2*）と大腸粘膜のA/E障害関連遺伝子（*eaeA*）検出および一部の菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）による解析を行った。その結果，STEC感染例は8月前後をピークに年々増加傾向にあり，最近では高齢者にも見られる。血清型は，O157:H7/HNMが26株と多く，最近ではO26:H11（4株），O103:H2（2株），O121:H19（1株）と多様化している。O157は*stx1*と*stx2*両方保有が23株，*stx2*単独保有が3株，O26は3株が*stx1*単独，1株が両方保有，O103は2株が*stx1*単独，O121は*stx2*単独を保有していた。*eaeA*は全ての菌株が保有していた。1997年8月に，同一地域で同時期に発生した2事例のPFGE解析でイエバエの媒介が示唆された。

1：青森保健所

食中毒様発生事例からのSRSVの疫学的調査 三上稔之，佐藤 孝，佐藤允武，畑山一郎：第1回青森県保健医療・福祉・環境研究発表会，青森市，1997，12，10-11.

平成9年5月に食品衛生法が一部改正され食中毒の病因物質としてSRSV及びその他のウイルスが追加された。

今までSRSV（small round structured virus：小型球形構造ウイルス）による食中毒様下痢症の集団発生は

食品衛生行政上、原因物質不明事例として処理されてきた。全国的に散発事例や集団事例からSRSVが検出され、報告はされていたが、その実態および動向が解明されていなかった。そこで、食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班が組織され、全国地方衛生研究所70研究機関を対象に平成元年9月1日から平成6年8月31日までの5年間の非細菌性胃腸炎の実態調査が行われた。また、本県において平成8年12月から平成9年4月にかけて4事例の非細菌性食中毒様集団発生がみられ、電子顕微鏡法によるウイルス検索とPCR (Polymerase Chain Reaction)法による遺伝子検出によりSRSVが原因と判明した。

1：弘前保健所

1989年から1996年までのつつが虫病の疫学的検討

佐藤 孝、三上稔之、木村淳子、佐藤允武¹：第1回青森県保健医療・福祉・環境研究発表会、青森市、1997、12、10-11。

つつが虫病は伝染病予防法の届け出を必要とする13疾患の1つである。県内においては毎年10件前後の届け出がある。そこで我々は本県における1989年から1996年の過去8年間の調査結果をまとめたところ、発生季節は、5、6月と10月の春、秋に多く見られ山や野原での感染が多いことがわかった。発生季節に感染地域に出かけた後に、カゼ様症状、発疹、刺し口を伴う場合はつつが虫病を疑い早期治療を受けるために病因で受診する必要がある。

1：弘前保健所

HPLCによる尿中VMA・HVA・クレアチニン同時測定法の検討 石川和子、下山純子、金田量子：第1回青森県保健医療・福祉・環境研究発表会、青森市、1997、12、10-11。

青森県における神経芽細胞腫マス・スクリーニング検査では、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でVMA・HVAを、Jaffe法による比色法でクレアチニン(CRE)を定量してきた。今回、HPLCによるVMA・HVA及びCREの同時測定法について検討した。

コントロール尿のVMA・HVA及びCRE測定値は日内変動、日差変動とも良好な値を示した。CRE測定においてJaffe法とHPLC法を比較すると、HPLC法でわずかに低値を示したものの両法には良好な相関が認められた。また、結果判定には、5,600検体の測定値から求められたカットオフ値に加え、機器毎、測定日毎に算出された計算値 (平均値+2.5×標準偏差) も目安にすべき

と思われる。VMA・HVA及びCREを同時に測定することから、本法は従来法よりCRE補正値の誤差が少なく、操作が簡易であり、経済性及び精度の面でも有用であると考えられる。

ベルオキシゾーム増殖剤で誘発したマウス肝前癌病巣における解毒酵素の発現変化 三浦啓徳、畑山一郎：第1回青森県保健医療・福祉・環境研究発表会、青森市、1997、12、10-11。

(本誌学会発表抄録「クロフィプレート誘発マウス肝腫瘍におけるglutathione S-transferase (GST)分子種の発現変化」参照)

分解反応モデルを用いた水中有機塩素化合物の挙動解析 石塚伸一¹、工藤 健²、大久保英樹³：第23回北海道・東北ブロック公害研究連絡会議、札幌市、1997、10、7-8。

地下水の有機塩素化合物を調査したところ、テトラクロロエチレン (PCE)、トリクロロエチレン (TCE)、cis-1,2-ジクロロエチレン (cis-1,2-DCE) が検出され、これらの物質間に強い関連性が認められた。cis-1,2-DCEは工場・事業場で使用されていないことから、分解反応によって生成したものと考えられる。PCEは分解反応によって濃度が減少するため、見かけ上、汚染状況が改善されたようにみえる。しかし、PCE濃度減少に見合った分のTCE、cis-1,2-DCEが生成しており、これら分解生成物の方が元のPCEより毒性が強いことから、分解生成物も含めて、総合的に汚染状況を解析・評価する必要があった。分解反応モデルを用いることによって、PCE濃度減少の要因解析、汚染源同一性の検討、過去及び将来のPCE濃度推定が可能となった。

- 1：県環境政策課
- 2：八戸保健所
- 3：県警生活保安課

北海道・東北地域における積雪成分調査(1)―調査結果の概要― 早狩 進¹、小松原 正²、八重樫 満²、野口 泉³ (全国公害研協議会北海道東北支部酸性雨調査研究専門部会積雪成分データ解析グループ)：第38回大気環境学会年会、つくば市、1997、9、23。

全国公害研協議会北海道東北支部酸性雨調査研究専門部会に属する13機関が平成7年度に実施した積雪成分調査結果について、データ解析グループの一員として調査結果の概要について発表したものである。

それによると、道県別の平均pHは、新潟県、北海道、秋田県の順に低く、非海塩硫酸イオン当量濃度は、北海道、青森県、新潟県の順に高いという傾向があり大陸の影響と考えられた。N/S比は宮城県が1以上と特に大きく、地域汚染の影響を受けていた。

- 1：八戸公害事務所
- 2：岩手県公害センター
- 3：北海道環境科学研究センター

全国酸性雨調査⁽²⁸⁾—統計的手法による地域特性の評価—

早狩 進¹：第38回大気環境学会年会、つくば市、1997、9、23.

全国公害研協議会酸性雨調査研究部会の部会員として、平成8年度全国酸性雨調査結果について、調査地点の清浄度を評価する統計的指標の検討を行ったものである。主に非海塩成分濃度を用いた因子分析のバリマックス回転後の第1因子はNO₃、NH₄⁺、nss-SO₄²⁻の寄与が大きく、そのスコアを基に地域分類すると、梅雨期の清浄局は日本海側、汚染局は関東に多く、降雪期の清浄局は東北・東海地域の内陸部、汚染局は西日本に集中していた。

- 1：八戸公害事務所

Wet/Dry型捕集装置による青森県竜飛の降水特性

早狩 進、松尾 章：第13回全国環境・公害研究所交流シンポジウム、つくば市、1998、2、4.

環境庁が平成5年度に遠隔地酸性雨測定所の一つとして設置した国設竜飛岬酸性雨測定所の降水特性を明らかにするために、自作アドインソフト等を適用した結果を報告した。

それによると、局舎屋上に設置した雨量計は、有風時に局舎の上に発生する乱流の影響を受けていた。

海塩成分の月間当量濃度は北西と南東の頻度時系列と有意な相関があり、人為汚染成分は北西風向と強い相関が得られた。また、夏～秋は陽イオンの中でNH₄⁺がpHを上昇させる効果が大きく、N/S比は春～夏に0.5以上、秋～冬に0.5以下を示す特徴があった。

十和田湖の透明度と生物群集の関係 三上 一、内山日出男、高村典子¹：第32回日本水環境学会講演集、p.199. 習志野市、1998、3、16～18.

十和田湖では1986年以降、環境基準値（AA類型COD 1 mg/l以下）を超えて以来、透明度の低下とヒメマス漁獲量の落ち込みが問題になっている。ここでは、青森・秋田両県の環境・水産サイドが実施している長期

モニタリングデータ解析により原因解明を行った。

その結果、十和田湖ではヒメマスが多い時期には大型の動物プランクトンが優占し、大型の植物プランクトンを捕食し、透明度の上昇とCODの低下を招いた。ワカサギが多くなった時期には、ワカサギが大型の動物プランクトンの幼体も捕食し、優占した小型の動物プランクトンが捕食できない大型の植物プランクトンが増殖したため、透明度の低下とCODの上昇を招いたものと考えられた。

このことから、十和田湖の水質改善・保存と安定したヒメマス漁獲量の確保には大型の動物プランクトンを回復させる湖沼生態系管理が求められる。

- 1：国立環境研究所

十和田湖の透明度と生物群集の変遷 三上 一、高村典子¹、奈良忠明²：水環境学会東北支部セミナー、青森市、1997、10、25.

(十和田湖の透明度と生物群集の関係と同じ)

- 1：国立環境研究所
- 2：県環境政策課

十和田湖の透明度と生物群集の変遷 三上 一、石塚伸一¹、工藤幾代、野澤直史、前田寿哉、高村典子²：第24回環境保全・公害防止研究発表会、沖縄市、1997、11、19～20.

(十和田湖の透明度と生物群集の関係と同じ)

- 1：県環境政策課
- 2：国立環境研究所

十和田湖の保全について—魚とプランクトンの相互関係の視点から 高村典子¹、三上 一、水谷 寿²、長崎勝康³：第45回日本生態学会大会、京都市、1998、3.

十和田湖での透明度の低下とCODの上昇、ヒメマス漁獲量の落ち込みについて解析する文献調査を行った。

ヒメマスが優占した系では、枝角類*Daphnia longispina*、カイアシ類*Acanthodiptmus pacificus*が効率よく、植物プランクトンを捕食した。ワカサギが優占した系では、ワカサギが小型の動物プランクトンも捕食できるため、動物プランクトンへの捕食圧が上がり、*Bosmina longirostris*、ワムシ系に置き換わり、湖水中にはこれらの小型の動物プランクトンに食べられないで残った植物プランクトンが増え、湖水中の透明度が低下したものと考えられた。

この現象は、1995～97年度の調査で再現され、魚と

プランクトン群集の関係が明らかになった。

1：国立環境研究所

2：秋田県水産振興センター

3：青森県内水面水産試験場

編 集 委 員

秋田谷 礼 治 大 友 良 光 木 村 淳 子
今 武 純 斎 藤 輝 夫 佐々木 守
田 中 光 子 対 馬 典 子

青森県環境保健センター研究報告

(平成10年度)

平成11年1月発行

編 集 〒030-8566 青森市東造道1-1-1
発 行 **青 森 県 環 境 保 健 セ ン タ ー**
 所 長 櫻 田 守 美
印 刷 所在地 青森市大字石江字三好116番26号
 名 称 (有)三恵プリント
 電 話 (0177) 82-1234
 F A X (0177) 82-1239

(環境保護の為、再生紙を使用しています。)