

秋田県で分離された *Salmonella* serovar Enteritidis の プラスミドプロファイル, 薬剤感受性, フェージ型 について (第2報)

齊藤志保子 八柳 潤 遠藤 守保*¹ 佐藤 宏康*²
森田 盛大

秋田県で1986年から1992年の間に分離された *Salmonella* Ser. enteritidis (SE) 127株, および1984年から1989年の間に秋田市内の環境から分離したSE 7株を対象として, それらのフェージ型, プラスミドプロファイル, および薬剤感受性について検討した. 1989年以降, 多数の散発的感染事例やSE食中毒事例が発生したがこれらは主にフェージ型34, プラスミドプロファイル>250 Kb, 60Kb, SM, EM耐性, およびフェージ型4, プラスミドプロファイル60 Kb 単独, SM, EM耐性のSEが原因であった. このタイプのSEは1987年に既に秋田市内の環境に侵淫していたことが示された. 一方, 1992年にも散発事例からこのタイプのSEが分離されたことから, SE感染の可能性はまだ続いているものと考えられた.

キーワード: *Salmonella* Ser. Enteritidis, プラスミドプロファイル, フェージ型, 薬剤感受性

I はじめに

サルモネラは腸炎ビブリオ, 黄色ブドウ球菌に次いで食中毒の代表的原因菌であり, また, 散発的下痢症の原因菌としても重要視されている. 我々は1975年から河川水, 下水処理場流入水, 食肉などを対象として県内におけるサルモネラ菌の侵淫動向を調査すると共に^{1) 2) 3)}, 感染症サーベイランス協定定点医療機関を中心に下痢症患者からの同菌検出状況を監視してきた. その結果, 1989年に入り, それまでは分離頻度の極めて小さかった *Salmonella* Ser. Enteritidis (SE) が食中毒事例や散発事例において多数分離されるようになったことが明らかとなった⁴⁾.

SE感染症において感染ルートや感染源を追求するための疫学指標として, 我が国では1990年3月からフェージ型別法が導入された⁵⁾. このSEのフェージ型別は, 現在, 国立予防衛生研究所においてのみ実施されており, 1990年に発生した食中毒事例において疫学指標としての有用性が確認されている⁵⁾. 一方, プラスミドプロファイルの解析もSEの疫学指標として有用であることが示されている^{6) 7)}. このプラスミドプロファイルの解析はフェージ型別と異なり手技が比較的容易であることから, 地研においても実施可能な方法であるのに加えて, SEだけではなく *Salmonella* Ser. Typhimurium⁸⁾, Enterobacteriaceae⁹⁾, Enterohemorrhagic *E. coli*¹⁰⁾等についても疫学指標として有用であることが報告されている.

我々は昨年度, 1987年以降に分離され, 当所に保存されていたSEを対象としてプラスミドプロファイルの測

定法を中心に検討し, プラスミドプロファイルとフェージ型を組み合わせることにより, より詳細なSEの疫学情報が得られることを報告した¹¹⁾. 今年度は1986年から1992年の間に秋田県内で発生した散発的感染症例や食中毒事例などから分離されたSE, 更に1984年から1989年の間に秋田市内の環境中から分離されたSEを対象としてプラスミドプロファイル, フェージ型, および薬剤感受性について検討したので, 得られた知見について報告する.

II 材料と方法

1. 材料

菌株: 1986年から1992年の間に県内で分離されたSE 127株, および1984年から1989年の間に秋田市内の環境中から分離されたSE 7株を調査対象とした.

2. 方法

(1) プラスミドプロファイルの測定: SEのプラスミドプロファイルはKadoたちの方法に準じて既報のとおり測定した¹¹⁾.

(2) フェージ型の測定: SEのフェージ型別は国立予防衛生研究所に実施を依頼した.

(3) 薬剤感受性: SEの薬剤感受性は「昭1濃度ディスク」を使用し, 取り扱い説明書記載の方法に従い測定した. 測定対象薬剤は, ゲンタマイシン (GM), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), カナマイシン (KM), エリスロマイシン (EM), セファロシン (CT), クロラムフェニコール (C), ナリジクス酸 (NA), アミノベンジルペニシリン (ABPC), ST合剤 (ST) とした. これらの薬剤に対するSEの

*¹ 現 横手保健所 *² 現 大館保健所

感受性は、生じた阻止円の直径から取り扱い説明書中の判定表に従い、感受性区分一、+、++、+++として判定し、感受性区分のうちマイナス、およびプラス1に該等する感受性が見られた場合に当該株がその薬剤に対して耐性であると判定した。

Ⅲ 結果および考察

1. SEの由来、年次別分離状況

今回調査対象としたSEの由来別、年次別分離一覧を表1に示した。SEは1986年に散発事例から1株分離されたが、それ以前、および1987年、1988年には分離されていなかった。ところが、1989年に、突然、多数のSEが散発事例から分離されるようになり、翌1990年もこの傾向が持続した。この散発的SE感染症の多発傾向は1991年以降ほぼ終息し、1991年、および1992年に分離されたSEはそれぞれ2株、および6株であった。一方、1989年と1990年には散発事例だけではなく、SEを原因菌とした集団食中毒事例も発生し、これらの事例から計21株のSEが分離された。

一方、秋田市内の下水、河川水を対象としたサルモネラ菌侵淫状況調査においては、散発事例におけるSEの分離傾向とは異なり、1984年から1989年までの間毎年SEが分離された。一方、1990年、および1991年には環境中からSEは分離されなかった。なお、当該調査が1991年に終了したため、それ以降の環境中からのSE分離状況は不明である。

表1 調査対象SE一覧

由来	分離年	分離数
散発事例	1986	1
	1989	49
	1990	44
	1991	2
	1992	6
	計	102
食中毒患者	1989	2
	1990	19
	計	21
環境		
	河川水	
河川水	1984	1
	1986	1
	1988	1
	1985	1
	1987	1
下水	1989	2
	計	7
	その他	4
総計		134

2. 散発事例、食中毒事例において分離されたSEのフェージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性

表2に散発事例において分離されたSEのフェージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性を示した。1986年に分離されたSE1株はフェージ型2であった。1989年にはフェージ型34のSEが40株、フェージ型4のSEが9株分離された。フェージ型34のSE40株のうち36株が

>250Kb、60Kbのプラスミドを保有するものであり、残り3株はそれぞれ>250Kb単独、>250kb、90Kb、60Kb、および>250Kb、60Kb、UTのプラスミドを保有するものであった。>250Kb、60Kbのプラスミドプロファイルを示した36株のうち、35株がSM、EM耐性株であったが、1株はSM、EM、CT耐性株であった。一方、フェージ型4のSE9株のうち5株が60Kbのプラスミドを単独で保有するものであり、他の3株は>250Kb、60Kb、1株は150Kb、60Kbのプラスミドを保有していた。60Kb単独のプラスミドプロファイルを示したSE5株のうち、4株がSM、EM耐性株であり、1株がEM耐性株であった。また、>250Kb、60Kbのプラスミドプロファイルを示したSE3株のうち、2株がSM、EM耐性株、1株がSM、EM、CT、C耐性株であった。これらの結果は、1989年に分離されたSEは主としてフェージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、そしてSM、EM耐性であったことを示していた。また、フェージ型34の株にも、プラスミドプロファイル、薬剤感受性が上記株と異なるものが認められ、さらに、フェージ型34、>250Kb、60Kbのプラスミドプロファイルを示す株の中にも薬剤感受性が異なるものが存在することが示された。一方、フェージ型4のSEではプラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性という株が9株中4株と最も多く認められた。

1990年に入ると、1989年には比較的分離数が少なかったフェージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性のSEが主として分離されるようになり、前年に多数分離されたフェージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性のSEがそれに次いだ。また、それまで分離されなかったフェージ型7のSEが1株分離された。

1991年、1992年は前2年と比較してSEの分離数は減少したが、分離されたSEはフェージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性、およびフェージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性という前年に多く分離されたものと同じタイプであった。

以上の結果は、秋田県において1989年以降、フェージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性、およびフェージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性というSEによる多数の散発的感染者が発生したことを示していた。これらの株は1992年においても散発的感染者から分離され、感染者の発生は減少したものの、1992年においてもそれらのSEの侵淫が持続していることが確認された。また、フェージ型34、および4のSEの中にそれぞれプラスミドプロファイル、薬剤感受性の異なる株が認められたことから、

同一フェージ型のSEにも起源が異なるものが存在するものと考えられた。さらに、フェージ型、プラスミドプロフィールが同じSEの中に、薬剤感受性の異なる株も認められ、これらのSEもそれぞれ起源が異なるものと考えられた。

表3に1989年、および1990年に発生した食中毒事例から分離された計21株のSEのフェージ型、プラスミドプ

ロファイル、薬剤感受性を示した。21株のSEのうち、9株がフェージ型34、プラスミドプロフィール>250Kb、60Kb、SM、EM耐性、また、10株がフェージ型4、プラスミドプロフィール60Kb単独、SM、EM耐性であり、散発事例において多数分離されたものと同タイプのSEが食中毒事例においても分離されていたことが確認された。

表2 散発事例SE由来フェージ型、プラスミドプロフィール、薬剤感受性

分離年	フェージ型	分離数	プラスミドプロフィール	分離数	薬剤感受性	分離数	
1986	2	1	≈80Kb, ≈2.2Kb	1	感受性	1	
1989	3 4	4 0	>250Kb, ≈60Kb	3 7	SM, EM R	3 6	
			>250Kb	1	SM, EM R	1	
			>250Kb, ≈90Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1	
	4	9	>250Kb, ≈60Kb, UD	1	SM, EM R	1	
			>250Kb, ≈60Kb	3	SM, EM R	2	
			≈60Kb	5	SM, EM R	4	
			≈150Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1	
	1990	3 4	1 2	>250Kb, ≈60Kb	1 1	SM, EM R	1 0
				≈60Kb	1	SM, EM R	1
		4	3 0	>250Kb, ≈60Kb	2	SM, EM R	2
≈60Kb				2 7	SM, EM R	2 5	
>90Kb, ≈60Kb, UD				1	SM, EM R	1	
1991		7	1	250Kb, ≈90Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1
	UT			1	SM, EM R	1	
1992	3 4	3	>250Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1	
			≈60Kb	1	SM, EM R	1	
1992	4	1	>250Kb, ≈60Kb	3	SM, EM R	3	
			≈60Kb	1	SM, EM R	1	
1992	1	1	≈60Kb, UD				

注) UT:Untypable, UD:Undetermined, R:Resistant

表3 食中毒患者由来SEのフェージ型、プラスミドプロフィール、薬剤感受性

分離年	フェージ型	プラスミドプロフィール	薬剤感受性	分離数
1989	3 4	≈60Kb	SM, EM R	1
	4	≈60Kb	SM, EM R	1
1990	3 4	>250Kb, ≈60Kb	SM, EM R	9
	3 4	>250Kb, ≈60Kb	SM, EM, CT, C R	1
	4	≈60Kb	SM, EM R	9

表4 環境由来SEのフェージ型、プラスミドプロフィール

分離年	由来	フェージ型	プラスミドプロフィール	分離数
1984	河川水	8	≈70Kb	1
1985	下水	3 4	≈70Kb, ≈4.5Kb, ≈2.5Kb	1
1986	河川水	8	≈70Kb	1
1987	下水	3 4	≈60Kb	1
1988	河川水	8	≈70Kb	1
1989	下水	3 4	≈60Kb	1
	下水	3 4	>250Kb, ≈60Kb	1

3. 環境由来SEのファージ型, プラスミドプロファイル

表IVに1984年から1989年の間に秋田市内の河川水, 下水から分離したSEのファージ型, プラスミドプロファイルを示した。河川水から1984年, 1986年, 1988年に分離されたSE 3株は全てファージ型8であり, このファージ型のSEは散発事例や食中毒事例などのいずれからも分離されなかった。これに対して, 下水から1985年, 1987年, 1989年に分離されたSE 4株は全てファージ型34であった。これらのファージ型34のSEのうち, 1985年に分離されたSEのプラスミドプロファイルは, 散発事例などから分離されたファージ型34のSEとは全く異なるものであった。一方, 1987年に分離されたSE, および1989年に分離されたSEの1株は60Kb単独のプラスミドプロファイルを示すものであった。また, 1989年に分離されたもう1株のSEは, >250Kb, 60Kbのプラスミドプロファイルを示すものであった。これらの結果は, 秋田市内の河川水に1984年から存在していたSEは, 1989年以降に散発事例などから分離されたSEとは起源が異なるものであることを示唆していた。一方, 秋田市内の下水には1985年に既にファージ型34のSEが存在していたが, このSEのプラスミドプロファイルは1989年以降に散発事例などから分離されたSEとは異なることが示され, 1989年以降に散発事例などから分離されたSEと同一タイプのプラスミドプロファイルを示すSEは, 1987年に初めて下水から分離されたことが明らかとなった。

今回の調査によって, 秋田県内において1989年, および1990年に多発したSE感染事例は, 主としてファージ型34, プラスミドプロファイル>250Kb, 60Kb, SM, EM耐性, およびファージ型4, プラスミドプロファイル60Kb単独, SM, EM耐性という2つのタイプのSEを原因とするものであったが, ファージ型が34, もしくは4でありながら前記2タイプとはプラスミドプロファイル, 薬剤感受性の異なるSEも原因となっていたことが明らかとなった。

これらのSEの起源が具体的に何であるかということは, SE感染予防策を構築する上で極めて重要な知見であると考えられるが, 具体的な感染源はいまだに明らかにされていない。今回の調査結果は, これらのSEの起源が, 秋田市内の河川水に1984年から存在していた, 在来型とも考えられる, ファージ型8のSEとは全く異なることを示唆していた。一方, 散発事例から1989年, 1990年に分離されたファージ型34, プラスミドプロファイル60Kb単独, およびファージ型34, プラスミドプロファイル>250Kb, 60Kb, というSEが, 秋田市内の下水から1987年に既に分離されていたことも明らかとなっ

たが, このことは1989年以降に多数の感染事例を惹起したSEは1989年に突然県内に侵淫したのではなく, 1987年の時点で既に県内に侵淫していたことを示唆する事実として興味深い。

1989年に始まったSE感染の多発は1991年, 1992年にかけて終息したかのように見えたが, 1989年当時と同じファージ型, プラスミドプロファイル, 薬剤感受性を示すSEが1992年にも散発事例から分離されている。このことは, これらのSEが県民の周辺から未だに払拭されていないことを示すものと考えられ, SE感染の発生の可能性を否定することは未だにできない。このため, 今後も分離されたSEの疫学指標を検討することによりこれらのSEの動向を監視して行く必要があるものと考えられた。

IV 文 献

- 1) 森田盛大, 他. 県内におけるサルモネラ菌の生活環境内侵襲実態調査について (第1報), 秋田県衛生科学研究所報, 1976; 20: 37-39
- 2) 齊藤志保子, 他. サルモネラ菌の生活環境汚染実態に関する調査研究 (第6報), 秋田県衛生科学研究所報, 1981; 25: 63-66
- 3) 山脇徳美, 他. 環境からのサルモネラ菌分離成績について, 秋田県衛生科学研究所報, 1986; 30: 57-61
- 4) 森田盛大, 他. 秋田県における Salmonella Serovar. Enteritidis の動向, 病原微生物検出情報, 1991; 12: 72
- 5) 中村明子, わが国の S. Enteritidis ファージ型分布 (1989,1990), 病原微生物検出情報, 1991; 12: 118
- 6) 楠淳, 他. 集団発生由来 Salmonella Ser. Enteritidis の保有プラスミドとそのプロファイル, 感染症学雑誌, 1990; 64 (8): 1074
- 7) 樋口淑美, 他. 群馬県における Salmonella Ser. Enteritidis について, 群馬県衛公研年報, 1990; 22: 33-39
- 8) P. L. Macdonough et al., Clonal Groups of Salmonella typhimurium in New York State., J. Clin. Microbiol. 1989; 27: 622-627
- 9) F. Orskov et al., Summary of a Workshop on the Clone Concept in the Epidemiology, Taxonomy and Evolution of the Enterobacteriaceae and Other Bacteria, J. Infect. dis. 1983; 148: 346-357
- 10) J. G. Wells et. al., Isolation of Escherichia coli Serotype 0157: H7 and Other Shiga-like-Toxin Producing E. coli from Daily Cattle, J.

Clin. Microbiol. 1991 ; 29 : 985-989

- 11) 八柳潤, 他. 秋田県で分離された *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis* のプラスミドプロファイルについて (第1報), 秋田県衛生科学研究所報, 1992 ; 36 : 39-41

秋田市内で市販されていた輸入牛肉 からの腸管出血性大腸菌の分離

八柳 潤 齊藤志保子 遠藤 守保*¹ 佐藤 宏康*²
森田 盛大

要約: 秋田県内における腸管出血性大腸菌(以下EHECと略)の感染源, 感染ルートに関する知見を得る目的で秋田市内で市販されている輸入牛肉の腸管出血性大腸菌汚染実態調査を実施した. 本調査を行うに先立ち, 牛肉からのEHEC検出法を検討し, 牛肉中のEHECを簡便確実に高感度で検出分離することが可能な, EC-PCR法を確立した. EC-PCR法により秋田市内で市販されていた米国産, 及び豪州産牛肉計110件についてEHECの検出を試みたところ, 豪州産牛肉1検体から血清型OUT:H2のEHECが分離された. 本菌はVT-2を産生し, ソルビトールを1日以内に分解した. 以上の結果から, 輸入牛肉がEHECに汚染されていることが秋田県内において初めて確認され, EHEC感染源の一つに輸入牛肉が関与する可能性が示された.

キーワード: 腸管出血性大腸菌, 輸入牛肉, Polymerase Chain Reaction, EC-PCR法

I はじめに

腸管出血性大腸菌(Enterohemorrhagic E. coli, EHEC)は, 病原性大腸菌の中では比較的近年になってからその存在が確認された. EHECは培養 Vero細胞を変性させる毒素(Vero毒素, Vero cytotoxin, 以下VTと略)を産生することが知られており¹⁾, このVero毒素が本菌の病原因子であると考えられている. EHECの血清型としてはO157:H7が代表的なものであるが, これ以外の血清型の大腸菌の中にもVero毒素を産生するものがあることから, これらはVero毒素産生性大腸菌(以下VTECと略)とも呼ばれている.²⁾

EHECに感染した場合, 腹痛を伴う出血性大腸炎が惹起され, とくに小児では溶血性尿毒症症候群(以下HUSと略)が続発する場合があるなど³⁾感染病像は一般に重篤である. 国内におけるEHECの感染例としては, 1990年に埼玉県の子園で発生した大規模な集団例が著名であり⁴⁾, 本事例を契機として国内においてEHECに対する関心が急速に高まった. 秋田県内においても既報の如く, 1991年に4名の散発的EHEC感染者が確認された⁵⁾. これらEHEC感染者の中にはHUSを続発したものも認められたが, 予後は良好であり, 全員健康を取り戻した. これらの感染者から分離されたEHECの疫学マーカーについて検討した結果, これらのEHECは, それぞれ異なる感染源から散発的に発生したことが示唆されたが, 具体的な感染源は不明であった⁵⁾.

EHECの感染源として, 外国の例ではハンバーガー, 生牛乳などの畜産製品が関与していること⁶⁾, また, 牛

がEHECのキャリアーとなっていることが報告されている⁷⁾. 我が国においても, 伊予保健所の田中たちが輸入牛肉からVTECを分離したことを報告していること⁸⁾からEHEC感染源として輸入牛肉が関与している可能性があるものと考えられる. 以上のことから, 秋田県内においても, 市販の輸入牛肉がEHECにより汚染され, EHECの感染源になっている可能性が考えられたが, その実態についてはこれまで調査されたことがなく不明であった. このため, 我々は秋田市内で市販されている輸入牛肉を対象として, EHECの汚染実態調査を実施した. また, 牛肉からのEHEC検出方法についても検討したので, 得られた結果を報告する.

II 材料と方法

1. 材料

- (1) 輸入牛肉: 秋田市内のスーパーマーケットF店, N店から購入した米国産牛肉計79件, S店, T店から購入した豪州産牛肉計31件, 合計110件を調査対象とした.
- (2) 菌株: EHECの標準株には, 東京都衛生研究所微生物部の工藤泰雄博士から分与された E. coli serotype O157:H7 EDL-931株を使用した.
- (3) 培地: EC培地は日水製薬製品, Sorbitol MacConkey No.3はOxoid製品を使用した. 4-methylumbonyferyl- β -D-glucuronide (MUG)はOxoid製品を使用した.

2. 方法

牛肉からのEHECの分離は, 後述するEC-PCR

*¹ 現 横手保健所 *² 現 大館保健所

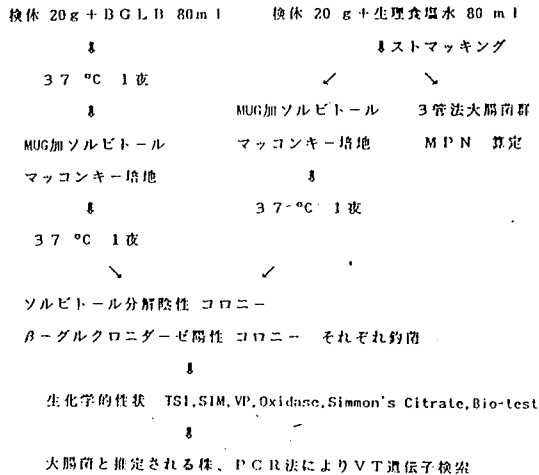
法によった。EHEC菌株の生化学的性状検査、血清型別、薬剤感受性、Polymerase Chain Reaction (PCR) 法によるVerotoxins産生遺伝子の検出及び型別は既報の方法に従って実施した⁵⁾。

III 結果及び考察

1. 牛肉からのEHEC分離方法の検討

牛肉からのEHEC分離方法として、最初に図1に示

図1 初めに試みた牛肉からのEHEC分離法



す方法を試みた。血清型O157:H7のEHECはソルビトール分解陰性もしくは遅分解性、β-グルクロニダーゼ陽性もしくは陰性であることが、また、大腸菌は通常ソルビトール分解陽性、β-グルクロニダーゼ陽性であることが知られている。これらのことから、牛肉中に存在するEHEC血清型O157:H7及び大腸菌全般を分離する目的でMUG加 Sorbitol macConkey Agar (MUG-SM) を分離培地に使用して、生じたコロニーのうちソルビトール分解陰性を示す白色のもの、及び長波長紫外線照射下で青白色蛍光を発するβ-グルクロニダーゼ陽性ものを釣菌した。米国産牛肉8検体から表1に示す菌株が得られ、これらについて生化学的性状

表1 図1の方法により牛肉から分離した細菌

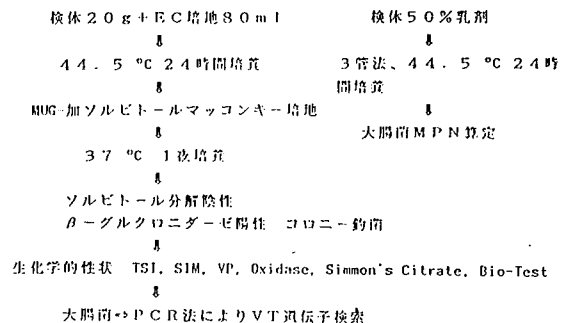
β-グルクロニダーゼ	ソルビトール	釣菌数	大腸菌株数	VT遺伝子保有株	備考
陰性	陰性	8	0	0	Cedecea Spp
陰性	陽性	7	0	0	Serratia Spp
陽性	陽性	14	8	0	Enterobacter Spp

を検討した結果、EHEC O157:H7と推定されたβ-グルクロニダーゼ、ソルビトール分解陰性の菌株は大腸菌ではなくCedecea属の細菌であった。また、β-グルクロニダーゼ陰性、ソルビトール分解陽性の菌株はSerratia属の細菌であった。一方、大腸菌と思われる

β-グルクロニダーゼ、ソルビトール分解が共に陽性の菌株14株が分離されたが、これらのうち実際に大腸菌であったのは8株のみであり、他はEnterobacter属の細菌であった。なお、大腸菌と同定された菌株についてPCR法によりVT遺伝子を検索した結果、これら8株の中にVT遺伝子保有株は認められなかった。以上の結果から、牛肉中には各種の細菌が混入しており、図1の方法によっては、EHECを含めた大腸菌を選択的に分離することは困難であることが示された。従って、牛肉中のEHECを効率良く分離するためにはまず検体中の大腸菌を選択的に分離する方法を確立する必要があるものと考えた。食品中の大腸菌の存在を知るための方法として、衛生試験法注解に、食品をEC培地に接種後44.5°Cで培養し、培地の混濁とガス産生の有無を見る方法が記載されているが、この培養方法により大腸菌が選択的に分離可能かどうか検討した。

図2に示すように、牛肉をEC培地に接種した後44.5°Cで24時間培養し、その培養液の1白金耳量をMUG-SM培地に塗布し、37°Cで一晩培養した。また、3管法

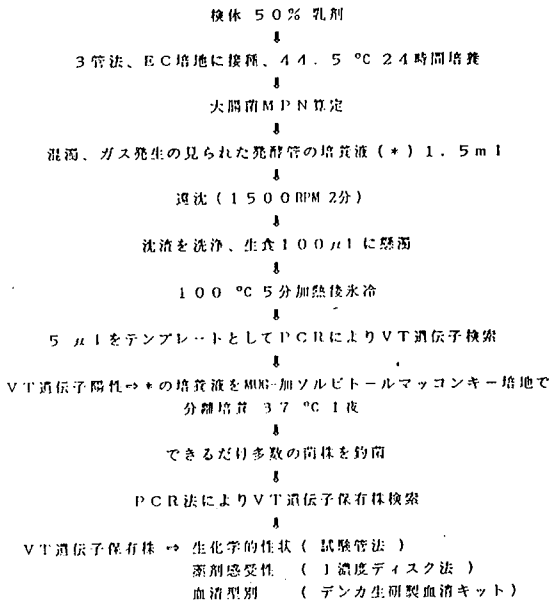
図2 EC-44.5°C培養法



による牛肉中の大腸菌MPN測定も並行して試みた。当該MUG-SM培地上にはβ-グルクロニダーゼ、ソルビトール分解共に陽性のコロニーが多数生じたが、β-グルクロニダーゼ陰性、ソルビトール分解陽性のコロニーも少数生じた。β-グルクロニダーゼ、ソルビトール分解共に陽性のコロニーを任意に釣菌して、それらの生化学的性状を検討したところ、試みた範囲の中で、これらは全て大腸菌であることが確認された。さらに、あらかじめE. coli O157:H7 EDL931株を接種しておいた牛肉を使用して検討したところ当該菌株も通常の大腸菌と同様に検出されることが確認された。以上の結果から、検体を接種したEC培地を44.5°C24時間培養することにより、検体中の大腸菌を選択的に分離することが可能であることが確認された。ところが、MUG-SM培地上に発育した大腸菌の全てを対象としてPCR法によりVT遺伝子の検索を実施することは極めて困難であり、実

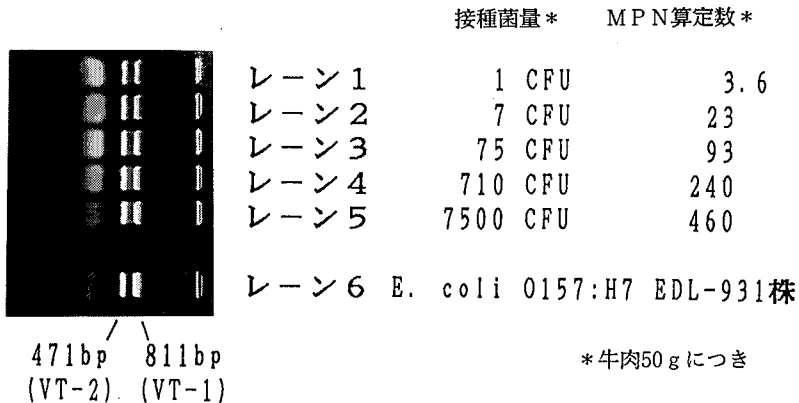
実際は生じたコロニーの1部、例えば1平板あたり5個のコロニーについてののみVT遺伝子の検索を実施せざるを得ないために、VT遺伝子保有株を見逃すことが予測された。この問題点を回避、克服する方法として、多田たちはBGLB-PCR法を報告している⁹⁾。本法は、検体をBGLB培地に接種後37°Cで培養し、発育した菌体を集菌して、これらの菌体を各種菌株の混合状態のま

図3 EC-PCR法



まテンプレートとしてPCR法によりVT遺伝子のスクリーニングを行うという方法である。本法においては、スクリーニング陽性となった培養液のみを対象として菌分離を実施すれば良いことから、EHEC分離の簡便性、確実性がともに飛躍的に向上するとされている⁹⁾。しかしながら、先に我々が示したように牛肉中には大腸菌以外の各種の細菌が混在していることから、BGLB-PCR法の培養条件下においては、これらの細菌が大腸菌の発育を妨害する可能性が否定できないと考えられた。このため、我々は先に得られた知見を基に、BGLB培地の代わりにEC培地を使用して、培養を44.5°Cで実施するEC-PCR法を考案した(図3)。図4に示すように100mlあたりEDL-931株を1CFU、7CFU、75CFU、710CFU、7500CFUをそれぞれ接種した米国産牛肉の50%乳剤を検体として、EC-PCR法のEHEC検出感度について検討したところ、全ての検体において、いずれかの発酵管に菌の発育及びガスの産生が認められ、これらの培養液から図4に示すようにVT遺伝子が検出されることが確認された。これらの結果からEC-PCR法のEHEC検出感度が高いことが示され、また、本法がBGLB-PCR法の特徴であるEHEC検出の簡便性、確実性を併せ持つことから、本法は牛肉中のEHEC検索法として有用であるものと考えられた。そこで、このEC-PCR法を利用して秋田市内で販売されていた輸入牛肉を対象としたEHECの汚染実態調査を実施した。

図4 EC-PCR法のEHEC検出感度



2. 秋田市内で購入した輸入牛肉のEHEC汚染実態調査

表2に秋田市内のスーパーから購入した輸入牛肉合計110件についての大腸菌、及びEHEC検出状況を示す。輸入牛肉としては豪州産、及び米国産の2種類が入手可

能であった。これらの輸入牛肉110件中57件から大腸菌が検出された。大腸菌検出率を店舗別にみると、F店の米国産牛肉は16.7%、S店の豪州産牛肉は50.0%、N店の米国産牛肉は54.1%、T店の豪州産牛肉は100%であり、大腸菌検出率が店舗により相当異なることが認めら

表2 市販輸入牛肉からの大腸菌、及びEHEC検出状況

販売店名	原産国	調査数	大腸菌検出率	EHEC検出数
F店	米国	42	16.7%	0
N店	米国	37	54.1%	0
S店	豪州	8	50.0%	0
T店	豪州	23	100.0%	1
合計		110	57.0%	1

れ、T店の豪州産牛肉の大腸菌汚染は特に顕著であった。

図5にEC-PCR法によるこれらの牛肉を対象としたEHEC検索結果の一部を示す。レーン7の検体5(T店の豪州産牛肉)にVT-2遺伝子の増幅断片が認められたため、当該培養液からの大腸菌分離を実施して18菌株を得た。これらの菌株についてPCR法によりVT-2遺伝子の検索をしたところ、図6に示すようにレーン5, 6, 7, 18の株がVT-2遺伝子を保有していた。

図5 EC-PCR法によるEHEC陽性検体検索例

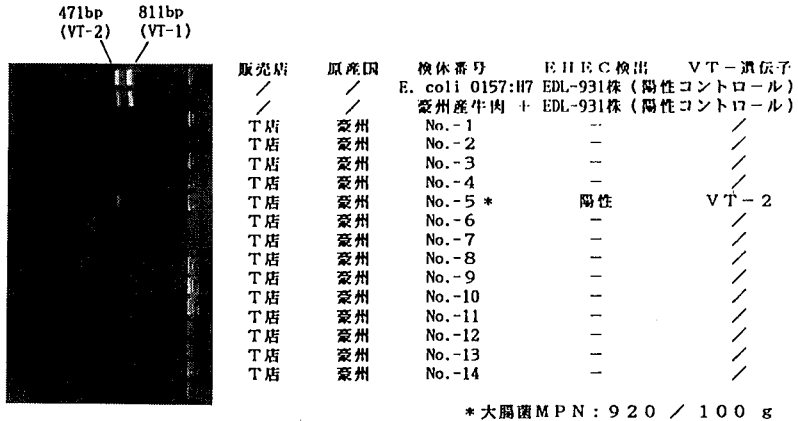
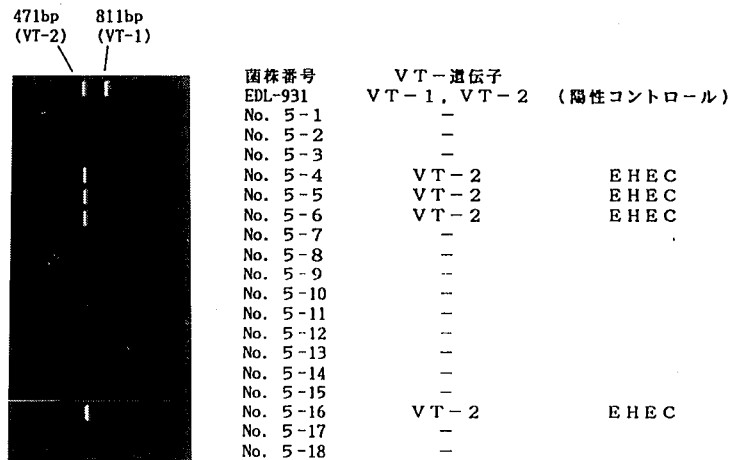


図6 PCR法による分離菌株のVT遺伝子検索結果



3. 分離したVT-2遺伝子保有株の性状

豪州産牛肉から分離したVT-2遺伝子保有株4株の生化学的性状、薬剤感受性を表3、表4にそれぞれ示す。これらの4株は、全て定型的な大腸菌の生化学的性状を示したことから、これらをEHECと同定した。これら

4株とも血清型がOUT:H2であり、薬剤感受性においても共通の性状が認められたことから、これらの4株は1株のVT-2遺伝子を保有するEHECから派生したものと考えた。なお、今回分離したEHECは、E. coli O157:H7とは異なり、ソルビトールを1日以内

表3 分離VT-2 遺伝子保有株の生化学的性状、血清型

Tests	菌株番号				Tests	菌株番号			
	5-4	5-5	5-6	5-16		5-4	5-5	5-6	5-16
SI(β/S)	A/A(-)	A/A(-)	A/A(-)	A/A(-)	NoS	11	11	11	11
Motility	+	+	+	+	Catalase	11	11	11	11
Oxidase	+	+	+	+	Glucose	11	11	11	11
VP	+	+	+	+	Gas	11	11	11	11
MR	+	+	+	+	Acid	11	11	11	11
Citrate	+	+	+	+	Urease	12	12	12	12
Christensen	13	13	13	13	Lactose	11	11	11	11
Simon's	-7	-7	-7	-7	Mannitol	11	11	11	11
Acetate	11	11	11	11	Sucrose	11	11	11	11
Malonate	-2	-2	-2	-2	Salicine	17	15	14	16
Indole	11	11	11	11	Dulcitol	11	11	11	11
Urease	4	4	4	4	Inositol	14	14	14	14
IPA	1	1	1	1	Adonitol	14	14	14	14
PPA	1	1	1	1	Tartronic	11	11	11	11
Moller					Sorbitol	11	11	11	11
Lysine	11	11	11	11	Arabinose	11	11	11	11
Arginine	4	4	4	4	Rhamnose	11	11	11	11
Ornithine	11	11	11	11	Xylose	11	11	11	11
ONPG	11	11	11	11	Trehalose	11	11	11	11
Tartrate	11	11	11	11	Cellobiose	14	14	14	14
O/F glucose	F	F	F	F	Meliose	11	11	11	11
Sero type	OUT:102	OUT:102	OUT:102	OUT:102					

注) 1. 1. に続く数値は検疫期間

表4 分離VT-2 遺伝子保有株の薬剤感受性

薬剤名	菌株番号			
	5-4	5-5	5-6	5-16
Gentamicin	S	S	S	S
Streptomycin	S	S	S	S
Tetracyclin	S	S	S	S
Ampicilline	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	S	S	S
Kanamycin	S	S	S	S
Cephalocin	S	S	S	S
Nalidixic acid	S	S	S	S
Sulphamethoxazole	S	S	S	S
Trimethoprim	S	S	S	S

注) S : 感受性

に分解するという性状を示した。また、市販のO型別用血清キットを使用しては型別が不能であった。

以上述べたように、我々は牛肉中のEHECを検索する方法としてEC-PCR法を考案し、本法のEHEC検出感度が高いこと、操作が簡便且つEHECの分離が確実であることを示した。なお、我々は病院から依頼されるEHEC感染が疑われる患者の直腸スワブの検査を本法に切り替え、ルーチン化した。加えて、下痢症患者の直腸スワブに対する病原性大腸菌全般のルーチン検査も本法の原理を踏襲した方法に切り替え、実際にEPEC(AEEC)の検出、分離に成功した。今回分離したEHECは、市販の血清キットによってはO型別が不能であり、且つ、定型的な大腸菌の生化学的性状を保有しているため、ソルビトールマッコンキー培地又は、血清型を指標とした従来のEHEC検索法では検出することが不可能と考えられた。我々が過去に病院から検査を依頼されたEHEC感染疑い患者の検査のなかには、血便性下痢を起こし、EHEC感染が強く疑われながらも、ソルビトールマッコンキー培地を使用した検査でEHECが検出されなかった例がいくつかあった。それらの患

者は今回分離したEHECのような性状のEHECに感染していた可能性も推察される。

一方、我々は輸入牛肉がEHECにより汚染されている事実を秋田県内において初めて確認した。伊予保健所の田中たちも松山市内、伊予市内で市販されていた輸入牛肉がVTECにより汚染されていたことを明らかにしている⁷⁾。これらのことは、EHECが我々の周辺に侵淫していることを示しており、EHEC感染の発生は予断を許さぬ状況にあるものと考えられる。県民が喫食する牛肉としては、輸入品のみならず、国産、並びに県内産牛肉もその対象になると考えられる。近年、国内で飼育されている、牛を含めた家畜からVTECが検出されたという報告が散見されるようになってきた⁹⁾。しかしながら、秋田県内においては牛などの家畜、及びそれらから生産された食肉についてのEHEC汚染実態は調査されたことがなく、その実態は不明である。EHEC感染者の発生予防対策を構築する上において、EHECの感染ルートに関する知見を集積することが極めて重要と考えられるので今後、国産、県内産牛肉のEHEC汚染実態を調査すると共に、県内で飼育されている牛などを対象としたEHEC保菌調査なども併せて実施して行く必要があると考えられた。

IV 文献

- 1) A. D. O'Brien et. al., Escherichia coli O157 : H 7 Strains Associated with hemorrhagic Colitis in the United States Produce a Shigella Dysenteriae (shiga) like Cytotoxin., Lancet 1983 ; i : 702
- 2) 伊藤武, 他. 新しく認識された Verocytotoxin 産生大腸菌による感染と本菌の病原性に関する研究の現況, モダンメディア, 1988 ; 34 : 12-23
- 3) M. A. Karmali et. al., Sporadic Cases of Haemolytic-Uremic-Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing Escherichia coli in stools., Lancet 1983 ; i : 619-620
- 4) 城宏輔, 埼玉県某幼稚園で流行した E. coli O157 : H 7 による出血性大腸炎, 臨床と微生物, 1991 ; 18 : 457-46
- 5) 八柳潤, 他. 平成3年度に秋田県で分離された腸管出血性大腸菌について秋田県衛生科学研究所報, 1992 ; 36 : 43-47
- 6) M. A. Karmali, Infection by Verocytotoxin-producing Escherichia coli., Clin. Microbiol. Rev. 1989 ; 2 : 15-47
- 7) M. A. Montenegro et. al., Detection and Char-

acterization of Fecal Verotoxin-producing *Escherichia coli* from Healthy Cattle., *J. Clin. Microbiol.* 1990 ; 28 : 1427-1421

8) 田中博, 他. Vero 毒素産生性大腸菌 (VTEC) の輸入食肉からの分離, *感染症学雑誌*, 1991 ; 65 : 175-180

9) 多田博, 他. PCR法を用いた肥育牛からの Vero 毒素産生性大腸菌の検出, *感染症学雑誌*, 1992 ; 66 : 1383-1389

血球凝集能を欠く麻疹ウイルスHA遺伝子のクローニング

斎藤 博之 佐藤 宏康*¹ 原田誠三郎 安倍真理子*²
須藤 恒久 天野 憲一*³ 森田 盛大

1988年に本県で分離された麻疹ウイルス変異株は、これまで麻疹ウイルスの特徴とされてきたサル血球凝集能が欠落しており、さらに細胞への感染性やHA蛋白の分子量において従来型とは異なっていた。今回はこれらの変異を分子レベルで解析し、今後の流行予測の解析に役立てるために変異株HA遺伝子の全構造を決定したので報告する。

キーワード：麻疹ウイルス, cDNA, 糖鎖付加部位, 2次構造

I はじめに

1987年から1988年にかけて本県で流行した麻疹は患者4000名, 死者10名を数えた。これまで麻疹ウイルスは変異を起こさないものと考えられてきたが、この流行が極めて大規模であったことから、われわれは麻疹ウイルスの変異の可能性に着目し、流行時の分離株について性状分析を行った。その結果、分離された麻疹ウイルスは、すでに報告¹⁾したごとく、血球凝集能を欠き、また、サル腎細胞に感染しないなど、従来の分離株とは異なった性状を有していた。本報では今後の麻疹の流行性を検討する一環として、これらの性状の違いを分子レベルで解析し、変異株HA遺伝子の全構造を決定したので報告する。

II 研究方法

1. ウイルス株

1988年に本県で分離された麻疹ウイルスAK-1¹⁾株を使用した。培養にはマーマセットB細胞由来のB95a細胞²⁾を使用した。

2. クローニング

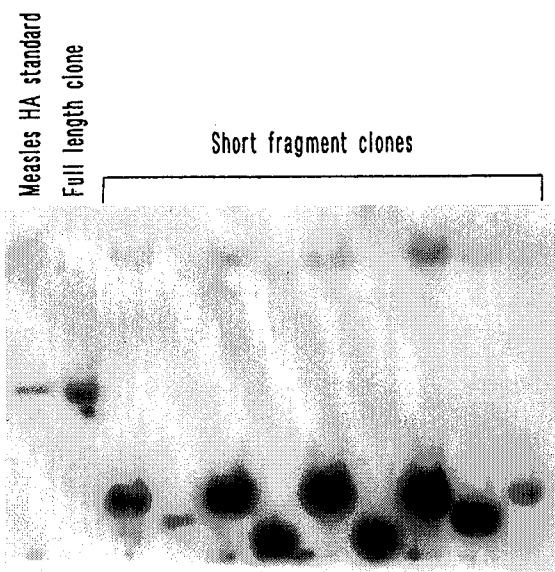
分離株を感染させたB95a細胞から、ホットフェノール法³⁾によりRNAを抽出し、さらにOligo-(dT)カラムクロマトグラフィー⁴⁾によりmRNAを精製した。このmRNAを鋳型とし、Gubler & Hoffmanの方法⁵⁾によりcDNAを合成した。得られたcDNAはEcoRIリンカーを介してλgt10のアームにつなぎ、in vitro Packagingによって100万の独立したクローンを含むライブラリーを作製した。

3. スクリーニング

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)由来の麻疹ウイルスHA遺伝子をランダムプライミング法⁶⁾により蛍光標識

7-⁸⁾し、プローブとした。ブランクハイブリダイゼーションにより変異株HA遺伝子のcDNAクローンを48個得た。さらにこの中から、サザンブロットにより全長約2

図1 AK-1株HA遺伝子の完全長クローンの選択



kbのcDNA断片を含むクローンを選択した。

4. シークエンス

インサートcDNAをλgt10から切り離し、PUC18ベクターのEcoRI siteにサブクローニングした後、蛍光自動シーケンサー(ABI 373A型)を用いたジデオキシ法により塩基配列を決定した。

III 研究結果

クローニングされたDNA断片は1947bp (POLY

*¹ 現 大館保健所

*² 現 秋田保健所

*³ 秋田大学医学部実験実習機器センター

図2 AK-1株とEdmonston株のHA遺伝子の比較

AK-1 1 AGCGTCCAG ATCATTCCCA ATGCTCACC AACAGACGC AATAATGCC TTCTACAAG ACAAGCCCA TCGTAGGGA AGTAGAGTATG TTATTAACAG 100
 Edmonston 1G.....C.....T.....G.....C.....G.....T..... 100

101 AGAACATCTT ATGATTGATA GACCTTATGT TTCTGCTGCT GTTCTATTCG TCATCTTTCT CAGCTTGATC GGTTCTAGC CCATTCCAGC CATTAGATCT 200
 101G..T..... 200

201 CATGTCTCAG CCATCTACAG CGGAGAGAC CATAGAAGCC TCAGCACCAA TCTAGATGTA ACTACTGTA TCGAGCATCA GGTCAAGCA GTCTCTGAC 300
 201G.....T.....A..... 300

301 CAGCTGTGCA CACTATTGGT GATGAAGTGC GGTTCAGCAC ACTTCAGACA TTCACTGACC TAGTGAAAT CATCTCTGAC AAAATAAAT TCGTAATCC 400
 301A....C..... 400

401 CGATAGGGAG TAGCACTTCA GAGATCTCAC TTGCTGTATC AACCCGGCAG ACAGAAATCA ATTGGATTAT CATCAATACT GTCCAGATGT GCGTCTGCA 500
 401G.....A.....AA..... 500

501 CAACTCATCA ATCGATTGGT GACTTCAACT TACTTCCAGG CGAGGGCAC CAATCAGTTC CTAGCTGTCT CAAGGGCAA CTGCTCAGG CCGACTACA 600
 501 ..G.....C.....A.....AA..... 600

601 TCAGAGGTCA ATTCTCAAC ATGTCCGTGT CCGTGTGCA CTGTATTTA AGTCCAGGT ACAATGTATC GTCTATAGTC ACTATGACAT CCGACCGAAT 700
 601G.....A..... 700

701 CTACGGCCCA ACTTACTAG TCGAAAAGCC TAATCTCAGC AGTAAAAGCT CAGAGTTGTC ACACTGAGC ATCCAGCCAG TGTTTGAAT AGCGCTTATC 800
 701T.....C.....A..... 800

801 AGAAATCCGC GTTTGGGGCC TCGGCTGTC CATATGACAA ACTATTTTCA CGAACCACT AGTAATGAT TCAGCAACTG CATGCTGCT TTGGGZAGC 900
 801C..... 900

901 TTAATTTGCG AGCCCTGTCT CACAGCGAAG ATTCTATCAC AATCCCTAT CAGCGCTCAG CGAAAGCTGT CAGCTTCAGC CTGCTCAGC TAGCTGTG 1000
 901 ..C....C.....T.....C.....A..... 1000

1001 GAAATCCCA ACCGATGTC GATCCCGGT GCGGCTATCA ACCGATGTC CAGTCAATG TAGCGTTAC CTCTCATCTC ACAGAGGTGT TATCGCTGAC 1100
 1001A.....T.....C.....T..... 1100

1101 AATCAGGCA AATGCCGTGT CCGCACACA CCGCACAGTG ACAAGTTGCG AATCGAGACA TCGTTCAGC AGCGCTGAA CCGTAAACAC CAACGACTCT 1200
 1101A..... 1200

1201 CGAGAAATCC CGAGTGGCCA CCATTGAAGG ATACAGAGAT TCGTTCATAC GCGGCTGTGT CTGTAAATCT GAGTCTGACA GTGCACTTA AAATCAAAAT 1300
 1201G.....C..... 1300

1301 TCGTTCAGCA TTGGGGCCAT TGATCACACA CCGTTCAGCC ATCGAGCTAT ACAAAACCA CCAACAGCAT GTTATTGCG TCATATCCG CGCAATGAG 1400
 1301G.....T..... 1400

1401 AACTAGCTGT TAGCTGTAAAT CAACAGATG GAGTGGATAC CGAGATTCAA GGTTAGTCC AACCTTCCA CTGTTCGAAT CAAGGAACA CGCCAGACT 1500
 1401A.....T.....C..... 1500

1501 CCGATGGGCC AACATAGCTA CCTCGGGAGG TCGATGGTGA TGTCAACTC AGTTCGAATC TGTAAATCT ACCTGTAGC GATCTGCAT ATGTTTGGC 1600
 1501A..... 1600

1601 ACCTAGCAT ACTTCAGCG TTGAACATCG TTGCTTTAT TATGTTTACA GCGCAAGCCG CTCATTTCCT TACTTTATC CTTTAAQTY CGCTATAAG 1700
 1601C..... 1700

1701 CGGTTCCCAA TCGAATTACA AGTGAATCC TTGACATGCG ACAAAAACCT CTGCTCCGT CACTTCTGTG TCGTTCCGA CTCAGATCT GTGGACATA 1800
 1701C..... 1800

1801 TCAGTCACTC TCGGATGGTG GGCATGGGAG TCACTCCAC AGTCACTCGC GAAGATGCAA CGAATGGCAG ATAGGCGTCC CAGTGAAGCG ATCAGATGAT 1900
 1801A.....C..... 1900

1901 GTCACCCAGA CATCAGGCAT ACCCACTAGT GTGAATAGA CATCAGAATT AAG ---poly(A)
 1901T.....A.....T..... 1900

Nucleotide sequence comparison of HA genes from the AK-1 and Edmonston strains (12). Solid dots represent nucleotide identity, and underlined codons ATG and TAG are translational start and stop signals respectively.

表1 AK-1株のHA蛋白におけるアミノ酸置換

Residue No.	Amino acid	
	Edmonston	AK-1
69	Ile	Asn
174	Thr	Ala
176	Thr	Ala
211	Gly	Ser
243	Arg	Gly
252	Tyr	His
276	Leu	Phe
284	Leu	Phe
296	Leu	Phe
302	Gly	Arg
334	Gln	Arg
389	Ile	Asn
416	Asp	Asn(-Leu-Ser)
446	Ser	Thr
481	Tyr	Asn
484	Asn	Thr
575	Gln	Lys
599	Glu	Val

A部分を除く)で、21~23番塩基の開始コドンATGから1872~1874番塩基の終止コドンTAGに至るまでの617個のアミノ酸からなるオープンリーディングフレームを含んでいた。これとEdmonston株⁹⁾との塩基配列の比較では、60個の塩基置換が認められ、そのホモロジーは97%であった。

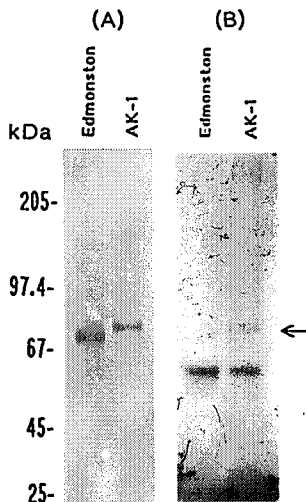
アミノ酸レベルでは18個のアミノ酸が置換して(図3および表1)、そのホモロジーは97%であった。特に注目すべきことは、416番目のアミノ酸がアスパラギン酸からアスパラギンに換わっており、それによってAsn-Leu-Serからなる糖鎖付加部位が新たに生じていたことであった(表1)。Edmonston株のHA蛋白では5カ所に糖鎖が付加していると報告⁹⁾されているが、AK-1株では6カ所に増えていると考えられた(図3、囲み線部分)。このことを確認するためにEdmonston株とAK-1株のHA蛋白をSDS-PAGE¹⁰⁾で分離した後、PAS染色¹¹⁾した結果を図4に示した。これによると、ウエスタンブロット¹¹⁾では同じ量のHA蛋白(図

図3 AK-1株とEdmonston株のHA蛋白アミノ酸配列の比較

Edmonston	1	MSPQRDRINA	FYKDNPHPKG	SRIVINREHL	WIDRPYLLA	VLVYMFSLI	GLLAAGIRL	HRAAIYTAEI	HKSLSTNLDV	INSIEHQVKD	YLTPLFKIIG	100
AK-1	1	100
Chicago-1	1H.....	100
Edmonston	101	DEVGLRTPQR	FTDLVKFISD	KIKFLNPDRE	YDFRDLTNCI	NPPERIKLDY	DQYCAOVAE	ELMNALVNST	LLETRITNQF	LAVSKGNCSSG	PITIRGQFSN	200
AK-1	101	200
Chicago-1	101	200
Edmonston	201	MSLSLLDLYL	GRGYNVSSIV	TMTSQGNYGG	TYLVEKPNLS	SKRSELSQLS	MYRVFEVGVV	RNPGLGAPVF	HMTNYLEQPV	SNDLSNCMVA	LGELKLAALC	300
AK-1	201	300
Chicago-1	201	300
Edmonston	301	HGEDSITIPY	QSGSGKVSFQ	LVXLGVWKSP	TDHQSVPVLS	TDDPYIDRLY	LSSHRGVVAD	NQAKWAVPTT	RTDDKLRMET	CFQQACKGKI	QALCENPEVA	400
AK-1	301	400
Chicago-1	301R.....	400
Edmonston	401	PLKDNRIPSY	GVLSVDLSLT	VELKIKIASG	FGPLITHGSG	MDLYKSNHNN	VYVLTIPPVK	NLALGVINTL	EWIPRFKVPV	YLFNVPVPIKA	GEDCHAPTYL	500
AK-1	401	500
Chicago-1	401	500
Edmonston	501	PAEYDGDVYL	SSNLVILPGQ	DLQVYLATYD	TSRVEHAVVY	YVYSPRSFVS	YFYPFRLPIK	GVPIELQYEC	FTYDQKLWCR	HFCVLAOSSE	GGHITHSGWE	600
AK-1	501	600
Chicago-1	501G.....	600
Edmonston	601	GMGVSCTVTR	EDGTNRR			617						
AK-1	601			617						
Chicago-1	601			617						

Comparison of the deduced amino acid sequence of HA proteins of the AK-1, Edmonston (9) and Chicago-1 strains (12). Solid dots represent the amino acids identical to those of the Edmonston strain. Arrows indicate identical substitutions between the AK-1 and Chicago-1 strains when compared with the Edmonston strain. The major hydrophobic regions are underlined. The potential N-linked glycosylation sites are boxed.

図4 麻疹HA蛋白のPAS染色



(A) Samples containing 20 μ g protein prepared by ultracentrifugation from BSA cell cultures were western blotted using an antiserum monospecific to HA protein of measles virus. (B) Samples of 200 μ g were separated on SDS-PAGE and their carbohydrate moiety was detected by PAS staining. Arrow indicates the HA protein band.

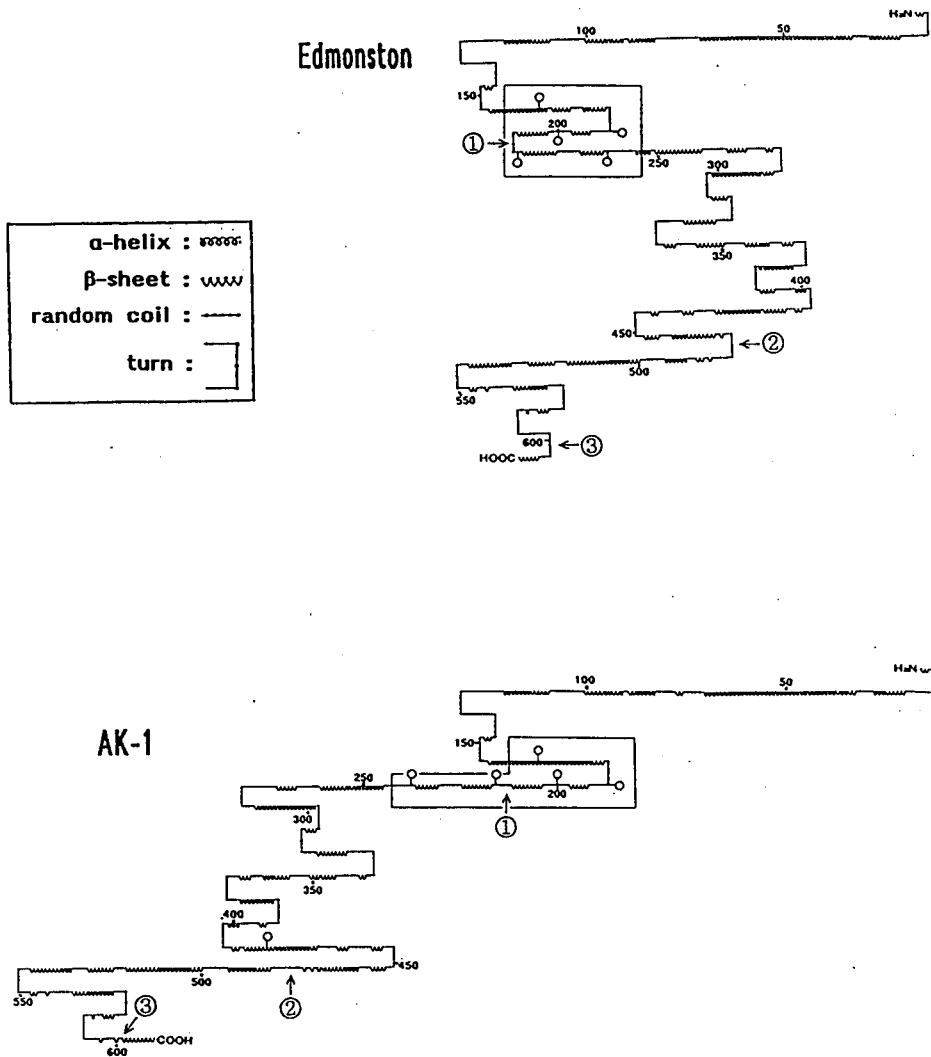
4 A) であるにもかかわらず、PAS染色ではAK-1株のHA蛋白が濃く染まった(図4 B)ことから、糖含量の増加が示唆された。また、N末端側の疎水性領域には変異は認められなかった(図3, 下線部分)。1989年に米国で分離されたChicago-1株¹²⁾とのアミノ酸配列の比較では、上記18カ所の変異のうち糖鎖付加部位を含む13カ所までが一致していた(図3, 矢印部分)。

アミノ酸配列から Garnier の方法¹³⁾に従って計算したHA蛋白の2次構造を図5に示した。これによると、①~③で示した部分の折れ曲がり構造がAK-1株においては消失していることがわかった。また、このうち①の部分の変異は、168~240番アミノ酸残基の糖鎖が密集している領域(箱線で囲って示す)に位置していた。アミノ酸配列から Kyte の方法¹⁴⁾で予測したHA蛋白の疎水性については、図6の矢印で示したごとく、3カ所にわずかな違いが認められた。同様に計算した等電点はEdmonston株の6.59に対してAK-1株では7.42と、より塩基性になっていた。

IV 考察

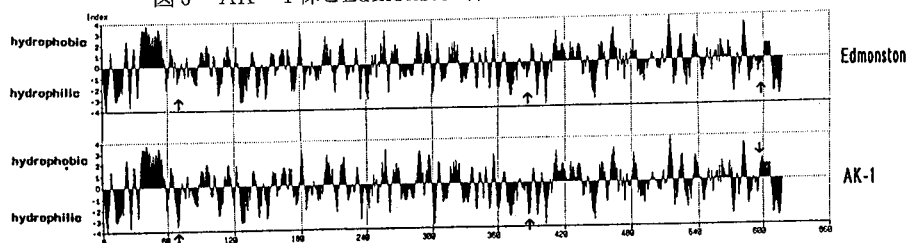
われわれはこれまで麻疹ウイルスの変異について検討してきたが、今回は血球凝集のみならず、細胞への感染に重要な役割を果たすHA蛋白について遺伝子の構造を

図5 AK-1株とEdmonston株のHA蛋白2次構造の比較



The secondary structures were calculated using a published computer algorithm (13) and plotted graphically over the entire amino acid sequence. Three changes in the reverse turn are indicated as ① to ③. Open circles indicate potential N-linked glycosylation sites. The closely glycosylated region is boxed.

図6 AK-1株とEdmonston株のHA蛋白の疎水性の比較



解析した。AK-1株とEdmonston株との比較では塩基配列、アミノ酸配列ともにホモロジー97%と高い相同性を示した。これは一見、大した違いがないように思えるが、細かく検討するといくつかの重要な変異が含まれていることがわかった。第一に、416番目のアミノ酸がアスパラギン酸からアスパラギンに換わったことによる新たな糖鎖付加部位の出現がある。糖鎖は糖蛋白の生物学的活性に重大な影響を及ぼす因子の1つであるので、この変異が麻疹ウイルス変異株の性状に寄与している可能性は高いと考えられる。また、18カ所のアミノ酸置換のうち13カ所が米国で同時期に分離されたChicago-1株と一致していることは、このような変異が世界的規模で起こっていることを示唆している。

アミノ酸配列から予測されるHA蛋白の2次構造を比較すると、AK-1株では3カ所において折れ曲がり構造の消失が認められた。このうちの一つは、168~240番アミノ酸残基の糖鎖密集領域に位置していた。最近の合成ペプチドを使った研究では185~195番アミノ酸残基の領域が麻疹ウイルスの中和抗原部位となっていることが報告¹⁵⁾されている。上記の2次構造の変異はこの領域の近傍にあり、今後の流行を予測する上で重要と考えられた。

今後は、今回得られた遺伝子配列を基に従来株と変異株の迅速鑑別法(PCR法の応用)を開発し、診断に役立てるとともに、年代別、地域別の変異の進行状況を比較検討する予定である。

B95a細胞を分与いただいた国立予防衛生研究所ウイルス製剤部の小船富美夫先生、SSPEのHA遺伝子を分与いただいた筑波医学実験用霊長類センターの吉川泰宏先生に深謝いたします。

V 文 献

- 1) Saito H, et al. Isolation and characterization of the measles virus strains with low hemagglutination activity. *Intervirology* 1992 ; 33 : 57-60.
- 2) Kobune F, Sakata H, Sugiura A. Marmoset lymphoblastoid cells as a sensitive host for isolation of measles virus. *J Virol* 1989 ; 64 : 700-705.
- 3) MacDonald R J, et al. Isolation of RNA using guanidinium salt. In : *Methods in enzymology*, 1987 ; 152 : ed. J. N. Abelson, M. I. Simon. London : Academic Press, 219-226.
- 4) Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Selection of poly(A)⁺ RNA. In : *Molecular Cloning*, 2nd edition, 1989 ; ed. J. Sambrook, E. F. Fritsch T. Maniatis. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 7.26.
- 5) Gubler U, Hoffman B J. A simple and very efficient method for generating cDNA libraries. *Gene* 1983 ; 25 : 263-269.
- 6) Feinberg A P, Vogelstein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem* 1983 ; 132 : 6-13.
- 7) Schaap A P, Akhavan H, Romado L J. Chemiluminescent substrates for alkaline phosphatase : Application to ultrasensitive enzyme-linked immunoassay and DNA probe. *Clin Chem* 1989 ; 35 : 1863-1864.
- 8) Pollard - Knight D, et al. Nonradioactive DNA detection on southern blots by enzymatically triggered chemiluminescence. *Anal Biochem* 1990 ; 185 : 353-358.
- 9) Alkhatib G, Briedis D J. The predicted primary structure of the measles virus hemagglutinin. *Virology* 1986 ; 650 : 479-490.
- 10) Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970 ; 227 : 680-685.
- 11) Glossmann H, Neville Jr D M. Glycoprotein of cell surfaces. *J Biol Chem* 1971 ; 246 : 6339-6346.12)
- 12) Rota J S, et al. Genetic variability of the measles virus hemagglutinin. *Virology* 192 ; 188 : 135-142.
- 13) Garnier J, Osguthorpe D J, Robson B. Analysis of the accuracy and implications of simple methods for predicting the secondary structure of globular proteins. *J Mol Biol* 1978 ; 120 : 97-120.
- 14) Kyte J, Doolittle R F. A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *J Mol Biol* 1982 ; 157 : 105-132.
- 15) Mäkelä M J, Lund G A, Salmi A A. Antigenicity of the measles virus hemagglutinin studied by using synthetic peptides. *J Gen Virol* 1989 ; 70 : 603-614 1989.

秋田県内の飲料水の水質について

松尾 無子 池田 清一*

秋田県における良質な飲料原水の確保に資する目的で、県内全域の飲料原水の成分項目値について検討、考察を行った。前報¹⁾と同様、飲料成分項目値と水の形態および環境の両因子から、コンピュータで集計・分類・解析することにより、水質の地域特性を明らかにした。その結果、検討した項目は、二つの項目群（酸化的雰囲気因子に依存する項目群と還元的气氛因子に依存する項目群）に分類することができた。この二つの項目群の変化の傾向は、その地域における水質特性を意味づけ、これより県内各地域の水質特性を容易に示すことができた。また、県全域のマンガン濃度分布図を作成した。

キーワード：水質特性 地域特性 形態因子 環境因子 マンガン濃度分布図

I はじめに

近年、生活の近代化や産業の高度技術化に伴い、飲料原水にも多種多様な化学物質が含まれるようになり、種々の新しい汚染問題が惹き起こされている。この様な状況に対応して、各省庁で水質基準の見直し等が平成5年以降相次いで施行されつつある。したがって、著者らは、県内の良質な飲料水資源の確保に資することを目的とし、秋田県全域にわたる飲料原水の成分分析値に形態および環境因子を考慮した解析を行って、県内飲料原水全体の水質特性について総合的に検討した。また、前報¹⁾で検討した横手盆地地域における高濃度マンガン現象を県全体に拡大し、県全域のマンガン濃度分布図も作成した。

II 方法

1. 調査地域

調査地域は秋田県全市町村、69地域（9市、50町、10村）を対象とした。

2. 調査方法

(1) 解析に用いた分析値は、昭和47～57年度の間に当所で分析した飲料原水の値である。成分分析項目としては、マンガン、鉄、銅、亜鉛、鉛、硬度、蒸発残留物、塩化物イオン、色度、濁度、過マンガン酸カリウム消費量およびpHを選んだ。カドミウム、水銀、クロム(IV)、フッ素イオンおよびシアン化物濃度等は極めて低かったので調査項目から除外した。分析は上水試験法に準じた。(2) 取水地の地形、表層地質および土壌は、国土庁土地分類基本調査(秋田県 5万分の1)の各地図を使用し

た。地図は、大館³⁾、鷹巣⁴⁾、米内沢⁵⁾、能代⁶⁾、森岳・羽後浜田⁷⁾、森吉山⁸⁾、秋田⁹⁾、五城目¹⁰⁾、男鹿・船川¹¹⁾、羽後・和田¹²⁾、本荘¹³⁾、矢島¹⁴⁾、角館・篤宿¹⁵⁾、田沢湖¹⁶⁾、刈和野¹⁷⁾、六郷¹⁸⁾、大曲¹⁹⁾、横手²⁰⁾、浅舞²¹⁾、稲庭・焼石岳²²⁾、湯沢²³⁾の各地形図、表層地質図および土壌図を用いた。取水地の位置は県環境衛生課作成の秋田県水道地図により確認した。

(3) 解析機器は、富士通FACOM M730形コンピュータおよび富士通グラフィック6A(図形端末処理装置)である。統計処理は、FACOM OS/ESP DSS/ANALYST統計パッケージを使用し、MANAGERの標準メッシュ法・第三次地域区画を用いた。各メッシュ(地域コード)には取水地の飲料水成分値のほか、原水の形態(表流水、伏流水、湧水、浅井戸および深井戸)および環境因子(地形、表層地質および土壌)の種類をそれぞれ地図から読み取り入力した。

3. 調査内容

(1) 原水の形態と飲料水成分項目

原水を表流水、伏流水、湧水、浅井戸および深井戸に分類し、飲料水成分項目との関連を調べた。

(2) 環境因子と飲料水成分項目

環境因子として地形、表層地質および土壌を選び、これらの因子と飲料水成分項目との関係を検討した。

(3) 秋田県全域のマンガン濃度分布図作成

秋田県内の飲料原水のマンガン濃度の検出状況を把握するため、マンガン濃度分布図を作成した。

* 現 大館保健所

表1 A 鹿角・大館地域の原水の形態と飲料水成分項目

(単位 mg / ℓ)

	M n	F e	C u	Z n	P b	硬 度	蒸発残留物	塩化物イオン	色 度	濁 度	KMnO ₄ 消費量	pH	n
表流水	0.07±0.15	0.38±0.79	0.09±0.26	0.18±0.47	0.01±0.01	44.7±38.2	143.2 ± 248.4	13.0±5.8	5.0 ± 5.7	5.0 ± 12.7	4.4 ± 2.4	6.6 ± 0.5	70
伏流水	0.01±0.00	0.09±0.16	0.01±0.00	0.09±0.15	0.01±0.00	58.7±35.8	116.7 ± 51.8	21.0±8.9	2.2 ± 2.2	1.5 ± 1.6	2.8 ± 1.6	6.5 ± 0.4	51
湧 水	0.01±0.02	0.04±0.06	0.01±0.03	0.08±0.30	0.01±0.01	30.7±24.5	94.3 ± 52.8	12.7±5.5	1.8 ± 2.3	1.3 ± 1.3	2.9 ± 1.7	6.7 ± 0.4	173
浅井戸	0.03±0.05	0.09±0.23	0.01±0.02	0.04±0.05	0.01±0.00	71.0±35.2	205.0 ± 82.5	23.7±10.8	1.3 ± 1.1	1.3 ± 1.1	2.0 ± 1.2	6.2 ± 0.3	13

表2 A 鷹巣・阿仁地域の原水の形態と飲料水成分項目

(単位 mg / ℓ)

	M n	F e	C u	Z n	P b	硬 度	蒸発残留物	塩化物イオン	色 度	濁 度	KMnO ₄ 消費量	pH	n
表流水	0.01±0.00	0.03±0.02	0.01±0.01	0.01±0.00	0.01±0.00	18.5 ± 7.7	63.3 ± 10.2	13.2 ± 3.1	5.6 ± 3.6	2.0 ± 1.5	3.8 ± 1.1	6.5 ± 0.4	7
伏流水	0.05±0.12	0.14±0.17	0.02±0.02	0.13±0.34	0.01±0.01	48.4±22.1	101.0 ± 33.0	19.0±4.7	2.7 ± 2.9	1.4 ± 1.2	3.5 ± 2.3	6.4 ± 0.3	27
湧 水	0.05±0.25	0.12 ± 0.3	0.04±0.24	0.06±0.16	0.01±0.01	39.3±34.2	115.0 ± 71.9	20.4±10.9	1.7 ± 1.9	1.5 ± 3.5	2.4 ± 2.2	5.4 ± 0.5	135
浅井戸	0.11±0.55	0.08±0.27	0.02±0.07	0.06±0.03	0.01±0.00	57.5±25.4	154.9 ± 65.7	26.8±8.4	1.9 ± 3.7	1.5 ± 2.3	2.3 ± 2.5	6.1 ± 0.3	100

表3 A 能代・山本地域の原水の形態と飲料水成分項目

(単位 mg / ℓ)

	M n	F e	C u	Z n	P b	硬 度	蒸発残留物	塩化物イオン	色 度	濁 度	KMnO ₄ 消費量	pH	n
表流水	0.05±0.08	0.49±1.67	0.02±0.05	0.04±0.03	0.01±0.01	46.5±22.7	122.2 ± 57.7	19.6 ± 6.3	5.1 ± 5.0	5.0 ± 9.9	4.8 ± 7.3	6.8 ± 0.3	116
伏流水	0.01±0.01	0.06±0.07	0.01±0.00	0.02±0.01	0.01±0.00	48.7±35.1	125.3 ± 50.2	23.7 ± 8.1	3.6 ± 3.3	1.3 ± 0.5	4.6 ± 3.5	6.4 ± 0.5	13
湧 水	0.02±0.19	0.05±0.08	0.01±0.03	0.03±0.03	0.01±0.01	37.0±24.1	117.7 ± 34.8	21.3 ± 6.4	2.1 ± 4.4	1.4 ± 2.0	2.7 ± 2.2	6.4 ± 0.4	185
浅井戸	0.13±0.25	0.30±1.28	0.02±0.09	0.14±0.39	0.01±0.00	75.6±30.1	228.2 ± 104.4	41.5±22.1	3.4 ± 3.2	3.0 ± 10.5	3.3 ± 4.5	6.4 ± 0.4	116
深井戸	0.10±0.58	0.08±0.21	0.02±0.03	0.04±0.12	0.01±0.01	65.7±26.5	183.7 ± 54.4	28.8±12.8	1.9 ± 3.9	1.5 ± 3.8	2.8 ± 2.3	6.3 ± 0.4	195

表4 A 秋田・男鹿地域の原水の形態と飲料水成分項目

(単位 mg / ℓ)

	M n	F e	C u	Z n	P b	硬 度	蒸発残留物	塩化物イオン	色 度	濁 度	KMnO ₄ 消費量	pH	n
表流水	0.03±0.05	0.14±0.18	0.01±0.01	0.03±0.04	0.01±0.00	40.8±23.4	113.3 ± 40.6	25.3±10.4	4.1 ± 5.0	1.9 ± 2.3	4.1 ± 2.2	6.9 ± 0.5	49
伏流水	0.01±0.02	0.04±0.04	0.01±0.01	0.05±0.11	0.01±0.00	48.5±21.7	115.0 ± 30.6	25.7 ± 9.9	3.0 ± 3.3	1.2 ± 0.8	3.6 ± 2.8	6.7 ± 0.5	33
湧 水	0.01±0.01	0.04±0.06	0.01±0.01	0.03±0.07	0.01±0.01	40.0±25.7	121.7 ± 53.1	22.6 ± 8.5	2.9 ± 3.9	1.1 ± 0.7	2.8 ± 2.3	6.7 ± 0.5	102
浅井戸	0.12±0.23	0.05±0.09	0.01±0.01	0.04±0.08	0.01±0.01	57.8±27.7	161.6 ± 86.7	25.9±12.5	3.1 ± 5.3	1.2 ± 0.7	3.0 ± 2.3	6.3 ± 0.5	132
深井戸	0.02±0.02	0.15±0.16	0.01±0.00	0.07±0.13	0.01±0.00	61.9±22.7	240.9 ± 101.4	33.9±14.8	2.1 ± 2.0	1.7 ± 1.5	2.4 ± 1.1	6.4 ± 0.7	7

表5 A 本荘・由利地域の原水の形態と飲料水成分項目

(単位 mg / ℓ)

	M n	F e	C u	Z n	P b	硬 度	蒸発残留物	塩化物イオン	色 度	濁 度	KMnO ₄ 消費量	pH	n
表流水	0.01±0.00	0.12±0.12	0.01±0.00	0.01±0.02	0.01±0.00	34.8±16.7	93.7 ± 41.9	17.3 ± 6.8	2.4 ± 2.2	1.1 ± 0.3	3.5 ± 1.4	5.7 ± 0.4	20
伏流水	0.02±0.05	0.12±0.12	0.01±0.01	0.02±0.03	0.01±0.01	39.6±21.4	140.8 ± 44.4	21.9 ± 7.3	2.5 ± 2.4	2.5 ± 2.9	4.3 ± 1.9	6.5 ± 0.4	24
湧 水	0.01±0.01	0.07±0.10	0.01±0.00	0.03±0.08	0.01±0.00	39.9±21.5	132.1 ± 75.4	25.6±23.9	1.5 ± 1.7	1.2 ± 0.7	2.9 ± 1.4	6.5 ± 0.5	189
浅井戸	0.02±0.02	0.11±0.09	0.01±0.00	0.04±0.04	0.01±0.00	65.3±52.2	234.0 ± 114.2	53.2±37.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	3.2 ± 1.9	5.8 ± 0.5	5

表6 A 神岡・西仙北地域の原水の形態と飲料水成分項目

(単位 mg / ℓ)

	M n	F e	C u	Z n	P b	硬 度	蒸発残留物	塩化物イオン	色 度	濁 度	KMnO ₄ 消費量	pH	n
表流水	0.01±0.00	0.10±0.12	0.01±0.00	0.02±0.02	0.01±0.00	16.1 ± 7.4	73.3 ± 22.5	17.4 ± 2.3	6.9 ± 5.9	1.9 ± 1.6	7.0 ± 5.3	6.5 ± 0.3	13
伏流水	0.05±0.14	0.10±0.10	0.01±0.00	0.04±0.13	0.01±0.00	26.5±11.9	110.6 ± 59.5	25.1±19.2	5.0 ± 7.1	1.9 ± 3.4	3.9 ± 3.5	5.2 ± 0.5	33
湧 水	0.02±0.07	0.07±0.17	0.01±0.01	0.03±0.06	0.01±0.01	20.0±12.5	76.1 ± 37.7	16.1 ± 7.5	2.3 ± 3.9	1.5 ± 2.0	3.1 ± 2.5	5.5 ± 0.5	140
浅井戸	0.08±0.33	0.15±0.43	0.01±0.01	0.05±0.17	0.01±0.00	40.4±15.8	125.6 ± 57.7	24.8±11.2	2.5 ± 4.9	2.3 ± 5.1	3.2 ± 4.2	6.1 ± 0.3	91

表7 A 横手盆地および周辺地域の原水の形態と飲料水成分項目

(単位 mg / ℓ)

	M n	F e	C u	Z n	P b	硬 度	蒸発残留物	塩化物イオン	色 度	濁 度	KMnO ₄ 消費量	pH	n
表流水	0.02±0.03	0.13±0.20	0.01±0.01	0.03±0.06	0.01±0.00	23.4±14.3	52.1 ± 30.4	14.5 ± 3.6	4.5 ± 5.1	2.4 ± 3.3	4.3 ± 2.5	6.3 ± 0.4	84
伏流水	0.03±0.06	0.12±0.13	0.01±0.01	0.04±0.04	0.01±0.01	31.4±18.7	91.9 ± 34.0	16.9 ± 5.5	3.3 ± 4.3	1.3 ± 1.0	2.6 ± 2.2	6.3 ± 0.4	27
湧 水	0.01±0.02	0.05±0.08	0.01±0.01	0.03±0.08	0.01±0.01	27.4±17.0	77.0 ± 34.4	13.0 ± 7.6	2.2 ± 4.3	1.3 ± 1.2	2.1 ± 1.9	6.9 ± 0.5	221
浅井戸	0.37±0.86	0.14±0.53	0.01±0.03	0.04±0.09	0.01±0.00	55.2±18.3	140.6 ± 43.3	23.2 ± 7.9	2.7 ± 6.3	1.6 ± 3.3	2.5 ± 1.6	6.2 ± 0.4	763
深井戸	0.17±0.41	0.19±0.41	0.01±0.02	0.05±0.13	0.01±0.01	53.5±38.2	169.4 ± 155.5	25.4±36.3	2.4 ± 9.9	2.7 ± 1.9	4.2 ± 10.5	6.5 ± 0.6	430

III 結果

秋田県7地域について飲料水成分分析値と飲料原水形態別(表流水, 伏流水, 湧水, 浅井戸, 深井戸)および環境因子別(地形, 表層地質, 土壌)との関係をそれぞれ表1~7(A表)および表1~7(B表)に示した。

地域分類は肥田²⁾の行った分類に準拠した。すなわち, 秋田県を東北・鹿角, 大館地域, 東北・鷹巣, 阿仁地域(内陸部), 東北・能代地域(沿岸部), 県中央部・秋田男鹿地域, 県中央部・本荘, 由利地域, 県南・横手盆地地域(内陸部)と周辺地域および神岡, 西仙北地域の7つに区分して検討した。

1. 原水の形態と飲料水成分項目(A表)

7地域の飲料水成分項目分析値をそれぞれ形態別に示したのが表1~7(A表)である。

(1) 色度, 濁度, 過マンガン酸カリウム消費量

色度, 濁度および過マンガン酸カリウム消費量は7地域のいづれにおいても表流水中で最も高い値を示し, 全般的に, 表流水>伏流水, 湧水>浅井戸, 深井戸の傾向すなわち, 地表水の酸化状態から地下水の還元状態を示した(以下, これを傾向Aとする)。この傾向Aは, 特に鹿角・大館地域(表1A)で最も特徴的であった。

(2) 硬度, 蒸発残留物, 塩化物イオン

硬度, 蒸発残留物および塩化物イオンの値は, 各地域の浅井戸に最も高く検出され, 湧水で低い傾向を示し, 全般的に傾向Aとは対照的に浅井戸, 深井戸>湧水, 伏流水>表流水の傾向を示した(以下, この傾向を, 傾向Bとする)。

(3) 金属濃度

金属濃度は全体的に絶対値が低く, 特に鉛はその濃度のほとんどが検出限界以下であったので検討の対象から外した。銅も鹿角・大館地域の表流水以外はどの形態でも極微量であった。マンガン濃度は, 前報¹⁾で横手盆地の浅・深井戸に高濃度で検出されたが, 鷹巣・阿仁, 能代・山本, 秋田・男鹿地域でも同様の傾向がみられた。

一方, 高地の鹿角・大館地域ではその傾向は認められず表流水で検出された。鉄は能代・山本地域の表流水や浅井戸で高く, 鷹巣・阿仁地域では, 伏流水や湧水に, また鹿角・大館地域では表流水に認められた。亜鉛は, 鹿角・大館地域では表流水, 鷹巣・阿仁地域では伏流水にそれぞれ最大値を示した。

以上のことから, 形態別にみた金属濃度は複雑ではあるが, 大館地域および横手盆地地域においては, それぞれ典型的な傾向Aおよび傾向Bを示し, 他の地域においては, 両者の中間的傾向を示した。

(4) pH

pHの値を支配する因子としては, 地質や土壌成分の

影響や空気や土壌中の二酸化炭素の溶解等, 地域環境に負うところが大きく複雑であるが, 全体的には, 比較的大気に触れやすく酸化的雰囲気にある表流水等のpHは高く, 浅井戸のpHは低い値を示した。この傾向は, 他の報告書²⁴⁾でもみられた。

2. 環境因子と飲料水成分項目(B表)

前述7地域における飲料水成分項目の分析値をそれぞれ環境別(地形, 表層地質および土壌)に示したのが表1~7(B表)である。

(1) 環境因子の分類

地形は地形分類図^{25)~29)}による凡例区分に従い, 山地・丘陵地, 台地・段丘地(砂礫段丘II~V), 低地(谷底平野, 扇状地, 砂堆地, 干拓地)の3つに大区分した。表層地質も同様に, 凡例区分により, 火山性岩石および深成岩, 固結堆積物(泥岩および砂岩・凝灰岩, 互層など), 半固結堆積物(礫岩・砂岩, 泥岩など), 未固結堆積物(段丘堆積物, 沖積低地堆積物, 扇状地堆積物, 十和田火山噴出物など)の4つに大区分した。また, 土壌も同様に凡例の大区分に従い, 褐色森林土壌, 黒ボク土壌, 黄色土壌, 低地土壌, グライ土壌, 黒泥土壌の6つに大分類した。

(2) 環境因子と飲料水項目

表1Bは鹿角・大館地域に対するものである。色度, 濁度, 過マンガン酸カリウム消費量および金属濃度(マンガン, 鉄, 銅, 亜鉛)の成分項目値は, 地形では山地・丘陵地で高く, 表層地質では火山性岩石, 土壌では褐色森林土壌がいづれも最大であり,

山地・丘陵地>台地・段丘地>低地

火山性岩石>固結堆積物>未固結堆積物

褐色森林土壌>黒ボク土壌>黄色土壌>低地土壌>グライ土壌の傾向(排水の良好な酸化的環境から排水の悪い還元的環境)を示した(以下, この傾向を, 傾向Aとする)。

一方, 硬度, 蒸発残留物, 塩化物イオンの項目値は地形では低地に, 表層地質では未固結堆積物で最大値を示した。土壌では, 各3項目に対して最大値がそれぞれ黄色土壌, 黒ボク土壌および低地土壌に分かれ, 項目値は

低地>台地・段丘地>山地・丘陵地

未固結堆積物>固結堆積物>火山性岩石

低地, 黒ボク, 黄色土壌>褐色森林土壌

の傾向(排水の悪い還元的環境から排水の良い酸化的環境)を示した(以下, この傾向を, 傾向Bとする)。

次に, 横手盆地および周辺地域(表7B)では, 色度, 濁度, 過マンガン酸カリウム消費量および金属濃度(マンガン, 鉄, 銅, 亜鉛)の成分項目値は, 地形では低地や台地・段丘地, 表層地質では未固結堆積物, 土壌では, グライ土壌で最大であり, 鹿角・大館地域とは逆に, 傾

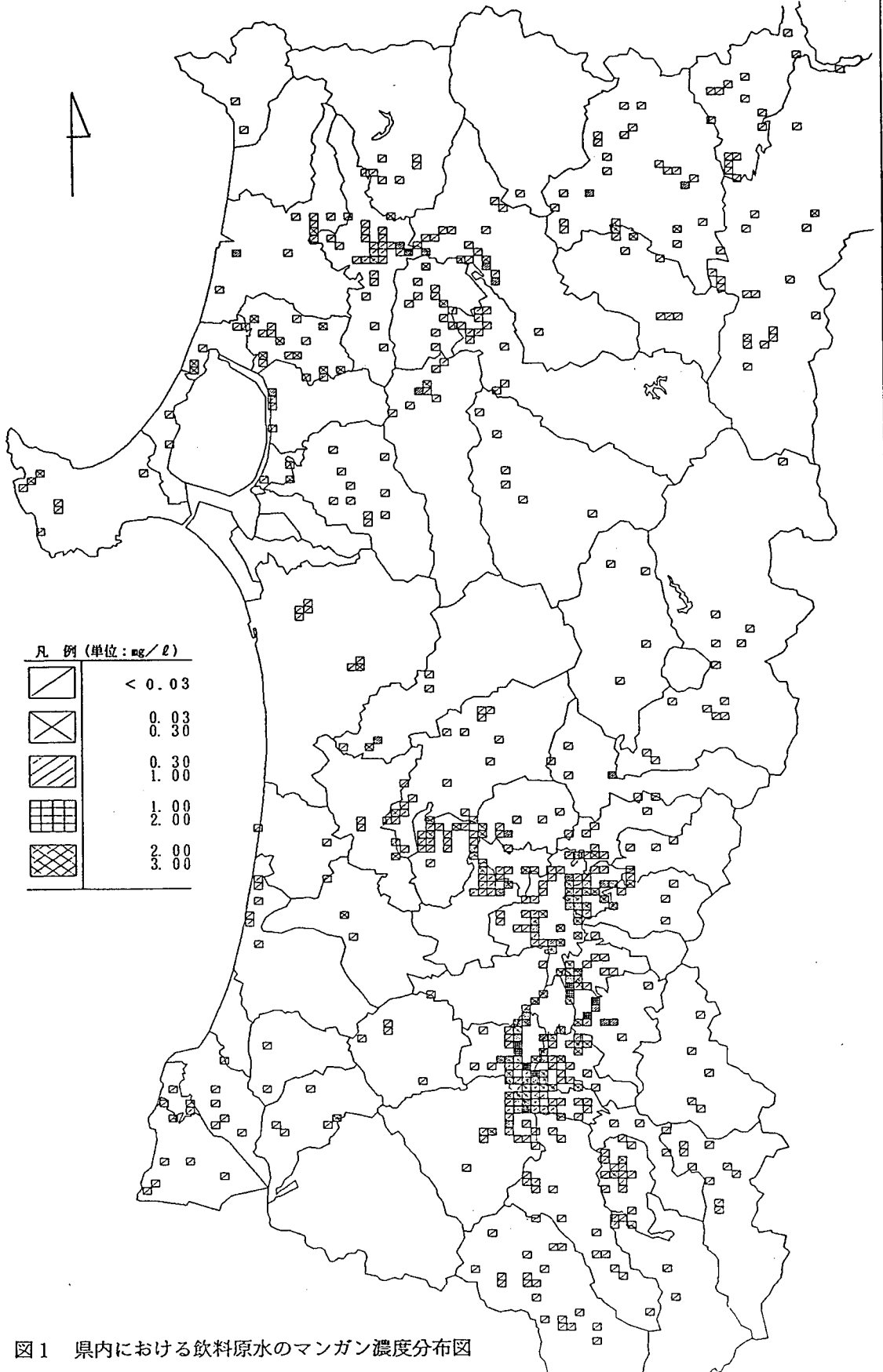


図1 県内における飲料原水のマンガン濃度分布図

向Bを示した。硬度、蒸発残留物、塩化物イオンの項目値も、地形では低地に、表層地質では未固結堆積物、土壌では黒泥土壌に最も高く傾向Bを示した。

すなわち、鹿角・大館地域および横手盆地地域は両者とも項目群が互いに相反する極端な挙動傾向を示す典型例であり、他の地域はそれぞれの特性をもちながら両者の中間の傾向を示した。

3. 秋田県マンガン濃度分布図の作成

横手盆地および周辺地域にマンガンが特異的に高濃度で検出された実態と理由については、前報¹⁾で報告した。今回は、秋田県全域にわたって飲料原水中のマンガン濃度を調べた結果、鹿角・大館地域を除き、各地の浅井戸中でそれぞれ最高値が得られた。県全体のマンガン濃度分布図を作成し、第1図に掲げた。マンガンの稠密な地域は横手盆地地域が最大で、鷹巣・阿仁、能代・山本地域がこれに続いた。

IV 考察

1. 飲料水成分項目の因子別挙動

(1) 形態別因子

秋田県の飲料原水の分析値を形態因子別に分類して、各成分項目の挙動を調べたところ、結果で述べたように、主として表流水の性質に依存する項目群（色度、濁度、過マンガン酸カリウム消費量）の傾向Aと、主として地下水（浅井戸、深井戸）の性質に依存する項目群（硬度、蒸発残留物、塩化物イオン）の傾向Bとに大別することができた（例えば、表1A）。

傾向Aを示した項目群のうち、色度は着色有機物（主としてフミン酸）や無機イオン（鉄、マンガン）等による寄与を大きく受け、特に表流水中には有機物質が多く含まれるので、色度との関係が強かった。濁度は有機質粘土、土壌粒子、鉄・アルミニウムのコロイド粒子等の存在が主な原因で、表流水に大きな影響を与えられられる。

また、過マンガン酸カリウム消費量は主として水中の有機物含有量の指標となるものであるが、表流水は他の形態に比べて還元性の有機物質を多く含むため、この項目とも強い関連があると考えられる。

以上、これらの項目群は表流水と深い関わりがあり、

表8 地域特性（因子別による項目挙動傾向表）

地域	因子	Mn	Fe	Cu	Zn	硬度	蒸発 残留物	塩化物 イオン	色度	濁度	KMnO ₄ 消費量
鹿角・大館	形態	A	A	A	A	B ⁰	B	B ⁰	A	A	A
	環境	A	A	A	A ⁰	B	B ⁰	B	A	A	A ⁰
鷹巣・阿仁	形態	B	B _A ⁰	BA	B _A ⁰	B ⁰	B	B	A	A	A
	環境	B	B ⁰	B ⁰	B ⁰	B ⁰	B	B	B	B	A _B
能代・山本	形態	B	AB	BA	B	B	B	B	A	A	A
	環境	B ⁰	B _A	B ⁰	B	B ⁰	B ⁰	B ⁰	A ⁰	B	A ⁰
秋田・男鹿	形態	B	AB	AB	B ⁰	B	B	B _A	A	A	A
	環境	B	AB	AB	B ⁰	B	B	A _B	A	A _B ⁰	A
本荘・由利	形態	AB	AB	AB	B	B	B ⁰	B	A ⁰	A ⁰	A _B ⁰
	環境	AB	B	AB	BA	A _B	A _B	A _B	B _A ⁰	A _B ⁰	A ⁰
神岡・西仙北	形態	B ⁰	B _A	AB	B ⁰	B	B ⁰	B ⁰	A	B ⁰	A
	環境	B ⁰	B _A	AB	A ⁰	B ⁰	B ⁰	B ⁰	A _B	B ⁰	A _B
横手盆地と 周辺地域	形態	B	B	AB	B ⁰	B	B	B	A	B _A	AB
	環境	B ⁰	B	AB	B ⁰	B ⁰	B	B	B _A	B	BA

- 注 1) A或いはBは、各成分項目の典型的な傾向特性を示す場合
 2) A⁰或いはB⁰は、全体として傾向A或いはBを示すが、一、二ヶ所傾向から外れる箇所を含む場合
 3) AB或いはBAは、AおよびBの傾向を同程度併せ持つ場合
 4) A_B或いはB_Aは、A或いはBの一方が優勢な場合

自然現象や人為的環境に影響を受けやすい項目といえる。

次に、傾向Bを示した項目群のうち、硬度は一般に岩石や土壌成分から遊離溶出する金属成分に起因するところが大きいので、地下環境に長期間接触している地下水に高く検出されるものと考えられる。

蒸発残留物は、自然界の主として無機塩類、有機物質等の溶解性物質や浮遊物質等に由来するものであるが、本調査で浅井戸に最も高い値が得られたのも、そのような地下環境に負うところが大きかったと考えられる。

塩化物イオン濃度は自然および人為的環境の影響を受けやすく、原因は多岐にわたっている。

傾向Bの項目群が、浅井戸や深井戸で高い値を示したのには、表流水よりも地下水中に岩石や土壌等による溶解成分が多いことを意味している。

以上のことから、傾向Aを示した項目群は、表流水で代表されるような好気性、酸化的雰囲気依存する項目群であり、傾向Bを示した項目群は、地下水で代表されるような嫌気性、還元的雰囲気に依存する項目群であると考えられる。

(2) 金属濃度

金属濃度の項目はⅢ-1-1(3)およびⅢ-1-2(2)で見られるように、その因子別挙動の傾向が金属の種類によってそれぞれ異なり、他の成分項目に比べて複雑である。鹿角・大館地域の表流水にマンガン、鉄、銅、亜鉛が他の地域に比べて高く検出されたり、また、横手盆地地域(台地・段丘地、未固結堆積物、グライ土壌地帯)の浅井戸にマンガンが特異的に高い濃度であったのも、金属類の因子別挙動が多様であることによると考えられる。この理由は、主としてそれぞれの金属によって結合の性質が異なることによるものであるが、さらに、表流水および地下水に含まれるフミン酸その他の有機物質にもよるものと推察される。また、金属の溶存状態や金属-フミン酸の生成は、原水のpHの変化やその他の条件によって微妙に変化し、懸濁物や沈殿物を生成することについては、最近多数報告²⁶⁾されている。

(3) 環境別因子

飲料原水の各成分項目の分析値を環境因子別に分類して傾向を分析した結果、表1~7(B表参照)、成分項目は、主として酸化的雰囲気の環境(排水の良好な状態)に属する山地・丘陵地、火山性岩石、褐色森林土壌に依存する項目群(色度、濁度、過マンガン酸カリウム消費量)の傾向Aと、主として還元的雰囲気の環境(排水の極めて悪い状態)に属する低地、台地・段丘地、未固結堆積物または半固結堆積物、グライまたは黒泥土壌に依存する項目群(硬度、蒸発残留物、塩化物イオン)の傾向Bとに大別された。

2. 地域別水質特性

表1~7(A, B表)は、成分項目と形態および環境因子を組合わせたものである。表中の数値は、成分項目によって、また両因子によって規定される水質特性を示すものである。したがって、各表は各地域におけるそれぞれの水質特性表に相当することになる。7地域の項目別挙動傾向は、地域によってそれぞれ大きく異なり、これらの表から水質特性や地域特性を考察することは極めて煩雑である。そこで著者は、表8に、7地域の因子別による項目挙動傾向を簡潔な形で表した。表中のA或いはBは傾向A或いは傾向Bを指す。これによって、各地域の水質特性を容易に読み取ることができる。

表8から、鹿角・大館地域(山地、高地、鉱山地帯)と横手盆地地域(平野、低地、水田土壌地帯、停滞性水域)は互いに相反するそれぞれ典型的且つ両極端な水質特性を示し(鹿角・大館地域はAの特性が最も多く、横手盆地の場合はBの特性が最も明確にでている)、秋田・男鹿、本荘・由利、神岡・西仙北地域は両者の中間的傾向を、鷹巣・阿仁、能代・山本地域は横手盆地の方により近い水質特性をもつことがわかった。

以上、本報告では、飲料水試料として、できるだけ天然の自然環境を反映し、人為的影響が比較的少ないと思われる時期(昭和47~57年度)に搬入された飲料原水の分析結果を使用した。検体数や採水箇所についてはかならずしも満足できるものではなかったが、秋田県各地域の水質の基礎データを捉えることができた。水質に影響をおよぼす環境因子として、例えば、流域別、水収支、地下水脈、標高差および降水等をさらに加えて検討すれば、より精緻な地域特性の解明に近づきうるものと考えられる。しかし、本報告のように、水形態と地形や表層地質および土壌を考慮した方法でも地域の水質特性を把握することができると思う。

V まとめ

秋田県全域の水質特性について、飲料水成分項目値に水の形態および環境因子を導入して、コンピュータにより集計・分類・解析した。その結果、酸化的雰囲気因子(すなわち、形態では表流水、地形では山地・丘陵地、表層地質では火山性岩石、土壌では褐色森林土壌)に依存する項目群(色度、濁度、過マンガン酸カリウム消費量)と還元的雰囲気因子(すなわち、形態では、浅・深井戸、地形では低地、表層地質では未固結堆積物、土壌ではグライ・低地土壌)に依存する項目群(硬度、蒸発残留物、塩化物イオン)に分類できた。これより、各成分項目の水質特性の傾向や地域特性(表8)は、良質な水源確保の際の指針になりうるものと思われる。

VI 文 献

- 1) 松尾無子たち：横手盆地のマンガンについて（第5報）—環境因子としての地形，地質，土壤からの考察
秋田県衛生科学研究所報，1992；36：65—70
- 2) 肥田登著：扇状地の地下水管理，古今書院，1990：4
- 3) 秋田県：土地分類基本調査〔大館〕（1986）
- 4) 秋田県：土地分類基本調査〔鷹巣〕（1985）
- 5) 秋田県：土地分類基本調査〔米内沢〕（1977）
- 6) 秋田県：土地分類基本調査〔能代〕（1983）
- 7) 秋田県：土地分類基本調査〔森岳羽後浜田〕（1984）
- 8) 秋田県：土地分類基本調査〔森吉山〕（1991）
- 9) 秋田県：土地分類基本調査〔秋田〕（1972）
- 10) 秋田県：土地分類基本調査〔五城目〕（1973）
- 11) 秋田県：土地分類基本調査〔男鹿・船川〕（1974）
- 12) 秋田県：土地分類基本調査〔羽後和田〕（1975）
- 13) 秋田県：土地分類基本調査〔本荘〕（1980）
- 14) 秋田県：土地分類基本調査〔矢島〕（1982）
- 15) 秋田県：土地分類基本調査〔角館・鶯宿〕（1989）
- 16) 秋田県：土地分類基本調査〔田沢湖〕（1991）
- 17) 秋田県：土地分類基本調査〔刈和野〕（1979）
- 18) 秋田県：土地分類基本調査〔六郷〕（1988）
- 19) 秋田県：土地分類基本調査〔大曲〕（1977）
- 20) 秋田県：土地分類基本調査〔横手〕（1976）
- 21) 秋田県：土地分類基本調査〔浅舞〕（1978）
- 22) 秋田県：土地分類基本調査〔稲庭・焼石岳〕（1987）
- 23) 秋田県：土地分類基本調査〔湯沢〕（1979）
- 24) 小島貞男：新水質の常識，日本水道新聞社，1983：120—121,130—131
- 25) 北野康：地球環境の化学，裳華房，1992：146—158