

II 調査研究業務実績

微生物部

1. つつが虫病の早期病原診断法の比較検討に関する調査研究（継続）

〔目的〕

昨年度からつつが虫病の早期確定診断の一助として、PCR法の導入について検討してきた。今年度は、昨年度の検討で問題となった疑陽性反応の回避について検討し、さらに検出されたR. tsutsugamushiの型別について検討した。

〔方法〕

- 1) 検体：1994年にIP法で陽性と判定された患者13人の血餅23検体を検討材料とした。
- 2) 検体からのDNA抽出：被検血餅約0.3mlからBuffoneとDarlingtonの方法に準じてDNAを抽出した。
- 3) PCR：川森の報告したプライマーを使用してNested PCRを実施した。
- 4) 型別：得られたDNA増幅断片を制限酵素SfaNI, HhaIによるRFLPを実施し、Kato, Karp, Gilliamの標準株から得たパターンと比較することにより型別を試みた。

〔結果〕

- 1) IP法で陽性となった13名のうち、PCRで陽性となったのは8名であった。
- 2) PCR法の結果と患者の病日の間に明瞭な相関は認められず、急性期、回復期血清のいずれにも陽性となるものがあった。
- 3) 検討した4名中3名がIP法とPCR-RFLP法による型別結果が一致した。また、IP法で型別不能であった4名については、PCR-RFLPでは型別が可能であった。
- 4) 昨年度問題となった疑陽性については、以下の点に留意することにより回避可能であった。①検体からのDNA抽出から1' PCR反応液の調製までのステップを紫外線照射が可能な無菌室内で実施する。②①の作業区には陽性コントロールを持ち込まない。③陽性コントロールは①の作業区以外の場所で作製する。④①の作業区で使用するピペットは専用として外部からの持ち込み、外部への持ち出しを禁止する。

2. 変異麻疹ウイルスの予防対策に関する調査研究（継続）

〔目的〕

PCR-RFLP法により麻疹分離株のHA遺伝子

を年代別、性状別に比較する。

〔結果〕

前年度に開発した麻疹ウイルス変異株の迅速鑑別法を用いて、保存血清中のウイルス遺伝子による変異状況の年代別推移を調べた。当所において過去28年間にわたって収集・保存してきた患者血清のうち、麻疹急性期のもの106件について調査を行い、1980年代中頃をもって流行ウイルスの型が完全に入れ替わっている（従来型から変異型に）ことを明らかにした。一方、ザンビアにおいては未だ従来型と思われるウイルスが残存していることが示唆された。これらの応用事例からも本鑑別法が、麻疹ウイルスの年代別・地域別の疫学調査に極めて有用であると考えられた。詳細は本誌上に別報（P25）した。

3. 小型球形ウイルス（SRV）の予防に関する調査研究（継続）

〔目的〕

これまで不明であったSRVによる汚染実態を解明することにより、予防対策と事件発生の早期対応に役立てる。

〔結果〕

平成5年3月の集団発生事例の便検体から、小型球形ウイルス（SRSV）のORF3（免疫抗原部位）をコードする遺伝子をクローニングした。塩基配列を調べたところ、このSRSVはNorwalk型であることが確認された。便検体にはPCR反応を阻害する成分が含まれているが、CTAB処理により除去することができた。また、PCRに続いてサザンブロットを行うことで検出感度を大幅に向上させることができた。本事例に関する検討結果は「臨床とウイルス」に掲載予定である（国立予防衛生研究所と共著）。

また、非細菌性食中毒様胃腸炎の発生実態を調査する目的で厚生省生活衛生局食品保健課の支援により、「食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班」が設立され、当所では本部役員（システム設計・開発担当）と東北地方委員を兼任している。全国調査の結果、908例の原因不明の食中毒様集団発生事例が集められ、そのうち330件がSRSVによるものであることが確認された。患者50人以下の比較的小規模な事例では、生カキに起因すると考えられるものが圧倒的に多かった。その反面、患者数百人以上の大規模な事例では、学校給食によって媒介されたと考えられるものが上位を占め、2極化の傾向が認められた。これらの成績は国際下痢症シンポジウムで発表された他、平成7年末に詳細な報告書が各地方自治体あてに公開される予定である。

4. 先端技術の開発導入に関する調査研究（継続）

〔目的〕

病原微生物の迅速同定のため遺伝子診断技術を確立、導入することにより診断精度の向上を図る。

特に、*Corynebacterium diphtheriae*によるジフテリア、*Neisseria meningitidis*による流行性脳髄膜炎は共に法定伝染病であるが、近年、その発生は激減している。このような伝染病の細菌学的な検査技術を将来にわたり維持していくことは地方衛生研究所の責務である。当所が県内における病原微生物の最終同定機関として機能し得るように、遺伝子診断法によって発生が稀となった伝染病や検出困難なウイルス迅速診断技術の確立、導入を試みた。今年度はジフテリア菌、流行性脳髄膜炎菌及びエンテロウイルス70型を対象とした。

〔材料・方法〕

- 1) 菌株及びウイルス：ジフテリア菌；Gravis型の標準株には I I D 526株，Mitis型の標準株には I I D 527株を使用した。臨床分離株には県内で分離された5株を使用した。流行性脳髄膜炎菌：I I D 854株を使用した。エンテロウイルス70型：J 670/71株，G 2/74株を使用した。
- 2) PCR：PCR反応液の組成，ヒートサイクルは既報に従った。
- 3) プライマー：ジフテリア毒素の構造遺伝子のうち246bpを特異的に増幅するプライマーはPallennの報告したプライマーを一部改変した。流行性脳髄膜炎菌検出用プライマーはOuter membran protein gene, H8 Outer membran gene, Pro A gene, Class I pilin geneを標的としたプライマーを種々設計し，検出を試みた。また，エンテロウイルス70型はVP 3領域のヌクレオチドNo.2191～2408を増幅するようデザイン（日本臨床：642，263-266，1992）した。

〔結果〕

ジフテリア菌は標準株，臨床分離株ともにPCR法による特異的な同定が可能であり，その詳細を本誌（P 29）で報告する。流行性脳髄膜炎菌はClass I pilin geneを標的としたプライマーにより同定可能であったが，PCRの特異性を確認するために増幅断片をクローニングし，その塩基配列を解読した結果，設計領域とは異なる部分が増幅されていることが明らかとなり，再検討が必要と考えられた。一方，エンテロウイルス70型のVP 3領域のヌクレオチドNo.2191～2408を増幅するようにデザインされたものを用い，対照とした2株では218bpのバンドが認められ，PCRの反応は正常に進行していることが確かめられた。また，このプライマーはエンテロウイルス70型にのみ反応し，他の

ウイルスには交差しないことを確認した。実際の運用にあたっては，結膜擦過物から直接検出するためにサザンブロット法と併用して感度を上げることが可能である。この点においては，増幅断片を精製してプローブとして準備し，検体が搬入されればすぐに対応できるようにした。

5. ボツリヌス菌の生活環境内における汚染実態，食中毒の予防対策に関する調査研究（新規）

〔目的〕

1994年，県内においてA型ボツリヌス食中毒が発生したことから，ボツリヌス菌の県内土壌分布実態，及び缶詰等の食品について菌検索，pH管理実態を調査し，ボツリヌス食中毒の発生予防対策に資する。

〔材料・方法〕

- 1) 食品：市販の里芋及び山菜の缶詰（44件）は内容液100mlの沈渣を検体とした。また，土付き里芋（9件）は100mlの蒸留水で振り出し，その遠心沈渣を検体とした。沈渣をクックドミート培地で7～10日培養後，希釈した培養液をマウスの腹腔内に注射し，4日間生死を観察し，ボツリヌス毒素の有無で菌のスクリーニングをした。
- 2) 土壌：県内の河川流域及び圃場から採取した土壌（149件）50gに滅菌蒸留水50mlを加え混合後，静置。上澄みを濾紙で濾過後遠心沈渣をクックドミート培地に接種，培養後，マウスの腹腔内に注射した。

〔結果〕

- ① 食品53検体および県内の土壌149検体についてボツリヌス菌検査をした結果すべて陰性であった。
- ② 里芋缶詰のpHの実態は5.53～5.69でボツリヌス菌の発育を抑制できる範囲（pH4.7以下）より高かった。

6. ヤマビルに吸血された動物の同定システムに関する調査研究（新規）

〔目的〕

ヤマビルの被害軽減を図るため，ヤマビルが吸着した動物を遺伝子学的及び免疫学的方法で同定する。

〔材料・方法〕

1. 遺伝子学的方法

- 1) 動物が共通して保有する遺伝子のうち動物種により異なる部分の塩基配列を増幅するPCR法を導入した。
- 2) 同定動物：ヒト，ウシ，ニワトリ，カモシカ，タヌキ，クマ，ラット，マウス及びウサギ
- 3) 検体：地域別に捕獲したヤマビル186匹

2. 免疫学的方法

1) 同定対象動物及び抗血清の作成：ヒト，カモシカ，タヌキ，クマを対象動物とし，その血液でウサギを免疫し，抗血清を作成した。

2) 検体：1. の3) と同様

3) 上記検体を乳鉢で擦りつぶしながら緩衝液を注入し，遠心分離後，その上清と1) の抗血清をゲル内で24時間反応させ，沈降線の有無で同定した。

[結果]

今回，被吸血動物とした9種類の動物について，遺伝子学的手法によりヤマビル186匹の個体から吸血動物の特定を試みたところ，ヒトおよびウサギの両者の血液を吸血したとみられる1匹が特定された。他のヤマビルについては，一部は何らかの動物を吸血していることが明らかになったが，被吸血動物種は特定できなかった。

また，免疫学的方法のゲル内拡散法についても同一検体のヤマビルからヒト血液が検出された。

詳細については次年度に報告する。

7. スギ花粉飛散に関する調査研究

[目的]

花粉飛散予報体制の強化と情報提供の継続的運用，及びスギ花粉症患者についての実態調査を行い予防対策に資する。

[方法]

1. 定点における花粉測定調査

- 1) 当所，保健所，医療機関での花粉数測定
- 2) スギ雄花芽調査

2. 患者情報の収集

- 1) 協力医療機関からの外来患者数を収集
- 2) 1) の患者を対象にアンケート調査
- 3) 花粉予報に関するアンケート調査

3. 予報区分の妥当性の検討

スギ花粉観測数と外来患者データから予報区分の妥当性についての検討

[結果]

1. 定点における花粉測定調査

- 1) 当所，保健所2カ所，医療機関6カ所において実施した結果，総飛散量は前年の10.8%~7.3%に過ぎなかった。
- 2) スギ雄花芽調査

対象地点を全県に拡大した。スギ雄花芽の成育状況を指数化した結果，平均着花指数は県北：7.0，沿岸部：7.0，県南：8.0であった。

2. 患者情報解析結果

- 1) 協力医療機関からの外来患者数の収集
県北：平均75名/医療機関/飛散期間

沿岸部：平均148名/医療機関/飛散期間

県南：平均170名/医療機関/飛散期間

2) 患者を対象としたアンケート調査

対象期間：協力医療機関(対象者数75名)

- (1) 症状の程度は，軽症9.3%，中等症10.7%，重症80.0%であった。
- (2) 患者数は最飛散期(3/22-4/12)に最も多かった。
- (3) スギ花粉予報は89.6%が知っており，68.3%が今後も参考にしたいと回答した。

3. 予報区分の妥当性の検討

スギ花粉観測数と外来患者数には相関があったが，患者症状と予報区分の関係を把握するためには，今年度の患者数が少なかったため，さらに数年の調査が必要と考えられた。

理化学部

1. 温泉の浴用効果に関する医学的調査研究(継続)

[目的]

現代社会に急増するストレスの解消や疾病予防の観点から，温泉の浴用効果を医学的に検証し，県民への健康増進および疾病予防のための温泉利用に資することを目的とした。

平成6年度は，河辺町住民で基本健康診査受診者のうち，肥満，高血圧，高脂血症で「要指導」と判定された40~60才の男子20名を対象者として入浴調査を実施した。

[方法]

- ① 調査期間：10日間
- ② 入浴方法：2回/日
- ③ 検査項目：血圧(毎日の入浴前1回)
血液検査(入浴調査開始前後各1回)
身体計測(入浴調査開始前後各1回)
食事と生活行動のアンケート調査(1回)
- ④ 結果：毎日の血圧は最高，最低共に正常域に収斂していく傾向にあった。調査前後の血液成分値を単純比較した結果，調査後の値が高くなった人の割合が最も多かったのはHDL-コレステロールであった。反対に調査後の値が低かった人の割合が最も多かったのはカリウムであった。

2. 秋田県における放射能水準調査(継続)

[目的]

秋田市中心に行われている科学技術庁委託環境放射能水準調査や，平成4年度から実施している県北地区調査に加えて，今年度から県南地区についても調査し，

秋田県内における放射能水準の実態を把握した。

[方法]

県北地区は、降下物・土壌・牧草・牛乳・精米および生茶葉を、県南地区は、降下物を調査対象とした。調査項目は、 ^{137}Cs ・ ^{90}Sr ・ ^3H ・その他の γ 線核種とし、分析方法は、科学技術庁編マニュアルに準じた。

[結果]

今年度調査した試料から、 ^{137}Cs ・ ^{90}Sr その他の核種が、昨年度と同様に検出された。その中で、 ^{90}Sr の放射能濃度が、11月の県北地区降下物 ($0.31 \pm 0.038 \text{ MBq/km}^2$)、12月の県南地区降下物 ($0.11 \pm 0.030 \text{ MBq/km}^2$)、牧草 ($0.86 \pm 0.083 \text{ Bq/kg生}$)、生茶葉 ($3.4 \pm 0.16 \text{ Bq/kg生}$) で、全国平均値及び他県の値に比較して、わずかながら高い傾向を示した。その他の試料においては、全国平均値とほぼ同レベルであった。

生活科学部

1. 小児期からの成人病予防に関する調査研究

(能代保健所との共同研究)

[目的]

中学生を対象に、成人病(虚血性心疾患、動脈硬化症、糖尿病等)の発症要因と関連があると考えられる事項について実態を把握し、それらの相互関係を明らかにするとともに、これまでのデータを加えて解析し、小児期からの成人病予防対策に資する。

また、地域保健と学校保健との連携のもとに、成人病の発症要因を抱える児童生徒に対して、地域の実態にあわせた食生活・生活習慣の改善のための適切な指導を行い、地域住民における小児期からの健康づくりと成人病予防対策を推進する。

[方法]

この研究は、平成6年度から8年度までの3年計画で実施するもので、今年度はその1年目にあたる。

- (1) 調査対象：山本郡峰浜中学校全校生徒(男子99名、女子108名の計207名)
- (2) 内容：初回時調査として、6月に体格状況調査、血圧測定、血液検査、尿検査、栄養調査、食生活・生活状況調査、健康意識調査を実施。その結果血液検査等で要指導と判定された生徒に対し、事後指導として生活および栄養指導を8月に行った。更にその指導効果を見るため、12月に追跡調査を行い、血液検査とアンケートによる生活行動の変容を調査した。

[結果]

6年度の調査結果の概要は以下のとおりである。

- (1) 肥満者の割合は、全県に比べてやや高く、高コレステロール者の割合はやや低かった。

(2) 栄養調査結果

- ① 男女とも大豆製品、野菜、果物の摂取が少なく、男子では肉類が多かった。また、鉄は男女ともに不足していた。
- ② 食塩摂取量は、男子が12.9g、女子は10.5gと、男子の方が多かった。目標量の10gを越える者は、全体で78.3%にのぼっていた。

(3) アンケート調査結果

- ① 健康度の自己評価では、ほとんどの者が「健康」または「まあまあ健康」と答えたものの、大部分は何らかの自覚症状を訴えており、特に「いつも眠い」、「あくびが出る」、「疲れ易い」と答えた者が多かった。
 - ② 偏食は女子に多く見られ、男子では少なかった。「嫌いなもの」が出たときは、男女とも半数近くが「残す」としていた。
 - ③ 食品摂取状況では、非肥満者と肥満者の間で男女とも全体的に大きな差は見られなかった。
- (4) 追跡調査結果では、肥満度の低下が見られたが、これは身長伸びに負うところが大きかった。

2. 成人病予防対策に関する調査研究

[目的]

成人病予防の観点から、保健所、市町村の保健・栄養指導のための手法と資料を提供することを目的に、検診所見に基づきかつ個人に即した具体的な生活習慣改善指導方法について検討し、地域性を加味した効率的、効果的な方法を開発し、老人保健事業の推進に資する。

本年度は、平成5年度より開発中の地域住民の食生活改善指導に活用できる「検診所見別栄養調査結果算出システム」を、保健所等において幅広く活用できるように、保健所入力システムとそれに伴うシステムの変更と追加開発を行った。

また、これらの手法開発の基礎データ作成として、食・生活習慣が検診所見に及ぼす影響をみるために、これまでの蓄積データの中から、成人病予備群における検診所見と食生活・生活習慣の関連についての実態把握と分析を行った。

[方法]

1. 食生活習慣改善方法の開発

1) 検診所見別栄養調査結果算出システムの開発

- ① 保健所入力・出力システム：NECH98、9801用に開発。
- ② 連携ソフトと追加ソフト：富士通M1500用に開発。
・成分と計算項目に、ビタミンD、EとMgお

よび食物繊維を追加。

- ・第5次所要量に対応，および充足率の計算とグラフを追加。
- ・地域および目的にあった指導等ができるように，「コメント」の有無，「食糧構成（目安量）の検診所見別の補正」の有無の選択項目の追加。
- ・検診項目，判定等の入力項目を，基本健康診査項目と整合させた。

2) 食生活習慣改善指導用ソフトの開発

食習慣（食生活行動・意識）状況を把握出来るソフトの開発

- ・食習慣のアンケート項目の入力ソフト
- ・SASによる集計ソフト

2. 生活習慣改善指導方法の検討

1) 成人病予備群における検診所見と食生活との関連について

- ① 対象者と調査期間：井川町における動脈硬化予防検診を，平成元年～5年に受診した（1人1回の初回時）30～69歳の男子住民607名。
- ② 調査内容と方法：対象者を30～49歳，50～69歳の年齢階層別にして，肥満度区分別（非肥満，+20未満），軽度肥満（+20～29），肥満（+30～）に栄養摂取状況を観察した。

2) 成人病予備群における検診所見と生活状況との関連について

- ① 対象者と調査日：井川町における循環器検診を，平成2～5年に受診した30～69歳の住民，男826名，女1137名。
- ② 調査項目と方法：飲酒，喫煙習慣と肥満状況，血圧値分類および血液所見（血糖値，肝機能検査値，脂質検査値）。

[結果]

1. 食生活習慣改善方法の開発

1) 検診所見別栄養調査結果算出システムの開発

- ① 保健所用入力・出力システムの開発。
- ② 入力マニュアル（ハード）の作成。

2) 食生活習慣改善指導用ソフトの開発

- ・調査内容（項目）と集計方法について検討中。
- ・ソフト開発は7年度に行う。

2. 生活習慣改善指導方法の検討

1) 成人病予備群における検診所見と食生活との関連

- ① 軽度肥満者の食生活は，非肥満者に比べてエネルギー摂取が多くなっていたが，そのエネルギー源となる食品群の摂取状況が，年齢階層によって異なった傾向がみられた。

- ② 肥満度+30以上の肥満者群の食生活は，30～49歳では，さらにエネルギーとたん白質の摂取が多くなっていたが，50～69歳では，本人が意識して食事を制限しているためか，非肥満者とほぼ同程度の栄養摂取状況を示した。

2) 成人病予備群における検診所見と生活状況との関連について

- ① この地域における男性では，現在，飲酒習慣がある者の割合が，30～69歳で平均81%と非常に高く，頻度の多い者ほど1回の飲酒量も多い傾向がみられた。しかし，女性では飲酒習慣のある者が少なく，わずかに若い世代で多くなっていた。
- ② 喫煙習慣のある者の割合は，男性では，30～69歳で平均60%であったが，30歳代では74%と高かった。しかし，女性では4%以下と少なかった。
- ③ 肥満者の割合は，30～69歳において，男性では平均14%であり，女性では，平均25%で，年代が高くなる程その割合は高くなった。
- ④ 男性では，飲酒と喫煙習慣が重なっている者が多く，その70%の者が重なっていた。
- ⑤ 男性において検診所見との関連をみると，肥満と飲酒習慣が，血圧値分類と肝機能検査の異常値の出現頻度に影響がみられることがわかった。

3. 老人保健対策に関する調査研究

[目的]

秋田県内の高齢者のうち，寝たきり予備群といわれる準寝たきり者と寝たきり者について，日常生活動作（ADL）遂行能力の経年変化及び身体面，日常生活面等についての実態を把握し，日常生活活動性に影響を及ぼす要因について分析するとともに，ADL移行過程における保健・福祉・医療サービスの利用状況等についても分析し，今後の寝たきり予防対策を効果的に推進していくうえでの基礎資料とすることを目的とした。

[方法]

県の「痴呆・寝たきり予防対策推進事業」の一環である「寝たきり専門調査」（社会福祉課，保健衛生課，秋田・本荘保健所，4市町との共同調査）として実施した。

(1) 調査対象

県内の4市町の65歳以上の準寝たきり者および寝たきり者584名（厚生省の寝たきり度判定基準により平成4年度に判定された者）

(2) 調査項目

- 1) 基本項目：身体面，日常生活面，保健・福祉サービスの利用状況等
- 2) 追跡調査項目：転帰，身体面（ADL，ランク）サービスの利用状況等

(3) 調査方法

市役所，役場における書面による調査及び保健婦の訪問による面接聞き取り調査

(4) 訪問調査実施時期

平成7年2月1日～28日

〔結果〕

- (1) 観察期間の2年間で死亡した者は，ランクAで16.3%，ランクBで37.8%，ランクCでは56.8%と，ランクが重症なほど死亡の割合が高かった。
- (2) 寝たきりの原因，生活に支障をきたしている主な理由及びADL遂行能力低下の原因は，男女ともに脳血管疾患が多かったが，女性は関節炎・神経痛，骨折等の様々な疾患も関連していた。また「意欲の低下」の影響も大きく，加齢や服薬の影響以外の生活習慣や家族及び環境等の要因についても検討する必要があると考えられた。
- (3) ADL遂行能力の項目別要介護者の割合は「移動」及び「入浴」で高く，逆に最も低いのは「食事」で

あった。

- (4) ADLの要介護項目数が1項目以上減少した者の割合は，ランクAでは27.4%，ランクB・Cでは20%であった。このうち「寝たきり重症度」に最も関連する項目である「移動」が改善した者の割合は，ランクAでは全体の21.4%であり，ランクB・Cの6.5%に比べ有意に高かった。
- (5) 居住環境の整備は今後強化されていくべきサービスであるが，寝たきり予防の視点での居住環境への関心は，高齢者本人及び介護者双方で低い割合に止まった。居住環境と寝たきり予防の関連については，今後さらに検討する必要がある。
- (6) ADLの要介護項目数が多い者ほど，サービスの利用数は多くなっており，ランクB・Cでは98%が何らかのサービスを利用していた。ランクB・Cを主体としたサービスの提供は，障害をもつ高齢者及び介護者のQOLの向上を重視した視点で行われているのではないかと考えられた。寝たきり予防の視点では，予備群といわれるランクAの高齢者に対する予防的サービスの充実も図る必要があると考えられた。
結果の一部について，詳細を本誌上（P40）に別報する。