

Polymerase Chain Reaction (PCR) による 百日咳菌および髄膜炎菌の同定

八柳 潤 齊藤志保子 木内 雄 佐藤 宏康 森田 盛大

百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) および髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) の同定を目的とした PCR 法について検討した。百日咳毒素 (Pertussis toxin: PT) オペロンの promoter region のうち, 186bp を特異的に増幅するプライマーとして, Houard の報告したプライマーを一部改変した PTJY-1, および PTJY-2 により *B. pertussis* が特異的に検出された。

N. meningitidis の Class 1 omp をコードする *porA* をターゲットとする, Kertesz たちが報告したプライマーに加えて *porA*, *omp*, *H8omp*, Class I pillin をターゲット遺伝子とするプライマー7組を設計し, 合計8組のプライマーの有用性について検討したところ, *omp* と *porA* をターゲットとしたプライマーが *N. meningitidis* の同定に有用であった。一方, *H8omp* の塩基配列は菌株により異なることが示唆され, このことは, *H8omp* 遺伝子が *N. meningitidis* の検出と同時に型別を実施することが可能である PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) のターゲット遺伝子として適用できる可能性を示すと考えられた。

キーワード: 百日咳菌, 百日咳毒素オペロン promoter region, 髄膜炎菌, *omp*, *porA*, PCR

I はじめに

百日咳は百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) により惹起される, 特有な痙攣性咳嗽を主徴とする急性呼吸器感染症である。1980年に5,033人であった全国の百日咳患者届出数は改良ワクチンが導入された1981年以降激減し, 1994年, 1995年にはそれぞれ145人, および226人となった。一方, 流行性脳脊髄膜炎は髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) により惹起される法定伝染病である。全国の流行性脳脊髄膜炎患者届出数は1945年には4,384人であったが1995年には3人に激減した。このように, 近年, 発生が殆ど見られなくなった感染症の診断技術を維持することは, 培地などの資材, 材料の確保を含めて困難を伴うことが多い。実際, 我々は秋田県内で6年振りに発生したジフテリア患者¹⁾, および21年振りに発生したボツリヌス食中毒²⁾ の検査においてこの問題に直面した。

我々は, 発生が稀となった感染症の原因細菌の同定技術の確保と迅速診断の目的でPCR法などの遺伝子診断を積極的に導入し, 昨年はジフテリア毒素の構造遺伝子をターゲットにしたジフテリア菌同定用PCRの導入を試みた³⁾。今回は *B. pertussis*, および *N. meningitidis* 同定用PCRについて検討したのでその成績を報告する。

II 材料と方法

1. *B. pertussis* の同定

1) 菌株

B. pertussis の標準株として日本細菌学会より分与を受けた IID 510株を使用した。PCRの特異性の検討には臨床分離 *Streptococcus pyogenes* 5株 (93002: A群 T-1, 93004: A群 T-12, 93005: A群 T-12, 93009: A群 T-12, 93010: A群 T-12), 臨床分離 *Escherichia coli* 1株を使用した。

2) PCR

百日咳毒素 (Pertussis toxin: PT) オペロンの promoter region のうち, 186bp を特異的に増幅するプライマーとして, Houard⁴⁾ の報告したプライマーを一部

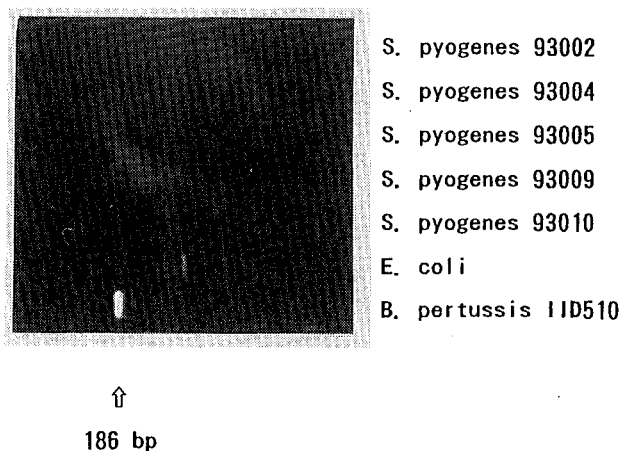


図1 PCRによるPTオペロン

promoter region の検出

改変した PTJY-1 : 5'-aac-gcg-cat-gcg-tgc-aga-tt-3', および PTJY-2 : 5'-tct-gcg-ttt-tga-tgg-tgc-ct-3' を使用した. 反応液の組成は既報⁵⁾ のとおりとし, ヒートサイクルは94°C30秒, 55°C30秒, 72°C30秒25回とした. 増幅断片の検出には3%アガロースゲルを使用した. なお, テンプレートには被検菌の生理食塩液懸濁液を100°C10分間加熱した後, 氷冷したものを使用した.

2. *N. meningitidis* の同定

1) 菌株

N. meningitidis の標準株として日本細菌学会より分与を受けた IID 854株 (Group A) 及び IID 855株 (Group C) を使用した. PCRの特異性の検討には細菌性髄膜炎からの分離頻度が高い菌種である *Staphylococcus epidermidis* 2株 (臨床分離8011株, 8014株: 秋田組合総合病院より分与), *Streptococcus pneumoniae* 2株 (臨床分離7018株, 8059株: 秋田組合総合病院より分与), MRSA 1株, *E. coli* 2株 (臨床分離12278株, および EHEC EDL-931株) を使用した.

2) PCR

①プライマー

N. meningitidis 同定用プライマーには, 表1に示す4種類の遺伝子をターゲットとした8組を試用した.

②反応液の組成, ヒートサイクル, テンプレートの調製は前記 *B. pertussis* の場合と同様としたが, 増幅断片の検出には2%アガロースゲルを使用した.

III 結果および考察

1. 百日咳菌

プライマー PTJY-1, および PTJY-2 を使用した PCRによる PT オペロンの promoter region 検出の特異性について検討した結果を図1に示した. 供試した

B. pertussis IID 510株からは予測される 186bp の DNA断片が増幅されたのに対して, 同時に供試した *S. pyogenes* 5株と *E. coli* 1株のいずれからも 186bp の DNA断片は増幅されなかった. PTは百日咳菌のビルレンスファクターであり, その産生は5つの遺伝子領域からなるオペロンにより支配されている⁴⁾. *B. pertussis* と同属の *B. bronchiseptica* と *B. parapertussis* も PT オペロンを保有するが, PTは産生しない. このことは, これら2菌種のオペロンの promoter 領域に変異があることに起因することが知られている⁴⁾. Houard たちは PT オペロンをターゲットとしたプライマーが PCRによる *B. pertussis* の特異的同定に有用であることを報告している⁴⁾. 我々も今回, Houard たちが報告したプライマーを一部改変したプライマーが *B. pertussis* に特異的であることを確認した. なお, 今回導入した PCRは, 平成8年に秋田県大館市で発生した百日咳患者から分離された *B. pertussis* の同定に応用した.

2. 髄膜炎菌

N. meningitidis IID 854株 (Group A), および IID 855株 (Group C) をテンプレートとして, 8組のプライマーを試用した結果を図2に示した. それらのうち, omp をターゲットにした NM-1/NM-2, NM-3/NM-4 と porA をターゲットにした NMPorA/NMPorS, PorNMA/PorNMS では Group A の IID 854株, Group C の IID 855株のどちらからも予測されるサイズの DNA断片が増幅された. これに対して, H8omp をターゲットとしたプライマーのうち NM7/NM8 では IID 854株と IID 855株から予測される DNA断片が増幅されたものの, NM9/NM10では IID 855株から DNA増幅断片が得られなかった. この

表1 *N. meningitidis* 同定に試用したプライマー

ターゲット遺伝子	Gene Bank Accession No.	プライマー名称	塩基配列 (5'-3')	増幅サイズ
omp	M80593	NM1	cag-tct-gaa-gct-caa-att-cc	446 bp
		NM2	ata-cgc-aca-cta-ttg-cct-gc	
		NM3	tat-aca-tcg-ctt-tct-gaa-gc	295 bp
		NM4	caa-acg-aca-aga-att-tct-gc	
H8omp	Y00530	NM7	ggt-ttg-tta-atg-gcg-gtt-gc	172 bp
		NM8	ttc-agc-age-agg-agt-tgc	
		NM9	ggt-cac-aac-ctt-gtg-att-gc	227 bp
		NM10	ttc-atc-aaa-gca-ccg-tga-cc	
Class 1 Pollin	L22636	NMPILS	gat-tgt-gat-tgc-cat-cgt-cg	324 bp
		NMPILA	gaa-ccg-ttt-tga-cgc-ttg-gc	
		NMPIL2S	gag-ctg-atg-att-gtg-att-gc	127 bp
		NMPIL2A	cgg-ctg-att-ttt-gac-ctt-cg	
porA	X57180 X52995	NMPorS	aag-ggc-tga-agg-ctg-ttt-gg	237 bp
		NMPorA	aaa-ccg-gca-tat-cgt-cgt-gg	
		PorNMA ⁵⁾ PorNMS ⁶⁾	tga-ttt-cgg-ctc-gtt-tat tgg-aaa-aat-cat-aat-caa	860 bp

ことは、H8omp の塩基配列が菌株により異なることを示唆していた。一方、Class I pillin をターゲットとした2組のプライマーによっては予測されるDNA増幅断片が全く得られなかった。以上の結果に基づき、omp をターゲットにした NM-1/NM-2, porA をターゲットにした PorNMA / PorNMS の2組のプライマーについて更に特異性の検討を実施した。図3にその結果を示した。いずれのプライマーによっても、供試した *S. epidermidis* 2株, *S. pneumoniae* 2株, MRSA 1株, *E. coli* 2株のいずれからもDNA増幅断片が得られなかった。

PCRにより細菌を同定する場合、毒素の構造遺伝子などその細菌に特有の病原因子をコードする遺伝子をターゲットとすることが望ましいが、*N. meningitidis* に特有な病原因子の詳細は不明である。Kertesz⁶⁾ たちは Class 1 outer membrane protein をコードする porA 遺伝子をターゲット遺伝子に選定し、PCR-RFLP による *N. meningitidis* の型別法を確立した。我々は Kertesz たちのプライマーに加えて porA, omp, H8omp, Class I pillin をターゲット遺伝子とするプライマー7組、合計8組のプライマーの有用性について検討したところ、ターゲット遺伝子として適切であったのは omp と porA であった。一方、H8omp の塩基配列は菌株により異なることが示唆された。今後、多数の株

について H8omp 遺伝子の塩基配列を解読、比較することによって、PCR-RFLP法のターゲットとして適切な領域が見いだされる可能性があるものと考えられた。

IV 文 献

- 1) 齊藤志保子 他：6年ぶりに発生したジフテリアと反省点, 病原微生物検出情報, 14, 146-147 (1993)
- 2) 八柳 潤 他：県内初のA型ボツリヌス食中毒の概要と当所の検査対応-秋田県, 病原微生物検出情報, 14, 171-172 (1993)
- 3) 八柳 潤 Polymerase Chain Reaction によるジフテリア毒素遺伝子の検出, 秋田県衛生科学研究所報, 39, 29-30 (1995)
- 4) Houard, S. et. al., Specific Identification of *Bordetella pertussis* by the Polymrase Chain Reaction., *Res. Microbiol.*, 140, 477-487 (1989)
- 5) 八柳 潤 他：平成3年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, 36, 43-47 (1992)
- 6) Kertesz, D. A. et. al., Characterization of *Neisseria meningitidis* by Polymerase Chain Reaction and Restriction Endonuclease Digestion of the porA gene., *J. Clin. Microbiol.*, 31, 2594-2598 (1993)

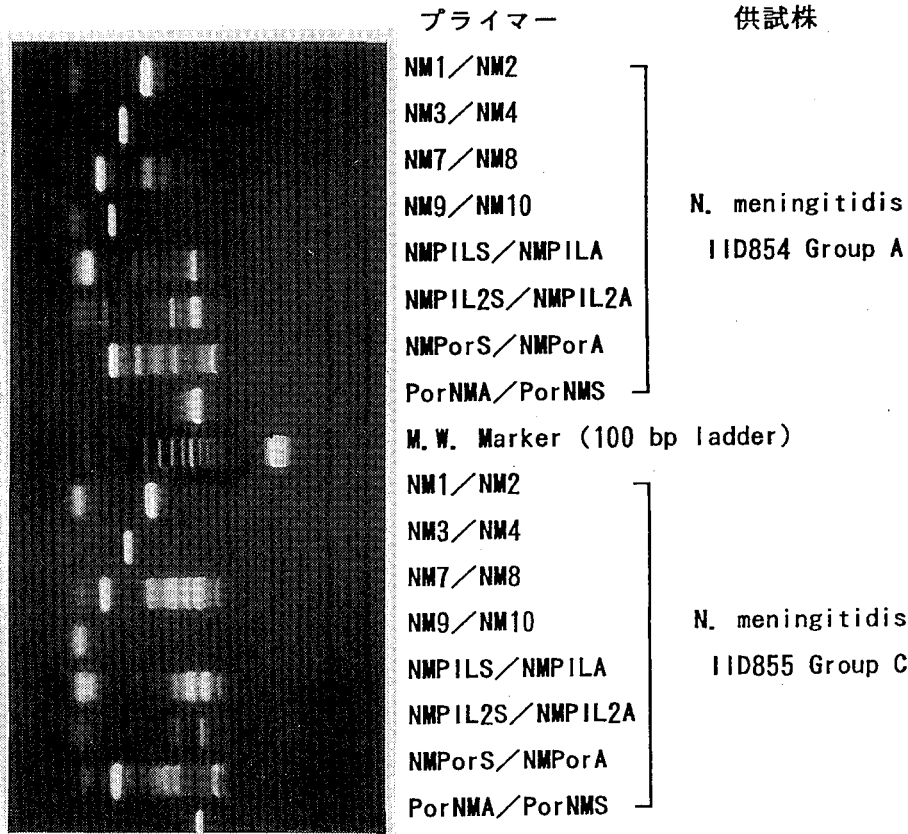
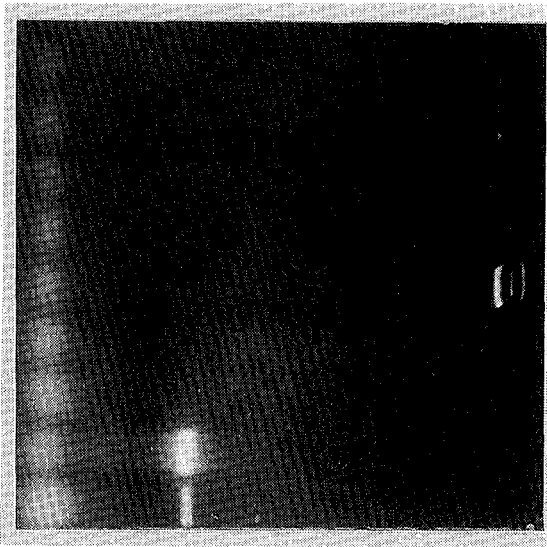


図2 omp, H8omp, Class 1 pillin, PorA 遺伝子をターゲットとしたプライマーを使用したPCR結果

プライマー NM1/NM2



↑
446 bp

- S. epidermidis 8011
- S. epidermidis 8014
- S. pneumoniae 7017
- S. pneumoniae 8059
- MRSA
- E. coli 12278
- E. coli EDL-931
- N. meningitidis IID 854
- N. meningitidis IID 855

プライマー PorNMS/PorNMA



↑
860 bp

- S. epidermidis 8011
- S. epidermidis 8014
- S. pneumoniae 7017
- S. pneumoniae 8059
- MRSA
- E. coli 12278
- E. coli EDL-931
- N. meningitidis IID 854
- N. meningitidis IID 855

図3 プライマー NM1/NM2, PorNMS/PorNMA を使用したPCRの特異性

ヤマビルに吸血された動物同定システムに関する調査研究

齊藤志保子 八柳 潤 斎藤 博之

ヤマビルが吸血している動物を同定するためPCR法とサザンブロットハイブリダイゼーション法を導入した。1994年~1995年に秋田県内で捕獲されたヤマビルについて検査したところ、363匹中63匹に、PCRによる増幅断片が得られた。動物種については、ヒト・家兎の両者吸血が1匹、ヒトのみ吸血が2匹確認された。

キーワード：ヤマビル, PCR, サザンブロットハイブリダイゼーション

I はじめに

ヤマビルは古くから上小阿仁村の国有林の一部で生息が確認されていた。昭和50年代半ば頃から五城目町、井川町、昭和町、及び秋田市の東部に連なる出羽丘陵山麓地帯の国有林を中心に急速に生息域を広げ、一部の民有林や農耕地、集落内でも生息が確認されるようになった。林業関係者の被害が甚大であったため、昭和56年から営林局(署)が対策に取り組んで来たが、近年になって、広い範囲の民有林、井川町の大台キャンプ場などで被害が発生し、ついで集落内の一般住民に被害が広がった。このようなことから、「井川町ヤマビル駆除対策懇談会(平成元年)」が開催され、県としては平成5年に、庁内4部6課による現地検討会を行い、「ヤマビル被害総合対策事業」を実施するため庁内4部7課からなる「秋田県ヤマビル被害対策会議」を設置した。

当所では、ヤマビルの拡散防止対策を側面から支援することを目的として、県内において、ヤマビルが吸血対象としている動物を明らかにするため、ヤマビルが吸血している動物種同定システム開発とその方法による被吸血動物の解明について分担した。その分担調査研究として、1993年から1994年にフィールドで捕獲されたヤマビルについて被吸血動物を検査するとともに、実験室内で、吸血後の動物種検出可能期間について検討したので概略報告する。

II 材料・方法

1. 遺伝子学的方法による被吸血動物の同定

① PCR法

プライマー配列¹⁾は哺乳動物28SリボゾームRNAをコードする遺伝子を標的とした。反応条件は表1に示した。増幅対象とした遺伝子領域は、哺乳動物一般が共通している部分と、動物種ごとに異なる部分が混在している。プライマーはこの共通部分を認識するようにデザインされており、増幅した結果得られるD

NA断片はその内部に各動物特有の塩基配列を持つことになる。

凍結保存しておいた捕獲ヤマビルを細かく切り、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Proteinase K 溶液で56°C60分消化し、体内に残っている血液から被吸血動物に由来する遺伝子を抽出し、PCRを行った後、4%アガロースゲルで電気泳動し、目的とするDNA増幅断片の有無を確認し、増幅断片を有する検体についてのみサザンブロットハイブリダイゼーションを行った。

表1 PCR反応条件

Denaturation	94°C	2 min
Annealing	51°C	3 min
Extension	72°C	2 min
Cycle	30	
Final extension	72°C	7 min

② サザンブロットハイブリダイゼーション法

ベーリンガー・マンハイム社のDIG-ELISA法のキットを用い、同定対象動物由来標識DNAとヤマビルのPCRで得られたDNA増幅断片との相同性を検討することにより動物種の同定を試みた。

DIG-ELISA法の原理：DNAはランダムプライムシステムによりジゴキシゲニン標識デオキシウリジン三リン酸(DIG-dUTP)で標識される。目的のDNAへのハイブリッド形成後、ハイブリッドは酵素標識抗体(抗ジゴキシゲニン-アルカリフォスファターゼ：抗DIG-ALP)を用いたELISA法により発色、発光反応で検出される。

ヤマビルの体内に残っていた血液より増幅したDNA断片から動物種を同定するために、同定対象動物(後述)の血液から同様の術式にて増幅したDNAをプローブとするサザンブロットハイブリダイゼーション

ンを行った。

プローブはランダムプライミングによりジゴキシゲニンでラベルした。ハイブリダイゼーションは×4 SSP E の条件で68°C 1晩行い、アルカリフォスファターゼ発光系によるオートラジオグラフィーでバンドを検出した。

③ 同定対象動物

ヤマビルの生息地域に多数生息していると思われる動物(表3参照)のうち、アカネズミ、カモシカ、キジ、キツネ、クマ、タヌキ、テン、ノウサギ、ヒト、ヤマドリの10種、及び家兎(1994年の検体のみ)を同定対象動物とした。当所で飼育していた家兎、捕獲したアカネズミ以外は、林政課、大森山動物園、一般狩猟家の協力により、血液を入手した。

④ 検体：1994年6月～1995年10月に捕獲したヤマビルを検体とし、検査時まで-20°Cで保存した。

表2 捕獲地域別検体数

	1994年	1995年	計
井川町	47匹	36匹	83匹
昭和町	23匹	35匹	58匹
五城目町	86匹	103匹	189匹
秋田市	30匹	3匹	33匹
合計	186匹	177匹	363匹

表3 ヤマビル採取場所でみられた動物など

五城目ヨモギ内沢	カモシカ(姿確認)、ウサギ、キツネ(足跡) カモシカ道、休息場所
五城目	タヌキ、キツネ、ウサギ(足跡)
五城目試験地	カモシカ、タヌキ、イタチ、ノウサギ ハタネズミ、クマ

2. 吸血後の被吸血動物同定可能期間に関する検討

① 求餌行動が活発なヤマビルにヒト及び家兎の血液を吸血させた。

家兎血液：保定した家兎の背部にヒルを吸着させ、自ら離れるまで放置した。

ヒト血液：新鮮な脱繊維血液をしみこませた脱脂綿から吸血させた。

なお、吸血前と吸血後のヤマビルの体重を測定した。

② 吸血後、1週間毎に12週間後までヒトおよび家兎吸血ヒルを2匹づつ凍結保存した。凍結前にヤマビルの体重を測定した。

③ 前記のPCRおよびサザンブロットハイブリダイゼーション法により家兎、およびヒトを対象として同定の可否を検討した。

III 結果

1. 被吸血動物の検索

PCRの結果およびサザンブロットハイブリダイゼーションの結果の一部は図1、2に示した。

① 吸血ヤマビルの検索

1994年捕獲ヤマビル186匹中40匹、1995年捕獲ヤマビル177匹中23匹、計363匹中63匹からDNAの増幅断片が検出された。対象動物の血液のPCRで増幅された遺伝子断片より分子量の小さいバンドがほとんどのヒルでみられた。また、その小さい分子量のバンドに加えてそれに近い分子量との2本のバンドがある同じパターンを検体が21みられた。それ以外のバンドを持つものは9検体みられた。

② 被吸血動物種の同定

①で検索した63匹のヤマビルについて被吸血動物種の同定を試みたところ、人及び家兎の両者の血液を吸血したとみられるものが1匹(1994年五城目町で捕獲)、ヒトを吸血したとみられるものが2匹確認された。それ以外の60匹については、10種の同定対象動物のいずれも吸血を確認できなかった。

2. 吸血後の被吸血動物同定可能期間の検討

今回使用した同定システムで、吸血後どれ位の期間まで被吸血動物を同定することが可能か検討した。ヒト血液を吸血したヤマビルでは最長10週間後まで、家兎血液を吸血したヤマビルでは最長11週間後まで同定が可能であった。なお、図3に示すように、同定可能期間はヤマビルの体重におよそ比例する傾向がみられた。

IV 考察

本調査に当たり、予備実験として、同定対象動物の各血液についてPCRを行ったところ、目的とする増幅断片が得られた。また、サザンブロットハイブリダイゼーションでの特異性も確認された。

ヤマビルのPCRでは、目的とするDNA増幅断片とは異なる分子量のものが認められ、このうち対象動物の血液の増幅断片に比べて、やや小さい増幅断片が63匹のヤマビル大半に検出された。それらの断片の分子量はほぼ同一であったことから、これらのヤマビルはある種の動物を吸血している可能性が高いものと考えられた。また、小さい分子量の増幅断片が2本認められた21検体については、吸血動物種によるのか、また2種の異なる動物を吸血したのか不明である。対象動物血液の増幅断片と類似した大きさの断片を持っていたのは9検体であった。

次に、ヤマビルのPCRの増幅断片について、吸血動物を同定するため、ヤマビル生息地域に比較的多く棲息していると考えられる10種類の動物を選定し、その標識

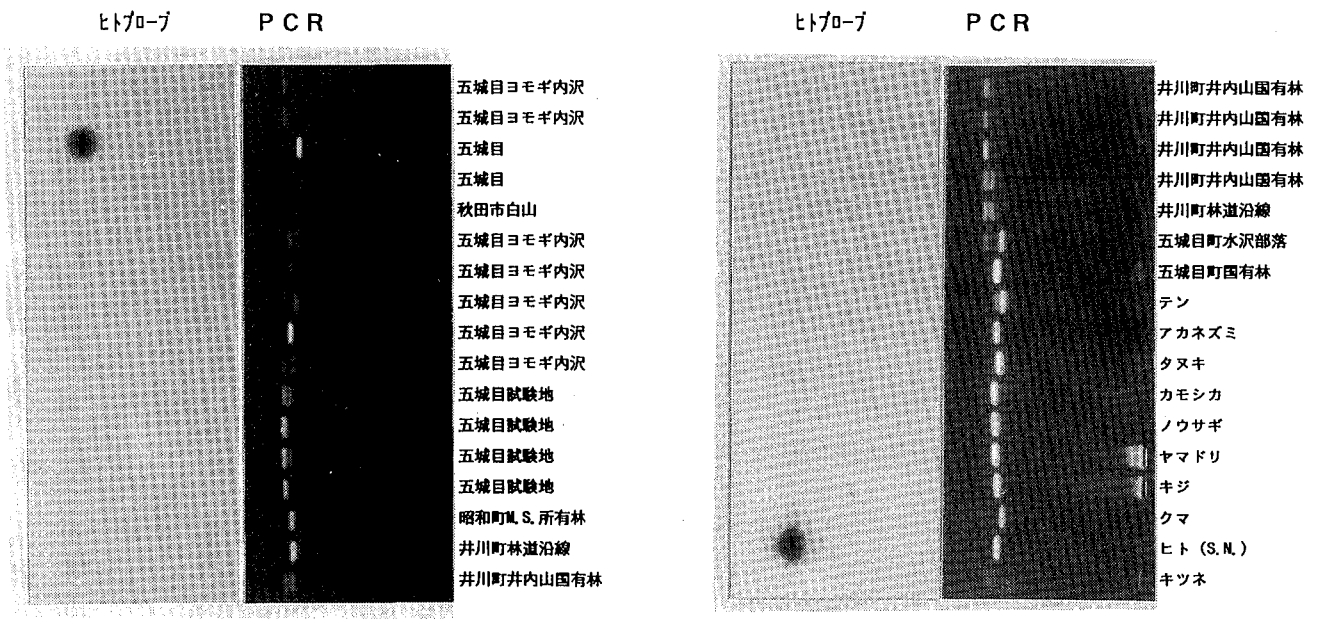


図1 PCRの電気泳動結果と DIG-ERISA 法によるハイブリダイゼーション (対象動物：ヒト) 結果

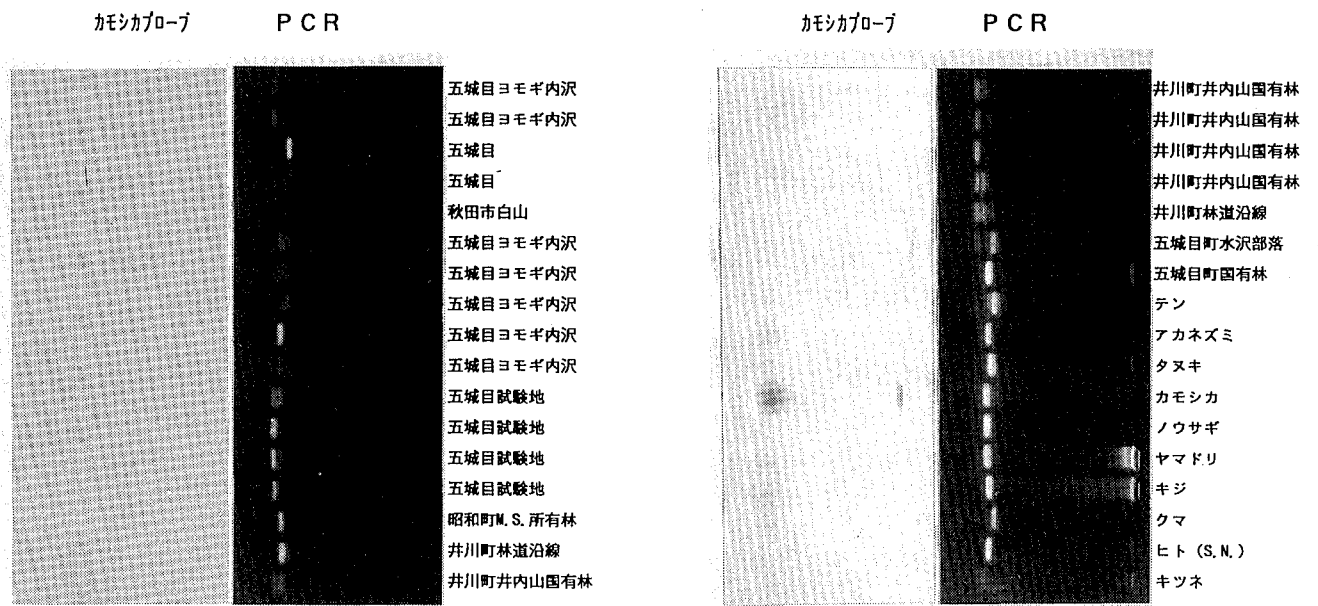


図2 PCRの電気泳動結果と DIG-ERISA 法によるハイブリダイゼーション (対象動物：カモシカ) 結果

DNAを用いてサンプロットハイブリダイゼーションを行った。

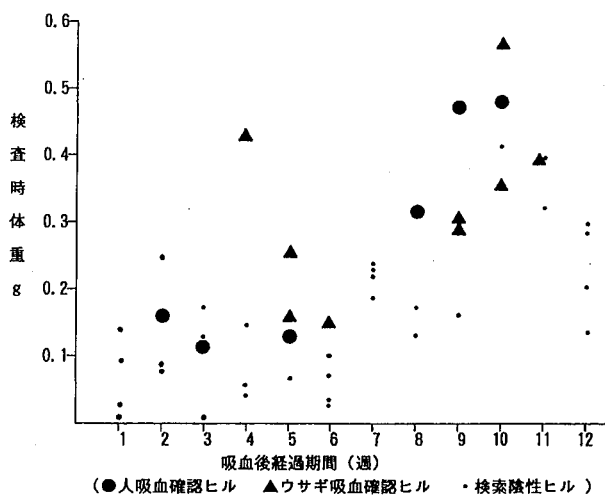
家兎・ヒト吸血が1匹、ヒト吸血が2匹確認されたが、それ以外の動物を吸血したヤマビルは確認できなかった。家兎とヒトの両者を吸血したとされた検体については、ヒトの標識DNAとのハイブリダイゼーションの結果がホモと同程度で明らかであったが、家兎の標識DNAでのハイブリダイゼーションではバックグラウンドが高かったことなどから、家兎の反応は非特異反応であった可能性も否定できない。ヒト吸血を確認されたヤマビルは捕獲の段階でヒト吸血が疑われていたり、ヒト吸血が確かな検体であった。吸血動物種が同定された3検体はPCRで対象動物血液の増幅断片と類似した分子量の明瞭なバンドが認められた9検体中の3検体であった。

ヤマビルの大発生が問題となっている千葉県南房総での調査ではホンシュウシカ、ニホンザル、ノウサギなどが生息域拡大に関与している可能性が示唆されている²⁾。県内では各種動物の中でもカモシカがヤマビルの生息域拡大の原因と疑われていたが、1993年捕獲ヒル検査に加え、1994年度に供試したヤマビルは、特に、カモシカの行動域から重点的に捕獲したものであったにもかかわらず、カモシカを吸血したヤマビルは全く検出されず、カモシカがヤマビルの主たる吸血対象動物である証拠は得られなかった。

今回使用した同定システムでは、吸血後、最長11週の間被吸血動物を同定することが可能であった。図3に示すように、検査時の体重とおおよそ比例する傾向がみられたが、これは大きい固体は吸血量も多いことによるものと考えられた。

人為的に吸血させた場合、ヒルはほとんど動かず、血液成分の検出が不可能な時期になった頃には活動もやや活発になってくるが、求餌行動は顕著ではなく、フィールドでの吸血ヒルを捕獲するのは非常に困難と思われる。今回検査に供したヤマビルはかなり活発な求餌行動がみられるものが多く、目的とした吸血まもないヤマビルは検体中に少なかったと考えられた。

図3 吸血後の被吸血動物同定可能期間



今後、この同定システムを用いて被吸血動物を検索していくには、吸血後時間のたっていないヤマビルを捕獲し検査に供すること、動物およびヤマビルについて生態学的な面も考慮しながら、新しい対象を検討することが必要と考えられた。

最後に、ヤマビル被害対策会議のメンバーであり、ヤマビルの捕獲及び生息動物の情報などにご協力いただいた藤岡誠氏、ヤマビル飼育その他の資料を提供いただいた林業センターの長枝昭彦氏に感謝します。また、対象動物の採血にご尽力いただいた大森山動物園の小松守氏に感謝します。

文 献

- 1) 第3回DNA診断フォーラム記録集、平成3年12月、DNA診断フォーラム世話人会
- 2) 吉葉繁雄、他、各地に蔓延中の山蛭バイオハザードの諸問題—南房総での環境医学的追跡を中心に—、平成4・5年度科学研究費補助金一般研究(C)研究成果報告書：1994

秋田県内の温泉水中の ^{222}Rn 含有量について (第一報)

武藤 倫子 村上 恭子 佐野 健

秋田県内における温泉水中の ^{222}Rn 含有量レベルとその変動幅を把握し, 温泉利用による ^{222}Rn 被曝量算定の基礎資料とするとともに, 一方で, 放射能泉を探索することを目的に, 県内の温泉郷と称されている地域で ^{222}Rn 含有量等の調査を1982年から1992年まで行った. 今回は, 八幡平地域の源泉の調査結果について示したが, 各源泉間の ^{222}Rn 量の差が大きく, また, 経時変化の大きい源泉が多かった. 一方, 温泉法では温泉水 1 l 中に ^{222}Rn が 3,000 pCi 以上含有している場合は「放射能泉」になる, と規定しているが, ^{222}Rn 量の比較的多い源泉があったものの, 放射能泉はなかった.

キーワード: 温泉, 放射能, ラドン, ラジウム

I はじめに

近年, これまで人工放射線ほど問題視されていなかった自然放射線が注目されるようになってきた. 特に, 我々が宇宙線等の自然放射線源から受ける被曝線量の約半分を占めると言われているラドン-222 (以後 ^{222}Rn) およびその短寿命核種については, 肺ガンのリスクになるとの報告もあり¹⁾, 欧米を中心に, 濃度測定や被曝線量評価が盛んに行われている.

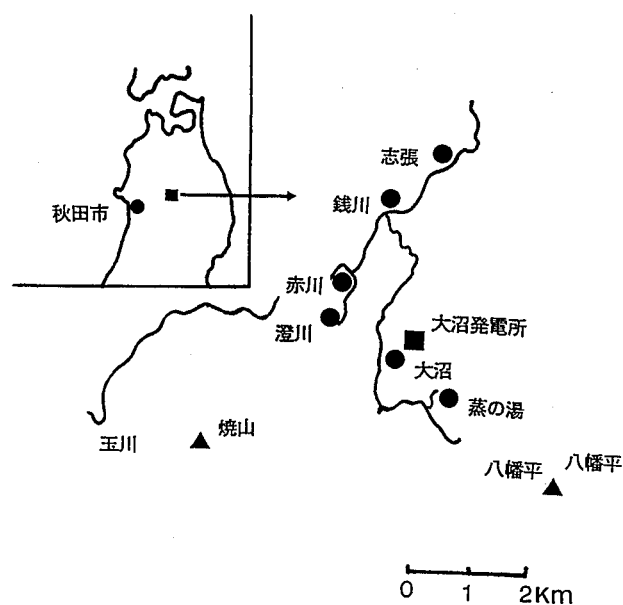
日本においては, 1992年度から科学技術庁と地方衛生研究所等の連携のもとに, 家屋内を対象にラドン濃度水準調査が実施されており, さらに1996年度から家屋外の調査も予定されている.

一方, 温泉法では温泉水 1 l 中に ^{222}Rn が 2,000 pCi 以上含有している場合, その温泉は「鉱泉」となり, さらに 3,000 pCi 以上含有している場合は「放射能泉」という療養泉になる, と規定している.

当所では, 1949年から1984年まで温泉の成分分析 (一般依頼検査) を行っていたが, 県内には ^{222}Rn の親核種であるラジウム-226 (以後 ^{226}Ra) を含む花崗岩がほとんど分布していないこともあって, 温泉水中の ^{222}Rn 測定は行われていなかった. しかし, 液体シンチレーションカウンターにより比較的低レベルの測定が可能となったことや^{2, 3, 4)}, 低濃度の ^{222}Rn を含有する温泉であっても浴室の環境によってはかなりの濃度になるとの報告もあったことから⁵⁾, 秋田県内の温泉水中の ^{222}Rn 含有量を把握し, 放射能泉の有無を明らかにする目的で, 1982年から1992年まで県内各地の源泉について ^{222}Rn に関する測定調査を行った.

本報告では, その第一報として ^{222}Rn と ^{226}Ra の分析法の検討結果および八幡平地域の源泉中の両成分の含有量および ^{222}Rn の変動に関する調査結果について報告する.

図1 八幡平地域の温泉



II 調査方法

^{222}Rn はガス体であるため、途中で抜気されている源泉、あるいは直接貯留タンクに入っているような源泉、さらに採水時にガス抜けするような源泉は測定の対象としなかった。ただし、地熱水については蒸気と比較するために調査対象とした。対象温泉の分布を図1に示した。また、調査は年3回(5月, 8月, 10月)行ったが、初年度だけ5月から10月まで毎月1回行った。 ^{226}Ra 測定は初回のみ行った。

III 測定方法

^{222}Rn と ^{226}Ra の分析方法を図2に示した。温泉分析法指針の「液体シンチレーションカウンター法(LSC法)」によったが、 ^{226}Ra の分析過程での BaSO_4 の溶解が、指針によるEDTEでは難しかったことから、リン酸を用いた。

また、再現性テストに用いた試料は ^{226}Ra 標準液で調整した。

IV 結果と考察

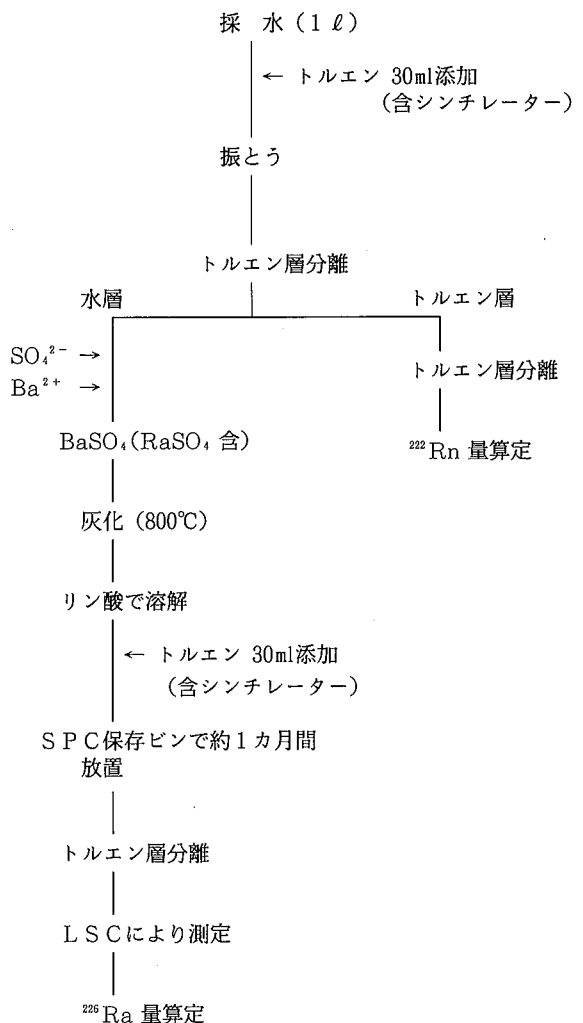
^{222}Rn と ^{226}Ra の再現性テストの結果を表1および表2に示した。18°Cでの10回測定によるラドンの変動係数(標準偏差/平均値×100)は6.5%, ラジウムの変動係数は12.6%であった。また、比較的温度の高い源泉での測定誤差を知る目的で、6月の調査時に赤川温泉(泉温: 43.0°C)と蒸の湯温泉(泉温: 75.0°C)について3回の繰り返し試験を行ったところ、両源泉での変動係数は各々13.0%, 10.0%であった(表3)。このことから、泉温による測定誤差は小さいと考えられた。

表4には各源泉の ^{222}Rn と ^{226}Ra 、および泉温や蒸発残留物量等の測定値を示した。 ^{226}Ra と ^{222}Rn が平衡状態を維持していると思われる源泉はなかった。特に、焼山を挟んで八幡平地域の西に位置する玉川温泉では ^{226}Ra 濃度が比較的高いにもかかわらず、 ^{222}Rn の含有量はかなり低かった。高々温泉(>60°C) 21例についてまとめた報告によると、($^{222}\text{Rn}/^{226}\text{Ra}$)は0.06から0.83の範囲にあり、平均は0.23、ただし、1例のみ6.42であった、としている⁶⁾。今回の結果では、銭川温泉の間欠泉が高温(82°C)にもかかわらず、($^{222}\text{Rn}/^{226}\text{Ra}$)で高い値(40.1)を示した。また、地熱発電のために八幡平地域にボーリングされた井戸(地熱井)はおよそ1,000mの深度であるが、そこから湧出してきた熱水中の ^{222}Rn 含有量は<0.5 pCi/ℓと低い値であった。また、地熱井から熱水と同時に湧出する蒸気の ^{222}Rn 量はおよそ150 pCi/ℓであった。

表5には1982年から1991年までの各源泉の ^{222}Rn 含有量の変化を平均値および標準偏差等で示した。 ^{222}Rn は

ガス体であることから、各源泉ともその含有量の変動幅は大きいと考えられるが、特に、蒸の湯や澄川、大沼等のように、地下から上昇してきた火山ガスが地表水に混入して出来た源泉ではその変化が大きかった。 ^{222}Rn 量の最も高かったのは大沼温泉の684.5 pCi/ℓ(1985年10月)、最も低かったのは銭川温泉(川原の湯)の1.2 pCi/ℓ(1983年9月)であり、変動幅の最も大きかったのは澄川温泉(酸の湯)で変動係数は114%であった。

図2 ^{222}Rn , ^{226}Ra の分析操作



※ LSC: 液体シンチレーションカウンター

次に、同一温泉敷地内にある源泉の ^{222}Rn 量の変化を図3, 4に示した。()内は変動係数である。図で明らかのように、銭川温泉の2源泉では、測定値が一部交錯していたものの、泉温の低い「岩の湯」が「中風呂の湯」より2倍近く高い値で推移していた。岩の湯と中風呂の湯間は約10mである。また、赤川温泉には酸性の硫

化水素泉と1980年にボーリングによって湧出したほぼ中性の単純温泉（深度≒200m）があるが、2源泉の泉温を比較するとボーリング井のほうが約13℃高いが、²²²Rn量もボーリング井のほうが高く（≒2.5倍）、銭川温泉の場合と異なっていた。赤川温泉の2源泉間の距離もおよそ10mである。これらのことから、²²²Rn含有量と泉温は相関がないものと推察された。さらに、八幡平地域では一部の源泉で泉温の低下や湧出量の減少、あるいは含有成分の減少等が見られた。銭川温泉の岩の湯においても表6に示したようにCL⁻イオン等の内容成分が大きく変動していたが、²²²Rn量の変動とは相関していなかった。

表1 ラドン水を用いた再現性テスト結果

	²²² Rn量 (pCi/ℓ)
1	133.0 ± 4.0
2	135.1 ± 2.4
3	135.2 ± 3.4
4	120.7 ± 3.5
5	128.7 ± 4.4
6	135.4 ± 2.1
7	128.4 ± 2.9
8	119.1 ± 3.0
9	125.0 ± 3.0
10	110.6 ± 3.4
平均	127.1 ± 8.3 (S.D)
変動係数	6.5%

表2 リン酸処理による²²⁶Ra (22.0 pCi/ℓ) の再現性テスト結果

	²²⁶ Ra量 (pCi/ℓ)
1	18.9 ± 0.9
2	18.9 ± 1.0
3	18.8 ± 1.2
4	19.1 ± 0.7
5	16.3 ± 1.1
6	19.3 ± 0.8
7	16.7 ± 0.6
8	23.0 ± 1.2
9	18.0 ± 1.1
10	14.5 ± 0.8
平均	18.3 ± 2.3 (S.D)
変動係数	12.6%

表3 二源泉における²²²Rnの変動係数

	赤川	蒸の湯
温度 (°C)	43.0	75.0
²²² Rn量 (pCi/ℓ)	90.8 ± 14.6	228.8 ± 27.9
変動係数 (%)	16.0	12.2

測定回数：3回
1983. 6. 19 (雨)

V まとめ

秋田県八幡平地域の各源泉について、²²²Rnと²²⁶Raの含有量およびその変動について調査した。その結果、次のことが分かった。

1. ²²²Rn含有量の最も高かったのは大沼温泉の684.5 pCi/ℓ (1985年10月)、最も低かったのは銭川温泉

(川原の湯)の1.2 pCi/ℓ (1983年9月)であった。

2. 最も変動の大きかったのは澄川温泉(酸の湯)で、変動係数は114%であった。

3. 泉温やCL⁻イオン、SO₄²⁻イオン等の内容成分の変動と²²²Rn含有量の変動には相関が見られなかった。

4. 比較的近い源泉であっても, ^{222}Rn 含有の経時的変動は異なっていた。

5. 八幡平地域では, 放射能泉 ($3,000 \text{ pCi}/\ell$ 以上) は見られなかった。

図3 銭川温泉の ^{222}Rn 量の経時変化

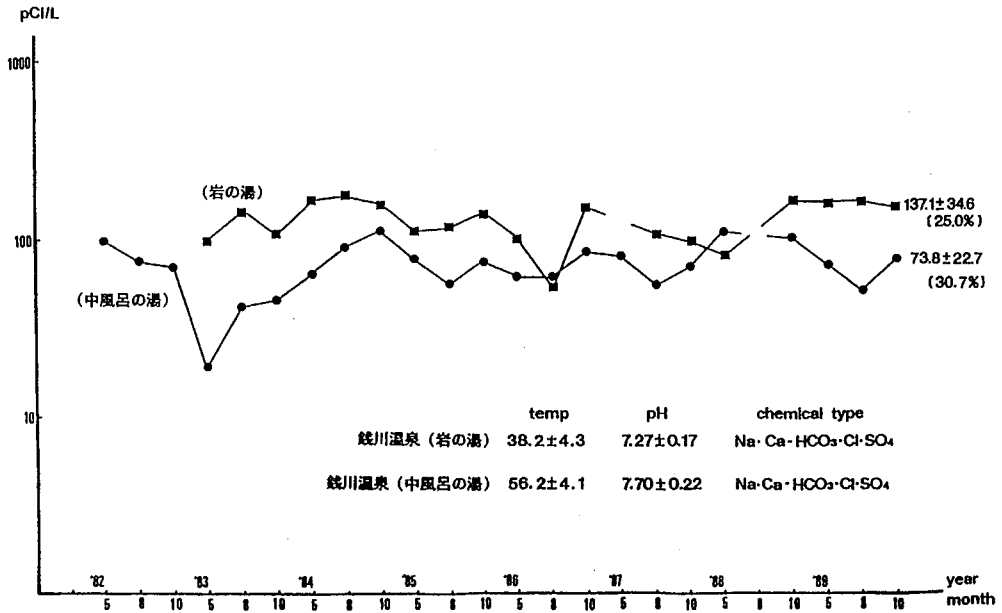


図4 赤川温泉の ^{222}Rn 量の経時変化

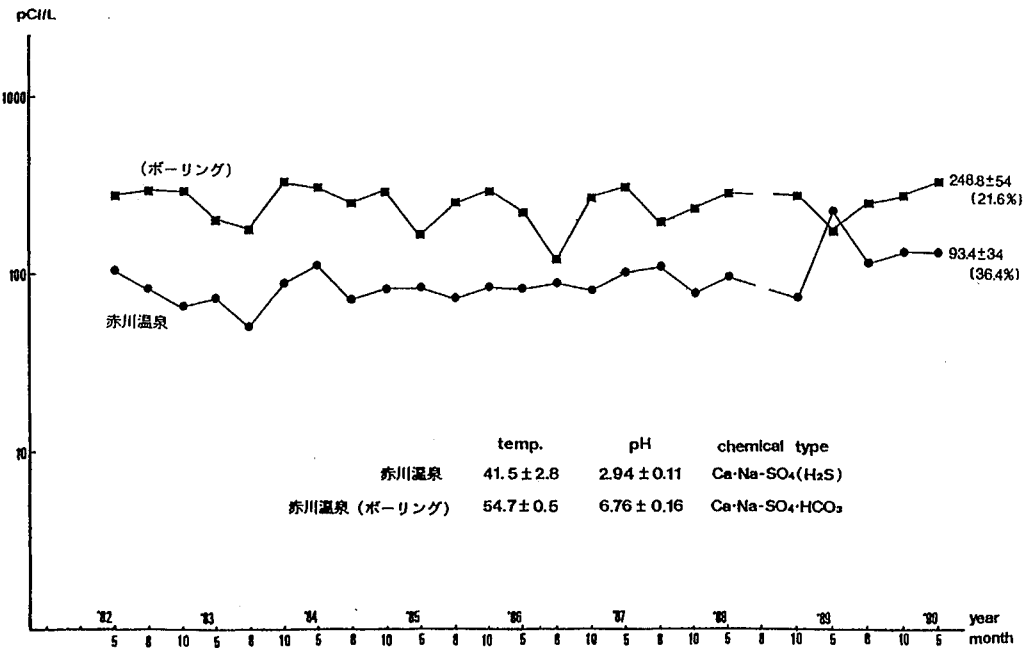


表4 八幡平地域の各源中の ^{222}Rn ・ ^{226}Ra 含有量

源 泉 名	泉温 (°C)	PH	RES.(mg/ℓ)	^{222}Rn (pCi/ℓ)	^{226}Ra (pCi/ℓ)
赤 川	43	2.7	416	98.1 ± 1.6	4.1 ± 0.4
“ (ボーリング)	54	6.8	472	316.1 ± 4.5	10.1 ± 0.9
澄 川 (酸の湯)	68	2.2	2037	24.2 ± 1.6	16.3 ± 0.9
銭 川 (中風呂の湯)	65	7.9	730	109.0 ± 3.3	4.0 ± 0.5
“ (間欠泉)	82	7.7	910	80.2 ± 2.0	2.0 ± 0.4
“ (川原の湯)	96	8.2	1084	3.5 ± 0.8	7.5 ± 0.9
大 沼	57	6.8	347	621.6 ± 10.7	2.5 ± 0.3
志 張	48	8.1	364	221.8 ± 4.4	3.5 ± 0.5
地熱井 0-8R	97	7.8	2435	< 0.5	5.2 ± 0.4
“ 0-3R b	97	8.0	2109	< 0.5	4.8 ± 0.5
玉 川 (大噴) *	98	1.1	4030	< 0.5	26.0 ± 1.2

※RES.: 蒸発残留物

(1982. 5 測定)

*: 参考値

表5 八幡平地域の各源中の ^{222}Rn 含有量変化

源 泉 名	平均値および標準偏差	最 高 値	最 低 値
蒸の湯	230.2 ± 145.0	594.4	13.0
赤 川	95.4 ± 41.3	266.6	58.1
“ (ボーリング)	233.9 ± 69.7	337.3	39.5
澄 川 (酸の湯)	99.4 ± 113	655.9	19.3
銭 川 (中風呂の湯)	69.3 ± 28	149.3	19.1
“ (間欠泉)	13.4 ± 9.2	39.7	1.7
“ (川原の湯)	12.1 ± 15.6	66.5	1.2
大 沼	442.0 ± 153.0	684.5	22.6
志 張	174.3 ± 51.0	296.7	56.0

(1982~1991)

文 献

- 1) 辻本 忠, 他. ラドンとその娘核種 (その1) 一何が問題か一. 原安協だより, 1993, 4
- 2) 本間 義夫, 他. 液体シンチレーションカウンターにおける積分計数法の応用. 分析機器, 1977; 15-5: 227-232
- 3) 堀内 公子, 他. 鉱泉中のラドンの液体シンチレーションカウンターによる新定量法とその基礎的条件の検討. 温泉科学, 1977; 28-2: 39-52
- 4) 村上悠紀雄, 他. 天然放射能の天然放射能の測定—ラドンの測定を中心に—, トレースアナリシス, 1978; 化学増刊: 147-160
- 5) 堀内 公子, 他. 液体シンチレーションカウンターによる鉱泉中の低レベルラドンの定量について. 温泉科学, 1976; 26-4: 23-28
- 6) 石井 忠, 他. 高々温泉 (>60°C) 中のラドン, トロン, ラジウム存在について. 温泉科学, 1984; 35-1: 11-19

インフルエンザウイルスA型の変異と集団かぜ検査 における血清学的検査の重要性について

佐藤 宏康 齋藤 博之 田中 恵子* 森田 盛大

わが国では平成4年頃からA型インフルエンザウイルスの変異が報告され、同時にウイルス分離率が低下傾向にあることが報告されている。秋田県においても同様の傾向が観察され、ウイルス分離のみによる集団かぜの病原診断は困難となり、それに伴って血清学的診断がますます重要になってきた。

キーワード：インフルエンザウイルスA型、ニワトリ赤血球、低凝集性変異株

I はじめに

集団かぜの発生は主としてインフルエンザウイルスに起因し、一度流行が始まると、短期間に多数の欠席者が発生するなど、学校教育現場において大きな問題となる。県内における集団かぜの検査は基本的には患者からウイルスを検出する方法と患者の血清中に産生される抗体を測定する方法が併用して行われている。しかし、平成5年度以降インフルエンザウイルスの分離率はそれ以前と比較して極端に低下した。本報ではウイルス変異と一致して観察されたウイルス分離率の低下とそれに伴う集団かぜ検査における血清学的診断検査の重要性について報告する。

II 材料及び方法

1 ウイルス分離

- (1) 分離材料：使用した咽頭拭い液59検体は平成8年1月から3月に集団かぜが発生した管轄保健所で採取後当所に搬送、接種時まで -80°C で保存した。
- (2) 分離方法：MDCK細胞を用いた組織培養法で行った。
- (3) 同定方法：日本インフルエンザセンターから分与された抗A/山形/32/89血清、抗A/北九州/159/93血清と抗A/秋田/1/94血清及び抗B/三重/1/93血清の合計4種類を用い、厚生省伝染病流行予測調査検査術式¹⁾に準じて行った。

2 血清学的診断

- (1) 被検血清：使用した56人の対血液は平成8年1月から3月に集団かぜが発生した管轄保健所で採血された。当所に搬送後血清として使用時まで -20°C で保存した。
- (2) 検査方法：厚生省伝染病流行予測調査検査術式¹⁾に準じ、0.5%モルモット赤血球を用いた赤血球凝集

抑制試験(HAI)で行った。

(3) 使用抗原(診断液)：日本インフルエンザセンターから分与されたAソ連型1株：A/山形/32/89、A香港型2株：A/北九州/159/93とA/秋田/1/94及びB型1株：B/三重/1/93の合計4株を用いた。また、今シーズン県内で孵化鶏卵を用いて分離されたA香港型1株：A/秋田/54/96とAソ連型1株：A/秋田/14/96を診断抗原として使用した。

3 分離ウイルスの赤血球凝集能試験

- (1) 分離株の継代歴：いずれもMDCK細胞初代分離株を用いた。
- (2) 使用分離株：平成2年度分離のA香港型2株とAソ連型2株、平成3年度分離のAソ連型4株及び平成7年度分離のAソ連型3株とA香港型1株の合計12株を用いた。
- (3) 使用血球：ニワトリ、モルモット、ガチョウ赤血球の各0.5%浮遊液を使用した。

III 結果

1 ウイルス分離

平成7年度は集団かぜ患者として分離材料が採取された59人について実施されたが、わずか2名(3.4%)からAソ連型ウイルスがMDCK細胞で分離されたにすぎなかった。昭和62年度からの集団かぜ診断率の推移を表1に示した。最も高い分離率を示したのは平成4年の58.5%で、A香港型が主流であったが分離株69株中2株のB型が含まれていた。分離率が最低を示したのは平成7年度の3.4%であった。

2 血清学的診断

昭和61年度から平成7年度までの対血清による診断率を表1に示した。また、平成7年度の分離株抗原による病原診断率は表2に示した。すなわち、日本インフルエ

* 生活センター

表 1 過去10年間の集団かぜ診断率の推移

年度	対血清による診断率	ウイルス分離による診断率	流行した型
昭和61年	49/ 60 (81.7%)		Aソ連型
昭和62年	18/ 30 (60.0%)	5/ 31 (16.1%)	A香港型・B型
昭和63年	33/ 66 (50.0%)	7/ 72 (9.7%)	A香港型・Aソ連型
平成元年	62/ 96 (64.6%)	29/ 97 (29.9%)	B型・A香港型
平成2年	76/ 80 (95.0%)	43/ 80 (53.8%)	A香港型・Aソ連型
平成3年	41/ 66 (62.1%)	7/ 68 (10.3%)	Aソ連型
平成4年	102/111 (91.9%)	69/118 (58.5%)	A香港型・B型
平成5年	8/ 20 (40.0%)	1/ 20 (5.0%)	A香港型
平成6年	64/ 74 (86.5%)	4/ 77 (5.2%)	A香港型
平成7年	51/ 56 (91.1%)	2/ 59 (3.4%)	Aソ連型
平均	504/659 (76.5%)	167/622 (26.8%)	

表 2 平成7年度の血清学的病原診断率

型	センター由来抗原			県内分離抗原	
	Aソ連型	A香港型	B型	Aソ連型	A香港型
陽性人数	51	2	0	53	4
検査人数	56	56	56	56	56
診断率 (%)	91.1	3.4	0.0	94.6	7.1

ンザセンターから分与された4種類の抗原を使用した場合は56名中51名(91.1%)がAソ連型感染と診断された。また、A香港型にも2名の抗体上昇が確認された。

一方、県内の分離株2種類を抗原として診断した場合

は56名中53名(94.6%)がAソ連型感染、56名中4名(7.1%)がA香港型感染と診断された。同一人で二つの型に抗体上昇が認められたのは4名であった。

3 分離ウイルスの赤血球凝集能試験

分離ウイルスの赤血球凝集能比較試験で使用した平成2年度分離の4株(A香港型2株、Aソ連型2株)はニワトリ、モルモット、ガチョウ赤血球に凝集を示した。また、平成3年度分離株のAソ連型4株中2株はニワトリ赤血球を凝集しない株が存在していたことが明らかとなった。平成7年度分離の4株(Aソ連型3株、A香港型1株)はモルモットとガチョウ赤血球に凝集を認めたが、ニワトリ赤血球には凝集を認めなかった。この性状は表3に示したようにAソ連型、A香港型に共通した現象として認められた。

表 3 分離株の赤血球凝集能変異

分離ウイルス		希釈		
検出年度	型別	4→512	4→512	4→512
平成2年度	香港	+++++++-	++++----	+++++++-
	香港	+++++++-	++++----	+++++++-
	ソ連	+++++---	+++-----	+++++---
	ソ連	+++++---	+-----	+++++---
平成3年度	ソ連	+++++++-	+++++---	+++++++-
	ソ連	+++++++-	+++++---	+++++++-
	ソ連	+++++++-	-----	+++++++-
	ソ連	+++++++-	-----	+++++---
平成7年度	ソ連	+++++---	-----	+++++---
	ソ連	+++++---	-----	+++++---
	ソ連	+++++++-	-----	+++++---
	香港	+++++---	-----	+++++---
		モルモット	ニワトリ	ガチョウ
		赤血球の種類		

IV 考察

秋田県の過去10年間における集団かぜの平均病原診断率は表1に示したように、血清による診断率は76.5%と高く、対血清を用いた病原診断の重要性が確認された。ウイルス分離による診断率は26.8%で前者の約1/3であった。平成2年度、すなわち平成3年3月までは表3から明らかなように、県内にはニワトリ赤血球に対する低凝集性変異株は存在していなかったと推定された。全国的に変異株が出現するのは平成3年度すなわち、平成4年(1992年)の冬からである。この時点での流行ウイルスはAソ連型で、分離株の中にニワトリ赤血球に対する低凝集性変異株が存在することが山岡ら²⁾、森下ら³⁾により報告されている。本県においても平成3年度はニワトリ赤血球に対する低凝集性変異株が存在し、そのためウイルス分離は68検体中7株(10.3%)と低い分離率に終始したと考えられた。

一方、平成4年度の主流ウイルスはA香港型であり、一部にB型も流行した。A香港型は前年のAソ連型と同じくニワトリ赤血球に対する低凝集性変異株が存在したことが山岡ら⁴⁾、森下ら⁵⁾により報告されている。山岡らはMDCK細胞を用いて分離したA香港型ウイルスの約半数はニワトリ赤血球低凝集性であり、孵化鶏卵では分離され難いことを述べている。結果として示さなかったが、当所で平成4年度に検査した118検体から67株(56.8%)のA香港型ウイルスと2株のB型(1.7%)をMDCK細胞を用いて検出したが、孵化鶏卵での分離率はA香港型118検体中5株(4.2%)、B型は1株の検出であり、MDCK細胞の分離率に比較して低かった。

このように、Aソ連型、A香港型共に変異が進み、平成5年度以降の集団かぜ検体からのウイルス分離率は極端な低下を示したと考えられた。平成6年度は77検体からわずかにA香港型4株(MDCK細胞3株、孵化鶏卵1株)のウイルス検出数であった⁶⁾。平成7年度はAソ連型が2株分離されたが3.4%と低い分離率であった。定点観測調査での分離株も含め検査した4株(表3)はいずれもニワトリ赤血球に対する低凝集性変異株であった。ニワトリ赤血球に対する低凝集性変異株の出現とウイルスが分離され難くなった現象とどのような関係にあるか明らかではないが、この傾向は今後も続くと予想されることから、ウイルス分離による病原診断はますます困難となり、対血清を用いた血清学的診断を実施しなければ、集団かぜの病原診断は極めて非効率におちいらざるを得ない現状にある。

しかし、ウイルス分離検査は、①血清学的診断用ウイ

ルス液の作成、②分離ウイルスの型決めに必要な同定用免疫血清の作成、③ウイルスの遺伝学的解析、④ワクチン製造用検討対象株として予研への送付などの理由により継続していく必要がある。特に、分離株を診断液として使用した場合は診断率が上昇することからウイルス分離検査は欠くことができないと考えている。

MDCK細胞を用いて検出された初代分離株は同定に十分な凝集価が得られない場合が少なくない。このような場合PCR法を用いた同定法が有効と考えている。

V まとめ

- 1 集団かぜの病原診断率は血清学的検査平均76.5%、ウイルス分離検査平均26.8%で対血清を用いた血清学的診断が不可欠であると考えられた。
- 2 ニワトリ赤血球に対する低凝集性変異株の出現以来ウイルス分離率は低下傾向を示し、平成7年度集団かぜ検体からの分離率は3.4%で過去9年間の最低を示した。

稿を終えるにあたり、検体採取を担当された各保健所の皆様に感謝申し上げます。

VI 文献

- 1) 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室。伝染病流行予測調査検査術式、昭和61年5月
- 2) 山岡政興、他。Aソ連型インフルエンザウイルス流行株の血球凝集性の変異。第40回日本ウイルス学会総会演説抄録、1992(神戸)、162。
- 3) 森下高行、他。1991/92シーズンに分離された赤血球凝集性の異なるAソ連型インフルエンザについて。第40回日本ウイルス学会総会演説抄録、1992(神戸)、162。
- 4) 山岡政興、他。1992-93年流行期のA香港型インフルエンザウイルス分離株のニワトリ血球凝集性の変異。第41回日本ウイルス学会総会演説抄録、1993(札幌)、233。
- 5) 森下高行、他。1992/93シーズンに分離された赤血球凝集性の異なるA香港型インフルエンザについて。第41回日本ウイルス学会総会演説抄録、1993(札幌)、233。
- 6) 原田誠三郎、他。平成6年度の秋田県内におけるインフルエンザウイルスの流行状況について。秋田県衛生科学研究所報、1995; 39: 37-39。

県内住民のジフテリア抗毒素保有状況 (第10報) および抗百日咳菌抗体保有状況

齊藤志保子 八柳 潤 木内 雄

1995年度の伝染病流行予測事業の一環として県内大館地区住民103名のジフテリア抗毒素, 抗百日咳菌抗体保有状況を調査した。

三種混合ワクチン未接種者(0~1歳群2名, 2~3歳群3名, 4~6歳群1名, 7~9歳群1名, 計7名)はいずれもジフテリア抗毒素を保有していなかった。ワクチン接種者ではI期1回のみ接種の3歳児1名が抗毒素を保有していなかったが, 他のワクチン接種者はすべて抗毒素を保有していた。

百日咳については, ワクチン未接種者は, 0~1歳群, 2~3歳群では抗PT, 抗F-HA抗体共に保有していなかった。4~6歳群, 7~9歳群のワクチン未接種者では, 抗F-HA抗体が低いながら認められたものの, 抗PT抗体は保有していなかった。ワクチン接種者では4~6歳群2名, 7~9歳群3名が抗F-HA抗体のみを保有し, 抗PT抗体を保有していなかった。他のワクチン接種者は抗PT抗体, 抗F-HA抗体両者共保有していた。

これらの結果から, これまでと同様¹⁾, ジフテリア, 百日咳の免疫付与に現行の予防接種が極めて有効であることが確認された。

キーワード: 流行予測事業, ジフテリア, ジフテリア抗毒素, 百日咳, 抗PT抗体, 抗F-HA抗体

I はじめに

ジフテリア菌, および百日咳菌に対する免疫保有状況とワクチンによる免疫獲得状況を把握するため, 流行予測事業が行われている。その一環として, 1995年度に行った県内住民のジフテリア抗毒素, および抗百日咳菌抗体保有状況調査を行ったので, その結果について報告する。

II 材料と方法

1. 被検血清

被検血清は1995年9月から10月に大館地区の乳幼児・児童103名(0~1歳群25名, 2~3歳群24名, 4~6歳群28名, 7~9歳群26名)から採取し, 検査時まで-20℃に保存した。

2. ジフテリア抗毒素価測定方法

国立予防衛生研究所から分与された標準ジフテリア毒素と標準抗毒素を用い, 流行予測調査術式²⁾に基づいたカラーチェンジ法によりジフテリア抗毒素価を測定した。

3. 抗百日咳菌抗体測定方法

ELISA-BALL法(武田製薬 LH100)により抗PT(抗百日咳菌毒素)抗体価と抗F-HA(抗百日咳菌繊維状赤血球凝集素)抗体価を測定した。

III 結果及び考察

1. ジフテリア抗毒素保有状況

1) 年齢別ジフテリア抗毒素保有状況

年齢別ジフテリア抗毒素保有状況は表1に示すとおりであった。0.01 IU/mlの抗毒素価でスクリーニングした抗毒素保有率は0~1歳群では92.0%, 2~3歳群では83.3%, 4~6歳群では96.4%, 7~9歳群では96.2%であった。

2) ワクチン未接種群と接種群のジフテリア抗毒素保有状況

表1に示すように, ワクチン未接種者は, いずれもジフテリア抗毒素を保有していなかった。これに対して, ワクチン接種者ではI期1回のみ接種の3歳児1名が抗毒素を保有していなかったが, 他のワクチン接種者はすべて抗毒素を保有していた。

3) 抗毒素価の年齢群別平均値

年齢別ワクチン接種歴は表2に示した。また, 抗毒素保有者の抗毒素価の年齢群別平均値はII期接種を終了する4~6歳群で3.423 IU/mlと最も高かった(表5)。II期接種後, ある程度年数が経過したIII期接種前の7~9歳群では, 抗毒素価が4~6歳群に比較して低値を示したが, 全体として, ワクチン接種者はいずれの年齢群においても高い抗毒素保有率を示し, ジフテリア毒素に対する免疫の付与に現行の予防接種が極めて有効であることが確認された。

ジフテリアは本来保菌者の多い疾患であり, 東南アジアなど諸外国では患者もかなり発生しており, 輸入伝染病として国内に入ってくる危険性が常にある。実際, 秋

田県内でも平成4年にジフテリア患者の発生³⁾が確認されていることなどから、流行阻止には一定レベル以上の免疫の維持が必要と考えられた。

2. 抗百日咳菌抗体保有状況

1) 年齢別抗PTおよび抗F-HA抗体保有状況

抗百日咳菌抗体保有状況は表3及び4に示すとおりであったが、抗PT、抗F-HAの両者、あるいはどちらかの抗体を有する保有率は、0～1歳群で92.0%、2～3歳群で87.5%、4～6歳群及び7～9歳群では100%であった。

2) ワクチン未接種群と接種群の抗PTおよび抗F-HA抗体保有状況

0～1歳群、2～3歳群のワクチン未接種者では5名すべてが抗体を保有していなかった。4～6歳群、7～9歳群のワクチン未接種者2名は抗PT抗体は保有していなかったが、低値の抗F-HA抗体を保有していた。

ワクチン接種者については、0～1歳群、2～3歳群ではすべてが抗PT抗体と抗F-HA抗体を保有していた。4～6歳群2名、7～9歳群3名が抗F-HA抗体は保有していたが抗PT抗体価は1 EU/ml以下であった。

3) 抗百日咳菌抗体価の年齢群別平均値

表5に示すとおりであったが、0～1歳群、2～3歳群が高値を示し、ジフテリア抗毒素価と異なり、4～6歳群で最も低値であった。

いずれの年齢群においてもワクチン接種者の抗百日咳菌抗体保有率は100%であり、百日咳に関してもジフテリアと同様に、現行の予防接種が免疫の付与に極めて有効であることが確認された。ワクチン行政の立場からも継続的に今後とも保有率の動向をサーベイしていく必要があると考えられた。

文 献

- 1) 齊藤志保子, 他. 県内住民のジフテリア抗毒素保有状況(第9報)および抗百日咳菌抗体保有状況. 秋田県衛生科学研究所報, 1995; 39: 31-33
- 2) 厚生省保健医療局, 平成7年度伝染病流行予測調査実施要領, 検査術式
- 3) 齊藤志保子, 他. 6年ぶりに発生したジフテリアと反省点. 病原微生物検出情報, 1993; 14: 1025-1026

表1 ジフテリア抗毒素保有状況・抗毒素価分布表

年齢群 (才)	ワクチン 接種	被件数	抗毒素未保有 <0.01 IU	抗毒素保有検体数(保有率)								計(%)
				~<0.05	~<0.1	~<0.25	~<0.5	~<1.0	~<2.5	~<5.0	≥5.0	
0～1	有	23	0	0	0	5	2	6	6	4	0	23(100)
	無	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	計	25	2									23(92.0)
2～3	有	21	1*	0	1	2	4	3	3	3	4	20(95.2)
	無	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	計	24	4									20(83.3)
4～6	有	27	0	0	1	4	2	4	3	5	8	27(100)
	無	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	計	28	1									27(96.4)
7～9	有	25	0	0	2	7	7	4	1	2	2	25(100)
	無	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	計	26	1									25(96.2)

表2 ワクチン接種歴別検体数

年齢群 (才)	未接種者(%)	接種者(%)	接種歴内訳		
			I期1～2回(%)	I期終了(%)	II期(%)
0～1	2(8.0)	23(92.0)	6(24.0)	17(6.8)	0
2～3	3(12.5)	21(87.5)	3(12.5)	8(33.3)	10(41.7)
4～6	1(3.6)	27(94.4)	1(3.6)	2(7.1)	24(85.7)
7～9	1(3.8)	25(96.2)	1(3.8)	4(15.4)	20(76.9)

表3 百日咳抗体保有状況・抗体価分布表

年齢群 (才)	ワクチン 接種	被件数	抗毒素未保有		抗体価別 (EU/ml) 検体数				計 (保有率)
			PT<1, FHA<1	PT<1, 1≤FHA	1≤PT<10, 1≤FHA	10≤PT, 1≤FHA<10	10≤PT, 10≤FHA		
0~1	有	23	0	0	0	0	23	23 (100.0)	
	無	2	2	0	0	0	0	0	
	計	25	2	0	0	0	0	23 (92.0)	
2~3	有	21	0	0	4	1	16	21 (100.0)	
	無	3	3	0	0	0	0	0	
	計	24	3	0	4	1	16	21 (87.5)	
4~6	有	27	0	2	9	0	16	27 (100.0)	
	無	1	0	1	0	0	0	1	
	計	28	0	3	9	0	16	28 (100.0)	
7~9	有	25	0	3	8	0	14	25 (100.0)	
	無	1	0	1	0	0	0	1	
	計	26	0	4	8	0	14	26 (100.0)	

表4 ワクチン接種者群におけるジフテリア抗毒素価および百日咳抗体価の年齢群別平均値

年齢群 (才)	ジフテリア抗毒素価 (IU/ml)	百日咳抗体価 (EU/ml)	
		抗PT	抗F-HA
0~1	1.337	128	147
2~3	2.899	122	101
4~5	3.423	26	66
6~7	1.212	62	119

表5 百日咳抗体価分布表

年齢群 才	ワクチン接種 (検体数)	抗体	百日咳抗体価 (EU/ml)										
			1~	5~	10~	25~	50~	100~	250~	500~			
			<1	4	9	24	49	99	249	499	999	≥1000	
0~1	有 (23)	抗PT	0	0	0	2	4	6	7	3	1	0	
		抗F-HA	0	0	0	1	6	7	5	3	1	0	
	無 (2)	抗PT	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		抗F-HA	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2~3	有 (21)	抗PT	0	2	2	4	6	2	2	1	2	0	
		抗F-HA	0	0	1	5	5	3	5	2	0	0	
	無 (3)	抗PT	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		抗F-HA	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4~6	有 (27)	抗PT	2	5	4	10	3	1	2	0	0	0	
		抗F-HA	0	0	2	6	11	3	3	2	0	0	
	無 (1)	抗PT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		抗F-HA	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
7~9	有 (25)	抗PT	3	4	4	6	4	1	1	1	1	0	
		抗F-HA	0	0	2	5	7	6	1	2	1	1	
	無 (1)	抗PT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		抗F-HA	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	

平成4～7年度日本脳炎流行予測調査成績について

原田誠三郎 笹嶋 肇 和田恵理子* 佐藤 宏康 佐野 健 森田 盛大

平成7年度の県内における日本脳炎流行予測調査では、日本脳炎ウイルスの平均赤血球凝集抑制抗体陽性率は0.7%で、このことから同ウイルスの侵襲活動は小規模であったと推定された。また、これまで実施した平成4年～6年度と同調査では、4年度と5年度の平均赤血球凝集抑制抗体陽性率は0.7～9.5%で、6年度は県南で2-メルカプトエタノール感受性抗体保有率53.8～66.7%みられた。このことから同地域では、日本脳炎ウイルスの侵襲活動規模が大きかったことが推定された。

キーワード：日本脳炎ウイルス、赤血球凝集抑制抗体、2-メルカプトエタノール感受性抗体

I 目的

国から委託された伝染病流行予測調査の一つである日本脳炎感染源調査を、7年度も秋田県内の飼育豚を対象として実施したので、その成績を報告する。また、これまで実施した同調査の4年～6年度の成績も併せて報告する。

II 材料および方法

1. 被検豚血清

秋田県食肉流通公社に搬入された生後6カ月～8カ月の県内産飼育豚から採取し、採取年月日及び頭数は表1に示した。

2. 赤血球凝集抑制抗体測定法

日本脳炎ウイルス（以下日脳ウイルスと略す）に対する赤血球凝集抑制抗体（以下H I抗体と略す）測定法は、伝染病流行予測調査検査術式¹⁾に準じて行った。また、使用H I抗原は、J a G A r #01株（デンカ生研KK）を用いた。

III 調査成績及び考察

表1には平成4年～7年度日本脳炎ウイルスH I抗体保有調査成績（対象：豚血清）を、また、表2には平成元年～7年度までの日本脳炎ウイルス平均H I抗体保有率と2-メルカプトエタノール感受性抗体（以下2-M E抗体と略す）検出状況を示した。

平成7年度の日脳ウイルスの流行予測調査は、7月26日から9月25日にかけて計7回実施した。8月18日県南地域の稲川町で飼育された豚1頭から10倍のH I抗体陽性例が検出された。このことから期間内におけるH I抗体の平均陽性率は0.7%と低率で、今年度の県内にお

ける日脳ウイルスの侵襲活動は小規模であったものと推定された。

4年度の第1回目の調査は7月21日に行い、県北地域の鹿角市の飼育豚19頭から採取した結果、1頭に20倍のH I抗体保有がみられた。その後、県南地域からの飼育豚についても検査を実施したが、H I抗体陽性豚はみられなかった。このことから4年度の平均H I抗体陽性率は0.7%と低率で、日脳ウイルスの侵襲活動は小規模であったものと推定された。

5年度の第1回目は、8月3日に県南地域の湯沢市の飼育豚20頭を採取した結果、10倍のH I抗体保有豚が3頭と20倍の保有豚が1頭みられ、そのH I抗体陽性率は20%を示した。また、2回目の8月11日には、日本海沿岸北部寄りの八竜町で飼育された豚24頭から採取した結果、10倍が4頭と、20倍が4頭の計8頭にH I抗体保有がみられ、そのH I抗体陽性率は33.3%と当該年の調査期間内で最も高かった。3回目の8月24日の22頭と5回目の9月21日に採取した24頭は、いずれも鹿角市で飼育された豚であったが、そのうちの3回目（2頭）と5回目（1頭）にそれぞれ10倍のH I抗体保有がみられた。また、4回目の9月7日には、県北の合川町の飼育豚24頭、第6回目の9月28日には、県南の十文字町の飼育豚24頭、そして最終回の7回目は10月5日に県南の増田町で飼育された豚20頭からそれぞれ採取したが、いずれの豚にもH I抗体はみられなかった。このことから平均H I抗体陽性率は9.5%で、日脳ウイルスの侵襲活動は小規模であったと推定された。

6年度は、第1回目の7月26日から第4回目の8月18日まではいずれの豚からもH I抗体は検出されなかった。しかし、5回目として8月31日に採取した県南の大森町の飼育豚20頭のうち、160倍のH I抗体保有が1頭と320

* 秋田保健所

表1 平成4～7年度日本脳炎ウイルスHI抗体保有調査成績(対象:豚血清)

年度	No.	採血年月日	頭数	H I 抗体価								H I 抗体陽性率(%)	2-ME感受性抗体保有率(%)	飼育地
				<10	10	20	40	80	160	320	≥640			
4	1	7月21日	19	18		1						(5)		鹿角市
	2	8月4日	21	21								(0)		鹿角市
	3	8月18日	23	23								(0)		稲川町
	4	8月25日	20	20								(0)		大森町
	5	9月8日	20	20								(0)		鹿角市
	6	9月22日	20	20								(0)		鹿角市
	7	9月28日	20	20								(0)		鹿角市
		合計		143	142		1						(0.7)	
5	1	8月3日	20	16	3	1						(20)		湯沢市
	2	8月11日	24	16	4	4						(33.3)		八竜町
	3	8月24日	22	20	2							(9.1)		鹿角市
	4	9月7日	24	24								(0)		合川町
	5	9月21日	24	23	1							(4.2)		鹿角市
	6	9月28日	24	24								(0)		十文字町
	7	10月5日	20	20								(0)		増田町
		合計		158	143	10	5						(9.5)	
6	1	7月26日	20	20								(0)		鹿角市
	2	8月2日	18	18								(0)		十文字町
	3	8月10日	19	19								(0)		鹿角市
	4	8月18日	20	20								(0)		稲川町
	5	8月31日	20	17					1	2		(15)	(66.7)	大森町
	6	9月6日	20	6	1			4	4	2	3	(70)	(53.8)	雄物川町
	7	9月13日	20	12	2	1	1	2	2			(40)	(60.0)	
		合計		137	112	3	1	1	6	7	4	3	(18.2)	(25.7)
7	1	7月26日	20	20								(0)		湯沢市
	2	8月8日	22	22								(0)		十文字町
	3	8月18日	22	21	1							(4.5)		稲川町
	4	8月22日	21	21								(0)		本荘市
	5	9月6日	22	22								(0)		十文字町
	6	9月12日	17	17								(0)		中仙町
	7	9月25日	20	20								(0)		鹿角市
		合計		144	143	1							(0.7)	

表2 平成元年～7年度までの日本脳炎ウイルス平均HI抗体保有率と2-ME抗体検出状況

年 度	平均HI抗体陽性率(%)	HI抗体・2-ME抗体高陽性率月日	日本脳炎ウイルス※汚染地区指定
元年 ²⁾	24.1	8月1日(78.3%) : 2-ME抗体保有(-) 8月28日(68.0%) : 2-ME抗体保有(-) 9月4日(76.0%) : 2-ME抗体保有(-)	
2 ³⁾	7.3	9月26日(8.0%) : 2-ME抗体保有(100%) 10月2日(52.0%) : 2-ME抗体保有(66.6%) 10月9日(24.0%) : 2-ME抗体保有(16.6%) 10月23日(28.8%) : 2-ME抗体保有(60.0%)	汚染地区指定
3 ⁴⁾	8.7	9月24日(48.0%) : 3-ME抗体保有(75.0%) 10月22日(48.0%) : 2-ME抗体保有(58.3%)	
4	0.7		
5	9.5	8月11日(33.3%) : 2-ME抗体保有(-)	
6	18.2	8月31日(15.0%) : 2-ME抗体保有(66.7%) 9月6日(70.0%) : 2-ME抗体保有(53.8%) 9月13日(40.0%) : 2-ME抗体保有(60.0%)	汚染地区指定
7	0.7		

※日本脳炎汚染地区の判定基準⁵⁾「HI抗体陽性率が50%以上であり」、「2-ME感受性抗体を保有するブタが1頭でも検出される」という条件による。

倍の抗体保有が2頭みられ、HI抗体陽性率15%を示した。また、それらの抗体について、2-ME抗体検査を実施した結果、2頭に2-ME抗体が確認され、この調査期間内で最も高い2-ME抗体保有率66.7%を示した。6回目は、9月6日に県南の雄物川町で飼育された豚20頭から採取した結果、10倍が1頭、80倍が4頭、160倍が4頭、320倍が2頭、及び640倍が3頭の計14頭にHI抗体保有が確認され、この調査期間内では最も高いHI抗体保有率70%を示した。また、2-ME抗体は7頭のみられ、その保有率は53.8%であった。最終回の7回目は9月13日に県南の中仙町の飼育豚20頭から採取した結果、10倍が2頭、20倍が1頭、40倍が1頭、80倍が2頭、

及び160倍が2頭の計8頭にHI抗体保有がみられ、HI抗体陽性率40%を示し、9月6日に次いで高い数値であった。また、2-ME抗体保有は3頭のみられ、その陽性率は60%と、8月31日に次いで高かった。これらのことから6年度は、平均HI抗体陽性率も18.2%と他の年度に比較して高く、また、平均2-ME抗体保有率も25.7%の高い数値を示したことなどから、平成6年度の県内における日脳ウイルスの侵襲活動は県南において規模が大きかったことが推定された。

このようなことから、これまでの県内における2-ME抗体出現を表2でみると、2年、3年及び6年度の出現は8月下旬から10月中旬にかけてみられ、また、これ

表3 平成2～7年度における月・旬平均気温と25℃日数について（秋田市）

年 度	月・旬平均気温	6 月	7 月	8 月	9 月
2 ^{7～9}	月平均気温		23.3 (2)※	25.5 (18)	21.0 (2)
	上旬平均気温		21.7 (0)※※	26.7 (8)	23.0 (2)
	中旬平均気温		22.7 (0)※※	24.5 (4)	21.2 (0)
	下旬平均気温		24.4 (2)※※	25.4 (6)	19.0 (0)
3 ^{10～13}	月平均気温	20.5 (0)	22.1 (2)	23.4 (7)	20.5 (1)
	上旬平均気温	19.9 (0)	21.3 (0)	22.6 (0)	23.8 (1)
	中旬平均気温	19.7 (0)	21.3 (0)	24.4 (3)	19.0 (0)
	下旬平均気温	21.8 (0)	23.6 (2)	23.3 (4)	18.6 (0)
4 ^{14～17}	月平均気温	18.9 (0)	22.5 (2)	24.4 (16)	19.2 (2)
	上旬平均気温	19.1 (0)	21.4 (0)	22.9 (2)	22.2 (2)
	中旬平均気温	18.1 (0)	22.1 (0)	25.3 (6)	18.7 (0)
	下旬平均気温	19.4 (0)	24.0 (2)	25.1 (8)	16.7 (0)
5 ^{16～21}	月平均気温	18.0 (0)	21.1 (1)	21.9 (3)	19.2 (0)
	上旬平均気温	17.1 (0)	20.1 (0)	21.6 (0)	20.5 (0)
	中旬平均気温	18.8 (0)	20.5 (0)	20.9 (0)	19.6 (0)
	下旬平均気温	18.3 (0)	22.6 (1)	23.0 (3)	17.6 (0)
6 ^{22～25}	月平均気温	18.7 (0)	24.5 (15)	26.9 (28)	22.2 (3)
	上旬平均気温	17.5 (0)	21.2 (0)	26.8 (10)	23.6 (0)
	中旬平均気温	19.2 (0)	24.0 (4)	28.4 (9)	23.1 (3)
	下旬平均気温	19.4 (0)	27.9 (11)	25.6 (9)	19.9 (0)
7 ^{26～29}	月平均気温	18.7 (0)	22.6 (4)	24.4 (12)	19.6 (0)
	上旬平均気温	17.8 (0)	22.0 (0)	24.2 (3)	20.9 (0)
	中旬平均気温	18.6 (0)	20.8 (0)	25.0 (4)	18.4 (0)
	下旬平均気温	19.8 (0)	24.7 (4)	24.1 (5)	19.4 (0)

※ () 内の数字は、その月に25℃以上を示した日の総日数。

※※ () 内の数字は、その旬に25℃以上を示した日の日数。

らの出現に大きく影響している日脳ウイルスの媒介蚊であるコガタアカイエカの発生活動を、森田たち⁶⁾が述べている有毒蚊の出現に必要な25℃以上の平均気温を示した日を日数でみてみると、表3に示した秋田市の例では、各年度の8月では6年度の28日が最も多く、次いで2年度の18日と4年度の16日であった。また、9月について

みると、6年度の3日、2年度の2日、及び4年度の2日で、これらの気温がコガタアカイエカの日脳ウイルスの媒介活動に大きく影響したものと考えられた。また、表3の4年度では、2-ME抗体保有がみられた2年度とほぼ各月とも同様の気温日数を示しながら、平均HI抗体陽性率が0.7%と低かった要因の一つとして、採取

豚の地域が主に県北部の鹿角市であったことなどによる地域差が、結果として反映したものと推定された。このことから、5年度以降の飼育豚の採取に当たっては、県南も視野に入れながら採取を行っている。また、2年度と6年度においては当県が日脳ウイルスの汚染地区に指定されたことなどから、今後とも県内における日脳ウイルスの動向把握をこれらの調査などにより行っていく必要があると考えられた。また、これらによって得られた情報を8年度から実施することになった日本脳炎の予防接種対策事業などへ今後、有効情報の一つとして積極的に提供していくとともに、県内一般住民を対象とした日脳ウイルスの中和抗体保有実態調査などを行うことが必要と考えられた。

V まとめ

平成7年度及び4年～6年度に実施した日本脳炎流行予測調査成績は次のとおりであった。

1. 7年度は、第3回目の8月18日に採取した稲川町の飼育豚1頭のみ、10倍の赤血球凝集抑制抗体がみられた。また、7年度と4年度は平均赤血球凝集抑制抗体陽性率が0.7%であったことから、県内における日本脳炎ウイルスの侵襲活動は小規模であったものと推定された。
2. 5年度は、湯沢市の4頭と八竜町の8頭に赤血球凝集抑制抗体が検出され、当該年の中で最大の赤血球凝集抑制抗体陽性率33.3%を示した。
3. 平成6年度は、平均赤血球凝集抑制抗体陽性率は18.2%で、抗体価40倍以上の豚が21頭検出され、平均2-メルカプトエタノール感受性抗体保有率は、25.7%であった。また、県南の豚が多く、6年度の県内における日本脳炎ウイルスの侵襲は、県南を中心とした大規模なものであったと推定された。

稿を終えるにあたり、検体採取にご協力いただきました秋田県食肉流通公社及び中央食肉衛生検査所の担当各位に感謝を申し上げます。

VI 文 献

- 1) 厚生省保健医療局結核難病感染症対策室：伝染病流行予測調査検査術式，昭和61年5月
- 2) 原田誠三郎，他．平成元年度の日本脳炎流行予測調査成績．秋田県衛生科学研究所報，1990；34：89-91
- 3) 原田誠三郎，他．平成2年度日本脳炎流行予測調査成績について．秋田県衛生科学研究所報，1991；35：63-66
- 4) 原田誠三郎，他．平成3年度日本脳炎流行予測調査成績について．秋田県衛生科学研究所報，1992；36：83-86

- 5) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課情報管理係長：日本脳炎情報の提供について，平成7年7月26日
- 6) 森田盛大，後藤良一，近藤田鶴子．1980年度の日脳炎流行予測調査成績について．秋田県衛生科学研究所報，1981；25：83-87
- 7) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成2年7月
- 8) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成2年8月
- 9) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成2年9月
- 10) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成3年6月
- 11) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成3年7月
- 12) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成3年8月
- 13) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成3年9月
- 14) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成4年6月
- 15) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成4年7月
- 16) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成4年8月
- 17) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成4年9月
- 18) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成5年6月
- 19) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成5年7月
- 20) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成5年8月
- 21) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成5年9月
- 22) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成6年6月
- 23) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成6年7月
- 24) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成6年8月
- 25) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成6年9月
- 26) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成7年6月
- 27) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成7年7月

28) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成7年
8月

29) 日本気象協会秋田支部：秋田県気象月報，平成7年
9月

空中スギ花粉観測結果について (1994年~1995年)

笹嶋 肇	原田誠三郎	和田恵理子* ¹	佐野 健
佐藤 宏康	森田 盛大	大村 達雄* ²	渡辺 浩志* ³
井谷 修* ⁴	山田 昌次* ⁵	寺田 修久* ⁶	白鳥 浩二* ⁷
大高詳一郎* ⁸	高橋 忍* ⁹	岩谷 金仁* ¹⁰	斉藤 健司* ¹⁰
高山 憲男* ¹¹	鈴木 忠之* ¹¹		

スギ花粉症の予防対策を目的として、1994年と1995年の空中スギ花粉に関する調査の結果、スギ花粉総観測数は、1994年は県北を除いて観測史上最低値を示したが、1995年は逆に前年の花粉生産量が多かったため、多くの観測地点で観測史上最大値を示した。また、1995年は1994年に比較して初観測日が平均18日、飛散開始日が平均20日早く、飛散期間も平均で10日長かった。

キーワード：スギ花粉，アレルギー，花粉予報

I はじめに

スギ花粉症の予防対策として、県内各地域の飛散状況を明らかにし、秋田県内のスギ花粉予報を作成することを目的の一つに1987年から空中スギ花粉観測調査を実施してきた。観測や予報の対象地域は、これまでの結果を基に、県北、沿岸、県南の3地域に区分している。我々は、スギ花粉予報を作成するために、雄花芽調査、飛散予測、及び患者調査を実施しているが、本報は、主に1994年と1995年のスギ花粉観測結果について報告する。

II 調査概要

1. 観測地点

地域別の観測点及び観測方法を図1及び表1に示した。1994年のスギ花粉飛散観測調査は、大里病院（鹿角市）、大館保健所（大館市）、山本組合総合病院（能代市）、衛生科学研究所（秋田市）、井谷耳鼻咽喉科医院（秋田市）由利組合総合病院（本荘市）、仙北組合総合病院（大曲市）、菅原医院（角館町）、横手保健所（横手市）の9機関で、また、1995年は井谷耳鼻咽喉科医院の代わりに高橋耳鼻咽喉科医院（横手市）を加え、2月下旬から5月上旬にかけて実施した。

花粉予報の作成に当たっては、過去の観測結果に基づいて予報対象地域を3つに区分し、各地域毎に毎日飛散数を観測する基準観測点（県北は大館保健所、沿岸は衛生科学研究所、県南は横手保健所）を設定した。

2. 観測結果の表示

空中飛散スギ花粉の観測は、Durham型花粉捕集器を用いた方法（以下D法と略す）と、IS式Rotary型花粉捕集器を用いた方法（以下R法と略す）を採用した。また、観測値の算出は既報¹⁾に準じた。

(1) 総観測数

スライドガラスに捕集されスギ花粉と同定された花粉数の個数を1cm²当りの個数として積算した値（単位：個/cm²/年）

(2) 日観測数

24時間にスライドガラスに捕集されスギ花粉と同定された花粉数（単位：個/cm²/日）

(3) 初観測日

1月1日以降初めて0.1個/cm²/日以上観測された日

(4) 飛散開始日

0.1個/cm²/日以上花粉が連続して2日以上観測された最初の日

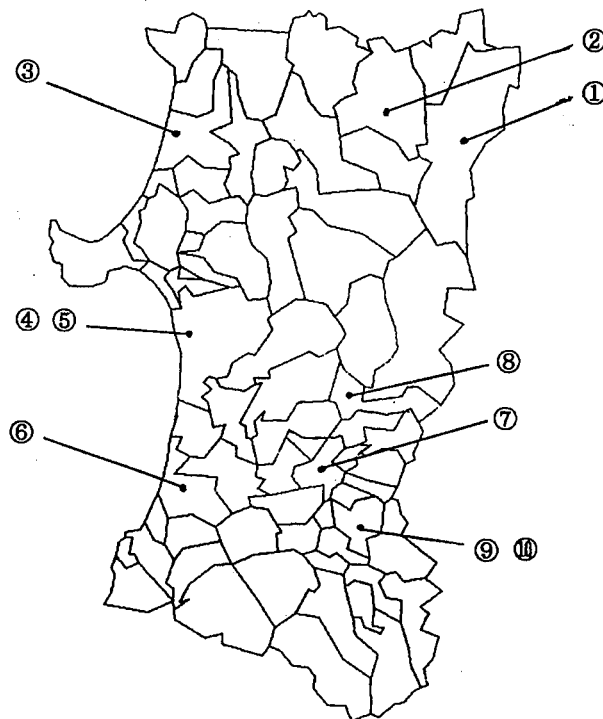
(5) 飛散終了日

潜在潜在量²⁾から判断される飛散終了時期に、好気象条件下でも3日以上連続してスギ花粉が観測されなくなった日の前日

なお、R法の観測結果は、過去の結果との整合性をとるため、これまでのR法とD法の観測結果を基にD法の値に換算した。

*¹現 秋田保健所 *²大里病院 *³山本組合総合病院 *⁴井谷耳鼻咽喉科医院 *⁵由利組合総合病院 *⁶現 千葉耳鼻咽喉科 *⁷仙北組合総合病院 *⁸菅原医院 *⁹高橋耳鼻咽喉科気管食道科医院 *¹⁰大館保健所 *¹¹横手保健所

図1 スギ花粉観測点



- ①大里病院（鹿角市）
- ②大館保健所（大館市）
- ③山本組合総合病院（能代市）
- ④衛生科学研究所（秋田市）
- ⑤井谷耳鼻咽喉科医院（秋田市）
- ⑥由利組合総合病院（本荘市）
- ⑦仙北組合総合病院（大曲市）
- ⑧菅原病院（角館町）
- ⑨横手保健所（横手市）
- ⑩高橋耳鼻咽喉科医院（横手市）

表1 地域別のスギ花粉観測点と観測方法

観測地域	市 町 村	観測地点 ¹⁾	観測方法	
			1994	1995
県 北	鹿角市	a	D ²⁾	R ³⁾
	大館市	b	D, R	D, R
	能代市	c	D F	R
沿 岸	秋田市	d	D, R	D, R
		e	—	R
	本荘市	f	D	R
県 南	大曲市	g	D, R	D, R
	角館町	h	D	R
	横手市	i	D, R	D, R
		j	D	—

¹⁾ 観測地点
a : 大里病院 b : 大館保健所 c : 山本組合総合病院
d : 衛生科学研究所 e : 井谷耳鼻咽喉科医院 f : 由利組合総合病院
g : 仙北組合総合病院 h : 菅原医院 i : 横手保健所
j : 高橋耳鼻咽喉科気管食道科医院

²⁾ D : D法 ³⁾ R : R法

3. 花粉予報の作成提供

花粉予報の作成にあたっては、基準観測点からの観測結果をオンラインまたはFAXで受信し、日本気象協会秋田県支部から入手した基準観測点の気象48時間予測データ（3時間単位の気象項目：天気、降水量、最大風向、最大風速、最高気温）と併せて予測モデルに²⁾投入し、翌日の日飛散数を予測し、その結果によ

て予報区分を決定した。予報区分と、予測花粉観測数及び予報内容は以下のとおりである。

予報区分	予測花粉観測数	予 報 内 容
安定日	0～19 個/cm ² /日	重症者の方だけが多少の症状を示すが、ほとんどの方が無症状の日
注意日	20～49 個/cm ² /日	中等症と重症の方が発症する日
警戒日	50～ 個/cm ² /日	スギ花粉症と診断された方がほとんど発症するであろう日

III 結 果

1. スギ花粉飛散状況

(1) 総観測数

表2に、総観測数・最大日観測数・初観測日・飛散期間（飛散開始日～飛散終了日）・飛散日数、及び、表3、図2に全県域で観測を開始した1990年から1995年までの6年間の年別地域別スギ花粉観測数を示した。1994年は県北を除いて観測史上最低の値であったのに対して、1995年は各地域とも観測史上最大の値であった。地域別の総観測数は以下のとおりである。

1) 県北

1994年は664個/cm²/年であったが、1995年は6141個/cm²/年で1994年の約10倍の値であった。また、1990年から1995年までの平均総観測数は2982個/cm²/年であった。

表2 スギ花粉観測結果※

地域	観測地点	総観測数(個/cm ² /年)		最大日観測数		初観測日		飛散期間		飛散日数	
		1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995
県北	a	296	1849	52	414	3/18	2/19	3/22-4/26	3/15-5/12	36	59
	b	1031	10433	328	2685	3/26	3/2	3/26-5/2	3/02-5/09	38	69
	平均	644	6141	190	1550	-	-	-	-	37	64
沿岸	c	150	1954	40	377	3/18	2/28	3/18-4/23	3/15-5-01/	37	48
	d	77	3579	30	645	3/8	2/10	3/18-4/25	3/14-5/02	39	50
	e	-	2456	-	356	-	3/8	-	3/14-4/25	-	43
	f	78	6964	36	1243	3/7	2/25	3/18-4/11	2/28-5/01	25	63
	平均	102	3738	25	514	-	-	-	-	34	51
県南	g	326	6662	96	2032	3/16	2/28	3/20-4/26	3/14-5/01	38	49
	h	731	4333	200	1044	3/2	2/14	3/19-4/23	3/18-4/21	36	35
	i	1444	23293	457	7020	3/10	2/25	3/19-5/02	3/10-5/01	45	53
	j	289	-	80	-	3/16	-	3/19-4/22	-	35	-
	平均	698	11429	188	3017	-	-	-	-	39	46

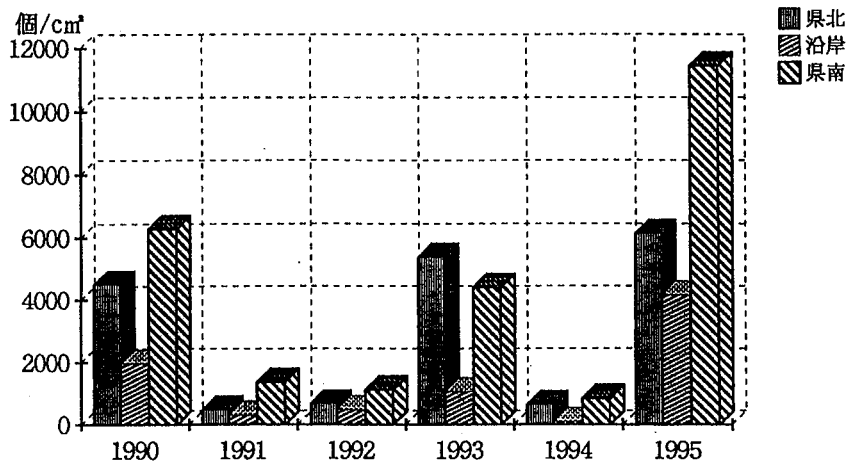
※総観測数はD法, またはD法換算値

表3 年・地域別スギ花粉観測数

観測年	鹿角	大館	県北	能代	本荘	秋田	沿岸	大曲	角館	横手	県南
1990	4941	4094	4518	1188	2323	2423	1978	-	7719	4855	6287
1991	701	292	497	310	374	275	320	572	3039	488	1366
1992	674	700	687	458	481	550	496	655	1677	1038	1123
1993	6291	4477	5384	1010	1030	1142	1061	3375	4806	5042	4408
1994	296	1031	664	150	78	77	102	326	731	1444	834
1995	1849	10433	6141	1954	6964	3579	4166	6662	4333	23293	11429
平均値	2459	3505	2982	845	1875	1341	1354	1932	3718	6027	4241

単位: 個/cm²/年

図2 年別地域別スギ花粉観測数



2) 沿岸部

1994年は102個/cm³/年であったが、1995年は4166個/cm³/年で1994年の約40倍の値であった。また、1990年から1995年までの平均総観測数は1354個/cm³/年であった。

3) 県南

1994年は834個/cm³/年であったが、1995年は11429個/cm³/年で1994年の約14倍の値であった。また、1990年から1995年までの平均総観測数は4241個/cm³/年であった。

(2) 初観測日

最も早い初観測日は、1994年には菅原医院の3月2日であったが、1995年は衛生科学研究所の2月10日で、1995年が20日早かった。地域別の平均でみると、いずれの地域においても1995年が早く（県北25日、沿岸14日、県南16日）全地域としては平均で18日早かった。

(3) 飛散開始日

飛散開始日は、1994年は3月下旬であったが、1995年は2月下旬から3月上旬で1995年が20日早かった。

各地域での飛散開始日は次のとおりであった。

1) 県北

1994年は大里病院（鹿角市）が3月22日、大館保健所（大館市）が3月26日であった。1995年は、大里病院（鹿角市）が3月15日、大館保健所（大館市）が3月2日であった。

2) 沿岸部

1994年は、山本組合総合病院（能代市）、由利組合総合病院（本荘市）、当所（秋田市）ともに3月18日で、沿岸としても3月18日であった。1995年は山本組合総合病院（能代市）が3月15日、由利組合総合病院（本荘市）が2月28日、当所（秋田市）が3月14日と井谷耳鼻咽喉科医院（秋田市）が3月14日であった。

3) 県南

1994年は仙北組合総合病院（大曲市）が3月20日、菅原医院（角館町）が3月19日、横手保健所（横手市）が3月19日、高橋耳鼻咽喉科気管食道科医院（横手市）が3月19日で、県南としては3月19日であった。1995年は仙北組合総合病院（大曲市）が3月14日、菅原医院（角館町）が3月18日、横手保健所（横手市）が3月10日であった。

(4) 日観測数

地域単位の毎日の平均花粉観測数を図3、図4、図5に示した。1995年は、総観測数、日観測数ともに観

測史上最大値を示した。

1) 県北

1994年は、4月7日にピークを持つ二峰性の飛散パターンを示し、最大観測数は4月7日の190個/cm³/日であった。1995年も、1994年と同様に4月7日にピークを持つ二峰性のピークの飛散パターンを示し、最大観測数は1550個/cm³/日であった。

2) 沿岸

1994年は、4月6日にピークを持つ三峰性の飛散パターンを示し、最大観測数は25個/cm³/日であった。1995年は、4月5日にピークを持つ三峰性の飛散パターンを示し、最大観測数は514個/cm³/日であった。

3) 県南

1994年は、他の地域と異なり、4月7日にピークを持つ一峰性の飛散パターンを示し、最大観測数は188個/cm³/日であった。1995年は、4月6日にピークを持つ三峰性の飛散パターンを示し、最大観測数は3017個/cm³/日であった。

これまでは、最大日観測数が1000個/cm³/日以上を記録した日はなかったが、1995年には、仙北組合総合病院（大曲市）が4日、菅原医院が1日、横手保健所が4日であった。

特に横手保健所の1995年の4月6日の観測数は7020個/cm³/日と、これまでの全ての観測値の中で最も大きい値であった。

(5) 飛散終了日と飛散期間

飛散終了日は、県南では1994年の5月2日に対し1995年が5月1日で1日早かったものの、その他の地域では1994年に比較して1995年が遅かった。平均飛散期間は、1994年の36日間に対し1995年は52日間で16日間長かった。

1) 県北

1994年の飛散終了日と飛散期間は、大里医院（鹿角市）は4月26日で36日間、大館保健所は5月2日で38日間であった。1995年の飛散終了日と飛散期間は、大里医院（鹿角市）は5月12日で59日間、大館保健所は5月9日で69日間であった。

2) 沿岸

1994年の飛散終了日と飛散期間は、山本組合総合病院（能代市）は4月23日で37日間、由利組合総合病院（本荘市）は4月11日で25日間、当所（秋田市）は4月25日で39日間であった。1995年の飛散終了日と飛散期間は、山本組合総合病院（能代市）は5月1日で48日間、由利組合総合病院（本荘市）は5月1日で63日間、井谷耳鼻咽喉科医院（秋田市）は4

月25日で43日間、当所（秋田市）は5月2日間で50日間であった。

3) 県南

1994年の飛散終了日と飛散期間は、仙北組合総合病院（大曲市）4月26日で38日間、菅原医院（角館町）は4月23日で36日間、高橋耳鼻咽喉科医院（横手市）は4月22日で35日間、横手保健所（横手市）は5月2日で45日間であった。1995年は、仙北組合総合病院（大曲市）5月1日で49日間、菅原医院（角館町）は4月21日で35日間、横手保健所（横手市）は5月1日で53日間であった。

2. スギ花粉観測数と予報区分

スギ花粉予報は、Ⅱの3. により決定した。

表4、図3、図4、図5に飛散期間の地域別の予報区分別結果を示した。地域別の観測結果では、安定日に分類された日は1994年が76.2%~97.4%であったのに対して、1995年は39.6%~58.4%と少なかった。逆に、警戒日に分類された日は、1994年が0.0%~7.1%であったのに対して、1995年は、29.3%~56.3%と極端に多かった。

表4 地域別予報区分別結果

年	地域	飛散期間	安定日	注意日	警戒日	総花粉観測数
1994	県北	42日	32日 (76.2%)	7日 (16.7%)	3日 (7.1%)	664 個/cm ³ /年
	沿岸	39日	38日 (97.4%)	1日 (2.6%)	0日 (0.0%)	102 個/cm ³ /年
	県南	45日	36日 (80.0%)	6日 (13.3%)	3日 (6.7%)	834 個/cm ³ /年
1995	県北	58日	31日 (58.4%)	10日 (17.2%)	17日 (29.3%)	6141 個/cm ³ /年
	沿岸	50日	25日 (50.0%)	6日 (12.0%)	19日 (38.0%)	4166 個/cm ³ /年
	県南	48日	19日 (39.6%)	2日 (4.1%)	27日 (56.3%)	11429 個/cm ³ /年

図3 スギ花粉観測数（県北）

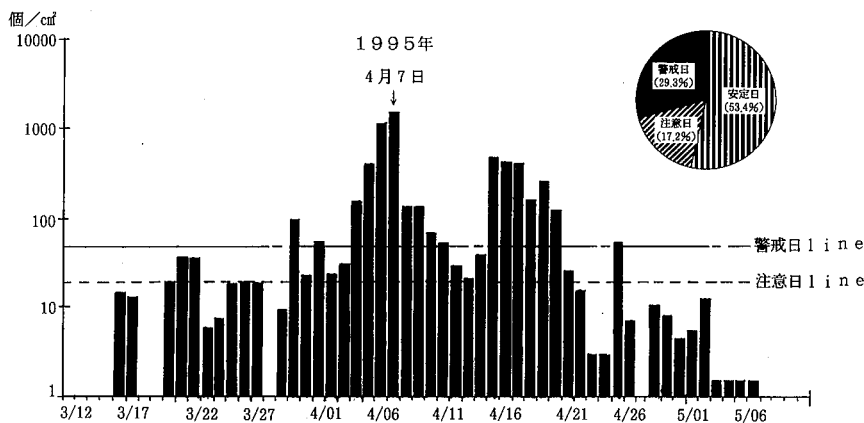
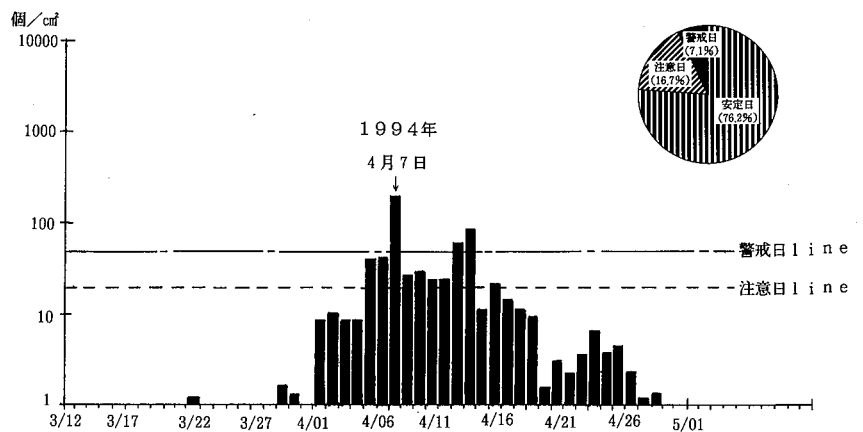


図4 スギ花粉観測数（沿岸）

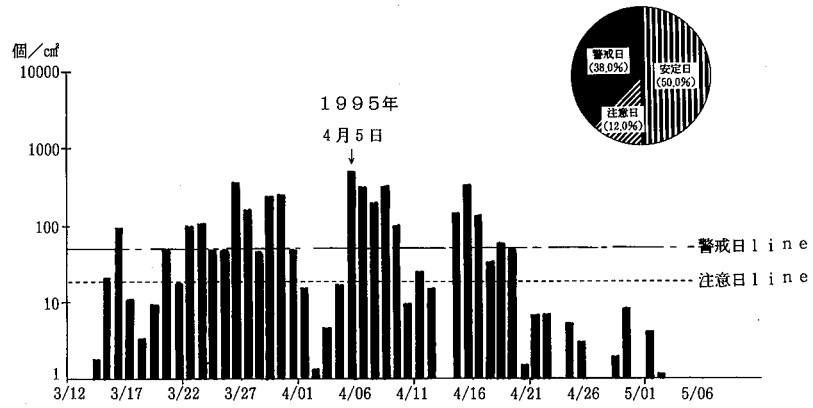
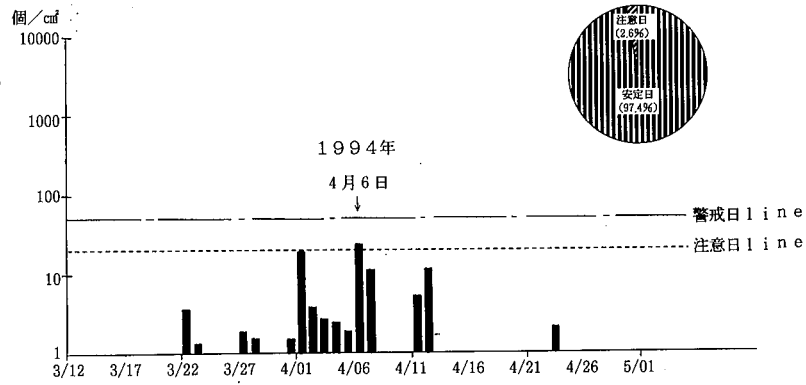
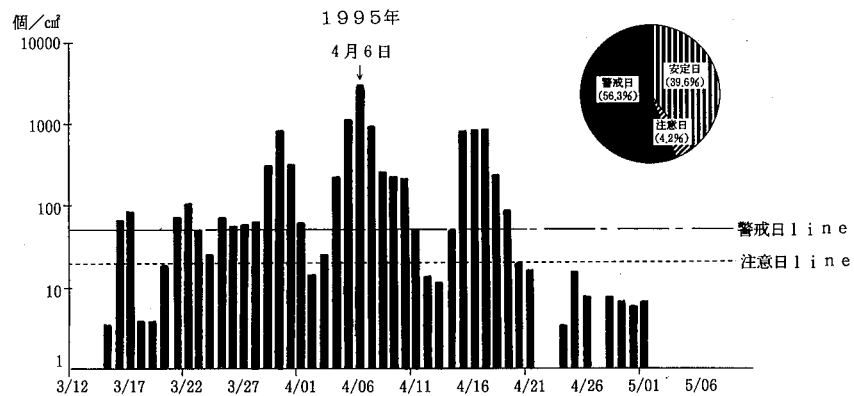
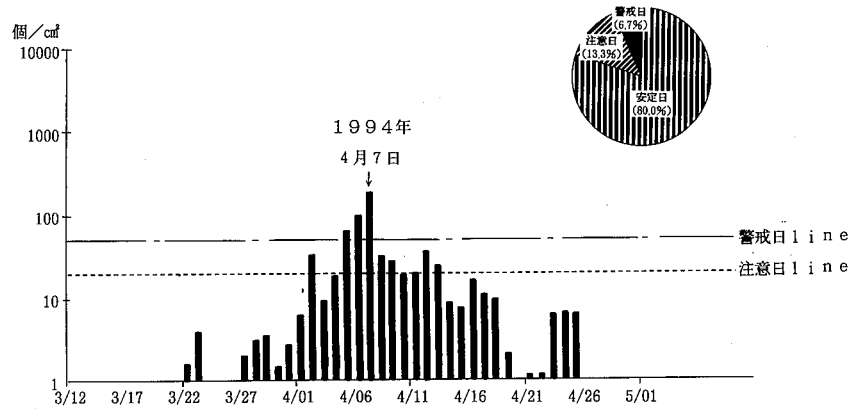


図5 スギ花粉観測数（県南）



IV 考察

秋田県では、スギ花粉症患者の予防対策としてスギ花粉情報の提供を行っている。スギ花粉情報の持つ意味は、前報³⁾でも述べたとおり、スギ花粉症患者に対して、スギ花粉の多い日に極力花粉の吸入を抑え、また、屋内に極力スギ花粉を持ち込まない等の注意を促すことにあるものと考えている。このことから、これまで当年の総観測数、毎日の飛散数、花粉開始時期、最多飛散時期等の情報を提供対象としてきた。

スギ花粉の飛散量は、①花粉生産量②潜在的飛散量③飛散時の気象条件、に大きく影響される。①の花粉生産量は、前年の雄花芽形成時期の気象が大きく関与する⁵⁾ことから、雄花芽調査を実施し、その結果を地域単位に指数化した値を花粉生産量予測式(略)に投入し求めている。また、このようにして求めた花粉生産量と、過去の地域単位の予測飛散期間から基準日数(10日前後)を算定し、②の各日数毎の潜在花粉飛散量を算出している。そして、この値と予測期間の気象を日飛散数予測式に投入し予測している。

1994年の総観測数が少なかったことについては、毎年、前年に実施している雄花芽調査結果から推定され、今回の観測によりこのことが確認された。逆に、1994年の夏季から秋季の花粉形成時期の最高気温が平年より高く、花粉生産量も観測史上最も多かったため、1995年の花粉観測数も多かったものと推察された。

日観測数のうち、1995年の横手保健所の観測結果は、7020個/cm³/日にも達し驚異的な値であった。この値は全国の観測結果³⁾の中でも過去最高値として記録されている。また、日観測結果からも明らかであるが、飛散期間中の地域別観測数を予報区分で見ると、表4に示したように1995年の県南地域では56.3%が警戒日に分類された。

これは、あくまでも花粉数レベルでみた場合であるが、飛散パターンが類似していた(最飛散期間において日飛散数の極端な低下がなかった)県北地域の結果と比較すると、総観測数が1シーズン10000個/cm³前後に達すると、日飛散数50個/cm³/日を越える日数が飛散期間の半数以上になることを示すものと考えられた。

初観測日は、1995年が1994年より平均で18日早く、飛散開始日は20日早かった。これは、潜在花粉量が多い年には、飛散開始が早く逆に飛散終了が遅くなるこれまでの傾向と一致した。今後この関係を数量化することにより、飛散開始と飛散期間の予測精度の向上を図ることができるものと考えられた。一方、県内のスギ花粉生産量は、樹齢30年以降のスギ林の面積が年々増大傾向にあることから、今後の雄花芽形成期の気象条件次第では、1995年の観測結果を凌ぐ飛散年があるものと推定される。

次に、花粉観測結果の年別比較をみると、花粉観測数の多かった1995年には各観測地点間の観測値に大きな変動がみられ、これまでの地域別の観測結果と異なった。飛散数が多い年ほど観測地点間の変動が大きくなる現象は、飛散数が多いほど、観測地点の大気安定度²⁾の相違などの影響が大きくなるのが原因と考えられる。これは、県内の予報地域の基準観測点の位置や予測精度と関連するので今後の検討課題としたい。

スギ花粉予報を検証するには、花粉の予測飛散数を検証するとともに、スギ花粉症患者の結果、つまり、日単位の発症率と症状程度の調査結果を用いて検証する必要がある。前者については、得られた観測結果により検証が可能であるが、後者については、今後のスギ花粉症患者モニター調査等により検証する予定である。

V まとめ

1. 1994年と1995年の空中スギ花粉に関する調査の結果、スギ花粉総観測数は、1994年は県北を除いて観測史上最低値を示したが、1995年は逆に多くの観測地点で観測史上最大値を示した。
2. 総観測数の多少は、前年のスギ雄花芽調査結果から予測された結果と一致した。
3. 1995年は1994年に比較して初観測日が平均18日、飛散開始日が平均20日早く、飛散期間も平均で10日長かった。

文 献

- 1) 笹嶋 肇 他、平成4年の空中スギ花粉と花粉アレルギー患者に関する調査結果について、秋田県衛生科学研究所報、1993 ; 37 : 83-89.
- 2) 笹嶋 肇 他、スギ花粉日飛散数の予測方法の検討—拡散パラメータを用いた多変量時系列モデルの試み—、秋田県衛生科学研究所報、1992 ; 36 : 57-64.
- 3) 佐橋紀男、1995年のスギ花粉前線、日本花粉学会誌、1995 ; 41(1) : 59-67.
- 4) 笹嶋 肇他、平成5年の空中スギ花粉観測結果について、秋田県衛生科学研究所報、1994 ; 38 : 61-66.
- 5) 村山 貢司、スギ花粉飛散の予測と予報、アレルギーの臨床、1990 ; 10 : 95-98.