

ISSN 1881-6053

# 秋田県健康環境センター年報

第 1 号

平成 17 年度

ANNUAL REPORT  
OF  
AKITA RESEARCH CENTER FOR PUBLIC HEALTH AND ENVIRONMENT

No. 1 2005

秋田県健康環境センター

## は じ め に

秋田県健康環境センターは、県の機構改革により平成18年4月に旧衛生科学研究所と旧環境センターが統合して設立されました。

新型インフルエンザ等の感染症対策やガンの予防、生活習慣病の予防、食の安全など、健康に関する政策課題は年々広がりを見せており、また、悪化を辿る八郎湖の水質改善、玉川酸性水の中和対策、倒産した産業廃棄物処分場の管理に係る環境監視等々、本県独自の環境に係わる様々な問題も山積しております。

当センターではこれらの諸課題に対処し、県民及び関係機関等のニーズに適切に対応した研究及び運営を行うべく統合を契機に「秋田県健康環境センター中長期計画」を策定中であり、計画では、逼迫する財政事情の中で研究及び検査体制をいかに維持、機能アップしていくかが焦点になるものと考えております。

また、平成18年度から研究評価を原則として当センター内部で行うこととなりましたが、県民の要請に着実に応えることのできるよう、センターに課された諸課題の解決に結びつく研究テーマの設定に意を尽くしてまいります。

この年報は平成17年度の業務概要をお知らせするもので、内容は旧衛生科学研究所と旧環境センターに分かれております。

平成17年から”大腸ガン予防の健康教育プログラムに関する研究”、”薬剤耐性腸管出血性大腸菌の侵淫実態、耐性化機構、菌学的性状に関する調査研究”、”食品検査技術の充実と市場調査の手法に関する研究”、”秋田スギの空気浄化能力に関する調査研究”、”排水中のフッ素の回収技術及び再利用に関する技術開発”、”ダストの成分組成の分析手法に関する検討と評価”、”大気エアロゾル粒子及び海・陸水の気中PIXE法による超微量多元素同時分析法の技術開発”をスタートさせました。

次年度においては、新たな研究テーマの抽出をさらに進めるとともに、県民の健康と環境に関する様々な課題について、縁の下での力持ちとしての役割を果たしていけるよう、所員のレベルアップを図りながら努力してまいりたいと考えております。

今後とも、温かいご支援、ご指導をお願いします。

平成19年3月

秋田県健康環境センター所長

長 沼 隆

# 目 次

## I 健康環境センターの概要

1. 沿革	1
2. 庁舎の概要	1
3. 組織	1
4. 職員名簿	2
5. 業務内容	3
6. 主要機器	5

## II 衛生科学研究所事業概要

1. 業務実績	
1. 試験検査等実績	7
2. 研修・学会等	9
3. 決算	11
4. 研究業務実績	12
2. 調査研究報告	
・平成17年感染症発生動向調査患者情報について	17
・ <i>Escherichia coli</i> O103 O-antigen polymerase 遺伝子塩基配列の保存性に関する検討	30
・医療機関における薬剤耐性菌検出状況—特に基質拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL9とメタロβ-ラクタマーゼ遺伝子保有株の検出状況	37
・志賀毒素産生性大腸菌(STEC) O121:H19の病原遺伝子と分子疫学的性状	41
・秋田県で2005年12月から2006年3月に検出された <i>Norovirus</i> の遺伝子型—東北食中毒研究会 <i>Norovirus</i> 研究班活動	47
・秋田県内で分離された結核菌の分子疫学的性状の解析とRFLPパターンのデータベース化に関する調査研究	55
・平成17年度新生児マススクリーニング発見患児について	63
・薬剤耐性腸管出血性大腸菌の侵淫実態と多剤耐性腸管出血性大腸菌O103の性状について	71
・室内空气中の揮発性有機化合物濃度について	75
・平成17年度産スギヒラタケの生物試験結果について	86
3. 発表業績一覧	
1. 学会発表	89
2. 他誌掲載論文	100

## III 環境センター事業概要

1. 業務実績	
1. 試験検査等実績	105
2. 研修・学会等	106
3. 決算	107
4. 研究業務実績	108
2. 調査研究報告	
・大量死したミヤマカラスの致死要因について—臓器の元素分析からのアプローチ—	113

・ 土壌及び底質中の塩素化ダイオキシン類とその類似化合物の抽出及び濃縮方法と汚染源の同定 に関する研究	116
・ 平成 17 年度大気中揮発性有機化合物（VOCs）モニタリング調査	119
・ 選択的フッ素吸着能を有する新規フッ素吸着材の合成とその吸着挙動	122
3. 発表業績一覧	
1. 学会発表	129
2. 他誌掲載論文	133



# I 健康環境センターの概要

## 1. 沿革

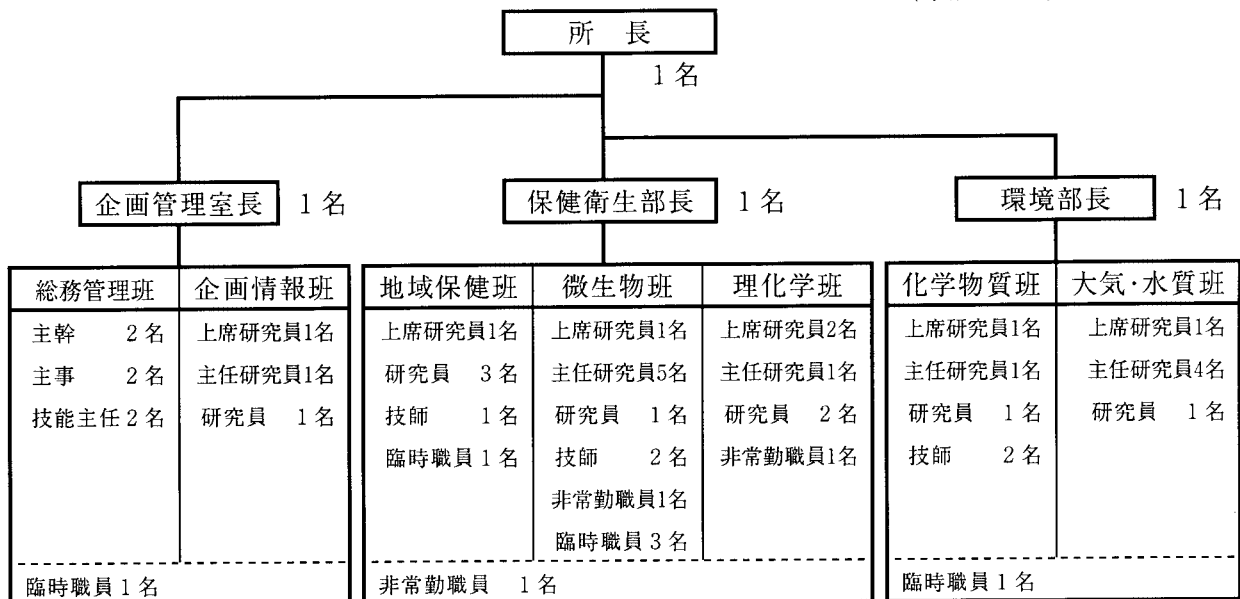
明治35年7月	秋田市牛島町に衛生試験所を設立。
明治末期～昭和	衛生試験所庁舎を秋田市土手長町に移転。
昭和28年1月	衛生研究所に改称。
昭和39年4月	衛生科学研究所に改称。
昭和39年6月	衛生科学研究所庁舎を、秋田市古川堀反町（現千秋明德町）に新築移転。
昭和45年7月	公害技術センターを秋田市茨島の工業試験場内に設置。
昭和48年7月	公害技術センター庁舎（現環境部庁舎）を秋田市八橋に新築移転。
昭和56年4月	公害技術センターから環境技術センターに改称。
昭和61年8月	衛生科学研究所庁舎（現千秋庁舎）を千秋久保田町に新築移転。
平成12年4月	機構改革により環境技術センターから環境センターに名称を変更し、組織の一部を秋田県庁第二庁舎に移転。
平成14年3月	環境センター八橋分室敷地内にダイオキシン類分析棟を新築。
平成18年4月	衛生科学研究所と環境センターの統合により、健康環境センターとして発足。

## 2. 庁舎の概要

1) 所在地	健康環境センター千秋庁舎	秋田市千秋久保田町6番6号
	健康環境センター環境部	秋田市八橋字下八橋191番地42号
2) 敷地	健康環境センター千秋庁舎	867.75 m <sup>2</sup> (建物建床面積)
	健康環境センター環境部	6,664.54 m <sup>2</sup> (敷地総面積)
3) 建物	健康環境センター千秋庁舎	鉄筋コンクリート造5階建 延 4,553.52 m <sup>2</sup>
	健康環境センター環境部	鉄筋コンクリート造3階建 延 924.21 m <sup>2</sup>
		ダイオキシン類分析棟 198.77 m <sup>2</sup>
		その他施設 215.93 m <sup>2</sup>
	健康環境センター環境監視室	県庁第二庁舎6F 60.45 m <sup>2</sup>

## 3. 組織

(平成18年4月1日現在)



総職員数 52名 (正職員 43名, 非常勤職員 3名, 臨時職員 6名)

## 4. 職員名簿

(平成18年4月1日現在)

担 当	職 名	氏 名
	所 長	長 沼 隆
企画管理室	室 長	堀 松 紀 人
総務管理班	主幹(兼)班長	渡 部 昇
	主 幹	福 島 良 子
	主 事	松 嶋 信 幸
	主 事	佐々木 康 人
	技 能 主 任	進 藤 久 信
企画情報班	技 能 主 任	佐 藤 博 之
	上席研究員(兼)班長	佐 藤 信 也
	主任研究員	田 中 貴 子
保健衛生部	研 究 員	清 水 匠
	部 長	高 階 光 榮
	地域保健班	上席研究員(兼)班長
研 究 員		八 幡 裕 一 郎
研 究 員		高 山 裕 子
研 究 員		張 勇 子
技 師		佐 藤 智 子
微生物班	上席研究員(兼)班長	山 脇 德 美
	主任研究員	石 塚 志 津 子
	主任研究員	齊 藤 志 保 子
	主任研究員	安 部 真 理 子
	主任研究員	八 柳 潤
	主任研究員	斎 藤 博 之
	技 師	佐 藤 寛 子
	研 究 員	今 野 貴 之
	技 師	柴 田 ち ひ ろ
理化学班	上席研究員(兼)班長	小 林 淑 子
	上席研究員	村 上 恭 子
	主任研究員	松 田 恵 理 子
	研 究 員	珍 田 尚 俊
	研 究 員	松 淵 亜 希 子
環 境 部	部 長	土 田 重 二
化学物質班	上席研究員(兼)班長	斉 藤 勝 美
	主任研究員	木 口 倫
	研 究 員	小 林 貴 司
	技 師	桜 庭 恭 司
	技 師	泉 谷 孝 英
大気・水質班	上席研究員(兼)班長	石 塚 英 馬
	主任研究員	和 田 佳 久
	主任研究員	黒 沢 新
	主任研究員	池 田 努
	研 究 員	梶 谷 明 弘 成 田 修 司

## 5. 業務内容

- |       |  |
|-------|--|
| 総務管理班 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 人事， 服務及び福利厚生に関する業務</li> <li>・ 予算・決算に関する業務</li> <li>・ 検体の受付及び手数料の徴収に関する業務</li> <li>・ 公有財産の管理に関する業務</li> <li>・ 物品の購入， 出納及び保管に関する業務</li> <li>・ 文書の收受， 発送及び保管に関する業務</li> <li>・ その他， 他の班に属さない業務</li> </ul>   |
| 企画情報班 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 研究の企画・評価に関する業務</li> <li>・ 広報に関する業務</li> <li>・ 結核発生動向調査に関する業務</li> <li>・ 大気汚染常時監視</li> <li>・ 研修指導に関する業務</li> <li>・ 全国環境研協議会・衛生研究所協議会に関する業務</li> </ul>  |
| 地域保健班 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 児童・生徒の生活習慣病予防に関する調査研究</li> <li>・ スギ花粉症予防に関する研究</li> <li>・ 麻疹ワクチン接種割合向上に関する研究</li> <li>・ 大腸がん予防に関する研究</li> <li>・ 基幹・地方感染症情報センター業務</li> <li>・ 花粉症予防対策業務</li> <li>・ 健康・栄養調査業務</li> <li>・ 公衆衛生情報に係る業務</li> <li>・ 地域におけるヘルスプロモーション業務</li> <li>・ 健康危機管理情報</li> <li>・ 精度管理（GLP）</li> </ul> |
| 微生物班  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 食中毒起因菌に関する調査研究</li> <li>・ 薬剤耐性腸管出血性大腸菌に関する調査研究</li> <li>・ 多剤耐性サルモネラ菌に関する調査研究</li> <li>・ ウイルス感染症の試験検査</li> <li>・ エイズ， 性病， B・C型肝炎に係る抗体検査</li> <li>・ つつが虫病に係る血清診断</li> <li>・ 細菌性感染症に係る試験検査</li> <li>・ 細菌性食中毒に係る試験検査</li> <li>・ マス・スクリーニングに係る試験検査</li> </ul>                            |
| 理化学班  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ヒトまたは動物の脂質組成に及ぼす植物性成分の影響に関する研究</li> <li>・ 食品検査技術の充実と市場調査手法に関する研究</li> <li>・ 食品衛生法等に係る試験検査</li> <li>・ 水質に係る試験検査</li> <li>・ 環境に係る試験検査</li> <li>・ 医薬品等に係る試験検査</li> <li>・ 温泉等に係る試験検査</li> <li>・ 環境放射能に係る測定</li> </ul>   |

化学物質班

- ・ダイオキシン類調査（土壌，地下水）
- ・有害大気汚染物質調査（大気中 VOCs 関係）
- ・公共用水域水質調査（PCBs・農薬・VOCs 関係）
- ・汚染井戸周辺地区調査（VOCs 関係）
- ・工場・事業場排水基準検査（VOCs 関係）
- ・廃棄物関係行政検査（PCBs・農薬・VOCs 関係）
- ・能代産廃周辺環境調査（PCBs・農薬・VOCs 関係）
- ・化学物質環境汚染実態調査（暴露量調査，モニタリング調査）
- ・植物性産業廃棄物の高度資源化に関する研究（県総合食品研究所との共同研究）
- ・秋田スギの空気浄化能力に関する調査研究（県立大学木材高度加工研究所の協力）
- ・ダストの成分組成の分析手法に関する検討と評価（JST 革新技術開発研究事業，日本カノマックス（株）からの受託研究）
- ・大気エアロゾル粒子及び海・陸水の気中照射 PIXE 法による超微量多元素同時分析手法の技術開発（（独）放射線医学総合研究所との共同研究）

大気・水質班

- ・有害大気汚染物質調査
- ・酸性雨調査
- ・アスベスト環境調査
- ・工場・事業場排出基準検査
- ・公共用水域水質調査
- ・汚染井戸周辺地区調査
- ・十和田湖水質・生態系調査
- ・玉川酸性水影響調査
- ・特定水域水質調査
- ・航空機騒音調査
- ・廃棄物関係行政検査
- ・排水中のフッ素の回収技術及び再利用技術に関わる研究開発（(株)細倉金属鋳業との産官共同研究）
- ・炭素質系廃棄物を利用した環境調和型機能性水質浄化材の開発（県工業技術センター及び県立大との共同研究）

## 6. 主要機器

(平成18年4月1日現在)

機 器 名	規 格	備 考
電子顕微鏡	日本電子 JEM-1010	
テレメータ装置	日立製作所 HA8000	
偏光ゼーマン原子吸光光度計	日立製作所 Z-5000	
原子吸光分光光度計	日本ジャーレルアッシュ AA-890	
原子吸光分光光度計	バリアン・テクトロン AA220-FS	
赤外線分光光度計	日本分光 IR-810	
小型気象ゾンデシステム	AIR 社 TS-3BI	
分離用超遠心機	日立工機 CP70MX	
原子吸光炎光共用分光分析装置	ジャーレルアッシュ AA-8500	
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津 QP5000	
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津 QP5050A	
ガスクロマトグラフ質量分析計	日本電子社 JMS-700D	
ガスクロマトグラフ質量分析計	バリアン Saturn2200	
キャピラリー GC/MS システム	ヒューレットパッカー HP5890A HP5970B	
キャピラリーガスクロ	ヒューレットパッカー HP6890(G1530A)	
キャピラリーガスクロ	Agilent Technologies 社 6890N (G1530N)	
高速液体クロマトグラフ	日立 L-6200	
高速液体クロマトグラフ	日立 セミミクロ 655	
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L-7000	
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L-7000	
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ LCM-ISP	
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ 2695	
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ 996 アライアンスシステム	
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネクス DX-100	
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネクス DX-120	
高速溶媒抽出装置	DIONEX 社 ASE-200	
高速溶媒抽出装置	DIONEX 社 ASE-300	
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネクス DX-320	
ガスクロマトグラフ質量分析計	Agilent 社 6890N/5973N SFX220	
大量注入溶媒除去システム	SGE 社 SCLV	
オートアナライザー	日立メデイコ 7020	
Ge 波高分分析装置	セイコー・イージーアンドジー GEM20P	
PCR プロダクト検出定量システム	アプライドバイオシステムズ ABI PRISM 7000	
遺伝子増幅装置	日本ロシュ ライトサイクラーシステム 3	
先天性甲状腺機能低下症等スクリーニングシステム	BSD600	
放射能自動測定装置	アロカ LBC-471Q	
大型高圧蒸気滅菌装置	平山製作所 HK-530E	
水質自動分析装置	ブラン・ルーベ TRAACS800	
マイクロウェーブ分解装置	マイルストーンゼネラル ETHOS900	
神経芽細胞腫スクリーニング測定装置	エムシーメディカル L-2130	

## Ⅱ 衛生科学研究所事業概要

### 1. 業務実績

## 1. 試験検査等実績

## 1.1 行政依頼検査

(件数)

年度		平成 15	平成 16	平成 17	
項目					
細菌・ウイルス等の 試験検査	感染症発生動向調 査病原体別検査数	ウイルス分離検査	870	1,172	990
		細菌検査	1,322	1,290	1,298
	感染症流行予測調査	インフルエンザ感染源調査	60	119	280
		インフルエンザ感受性調査	231	280	1,112
		インフルエンザ系統調査	150	150	160
		日本脳炎感染源調査	60	70	70
		麻疹感受性調査	0	280	278
		食中毒検査	ノロウイルス検査	301	520
		細菌検査 (EHEC)	320	439	138
		その他の細菌等検査	217	1,603	804
	スギ雄花芽調査数		15	15	15
	スギ花粉測定数		208	152	152
	H I V抗体検査		85	51	36
	H C V抗体検査		15	260	42
	性器クラミジア抗体検査		74	99	126
	梅毒抗体検査		73	100	130
	H B s抗原検査		15	215	42
	3類感染症に係わる病原微生物検査		1,518	1,165	1,078
	特定建築物等レジオネラ属菌検査		320	296	126
	スギヒラタケ検査	ウイルス検査	0	394	126
		細菌検査	0	245	120
	地研レファレンスセ ンター業務	カンピロ血清型別	16	31	12
		ジフテリア・百日咳	33	0	0
		その他の検査	3	0	0
	結核菌 RFLP 検査		5	4	2
	つつが虫病血清検査		134	124	152
	マス・スクリーニング	先天性代謝異常症	9,091	8,956	8,933
内分泌疾患		0	0	8,933	
神経芽細胞腫		5,240	174	0	
食品監視業務に係る 検査	残留合成抗菌剤検査	25	25	25	
	残留抗生物質検査	5	5	5	
	残留農薬実態検査	571	1,472	1,914	
	貝毒検査	34	35	20	
	米のカドミウム検査	9	8	8	
	スギヒラタケ等の化 学的検査	生物学的検査	0	0	42
		重金属	0	299	288
	精度管理		24	5	15
家庭用品試買検査	有害物質	75	65	113	
医薬品等監視指導業 務に係る検査	薬品、医薬部外品、医療用具 (細菌)	3	6	4	
	薬品、医薬部外品、医療用具 (理化学)	4	8	2	
飲料水等水質検査	水道水井戸水の農薬検査	27	27	35	
	精度管理	0	2	0	
地熱開発地域環境調査	温泉分析	53	463	465	
環境放射能水準調査	全ベータ線	129	149	146	
	核種分析	27	91	102	
	空間線量	378	377	377	
	その他	6	12	0	
栄養調査等業務	塩分濃度測定	0	65	56	
合 計		21,271	21,019	19,931	



## 1.2 一般依頼検査

(件数)

項 目		年 度	平成 15	平成 16	平成 17	
感染症発生動向調査 に関わる検査	秋田市保健所依頼分（再掲）		135	224	228	
細菌・ウイルス等の 試験検査	ウイルス分離検査		0	2	0	
	食中毒関係ノロウイルス検査		118	229	102	
	ノロウイルス検査		23	410	300	
	食中毒菌		27	11	0	
	大腸菌検査（定量）		20	5	10	
	大腸菌検査（定性）		0	1	0	
	寄生虫卵		20	5	10	
	一般細菌		20	1	10	
	腸管出血性大腸菌		0	1	1	
	その他の細菌		23	8	0	
	血液製剤無菌試験	真菌否定検査		37	0	42
		細菌否定検査		37	0	42
食品の試験検査	残留農薬検査		250	400	0	
	残留合成抗菌剤検査		95	0	0	
	残留抗生物質検査		5	7	0	
	貝毒検査		10	10	10	
合 計			820	1,314	755	

## 1.3 情報収集・解析・提供業務

(件数)

項 目			年 度	平成 15	平成 16	平成 17
基幹・地方感染症情報センター（感染症発生動向調査依頼業務）	患者情報	週報	収集	468	477	468
			報告	52	53	52
			還元	52	53	52
			解析	52	53	52
			提供	468	477	468
		月報	収集	108	108	108
			報告	12	12	12
			還元	12	12	12
			解析	12	12	12
			提供	108	108	108
	病原体情報	年報	報告	1	1	1
			収集	46	53	52
			報告	465	336	275
			還元	24	24	24
	解析評価委員会資料提供		還元	24	24	24
解析			24	24	24	
提供			12	12	12	
収集			12	12	12	
結核発生動向調査依頼業務	月報	収集	108	108	108	
		報告	12	12	12	
		還元	12	12	12	
	年報	収集	9	9	9	
		報告	1	1	1	
		還元（前年分）	1	1	1	
花粉症予防対策依頼業務		スギ花粉予報作成提供	46	49	49	
		スギ花粉測定数	208	152	152	
		スギ雄花芽調査数	15	15	15	
		花粉症患者調査票数	398	285	285	
		花粉症予防対策検討会	1	1	1	
合 計				2,823	2,556	2,473

## 2. 研修・学会等

## 2.1 研修

年 月 日	研 修 名	氏 名	開 催 地
17. 5.11 ~ 17. 5.12	食品安全行政講習会	武藤 倫子	東京都
17. 5.13	食品安全行政講習会	松田恵理子	東京都
17. 6.30 ~ 17. 7. 1	先天性代謝異常症等検査技術者研修会	安部真理子	東京都
17. 8.24 ~ 17. 8.25	東北食中毒研究会第18回研修会	鈴木 紀行 原田誠三郎 齊藤志保子 八柳 潤	山形県
17. 9. 2 ~ 17. 9. 5	21世紀帯津良一先生合宿養生塾	鈴木 紀行	長野県
17.10.13	感染症および食に関するリスクコミュニケーショントレーニングプログラム	八幡裕一郎	東京都
17.11.13 ~ 17.11.19	がん治療実地研修（帯津三敬病院）	鈴木 紀行	長野県
17.11. 5 ~ 17.11. 6	先天性代謝異常・内分泌疾患マス・スクリーニング基礎理論研修会	山脇 徳美	東京都
17.12.14 ~ 17.12.16	北海道・東北・新潟地区ブロック研修会	齊藤志保子	北海道
17.12.15 ~ 17.12.16	北海道・東北・新潟地域ブロック研修会	松田恵理子	宮城県
18. 1.11	第51回日本水環境学会セミナー	斎藤 博之	東京都
18. 1.13 ~ 18. 1.15	日本栄養改善学会実践栄養学研究集中セミナー	高山 裕子	東京都
18. 1.18 ~ 18. 1.19	残留農薬分析研修	松田恵理子 松渕亜希子	岩手県
18. 1.20	ポジティブリスト制度に伴う試験法説明会	松田恵理子 松渕亜希子	東京都
18. 2. 3	日本食品衛生学会第6回特別シンポジウム	小林 淑子	東京都
18. 2.16 ~ 18. 2.17	平成17年度希少感染症診断技術研修会	齊藤志保子 柴田ちひろ	東京都
18. 2.18	日本マス・スクリーニング学会技術部会第24回研修会	柴田ちひろ	東京都
18. 3.15	残留農薬分析研修	小林 淑子 村上 恭子	東京都
18. 3.15	放射能分析確認調査技術検討会	武藤 倫子	東京都
18. 3.17	健やかな子どもと家庭を支える科学の発展のために	高山 裕子	東京都
18. 3.18	独立行政法人国立健康・栄養研究所公開セミナー	高山 裕子	東京都
18. 3.28	バイオセーフティ技術認定更新講習	斎藤 博之	東京都

## 2.2 学会等出席

年 月 日	学 会 名	氏 名 (*:発表者)	開 催 地
17. 4.14	第 79 回日本感染症学会学術総会	八柳 潤*	愛知県
17. 5.12	第 54 回日本医学検査学会	八柳 潤*	京都府
17. 6. 5 ~ 17. 6. 9	American Society for Microbioligy 105th General Meeting	八柳 潤*	米国, アトランタ
17. 6.11	日本食生活学会第 16 回・第 30 回大会	高山 裕子*	東京都
17. 6.15 ~ 17. 6.16	第 129 回日本医学会シンポジウム「うつ病」	鈴木 紀行	東京都
17. 6.23	第 9 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム	八柳 潤*	岩手県
17. 6.30 ~ 17. 7. 2	第 10 回緩和医療学会	鈴木 紀行	神奈川県
17. 7. 7 ~ 17. 7. 8	衛生微生物技術協議会第 26 回研究会	八柳 潤* 石塚志津子 齊藤志保子 斎藤 博之	福井県
17. 7.17 ~ 17. 7.23	X VII International Botanical Congress	松田恵理子*	オーストリア, ウィーン
17. 7.22	第 54 回東北公衆衛生学会	田中 貴子* 佐藤 智子	福島県
17. 8. 6 ~ 17. 8. 7	第 39 回腸炎ビブリオシンポジウム	今野 貴之	新潟県
17. 8.26 ~ 17. 8.27	第 14 回日本健康教育学会	八幡裕一郎*	福岡県
17. 8.26	第 59 回日本細菌学会東北支部総会	今野 貴之*	山形県
17. 9. 7 ~ 17. 9. 9	第 58 回温泉科学会	武藤 倫子*	北海道
17. 9.13 ~ 17. 9.16	第 64 回日本癌学会	鈴木 紀行	北海道
17. 9.14 ~ 17. 9.16	第 64 回日本公衆衛生学会総会	高階 光榮* 笹嶋 肇* 八幡裕一郎* 張 勇*	北海道
17. 9.23 ~ 17. 9.24	平成 17 年度東北獣医公衆衛生学会	齊藤志保子*	山形県
17. 9.24	第 54 回日本花粉学会	笹嶋 肇*	千葉県
17. 9.27 ~ 17. 9.29	第 52 回日本栄養改善学会学術総会	高山 裕子* 張 勇*	徳島県
17.10. 7	第 3 回秋田県公衆衛生学会	笹嶋 肇*	秋田県
17.10. 7 ~ 17.10. 8	第 33 回日本マス・スクリーニング学会	柴田ちひろ	福岡県
17.10.13 ~ 17.10.14	第 27 回全国地域保健師学術研究会	田中 貴子	岐阜県
17.10.13 ~ 17.10.14	第 26 回肥満学会	松田恵理子	北海道
17.10.14	第 43 回秋田県小児保健会総会並びに講演会	高山 裕子*	秋田県
17.10.20 ~ 17.10.22	第 55 回日本アレルギー学会総会	笹嶋 肇*	岩手県
17.11.10 ~ 17.11.11	第 26 回日本食品微生物学会学術総会	齊藤志保子	石川県
17.11.17 ~ 17.11.18	公衆衛生情報研究協議会 北海道・東北・新潟ブロック	八幡裕一郎*	新潟県
17.11.20 ~ 17.11.22	第 53 回日本ウイルス学会	斎藤 博之*	神奈川県
17.11.26	日本食生活学会第 31 回大会	高山 裕子*	北海道
17.12. 8	環境放射能研究成果発表会	武藤 倫子	東京都

17.12.10 ~ 17.12.14	133rd American Public Health Association Annual meeting	八幡裕一郎*	米国, フィラデルフィア
18. 1.14 ~ 18. 1.15	第40回日本成人病学会	張 勇*	東京都
18. 2. 9 ~ 18. 2.10	第19回公衆衛生情報研究協議会研究会	八幡裕一郎*	秋田県
18. 3. 1 ~ 18. 3. 2	平成17年度地域保健総合推進事業発表会	高階 光榮	東京都
18. 3.16 ~ 18. 3.20	第4回臨床腫瘍学会	鈴木 紀行	大阪府
18. 3.18 ~ 18. 3.19	第12回日本行動医学会学術総会	張 勇	東京都
18. 3.18 ~ 18. 3.19	平成17年度日本獣医師大会三学会年次大会	齊藤志保子*	茨城県
18. 3.25 ~ 18. 3.29	日本農芸化学会2006年度大会	松田恵理子*	京都府
18. 3.28 ~ 18. 3.30	日本薬学会第126年会	佐藤 智子	宮城県

### 3. 決算

(平成18年5月31日現在)

款	項	目	平成17年度 決算額	備考
総務費	総務管理費	人事管理費	495,072	
		財産管理費	743,977	
	企画費	企画総務費	823,373	
衛生費	公衆衛生費	公衆衛生総務費	11,577,966	
		予防費	7,321,182	
		衛生科学研究所費	37,910,303	
	環境衛生費	環境衛生総務費	796,695	
		食品衛生指導費	2,670,000	
		環境衛生指導費	629,713	
	保健所費	保健所費	7,043,331	
医務費	薬務費	168,000		
教育費	保健体育費	保健体育総務費	3,000	
計			70,182,612	

## 4. 研究業務実績

### 健康管理部

#### 児童・生徒の生活習慣病予防健診における血液検査及び食物摂取状況調査の意義と方法に関する研究 平成15年度～平成18年度

##### 目的

児童・生徒の生活習慣病予防健診の普及を図るために、血液検査を中心に、必要性及び有用かつ効果的な実施方法を検討する。また、事後指導に対応し、かつ児童・生徒の食物摂取状況を把握するための有用で実質的な簡易食物摂取状況調査法を検討する。

##### 方法

- 1) 血液検査の必要性和実施方法の検討：小学4年生から中学3年生を対象に血液を採取し、追跡調査を実施した。
- 2) 食物摂取状況調査の簡易調査法とその活用方法の検討：食物摂取状況調査方法の検討及び試行調査を実施した。

##### 結果

- 1) 尿酸値については男子で基準値を越える割合が高率であった。追跡調査で尿酸値の平均値を比較をすると、男子全体では有意な上昇がみられ、学年別では5年生から中学1年生での上昇が大きいことがわかった。また、男女とも尿酸値、肝機能とも肥満傾向ありの群で基準値を超える生徒の割合が有意に高かった。これらの結果から尿酸及び肝機能検査が小児期の健康管理及び肥満対策に意義が大きい項目であると考えられた。
- 2) 中学生の既存調査成績を用いて食事調査と質問紙調査の比較検討した。その結果、エネルギー、蛋白質、脂質についてはほぼ同値であり両者に有意な相関がみられた。このことから、摂取頻度をたずねる調査により食事内容を把握することが概ね可能であった。これらの結果を基に、学校保健分野で実施可能な簡易食物状況調査票と結果票を独自に考案し試行した。また、小中学校の教職員を対象としたこの調査票を有効に活用するために子供の健康と食生活及び食育に関する調査を行い、学校現場の状況を把握

した。この結果を報告書としてまとめ県及び学校関係者に食生活指導及び食育における資料として配布した。

#### 空中スギアレルゲンの測定技術の開発（競争的研究資金事業） 平成17年度～平成18年

##### 目的

最近の研究成果から花粉数と花粉症原因物質のアレルゲン量はパラレルではないことが示唆されていることから、空中スギ花粉アレルゲン情報はスギ花粉症患者の予防方法の目安として極めて有用である。そこで、本研究では空中スギ花粉アレルゲンの捕集方法と測定方法に関する試験を行い、スギ花粉飛散予報をより高度化し、県民の健康管理および治療に關与する医療機関への情報提供の質的向上を図る。

##### 方法

- 1) 捕集系は空中の花粉アレルゲンをエアープンプを用いて効率よく捕集するための最適条件を検討するため、実験室内に花粉の均一濃度空間を確保する。その後大気中に浮遊する花粉をエアープンプを用いてフィルター上に捕集しダークラム法と比較する。吸引法については、同時に吸引される粉塵の影響について検討し、必要に応じてアセトンによる除去効果についても検討する。
- 2) 検出系は、①発色色素(BCIP/NBT)による検出、②蛍光色素(4MU)による検出、③蛍光色素とABC(アビジンビオチン)システムによる検出の2種類を用いる。

##### 結果

県内ではスギ花粉飛散開始日を、ダークラム法で0.1個/cm<sup>2</sup>と定めているが、過敏性の強い花粉症患者は飛散開始日より早く発症するともいわれている。本研究により、スギ空中花粉を従来のダークラムよりもおよそ150倍の花粉を捕集できることが示唆された。また、空中花粉アレルゲンの測定では空中に浮遊する粉塵などの夾雑物をアセトン処理することによって、免疫測定を阻害する影響を部分的に取り除ける結果が得られた。したがって、将来的に空中スギ花粉アレルゲン測定技術が開発され、アレルゲンを指標としたより高度な花粉予報を提供することにより、県民に対してスギ花粉対策の注意を喚

起し、花粉症患者の新たな発症を予防できる。また、医療現場における予防投薬時期の判断に利用できるため、花粉症患者の重篤化を抑制し、健康で快適な県民生活を実現することが見込まれる。

#### 今後の計画

本研究の成果は飛散花粉の捕集、空中アレルゲンの測定に関して基礎的データが得られたことであり、大学、医療機関や機器メーカーからの問い合わせが想定される。したがって、本研究成果の普及についてはホームページで概要を公表し、照会があった場合に詳細データを提供し、森林技術センターとも連携し、先方の実用化、利用、応用について意見交換しながら相談に応じていきたい。

## 微生物部

### 秋田県内で分離された結核菌の分子疫学的性状の解析とRFLPパターンのデータベース化に関する調査研究 平成16年度～平成17年度

#### 目的

県内で分離された結核菌のRFLPパターンを画像処理してデンドログラム解析をする技術を導入するとともに、画像処理した分離株のRFLPパターンを保存することにより、県内で分離された結核菌のRFLPパターンをデータベース化するための技術を確立することを目的として、本調査研究を実施した。

#### 方法

業務担当課からあらかじめ承認を得て、これまでに当センターにRFLP解析を依頼した経緯がある市立秋田総合病院、大館市立総合病院、平鹿総合病院から分与された結核菌、本事業実施以前に当センターに送付された結核菌保存株、合計91株を供試した。X線フィルム上に記録されたRFLPパターンの画像を可視光線で透過し、Geldoc 2000 (Bio-Rad) 画像取り込み装置を使用してTIFFファイルに変換し、Fingerprinting II Softwareを使用してデンドログラムを作成した。

## 結果

個別の実験で得られた外部標準株のバンドの相対的位置関係は比較的再現性良く一致することが確認され、データの標準化が可能であった。供試株91を使用して小規模ではあるが結核菌RFLPパターン画像データベースの骨格を構築し得たことから、本調査研究事業の当初目標はほぼ達成されたものと考えられた。今後も医療機関等から依頼された解析の結果を追加することにより、将来的にデータベースが充実するものと考えられ、結核対策に係る行政ニーズ、および医療機関からのニーズに対して、より適切な支援が可能となるものと考えられた。詳細は本誌 ( p.) に報告する。

### 秋田県における食中毒起因菌の侵淫実態と分離株の性状に関する調査研究 平成17年度～平成18年度

#### 目的

カンピロバクター及びサルモネラは人の重要な下痢起因菌であり、近年、その感染源の多様化が推測されている。これまでカンピロバクターに関しては鶏肉、サルモネラに関しては鶏卵の汚染状況について多くの機関で調査されてきた。しかし、その他の感染源についての調査は近年、軽視されてきたきらいがあり、現在の汚染状況の全体像は明らかではない。現状に即した食品衛生対策を構築する上で、現在における食品などの対象病原細菌の汚染実態および汚染食品の感染源としての役割を明らかにすることが必要である。カンピロバクターについては感染源としての役割が疑われている牛の保菌実態、サルモネラについては近年調査を実施していなかった家畜(豚、牛)及び市販食肉の汚染実態を解明し、さらに分離株の各種性状をヒト由来株と比較検討し、家畜・市販食肉等の感染源としての意義を明らかにすることを目的とし、本調査を実施した。

#### 方法

と畜場に搬入された牛、豚の糞便と胆汁(各40検体)、および市販の各種食肉(鶏肉・鶏レバー18検体、豚肉・豚レバー17検体、牛肉・牛レバー12検体)についてカンピロバクターとサルモネラの検査を実施した。また、分離株につ

いて各種性状試験，血清型別，薬剤感受性試験，遺伝子学的解析等を実施し，ヒト由来株と比較検討した。

### 結果・考察

鶏肉・鶏レバーはカンピロバクター（61.1%）及びサルモネラ（22.2%）の汚染が非常に高率であることが示され，その取り扱いに注意が必要であることが確認された。豚レバーからはサルモネラが検出された（1/17）。当該検体のサルモネラ汚染菌数は少量であったが，豚レバーがサルモネラ感染症の感染源となる可能性を踏まえて，適切な取り扱いの啓蒙が必要と考えられた。一方，牛肉，豚肉などからは現在のところカンピロバクターは検出されていないが，豚糞便（87.5%：*C. coli* 34/40，*C. jejuni*&*C. coli* 1/40），牛糞便（32.5%：*C. jejuni* 10/40，*C. jejuni*&*C. coli* 2/40，*C. coli* 1.40），牛胆汁（22.5%：*C. jejuni* 9/40）のカンピロバクター汚染が高率であることが確認された。牛胆汁の汚染は肝臓実質の汚染を示唆しており，肝臓の生食や内臓の不適切な調理が感染源になりうると考えられ，カンピロバクター感染症の感染源として鶏だけではなく牛も重要であることが示された。市販鶏肉はカンピロバクターに加えてサルモネラによっても高率に汚染されていることが確認された。また，豚の*C. coli*保菌率が非常に高率であることから，今後，ヒトの*C. coli*による下痢症の感染源として豚の役割の検討が必要と考えられた。

### 薬剤耐性腸管出血性大腸菌の侵淫実態，耐性化機構，菌学的性状に関する調査研究 平成17年度～18年度

#### 目的

県内における抗生物質耐性腸管出血性大腸菌の侵淫実態を解明すると共に，何らかの抗生物質に対して耐性を示した株に関してはその耐性化機構を明らかにする。また，耐性遺伝子の伝達性などから，今後その耐性が蔓延化する危険性など，医療機関における腸管出血性大腸菌感染症の診断，治療及び，秋田県における今後の感染症対策に活用されうる科学的知見の獲得を目的とする。さらに，本研究により得られた成果を感染症対策，食品衛生，畜産といった腸管

出血性大腸菌感染症に係わる行政機関や，治療に直接携わる医療機関等に提供することで，県民の健康的な生活の向上に寄与することを最終的な目標とする。

#### 方法

- 1) 1996年から2004年までに秋田県において分離された腸管出血性大腸菌菌株のうち，特に分離頻度の高いO157（114株），O26（60株），O103（10株）の薬剤耐性について，Kirby-Bauer法により調査した。
- 2)  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子 TEM，SHV，CTX-M及び薬剤耐性の伝播に関係するインテグロン (*intI*)及び *ISEcp1* トランスポゼース (*tpaA*)をそれぞれの遺伝子に特異的なプライマーを用いて，PCR法にて検出した。
- 3) Kado&Liu変法にてプラスミド精製し，サザン・プロット法により $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の位置を特定した。

#### 結果

- 1) O157で24株（21.1%），O26で21株（35.0%），O103で3株（30.0%），合計48株が何らかの抗生物質に耐性を示し，秋田県における薬剤耐性腸管出血性大腸菌の侵淫実態が解明された。
- 2) 染色体上に *bla<sub>CTX-M-14</sub>* ESBL 遺伝子と耐性遺伝子の伝達に関与する *ISEcp1* トランスポゼースを持った多剤耐性腸管出血性大腸菌が確認された。

### 理化学部

### 食品検査技術の充実と市場調査の手法に関する研究 平成17年度～平成20年度

#### 目的

食品安全基本法が制定され，消費者の食に対する関心が高まっている。我が県においても，食の安全・安心に関する条例が策定され，食の情報提供につながる多用な分析技術が要求されている。そこで，新たに追加されたアレルギー物質を含む食品の検査や遺伝子組換え食品検査，さらに法の改正によって増加する一方の農業等の検査を実施可能なものとし，施策展開に役立てるようとするものである。初年度は大豆

加工品食品の遺伝子組換え体のスクリーニング法の検討及びアレルギー食品の検査を実施した。

### 方法

- 1) 市販豆腐 17 検体の遺伝子組換え体の定量
- 2) 市販菓子類, 惣菜類, 麺類等 19 検体のアレルギー食品の検査

検査項目: 卵, 乳, 小麦, ソバ

検査方法: 通知法の加工食品中の特定原材料の検査方法に従い, ELISA 法 (N 社製及び M 社製キット) とウエスタンブロット法 (M 社製キット) によった。

### 結果

1) 市販豆腐 17 検体について, 遺伝子組換え体の定量を試みた。不検出が 1 検体, 残りは痕跡 ~ 0.2 % であった。これまでの調査により, 県内の豆腐製造所で使用されている輸入原料大豆の遺伝子組換え体の混入率は最大で 1.1 % であったことを考慮すると, 大豆加工品である豆腐から原料大豆の遺伝子組換え体混入率の推測が可能であることがわかった。

2) ELISA 法では, 惣菜, 麺類で卵 2 検体, 菓子類で小麦 1 検体及び惣菜, 麺類でソバ 2 検体が, 2 社のキットで共に陽性 (10 ppm 以上) を示した。菓子類で 1 検体が乳の  $\beta$ -ラクトグロブリンにのみ陽性を示したものがあつた。陽性を示したものはいずれも原材料に使用表示があつた。陽・陰性の判定は秋田市保健所の判定と一致した。

ウエスタンブロット法では, 2 検体が卵白アルブミン, オボムコイドのいずれも陽性を示し, 1 検体が  $\beta$ -ラクトアルブミンにのみ陽性を示し, ELISA 法と一致した。

## ヒトまたは動物の脂質組成に及ぼす植物性食品成分の影響に関する研究 平成 16 年度 ~ 平成 18 年度

### 目的

高脂血症は脂質の過剰摂取や代謝異常が原因の一つとされ, 進行すると動脈硬化症を経て心臓・脳血管障害など重篤な疾病を引き起こす。このような疾病はカロリーの摂取を最小限にするための食事療法と運動の励行が治療の第一歩とされているが, 継続的に実施することは難し

い。また, 投薬による治療は長期間服用するものが多く, 副作用がでることもある。これら生活習慣に根ざす疾病には, 機能性食品による食事療法が効果的である。秋田県産食品には古くからその効果を期待されるものがあるが, 機能性の解明には至っていない。そこで, これらの機能性を明らかにし, 県民の健康に寄与することおよび県産品の需要拡大につなげることを目的として調査を実施した。

### 方法

1. 県内産野菜, 山菜等の抽出エキスを調製し, マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 の脂肪蓄積活性に与える影響を調べ, 肥満や脂質代謝をコントロールする成分をスクリーニングする。
2. 活性を有する食品の抽出エキスを単離精製し, 3T3-L1 活性と MNR 等機器分析を組み合わせたことにより, 活性成分の化学種を特定する。

### 結果

3T3-L1 細胞の脂肪蓄積への影響を評価するアッセイ系は, 脂肪蓄積を抑制する場合は肥満の予防に, また脂肪蓄積を促進する場合は血中の脂質や糖質を取り込むので高脂血症, 糖尿病の予防や改善の指標とされる実験系である。県内産の野菜等 85 種の抽出エキスを脂溶性部と水溶性部に分け, 3T3-L1 細胞の脂肪蓄積活性に及ぼす影響を検討した。その結果, 水溶性部においては脂肪蓄積抑制活性を示すものが多く (39/85), 脂溶性部においては脂肪蓄積促進活性を示すものが多かった (21/83)。野菜等植物性食品は 3T3-L1 細胞の脂肪蓄積を抑制または促進する成分を多く含み, 肥満や脂質代謝をコントロールする可能性が示唆された。県内産杜仲茶より, 脂肪細胞の脂肪蓄積を抑制し, 肥満をコントロールする成分として

5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde を単離同定した。



## **II 衛生科学研究所事業概要**

### **2. 調査研究報告**

# 平成 17 年感染症発生動向調査患者情報について

佐藤 智子 八幡 裕一郎 高階 光栄 鈴木 紀行

平成 17 年の感染症発生動向調査患者情報より特徴的であった疾患は全数把握対象症疾患がレジオネラ症、急性脳炎であり、定点把握対象疾患(週報)がインフルエンザと伝染性紅斑であった。特にインフルエンザは総患者数が過去 10 年中最も多く、インフルエンザウイルスが原因の急性脳炎発症者が多く報告された。また、本年の伝染性紅斑は夏季に流行のピークがあり比較的患者数も多い年であり、報告年齢別では小児科定点にもかかわらず 20 歳以上の報告が多くみられた。

## 1. はじめに

感染症発生動向調査事業は平成 10 年 9 月に成立した「感染症の予防及び感染症の患者に関する医療に関する法律」により実施されている。

この法にもとづいて感染症の発生情報を把握、及び分析し情報を公開することが重要である。感染症発生動向調査は感染症の早期発見を行い、感染症の予防及びまん延防止に役立てられている<sup>2-3)</sup>。

秋田県では感染症情報センターを設置し、感染症発生動向調査事業に基づき、医療機関からの患者情報の収集、分析、提供・公開を行っている。

今回は平成 17 年 1 月 3 日から平成 18 年 1 月 1 日までに医療機関から報告のあった感染症患者情報について報告する。

## 2. 方法

2.1 調査期間：平成 17 年 1 月 3 日～平成 18 年 1 月 1 日

### 2.2 対象疾患

2.2.1 全数把握対象疾患(患者発生時、秋田県すべての医療機関から報告される疾患)

2.2.1.1 一類感染症(7 疾患)：エボラ出血熱、クリミア・コンゴ出血熱、重症急性呼吸器症候群(病原体が SARS コロナウイルスであるものに限る)、痘そう、ペスト、マールブルグ病、ラッサ熱

2.2.1.2 二類感染症(6 疾患)：急性灰白髄炎、コレラ、細菌性赤痢、ジフテリア、腸チフス、パ

ラチフス

2.2.1.3 三類感染症(1 疾患)：腸管出血性大腸菌感染症

2.2.1.4 四類感染症(30 疾患)：E 型肝炎、ウエストナイル熱、A 型肝炎、エキノコックス症、黄熱、オウム病、回帰熱、Q 熱、狂犬病、高病原性鳥インフルエンザ、コクシジオイデス症、サル痘、腎症候性出血熱、炭疽、つつが虫病、デング熱、ニパウイルス感染症、日本紅斑熱、日本脳炎、ハンタウイルス肺症候群、B ウイルス病、ブルセラ症、発疹チフス、ボツリヌス症、マラリア、野兔病、ライム病、リッサウイルス感染症、レジオネラ症、レプトスピラ症

2.2.1.5 五類感染症(14 疾患)：アメーバ赤痢、ウイルス性肝炎(E 型及び A 型を除く)、急性脳炎(ウエストナイル脳炎及び日本脳炎を除く)、クリプトスポリジウム症、クロイツフェルト・ヤコブ病、劇症型溶血性レンサ球菌感染症、後天性免疫不全症候群、ジアルジア症、髄膜炎菌性髄膜炎、先天性風しん症候群、梅毒、破傷風、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症、バンコマイシン耐性腸球菌感染症

2.2.2 定点把握対象疾患(定点(指定)医療機関より週、月単位で報告される疾患)

#### 2.2.2.1 五類感染症

a)週報インフルエンザ定点(指定小児科と内科により報告される疾患。インフルエンザ定点には下記小児科定点が含まれる。)：インフルエンザ

b)週報小児科定点(指定小児科より報告される疾患)：RS ウイルス感染症、咽頭結膜熱、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎、水痘、手足口病、伝染性紅斑、突発性発しん、百

日咳，風しん，ヘルパンギーナ，麻しん（成人麻しんを除く），流行性耳下腺炎，川崎病（秋田県独自の届出）

c)週報眼科定点（指定眼科より報告される疾患）：急性出血性結膜炎，流行性角結膜炎，

d)週報基幹定点（指定総合病院より報告される疾患）：クラミジア肺炎（オウム病を除く），細菌性髄膜炎，マイコプラズマ肺炎，成人麻しん，無菌性髄膜炎

e)月報性感染症（以下 STD とする）定点（指定産・婦人科，泌尿器科より報告される疾患）：性器クラミジア感染症，性器ヘルペス感染症，尖圭コンジローマ，淋菌感染症

f)月報基幹定点：ペニシリン耐性肺炎球菌感染症，メチシリン耐性黄色ブドウ球菌，薬剤耐性緑膿菌感染症

## 2.3 定点(指定)医療機関

人口及び医療機関の分布等を考慮し保健所ごとに選定した（表）。

## 2.4 収集の方法

1)全数把握の一類から四類感染症は届出基準に基づき診断した医師が管轄する保健所に直ちに届出たもの。2)全数把握五類感染症は届出基準に基づき診断した医師が管轄する保健所に7日以内に届出たもの。3)週報定点把握五類感染症は定点医療機関が1週間(月曜日から日曜日)を調査対象として管轄する保健所に届出たもの。4)月報定点把握対象疾患は定点医療機関が1ヵ月を調査対象として管轄する保健所に届出たもので，これらのデータは各保健所からコンピュータ・オンラインにより伝送され，地方感染症情報センターで集約した後，中央感染症情報センターへ報告した。

## 3. 結果

### 3.1 全数把握対象疾患

平成11年14週から平成17年52週までの全数把握対象疾患の報告数は腸管出血性大腸菌感染症が最も多く、次いでつつが虫病であった(図1)。平成17年の類型毎の届出数は次の通りであった。

#### 3.1.1 一類感染症（7疾患）

県内の届出はなかった。

#### 3.1.2 二類感染症（6疾患）

急性灰白髄炎，コレラ，ジフテリア，腸チフス，パラチフスの届出はなかった。

#### a)細菌性赤痢（疾患）

細菌性赤痢は3名の届出があった。性別は男性1名，女性2名であった。年齢別では50歳代1名，70歳以上2名であった。菌型は志賀菌1件，フレキシネル菌2件であった。推定される感染地域は3名とも日本国内であり，感染原因はともに不明であった。

### 3.1.3 三類感染症（1疾患）

#### a)腸管出血性大腸菌感染症

腸管出血性大腸菌感染症は54名の届け出があった。性別は男性が23名，女性が31名であった。年齢別では10歳以下が13名で最も多く，次いで20歳代が10名であった。届出が多い季節は6，7，8月で全体の約7割を占めていた。菌株は多い順に0-26が21例，0-157が17例，0-103が7例で，0-26，0-157が全体の7割を占めていた。毒素型はVT-1/2+が17例，VT-1+のみが33例，VT-2+のみが3例であった。感染経路はほとんどが不明であった。症状は多い順に下痢が17例，腹痛が13例，血便が7例，発熱が7例であった。また，無症状である無症状病原体保菌者が32名であった。

### 3.1.4 四類感染症（30疾患）

県内では30疾患中28疾患（E型肝炎，ウエストナイル熱，A型肝炎，エキノコックス症，黄熱，オウム病，回帰熱，Q熱，狂犬病，高病原性鳥インフルエンザ，コクシジオイデス症，サル痘，腎症候性出血熱，炭疽，テング熱，ニパウイルス感染症，日本紅斑熱，日本脳炎，ハンタウイルス肺症候群，Bウイルス病，ブルセラ症，発疹チフス，ボツリヌス症，マラリア，野兎病，ライム病，リッサウイルス感染症，レプトスピラ症）の届け出はなかった。届出があった疾患はつつが虫病，レジオネラ症であった。

#### a)つつが虫病

つつが虫病は22名の届け出があった。性別は男性8名，女性14名であった。年齢別では70歳以上が9名で最も多く，次いで60歳代が7名，50歳代が4名であり，50歳以上が全体の9割を占めていた。発生届の多い季節は5，6，7月で，全体の9割を占めていた。症状は多い順に発熱が19名，発疹が12名，リンパ腺腫脹が

4例であった。症状があった者全員に発熱が見られた。無症状は3名であった。

感染場所は山地・林が10名、畑・水田が8名、農場、公園がそれぞれ1名ずつであった。農作業や山菜採りに出かけた事による感染が約7割(15名)であった。

#### b) レジオネラ症

レジオネラ症は4名の届出があった。性別は男性4名、女性1名であった。年齢別では70歳以上が1名、60歳代が1名、50歳代が1名、40歳代が1名であった。症状は発熱が3例あり、無症状者が1名であった。

### 3.1.5 五類感染症

県内では14疾患中7疾患(ウイルス性肝炎(E型及びA型は除く)、クリプトスポリジウム症、劇症型溶血性レンサ球菌感染症、髄膜炎菌性髄膜炎、先天性風しん症候群、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症、バンコマイシン耐性腸球菌感染症)の届出はなかった。

#### a) アメーバ赤痢

アメーバ赤痢は60歳代男性1名の届出があった。推定される感染経路は不明であった。

#### b) 急性脳炎

急性脳炎は11名の届出があった。性別では男性5名、女性6名であった。年齢別では60歳代が1名、5歳以上10歳未満が4名、5歳未満が7名で、10歳未満の割合が9割であった。原因病原体としては10歳未満がすべてインフルエンザウイルスによるものであった。その他は不明であった。

#### c) クロイツフェルト・ヤコブ病

クロイツフェルト・ヤコブ病は4名の届出があった。性別では男性2名、女性2名であった。年齢別では70歳代が3名、60歳代が1名で、すべて高齢者であった。病型は弧発性プリオン病が3名、家族性プリオン病が1名であった。

#### d) 後天性免疫不全症候群

後天性免疫不全症候群は2名の届出があった。性別では男性2名であった。

#### e) ジアルジア症

ジアルジア症は70歳代男性1名の報告があった。ジアルジア症は糞便中に排泄された原虫嚢子により食物や水が汚染されることにより感染

を起こす感染症である。<sup>1)</sup>健康な人の場合は無症状が多く、報告された患者も無症状者であった。最近では2000年に1名報告されている(図1)。

#### f) 梅毒

梅毒は4名の届け出があった。性別では男性1名、女性3名であった。年齢別では70歳以上が2名、60歳代が1名、40歳代が1名であった。いずれも無症候性梅毒であった。

#### g) 破傷風

破傷風は70歳代の男女2名の届け出があった。症状としては破傷風の臨床的特徴である、開口障害と反弓緊張、頸部硬直などであった。

## 3.2 定点把握対象疾患

### 3.2.1 インフルエンザ定点 (図2)

平成17年のインフルエンザはシーズン中の総患者数と流行ピーク時の定点当たり患者数が76.0で過去10年の中で最も多い年であった。発生の推移は第5週から立ち上がり急激に増加し、第10週にはピークとなり、第14週までは急減したが、その後緩やかに減少し第22週に終息した。例年は12月上旬くらいから流行が始まり2月頃にピークを示し4月上旬頃に終息するが、2005年は1月下旬に流行が始まり3月上旬にピークとなり、その後6月上旬頃まで患者発生が続いた。今シーズン検出されたウイルスはB型が59%で最も多く、2月から3月にかけて集中的にA香港型とB型が検出された。また、インフルエンザウイルスが原因の急性脳炎発症者が12名中 名報告された。

### 3.2.2 小児科定点対象疾患 (15疾患)

#### a) 咽頭結膜熱 (図3)

平成17年は流行期である4月から9月にかけての報告数(13週から40週)が過去10年間で最も多い年であった。県内の発生の推移は増減が激しく、全国よりも大きな規模で推移した。全国は4月頃から増加し6月~7月にかけてピークとなりその後減少し、再び12月に増加する傾向であった。年齢別では1歳の報告が最も多く、年齢が増すに従い報告数が減少した。

#### b) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 (図4)

平成16年は過去10年の中で最も流行したが、平成17年の推移は例年並みであった。県内の発

生の推移は第4週から増加し、第11週まで定点当たり報告数が1.0を超える状態が続いたが、その後は夏にかけて流行期のピークが見られず、定点当たり報告数が1.5~0.5の間を増減しながら、秋にかけて緩やかに減少し、10月下旬から12月上旬にかけて再び増加傾向を示した。年齢別では5歳の報告が最も多かった。

#### c) 感染性胃腸炎 (図5)

平成17年は推移、報告数ともに例年並みであったが、ピーク週(第49週)の定点当たり報告数は過去10年間で最も大きかった。発生の推移は1月から9月にかけて緩やかに減少し、その後秋から急激に増加、第49週にピークとなった後、急激に減少した。全国的にも同様の状況であった。年齢別では6ヵ月~6歳までの報告が比較的多く、中でも1歳の報告が最も多かった。

#### d) 水痘 (図6)

平成17年は推移、報告数ともに例年並みであった。県内の発生の推移は1月から4月にかけて増減を繰り返しながら緩やかに減少した。その後増加し、6月上旬にピークとなり、9月下旬にかけて減少した。さらに10月上旬頃から増加し始め、12月にピークとなった。全国的も同様の傾向であった。年齢別では1歳~4歳の報告が多かった。

#### e) 手足口病 (図7)

県内の手足口病は主に夏季に流行する疾患であるが、平成17年は夏にはっきりしたピークが見られず、全体的に例年よりも報告数が少なかった。県内の発生の推移は5月中旬頃から緩やかに増加し始め、10月上旬にかけて増減を繰り返しながらいったん減少したが、第47週、第48週に再び増加した。

7月から8月にかけて手足口病と診断された患者から秋田県衛生科学研究所(現、秋田県健康環境センター)で分離・確認された病原体はすべてコクサッキーウイルスA群6型であった。年齢別では1歳の報告が最も多く、2歳以降は年齢が上がるに伴い報告数が徐々に減少した。

#### f) 伝染性紅斑 (図8)

県内では平成13年から14年にかけて大きな規模で推移したが、平成15年と16年は報告数も少なく、夏季に流行のピークを示さなかった。

平成17年は夏季に流行のピークを示し、前年に比べて報告数が多かった。発生の推移は3月上旬頃から増加し始め、6月下旬から7月上旬にピークを示し、その後減少したが、12月下旬にかけて再び増加傾向を示した。年齢別では4歳をピークとする山が見られた。

#### g) 突発性発しん (図9)

平成17年は、推移、報告数ともに例年並みであった。県内の発生の推移は季節的な変動があまり見られず、年間を通してほぼ同規模であった。年齢別では0歳~1歳の報告がほとんどであった。

#### h) 百日咳 (図10)

例年、県内の発生規模は非常に小さい疾患である。平成16年、17年ともに報告は散発的であった。全国的にも発生規模は非常に小さかった。

#### i) 風しん (図11)

県内は平成12年頃まで数年ごとに6月から8月にかけて流行する傾向にあったが、それ以降は年間を通して報告が散発的であった。全国的にも報告数が少なかった。

#### j) ヘルパンギーナ (図12)

平成17年は報告数、推移ともに例年並みであった。県内の発生の推移は、例年と同様に6月上旬から増加し始め、7月にピークとなり、10月下旬にほぼ終息した。平成16年と比べると、増加、ピーク、終息の時期が早かった。年齢別では1歳の報告数が最も多く、2歳以降は年齢が上がるに伴い報告数も減少した。

7月上旬から8月下旬に本疾患と診断された患者から分離・確認された病原体は、コクサッキーウイルスA群6型が最も多く、他にもコクサッキーウイルスA群9型やアデノウイルス1型、3型、単純ヘルペスウイルス1型であった。

#### k) 麻しん (図13)

平成17年は昨年同様、報告が無い週がほとんどであり、散発的であった。年々累積報告数も減少傾向にあるが、未だに患者発生がある。

#### l) 流行性耳下腺炎 (図14)

平成17年は例年よりも発生報告数が少なかった。発生状況としてはあまり季節性が見られない疾患であるが、夏季に報告数が多い傾向が見られた。過去には平成13年の冬から平成14

年、15年の春にかけて大流行が見られて以来比較的規模が小さく推移している。年齢別では1歳から徐々に増加し5歳がピークとなっている。

m) RSウイルス感染症(図15)

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の一部改正により、平成15年第45週より追加された疾患である。冬季に流行する疾患である。県内では昨年同様、11月頃から発生規模が増加し、12月下旬頃がピークであった。年齢別では0歳～1歳の報告が殆どであった。

n)川崎病(図16)

本疾患は秋田県が独自に集計している疾患である。季節性は見られないが、平成17年は春から夏にかけて集中的に報告が見られた。

### 3.2.3 眼科定点対象疾患

a)急性出血性結膜炎(図17)

県内の発生の推移は昨年同様散発的であった。全国的には季節性はなく一年を通じてほぼ横ばいであった。年齢別では20歳以上の成人の報告が殆どであった。

b)流行性角結膜炎(図18)

平成17年は推移、報告数ともに例年並みであった。県内の発生の推移は7月～8月に発生規模が小さく、11月～12月に大きくなっていた。全国は年間を通して発生があり、7月～8月をピークとするゆるやかな山があった。年齢別ではほぼ全ての年代の報告があり、比較的20歳以上の成人が多い傾向であった。

### 3.2.4 基幹定点対象疾患(週報)

a)細菌性髄膜炎(図19)

平成17年は昨年同様、報告が11月の1名のみであった。全国は定点当たり報告数が0.04以下であった。

b)無菌性髄膜炎(図20)

平成17年は報告数が多い年であった。8月に大きなピークがあり、北秋田保健所管内と大館保健所管内からのみの報告で、地域的に流行したと考えられた。この時に本疾患と診断された患者から分離・確認された病原体はコクサッキーA群9型がほとんどであった。年齢別では全て15歳以下からの報告であった。特に5歳～9歳の報告が多かった。

c)マイコプラズマ肺炎(図21)

県内の推移は春から夏は規模が小さく、冬は大きい傾向がみられた。全国と比べると、県内は冬季に比較的大きな規模で推移した。年齢別では全ての年代で報告が見られたが、1歳～15歳の報告が多かった。

### 3.2.5 STD 定点対象疾患

a)性器クラミジア感染症(図22)

県内は男女とも同じ位の規模で推移する疾患である。本疾患は夏季に発生規模が大きい傾向が見られる。平成17年の年齢別累積報告は男女ともに15歳～40歳が殆どで、特に20歳～30歳の報告が多くなっていた。さらに女性は男性よりも15歳～20歳の報告が多かった。女性の場合は自覚症状が無い場合が多く、10代からの感染は不妊の原因につながるために注意が必要である。

b)性器ヘルペス感染症(図23)

平成15年以降では、県内の発生規模は女性が散発的に推移し、男性よりも大きい傾向にあった。しかし、平成17年の6月より、男女ともに発生規模が大きく推移し、男女の報告数の割合がほぼ一緒になった。年間を通しての年齢別累積報告数では20歳～30歳の報告が多かった。

c)尖圭コンジローマ(図24)

平成15年、16年は女性よりも男性の発生規模が大きく推移したが、平成17年の春頃より、女性の発生規模が若干大きくなった。年齢別累積報告数では男女ともに20歳～29歳の報告が多く、女性は15歳～19歳の報告が次いで多かった。

d)淋菌感染症(図25)

男性が女性よりも報告数が多い疾患である。男性の発生規模は平成15年から17年にかけて徐々に減少傾向し、全体の発生規模も小さく推移した。逆に女性の場合は平成17年の定点当たり報告数が15年、16年と比べると若干大きく推移した。年齢別累積報告数は男性の20歳～29歳の報告が最も多かった。

### 3.2.6 基幹定点対象疾患(月報)

a)メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症(図26)

平成17年は月に15名以上の報告があった。季節的な変動はここ3年ではみられていない。年齢別累積報告数では年齢の増加にともない報告数が増加する傾向がみられ、特に70歳以上の

高齢者の報告がほとんどであった。

b) ペニシリン耐性肺炎球菌感染症 (図 27)

平成 17 年は報告数の多かった 3 月の 16 名を除くと、月に 2 名～8 名の報告があった。年齢別では小児及び高齢者からの報告がほとんどであった。特に小児では、1 歳～4 歳の報告が多かった。

c) 薬剤耐性緑膿菌感染症 (図 28)

毎年あまり報告がない疾患であるが、平成 17 年の発生規模は 15 年、16 年と比べて大きかった。年齢別では 1 歳以下及び 60 歳以上の報告がほとんどであり、中でも 70 歳以上の高齢者の報告が多かった。

#### 4. 考察

平成 17 年の全数把握対象症疾患はレジオネラ症、急性脳炎が特徴的であった。

レジオネラ症は秋田県では毎年 1 名報告される程度であるが、本年は 4 名の報告があった。高齢者や乳幼児、慢性疾患を持つ人では肺炎を起こす可能性がより高く、福祉施設や入浴施設、加湿器や噴水などの水景施設の衛生管理の徹底が望まれる<sup>4)</sup>。

急性脳炎においてはインフルエンザウイルスによるものが 10 名報告された。一因として本年はインフルエンザ総患者数が過去 10 年中で最も多かったことが挙げられる。インフルエンザワクチン接種により重症化や合併症の発生を予防する効果は期待されており<sup>1)</sup>、流行期に早めのインフルエンザワクチンの積極的接種を勧奨する必要がある<sup>4-5)</sup>。

定点把握対象疾患(週報)はインフルエンザと伝染性紅斑の発生動向が特徴的であった。

本年の伝染性紅斑は夏季に流行のピークがあり比較的患者数も多い年であった。また報告年齢別では小児科定点にもかかわらず 20 歳以上の報告が多くみられた。特に女性の報告が多いことから、幼児との接触の機会が多い母親もしくは保育所職員等の可能性がある。本疾患で注意すべき事項は妊婦が感染による胎児の異常もしくは流産の危険性があることである。特に流行期前に 20 歳以上の妊娠可能年齢者への注意喚起が必要である<sup>5)</sup>。

定点把握対象疾患(月報)は性器ヘルペスウイ

ルス感染症と淋菌感染症が特徴的であった。

性器ヘルペスウイルス感染症は本年夏季より男女ともに報告数が増加した。また淋菌感染症は男性の報告が減少し、逆に女性の報告が増加した。原因はともに不明である。STD の場合 20 歳代の報告の割合が非常に高く、しかも年々若年化してきている問題がある。STD は女性の不妊、もしくは胎児の産道感染を招き、さらには HIV 感染に関連する。多くの日本人の成人は AIDS と関係ないと考えていることが報告されている<sup>6)</sup>。従って若い時期からの性教育による感染予防の推進が今後必要である。

#### 参考文献

- 1) 感染症の辞典 国立感染症研究所学友会/編集
- 2) Steven M. Teutsch & R. Elliott Churchill. Principle and Practice of Public Health Surveillance, Second Edition. Oxford University Press. New York, 2000.
- 3) Rothman J K, Greenland S. Modern Epidemiology Second Edition. In: Buehler J W. Chapter 22; Surveillance: 435-457. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 1998.
- 4) 岡部信彦監修. R-Book 2003 日本版-小児感染症の手引き-. 日本小児医事新報社. 東京, 2004.
- 5) 日本小児感染症学会編. 日常診療に役立つ小児感染症マニュアル 2003-2004. 東京医学社. 東京, 2004.
- 6) Munakata T, Tajima K, Japanese risk behaviours and their HIV/AIDS-preventive behaviours. AIDS Educ Prev. 1996;8(2):115-133.

表1 保健所定点数(平成17年)

保健所名	週報				月報	
	インフルエンザ	小児科 <sup>1)</sup>	眼科	基幹	STD <sup>2)</sup>	基幹
大館	3	4	1	1	2	1
北秋田	1	2	0	1	0	1
能代	1	3	0	1	2	1
秋田中央	2	4	0	0	1	0
秋田市	4	7	3	1	4	1
由利本荘	2	4	1	1	2	1
大仙	3	4	1	1	1	1
横手	2	3	1	1	1	1
湯沢	2	4	0	1	1	1

1)小児科はインフルエンザ定点を兼ねる。

2)性感染症

●表2 過去7年、全数感染症報告数

区分	疾病名	平成11年 <sup>1)</sup>	平成12年	平成13年	平成14年	平成15年	平成16年	平成17年
二類	コレラ	-	1	-	-	-	-	-
	細菌性赤痢	5	5	-	2	1	1	3
	腸チフス	2	-	-	1	-	-	-
三類	腸管出血性大腸菌感染症	119	63	60	55	55	59	54
四類	つつが虫病	45	47	32	14	30	14	22
	テング熱	-	-	-	-	1	-	-
	レジオネラ症	-	1	1	1	1	-	4
五類	アメーバ赤痢	2	-	1	-	1	4	1
	ウイルス性肝炎(A型肝炎、B型肝炎を除く) <sup>2)</sup>	2	12	5	10	4	2	-
	急性脳炎 <sup>3)</sup>	-	-	-	-	-	26	12
	クロイツフェルト・ヤコブ病	4	2	3	4	2	2	4
	劇症型レンサ球菌感染症	-	1	-	-	-	1	-
	後天性免疫不全症候群	1	-	2	3	3	2	2
	ジアルジア症	-	1	-	-	-	-	1
	梅毒	12	13	8	8	1	1	4
	破傷風	-	-	1	1	-	1	2
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	2	5	-	3	1	4	-	

\*1 平成11年は14週からの報告数

\*2 平成15年45週より変更。それ以前はA型肝炎B型肝炎を含む。

\*3 平成15年45週からの報告



# ●発生動向と年齢別報告数(平成17年)

図1 インフルエンザ

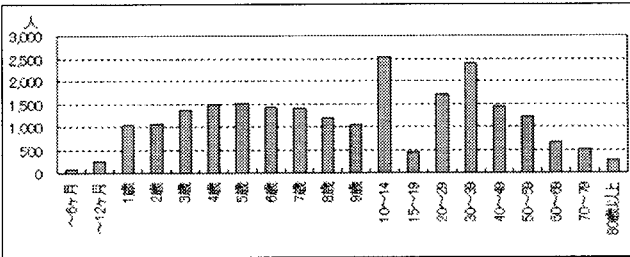
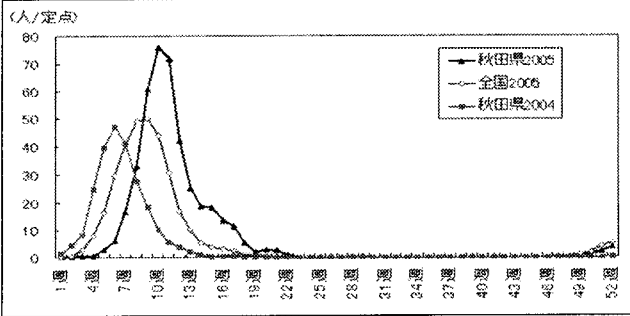


図2 咽頭結膜熱

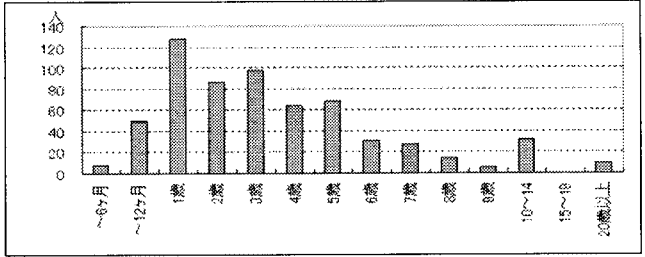
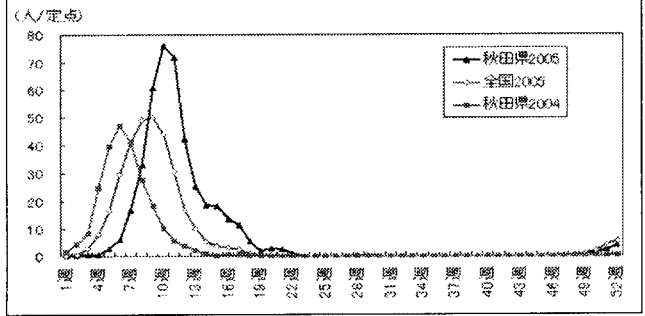


図3 A群溶血性連鎖球菌咽頭炎

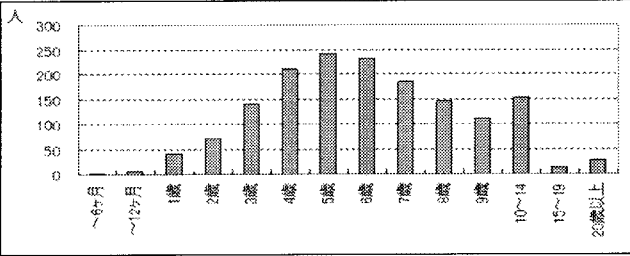
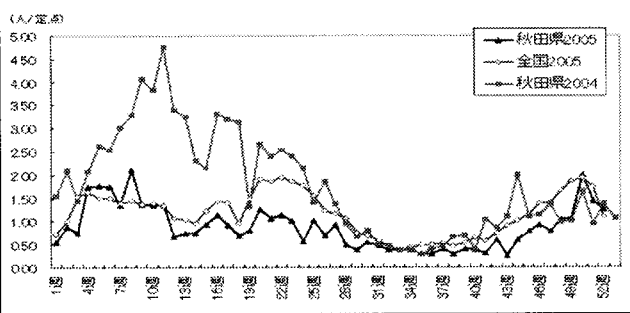


図4 感染性胃腸炎

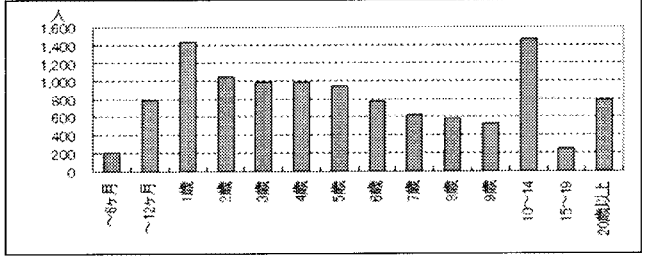
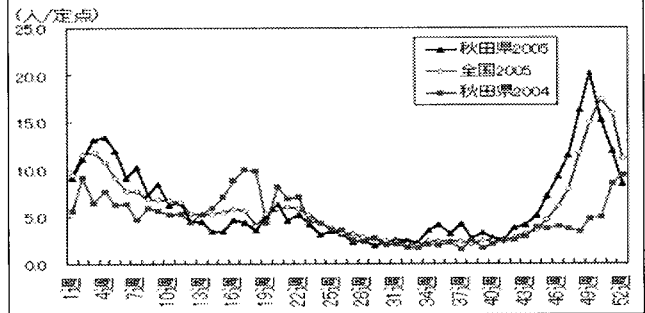


図5 水痘

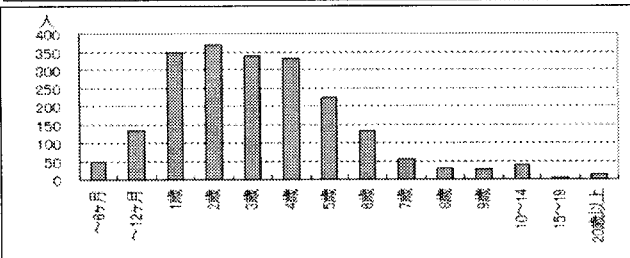
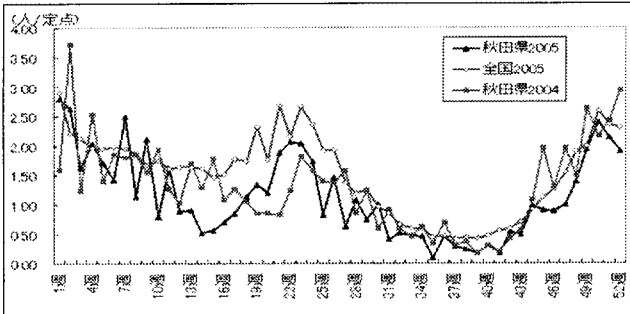


図6 手足口病

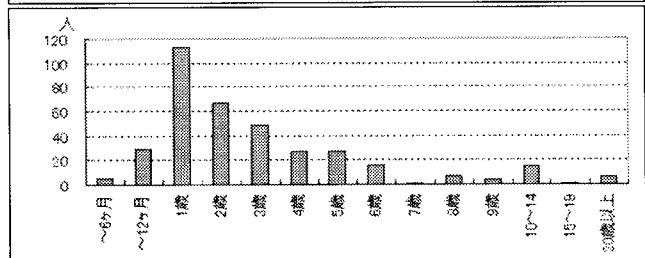
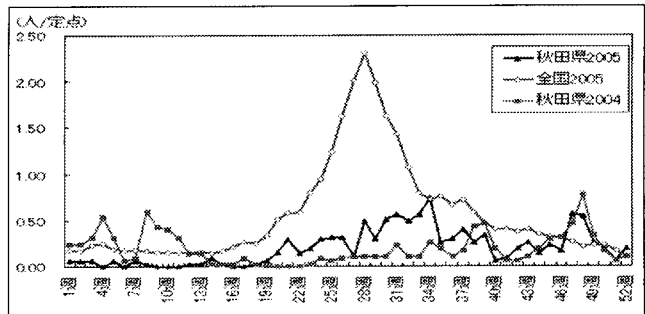


図7 伝染性紅斑

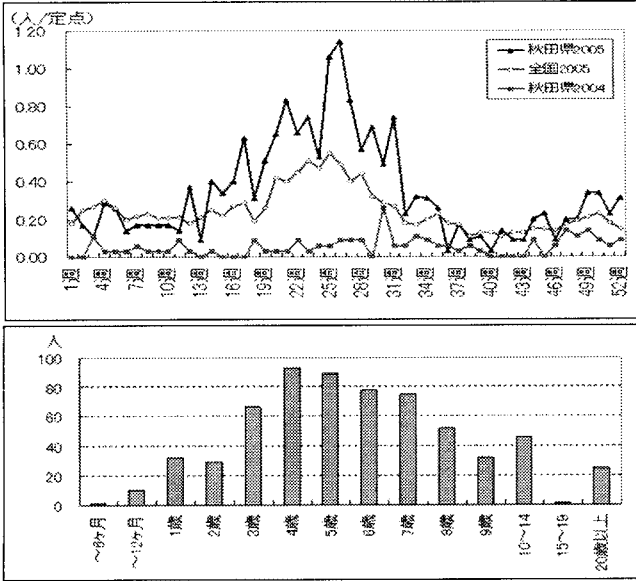


図8 突発性発しん

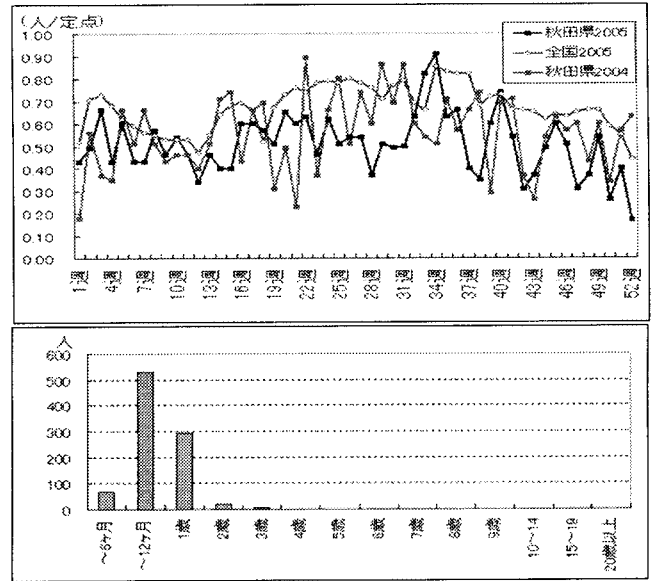


図9 百日咳

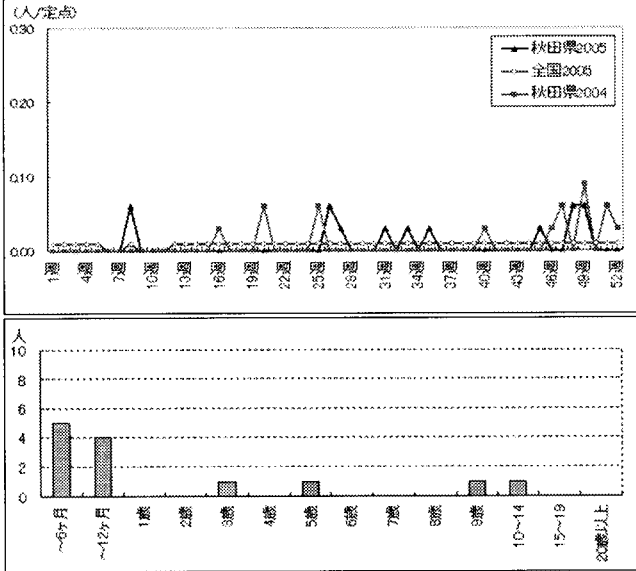


図10 風しん

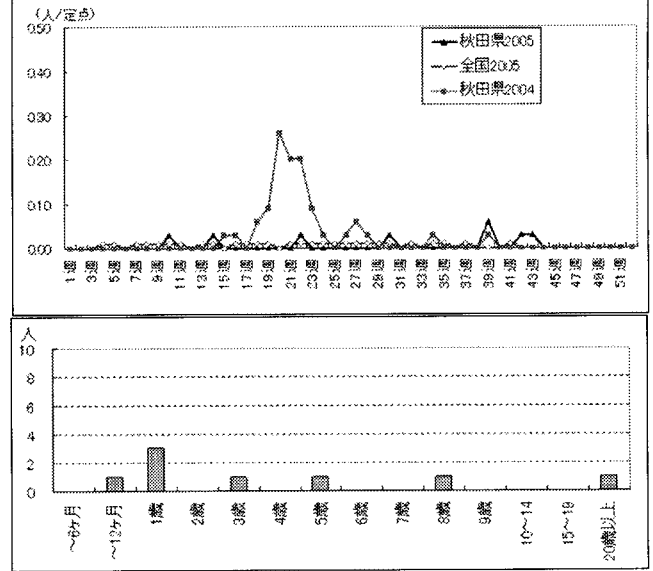


図11 ヘルパンギーナ

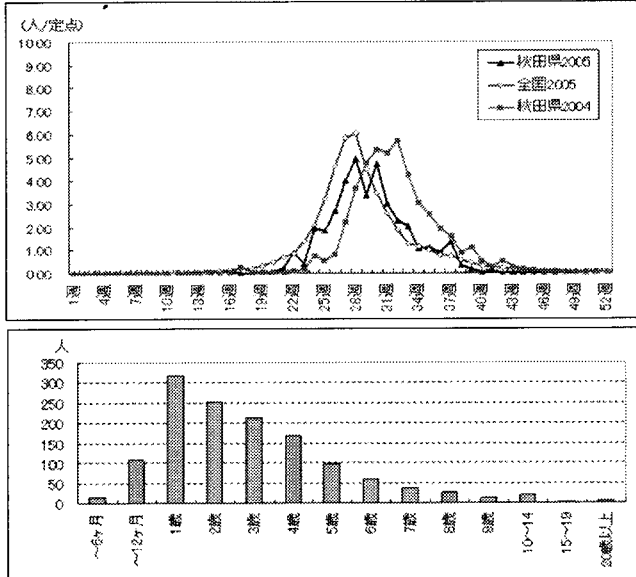


図12 麻疹

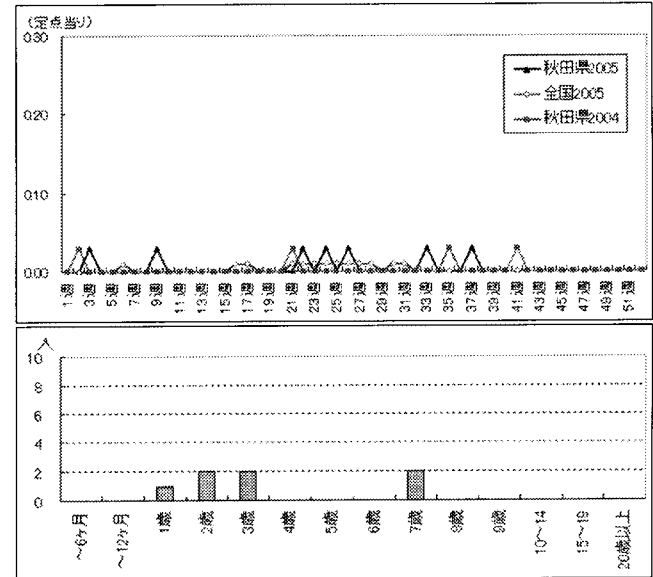


図13 流行性耳下腺炎

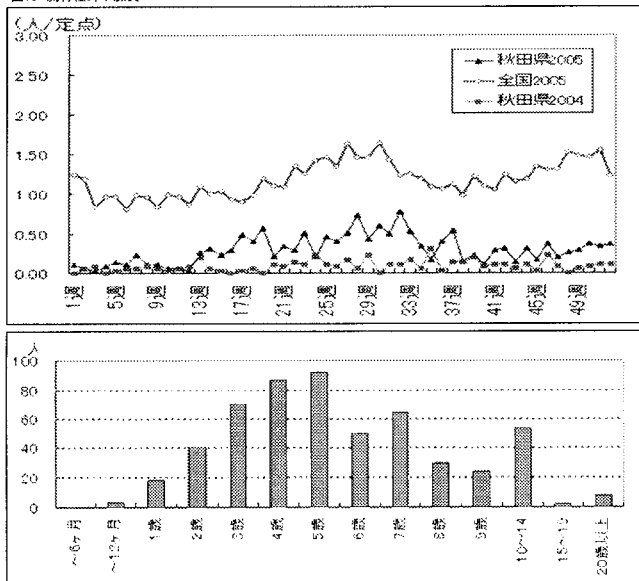


図14 RSウイルス感染症

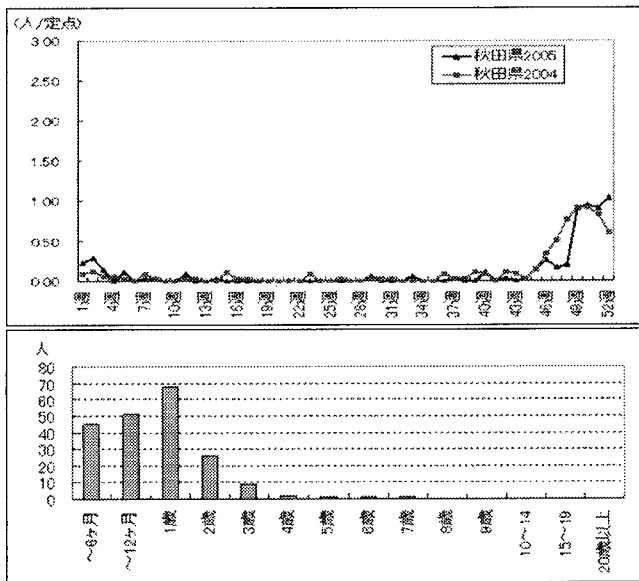
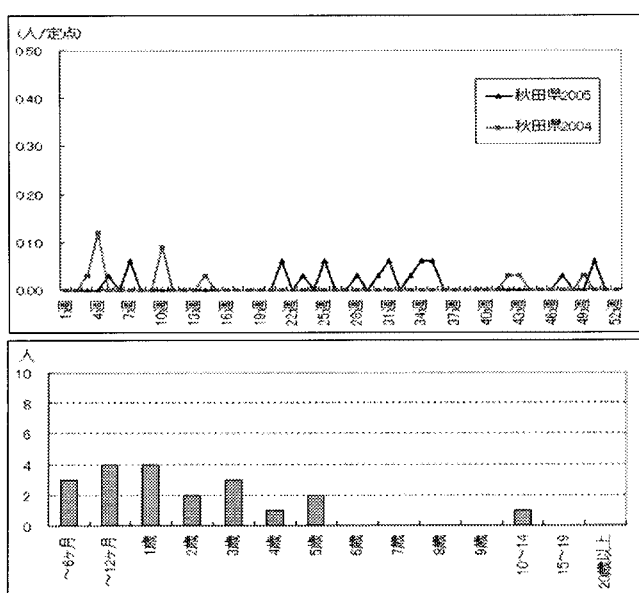


図15 川崎病



●発生動向と年齢別報告数(平成17年)

図16 急性出血性結膜炎

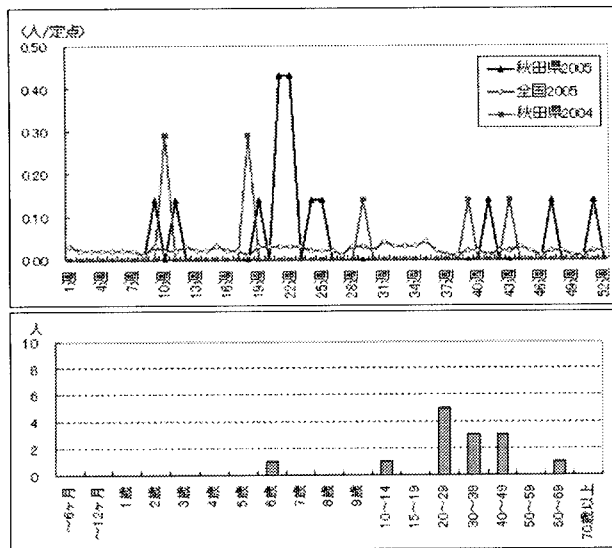


図17 流行性角結膜炎

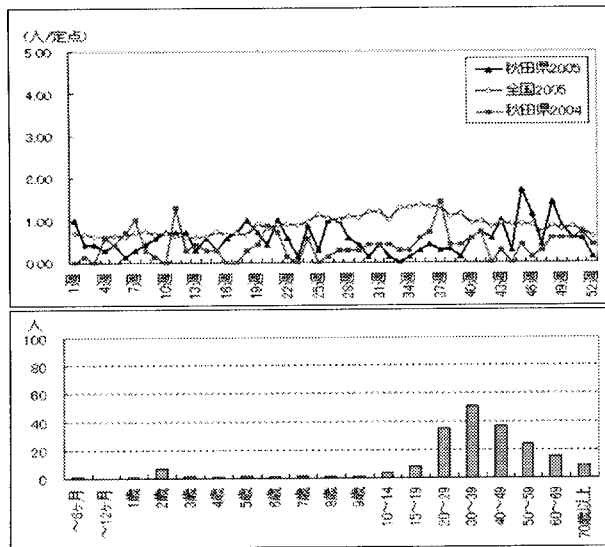


図18 細菌性結膜炎

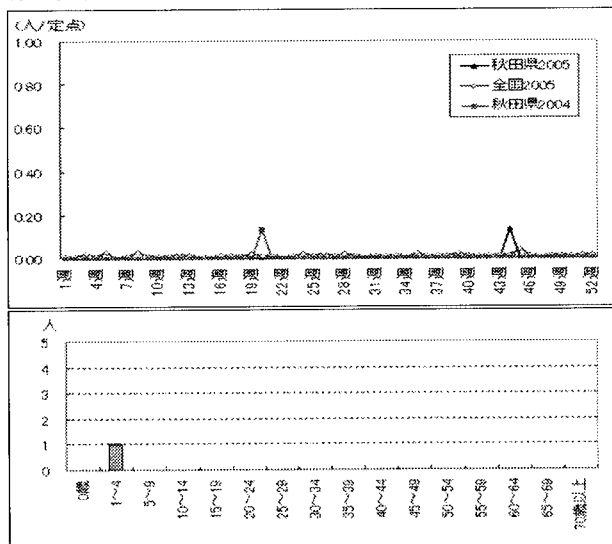


図19 無菌性結膜炎

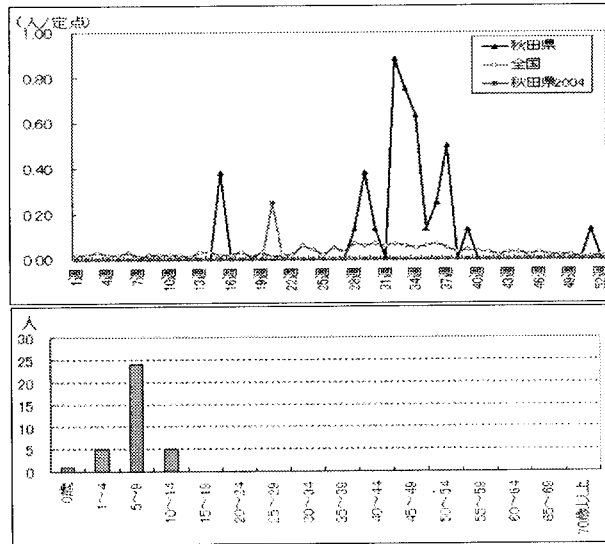
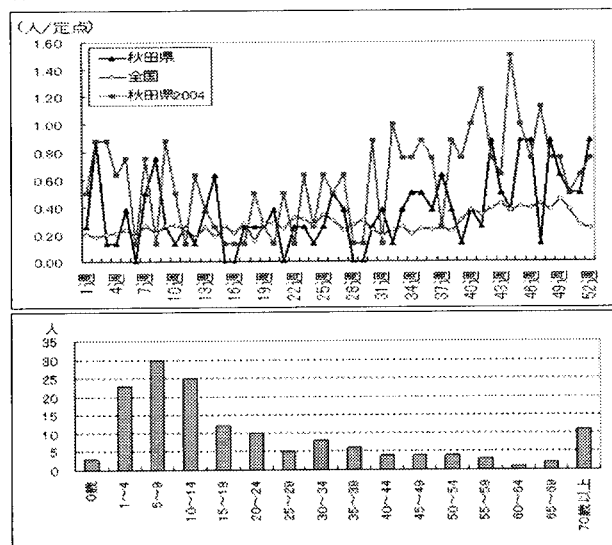


図20 マイコプラズマ肺炎



●発生動向と年齢別報告数(平成17年)

図21 性器クラミジア感染症

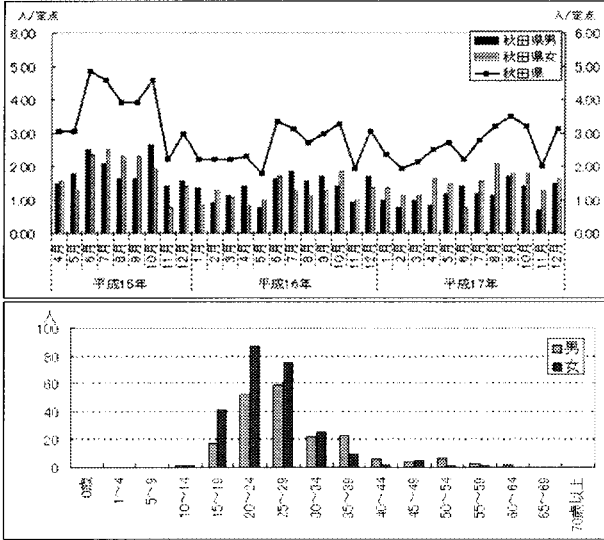


図22 性器ヘルペスウイルス感染症

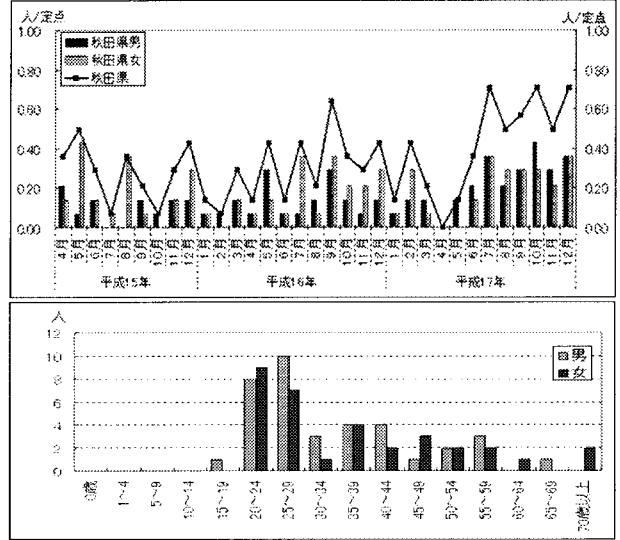


図23 尖圭コンジローマ

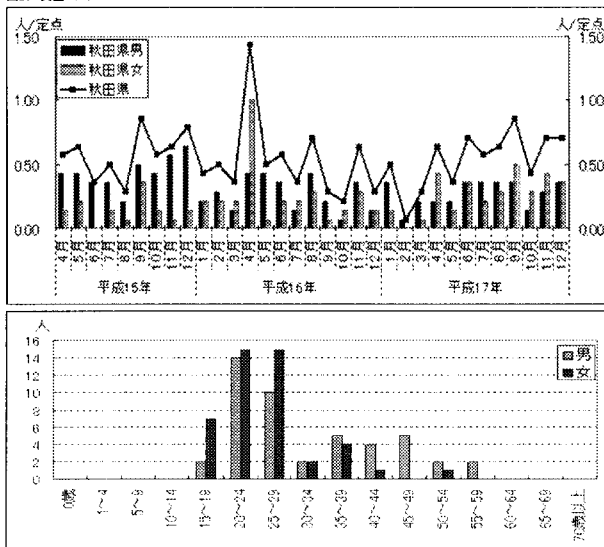


図24 淋菌感染症

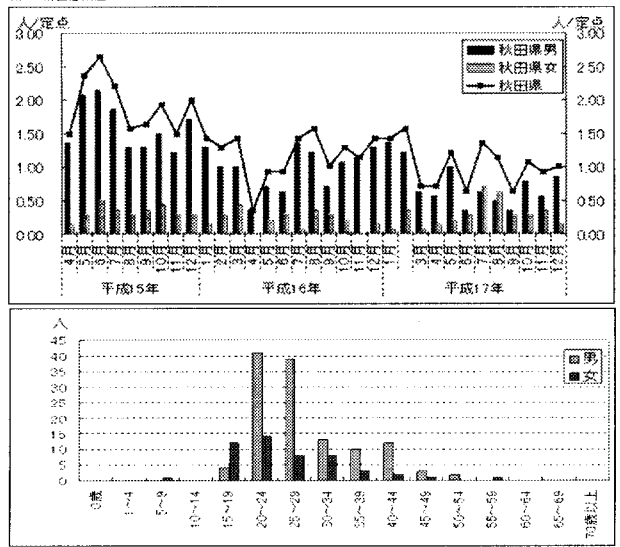


図25 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症

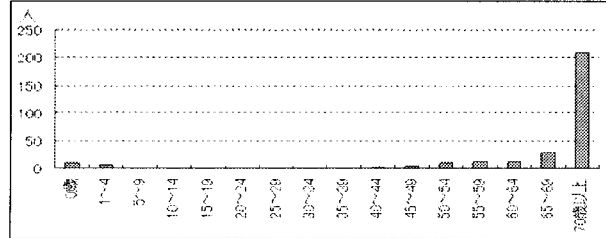
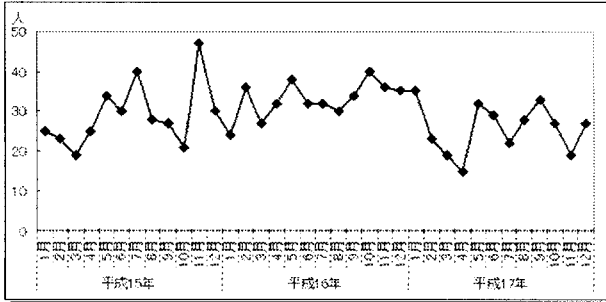


図26 ペニシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症

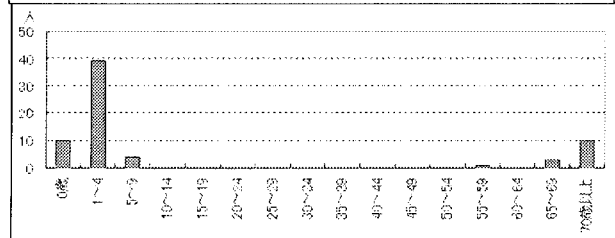
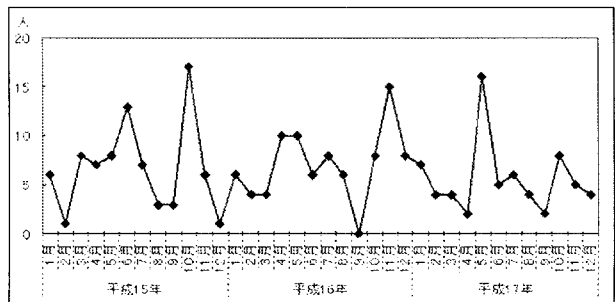
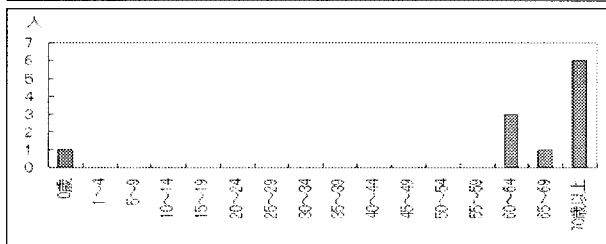
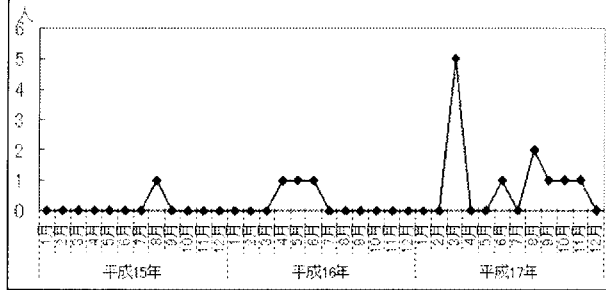


図27 薬剤耐性緑膿菌感染症



## *Escherichia coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子塩基配列の保存性に関する検討

八柳 潤 齊藤志保子 今野貴之

我々は昨年度 *Escherichia coli* O103 抗原特異検出用 PCR 法を報告した。しかし、本 PCR 法において標的遺伝子とした *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列の保存性が証明されていなかったことから、*E. coli* O103 の血清型参照株である H515b 株、秋田県内で分離された EHEC O103 など計 14 株を供試して *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の全長 1149bp の塩基配列を比較した。その結果、*E. coli* O103 の O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列の保存性は非常に高いことが確認された。一般的に PCR 法においては塩基配列の保存性が可能な限り高い領域が標的遺伝子に選定される。今回の結果から、昨年度報告した O103 抗原特異的検出・同定用 PCR 法では偽陰性が発生する可能性が極めて少ないことが示された。本 PCR 法は国内の地方衛生研究所においても広く実施可能であることから、各地方衛生研究所における EHEC O103 の検査体制の整備にも寄与するものと考えられた。

### 1. はじめに

腸管出血性大腸菌 (EHEC) はペロ毒素 (VT) を産生する大腸菌であり、ヒトに下痢、激しい腹痛、出血性大腸炎、ときに致命的となる溶血性尿毒症候群や脳炎を惹起する<sup>1)</sup>。患者からの分離例が特に多い血清型は O157:H7 であるが、秋田県ではこれまで下痢症患者から O26、O103、O121、O91、O111 などの血清型の EHEC も分離されている<sup>2)</sup>。1996 年に国内で初めてとなる EHEC O103 による感染事例が県内で確認されて以来、EHEC O103 感染者の発生が毎年確認されている。

近年、大腸菌の O 抗原合成遺伝子オペロンの塩基配列が解読され、O121<sup>4)</sup>、O157<sup>5)</sup>、O111<sup>6)</sup>、O91<sup>7)</sup> 抗原を特異的に検出可能な PCR 法が報告されており、血清型の決定に応用されている。しかし、*Escherichia coli* O103 については県内における分離頻度が高いにもかかわらず、*E. coli* O103 O 抗原合成遺伝子オペロンの塩基配列が解読されていなかったことから、O103 抗原特異検出用 PCR 法は導入できなかった。このため、我々は平成 13 年度から 15 年度に実施した「腸管出血性大腸菌の感染疫学解明に関する調査研究」<sup>8)</sup>の中で *E. coli* O103 O 抗原合成遺伝子オペロンの塩基配列を解読して O103 抗原特異検出用 PCR 法の確立を試み、その結果を昨年度の本誌上に報告した<sup>9)</sup>。一般的に、PCR により細菌などが保有する特定の遺伝子を検出しようとす

る際には、異なる菌株間でも標的遺伝子の塩基配列が同一であること、すなわち標的遺伝子の塩基配列が保存されていなければ偽陰性が生じる。このため、細菌の遺伝子診断においては、その細菌に特異的な毒素など、塩基配列の保存性が高いと考えられている「機能タンパク質」の構造遺伝子が標的遺伝子に選定される場合が多い。しかしながら、機能タンパク質であるにもかかわらず 3'領域の塩基配列の保存性が低インチミン<sup>10)</sup>のような例外もあり、この場合は保存性の高い 5'領域が標的とされている。また、ノロウイルス<sup>11)</sup>やサポウイルス<sup>12)13)</sup>の PCR による検出系を確立する際には、多数のウイルスの塩基配列を比較することにより、塩基配列の保存性が可能な限り高い領域が標的遺伝子に選定されている。このように、標的遺伝子の塩基配列保存性に関する知見を得ておくことは、PCR による細菌などの特定の遺伝子の検出系を確立する際に極めて重要である。しかし、O103 を含む *E. coli* O 抗原合成遺伝子の塩基配列保存性に関することは報告されていない。

今回、秋田県内でこれまでに分離された EHEC O103 臨床分離株などを使用して、昨年度報告した O103 抗原特異検出用 PCR 法において標的遺伝子とした *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列の保存性について検討した。

## 2. 方法

### 2.1 供試菌株

*E. coli* O103 の血清型参照株である H515b 株、フランスで分離された EHEC O103 であり itimin ε の標準株である pmk5 株、そして秋田県内で分離された EHEC O103 11 株、EPEC O103 1 株、計 14 株を供試した (表 1)。

### 2.2 *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列解析

表 2 に示すプライマー O103wzyseqF および O103wzyseqR を使用した PCR により、供試株から *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の全長 1149bp を含む 1288bp の増幅断片を得た。得られた断片をアガロースゲル電気泳動と QIA Quick Gel Extraction Kit (Qiagen) により精製し、BigDye Terminator V3.1 (Applied Bio) と表 2 に示すシークエンスプライマーを使用してダイレクトシークエンスを実施した。

### 2.3 *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列解析

得られた *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列は DNASIS software (Hitachi Software Engineering Co.) 及び CLASTAL W を使用して解析した。

## 3. 結果と考察

供試した 14 株の全てから O103wzyseqF および O103wzyseqR を使用した PCR により 1288bp の増幅断片が得られた。その増幅断片をダイレクトシークエンスすることにより判明した、14 株の *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子 1149bp の塩基配列を比較した結果を図 1 に、塩基配列から演繹されたアミノ酸配列の比較結果を図 2 に示した。*E. coli* O103 の血清型参照株である H515b 株の O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列と比較して、EC5087 を除く 12 株の O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列は 1149bp 中に 8 カ所 (69, 143, 204, 470, 691, 847, 885, 1139)、EC5087 は 5 カ所 (69, 204, 470, 691, 1139) に塩基置換が認められるのみであった。特に、H515b 株と EC5087 を除く 12 株については、O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列はほぼ完全に一致していた (図 1)。アミノ酸配列レベルでも同様に H515b と EC5087 を除く 12 株の配列

はほぼ一致し、H515b 株と比較して 5 カ所 (48, 157, 231, 283, 380)、EC5087 には H515b 株と比較して 2 カ所 (231, 380) にアミノ酸置換が認められた。なお、塩基配列にみとめられた前記 8 カ所の置換のうち、69, 204, 885 の 3 カ所はアミノ酸配列に置換を伴わない「サイレントミューテーション」であった。これらの結果は、*E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列の保存性が非常に高いことを示していた。

秋田県において下痢症患者から分離される EHEC の血清群で最も多い型は O157 であり、O26、O103、O121 がそれに次ぐ。また、給食従事者などの無症状保菌者からは O91 の分離例が多い。O103、O121、O91 用の型別血清はこれまで市販されていなかったが、最近、これらの国産型別血清がようやく市販されるようになった。EHEC の血清型を決定するための方法としては、従来から広く実施されている型別用抗血清を使用する免疫学的方法と、最近報告が散見される O 抗原合成遺伝子オペロンを標的とする遺伝子学的方法がある。当所においては、すでに O121<sup>4)</sup>、O157<sup>5)</sup>、O111<sup>6)</sup>、O91<sup>7)</sup> 抗原特異検出・同定用 PCR を導入し、これらの EHEC の血清型決定に際して免疫学的方法と遺伝子学的方法を併用することにより、検査精度の向上を実現してきた。*E. coli* O103 については昨年報告<sup>8)</sup>したとおり、O103 抗原特異的検出・同定用 PCR 法を確立したことにより、EHEC O103 の型別についても検査精度の向上が期待される。大腸菌 O 抗原の特異的検出・同定用 PCR 法は EHEC の検出や同定に有用な方法であり、その標的遺伝子としては血清群特異的であるとされている<sup>14, 15)</sup>O-antigen polymerase 遺伝子と O-antigen flippase 遺伝子が選定されている。これらの遺伝子は血清群特異的であると考えられているが、その塩基配列が実際に保存されているかどうかは確認されていない。このため、今回、我々は *E. coli* O103 14 株の O-antigen polymerase 遺伝子全長の塩基配列を決定し、塩基配列を比較した。その結果、*E. coli* O103 の O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列の保存性は非常に高いことが確認された。このことから、昨年の本誌に報告した O103 抗原特異検出用 PCR 法において標的遺伝子の変異に起因する偽陰性が発生する可能性は極めて少ないものと推察された。



昨年度の研究により O103 抗原の特異的検出・同定用 PCR 法を確立し、今回の研究によりその PCR 方については偽陰性が発生する可能性が極めて少ないことを示す知見が得られた。この PCR 法は国内の地方衛生研究所においても広く実施可能であることから、各地方衛生研究所における EHEC O103 の検査体制の整備にも寄与するものと考えられた。

#### 4. まとめ

・*E. coli* O103 の血清型参照株である H515b 株、県内分離株など 14 株を供試して *E. coli* O103 O-antigen polymerase 遺伝子 1149bp の塩基配列を比較した結果、*E. coli* O103 の O-antigen polymerase 遺伝子の塩基配列の保存性は非常に高いことが確認された。このことから、昨年度報告した O103 抗原特異的検出・同定用 PCR 法について、偽陰性が発生する可能性が極めて小さいことが示された。

・この PCR 法は国内の地方衛生研究所においても広く実施可能であることから、各地方衛生研究所における EHEC O103 の検査体制の整備にも寄与するものと考えられた。

#### 5. 文献

- 1) Karmali, M.A. Infection by Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin. Microb. Rev., 1989 ; 2 : 15 - 38.
- 2) 八柳 潤, 齊藤志保子, 佐藤晴美. 秋田県における平成 3 - 14 年度の EHEC 感染事例発生状況と感染給食従事者の陰性化確認で経験した問題点. 秋田県衛生科学研究所報, 2003 ; 47 : 19 - 23.
- 3) 齊藤志保子, 他. 牛が感染源と考えられた Vero 毒素産生性大腸菌 O103:H2 による家族内感染事例. 感染症誌, 1998 ; 72 : 703 - 713.
- 4) Fratamico, P. et al. Sequence of the *Escherichia coli* O121 O-Antigen Gene Cluster and Detection of Enterohemorrhagic *E. coli* O121 by PCR Amplification of the *wzx* and *wzy* Genes. J. Clin. Microbiol., 2003 ; 41 : 3379 - 3383.
- 5) Maurer, J.J. et al. Development of Primers to O-antigen Biosynthesis Genes for Specific Detection of *Escherichia coli* O157 by PCR. Appl. Environ.

Microbiol., 1999 ; 65 : 2954 - 2960.

6) Paton, A.W. and Paton, J.C. Detection and Characterization of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* by Using Multiplex PCR Assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, Enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. J. Clin. Microbiol., 1998 ; 36 : 598 - 602.

7) Perelle, S. et al. Identification of the O-antigen biosynthesis genes of *Escherichia coli* O91 and development of a O91 PCR serotyping test. J. Appl. Microbiol., 2002 ; 93 : 758 - 764.

8) 八柳 潤, 齊藤志保子, 今野貴之. 腸管出血性大腸菌 (EHEC) の感染疫学解明に関する調査研究. 秋田県衛生科学研究所報, 2003 ; 48 : 45 - 53.

9) 八柳 潤, 大谷勝実, 齊藤志保子, 今野貴之. *Escherichia coli* O103 O 抗原合成遺伝子オペロンの塩基配列解読と腸管出血性大腸菌 O103 特異的検出・同定 PCR 法の開発. 秋田県衛生科学研究所報, 2004 ; 49 : 27 - 31.

10) Oswald, E. et al. Typing of Intimin Genes in Human and Animal Enterohemorrhagic and Enteropathogenic *Escherichia coli*: Characterization of a New Intimin Variant. Infect. Immun., 2000 ; 68 : 64 - 71.

11) Kageyama, T. et al. Broadly Reactive and Highly Sensitive Assay for Norwalk-Like Viruses Based on Real-Time Quantitative Reverse Transcription-PCR. J. Clin. Microbiol., 2003 ; 41 : 1548 - 1557.

12) Chan, M.C.W. et al. Sapovirus detection by quantitative real-time RT-PCR in clinical stool specimens. J. Virol. Method., 2006 ; Online Publication (www.sciencedirect.com).

13) Oka, T. et al. Detection of Human Sapovirus by Real-Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. J. Med. Virol., 2006 ; 78 : 1347 - 1353.

14) Wang, L. et al. Sequence of the *E. coli* O104 antigen gene cluster and identification of O104 specific genes. Gene, 2001 ; 270 : 231-236.

15) Wang, L. et al. Sequencing of *Escherichia coli* O111 O-antigen gene cluster and identification of O111-specific genes. J. Clin. Microbiol., 1998 ; 36 : 3182 - 3187.

表1 供試菌株一覧

血清型	菌株番号	入手先	病原遺伝子	備考
O103:H8	H515b	Statens Serum Institut	-	血清型参照用標準菌株
O103:H2	PMK5	Dr. E. Oswald <sup>a)</sup>	VT-1 eaeA	Intimin ε型標準菌株
O103:H2	EC281	県内臨床分離株	VT-1 eaeA	1996年家族内感染事例
O103	EC1591	県内保菌者分離株	VT-1 eaeA	1998年無症状保菌者
O103	EC2711	県内保菌者分離株	VT-1 eaeA	1999年無症状保菌者
O103	EC3096	県内保菌者分離株	VT-1 eaeA	1999年無症状保菌者
O103	EC3647	県内臨床分離株	VT-1 eaeA	2000年散発下痢症患者
O103	EC3648	県内保菌者分離株	VT-1 eaeA	2000年無症状保菌者
O103	EC3753	県内保菌者分離株	VT-1 eaeA	2000年無症状保菌者
O103	EC3785	県内保菌者分離株	VT-1 eaeA	2000年無症状保菌者
O103	EC3928	県内臨床分離株	VT-1 eaeA	2000年散発下痢症患者
O103	EC4018	県内臨床分離株	VT-1 eaeA	2000年家族内感染事例
O103	EC5087	県内臨床分離株	VT-1 eaeA	2001年家族内感染事例
O103	EC5243	県内集団事例分離株	VT-1 eaeA	2001年施設内感染事例
O103	EC11460	県内臨床分離株	eaeA	2006年散発下痢症患者

a) Unite INRA-ENVT de Microbiologie Molecularie, Ecole Veterinaire de Toulouse, Cedex, France

表2 *E. coli* O103 0-antigen polymerase遺伝子増幅・シーケンス用プライマー

名称	配列 (5'→3')	位置 (EF027106)
O103wzyseqF	GGA-TGC-GAT-TTT-ACA-GAT-ACT-T	7123-7144
O103wzyseqM	TTA-ATG-AAC-CAT-TAT-TTT-TG	7530-7549
O103wzyseqR	GTT-TTT-CAG-CCC-CAC-CTA-AT	8390-8410

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
H515b	ATGTATATATTATCAATGGCTATACCATTATTTTCATATCGTTGTTGGCATCGATTTAGTCATCAAACCTCAAGTTGCATTTCGTTTATTATTCATAGTATTTTTCAGTCTAAGTTTC												
pmk5	-----G-----												
EC281	-----G-----												
EC1591	-----G-----												
EC2711	-----G-----												
EC3096	-----G-----												
EC3647	-----G-----												
EC3648	-----G-----												
EC3753	-----G-----												
EC3785	-----G-----												
EC3928	-----G-----												
EC4018	-----G-----												
EC5087	-----G-----												
EC5243	-----G-----												
EC11460	-----G-----												

	121	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240
H515b	TTTTCATATTATACAAATGGCGTGGATTGGAGTGTATTATCTAAGATTCATCGAGGATGAGGGGTTATTTACCTCGTTTGAATTTGGGTTTGTATTATTTAAAGCTATTGCTTATT												
pmk5	-----A-----G-----G-----												
EC281	-----A-----G-----G-----												
EC1591	-----A-----G-----G-----												
EC2711	-----A-----G-----G-----												
EC3096	-----A-----G-----G-----												
EC3647	-----A-----G-----G-----												
EC3648	-----A-----G-----G-----												
EC3753	-----A-----G-----G-----												
EC3785	-----A-----G-----G-----												
EC3928	-----A-----G-----G-----												
EC4018	-----A-----G-----G-----												
EC5087	-----A-----G-----G-----												
EC5243	-----A-----G-----G-----												
EC11460	-----A-----G-----G-----												

	241	250	260	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360
H515b	GTTTCAGATGATAATTTTGGCTTGGCAATTTACTCTATTATTTCTCTGTTTGTATTGCTCTCATTAAATTTGAAAAAATACAAAGTTAATGAACCATTATTTTGGGATGTCCTTTTA												
pmk5	-----G-----												
EC281	-----												
EC1591	-----												
EC2711	-----												
EC3096	-----												
EC3647	-----												
EC3648	-----												
EC3753	-----												
EC3785	-----												
EC3928	-----												
EC4018	-----												
EC5087	-----												
EC5243	-----												
EC11460	-----												

	361	370	380	390	400	410	420	430	440	450	460	470	480
H515b	TTGTTATTTGGCTACAACCTTTTTAGAGCAGTACGTCAACTACTGGCATGTATAAGTATTTATGCGATGCTATTATACAATCAAAAATAAAATCTTATAGAATTATGTATATTG												
pmk5	-----C-----												
EC281	-----C-----												
EC1591	-----C-----												
EC2711	-----C-----												
EC3096	-----C-----												
EC3647	-----C-----												
EC3648	-----C-----												
EC3753	-----C-----												
EC3785	-----C-----												
EC3928	-----C-----												
EC4018	-----C-----												
EC5087	-----C-----												
EC5243	-----C-----												
EC11460	-----C-----												

	481	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
H515b	GTTATAACAGCATCAACTTTTTCATGTGTCTGCAGTAATAATTTACCGACAATCTTTTAACTCTTTTAGAAATGTGACTACTTTTATCATAAATCCGGTATCCCTCAATTACAAGTATT												
pmk5	-----												
EC281	-----												
EC1591	-----												
EC2711	-----												
EC3096	-----												
EC3647	-----												
EC3648	-----												
EC3753	-----												
EC3785	-----												
EC3928	-----												
EC4018	-----G-----												
EC5087	-----												
EC5243	-----												
EC11460	-----T-----												

	601	610	620	630	640	650	660	670	680	690	700	710	720
H515b	GTGGTATTATGATAGCACTTTATTCAGCTATATCCCTCTTGTCTGCTATGAGCTTTGTTTTGCTAAAATTGATTATTTTGGATCAATATCCAGTGTCCCTAAATTTGGTTGGCTA												
pmk5	-----A-----												
EC281	-----A-----												
EC1591	-----A-----												
EC2711	-----A-----												
EC3096	-----A-----												
EC3647	-----A-----												
EC3648	-----A-----												
EC3753	-----A-----												
EC3785	-----A-----												
EC3928	-----A-----												
EC4018	-----A-----												
EC5087	-----A-----												
EC5243	-----A-----												
EC11460	-----A-----G-----												

	721	730	740	750	760	770	780	790	800	810	820	830	840
H515b	AATATACTTGATGCTTTATTATTATTCTACATGCGTTATAGAAATGCAATTGATAGACAGATAAATAAATATAAATTAACGCGAATTATTTGGTTGGTTGTTATTTCATCTGTTT												
pmk5	-----												
EC281	-----												
EC1591	-----												
EC2711	-----												
EC3096	-----												
EC3647	-----												
EC3648	-----												
EC3753	-----												
EC3785	-----												
EC3928	-----												
EC4018	-----												
EC5087	-----												
EC5243	-----												
EC11460	-----												

	841	850	860	870	880	890	900	910	920	930	940	950	960
H515b	AGTGGATCGATTACTTTCTGGCTCGCGTGTGTTTTATTTTTACTTTGTAGGTGTTATATATACTGCTATTCATTAATGACAAGACCCCGCGGGTATTGCTATAAAATTTGAAAT												
pmk5	-----A-----T-----												
EC281	-----A-----T-----												
EC1591	-----A-----T-----												
EC2711	-----A-----T-----												
EC3096	-----A-----T-----												
EC3647	-----A-----T-----												
EC3648	-----A-----T-----												
EC3753	-----A-----T-----												
EC3785	-----A-----T-----												
EC3928	-----A-----T-----												
EC4018	-----A-----T-----												
EC5087	-----A-----T-----												
EC5243	-----A-----T-----												
EC11460	-----A-----T-----												

	961	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040	1050	1060	1070	1080
H515b	ACGTTAGTATTGGCTGCCITTTGTTAATGTAGTACTTTATTGAACITTTGCATCCTATTTAGAAATGAGCAAGCCCGTTGGGTTTTATAATATGAACITTCATTTTTAACACATTT												
pmk5	-----G-----												
EC281	-----												
EC1591	-----												
EC2711	-----												
EC3096	-----												
EC3647	-----												
EC3648	-----												
EC3753	-----G-----												
EC3785	-----												
EC3928	-----												
EC4018	-----												
EC5087	-----												
EC5243	-----												
EC11460	-----												

	1081	1090	1100	1110	1120	1130	1140	1149
H515b	AATGATAATTATCTTAGAAGCAACGCATACGATAAATATTTAAAGGAATGCAGGGCAGCGTGGATTAA							
pmk5	-----A-----							
EC281	-----A-----							
EC1591	-----A-----							
EC2711	-----A-----							
EC3096	-----A-----							
EC3647	-----A-----							
EC3648	-----A-----							
EC3753	-----A-----							
EC3785	-----A-----							
EC3928	-----A-----							
EC4018	-----A-----							
EC5087	-----A-----							
EC5243	-----A-----							
EC11460	-----A-----							

図1 供試14株の*E. coli* O103 0-antigen polymerase遺伝子塩基配列

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
H515b	MYILSMAIPLFFISLQWHRFHSQTQVAFRLLFIVFFSLSFFSYTNGVDSVYYLRFIEDEGLTSEFEGFVILKLLIVSDDNFGLAILLYFLCFVLLSLILKYYKVEPLFLGCLL												
pmk5	-----E-----V-----W-----												
EC281	-----E-----												
EC1591	-----E-----												
EC2711	-----E-----												
EC3096	-----E-----												
EC3647	-----E-----												
EC3648	-----E-----												
EC3753	-----E-----												
EC3785	-----E-----												
EC3928	-----E-----												
EC4018	-----E-----												
EC5087	-----E-----												
EC5243	-----E-----												
EC11460	-----E-----												

	121	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240
H515b	LLFGYNLFLEQLRQLLACIIVFYAMLLYNQNKNIIELCILVIITASTFHVSAVIILPTIFLISFRNVTFIITVSSITSIIVVFMIALYSAISSLAAMSFVFAKIDYYLHQYPPVVLNFGWL												
pmk5	-----S-----N-----												
EC281	-----S-----N-----												
EC1591	-----S-----N-----												
EC2711	-----S-----N-----												
EC3096	-----S-----N-----												
EC3647	-----S-----N-----												
EC3648	-----S-----N-----												
EC3753	-----S-----N-----												
EC3785	-----S-----N-----												
EC3928	-----S-----N-----												
EC4018	-----S-----M-----N-----												
EC5087	-----S-----N-----												
EC5243	-----S-----N-----												
EC11460	-----S-----L-----N-----G-----												

	241	250	260	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360
H515b	NILDALFILFYMRYSNAIDRQININILTRIFVGSVHLFSGSITFLARVCFYFYVGVYIYCYSLNDKTPRVFAIKNFNTLVLAAFVNVVLLNFASYFRNEQAPVGFYNNMFQFFNTF												
pmk5	-----T-----C-----												
EC281	-----T-----												
EC1591	-----T-----												
EC2711	-----T-----												
EC3096	-----T-----												
EC3647	-----T-----												
EC3648	-----T-----												
EC3753	-----T-----												
EC3785	-----T-----S-----												
EC3928	-----T-----												
EC4018	-----T-----												
EC5087	-----T-----												
EC5243	-----T-----												
EC11460	-----T-----												

	361	370	382
H515b	NDNYLRTNAYDKYFKGMQGSVD		
pmk5	-----N-----		
EC281	-----N-----		
EC1591	-----N-----		
EC2711	-----N-----		
EC3096	-----N-----		
EC3647	-----N-----		
EC3648	-----N-----		
EC3753	-----N-----		
EC3785	-----N-----		
EC3928	-----N-----		
EC4018	-----N-----		
EC5087	-----N-----		
EC5243	-----N-----		
EC11460	-----N-----		

図2 供試14株の*E. coli* 0103 O-antigen polymeraseアミノ酸配列

## 医療機関における薬剤耐性菌検出状況—特に基質拡張型 $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) とメタロ $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子保有株の検出状況

八柳 潤 今野貴之 斉藤志保子

基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) とメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の遺伝子診断技術を導入し、2002年4月から2005年12月までに249株のESBL産生疑い株、2001年9月から2005年12月までに146株のメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ産生疑い株の同定を実施した。供試した249株のうち67株が *bla*<sub>TEM</sub> 陽性、4株が *bla*<sub>SHV</sub> 陽性、121株が *bla*<sub>CTX-M</sub> 陽性であった。また、146株のうち85株がIMP型、15株がVIM型メタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子陽性であった。秋田県では欧米で主流とされているTEM型やSHV型ESBL産生菌はまれであり、CTX-M型ESBL産生菌が主流であること、秋田県内にVIM型メタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子保有株が浸淫していることが初めて明らかとなった。これらの薬剤耐性菌は通常の抗生物質による治療が困難な感染症や、院内感染などの医原性感染症を惹起するなど医学的だけでなく社会的にも深刻な健康被害をもたらす。これらのことから、今後も県内における薬剤耐性菌の浸淫実態と耐性機構の解明に取り組み、県民に提供される医療の質の向上に資する必要がある。

### 1. はじめに

抗生物質に耐性を示す薬剤耐性菌は臨床のみならず院内感染対策上も問題とされている。 $\beta$ -ラクタマーゼはペニシリン、セフェムなどの $\beta$ -ラクタム薬を加水分解して不活化する酵素である。 $\beta$ -ラクタマーゼのうち、TEM-1型やSHV-1型などのペニシリナーゼは主としてペニシリンを加水分解し、セフォタキシムやセフトジジムなどの第3世代セフェム剤を加水分解することはできないが、1983年以降構造遺伝子の点変異により基質特異性が拡張し、第3世代セフェム系抗生物質の加水分解能を獲得したTEM型、またはSHV型 $\beta$ -ラクタマーゼが報告され、これらは基質拡張型 $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) と呼ばれている<sup>1)</sup>。また、*Kluyvera* 属菌の染色体性遺伝子に由来するCTX-M型ESBL<sup>2)</sup>は特にセフォタキシムを効率良く加水分解する。ESBL産生菌は第3世代セフェム薬を不活化することから臨床、あるいは院内感染対策上問題となっている。ESBLが活性中心にセリン残基を保有するのに対して、活性中心に亜鉛を保有する $\beta$ -ラクタマーゼはメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼと呼ばれ、「最後の砦」とよばれる抗生物質であるカルバペネム系薬を加水分解するだけではなく、全ての $\beta$ -ラクタム薬を加水分解して不活化する<sup>3)</sup>ことから臨床で大きな問題となっている。これらの薬剤耐性菌を精度良く同定すること

は臨床や院内感染対策上重要であるが、その同定には耐性遺伝子の検出・同定が必須であることから、一般の検査室ではスクリーニング検査の域を脱し得ないのが現状である。

我々は医療機関検査室からの要望に応じてESBLとメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の遺伝子診断技術を導入し、2002年4月から2005年12月までに249株のESBL産生疑い株、2001年9月から2005年12月までに146株のメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ産生疑い株の同定を実施したので、その結果から明らかとなった秋田県におけるESBLとメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株の分離状況について報告する。

### 2. 材料と方法

#### 2.1 供試株

2002年4月から2005年12月までに医療機関から送付されたESBL産生疑い株249株、2001年9月から2005年12月までに送付されたメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ産生疑い株146株を供試した。

#### 2.2 ESBL 遺伝子の検出と同定

被検株についてPCRによりESBL関連遺伝子である *bla*<sub>TEM</sub><sup>4)</sup>、*bla*<sub>SHV</sub><sup>5)</sup>、*bla*<sub>CTX-M</sub><sup>6)</sup>を検出した。*bla*<sub>TEM</sub>が検出された場合、得られた増幅断片のシーケンスをダイレクトシーケンスにより決定し、Updated version of the Basic Local Alignment

Search Tool (BLAST) program at the National Center for Biotechnology Information server (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) online search を使用してペニシリナーゼ型か ESBL 型かどうかを判別した。シーケンスを行わない場合には、市販ディスクを使用するクラブラン酸とセフトジジム、セフトキシムのシネルジーテストを実施し ESBL かどうかの判定を試みた。

### 2.3 メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子の検出

被検株について既報<sup>2)</sup>の PCR により IMP 型と VIM 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子を検出した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 ESBL 遺伝子保有株の検出状況

表 1 に示すとおり、供試した 249 株のうち 67 株が *bla*<sub>TEM</sub> 陽性、4 株が *bla*<sub>SHV</sub> 陽性、121 株が *bla*<sub>CTX-M</sub> 陽性で 57 株からはいずれの遺伝子も検出されなかった。*bla*<sub>TEM</sub> 陽性となった 67 株のうち 40 株がシーケンスを実施した結果ペニシリナーゼ遺伝子である TEM-1 遺伝子であることが判明した。ESBL 型 TEM としては TEM-104 型遺伝子が 1 株のみ検出された。残り 26 株についてはシーケンスを未実施であるが、これらの一部についてはシネルジーテストによりペニシリナーゼ型 TEM である可能性が示唆された。SHV 型遺伝子についてはシーケンス未実施である。一方、CTX-M 型 ESBL 遺伝子保有株は 121 株 (48.6%) と供試株の約半数を占めることが明らかとなった。なお、TEM 遺伝子単独保有株は 33 株、CTX-M 遺伝子単独保有株は 86 株、TEM 遺伝子と CTX-M 遺伝子を保有する株が 34 株、SHV 遺伝子と CTX-M 遺伝子を保有する株が 1 株あった。

### 3.2 メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子保有株の検出状況

図 1 に PCR によるメタロ β-ラクタマーゼ遺伝子の検出結果の例を示した。MB-3, 4, 5, 8, 12 株からは IMP 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子に由来する 446bp の増幅断片が、MB-2, 6, 7, 9 株からは VIM 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子に由来する 391bp の増幅断片が得られた。表 2 に示すとおり、供試した 146 株のうち 85 株が IMP 型、15 株が VIM 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子陽性であり、46 株が陰性であった。

2002 年 4 月から 2005 年 12 月までに実施した検討により、秋田県では欧米で主流とされている TEM 型や SHV 型 ESBL 産生菌はまれであり、CTX-M 型 ESBL 産生菌が主流であることが示され、この傾向は国内他地域における傾向と同様であった。国内で主流の CTX-M 型 ESBL は CTX-M-2 と CTX-M-3 であることが報告されているが、秋田県内で検出された株の CTX-M 型 ESBL 遺伝子の型別は未実施であり、今後の検討が必要である。一方、国内で検出されるメタロ β-ラクタマーゼとしては IMP-1 型が主流であるとされてきた。実際、今回の検討でも供試株の約 58% が IMP 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子保有株であった。しかしながら、今回の検討で供試株の約 10% が VIM 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子保有株であることが明らかとなり、秋田県内に VIM 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子保有株も定着していることが初めて明らかとなった。

薬剤耐性遺伝子の一部は他の菌へ伝播し、それにより薬剤耐性菌の拡散が生じることが指摘されている。実際、CTX-M 遺伝子が TEM 遺伝子とともに接合伝達性プラスミド上に存在<sup>2)</sup>していることが報告されており、このことが CTX-M 型 ESBL 産生菌の拡散に寄与している可能性がある。一方、メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子は Class 1 Integron と呼ばれる伝播性ユニットに Gene cassette の一部として組み込まれていることが報告されており、他菌へと拡散することが指摘されている。実際、我々は秋田県の医療機関で分離された VIM-2 型メタロ β-ラクタマーゼ遺伝子を保有する *Pseudomonas aeruginosa* の Class 1 Integron を解析し、これらの株が VIM-2 遺伝子を組み込んだ Gene cassette を包含する Class 1 Integron を保有していることを明らかにした<sup>3)</sup>。このように、秋田県内においても CTX-M 型 ESBL 遺伝子やメタロ β-ラクタマーゼ遺伝子が他菌へと実際に伝播している可能性が考えられることから、今後これらの遺伝子の性状を詳細に検討し伝播機構の詳細に関する知見を集積して拡散予防策を講じる必要があるものと考えられる。

今回の検討で ESBL 産生疑い株であるにもかかわらず TEM 型、SHV 型、CTX-M 型 ESBL 遺伝子のいずれもが検出されない薬剤耐性菌、ま

たメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ産生疑い株であるにもかかわらず IMP 型と VIM 型メタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子が検出されない薬剤耐性菌が少なからず検出された。このような菌の耐性機構の詳細は不明であるが、GES, PER, VEB, あるいは SPM, GIM など、の報告が稀な ESBL やメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼが関与する可能性の他に、AmpC 型セファロスポリナーゼの過剰産生<sup>\*)</sup>や efflux pump<sup>\*)</sup>などが関与する可能性があるものと推察される。実際、我々は第 3 世代セフェム系抗生物質に耐性を示すものの TEM, SHV, CTX-M, VIM, IMP 遺伝子が全て陰性であった *Serratia marcescens* の耐性機構を検討し、その株の耐性に変異により基質特異性が拡大した AmpC 型セファロスポリナーゼ遺伝子に起因する<sup>10)</sup>ことを明らかにした。このように、薬剤耐性菌の耐性機構は多彩であり、秋田県内の医療機関で分離される薬剤耐性菌の耐性機構については今後もさらなる検討を継続する必要があると考えられる。

秋田県内の医療機関に ESBL 産生菌やメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌が浸淫している事実が浮き彫りとなった。これらの薬剤耐性菌は通常の抗生物質による治療が困難な感染症や、院内感染などの医原性感染症を惹起するなど医学的だけではなく社会的にも深刻な健康被害をもたらすことに加えて、県民に提供される医療の質を著しく低下させる。今後も医療機関の要望に応えながら、県内における薬剤耐性菌の浸淫実態と耐性機構の解明に取り組むことを介して県民に提供される医療の質の向上に資する必要がある。

#### 4. まとめ

・基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) とメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の遺伝子診断技術を導入し、2002 年 4 月から 2005 年 12 月までに 249 株の ESBL 産生疑い株、2001 年 9 月から 2005 年 12 月までに 146 株のメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ産生疑い株の同定を実施した結果、67 株が *bla*<sub>TEM</sub> 陽性、4 株が *bla*<sub>SHV</sub> 陽性、121 株が *bla*<sub>CTX-M</sub> 陽性、85 株が IMP 型、15 株が VIM 型メタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子陽性株であった。

・秋田県内の医療機関で分離される薬剤耐性菌

の耐性機構については今後もさらなる検討を継続する必要がある。

#### 5. 文献

1. Paterson, D.L. and Bonomo, R.A. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: a Clinical Update. *Clin. Microb. Rev.* 2005 ; 18 : 657-686.
2. Bonnet, R. Growing Group of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004 ; 48 : 1-14.
3. Walsh, T.R. et al. Metallo- $\beta$ -Lactamases: the Quiet before the Storm? *Clin. Microbiol. Rev.* 2005 ; 18 : 306-525.
4. Perilli, M. et al. Molecular Characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases produced by nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* from an Italian nationwide survey. *J. Clin. Microbiol.* 2002 ; 40 : 611-614.
5. Colom, K. et al. Simple and reliable multiplex PCR assay for detection of *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> and *bla*<sub>OXA-1</sub> genes in *Enterobacteriaceae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2003 ; 223 : 147-151.
6. Pagani, L. et al. Multiple CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* from a hospital in northern Italy. *J. Clin. Microbiol.* 2003 ; 41 : 4264-4269.
7. Yatsuyanagi, J. et al. Class 1 integron containing metallo- $\beta$ -lactamase gene *bla*<sub>VIM-2</sub> in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains isolated in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004 ; 48 : 626-628.
8. Jones, R.N. Important and Emerging  $\beta$ -Lactamase-mediated Resistances in Hospital-based Pathogens: The AmpC Enzymes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1998 ; 31 : 461-466.
9. Piddock, L.J.V. Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pumps in Bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006 ; 19 : 382-402.
10. Yatsuyanagi, J. et al. Nosocomial Outbreak of Ceftazidime-Resistant *Serratia marcescens* Strains That Produce a Chromosomal AmpC Variant with N235K Substitution. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2006 ; 59 : 153-159.



表1 ESBL 遺伝子保有株の検出状況

供試株	TEM +	SHV +	CTX-M +	陰性
249	67 *	4	121	57

\* 40 株 TEM-1 ペニシリナーゼ

表2 メタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子保有株の検出状況

供試株	IMP +	VIM +	陰性
146	85	15	46

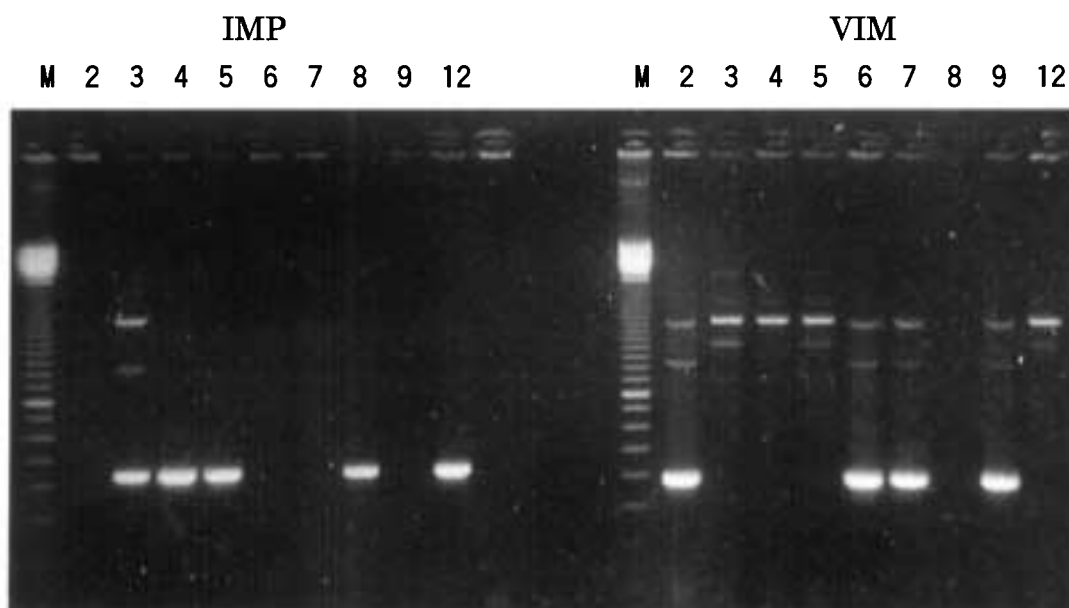


図1 PCR によるメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の検出

M：分子量マーカー、2：MB-2 株、3：MB-3 株、4：MB-4 株、5：MB-5 株、6：MB-6 株、7：MB-7 株、8：MB-8 株、9：MB-9 株 12：MB-12 株

# 志賀毒素産生性大腸菌( STEC ) O121:H19 の病原遺伝子と分子疫学的性状

八柳 潤 齊藤志保子 今野貴之

STEC O121:H19 は感染者に比較的重篤な症状を惹起するが、その病原性の背景となる病原遺伝子の性状に関する特徴は不明である。我々は、最近提唱された STEC の病原性と特定の Genomic Island の存在が密接に関連するとの仮説について、秋田県でこれまで分離された STEC O121:H19 21 株を供試して検証した。供試した STEC O121:H19 は全て *stx2*, *eaeA*, *pagC*, *sen*, *efa1* 遺伝子を保有していたが、OI-1, OI-47, OI-141, OI-154 は陰性であった。このことから、STEC O121:H19 は Fimbria 関連遺伝子 OI-1, OI-47, OI-141, OI-154 を保有せず、完全型 OI-122 と *eaeA*, *stx2* 遺伝子を保有することが確認された。完全型 OI-122 と *eaeA* 遺伝子を保有しながら血便や HUS を惹起しない STEC O103 の病原遺伝子との比較から、完全型 OI-122 の存在だけではなく *stx2* 遺伝子の存在が STEC O121:H19 の高い病原性に関与している可能性が示唆された。STEC O121:H19 の感染源、感染ルートに関する知見は STEC O157 と比較して極めて少ないため、今後その点について調査を実施して効果的な感染予防策を構築していく必要がある。

## 1. はじめに

Shiga toxin(*stx*)-producing *Escherichia coli* (STEC) strains は下痢だけではなく、ときに出血性大腸炎(HC)や溶血性尿毒症症候群(HUS) を惹起する<sup>1)</sup>。STEC O157:H7 は HC や HUS を併発した患者から最も多く分離される STEC の血清型であるが、それ以外の血清型の STEC も下痢症や HC, HUS 患者から分離される<sup>2) 3) 4)</sup>。O157 以外の血清群の STEC である Non-O157 STEC のうち、特に STEC O121:H19 は国内で集団下痢症を引き起こしており、秋田県でも井戸水を介した HUS の併発を伴う家族内集団感染事例が発生した<sup>5)</sup>。秋田県では 1997 年に初めて分離<sup>6)</sup>された STEC O121:H19 は、感染者に血便など比較的重篤な症状を惹起するだけではなく、Non-O157 STEC のうち唯一 HUS を併発している。STEC O121:H19 がなぜ感染者に比較的重篤な症状を惹起し、また Non-O157 STEC のなかで唯一 HUS を併発するのか、背景となる病原遺伝子の性状に関する特徴は不明である。さらに、STEC O121:H19 の Clonal relationship を特徴付ける分子疫学的性状に関する報告も殆どない。

最近、Karmali ら<sup>7)</sup>と Shen ら<sup>8)</sup>は STEC の病原性と特定の Genomic Island の存在が密接に関連することを報告し、保有遺伝子と病原性の関連から STEC を Seropathotype A から D のカテゴリーに分類することを提唱した。その分類に

従うと、STEC O157 H7 と STEC O157:NM は Seropathotype A, STEC O26:H11, O145:NM, O111:NM, O103:H2, O121:H19 は Seropathotype B に該当する。Seropathotype A は最も高頻度に HUS を併発し、また、集団感染事例を引き起こし、欠損のない「完全型」OI-122 遺伝子に加えて、OI-1, OI-47, OI-141, OI-154 という Fimbria 関連遺伝子を保有している。一方、Seropathotype B は頻度は比較的低いものの HUS を併発し、集団感染事例を引き起こし、Fimbria 関連遺伝子を保有せず、OI-122 に欠損が認められる血清型と完全型 OI-122 を保有する血清型を包含している<sup>7, 8)</sup>。STEC O121:H19 は Seropathotype B に分類され、完全型 OI-122 遺伝子を保有する一方で Fimbria 関連遺伝子を保有しないとされている<sup>7, 8)</sup>が、Karmali らが当該論文において供試した STEC O121:H19 はわずかに 3 株であることから、その特徴を明らかにするためにはさらに多くの STEC O121:H19 について検討する必要があると考えられる。

今回、我々は秋田県でこれまでに分離された STEC O121:H19 21 株を供試して Karmali ら<sup>7)</sup>と Shen ら<sup>8)</sup>が提唱した仮説の検証を試みた。さらに、STEC O121:H19 の分子疫学的性状を他の血清型の STEC と比較し、STEC O121:H19 の Clonal relationship についても検討した。

## 2. 材料と方法

### 2.1 PCRによる病原遺伝子の検出

秋田県で分離された STEC O121:H19 21 株 (表 1), STEC O26 14 株, STEC O103 13 株を OI-122 の検出に供試した。これらはいずれも Seropathotype B に分類されている。OI-122 構成遺伝子のうち *pagC*, *sen*, *efal* 遺伝子 (表 2) を PCR の標的とした<sup>7)</sup>。STEC O121:H19 21 株について表 2 に示す構成遺伝子を標的とした PCR により OI-1, OI-47, OI-131, OI-154 遺伝子の存在を検討した<sup>8)</sup>。また, 供試株について, 既報の PCR に従い, *stx* 遺伝子の検出と型別と *eaeA* 遺伝子の検出<sup>9)</sup> を実施した。

### 2.2 パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)

STEC O121:H19 21 株, STEC O26 strains 14 株, STEC O103 5 株, STEC O157 21 株を PFGE パターンの比較解析に供した。PFGE は Pulsnet-USA<sup>1,10)</sup> のプロトコールに従い実施し, デンドログラムは Fingerprinting II software (BIO-RAD) を使用して作成した。制限酵素には *XbaI* (30U/plug) を使用した。

## 3. 結果と考察

PCR による OI-122 構成遺伝子の検出結果例を図 1 に, 供試株の病原遺伝子保有状況を表 3 にそれぞれ示した。供試した STEC O121:H19 21 株は全て *stx2*, *eaeA*, *pagC*, *sen*, *efal* 遺伝子を保有していたが, OI-1, OI-47, OI-141, OI-154 は陰性であったことから, STEC O121:H19 は Fimbria 関連遺伝子 OI-1, OI-47, OI-141, OI-154 を保有せず, 完全型 OI-122 と *eaeA*, *stx2* 遺伝子を保有することが示された。一方, STEC O26 は全て *stx1*, *eaeA*, *sen*, *efal* 遺伝子陽性, *pagC* 遺伝子陰性であった。また, STEC O103 13 株のうち, 6 株が *stx1*, *eaeA*, *pagC*, *sen*, *efal* 遺伝子を保有し, 他 6 株は *stx1*, *eaeA*, *sen*, *efal* 遺伝子陽性, *pagC* 遺伝子陰性, 残り 1 株は *stx1* と *eaeA* 遺伝子のみ陽性, *sen*, *efal*, *pagC* 遺伝子がいずれも陰性であった。以上の結果は, STEC O26 と STEC O103 が *stx1* と *eaeA* 遺伝子を保有すること, また STEC O26 は欠損のある OI-122 を保有していることを示していた。一方, STEC O103 には完全型 OI-122, 欠損のある OI-122 を保有している株と OI-122 を保有しない

株が混在していることが示された。

図 2 に示すように, STEC O121:H19 の PFGE パターンは 69.9% の類似度であったが, STEC O157 の PFGE パターンと STEC O26 の PFGE パターンの類似度はそれぞれ 56.8% と 57.7 % であった。このことは STEC O121:H19 が相互の関連性が高い clone から構成されていることを示唆しているものと考えられた。

STEC の病原性は血清型に異なることが知られていたにもかかわらず, その理由は明らかとなっていない<sup>7)</sup>。近年, 下痢原性大腸菌<sup>11)</sup> を含む病原細菌の病原性には Pathogenicity Island (PAI) と呼ばれる水平伝播により獲得された一群の遺伝子が重要な役割を果たしていることが認識されるようになった。STEC の病原性についても最近, PAI に該当する各種の OI の関与が指摘されている<sup>7) 8)</sup>。Non-O157 のうち, STEC O121:H19 は STEC O26 や STEC O103 などとは異なり, 秋田県<sup>5)</sup> だけではなく欧米<sup>4)</sup> においても患者が比較的重篤な症状を呈することが報告されていることから, 注目すべき血清型であるものの, その高い病原性の理由となる病原遺伝子上の特徴については明らかになっていなかった。今回, 秋田県でこれまで分離された 21 株の STEC O121:H19 を用いて実施した我々の検討により, Karmali らと Shen らが提唱した仮説を支持する結果が示された。しかし, STEC O103 には STEC O121 と同様に完全型 OI-122 を保有している株が約半数認められたにもかかわらず, 秋田県では STEC O103 が患者に血便や HUS を併発した例はこれまで認められていない。このことは, STEC の病原性に OI-122 以外の要因が関与していることを示唆するものと考えられる。STEC O121:H19 と STEC O103 の病原性の違いがどのような機構に起因しているのか詳細は不明であるが, Paton ら<sup>12)</sup> は *Stx2* 単独産生株が *Stx1* 単独産生株と比較して, また *eaeA* 遺伝子保有株が *eaeA* 遺伝子非保有株と比較して, より高頻度に HUS などの重篤な症状の発現に関与していることを疫学的に指摘している。いずれも完全型 OI-122 を保有している STEC O121:H19 と STEC O103 に認められる病原性の違いには, Paton らが提唱した産生する *stx* の型の違いが関与している可能性があるものと考えられ, この点については今後, さらなる検討が必要と考え

られる。一方、Tarrらは*E. coli* O121:H19が単一のETから構成され、他の血清型の大腸菌よりもhomogeneousであることを指摘している。今回、我々がPFGEパターンの比較解析により得た、STEC O121:H19が相互の関連性が高いcloneから構成されていることを示唆する結果は、TarrらがETの検討により得た結果と一致するものであった。

Seropathotype Bに分類されるSTEC O121:H19が完全型OI-122, *eaeA* 遺伝子, *stx2* 遺伝子を保有することが実際に確認され、完全型OI-122の存在だけではなく、*eaeA* 遺伝子と*stx2* 遺伝子の存在がSTEC O121:H19の高い病原性に関与している可能性が示された。STEC O121:H19は重篤な症状を惹起するNon-O157 STECであることから、STEC O157同様に感染対策を講じる必要があると考えられる。しかしながら、STEC O121:H19の感染源、感染ルートに関する知見はSTEC O157と比較して極めて少ないため、今後その点について研究を実施して効果的な感染予防策を構築していく必要がある。

#### 4. まとめ

- ・秋田県でこれまでに分離されたSTEC O121:H19 21株について病原遺伝子の保有状況を検討した結果、供試したSTEC O121:H19は全て*stx2*, *eaeA*, *pagC*, *sen*, *efa1* 遺伝子を保有していたが、OI-1, OI-47, OI-141, OI-154は陰性であった。このことから、STEC O121:H19はFimbria関連遺伝子OI-1, OI-47, OI-141, OI-154を保有せず、完全型OI-122と*eaeA*, *stx2* 遺伝子を保有することが確認された。

- ・完全型OI-122の存在だけではなく、*eaeA* 遺伝子と*stx2* 遺伝子の存在がSTEC O121:H19の高い病原性に関与している可能性が示された。

- ・*Xba*I PFGEパターンの比較検討により、STEC O121:H19が相互の関連性が高いcloneから構成されていることが示唆された。

- ・STEC O121:H19の感染源、感染ルートに関する知見はSTEC O157と比較して極めて少ないため、今後その点について研究を実施して効果的な感染予防策を構築していく必要がある。

#### 5. 文献

1) Karmali, M.A. Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev., 1989; 2: 15-38.

2) Tarr, P.I., and Neill, M.A. Perspective; the problem of non-O157:H7 shiga-toxin-producing *Escherichia coli*. J. Infect. Dis., 1996; 174: 613-624.

3) Ludwig, K., Bitzan, M., Zimmermann, S., Kloth, M., Ruder, H., and Muller-Wiefel, D.E. Immune response to non-O157 vero toxin-producing *Escherichia coli* in patients with hemolytic uremic syndrome. J. Infect. Dis., 1996; 174: 1028-1039.

4) McCarty, T.A., Barrett, N.L., Hadler, J.L., Salisbury, B., Howard, R.T., Dingman, D.W., Brinkman, C.D., Bibb, W.F., and Carter, M.L. Hemolytic-uremic Syndrome and *Escherichia coli* O121 at a lake in Connecticut, 1999. Pediatrics, 2001; 108: E59.

5) Jun Yatsuyanagi, Shioko Saito and Isao Ito, A case of Hemolytic-Uremic Syndrome Associated with Shiga Toxin 2-Producing *Escherichia coli* O121 Infection Caused by Drinking Water Contaminated with Bovine Feces. Jpn. J. Infect. Dis., 2002; 55: 174-176. 6) 八柳 潤, 木内 雄, 齊藤志保子, 鈴木陽子, 佐藤宏康, 宮島嘉道, 1997年7月に秋田県で分離されたVero毒素産生性大腸菌O121:H19 2株の性状とVirulence factor, 感染症学雑誌, 1999; 73: 218-224.

7) Karmali, M.A. et al. Association of Genomic O Island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* Seropathotypes That Are Linked to Epidemic and/or Serious Disease. J. Clin. Microbiol., 2003; 41: 4930-4940.

8) Shen, S. et al. Identification of Four Fimbria-Encoding Genomic Islands That Are Highly Specific for Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Serotype O157 Strains. J. Clin. Microbiol., 2005; 43: 3840-3850.

9) Yatsuyanagi, J. et al. Characterization of Enteropathogenic and Entero-aggregative *Escherichia coli* Isolated from Diarrheal Outbreaks. J. Clin. Microbiol., 2002; 40: 294-297.

10) The National Molecular Subtyping Network

for Foodborne Disease Surveillance, CDC.

1 1 ) Kaper, J.B., Mellies, J.L., and Nataro, J.P. (1999): Pathogenicity Islands and Other Mobile Genetic Elements of Diarrheagenic *Escherichia coli*. *In* MKaper, J.B., and Hacker, J. (ed.), Pathogenicity Islands and Other Mobile Virulence Elements.

American Society for Microbiology, Washington, D.C.

1 2 ) Paton, J.C. et al. Pathogenesis and Diagnosis of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998 ; 11 : 450-479.

表1 STEC 0121:H19供試株

菌株番号	分離年月日	由来	菌株番号	分離年月日	由来
EC707	'97 Jul.18	SP BD	EC4230	'00 Oct.31	Bovine
EC716	'97 Jul.23	SP BD	EC4237	'00 Oct.31	Bovine
EC1603	'98 Aug.12	SP D	EC5122	'01 Jun.27	SP D
EC2935	'99 Oct.22	SP D	EC6804	'02 Jul.19	OB BD
EC3105	'99 Nov.10	FML D	EC6998	'02 Aug.28	SP D
EC3725	'00 Jul.7	SP BD	EC7982	'03 Jun.24	SP D
EC3772	'00 Jul.18	SP BD	EC8048	'03 Jul.24	SP D
EC3896	'00 Aug.11	FML HUS	EC8243	'03 Sep.26	SP D
EC3964	'00 Aug.23	SP D	EC9065	'04 Sep.2	SP D
EC3993	'00 Aug.30	SP D	EC9208	'04 Nov.9	FML D
EC4151	'00 Oct.7	FML HUS			

SP:散発 OB:集発 FML:家族内感染  
D:下痢 BD:血性下痢

表2 検出したOIとPCRの標的としたOI構成遺伝子

Genomic islands	標的としたOI構成遺伝子						
OI-122	Z4321(pagC)	Z4326(sen)	Z4332(efa1)	Z4333(efa1)			
OI-1	Z0024						
OI-47	Z1528	Z1534	Z1538	Z1542	Z1548	Z1552	Z1556
OI-141	Z4965	Z4966	Z4971				
OI-154	Z5220	Z5221	Z5225				

表3 秋田県で分離されたSeropathotype B STECの病原遺伝子

		OI-122								<i>eaeA</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>
		Z4321	Z4326	Z4332	Z4333	OI-1	OI-47	OI-141	OI-154			
STEC 0121	21/21	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+
STEC 026	14/14	-	+	+	+	ND	ND	ND	ND	+	+	-
STEC 0103	6/13	-	+	+	+	ND	ND	ND	ND	+	+	-
	6/13	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	+	+	-
	1/13	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	+	+	-

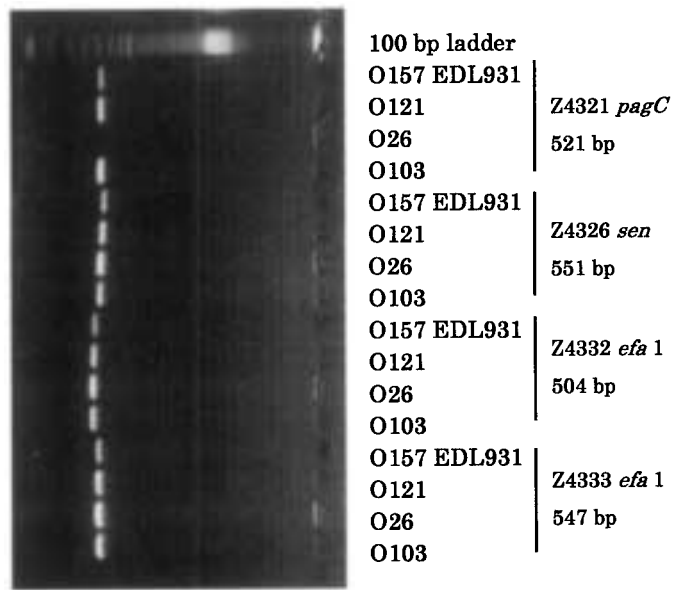


図1 PCRによるOI-122構成遺伝子の検出

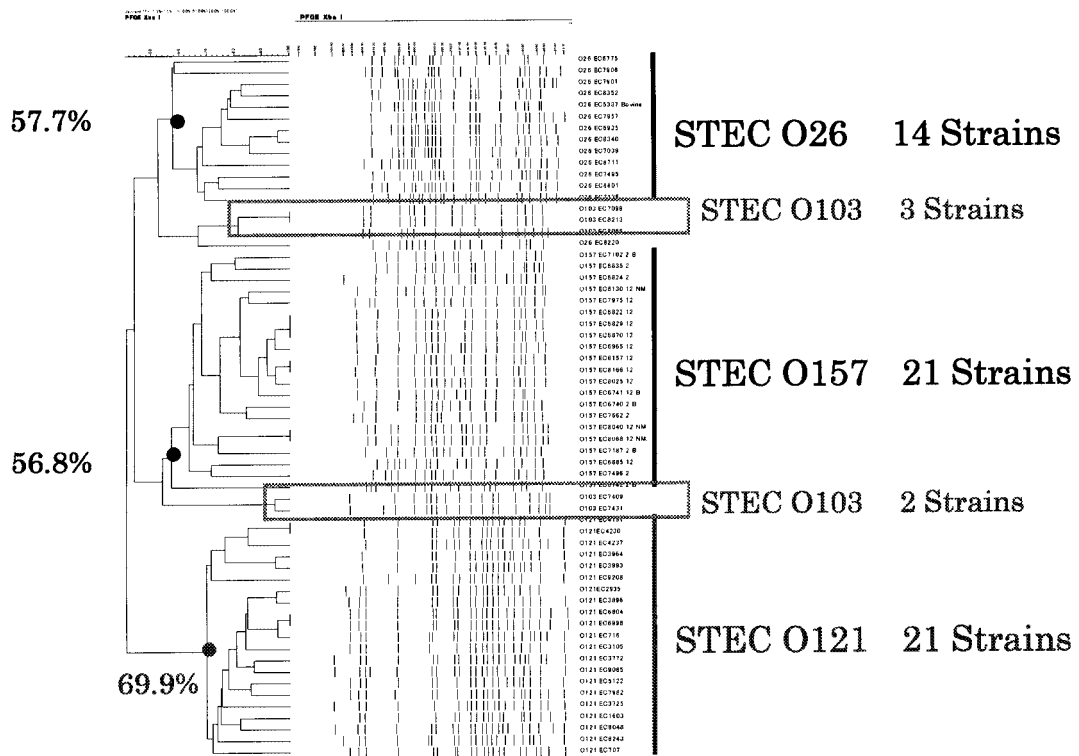


図2 STEC O121、O157、O26、O103分離株のXbaI PFGEパターンから構築したデンドログラム

## 秋田県で2005年12月から2006年3月に検出された*Norovirus*の遺伝子型—東北食中毒研究会*Norovirus*研究班活動

八柳 潤 齊藤志保子 今野貴之

東北食中毒研究会の NV 研究班活動の一環として、秋田県で検出された NV の分子疫学的性状について解析した。平成 17 年 12 月から平成 18 年 3 月までに得られた散発下痢症および集団下痢症患者の糞便 83 検体を供試した。NV の検出は SK プライマーを使用した RT-PCR により実施した。PCR 増幅断片の塩基配列をダイレクトシーケンスにより決定し、Clustal W の値に基づき NJplot により系統樹を作成した。シーケンスを実施した 25 検体中 2 株が GI (GI/11、GI/14) であった。GII 23 株の内訳は GII/4 が 13 株と最も多く、GII/6 が 4 株、GII/5 が 2 株、GII/2、GII/3、GII/9、GII/10 がそれぞれ一株であった。GII/4 13 株には同一シーケンスから成る 2 つのクラスターが認められた。秋田県内で検出された NV のシーケンスデータに基づく分子疫学的性状に関する知見が初めて得られた。NV の分子疫学的性状に関する知見は NV 感染予防策の構築のための基盤となることが期待される。一方、県内で発生する集団下痢症の解析にこの分子疫学的解析手法を応用することにより効果的な行政支援を実施できるものと考えられる。

### 1. はじめに

*Norovirus* (NV) は *Sapovirus* (SV)、*Logovirus*、*Vesivirus* と共に *Caliciviridae* に属し<sup>1)</sup>、幼児から成人に至る全年齢層に胃腸炎を惹起<sup>2)</sup>するウイルスである。NV 胃腸炎は冬季に流行し、吐気、嘔吐、腹痛、下痢を主な症状とし、臨床的には比較的軽症な疾患である。しかし、NV は感染力が強く少数のウイルス粒子により感染が成立する<sup>3)</sup>ことからしばしば集団感染が発生する。NV の集団感染は食品媒介(食中毒)、ヒト-ヒト感染、あるいは両者が複合して発生する。近年、病原体の感染源や感染ルートを特定する際、種々の分子疫学的解析<sup>4)</sup>手法が応用されており、病原細菌の分子疫学的解析手法としては Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) が Gold Standard ともなっている。NV の分子疫学解析手法としては種々の方法がこれまでに提唱・試行されてきたが、現在は片山ら<sup>5)</sup>のキャプシド領域の塩基配列に基づく遺伝子型別と NJ 法による系統樹解析が国内で汎用されている。NV は 2 つの Genogroup、GI と GII に大別され、この方法では GI が 14、GII が 17 の遺伝子型に分類される。PFGE など、画像アナログデータに基づく分子疫学解析においては、異なる実験により得られたデータを比較する際にデータの標準化に精度的な限界を伴うことが不可避である。これに対して、シーケンスデータに基づく分子

疫学的解析では扱うデータが塩基配列というデジタル的なデータであるために、異なる実験により得られたデータを容易に比較・解析可能であるという利点がある。このことは、NV の分子疫学解析においては、異なる県の地方衛生研究所で得られたシーケンスデータを集積・解析することが容易に実施可能であることを示している。NV 胃腸炎の疫学解析については、これまで感染症サーベイランスにおける小児科定点における患者発生数の把握や、一つの地方自治体において発生した集団事例の解析に留まってきた。しかし、現在はヒトや食品が広域にわたり流通していることから NV 胃腸炎の疫学について検討する際にも異なる自治体を含む広い地域で得られた情報を収集・解析する必要があるものと考えられる。

東北地方の地方衛生研究所などで構成する東北食中毒研究会では平成 17 年 8 月に NV 研究班を組織し、東北地方で検出された NV のシーケンスデータ、由来検査材料等に関する情報の解析を実施し、東北地方における NV の疫学の解明と NV 胃腸炎発生予防策の検討を目的とする活動を開始した。今回、東北食中毒研究会 NV 研究班活動の一環として実施した、平成 17 年 12 月から平成 18 年 3 月までに秋田県で検出された NV の分子疫学的性状の解析結果について報告する。



## 2. 材料と方法

### 2.1 供試検体

平成17年12月から平成18年3月までに得られた散発下痢症および集団下痢症患者の糞便83検体を供試した。

### 2.2 NVの検出とシーケンス・系統樹解析

NVの検出は厚生労働省通知に従い、SKプライマーを使用したRT-PCRにより実施した。陽性検体から得られたPCR増幅断片についてSKプライマーを使用したダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。塩基配列の解析にはDNAsisソフトウェア(Hitachi)を使用し、系統樹はClustal Wの値に基づきNJplotにより作成した。

### 2.3 NV P2 Regionのシーケンス・系統樹解析

SKプライマー増幅断片の解析によりGII/4と特定され、且つ断片のシーケンスが同一であったNV No. 21とNV No.24、ならびにこれらとSKプライマー増幅断片のシーケンスに違いがみとめられるGII/4株であるNV No.18のP2 Regionのシーケンスについて、既報<sup>6)</sup>に従い検討した。OutgroupにはCamberwell株のP2 Regionのシーケンスを使用した。P2 regionはOkadaら<sup>7)</sup>が報告した範囲とした。

### 2.4 Sapovirusの検出と確認試験、シーケンス・系統樹解析

NVが検出されなかった一事例についてはOkadaらの方法<sup>8)</sup>に従いSapovirus (SV)の検出を試みた。なお、SVに由来する遺伝子はインナープライマーを使用した1回のPCRにより検出可能であり、原報に示されたNested-PCRによる必要は無かった。得られた増幅断片のシーケンスをダイレクトシーケンスにより決定し、Updated version of the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) program at the National Center for Biotechnology Information server (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) online searchによりSVに由来する遺伝子であるかどうか確認した後、Farkasら<sup>9)</sup>が報告した基準株を使用した系統樹解析により遺伝子型を決定した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 検出されたNVの遺伝子型とGII/4の系統樹解

### 析

供試験した83検体のうち36検体がNV陽性となり、それらのうち25検体についてシーケンスを実施して遺伝子型を決定した。その結果は表1に示すとおりである。25検体中2株がGIであり、遺伝子型はGI/11とGI/14であった。GII23株の内訳はGII/4が13株と最も多く、GII/6が4株、GII/5が2株、GII/2、GII/3、GII/9、GII/10がそれぞれ一株であった。GII/4 13株のSKプライマー増幅断片シーケンスに基づく系統樹を図1に示す。13株の系統樹には同一シーケンスから成る2つのクラスターが認められた(NV No.9; No.18; No.45; No.51とNo.74、NV No.8; No.16; No.21; No.24; No.26; No.30)。

### 3.2 GII/4株のP2 Regionシーケンス

GII/4株のうちSKプライマー増幅断片シーケンスの比較で同一クラスターの属するNV No. 21とNV No.24、ならびにこれらとは違うクラスターに属するNV No.18のP2 Regionのシーケンスを比較した。NV No. 21とNV No.24のSKプライマー増幅断片シーケンスは同一である一方、図3に示すように、P2 Regionのシーケンスには2カ所の違いが認められた。また、SKプライマー増幅断片シーケンス解析でNV No. 21、NV No.24とは異なるクラスターに属することが示されたNV No.18のP2 Regionのシーケンスは図2、図3に示すとおり、NV No. 21、NV No.24のP2 Regionのシーケンスとは明らかに異なっていた。

### 3.3 SVの遺伝子型

2006年3月に発生し、NVが検出されず、腸管凝集付着性大腸菌(EAggEC)O126が検出された事例ではNVの他にRT-PCRによりアイチウイルス、アストロウイルス、C群ロタウイルス、SVの検出を試みたところ、SVが検出された。供試したSV4株のRT-PCR増幅断片のシーケンスは全て同一であり、その遺伝子型は図4に示すとおりGIに属し、亜型についてはGI/1-GI/3のいずれともやや異なるもののGI/1に最も近縁であった。

今回、東北食中毒研究会NV研究班の活動の一環として実施した検討により、秋田県内で検出されたNVのシーケンスデータに基づく分子疫学的性状に関する知見が初めて得られた。GII/4 (Bristol virus-like genotype)<sup>10)</sup>は世界的

も遺伝子に変異を伴いながら<sup>11)</sup>流行しており、秋田県においても GII/4 が主流遺伝子型であることが今回の検討により初めて確認された。今回の検討では 2005 年 12 月から 2006 年 1 月中旬まで GII/4 が主として検出され、2006 年 1 月中旬以降は多様な遺伝子型の NV が検出される傾向がみられた。この遺伝子型の経時推移に毎年観察される現象であるかどうか、また、その推移が患者の発生にどのような影響を及ぼしているのかどうかなどを明らかにするためには今後のさらなる検討が必要である。

SK プライマー<sup>12)</sup>は NV genome の ORF1、ORF2 Junction に存在する Highly Conserved Region<sup>13, 14)</sup>を標的としている。このため、NV の検出には優れた精度を示すものの、SK プライマーにより得られた増幅断片には分子疫学的解析能を決定する上で重要なシーケンスの多様性が乏しいことが指摘<sup>6)</sup>されている。一方、P2 Region は Hyper Variable Region に該当し、分子疫学的解析のための標的として適切であることが指摘<sup>6)</sup>されている。今回、我々も NV No. 21 と NV No.24 について SK プライマー増幅断片と P2 Region のシーケンス解析を実施し、両株の SK プライマー増幅断片のシーケンスが同一であるにもかかわらず、P2 Region のシーケンスには 2 塩基の違いが認められることを確認した。わずか 3 株を使用した検討成績ではあるが、今回の結果は NV の分子疫学的解析の標的としての P2 Region の有用性を示すものと考えられ、今後 SK プライマー増幅断片のシーケンスが同一である株について、さらに P2 Region の解析を実施してデータを蓄積する必要があると考えられた。また、データは示さないが、東北地方で得られたデータの解析により、複数の県で同一シーケンスの SK プライマー増幅断片が得られた GII/4 株が検出されており、これらの株についても P2 Region のシーケンスを比較・解析することにより、より詳細な株間の関連に関する知見が得られることが期待される。

今回の研究班活動を実施する過程で、EAggEC O126 と SV の混合感染事例が発生した。この事例は NV 陰性であると共に、ウイルス性下痢症診断マニュアル等に従い RT-PCR で検出を試みたアイチウイルス、アストロウイルス、C 群ロタウイルスも陰性であった。保健所で実施した

疫学調査の結果は本事例が食中毒ではなく、感染性胃腸炎を示唆していたことから本事例の病因物質は SV とされた。この事例は、これまでも指摘されているとおり<sup>15)</sup>、集団下痢症においては予測される病原体のみに意識を囚われることなく、広汎な病原体を視野にいたした病因物質の検索を実施する必要があることをあらためて浮き彫りにした。国内における SV の検出状況の詳細は不明であるが、Phan らは<sup>16)</sup> 2004 年 7 月から 2005 年 6 月までの 1 年間に大阪市の小児科における急性胃腸炎の糞便 125 検体について NV、SV、ロタウイルス、アストロウイルス、アデノウイルスの検索を実施し、検出率がそれぞれ NV 19.2%、SV 17.6%、A 群ロタウイルス 18.4%、アストロウイルス 1.6 %、アデノウイルス 0.8%であることを明らかにし、小児急性胃腸炎の原因病原体として SV が重要であることを指摘している。RT-PCR だけではなく、Real-Time RT-PCR による SV の検出方法も既に確立<sup>17, 18)</sup>されていることから、今後は SV 検出に関しても NV と同様に通常の RT-PCR と共に Real-Time RT-PCR が広く実施され、国内における SV による感染性胃腸炎の発生実態がより明確になっていくものと推察される。

今回、東北食中毒研究会 NV 研究班活動の一環として実施した研究により得られた知見は、秋田県に侵淫した NV の分子疫学的性状を解明する上での端緒となるものである。今後も県内で検出された NV の分子疫学的性状に関するデータを蓄積することにより、秋田県における NV の感染疫学および東北地方で検出された NV と秋田県で検出された NV の関連に関する情報が蓄積され、それらの知見は NV 感染予防策の構築のための基盤となることが期待される。一方、県内で発生する集団下痢症の解析にこの分子疫学的解析手法を応用することにより得られる情報は、従来の疫学調査により得られた知見を支持すると考えられ、感染源や感染ルートに際して効果的な行政支援を実施できるものと考えられた。

#### 4. まとめ

・東北食中毒研究会の NV 研究班活動の一環として、平成 17 年 12 月から平成 18 年 3 月までに

秋田県で検出された NV の分子疫学的性状について解析した。

・平成 17 年 12 月から平成 18 年 3 月までに得られた散発下痢症および集団下痢症患者の糞便 83 検体を供試し、シーケンスを実施した 25 検体中 2 株が GI (GI/11、GI/14) であった。GII 23 株の内訳は GII/4 が 13 株と最も多く、GII/6 が 4 株、GII/5 が 2 株、GII/2、GII/3、GII/9、GII/10 がそれぞれ一株であった。GII/4 13 株には同一シーケンスから成る 2 つのクラスターが認められた。

・NV の分子疫学的解析の標的として P2 Region が有用であることが示され、今後 SK プライマー増幅断片のシーケンスが同一である株について、さらに P2 Region の解析を実施してデータを蓄積する必要がある。

・Sapovirus GI/1 近縁株と EAggEC O126 の混合感染事例が確認され、集団下痢症事例においては広汎な病原体を視野にいれた病因物質の検索を実施する必要があることがあらためて浮き彫りになった。

・NV の分子疫学的性状に関する知見は NV 感染予防策の構築のための基盤となることが期待され、県内で発生する集団下痢症の解析にこの分子疫学的解析手法を応用することにより効果的な行政支援を実施できるものと考えられた。

## 5. 文献

- 1) Green, K.Y. et al. Taxonomy of the caliciviruses. *J. Infect. Dis.* 2000 ; 181 : S322-330.
- 2) de Wit, M.A. et al. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am. J. Epidemiol.* 2001 ; 154 : 666-667.
- 3) Kuusi, M. et al. A prolonged outbreak of Norwalk-like calicivirus (NLV) gastroenteritis in a rehabilitation centre due to environmental contamination. *Epidemiol. Infect.* 2002 ; 129 : 133-138.
- 4) Riley, L.W. *Molecular epidemiology of infectious diseases: principles and practices.* 2004. ASM Press, Washington, DC., USA.
- 5) 片山和彦. ノロウイルス感染症. *IDWR.* 2004 ; 6 : 14-19.

6) ウイルス性食中毒の効率的な原因究明及び行政支援に関する研究. 地域保健推進特別推進事業報告書. 2006、埼玉県衛生研究所.

7) Okada, M. et al. Genetic Analysis of Noroviruses in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004. *J. Clin. Microbiol.* 2005 ; 43 : 4391-4401.

8) Okada, M. et al. Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of Sapporo-like viruses. *Arch. Virol.* 2002 ; 147 : 1445-1451.

9) Farkas, T. et al. Genetic diversity among sapoviruses. *Arch. Virol.* 2004 ; 149 : 1309-1323.

10) Lopman, B. et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet.* 2004 ; 363 : 682-688.

11) Dingle, K.E. et al. Mutation in a Lordsdale norovirus epidemic strain as a potential indicator of transmission route. *J. Clin. Microbiol.* 2004 ; 42 : 3950-3957.

12) Kojima, S. et al. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J. Virol. Method.* 2002 ; 100 : 107-114.

13) Kageyama, T. et al., Broadly Reactive and Highly Sensitive Assay for Norwalk-Like Viruses Based on Real-Time Quantitative Reverse Transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2003 ; 41 : 1548-1557.

14) Katayama, K. et al. Phylogenetic Analysis of the Complete Genome of 18 Norwalk-like Viruses. *Virology* 2002 ; 299 : 225-239.

15) 特集ノロウイルス集団発生 2003 年 9 月～2005 年 10 月. 病原微生物検出情報. 2005 ; 12 : 323-341.

16) Phan, T.G. et al. Outbreak of Sapovirus Infection Among Infants and Children With Acute Gastroenteritis in Osaka City, Japan During 2004-2005. *J. Med. Virol.* 2006 ; 78 : 839-846.

17) Chan, M.C.W. et al. Sapovirus detection by quantitative real-time RT-PCR in clinical stool specimens. *J. Virol. Method.* 2006. on-line [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

18) Oka, T. et al. Detection of Human Sapovirus by Real-Time Reverse Transcription-polymerase Chain Reaction. *J. Med. Virol.* 2006 ; 78 : 1347-1353.

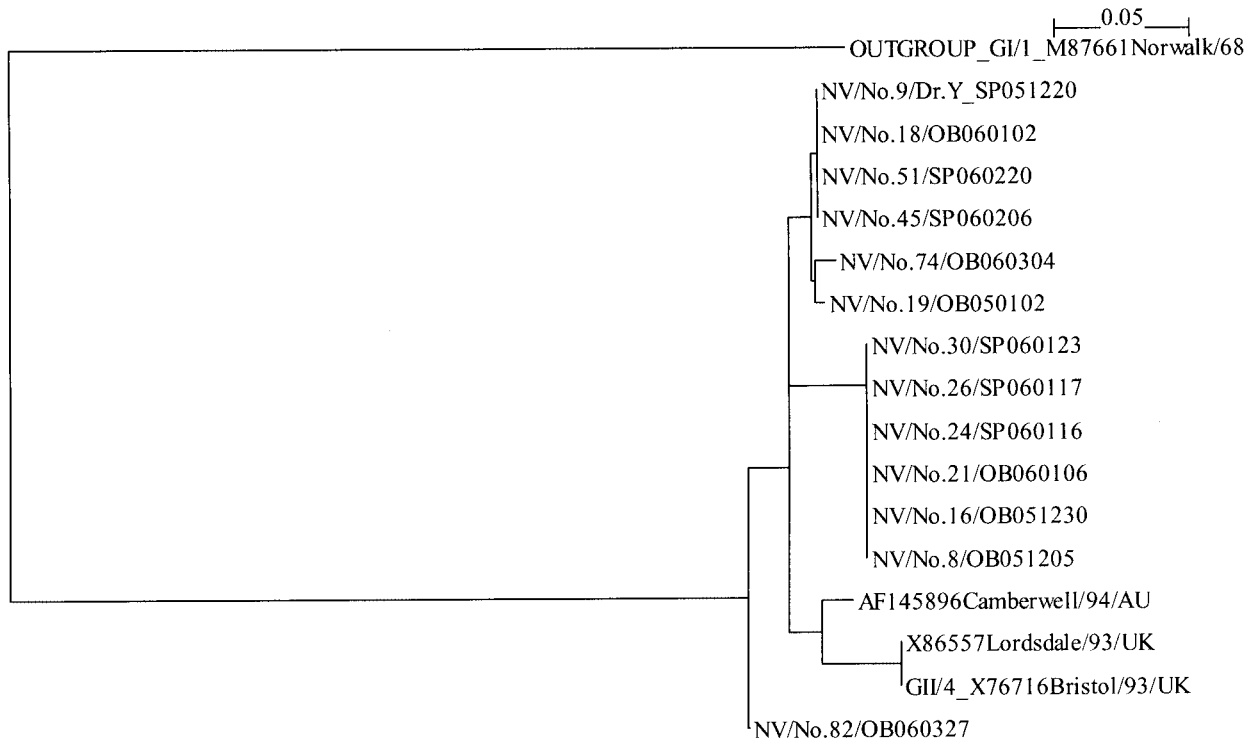


図1 検出されたNV GII/4 25株のSKプライマー増幅断片シーケンスに基づく系統樹

NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	AGCACTACCCAAGTGTCCCCGTCAACATCTGCACCTTCAGAGGAGATGT GGCCTACCCAAGTGTCCCCGTCAACATCTGTACCTTCAGAGGAGATGT GGTACTACCCAAGTGTCTCCTGTCAACATCTGCACCTTCAGAGGGGATGT GGCCTACCCAGCTGTCTAGCTGTCAACATCTGCAACTTTAGGGGGGATGT *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	CACCCACATTCCAGGACTCGTACTTACAGAATGAATTTGGCTTCTCAAA CACCCACATTCCAGGACTCGTACTTACAGAATGAATTTGGCTTCTCAAA CACCCACATTGCAGGACTCAAGAATACACAATGAATCTGGCCTCCCAAA CACCCATATTGTGGGAGCCATGATTATACAATGAACTTTGGCTTCCCAAA *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	ATTGGAACAATTATGACCCAACAGAAGAAACCCAGCCCCTCTGGGAACT ATTGGAACAATTATGACCCAACAGAAGAAATCCAGCCCCTCTGGGAACT ACTGGAACAATTATGACCCAACAGAAGAAATCCAGCCCCTCTGGGAACT ATTGGAGCAATTATGACCCAACAGAAGAAATCCAGCCCCCTCTGGGAACA *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	CCAGATTTCTGTTGGGAAAGATCCAAGGCATGCTCACCCAAACCACAAAGGG CCAGATTTCTGTTGGGAAAGATCCAAGGCATGCTCACCCAAACCACAAAGGG CCAGATTTCTGTTGGGTAAGATCCAAGGCTGCTCACCCAAACCACAAGGAG CCAGATTTCTGTTGGGAAAGATCCAAGGCTGCTCACCCAAACCACAAGAGC *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	AGACGGCTCGACCCGCGGTACAAAAGCTACAGTGAGCACTGGGAGTGTG AGACGGCTCGACCCGCGGTACAAAAGCTACAGTGAGCACTGGGAGTGTG GGATGGCTCGACCCGCGGTACAAAAGCCACAGTGAGCACTGGAAGTGTCC AGATGGCTCGACCCGTGCCCAAAAAGCTACAGTGAGCACTGGGAGTGTCC *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	ACTTCACTCCAAAGCTGGGCAGCGTTCAGTTCGCCACTGACACAGACAAT ACTTCACTCCAAAGCTGGGCAGCGTTCAGTTCGCCACTGACACAGACAAT ACTTCACTCCAAAGCTGGGCAGAAATTCATTTTCCACTGATACAAGCAAT ACTTCACTCCAAAGCTGGGTAGTGTTCATTCACCACTGACACAAAACAAT *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	GATTTTGAAGCTGGCCAAAACACAAGGTTACCCCAGTCGGTGTATCCA GATTTTGAAGCTGGCCAAAACACAAGGTTACCCCAGTCGGTGTATCCA GATTTTGAAGCTGGCCAAAACACGAGATTCACCCCAGTCGGTGTATCCA GATTTCCAAAGCTGGCCAAAACACGAAATTCACCCCAGTTGGTGTATCCA *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	GGATGGTAGTAGTACCCACAGAAATGAACCCCAACAATGGGTACTCCCAG GGATGGTAGTAGTACCCACAGAAATGAACCCCAACAATGGGTACTCCCAG GGATGGTAGCACCACCCACCAAAATGAACCCCAACAATGGGTACTCCCAG AGACGGTG--ACCACC--ACCAGAATGAGCCCCAACAATGGGTACTCCCAG *
NVNo21P2_OB060106 NVNo24P2_Nosocomial060116 NVNo18P2_OB2060102 Camberwell_P2_region	ATTACTCAGGTAGAAGTGTTCATAATGTACACCTG ATTACTCAGGTAGAAGTGTTCATAATGTACACCTG ATTATTAGGTAGAGATAGTACAATGTGCATCTA ATTATTAGGTAGAAGTGGTTCATAATGTGCACCTG *

図2 NV18、NV21、NV24、Camberwell VirusのP2 Region DNAシーケンスの比較結果

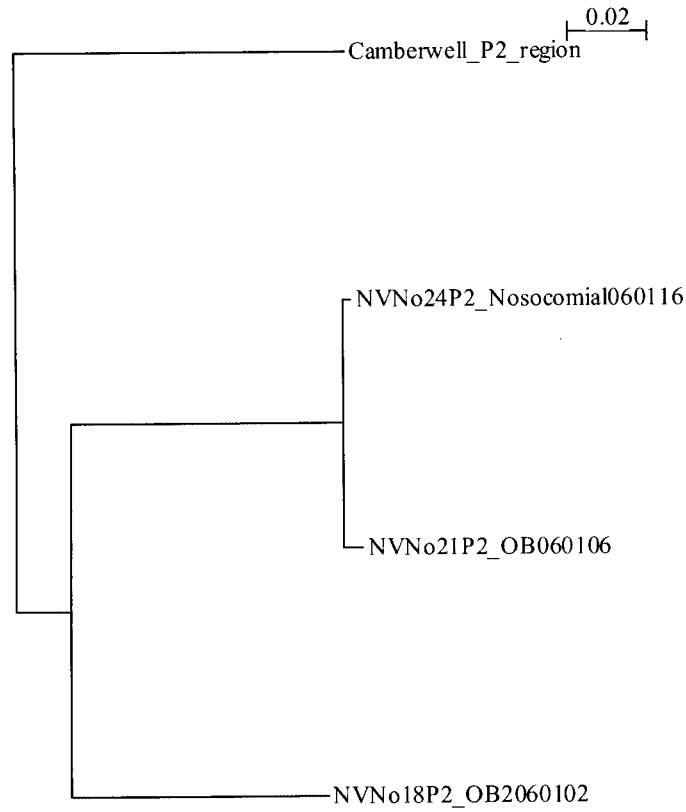


図3 NV No.18、NV No.21、NV No.24のP2 Region DNAシーケンスから作成した系統樹

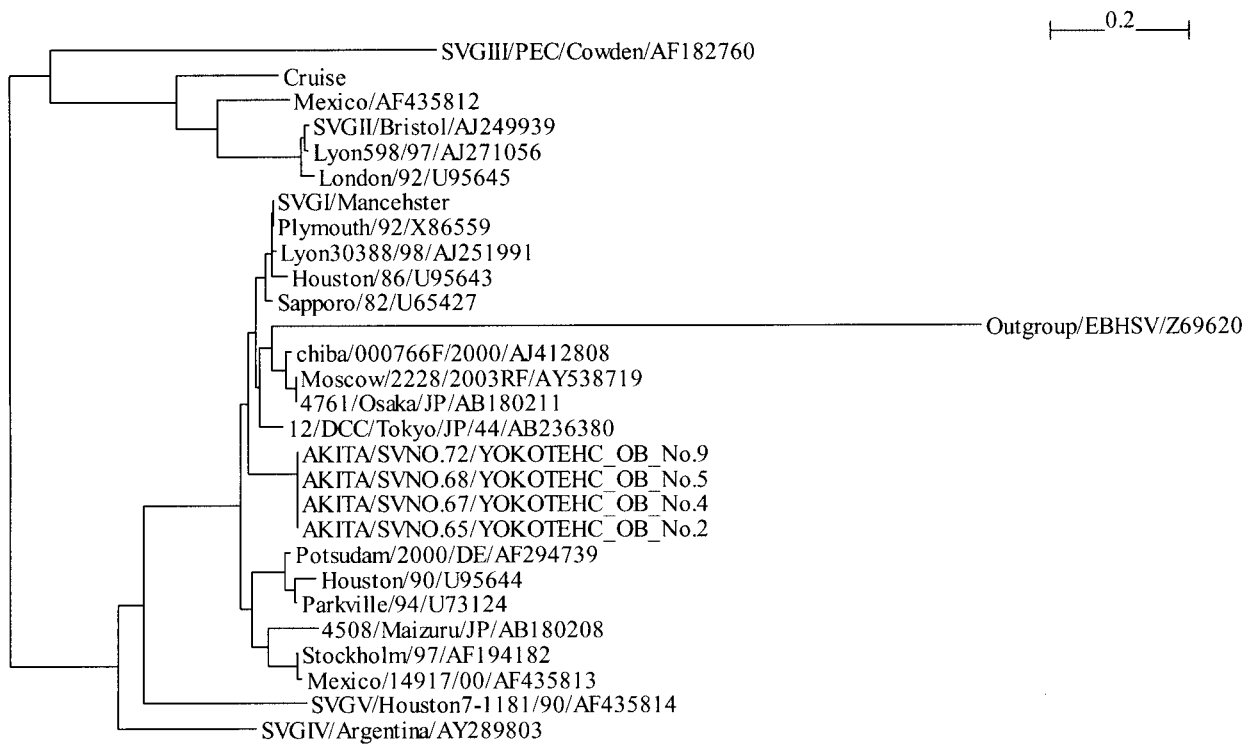


図4 集団事例由来Sapo Virusの遺伝子型を示す系統樹

表1 検出されたNVのGenotype

株番号	採取年月	事例種別	Genotype
NV No. 8	2005.12	集団	GII/4
NV No. 9	2005.12	散発	GII/4
NV No. 16	2005.12	集団	GII/4
NV No. 18	2006.1	集団	GII/4
NV No. 19	2006.1	集団	GII/4
NV No. 21	2006.1	集団	GII/4
NV No. 24	2006.1	散発	GII/4
NV No. 26	2006.1	散発	GII/4
NV No. 27	2006.1	散発	GII/6
NV No. 29	2006.1	散発	GII/10
NV No. 30	2006.1	散発	GII/4
NV No. 33	2006.1	散発	GII/5
NV No. 34	2006.1	集団	GII/2
NV No. 36	2006.1	集団	GII/6
NV No. 42	2006.1	散発	GI/14
NV No. 43	2006.2	散発	GII/6
NV No. 45	2006.2	散発	GII/4
NV No. 51	2006.2	散発	GII/4
NV No. 53	2006.2	集団	GII/9
NV No. 56	2006.2	集団	GII/6
NV No. 59	2006.2	集団	GII/3
NV No. 62	2006.3	散発	GI/11
NV No. 74	2006.3	集団	GII/4
NV No. 79	2006.3	集団	GII/5
NV No. 82	2006.3	集団	GII/4

# 秋田県内で分離された結核菌の分子疫学的性状の解析とRFLPパターンのデータベース化に関する調査研究

八柳 潤 齊藤志保子 今野貴之

県内で分離された結核菌の RFLP パターンのデータベース化について検討した。業務担当課からあらかじめ承認を得て、これまでに当センターに RFLP 解析を依頼した経緯がある市立秋田総合病院、大館市立総合病院、平鹿総合病院から分与された結核菌、本事業実施以前に当センターに送付された結核菌保存株、合計 91 株について RFLP パターンを解析した。X 線フィルム上に記録された RFLP パターンの画像を可視光線で透過し、Geldoc 2000 (Bio-Rad) 画像取り込み装置を使用して TIFF ファイルに変換し、Fingerprinting II Software を使用してデンドログラムを作成した。個々の実験で得られた外部標準株のバンドの相対的位置関係は比較的再現性良く一致することが確認され、データの標準化が可能であった。91 株を使用して小規模ではあるが結核菌 RFLP パターン画像データベースの骨格を構築し得たことから、本調査研究の当初目標はほぼ達成されたものと考えられた。今後も医療機関等から依頼された解析の結果を追加することにより、将来的にデータベースが充実するものと考えられ、結核対策に係る行政ニーズ、および医療機関からのニーズに対して、より適切に支援することが可能となるものと考えられた。

## 1. はじめに

厚生労働省は平成 11 年に結核緊急事態宣言を発令し、その対策に取り組んだ。特に、学校や事業所、その他不特定多数の人間が接触する場を介しての集団感染の発生が問題となっている。結核による集団感染事例については、食中毒のように同時多発しない限り散発例として見逃されてしまう傾向にあり、その場合には感染予防策が講じられないために新たな健康被害が発生する可能性が高い。県内で発生した患者から分離された結核菌の分子疫学的性状を掌握しておくことにより、感染源・感染ルートの迅速な把握が可能となり、通常であれば見逃される可能性が高い集団事例を迅速に探知することが可能となるケースがでてくるものと考えられるが、これまで、県内で分離された結核菌について、分子疫学的性状は解析・記録されていなかった。本県においては、年間 180 名程度の結核新規患者が登録されており、これらの患者の約半数程度からは菌が分離されているものと推定される。

結核菌の分子疫学的性状の解析手法としては RFLP 分析法が国際標準法として確立<sup>1)</sup>しており、当センターにおいても平成 12 年から 13 年に実施した調査研究において解析技術を導入した。これまでに行政や医療機関から平成 12 年度

6 件 23 株、平成 13 年度 2 件 6 株、平成 14 年度 6 件 20 株、平成 15 年度 2 件 5 株、平成 16 年度 3 件 6 株、平成 17 年度 2 件 4 株の RFLP パターン解析依頼があり、このことは RFLP パターン解析にコンスタントな行政や医療機関からのニーズが存在することを示している。本調査研究は、県内で分離された結核菌の RFLP パターンを画像処理してデンドログラム解析をする技術を導入するとともに、画像処理した分離株の RFLP パターンを保存することにより、県内で分離された結核菌の RFLP パターンをデータベース化するための技術を確立することを目的として実施した。

## 2. 方法

### 2.1 結核分離株の収集と供試株

調査研究提案に先立ち、業務担当課である健康推進課（旧健康対策課）からあらかじめ調査研究の実施の承認を得た。県内で結核病棟を保有する医療機関のうち、これまでに当センターに RFLP 解析を依頼した経緯があり、県央、県北、県南に位置する市立秋田総合病院、大館市立総合病院、平鹿総合病院に結核菌分離株の分与を公文書により依頼した。その際、個人情報保護のために患者氏名は記載せず、任意の番号



またはアルファベットにより菌株の識別をするよう依頼した。分与された分離株は当所の菌株名簿に記載すると共に、小川培地に接種・培養して RFLP パターン解析を実施するとともに保存に供した。

なお、本調査研究には平成 12 年度から 15 年度（本事業実施以前）に当センターに送付された結核菌保存株の一部も供試した。供試株数は平成 12 年度から 15 年度分 22 株、平成 16 年度から 17 年度分 69 株、計 91 株である。

## 2.2 RFLP解析, 画像処理, デンドログラムの作成およびRFLPパターンの保存

### 2.2.1 標準株の入手

RFLP パターンの画像処理・デンドログラムの作成には標準株が必要である。国内においては *M. bovis* BCG TOKYO, *M. tuberculosis* H37RV 株などがこの目的に使用されている。一方、結核菌の RFLP 解析技術を最初に確立・普及させた National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherland が 1999 年に出版した RFLP 解析のマニュアルである Restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing of Mycobacteria においては, *M. tuberculosis* Mt14323 株が標準株として推奨されている。この株を標準株とすることにより、秋田県で得られるデータが国内だけではなく海外で得られたデータとも比較可能となることから、我々は *M. tuberculosis* Mt14323 株を標準株に使用することとし、National Institute of Public Health and the Environment から正規に輸入した。

### 2.2.2 RFLP解析

RFLP 解析の操作手順の概要を図 1 に示す。供試株を小川培地に接種し、37℃で十分な量の菌苔が発育するまで、通例、3 週間から 4 週間、培養した（図 1 ①）。得られた被検結核の菌苔から ISO Plant (WAKO) を使用して DNA を抽出した（図 1 ②）。抽出した DNA の量を紫外部吸光法により定量し、2 μg を 30 μl の反応系で *Pvu* II により 37℃で 1 時間以上消化した（図 1 ③）。制限酵素消化が終了した DNA 溶液を 0.8 % 1 DNA agarose (TAKARA BIO) を使用して 50V 定電圧で約 15 時間電気泳動した（図 1 ④）後、ナイロンメンブレンに分離された DNA を転写した（図 1 ⑤, ⑥）。あらかじめ合成しておいた IS6110 プローブを使用してハイブリダイゼーシ

ョンし（図 1 ⑦, ⑧）、化学発光法により IS6110 を含む断片を X 線フィルム上で可視化することにより（図 1 ⑨）、RFLP パターンを得た。

### 2.2.3 RFLPパターン画像のTIFFファイルへの変換

X 線フィルム上に記録された RFLP パターンの画像を可視光線で透過し、Geldoc 2000 (Bio-Rad) 画像取り込み装置を使用して TIFF ファイルに変換した。

### 2.2.4 画像解析ソフトへの取り込みと標準化, デンドログラムの作成

TIFF ファイルを Fingerprinting II Software に取り込み、腸管出血性大腸菌 O157 の解析方法に準じて各 RFLP パターンの類似度を示すデンドログラムを作成した。なお、異なる実験で得られた RFLP パターンを相互に比較するための外部標準として、実験毎に *M. tuberculosis* Mt14323 株をゲルの左右外側と中央部で泳動し、得られた RFLP パターンをレファレンスレーンとして使用した。

## 3. 結果

### 3.1 結核菌のRFLPパターン

図 2 に X フィルム上に得られた結核菌の RFLP パターンの例を示した。各 RFLP パターンは 10 本から 15 本程度のバンドから構成され、バンドの位置と数は菌株により異なっていた。図 2 の例では 13 株を同時に解析しており、81, 83, 87 番の結核菌の RFLP パターンは類似しているが、バンド位置と数には違いが認められ、同一パターンではなかった。同様に、88 と 89 番の結核菌の RFLP パターンも極めて類似しているものの同一ではなかった。このように、結核菌の RFLP パターンは極めて多彩であった。

### 3.2 RFLPパターン解析の標準化

異なる実験で得られた RFLP パターンを相互に比較するためには、それぞれの実験毎に外部標準株の解析も実施し、外部標準株の RFLP パターンを基準とする必要がある。外部標準株のバンドの位置は画像解析ソフトの標準化過程で完全に一致するように補正されるが、補正の精度向上のためにも X 線フィルム上での外部標準株の RFLP パターンのバンドの相対的な位置は、異なる実験同士で可能な限り一致していることが望ましい。このことは、RFLP パターンのデータを将来的に相互の比較が可能な状態でデータベースに蓄積していく上で重要である。この

点について検討するために、異なる時期に実施した4回の実験で X 線フィルムに出現した *M. tuberculosis* Mt14323 株の RFLP パターンを無補正の状態と比較した。その結果、図 3 に示すとおり、異なる実験で得られた外部標準株のバンドの相対的位置関係は比較的再現性良く一致することが確認された。但し、最上部のバンドは再現性がやや劣るため、補正には使用しないこととした。

### 3.3 供試91株のRFLPパターンから作成したデンドログラム

図 4 に今回供試した 91 株の結核菌の RFLP パターンから作成したデンドログラムを示した。デンドログラムは RFLP パターンの相対的な類似度を示すチャートであり、同一パターンを示した結核菌の類似度は 100 % と表示される。図 4 に示すデンドログラムで類似度が 100 % となった菌株が 9 組認められた。これらのうち、112 と 117、107 と 108、31 と 138、77 と 80、85 と 86 と 133 の組は、それぞれ同一医療機関において分離された結核菌であった。また、83 と 84、73 と 76 と 82 の組は同一患者から異なる時期に分離された結核菌であった。一方、9 と 10 の組は過去に当センターで実施した解析において、同一パターンが得られていた組であった。その他の結核菌のパターンは多彩であった。

## 4. 考 察

病原菌の分子疫学的性状を比較・解析して得られる知見は、従来の方法により実施された疫学調査の結果から推定された感染事例の本質や感染源に関する知見を裏付けるものであるとされている。このことは実際、病原性大腸菌 O157 による種々の感染事例、イカ菓子の原因とするサルモネラオラニエンブルグによる全国的な広域集団感染事例、輸入カキを原因とする赤痢菌による広域集団感染事例などの事例においてこれまでに実証されてきた。結核に関しても、近年、集団感染や院内感染事例がしばしば発生しており、その際、分離された結核菌の分子疫学的性状を比較することにより、通常の疫学調査により得られた知見が裏付けられるとされている。特に、結核の場合は感染してから発症するまでの潜伏期間が通常の腸管系細菌などと比較して極端に長いこと、疫学調査において正確な

情報を収集することが困難な場合がある。その実例が、不特定多数の人間が接触する「サウナ」などで発生した集団感染事例である。このような事例では、散発患者が何ら相互に関連無く五月雨式に発生する状況となるため、通常の疫学調査手法のみでは、それが集団感染事例であることを証明することは困難である。一方、結核による院内感染もしばしばマスコミで報道されているが、さらなる感染者の発生予防のために、あるいは補償問題を適切に処理するために、院内感染であることを客観的に証明するデータが求められる場合がある。このような場合、分離された結核菌の分子疫学的性状を比較検討することにより問題の解決に有益な知見が得られる場合が多い。

結核菌の分子疫学解析手法としては、RFLP 分析法が国際的に確立し、普及している。当センターではこの手法を既に導入し、医療機関や行政からの解析依頼に対応してきた。しかし、特に新鮮分離された結核菌と、数ヶ月から数年前に分離された結核菌の関連を調べようとする場合、過去に分離された株は状態が悪い場合が多く、解析に必要な菌苔を得るまでには相当の培養時間を要することをしばしば経験してきた。また、直近の実験により得た RFLP パターンと、過去に実施した解析で得られた RFLP パターンを比較する必要が生じた場合、異なる実験で得られた X 線フィルム上のパターンを直接比較することが不可能であったために、実験を菌の培養からあらためて実施しなければならず、結果が得られるまでに相当の時間が必要であった。このような局面においても、結核菌の RFLP 解析結果をできるだけ迅速に得ることができるようにするための試みとして、本調査研究では病原性大腸菌の DNA パターン解析に実用化されている画像処理システムを結核菌の RFLP 解析に応用し、異なる実験で得られた RFLP パターンを画像処理し、お互いに補正・標準化して相互の比較を可能とした。さらに、得られた標準化画像はコンピュータに保存され、随時比較検討することが可能となることに加えて、結核菌の RFLP パターンの類似度をデンドログラムとして表現することも可能となった。

異なる実験で得られた RFLP パターンの画像を補正・標準化できるかどうかの本調査研究で

最も重要なポイントであった。補正・標準化は外部標準として個々の解析に標準株を加え、そのパターンを基準として実施するために、ある程度の相対誤差が存在しても解析ソフトの標準化機能により補正は可能である。しかし、標準株のパターンの実験毎の誤差は可能な限り小さいことが解析精度を高くする上で重要であることはいままでのない。特に、病原性大腸菌 O157 の DNA パターン解析の場合と異なり、結核菌の RFLP パターン解析の場合にはアガロースゲルで電気泳動した DNA を一度ナイロンメンブランに転写するという実験プロセスが存在するために、そのナイロンメンブラン自体の伸縮や転写過程での圧力によるアガロースゲルの歪みなどが標準株のパターンの相対誤差を増加させる不可避な要因となる。そのため、今回の検討ではそのような歪みによる悪影響を可能な限り小さくするために、標準株を1回の泳動につきゲルの両外側端だけではなく、中央部でも泳動して同一ゲル内での歪みによる誤差も補正可能とした。異なる実験で得られた標準株の RFLP パターンの相対的な誤差は、図4に示すように予想よりも小さく、解析ソフトの標準化機能により十分に補正可能であることが確認された。その際、標準株をゲルの両端と中心で泳動することにより同一ゲル内での歪みによる誤差も、目視した限り十分に補正されることが確認された。これらのことから、本調査研究の目的であった結核菌 RFLP パターンの相互比較とデータの保存・蓄積が可能であるものと考えられた。

今回供試した 91 株の結核菌の RFLP パターンをデンドログラムから (図 4)、過去に実施した解析に再現性が認められること (9 と 10)、同一人から分離された結核菌の類似度が 100 %として表現されること (83 と 84、73 と 76 と 82) が確認された。これらのことは、本システムが適切な精度を持つことを示唆しているものと考えられるが、解析の再現性と同一株が 100 %の類似度を示す点は解析システムの精度を評価する上で重要なポイントと考えられることから、今後も標準株を用いて定期的に解析を実施する必要があるものと考えられた。なお、本法が結核菌の国際的な標準解析法に位置づけられている理由の1つはその解析力が高いことである。実際、図 4 から明らかなように、本法では極め

て多彩なパターンが得られる。

以上のように結核菌 RFLP 解析を画像解析によりシステム化する当初の目的はほぼ達成され、小規模ではあるがデータベースの骨格を構築することができた。結核菌の収集はこれまで当所に RFLP パターンの解析を依頼した医療機関を対象に実施し、これらの医療機関からは今後も RFLP パターンの解析依頼が寄せられるものと推察され、その結果を本システムに追加保存することにより将来的にデータが充実するものと考えられる。実際、平成 18 年 7 月にこれらの医療機関のひとつから 5 株の結核菌 RFLP 解析依頼があった。これらの株の解析結果は依頼先の医療機関に既に還元してあり、菌株の収集と併せて結果の還元ルートもほぼ確立したと考えられる。今回の解析では認められなかったが、異なる時期に実施した解析結果を比較した際に同一 RFLP パターンを示す複数の結核菌が認められるなど、集団感染事例の発生が示唆される結果が得られた場合には、その結核菌を提出した医療機関に迅速に情報提供する必要があるものと考えられる。

現在、細菌の分子疫学解析手法の主流はフラグメント解析であり、病原性大腸菌 O157 の DNA パターン解析や結核菌の RFLP 解析もこのフラグメント解析に該当する。しかしながら、最近、フラグメント解析の技術上の限界がしばしば指摘されるようになった。フラグメント解析手法全てに共通する問題は、解析がアナログの画像解析であるという本質に起因する、再現性の限界である。実際、O157 の DNA パターン解析においては異なる研究室で得られた画像データを相互に解析した場合の再現性がかならずしも 100 %とはならず、このことが全国ネットワークでの解析ネットワークを構築する上での大きな障害となっている。このような問題を克服するために、最近、シーケンス解析技術に立脚した分子疫学的解析技術が試行されるようになってきた。その代表的な技術が MLVA 法であり、結核菌の解析にも世界的に試行されてきている。シーケンス解析においては得られるデータが塩基配列などのデジタルデータであるために、結果の相互比較が極めて容易且つ確実に実施可能であるという、フラグメント解析にはない特徴を有する。秋田県の結核対策をより良く支援

するためには、将来的に MLVA 法などのシーケンス解析技術の導入を検討する必要があるものと推察され、このことは結核対策に資する将来の研究テーマとなり得るものと考えられる。

一方、本調査研究の実施過程において、医療機関から多剤耐性結核菌の遺伝子診断の可否について照会された。これを受けて、現在実用化されている「リファンピシン」耐性遺伝子の遺伝子診断技術を導入した。薬剤耐性結核菌に感染した場合、治療が殆ど不可能であるために患者は死の転帰をとる場合が多い。2次感染による新たな感染者の発生予防対策を適切に講じるためにも多剤耐性結核菌の遺伝子診断による迅速な診断は重要である。この技術の導入についても、医療現場からの新たなニーズと捉えられることから、結核予防対策に資する将来の新たな研究テーマとなるものと考えられる。

供試結核菌 91 株を使用して小規模ではあるが結核菌 RFLP パターン画像データベースの骨格を構築し得たことから、本調査研究の当初目標はほぼ達成されたものと考えられた。今後も医療機関等から依頼された解析の結果を追加することにより、将来的にデータベースが充実するものと考えられ、結核予防対策に係る行政ニーズ、および医療機関からのニーズに対して、よ

り適切に支援を可能となるものと考えられた。

## 5. まとめ

- ・結核菌 RFLP 解析を画像解析によりシステム化することに成功し、小規模ではあるがデータベースの骨格を構築することができた。
- ・菌株の収集と併せて結果の還元ルートもほぼ確立した。
- ・当初の目標はほぼ達成されたものと考えられ、今後も医療機関等から依頼された解析の結果を本システムに追加保存することにより、将来的にデータが充実するものと考えられる。
- ・シーケンス解析に立脚した結核菌の分子疫学解析手法の導入と確立、並びに多剤耐性結核菌の遺伝子診断による迅速診断技術の導入と確立が結核予防対策に資する将来の新たな研究テーマとなるものと考えられた。

## 6. 文献

- 1) Soelingen, D., de Haas, P.E.D., and Kremer, K. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing of mycobacteria. National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherland. Version September 1999

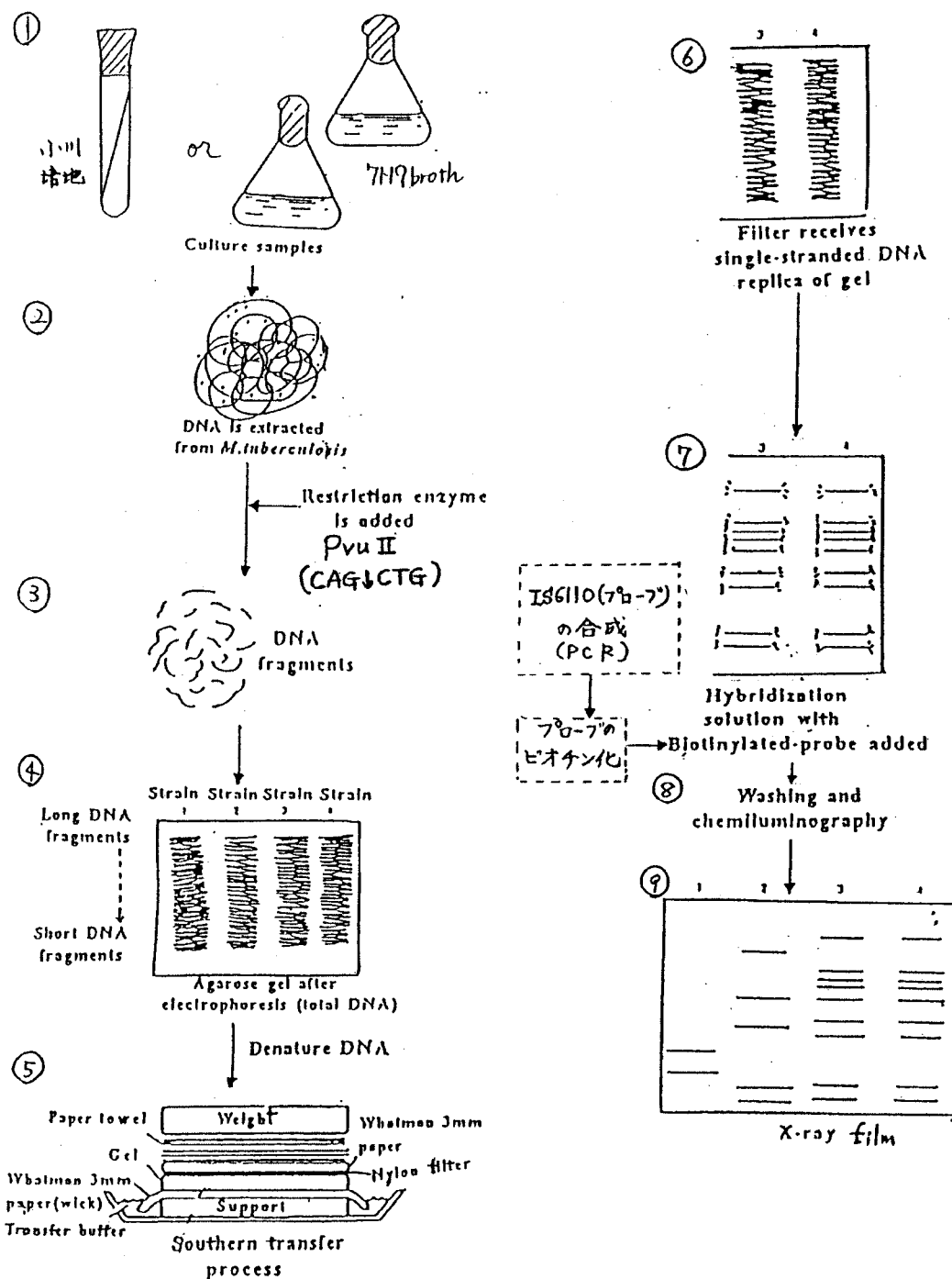


図1 結核菌 RFLP 解析の操作手順

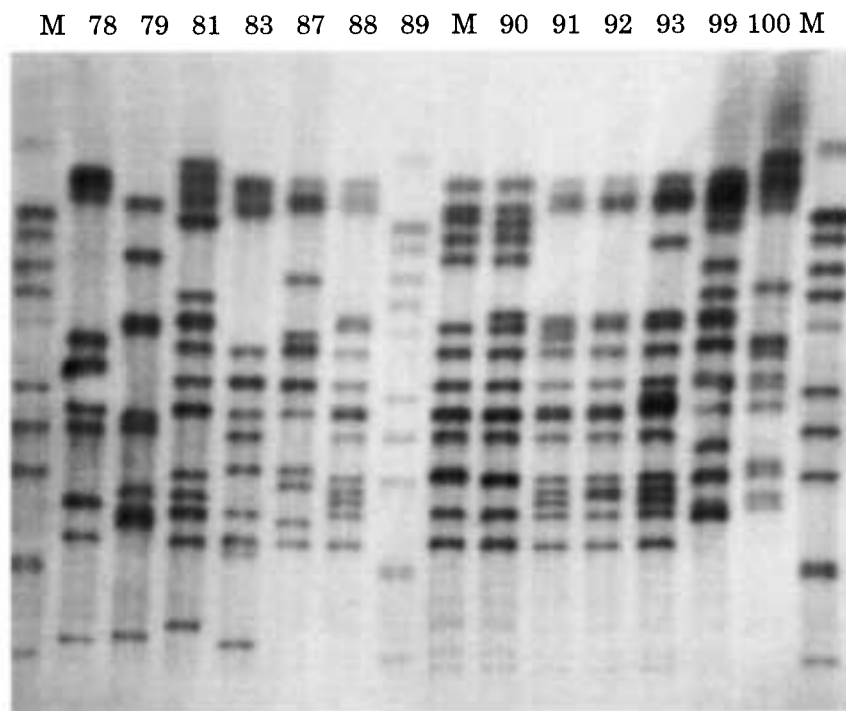


図2 結核菌の RFLP パターンの例

M : *M. tuberculosis* Mt14323株

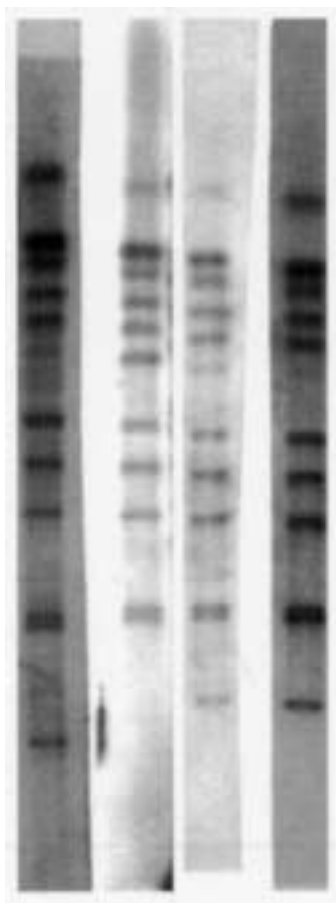


図3 異なる4回の実験で得られた *M. tuberculosis* Mt14323 株 (外部標準) の RFLP パターン

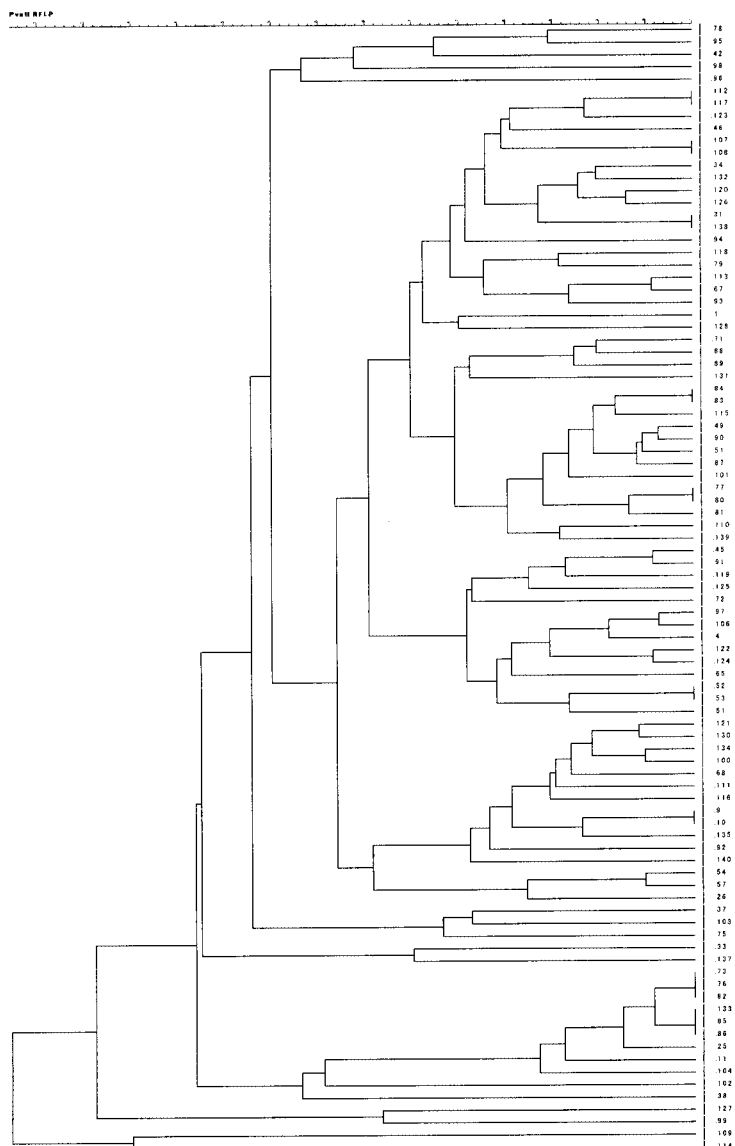


図4 供試した結核菌 91 株の RFLP パターンから作成したデンドログラム

## 平成17年度新生児マススクリーニング発見患児について

安部 真理子 山脇 徳美 柴田 ちひろ  
高橋 勉\* 高橋 郁子\* 松森 美香\* 野口 篤子\*

平成17年度の新生児マススクリーニング受付数は8,598件であった。

そのうち、精密検査を依頼した件数は12件であり、患児と診断されたのはクレチン症5名、副腎皮質過形成症の中の21-水酸化酵素欠損症1名の計6名であった。秋田大学医学部附属病院（以下大学病院とする）でマススクリーニング対象疾患以外の疾患（サイトメガロウイルス肝炎、プロピオン酸血症、門脈大循環シャント）が発見された。

### 1. はじめに

新生児マススクリーニング事業は先天性代謝異常症等の病気を早期発見、早期治療することで、障害の発生を予防して健全育成されることを目的として昭和52年10月から全国的に開始された。秋田県においては翌年の昭和53年1月から5疾患（フェニールケトン尿症、メイプルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症、ヒスチジン血症）を対象とした事業が開始された。その後検査項目の変更、追加があり検査の一部を大学病院に委託していたが、平成16年8月からはフェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、クレチン症、副腎皮質過形成症の6疾患についてすべて当所で検査を実施している。検査結果は週1回の割合で郵送で各医療機関に通知している。再検査依頼の通知は項目別に設定されたカットオフ値を基準に依頼している。なお、初回、再検査で異常値を示した場合は早急に関連医療機関と連絡をとりながら、速やかに精密検査を受けるよう文書等で通知している。平成11年にはこの事業の円滑な推進と早期発見・早期治療をはかるために「秋田県先天代謝異常症等検査・神経芽細胞腫検査対策協議会」が発足した。構成メンバーは秋田大学医学部教授を始めとして、福祉保健部、医師会、産婦人科医、小児科医、保健所長、当衛生科学研究所長（現健康環境センター所長）である。平成15年には神経芽細胞腫検査が休止となったために名称を「秋田県健康づくり審議会母子保健分科会 先天性代謝異常等検査対策部会」と変更した。この会議では精密検査を受

けた新生児の追跡調査を実施しており、その後の検査、治療経過等を追跡している。

今回は平成17年度の新生児マススクリーニング検査状況を報告するとともに、精密検査結果において患児となった事例や新生児マススクリーニング対象疾患以外の疾患について精密医療機関である大学病院において発見された事例などを紹介する。

### 2. 材料及び方法

#### 2.1 検査材料

生後5日～7日目の新生児のかかとかから採取した血液をろ紙にしみこませ、風乾させたる紙血を検査材料とした。

#### 2.2 検査項目

フェニールアラニン(フェニールケトン尿症)  
メチオニン (ホモシスチン尿症)  
ロイシン (メイプルシロップ尿症)  
ガラクトース (ガラクトース血症)  
TSH: 甲状腺刺激ホルモン (クレチン症)  
17-OHP: 17-ヒドロオキシプロゲステロン  
(副腎皮質過形成症)

#### 2.2 検査方法

各医療機関から郵送されたる紙血を自動パンチャーで3mmデスクの大きさに切り抜き以下の方法により実施した。

フェニールアラニン: BIA法 (細菌成長阻止法)  
メチオニン: BIA法 (細菌成長阻止法)

\*秋田大学医学部付属病院小児科



ロイシン : B I A 法 (細菌成長阻止法)  
 ガラクトース : ペイゲン法, ボイトラ一法  
 甲状腺刺激ホルモン (以下 T S H)  
 : E L I S A 法  
 17- $\alpha$ -OH-P : E L I S A 法 (直接法・抽出法)

### 3. 結 果

平成 17 年度の検査受付数は 8,598 件であった。病院別に初回検査受付数を図 1 に示した。受付数で一番多かったのが秋田赤十字病院で 950 件であった。続いて、秋田組合総合病院、由利組合総合病院が同数の 474 件、大館市立扇田病院 458 件、山本組合総合病院 433 件、仙北組合総合病院 417 件の順であった。また、初回検査でカット値以上になって再検査を依頼した件数は 178 件 (2.1%) であった。図 2 に医療機関別再検査率を示した。再検査率が 4% 以上を示した医療機関は 4 医療機関であった。検査項目別の再検査依頼数を表 1 に示した。フェニルアラニン: 2 件, メチオニン: 4 件, ロイシン: 2 件, ガラクトース: 8 件, TSH: 119 件, 17-OHP: 43 件であった。TSH の再検査数が全体の 6 割以上を占めていた。再検査率の高い上記 4 医療機関について項目別に再検査数をみると TSH の項目が 9 割以上占めていた。初回及び再検査後に精密検査依頼をした件数は 12 件あった。精密検査を依頼をした医療機関からの検査結果はすべての機関から回答があった。精密検査依頼をした 12 件の内訳を表 2 に示した。男女比は 5:7 でやや女子が多かった。出生体重児をみると 564 g, 728 g, 804 g の超低出生体重児 (1000g 未満) から 3,664 g の標準体重児までであった。在胎週数別にみると 22 週から 41 週と週数にばらつきがあった。精密検査項目をみると、メチオニン: 1 件, TSH: 8 件, 17-OHP: 3 件であった。精密検査依頼書を受け取ってから受診するまでの日数をみると、1ヶ月過ぎてから受診した例もあるが、比較的対応が早く精密検査依頼書用紙が届く前に (電話で早めに連絡したため) 受診した事例を含めて、遅くとも 1 週間以内には受診をしていた。表 3 には精密検査後に正常となった 3 事

例、表 4 には、経過観察となった 3 事例、表 5 にはクレチン症と診断された 5 事例の詳細を示した。それによると正常になった 3 事例の内訳をみると 2 事例は極低出生体重児 (1500g 未満) と超低出生体重児であった。また、経過観察となった 3 事例のうち 2 事例についても超低出生体重児であった。クレチン症と診断された 5 事例についてみると 5 事例ともに在胎週数の少ない事例 (25 週) はあったが、体重は標準であった。特に No.3 については TSH の初回値が 200.15  $\mu$  IU/ml (カット値 9.0  $\mu$  IU/ml) と非常に高い値を示し、初回検査で精密検査依頼をした事例である。No.1,5,10 の 3 事例については再検査後に精密検査依頼をしている。No.11 については再々検査後に精密検査の依頼をしている。いずれの事例も早期に診断され治療を開始した。

表 6 は副腎皮質過形成症の中の 21-水酸化酵素欠損症の事例について示した。患児は当所における検査では 17-OHP の直接法の値は 168.46ng/ml (カットオフ値 3.5 ng/ml) と非常に高い値を示した。そのため、二次検査の抽出法の検査結果を待たないで、電話で出産医療機関に連絡した (二次検査は翌日実施した。80.98ng/ml)。当患児は体重の増加があまり芳しくないためミルクを追加するよう指導を受けていたが、当所からの電話を受けて近くの総合病院を受診した。この時点で電解質の異常を認めてステロイド注射の点滴を受けたが、精査加療のため大学病院に転院した。入院時の身体所見は表 6 のとおりである。遺伝子解析等の検査により副腎皮質過形成症のなかでもっとも頻度の高い 21 水酸化酵素欠損症であることが判明した。上記患児は適切な治療の成果で 1ヶ月健診時にはほぼ安定した検査成績が得られた。早めの対応により早期に適切な治療ができた例である。

次に大学病院で新生児マススクリーニング対象疾患以外の疾患が発見された事例を表 7, 8, 9 に示した。表 7 の事例は新生児マススクリーニングの初回検査でメチオニンが高値を示し、再検査をした新生児であった。再検査結果は正常範囲であったが、1ヶ月健診後に家族が皮膚の色の変化を訴えてかかりつけの医院を受診した。その結果、肝機能検査が異常高値のため大学病院に入院し、検査の結果、サイトメガロウ

イルス肝炎と診断された事例である。表8に示した事例は新生児マススクリーニング検査でガラクトースが高値で、後に門脈大循環シャントが見つかった事例である。初回検査でガラクトースが10mg/dl以上を示したため大学病院で精査し、治療していたが、13歳になってから、門脈大循環シャントと確認された事例である。表9に示した事例は、当所で検査している先天性代謝異常症等6疾患についてはすべて正常範囲であったが、生後1歳過ぎてから発達遅延等で大学病院を受診、精密検査の結果、先天性有機酸血症であるプロピオン酸血症と診断された事例である。当所で保管していた患児の新生児ろ紙血について大学病院を経由してS大学にて検査した結果、このろ紙血から当疾患の原因であるプロピオニルカルニチンが高値であったことが確認された。

#### 4. 考 察

年々少子化が危惧されている中、秋田県においても出生数の減少傾向が顕著である。また、昨今は産婦人科医、小児科医の不足により里帰り出産も困難な状況が、出生数の減少にさらに拍車をかけている。新生児マススクリーニング検査の県内医療機関からの検査受付数をみると、秋田赤十字病院が他の医療機関と比較して群を抜いて多い要因のひとつに低出生体重児（2000g以下）の受け入れ体制や設備、環境等が整っていること等が考えられる。

平成17年度の新生児マススクリーニング検査受付数8,598件のうち再検査となった件数（178件）は受付件数の2.1%であった。過去6年間と比較して再検査率は低くなったものの<sup>1)</sup>TSHに占める再検査率は依然として高い。低出生体重児の場合は標準体重児と比較して生理機能が未熟であるため検査値に影響が出やすい傾向にある。今回精密検査依頼をした12件中、正常、経過観察となった6件のうち4件が極低出生体重児、超低出生体重児であった。また、TSH値が母胎や新生児に使用されたヨード剤の影響も考えられる。柴田らの報告によると使用した部位や回数、濃度によってTSHの値に影響が出やすいことが報告されている<sup>2)</sup>。当所において実施したヨード剤の使用状況アンケート結果では他県と比較してまだ、多くの医療機関

においてヨード剤が使用されている状況が明らかになった。今回再検査率の高かった4医療機関ではヨード剤の使用が確認されている。ヨード剤は感染等の予防には効果のある消毒剤であるため、すぐにアルコール等への切り替えは難しいと思われる。クレチン症患児事例No.11については初回検査値が15.82  $\mu$  IU/mlとやや高い値であったにも関わらず再々検査の後に精密検査依頼をした理由は該当医療機関における再検査率が日常的に他の医療機関と比較して高い傾向にあったため、ヨード剤使用による擬陽性の疑いから精密検査依頼が他の4事例より遅れてしまった。このことからヨード剤使用の是非による検査成績の解釈が結果的に検査精度にまで影響しかねないという問題が生じる。やむを得ず使用する場合でも、適切なヨード剤の濃度、回数、使用部位等きめこまかな啓発が必要と思われた。

次に副腎皮質過形成症のなかで最も頻度が高い21水酸化酵素欠損症と診断されたNo.8は表2で示したとおりで体重、在胎週数ともに標準であった。この疾患は図3に示したように矢印の過程がブロックされるために生じる病気である。表10に主な症状を示した。時にショック症状をとまなうこともあり早期発見が特に必要とされる疾患である<sup>3)</sup>。当事例の患児は生後特に目立った変化はなかったというものの、ほとんど静かに寝ていることやミルクの哺乳量が少なく体重増加が芳しくなかった。しかし、この症状が、当疾患を疑うひとつの症状でもあり、スクリーニング検査での電話連絡が遅ければ治療等に影響を及ぼしたかもしれない事例であったと考えられる。

サイトメガロウイルス肝炎、門脈大循環シャント、プロピオン酸血症の事例については大学病院において検査、診察、治療された事例であるが、新生児マススクリーニング検査との関わりがあったために紹介した。

メチオニン値が高くなる疾患としてはホモシスチン尿症が代表的疾患として知られている。サイトメガロウイルス肝炎と診断された患児は新生児マススクリーニング検査において初回検査でメチオニン値が軽度ながら高かったために再検査をしていた。再検査結果が正常範囲であったためにその後のフォローはしていなかった。

しかし1ヶ月健診前後に家族の指摘により黄疸等の訴えから大学病院を受診し、検査の結果サイトメガロウイルス肝炎と診断された事例である。メチオニンが高値になる他の疾患に乳児肝炎等もあげられるため<sup>3)</sup>、新生児マススクリーニング検査初回で異常値を示した場合は対象疾患以外の他の疾患等の予兆も考えられるため定期的に健診等をしてフォローする必要があると考えられた。

門脈大循環シャント事例は高ガラクトース血症の中でも最も頻度の高い症例の一つである<sup>4)</sup>。今回の事例は新生児においてすでにガラクトースが高値であり、精密医療機関において治療がされていたが13才まで発見されなかった事例である。ガラクトースは乳糖分解酵素で、通常は腸管から吸収されたのちに門脈に入り、肝臓に到達する。肝臓内の門脈に入ったガラクトースは肝細胞でほとんど吸収される。今回の門脈大循環シャントがあるとガラクトースは肝臓で処理されず、大循環にそのまま入るためガラクトースが高値となる。

有機酸代謝異常症であるプロピオン酸血症は現在のマススクリーニング6疾患には入っていない疾患であるが、飢餓、酸血症、嘔吐などを繰り返し発達遅延となる病気であり、早期発見することで発症が抑えられる疾患である。表11に有機酸血症の発症時期を示した。山口の調査<sup>5)</sup>によると、新生児から乳児における発症が83%で、幼児(1~6歳)で11%、学童以降6%であった。また、これと並行して特殊ミルク情報の統計によればプロピオン酸血症例45例中20例が死亡したとの報告<sup>6)</sup>がありその年齢別内訳は表12に示したとおり、1歳以下で2例、1~5歳で10例、6~10歳で5例、10歳以上3例で、発症時期が遅いほど予後が良い傾向がみられ、新生児マススクリーニングによる早期発見、早期治療の効果が期待される疾患である。この疾患を発見するための検査機器としてタンデムマス分析計がある。この機器は当事例疾患である有機酸代謝異常症だけでなく、アミノ酸異常症、脂肪酸化異常症など多岐にわたって検出が可能である。ただ、高額機器であるため出産数の少ない自治体で整備をするにはコスト高になる傾向があり、疾患頻度、費用対効果、社会的認知が乏しい等の課題も残されてい

る<sup>7)</sup>。

新生児マススクリーニング検査において早期発見された患児は精密医療機関にて早期治療が開始されることで障害を予防し、社会的参加が可能になっている。当所では県、医師会、大学、保健所等の連携により患児が成人になるまでの期間において追跡調査を実施し受診状況や治療経過、その後の検査値などを把握して検査精度の向上をめざしている。また、再検査して正常となった新生児においては今回の事例のように対象疾患以外の疾患が後に発見されていることから、再検査依頼をした新生児については正常範囲になったとしても何らかの障害が隠されているかもしれないということを常に考えておく必要があると考えられた。

## 5. まとめ

1. 平成17年度の新生児マススクリーニング検査受付数は8,598件であり秋田赤十字病院の受付数が他の病院より多かった。
2. 新生児マススクリーニング検査で精密検査を依頼した件数は12件であった。
3. 精密検査依頼した新生児のうち極低出生体重児が1件、超低出生体重児が3件あった。
4. 精密検査の結果クレチン症5名、副腎皮質過形成症の中の21-水酸化酵素欠損症1名の患児が発見された。
5. 新生児マススクリーニング対象疾患以外であるサイトメガロウイルス肝炎、門脈大循環シャント、プロピオン酸血症が大学病院で発見された。

## 参考文献

- 1) 先天性代謝異常等検査実施状況,秋田県健康福祉部健康対策課,健康対策課業務概要,平成17年10月,99-100
- 2) 柴田ちひろ他,秋田県内の産科医療機関におけるヨード剤含有消毒剤の使用実態とクレチン症再採血率の関連,日本マススクリーニング学会誌,2006,第16巻,1号,91-95
- 3) 勝又 規行,先天性副腎皮質過形成症の診断と治療,小児内科,2001,Vol,33,No.12,1693-1696

- 4) 梅津 征夫, サイトメガロウイルスと母児感染症, 小児内科, 1995, 第27巻, 第10号, 37-40
- 5) 佐倉 伸夫他, 門脈大循環シャントとガラクトース血症, 小児内科, 2004, Vol.36, No.12, 1899-1905
- 6) 山口 清次, 有機酸代謝異常スクリーニング—その方法と意義, 小児内科, 2004, Vol.36, No.12, 1943-1947
- 7) 青木 菊磨, 特殊ミルク使用から追跡調査されている有機酸血症及び脂肪酸酸化酵素異常症, 特殊ミルク情報, 2006, 第41号, No.41, 45-48

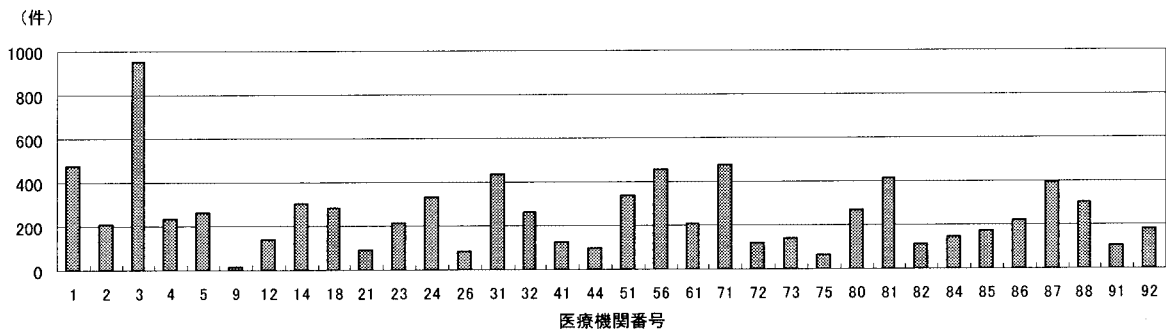


図1 医療機関別初回検査受付数

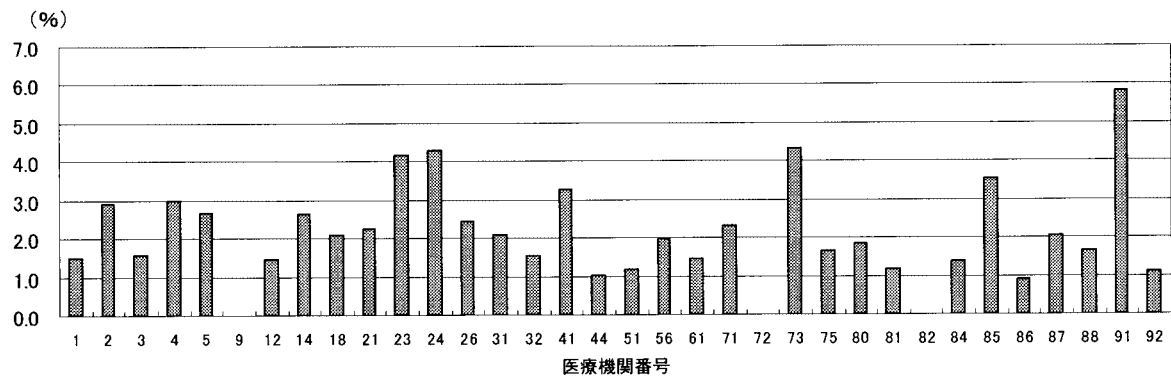


図2 医療機関別再検査率

表1 検査項目別再検査依頼数

検査項目	フェニールアラニン	メチオニン	ロイシン	ガラクトース	TSH	17-OHP	合計
再検査数	2	4	2	8	119	43	178
%	1.1	2.3	1.1	4.5	66.9	24.1	100

表2 精密検査依頼内訳一覧表

No	性別	出生体重	在胎週数	精査項目	検査値	出生月日	精密検査依頼月日	精密医療機関受診月日	出生医療機関名	精密医療機関名	精密検査結果
1	女	2624	39	TSH	14.17	H17.4.*	H17.5.10	H17.6.23	Y医院	由利組合総合病院	クレチン症
2	女	564	22	17-OHP	53.69	H17.4.*	H17.5.18	H17.5.18	N病院	秋田赤十字病院	経過観察
3	女	2506	38	TSH	200.15	H17.4.*	H17.5.26	H17.5.27	O病院	大館市立総合病院	クレチン症
4	男	728	30	Met	2	H17.5.*	H17.7.29	H17.7.29	A病院	秋田大学付属病院	正常
5	女	2752	39	TSH	11.02	H17.10.*	H17.11.17	H17.11.21	Iクリニック	平鹿総合病院	クレチン症
6	女	3100	39	17-OHP	6.73	H17.11.*	H17.12.6	H17.12.26	Fクリニック	秋田赤十字病院	正常
7	女	1336	29	TSH	11.32	H17.11.*	H18.1.14	H18.1.17	N病院	秋田赤十字病院	正常
8	男	3664	41	17-OHP	80.98	H18.1.*	H18.1.20	H18.1.20	Oクリニック	秋田大学付属病院	副腎過形成症
9	男	2940	40	TSH	8.99	H17.11.*	H18.3.17	H18.3.13	S病院	市立秋田総合病院	経過観察
10	男	2540	38	TSH	10.98	H18.3.*	H18.3.16	H18.3.23	Fクリニック	秋田大学付属病院	クレチン症
11	女	2982	25	TSH	12.69	H18.3.*	H18.4.12	H18.4.19	Hクリニック	秋田大学付属病院	クレチン症
12	男	804	38	TSH	8.71	H18.1.*	H18.4.11	H18.4.27	N病院	秋田赤十字病院	経過観察

## 検査項目別カットオフ値

メチオニン： 4mg/ml    TSH： 9μIU/ml    17-OHP： 3.5ng/ml

表3 精密検査後正常児事例

<p>No.4：正常</p> <p>30週 728 g の超低出生体重児</p> <p>17-OHP 初回値：11.91ng/ml</p> <p>17-OHP 再検査値：7.66ng/ml</p> <p>メチオニン：2mg/dl</p> <p>17-OHP とメチオニンの精密検査依頼</p> <p>医療機関にて検査値すべて正常と連絡受ける</p>
<p>No.6：正常</p> <p>39週 3100 g</p> <p>TSH：初回値：10.99IU/ml</p> <p>17-OHP 再検査値：6.73ng/ml</p> <p>初回でTSH、再検査で17-OHPの精密検査</p> <p>医療機関にてTSH正常値</p> <p>17-OHPは経過観察</p>
<p>No.7：正常</p> <p>29週 1331 g の極低出生体重児</p> <p>低体重のため再検査依頼：正常範囲</p> <p>再検査値：TSH値値：11.32 μ IU/ml</p> <p>精密検査</p> <p>医療機関にて検査：2.212 μ IU/ml</p> <p>FT4, FT3：正常値</p>

表4 精密検査後経過観察児事例

<p>No.2：経過観察</p> <p>22週 564 g で生まれた超低出生体重児</p> <p>17-OHP 値：初回：53.69ng/ml</p> <p>即精密検査</p> <p>超低出生体重児のため出産病院にて入院</p> <p>定期的に検査</p> <p>2回目：15.2ng/ml</p> <p>3回目：5.5ng/ml</p>
<p>No.9：経過観察</p> <p>40週 2940 g</p> <p>TSH 初回値：14.49 μ IU/ml</p> <p>再検査値：8.99 μ IU/ml</p> <p>精密検査</p> <p>医療機関にて検査：7.985 μ IU/ml</p> <p>FT4,FT3：正常値</p>
<p>No.12：経過観察</p> <p>38週 804 g で生まれた超低出生体重児</p> <p>超低出生体重児のため再検査依頼：正常範囲</p> <p>再検査値：TSH：8.71 μ IU/ml</p> <p>精密検査</p> <p>医療機関にて検査：4.069 μ IU/ml(正常値)</p> <p>FT4,FT3：正常値</p>

**表5 精密検査後クレチン症患児事例**

<p>No.1 クレチン症 39週 2624 g TSH：初回検査値：11.85 <math>\mu</math> IU/ml TSH：再検査値：14.07 <math>\mu</math> IU/ml →精密検査依頼 精密医療機関において精密検査の結果クレチン症と診断のため治療</p>
<p>No.3 クレチン症 38週 2506 g TSH：初回検査値：200.15 <math>\mu</math> IU/ml →精密検査依頼 精密医療機関において精密検査の結果クレチン症と診断のため治療</p>
<p>No.5 クレチン症 39週 2752 g TSH：初回検査値：13.38 <math>\mu</math> IU/ml TSH：再検査値：11.02 <math>\mu</math> IU/ml →精密検査依頼 精密医療機関において精密検査の結果クレチン症と診断のため治療</p>
<p>No.10 クレチン症 38週 2540 g TSH：初回検査値：13.05 <math>\mu</math> IU/ml TSH：再検査値：10.98 <math>\mu</math> IU/ml →精密検査依頼 精密医療機関において精密検査の結果クレチン症と診断のため治療</p>
<p>※ No.11 クレチン症 25週 2982 g TSH：初回検査値：15.82 <math>\mu</math> IU/ml TSH：再検査値：10.35 <math>\mu</math> IU/ml TSH：再々検査値：12.69 <math>\mu</math> IU/ml →精密検査依頼 精密医療機関において精密検査の結果クレチン症と診断のため治療</p>

**表6 21-水酸化酵素欠損症事例（副腎皮質過形成症）**

<p>新生児マススクリーニング検査；17-OHP 直接法；168.46ng/dl(カットオフ値 3.5ng/ml) 抽出法；80.98ng/dl 身体所見 啼泣激しい 皮膚色黄染 外陰部・腋窩に色素沈着 陰茎肥大 精巣両側触知 検査成績（大学病院での検査成績抜粋） 血液学的検査；HCO<sub>3</sub>:21.6,Na:128,K:6.9,Cl:88 Ca:13.2 内分泌学的検査；ACTH:265pg/ml,コルチゾール 3.5 <math>\mu</math> g/dl,17OHP:190ng/dl レニン活性:210ng/ml/h 副腎エコー：腫大 23mm</p>
--

**表7 サイトメガロウイルス肝炎事例**

<p>主訴；黄疸 新生児マススクリーニング検査でメチオニン 1 mg/dl(カットオフ値 1mg/dl) 再検査後のメチオニン値；正常範囲 1ヶ月健診時は黄疸等の指摘はなし 家族が皮膚の色を指摘して近医を受診；肝機能検査異常にて精密検査のため大学病院にて紹介入院 検査所見；WBC:7700 AST:396 ALT:531 LDH:428 ALP:1999</p>
--

**表8 門脈大循環シャント事例**

<p>新生児マススクリーニング検査において ガラクトース 10mg/dl (由利組合総合病院にて検査) 治療開始 13歳にて上記シャント確認 門脈-大循環シャントとは肝臓への輸送経路の異常で一過性にガラクトース血症となることがある。 腸管から吸収されたガラクトースは門脈を経て90%以上は肝細胞に取り込まれ、処理される。 門脈-大循環シャントがあるとガラクトースはシャント血管を通じて大循環-心臓へ運ばれ、門脈から肝臓への取り込みは回避される。そのためガラクトースは肝臓での代謝をすぐに受けられないため、血中ガラクトース1-リン酸より血中ガラクトース値が高値となる。</p>
---

**表9 プロピオン酸血症 (Propionic acidemia)**  
(有機酸代謝異常症)

5歳児：新生児マススクリーニング検査  
6疾患について異常なし  
飢餓→酸血症→嘔吐（自家中毒用発作）  
→脳障害

主訴：発達遅延、高グリシン血症  
新生児期に発症すると  
哺乳不良、嘔吐、傾眠、筋緊張低下

新生児期以降  
蛋白過剰、飢餓、発達遅延

[治療] 飢餓を避ける  
低蛋白食  
カルニチン補充

タンデム質量分析計  
(タンデムマス分析)  
アミノ酸に占めるアシルカルニチン比を測定  
C0; free carnitine  
C2-carnitine; acetyl-carnitine  
C3-carnitine; propionyl-carnitine  
C4-carnitine; butyryl-carnitine  
isobutyryl-carnitine  
.....  
C18-carunitine; stearyl-carnitine

● C3-carnitine の上昇あり

**表10 21-水酸化酵素欠損症の主たる症状**

①コルチゾール・アルドステロン欠乏症状（副腎不全症状）  
哺乳不良・体重増加不良・嘔吐下痢・脱水・  
電解質異常（低ナトリウム血症・高カリウム血症）

②副腎性アンドロゲン過剰症状  
外性器の男性化  
陰核肥大・陰唇癒合・陰茎肥大

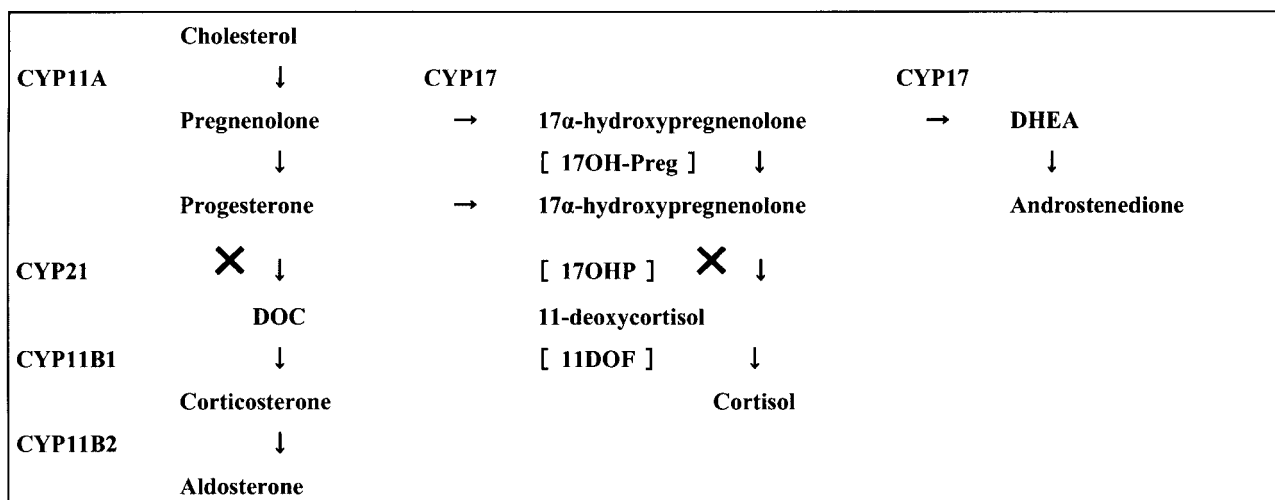
③ACTH 分泌過剰症状  
皮膚の色素沈着・副腎肥大

**表11 有機酸血症発症時期**

新生児（～1ヶ月）・・・51%  
乳児（1～12ヶ月）・・・32%  
幼児（1～6歳）・・・11%  
学童以降（6歳～）・・・6%

**表12 プロピオン酸血症20例の死亡時期**

1歳以下・・・2例（10%）  
1～5歳・・・10例（50%）  
6～10歳・・・5例（25%）  
10歳以上・・・3例（15%）



**図3 21-水酸化酵素欠損症**

# 薬剤耐性腸管出血性大腸菌の侵淫実態と多剤耐性腸管出血性大腸菌O103の性状について

今野貴之 八柳 潤 齊藤志保子

秋田県においては1996年以降、毎年30件前後の腸管出血性大腸菌感染事例が報告されている。しかしながら、分離株の薬剤耐性に係る知見はほとんど得られていない。本研究では、これまで秋田県で分離された腸管出血性大腸菌株のうち特に分離頻度の高い血清型 O157, O26 及び O103 の計 184 株に対して、代表的な 12 種類の抗生物質について、KB ディスク法にて薬剤耐性を調査した。その結果、O157 では 21.1%、O26 では 35%、O103 では 30%が何らかの薬剤に耐性を示すことが明らかとなった。また、供試菌株のうち、2004 年に分離された腸管出血性大腸菌 O103(EC8960)は、基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する多剤耐性菌であることが確認された。

## 1 はじめに

腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *E.coli*:EHEC) による感染症は、1990 年の埼玉県の幼稚園での集団感染事例、1996 年の大阪府堺市での学校給食を原因とした大規模な集団感染事例を契機にその健康被害の重要性が認識されて以来、全国各地で集団、散発感染事例が数多く報告され、その発生は現在まで続いている。EHEC は、ベロ毒素 (Verotoxin:VT) を産生する大腸菌であり、汚染された食物などを経口摂取することによって感染する。数百個の少ない菌数でも感染が成立することから、ヒトからヒトへの二次感染も問題となる。その症状は、無症候性から軽度の下痢、激しい腹痛、頻回の水様便、さらに、著しい血便とともに重篤な合併症を起し死に至る場合もある。多くの場合、3～5日の潜伏期において、激しい腹痛をとまなう頻回の水様便の後に、血便となり、有症者の6～7%において、下痢などの初発症状発現の数日から2週間以内に、溶血性尿毒症症候群、または脳症などの重症な合併症が発症する<sup>1)</sup>。細菌感染症においては抗生物質による治療が基本であり、EHEC 感染症においても旧厚生省が抗生物質による治療指針を提示している<sup>2)</sup>。しかし、最近では薬剤耐性 EHEC の出現が報告され始め<sup>3)</sup>、その治療指針において EHEC 感染症の治療に推奨され、実際の治療にも汎用されているホスホマイシンに耐性を示す EHEC の報告も国内で散見されるようになってきた<sup>4) 5)</sup>。しかしながら、その全体像に関しては不明であり、

秋田県においても1996年以降、毎年30件前後の感染事例が報告されているが、分離株の薬剤耐性に係る知見はほとんど得られていない。薬剤耐性菌を原因とする感染症の治療は困難を伴う場合が多く、その健康被害は多大で社会問題ともなっている。このようなことから、薬剤耐性 EHEC の出現は公衆衛生上重視すべき深刻な問題であり、その侵淫実態及びその耐性化機構の解明が必要である。このようなことから、本研究ではこれまで秋田県で分離された腸管出血性大腸菌株のうち、特に分離頻度の高い血清型 O157, O26 及び O103 の計 184 株に対して薬剤耐性の有無を調査した。また、供試菌株のうち、2004 年に分離された EHEC O103 (EC8960) は、アンピシリン、セファロチン、セフォチアム、セフトキシム、セフェピム、カナマイシン、ストレプトマイシンに耐性を示す、多剤耐性 EHEC であることが確認されたことから、その耐性化機構と耐性の伝達性について調査したので報告する。

## 2 方法

### 2.1 供試菌株

1996 年から 2004 年までに秋田県において分離された EHEC 菌株のうち、特に分離頻度の高い O157 (114 株)、O26 (60 株)、O103 (10 株) を対象とした。

### 2.2 薬剤感受性試験

アンピシリン、セファロチン、セフォチアム、



セフトジジム, セフトキシム, セフェピム, カナマイシン, ストレプトマイシン, テトラサイクリン, ノルフロキサシン, ホスホマイシン及びクロラムフェニコールの12種類のセンシ・ディスク (Becton-Dickinson) を用いて, Kirby-Bauer 法により行った。

### 2.3 最小生育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) 測定

アンピシリン, セフトジジム, クラブラン酸加セフトジジム, セフトキシム, クラブラン酸加セフトキシム, カナマイシンに対する MIC を E-test (アスカ純薬) を用いて測定した。

### 2.4 薬剤耐性遺伝子の特定

$\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子 TEM<sup>6)</sup>, SHV<sup>7)</sup>, CTX-M<sup>8)</sup> に特異的なプライマーを用いて, PCR 法にて薬剤耐性遺伝子を検出した。PCR 法は 94℃ 5分, 94℃ 30秒-55℃ 30秒-72℃ 30秒を 25 サイクル, 72℃ 2分の反応条件で行った。増幅断片は pGEM®-T Vector System I (Promega) を用いて TA クローニングし, BigDye (version 3.1) Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) にて反応後, 310 DNA sequencer (Applied Biosystems) を用いて DNA 配列を決定した。また, 薬剤耐性の伝播に関係するインテグロン (*intl*) 及び *ISEcp1* トランスポゼース (*tnpA*) をそれぞれの遺伝子に特異的なプライマーを用いて, PCR 法にて検出した<sup>9)</sup>。

### 2.5 プラスミドプロファイル

EC8960 の持つプラスミドは Kado&Liu 変法によって精製した<sup>10)</sup>。その後, 0.7%アガロースゲルで電気泳動し, エチジウムブロマイドで染色した。

次に, サザン・ブロット法により  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の位置を特定した。プローブには, Gene Images AlkPhos Direct Labelling and Detection System (Amersham Biosciences) にてラベルした CTX-M の PCR 増幅断片を用いた。

### 2.6 プラスミドの接合伝達

プラスミドの接合伝達は液体培養法により行った<sup>10)</sup>。レシピエントとして *E.coli* CSH-2 (ナリジク酸耐性), ドナーとして EC8960 を LB 培地にて 37℃ で一夜培養後, 9:1 の割合で混合し

37℃ で 1 時間培養した。その後, ナリジク酸セフトキシム加 LB 寒天培地に塗抹し, 薬剤耐性の伝達性を確認した。

## 3 結果と考察

### 3.1 秋田県における薬剤耐性EHECの侵淫実態

O157 では 114 株中 24 株, O26 では 60 株中 21 株, O103 では 10 株中 3 株が何らかの薬剤に耐性を示し, その割合はそれぞれ 21.1%, 35.0%, 30.0%であった (表 1)。また, O157 ではテトラサイクリンの単剤耐性が最も多く, O26 ではアンピシリンとストレプトマイシンの 2 剤耐性が多かった。O26 ではアンピシリン, カナマイシン, ストレプトマイシン, テトラサイクリンの 4 剤耐性が 2 株, O103 ではアンピシリン, カナマイシン, ストレプトマイシン, テトラサイクリンの 4 剤耐性とアンピシリン, カナマイシン, ストレプトマイシン, テトラサイクリンに加えてセフェム系抗生物質のセファロチン, セフォチアム, セフトキシム, セフェピムに耐性を示す多剤耐性菌が検出された。

これまで EHEC の主要な薬剤耐性パターンはアンピシリン, ストレプトマイシン, テトラサイクリン, クロラムフェニコールのいずれか単剤, もしくはこれらの組み合わせたものが多いとされていた<sup>11)</sup>。山本ら<sup>12)</sup> は, EHEC198 株について 41 種類の薬剤耐性を調査し, アンピシリン, カナマイシン, ストレプトマイシン, テトラサイクリン, ナリジク酸, クロラムフェニコール, サルファメトキサゾール, ホスホマイシンで耐性菌の存在を確認したが, 治療に推奨されているニューキノロン系や第三代セフェムを含むセフェム系に関しては供試菌株すべてが高度感受性であったと報告している。

本報で, 秋田県の薬剤耐性 EHEC の侵淫実態を明らかにしたことで, 効果的な化学療法の指標を得ることができた。また, セフェム系抗生物質に耐性を示す多剤耐性菌の存在を明らかにしたことにより, EHEC における多剤耐性化への対策の必要性が示唆された。

表 1. 腸管出血性大腸菌の薬剤耐性パターン

ABPC:ampicillin, TC:tetracycline, SM:streptomycin, KM:kanamycin, CET:cefalotin, CTM:cefotiam, CTX:cefotaxime, CFPM:cefepime

血清型	菌株数	耐性菌数 (%)	耐性パターン(%)
O157	114	24(21.1)	TC <sup>r</sup> 12 (50.0)
			ABPC,TC <sup>r</sup> 1 (4.2)
			SM,TC <sup>r</sup> 8 (33.3)
			ABPC,SM <sup>r</sup> 3 (12.5)
O26	60	21(35.0)	ABPC,TC <sup>r</sup> 2 (9.5)
			SM,TC <sup>r</sup> 1 (4.8)
			ABPC,SM <sup>r</sup> 14 (66.7)
			KM,SM <sup>r</sup> 1 (4.8)
			ABPC,SM <sup>r</sup> ,TC <sup>r</sup> 1 (4.8)
			ABPC,KM,SM,TC <sup>r</sup> 2 (9.5)
			O103
			ABPC,KM,SM,TC <sup>r</sup> 1 (33.3)
			ABPC,CET,CTM,CTX,CFPM,KM,SM,TC <sup>r</sup> 1 (33.3)

3.2 多剤耐性EHEC O103(EC8960)の性状

EC8960 は、2004 年 8 月 2 日に下痢症患者より分離され、病原因子として *eaeA* と VT-1 を持つことを PCR 法にて確認した。

MIC の測定結果は、アンピシリンに 256 µg/ml 以上、セフトキシムに 96 µg/ml、カナマイシンに 256 µg/ml 以上であり、セフトキシムに対する耐性は β-ラクタマーゼの阻害剤であるクラバン酸の添加によって抑制された。このことから、ク

ラス A-β-ラクタマーゼの産生が予想されたため、クラス A-β-ラクタマーゼ遺伝子に属する TEM, CTX-M, SHV の検出を試みた。その結果、耐性遺伝子として *bla<sub>TEM-1</sub>* と *bla<sub>CTX-M-14</sub>* を

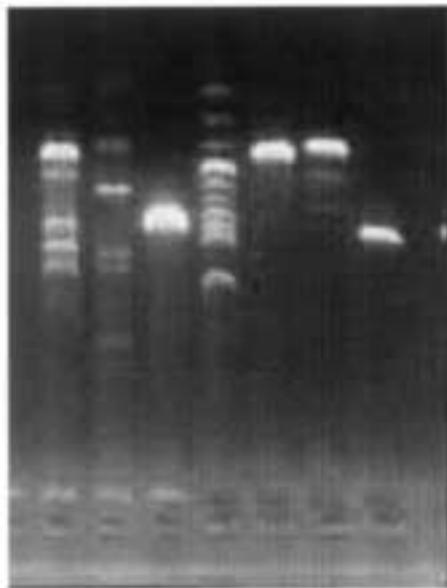
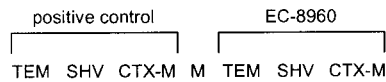


図1. β-ラクタマーゼ遺伝子の検出

M:100bp marker

持ち、CTX-M-14 型 ESBL を産生する EHEC

であることが確認された (図 1)。また、耐性化に関わる因子としてクラス 1-インテグロンは持たないが、一部の CTX-M 型 ESBL 遺伝子の伝播に関与するとされている *ISEcp1* トランスポゼース(*tnpA*)<sup>1,3)</sup> を保持していた (図 2)。

耐性遺伝子の位置を特定するため、プラスミドを精製し、0.7%アガロースゲルで電気泳動後、ラベルした CTX-M の PCR 増幅断片にてサザン・

プロット法を行った。しかしながら、プラスミドの位置には耐性遺伝子は検出されず、染色体上に検出された (図 3)。プラスミドの接合伝達においても、レシピエントに耐性は伝達しなかった。

最近になって、Ishii ら<sup>4)</sup>と Konら<sup>5)</sup>がそれぞれ血清型 O26 において ESBL 産生菌の存在を報告した。ESBL の型は、それぞれ CTX-M-18 型と CTX-M-3 型であり、いずれも R プラスミド上に存在し、他の菌に接合伝達することが確認されている。しかしながら、本研究で確認された多剤耐性 EHEC (EC8960) のように血清型が O103 で ESBL 遺伝子を染色体上に持ち、トランスポゾンによって耐性化したと

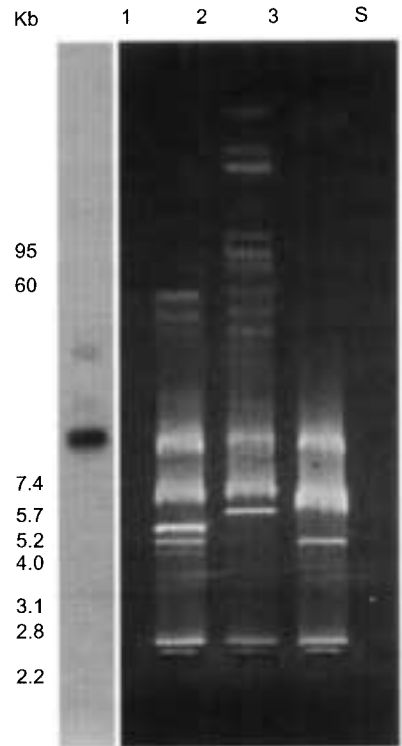


図3. プラスミドプロファイルと *bla<sub>CTX-M-14</sub>* の検出

1 and 2: *E. coli* W677 and *E. coli* V517 for size marker, 3: EC-8960, S: CTX-M Southern blot to lane 3



図2. *tnpA* の検出

M:100bp marker

は、本研究によりはじめて確認された。

今後、本研究の成果を考慮した治療薬の選択と多剤耐性菌蔓延防止のために薬剤耐性菌の監視を継続していくことが必要である。

#### 4 まとめ

・ O157 で 24 株(21.1%)， O26 で 21 株(35.0%)， O103 で 3 株(30.0%)， 合計 48 株が何らかの抗生物質に耐性を示し， 秋田県における薬剤耐性 EHEC の侵淫実態が解明された。

・ 染色体上に *bla*<sub>CTX-M-14</sub> ESBL 遺伝子と耐性遺伝子の伝達に関与する *ISEcpI* トランスポゼースを持った多剤耐性 EHEC が確認された。

・ 秋田県における EHEC の薬剤耐性の実態を考慮した治療薬の選択と多剤耐性菌蔓延防止のために薬剤耐性菌の監視を継続していくことの必要性が示唆された。

#### 5 文献

- 1) Karmali MA, Infection by Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*, *Clin. Microb. Rev.*, **2**, 1989, 15-38.
- 2) 厚生省，一次、二次医療機関のための腸管出血性大腸菌（O157 等）感染症治療の手引き（改訂版），1997
- 3) Kim HH, Samadpour M, Grimm L, Clausen CR, Besser TE, Baylor M, Kobayashi JM, Neill MA, Schoenknecht FD, Tarr PI., Characteristics of antibiotic-resistant *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State, 1984-1991, *J Infect Dis.*, **170**, 1994, 1606-1609
- 4) Ishii Y, Kimura S, Alba J, Shiroto K, Otsuka M, Hashizume N, Tamura K, Yamaguchi K., Extended-spectrum beta-lactamase-producing Shiga toxin gene (Stx1)-positive *Escherichia coli* O26:H11: a new concern, *J clin Microbiol.*, **43**, 2005, 1072-1075
- 5) Kon M, Kurazono T, Ohshima M, Yamaguchi M, Morita K, Watanabe N, Kanamori M, Matsushita S., Cefotaxime-resistant shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26 : H11 isolated from a patient with diarrhea, *Kansenshogaku Zasshi*, **79**, 2005, 161-168
- 6) Perilli M, Dell'Amico E, Segatore B, de Massis MR, Bianchi C, Luzzaro F, Rossolini GM, Toniolo A, Nicoletti G, Amicosante G, Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from an Italian nationwide survey, *J Clin Microbiol.*, **40**, 2002, 611-614
- 7) Colom K, Perez J, Alonso R, Fernandez-Aranguiz A, Larino E, Cisterna R., Simple and reliable multiplex PCR assay for detection of *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*(SHV) and *bla*<sub>OXA-1</sub> genes in Enterobacteriaceae, *FEMS Microbiol Lett.*, **223**, 2003, 147-151
- 8) Pagani L, Dell'Amico E, Migliavacca R, D'Andrea MM, Giacobone E, Amicosante G, Romero E, Rossolini GM., Multiple CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in northern Italy, *J Clin Microbiol.*, **41**, 2003, 4264-4269
- 9) Bou G, Cartelle M, Tomas M, Canle D, Molina F, Moure R, Eiros JM, Guerrero A, Identification and broad dissemination of the CTX-M-14 beta-lactamase in different *Escherichia coli* strains in the northwest area of Spain, *J Clin Microbiol.*, **40**, 2002, 4030-4036
- 10) 日本細菌学会教育委員会，R プラスミドの分子遺伝学的実験法，*細菌学技術叢書*，**4**，1983
- 11) Schroeder CM, Meng J, Zhao S, DebRoy C, Torcolini J, Zhao C, McDermott PF, Wagner DD, Walker RD, White DG, Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128, and O145 from animals and humans, *Emerg. Infect. Dis.*, **8**, 2002, 1409-1414
- 12) 山本達男，脇坂紀子，本邦における抗菌薬耐性腸管出血性大腸菌の出現状況と対策，*日本臨床*，**56**，1998，2718-2729
- 13) Lartigue MF, Poirel L, Nordmann P, Diversity of genetic environment of *bla*(CTX-M) genes, *FEMS Microbiol Lett.*, **234**, 2004, 201-207

## 室内空気中の揮発性有機化合物濃度について

村上 恭子      鈴木 憲\*      松渕 亜希子

室内空気中の揮発性有機化合物濃度をアクティブ採取法及びパッシブ採取法により捕集し測定した。その結果、41物質中32物質において両法の補集量に高い相関がみられ、簡易に捕集できるパッシブ採取法によるサンプリングの有効性を確認できた。調査した9家屋43地点のうち新築家屋の入居前に気密状態で捕集した2地点でトルエンの指針値を超えた。また14地点で総揮発性有機化合物濃度(TVOC)の暫定目標値を超えた。TVOCが暫定目標値を超えて検出した原因は、新築家屋の入居前に塗料落としに使用したクリーナー由来のトルエン、酢酸エチル及び酢酸ブチル、建材からの $\alpha$ -ピネン類、家具類からのトリメチルベンゼン類、暖房器具からのノナン、ドデカン等脂肪族炭化水素類が高濃度に検出されたためである。

### 1. はじめに

最近の室内環境は、冷暖房器具の使用や高气密、高断熱及び新建材の使用により快適で便利になっているが、その反面「シックハウス症候群」や「化学物質過敏症」等の室内環境汚染問題を引き起こしているといわれている。これら問題に対処するため、国の取り組みも活発になっており、厚生労働省はこれまでに14項目の化学物質について、室内濃度指針値及び暫定指針値を設定した<sup>1)</sup>。国土交通省では、平成15年7月から建築基準法を改正<sup>2)</sup>し、ホルムアルデヒドに関する建材の使用制限や換気設備の義務づけ等が施行された。これらの低減化対策が進んでいる状況下、当所では、平成14年度から、室内空気中の汚染物質に関する調査を実施してきた。ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド及びその他のアルデヒド類等に関する調査結果は既に報告<sup>3)</sup>した。平成16年度は主に揮発性有機化合物(以下VOCとする)について調査を行ったので、今回は、その結果について報告する。

## 2. 方法

### 2.1 調査対象家屋

調査対象は9家屋43地点で、その詳細を表1に示した。なお、築7年の3家屋は、国立衛生試験所(現国立医薬品食品研究所)による「暴露評価研究」(平成9年実施)においてVOC濃度調査を実施した家屋である。

### 2.2 調査期間

調査は、平成16年3月～平成17年4月に行った。春期として3～4月、夏期として7～9月に主に実施した。

### 2.3 調査項目

測定項目は、トルエン、キシレン、エチルベンゼン等41物質(表2)及び二酸化窒素である。この他に室内及び外気の温度、湿度、気圧を測定した。また、建築構造、生活状況、健康状況等のアンケート調査を行った。生活状況については、換気時間、暖房機器及びエアコン使用時間等の記録を調査対象家屋の居住者に依頼した。

### 2.4 試料捕集方法

#### 2.4.1 VOC41物質

試料の捕集方法にはアクティブ採取法及びパッシブ採取法がある。アクティブ採取法は厚生労働省により示された標準的な方法<sup>1)</sup>である。

新築住宅の入居前におけるサンプリングは、全ての窓を30分間解放後、閉めて気密状態に5時間保持しアクティブ採取法<sup>4)</sup>で捕集した。ミニポンプMP-30(SIBATA)を用いて、VOC捕集管(ORBO-91T:SUPELCO)に0.5L/分の条件で1時間(約30L)通気させた。

居住住宅におけるサンプリングは、通常的生活状態でアクティブ採取法及びパッシブ採取法<sup>1)</sup>で捕集した。アクティブ採取法は、VOC捕集管(ORBO-91T:SUPELCO)に0.1L/分で24時間(約

144 L)通気させた。パッシブ採取法は、VOC 捕集管(VOC-SD:SUPELCO)を24時間暴露させた。

外気は、新築住宅の入居前及び居住住宅ともそれぞれ室内空気と同様にアクティブ採取法或いはパッシブ採取法により行った。

#### 2.4.2 二酸化窒素

柳沢ら<sup>4)</sup>が生活環境中二酸化窒素濃度測定の際に用いたパーソナルサンプラー法で行い、二酸化窒素フィルターバッチ(アドバンテック)を装着したパーソナルサンプラーを24時間暴露させた。

### 2.5 分析方法

#### 2.5.1 VOC41物質

空気を通気あるいは暴露させたVOC捕集管中の活性炭を4 mLの蓋付き試料瓶に取り、予め0.5 µg/mLの濃度でトルエン-d<sub>8</sub>(和光純薬工業)を添加した二硫化炭素(作業環境測定用:和光純薬工業)2 mLを用いて捕集した化学物質を溶出した<sup>5)</sup>。これを分析試料として、表3に示す測定条件でVOCをガスクロマトグラフ/質量分析計により測定した。VOC41物質を定量するための検量線は、混合標準液(室内空気測定用VOC混合標準原液45種Mix:関東化学株式会社)をトルエン-d<sub>8</sub>を添加した二硫化炭素で希釈して0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 µg/mLの混合調製標準液を作成し、これらをそれぞれ測定して求めた。ただし、*m*-キシレン、*p*-キシレンは、ピークを分離できないために合計値として定量した。

定量下限値は、最低濃度の混合調製標準液の5回繰り返し測定値の10σとしたが、操作ブランク値が10σより高い値の場合には操作ブランク値とした。

#### 2.5.2 二酸化窒素

24時間暴露させた二酸化窒素フィルターバッチを柳沢ら<sup>4)</sup>の方法と同じく試験管に入れ、これに発色液10 mLを加えて波長545nmで吸光度を測定した。室内空気中二酸化窒素濃度は次式によって算出した。

$$f \text{ NO}_2 \text{ (ppb)} = 55 (I - I_0)$$

fNO<sub>2</sub>: 日平均二酸化窒素濃度

I: 暴露後の吸光度

I<sub>0</sub>: ブランクの吸光度

### 2.6 温度、湿度及び気圧

温度と湿度は30分間隔で24時間自動記憶測定(佐藤記憶計SK-200TH)し、気圧は試料の捕集開始時と終了時に測定(気圧計SUNOH SAL7030)した。

### 2.7 測定値の比較

#### 2.7.1 採取法

アクティブ採取法及びパッシブ採取法で捕集された化学物質の捕集量を比較して捕集速度を求め、パッシブ採取法による捕集係数を算出した。

#### 2.7.2 新築家屋の入居前後

新築家屋の入居前後に検出された化学物質を比較し経時推移を調査した。

#### 2.7.3 季節と築年数

検出された化学物質を分類し、夏期と春期、新築と築7年の家屋の測定値の違いについて検討した。各々の比較は各測定値の中央値を用いて、マン-ホイットニーのU検定により行った。

## 3. 結果

### 3.1 アクティブ採取法とパッシブ採取法の比較

アクティブ採取法は、ポンプを使用するため同時に捕集できる数や居住住宅での捕集に制約がある。また、アクティブ採取法の代替としてパッシブ採取法が汎用されているが、メーカーから示された捕集係数が作業環境許容濃度付近で求められているため、室内環境濃度付近における両法の相関は必ずしも高くないとの報告<sup>6)</sup>がある。そこでアクティブ採取法を実施した家屋でパッシブ採取法も同時に行って捕集係数を求めた。その結果、41物質中32物質で、両法での捕集量間に相関係数0.791以上の高い相関(表4)を示した。相関が低かったのは、トリクロロエチレン、クロロホルム、1,2-ジクロロプロパン、四塩化炭素、クロモジブプロモタン、1,2,3-トリメチルベンゼン、ペンタデカン、ヘキサデカン、デカナールの9物質であった。そこで解析には、アクティブ採取法とパッシブ採取法の両法を実施した家屋の室内VOC濃度は、アクティブ採取法の結果を採用した。パッシブ採取法のみでサンプリングを実施した一部の家屋及び外気は、求めた捕集係数から32物質の室内濃度を算出した。

### 3.2 指針値設定項目について

VOC41 項目のうち、室内空気濃度の指針値はトルエン、エチルベンゼン、o/m/p-キシレン、スチレン、p-ジクロロベンゼン、テトラデカンに、暫定指針値はノナナールに、暫定目標値は総揮発性有機化合物に設定されている。本調査での指針値等設定項目の全測定地点における検出率は、トルエン(89.7%)、エチルベンゼン(63.8%)、o/m/p-キシレン(87.9%)、スチレン(84.5%)、p-ジクロロベンゼン(87.9%)、テトラデカン(55.8%)、ノナナール(35.8%)であった。

調査した新築家屋(家屋 A, B, C, D)の入居前後及び外気における指針値等設定項目の統計値を表 5 に示した。検出された各物質は、幅広い濃度範囲を示した。最大値/最小値は入居前のトルエンで約 120、入居後のp-ジクロロベンゼンでは約 360 を示し、住宅により汚染状況は異なっていた。また、トルエンが入居前の 1 家屋 2 地点(居間 2460  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、寝室 1650  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )において指針値を超えて検出された。さらに、VOC 発生源が室内中に起因するかを推定するため、室内濃度と外気濃度を中央値で比較した値(I/O)を入居前後で比較した。その結果、I/O はほとんどの指針値等設定項目において 2 以上を示した。トルエン、エチルベンゼン、o/m/p-キシレン、p-ジクロロベンゼンの I/O は入居前が高値を示し、スチレン、テトラデカン、ノナナールの I/O は入居後が高値を示した。

### 3.3 総揮発性有機化合物とその他の VOC

本調査では、各地点毎に測定した VOC41 物質の濃度の合計量を総揮発性有機化合物(TVOC)として扱うこととした。TVOC の暫定目標値(400  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )を超えた家屋の化学物質分類濃度を図 1 に示した。TVOC が暫定目標値を超えた家屋は、新築入居前の家屋 B, C, D で 6 地点、新築入居後の家屋 B, D で 5 地点、改築後 2.5 年の家屋 F で 2 地点及び築 7 年の家屋 G で 1 地点の合計 14 地点となり全測定地点の約 1/3 に達した。

入居前の家屋 C から芳香族炭化水素類とエステル類、入居前の家屋 D からテルペン類、家屋 F 及び家屋 G から脂肪族炭化水素類と芳香族炭化水素類が高濃度に検出された。また、室内の全測定地点(n = 34)において検出された化学

物質の分類名別統計値を表 6 に示した。TVOC に対する濃度比率は、脂肪族炭化水素類と芳香族炭化水素類の合計値で 70 %を占めた。その他、テルペン類、アルコール類、エステル類と続き脂肪族有機ハロゲン化合物とアルデヒド・ケトン類は 1.3 %及び 1.7 %であった。

### 3.4 経時推移

平成 16 年夏期以降に新築し入居前測定を行った家屋(A, B, C, D)について、入居 1 ヶ月後(夏期)と 3 ~ 6 ヶ月後(暖房使用時期)の VOC 濃度を継続調査した。新築家屋 C, D の VOC 濃度の推移を図 2 と図 3 に示した。入居前の家屋 C から高濃度に検出されたトルエン(2460  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、酢酸エチル(421  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、酢酸ブチル(466  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )は、入居後 1 ヶ月で低レベル(トルエン 29.6  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、酢酸エチル 5.4  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、酢酸ブチル 1.6  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )となった。一方、家屋 D では、 $\alpha$ -ピネン(1268  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、トルエン(246  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、リモネン(99.9  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )が検出され、入居 2 ヶ月後も  $\alpha$ -ピネンが高濃度(412  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )を示した。

築 7 年の家屋 G, H, I (サンプル採取は当センターが担当し、測定は国立衛生試験所が担当)についても夏期と春期に VOC 測定を行った。平成 9 年の新築入居時に家屋 G, H, I で比較的高濃度に検出された項目は、トルエン(72.1  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、o/m/p-キシレン(90.5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、リモネン及びp-ジクロロベンゼン(109  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )等であった。さらに 7 年後の夏期は p-ジクロロベンゼン(44.3  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )の他は低濃度であった。しかし、図 4 に示したように家屋 G において、春期にはオクタン(99.8  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、ノナン(232  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、デカン(170  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、ウンデカン(99.9  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )等の脂肪族炭化水素類(合計 774  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )及び o/m/p-キシレン(121  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、1,2,3-, 1,2,4-, 1,3,5-トリメチルベンゼン(116  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、トルエン(67.5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )等の芳香族炭化水素類(合計 346  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )が高濃度に検出された。

### 3.5 季節の影響

測定した全家屋において検出された化学物質を分類し、夏期と春期で比較した結果を表 7 に示した。TVOC において夏期と春期をマンローホワイトニーの U 検定を行った結果、春期と夏期には有意差が認められなかった。同様に脂肪族炭化水素類、芳香族炭化水素類及びテルペン類について U 検

定を行った。その結果、脂肪族炭化水素類においてのみ春期が有意 ( $p < 0.05$ ) に夏期より高かった。脂肪族炭化水素類は暖房器具の使用により室内に検出される可能性がある<sup>7)</sup>。そこで、VOCの測定と同時に行った二酸化窒素と脂肪族炭化水素類の関連<sup>8)</sup>をみた。その結果、開放型の暖房器具(ファンヒーター)を使用した家屋において二酸化窒素が高く検出される傾向がみられた。しかし、二酸化窒素と脂肪族炭化水素類に相関は認められなかった。

### 3.6 指針値設定前後の化学物質分類別濃度の比較

平成9年秋期(VOCの指針値設定前)にVOCを測定した新築家屋4地点と平成16年度(指針値設定後及び建築基準法改正後)に新築された家屋12地点において、入居後6ヶ月以内に検出された化学物質の分類別濃度を比較して表8に示した。TVOCにおいて設定前と設定後をマンローホイットニーのU検定を行った結果、設定前と設定後には有意差が認められなかった。同様に化学物質の分類別にU検定を行った結果、設定前は脂肪族炭化水素類が、設定後はテルペン類が有意( $p < 0.05$ )に高かった。

## 3.7 アンケート調査

### 3.7.1 健康調査

新築家屋の4家族6人が入居前からアトピーやアレルギー症状を訴えていたが、入居6ヶ月後に悪化した人はみられず、むしろ、改善傾向がみられた。しかし、築7年の家屋Gの住人に入居6年後から健康上の影響(咳とアレルギー)がみられた。

### 3.7.2 換気、暖房器具及び調理器具

「建築基準法」改正で換気設備の義務付けがなされたことにより、平成15～16年度に新築された家屋は換気システムが年間を通して作動し概ね換気が十分であった。しかし、春期に脂肪族炭化水素類や芳香族炭化水素類が高濃度に検出された築7年の家屋Gでは、春期の暖房使用時期に換気が不十分であった。

暖房の主流は、FF式ストーブとファンヒーター及び床暖房であり、その他ハロゲンヒーター、温水コンベクター等の使用もみられた。

調理器具では、室内に化学物質を放出するガスコンロに変わってIHヒーターが使用されるところがあった。

### 3.7.3 その他

生活状況をみると、芳香剤や消臭剤の使用が確認された。また、入居後に家具等の新規購入の有無を調査した結果、築7年の家屋Gにおいて調査期間内に大型の中古家具(クローゼット)の購入報告があった。

## 4. 考察

アクティブ採取法とパッシブ採取法で高い相関が得られた化学物質は41物質中32物質であり、相関が低かったのは9物質であった。この9物質の合計濃度は、アクティブ採取法ではTVOC濃度に対して濃度比率が低かったことから、パッシブ採取法の場合も同様にTVOC濃度への影響が少ないと推測した。このことから、スクリーニング検査としての室内空気捕集は、パッシブ採取法でのサンプリングが可能と判断した。

今回調査した新築入居後の家屋において、トルエン、エチルベンゼン、o/m/p-キシレン、スチレンはI/Oが高く、室内に発生源があることが確認された。これらの化学物質による健康への影響を懸念して厚生労働省は平成12年6月に指針値及び暫定指針値等を設定し、順次追加している。p-ジクロロベンゼンは全国調査の結果では新築・中古の別なく高濃度に検出されている。本調査でも入居後にp-ジクロロベンゼンが高濃度を示した家屋があった。しかし、入居後に室内濃度の中央値が低い値であったため、I/Oが低くなり、その結果として入居前のI/Oが相対的に高い傾向を示したと考えられる。

入居前の家屋Cからトルエン、酢酸エチル、酢酸ブチルが高濃度に検出されたのは、測定日に清掃業者が入り清掃直後であったことが原因と推測された。清掃業者に確認したところ、塗料落としに使用したクリーナーにトルエン・酢酸エチル・酢酸ブチル(60～70%：10～20%：10～20%)が含有していることが判明した。この家屋から検出された前記物質の室内濃度は、トルエン( $2460 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )、酢酸エチル( $421 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )、酢酸ブチル( $466 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )で、その比率(73.5：12.6：13.9)はクリーナーとよく一致した。この種

のクリーナーは、新築家屋の洗浄剤として繁用されるため、出来れば仕上げ洗浄直後の入居は避けて、十分換気後に入居するべきである。

家屋 D は、フローリングの居間と建具類に木材を豊富に使用し気密性の高い住宅であるため、 $\alpha$ -ピネンが高濃度に検出されたと考えられる。今回の調査で使用した VOC 捕集管 (ORBO-91T:Supelco) はこれまで繁用されていた VOC 捕集管 (ORBO-101+ORBO-91L:Supelco) を改良<sup>9)</sup>してスチレン、 $\alpha$ -ピネンの回収率を向上させたタイプであるため  $\alpha$ -ピネンを高濃度に捕集できたと思われる。

家屋 C で検出された物質は揮発性で一時的に使用した物質であるため、24 時間換気システムの作動により急激に濃度の低下がみられた。家屋 D は、建材由来の物質であるため徐々に低下していくものと思われる。 $\alpha$ -ピネンやリモネン等のテルペン類は木造の新築家屋に高濃度に検出される物質<sup>10)</sup>である。また、森林浴によるリフレッシュ効果等フィトンチットとして健康によいと言われている。その一方で、慢性接触暴露では皮膚、粘膜の刺激発疹等がみられる物質<sup>11)</sup>といわれている。そのため、乳幼児、高齢者、病人等への健康影響も懸念され早期に十分な説明が待たれている。

トルエン等の室内濃度指針値が設定され、建築基準法改正後に新築された家屋における TVOC 濃度は、設定前の新築家屋に比して有意差を確認できず、低減化対策の効果は把握できなかった。その原因として測定試料数が少ない、芳香族炭化水素類は短期間で急速に濃度が減少する<sup>12)</sup>、脂肪族炭化水素類濃度は暖房等の生活因子の影響を受ける<sup>7)</sup>等が考えられる。

今回の調査で TVOC が 14 地点で暫定目標値を超えた。指針値及び暫定指針値設定項目については、健康上の影響が危惧されて設定されたものである。しかし、TVOC の暫定目標値 ( $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) は健康への影響が明らかになっているわけではなく、通常望ましい値として設定された値である。このため、厚生労働省から「新築家屋の入居前及び入居後間もない時期の TVOC に関しては測定時期や検出された物質の由来を確認した上で評価すること」との通知<sup>13)</sup>が示されている。この点を考慮して今回の調査結果を評価すると、改築後 2 年以上の家屋 F と築 7 年の

家屋 G が問題となる。家屋 F 及び家屋 G は春期に TVOC が高く特に脂肪族炭化水素類が高濃度に検出された。その原因は、アンケート調査から、石油ファンヒーターを長時間使用し換気不足によるためと考えられた。このように春期は夏期より脂肪族炭化水素類が有意に高いことが確認された。同様の結果が平成 9～10 年に実施された厚生省「居住環境内における揮発性有機化合物の全国実態調査」の報告<sup>14)</sup>でも得られている。

このような点から、当県では暖房器具を使用する期間が長いため、24 時間換気システムの設備のない家屋では、窓の開閉や換気扇の使用により、十分な換気を心掛けることが望ましい。また、家屋 G は新築時にほとんど検出されなかった芳香族炭化水素類のキシレンやトリメチルベンゼンも高濃度に検出された。トリメチルベンゼン類は主にワックス、油性ニスに多用されている<sup>15)</sup>ことから家具に由来するものと考えられる。アンケートからも夏期調査後に大型中古クローゼットの購入が確認されており、住人に入居 6 年後から健康上の影響がみられていて大変憂慮される。これら高濃度に検出された項目中で、健康への影響が確認された物質については、今後も指針値の設定が予想される。しかし、その以前に化学物質を使用しない建材の普及が先決である。同時に入居後に室内汚染化学物質が増加しないように生活状況に十分留意する必要がある。

## 5. まとめ

アクティブ採取法及びパッシブ採取法の補集量間に高い相関を示した 32 物質の捕集係数を求めることができた。また、スクリーニング検査としての室内空気捕集は、簡易に捕集できるパッシブ採取法が有効であることを確認できた。

本調査で、指針値及び暫定目標値を超えたのは、9 家屋 43 地点中トルエンで 2 地点、TVOC で 14 地点あった。トルエンが指針値を超えた原因は新築入居前の家屋で塗料落としに使ったクリーナー由来と判明した。TVOC が暫定目標値を超えた原因は、建材、家具及び暖房器具から  $\alpha$ -ピネン、トリメチルベンゼン類、脂肪族炭化水素類等の化学物質が高濃度に検出されたためである。



また、指針値設定前の新築家屋は脂肪族炭化水素が、設定後はテルペン類が有意 ( $p < 0.05$ ) に高かった。しかし、TVOCの有意差は確認できず低減化対策の効果は把握できなかった。

この他、脂肪族炭化水素濃度は、夏期より春季に高い傾向がみられ、暖房器具の使用と換気不足が原因と考えられた。

## 6. 謝辞

本調査にご協力頂いた対象家屋の皆様には深謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 室内空气中化学物質の室内濃度指針値及び標準的測定方法について。厚生労働省, 2002年2月
- 2) 建築基準法 第二十八条の二, 2002
- 3) 村上恭子、他。室内空气中ホルムアルデヒド等濃度について。秋田県衛生科学研究所, 2004, 49:32-40
- 4) 柳沢幸雄、西村肇。生活環境中濃度測定用  $\text{NO}_2$  パーソナル・サンプラー。大気汚染学会誌, 1980, 15(8): 316 ~ 323
- 5) 三浦通利、他。化学物質による室内空気汚染に関する調査研究。岩手県環境保健研究センター年報, 2002; 2:66-69
- 6) 杉原全信、他。パッシブサンプラーによる測定値の信頼性。室内環境学会誌 7.2004; 10:226 ~ 227
- 7) 吉田俊明、他。住居内空气中ホルムアルデヒド及び揮発性有機化合物濃度の季節変動。大阪府立公衆衛生研究所方, 2001; 39:31-48
- 8) 宮崎竹二。暖房による室内空気汚染変遷。生活衛生。49.2005; 6:343-350
- 9) 浅井佳祐、他。日本分析化学会第52年会。2003, 9, 23
- 10) 安藤正典。室内空気汚染と化学物質。化学工業日報社, 2002; 222-224
- 11) 安藤正典。室内空気汚染と化学物質。化学工業日報社, 2002; 1210-1211
- 12) 斉藤育江、他。住宅のホルムアルデヒド及び揮発性有機化合物濃度の経時変化。東京都立衛生研究所年報, 1999; 50:235-239
- 13) 厚生省生活衛生局長通知。室内空气中化学物質の室内濃度指針値及び総揮発性有機化合物の室内濃度暫定目標値等について。生衛発第1852号、2000年2月22日
- 14) 厚生省「居住環境内における揮発性有機化合物の全国実態調査報告」1997 ~ 1998
- 15) 田中正宣。化学物質汚染の基本課題としての揮発性炭化水素類問題(3) 生体活性内酵素との反応に関連したメチルベンゼン類の生体影響と室内汚染問題。生活衛生。49.2005; 1:3-23

表1 調査対象家屋の概要と空気捕集地点

調査対象家屋				空気捕集地点			
築年数	集合家屋	戸建家屋	計	居間	寝室	外気	計
新築(6ヶ月内)	家屋A	家屋B、C、D	4	13(9)	9(5)	7(2)	29(16)
築1～2年	-	家屋E	1	3(3)	2(2)	1(1)	6(6)
改築2.5年	-	家屋F	1	3(3)	3(3)	1(1)	7(7)
築7年	家屋G	家屋H、I	3	1(4)	0(4)	-	1(8)
計	2	7	9	20(19)	14(14)	9(4)	43(37)

( )内の数値はパッシブ採取法実施数。

表2 測定項目

化学物質の分類名	化合物質名
脂肪族炭化水素類	ヘキサン、ヘプタン、オクタン、ノナン、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、イソオクタン、2,4-ジメチルペンタン
芳香族炭化水素類	ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、m,p-キシレン、o-キシレン、スチレン、1,2,3-,1,2,4-,1,3,5-トリメチルベンゼン、1,2,4,5-テトラメチルベンゼン
テルペン類	$\alpha$ -ピネン、リモネン
脂肪族有機ハロゲン化合物	1,2-ジクロロエタン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、クロロホルム、1,1,1-トリクロロエタン、1,2-ジクロロプロパン、1,4-ジクロロベンゼン、四塩化炭素、クロモジブロモメタン
エステル類	酢酸エチル、酢酸ブチル
アルデヒド・ケトン類	ブタノン、MIBK、ノナナール、デカナール
アルコール類	1-ブタノール

表3 測定条件

機種/検出部	HP6890(GC)/5973N(MS)
カラム	EQUITY <sup>TM</sup> -1 (SUPELCO) 0.25mmi.d.×60m×1.0 $\mu$ m
カラム温度	40°C(5分)-8°C/分-300°C(3分)
カラム圧力	14.5 psi
注入口温度	250°C
イオン源温度	230°C
キャリアガス	He
試料注入法	スプリット法(1:10)
注入量	2 $\mu$ l
検出法	SIM検出法

表4 アクティブ採取法とパッシブ採取法の相関係数  
及びパッシブ採取法の捕集係数

化学物質 分類名	化合物名	相関係数	例数	捕集係数 (ng/(ppb×h))
芳香族 炭化水素 類	ベンゼン	0.956	24	9.24
	トルエン	0.953	24	10.6
	エチルベンゼン	0.946	24	10.3
	m,p-キシレン	0.989	24	9.21
	o-キシレン	0.995	24	9.60
	スチレン	0.826	24	6.83
	1,3,5-トリメチルベンゼン	0.791	23	12.2
	1,2,4-トリメチルベンゼン	0.855	23	15.2
	1,2,4,5-トリメチルベンゼン	0.955	24	12.7
脂肪族 炭化水素 類	ヘキサン	0.991	24	9.77
	2,4-ジメチルペンタン	0.924	24	15.7
	ヘプタン	0.998	24	9.92
	オクタン	0.990	24	7.50
	イソオクタン	0.859	24	18.1
	ノナン	0.994	24	9.02
	デカン	0.990	24	9.29
	ウンデカン	0.996	22	10.1
	ドデカン	0.981	24	12.1
	トリデカン	0.904	24	4.89
	テトラデカン	0.876	22	2.11
エステル類	酢酸エチル	0.939	24	18.7
	酢酸ブチル	0.935	23	10.0
アルデヒド 及び ケトン類	ブタノン	0.826	20	9.16
	メチルイソブチルケトン	0.954	19	12.4
	ノナナール	0.856	20	12.9
アルコール類	1-ブタノール	0.910	22	13.8
脂肪族有 機ハロゲン 化合物	1,2-ジクロロエタン	0.882	24	12.4
	1,1,1-トリクロロエタン	0.940	24	28.6
	テトラクロロエチレン	0.990	22	31.4
	1,4-ジクロロベンゼン	0.998	24	16.2
テルペン類	リモネン	0.986	19	11.1
	α-ピネン	0.976	24	12.9

表5 新築家屋(A,B,C,D)の入居前後及び外気におけるVOC濃度

測定地点 物質名	入居前(n=8)			入居後(n=14)			外気(n=9)		指針値*
	Min.~Max.	Med.	I/O	Min.~Max.	Med.	I/O	Min.~Max.	Med.	
トルエン	20.2~2460	127	96	6.4~57.7	15.9	12	<1.8~14.3	1.3	260
エチルベンゼン	<0.6~57.7	7.7	13	1.1~18.7	4.3	7.2	<0.6~1.1	<0.6	3800
o/m/p-キシレン	4.8~58.6	16.5	16	2.5~21.2	8.6	8.6	<1.6~16.1	1.0	870
スチレン	0.7~2.3	1.5	15	0.4~14.7	1.9	19	<0.1~0.3	<0.1	220
p-ジクロロベンゼン	0.8~3.7	1.2	3.0	0.2~72.8	0.4	1.0	<0.1~1.3	0.4	240
テトラデカン	6.4~10.2	7.4	2.0	<3.7~25.5	13.1	3.5	<3.7	<3.7	330
ノナナール	<3.1~13.7	4.8	1.5	<3.1~16.6	5.7	1.8	<3.1~7.4	<3.1	41
総揮発性有機化合物	242~3500	1290	92	81.0~676	255	18	9.7~65.3	14	400

単位:  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

\*: ノナナールは暫定指針値、総揮発性有機化合物は暫定目標値を示す。

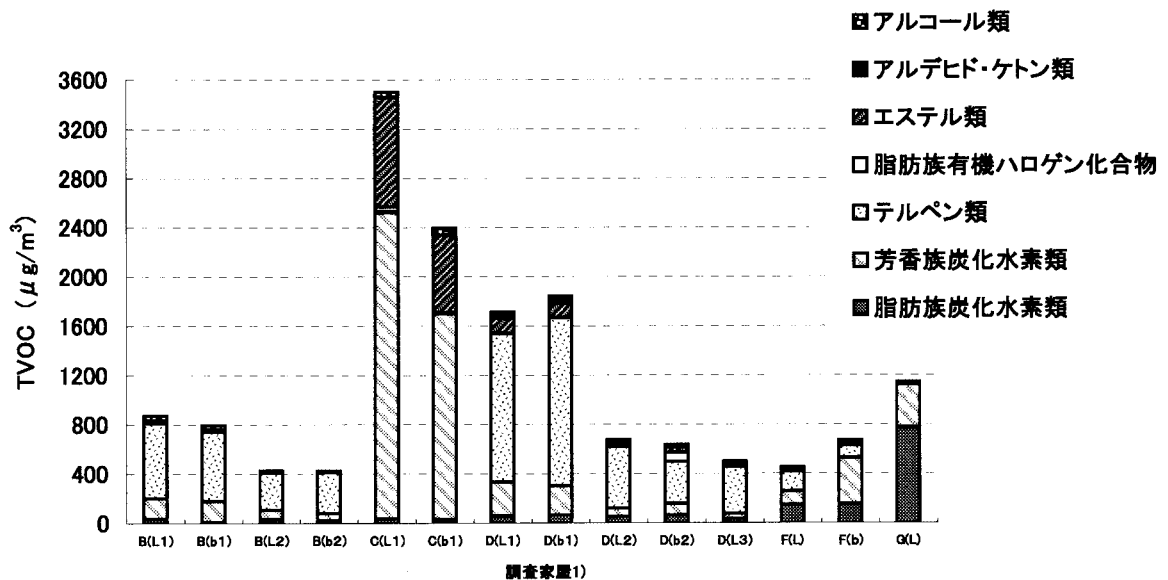


図1 TVOCが高濃度を示した家屋

1) 調査家屋 (L:居間 b:寝室 1:入居前 2:入居後1ヶ月 3:入居後2ヶ月)

表6 検出された化学物質の分類名別統計値

化学物質分類名	Min.	Max.	Med.	濃度比率(%)
脂肪族炭化水素類	0.87	775	55.6	38.5
芳香族炭化水素類	1.37	2480	46.4	32.1
テルペン類	0.29	1370	22.3	15.4
脂肪族有機ハロゲン化合物	0.30	200	2.42	1.7
エステル類	N.D	888	6.75	4.7
アルデヒド・ケトン類	N.D	44.6	1.85	1.3
アルコール類	N.D	74.4	9.22	6.4
総揮発性有機化合物	5.43	3500	231	100

単位:  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

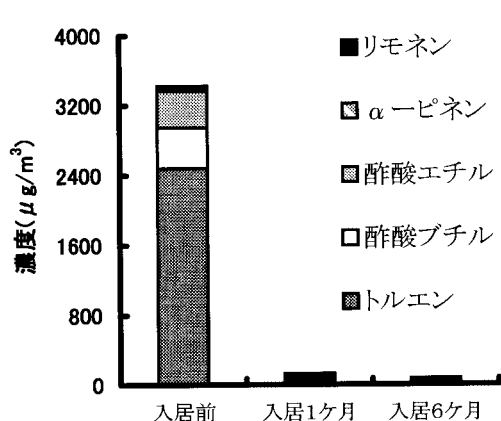


図2 新築家屋CのVOC濃度推移

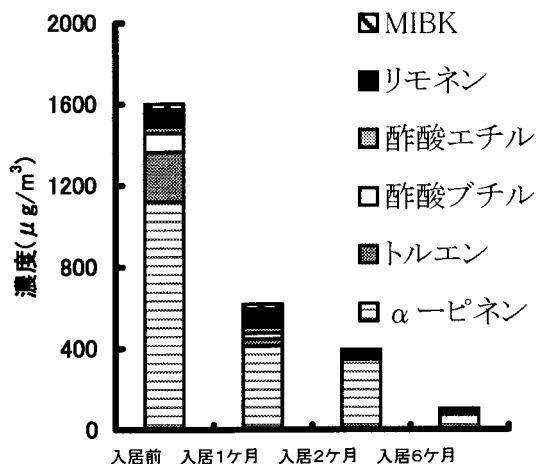


図3 新築家屋DのVOC濃度推移

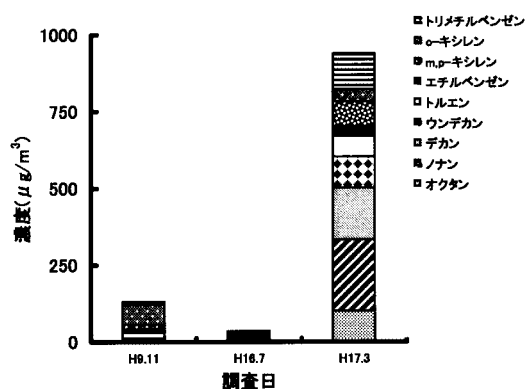


図4 築7年(家屋G)のVOC濃度推移

表7 季節による測定化学物質分類別比較

季節 化学物質分類名	夏 期 (n=17)		春 期 (n=21)		マンホイットニー のU検定
	Min.~Max.	Med.	Min.~Max.	Med.	
脂肪族炭化水素類	0.9 ~ 154	33.4	2.8 ~ 775	60.1	p < 0.05
芳香族炭化水素類	1.5 ~ 374	39.6	1.4 ~ 347	36.7	ns.
テルペン類	0.8 ~ 502	46.8	0.3 ~ 158	19.9	ns.
脂肪族有機ハロゲン化合物	0.5 ~ 75.1	6.7	0.3 ~ 30.3	1.7	ns.
エステル類	ND ~ 37.2	6.6	0.1 ~ 24.8	4.9	ns.
アルデヒド・ケトン類	ND ~ 16.2	3.5	0.2 ~ 5.8	1.1	ns.
アルコール類	ND ~ 36.1	9.8	ND ~ 74.4	8.7	ns.
総揮発性有機化合物	16.1 ~ 676	243	5.4 ~ 1144	161	ns.

単位:  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 

表8 指針値設定前後の新築家屋における化学物質分類別の比較

新築家屋 化学物質分類名	設定前 (n=4)		設定後 (n=12)		マンホイットニー のU検定
	Min.~Max.	Med.	Min.~Max.	Med.	
脂肪族炭化水素類	11.1~156	89.8	3.3~141	43.7	p < 0.05
芳香族炭化水素類	21.1~877	202	13.0~76.0	43.8	ns.
テルペン類	1.8~15.0	3.4	19.9~502	63.7	p < 0.05
脂肪族有機ハロゲン化合物	14.7~199	94.9	0.5~32.6	3.4	ns.
エステル類	1.0~14.3	7.3	2.0~27.0	6.1	ns.
アルデヒド・ケトン類	2.8~36.1	10.6	0.4~13.9	2.9	ns.
アルコール類	ND~33.9	6.2	ND~36.1	9.3	ns.
総揮発性有機化合物	54.3~1200	481	81.0~676	255	ns.

単位:  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

## 平成17年度産スギヒラタケの生物試験結果について

小林淑子 村上恭子

平成16年9月から10月にかけて、日本海側を中心に原因不明の急性脳症が疑われる患者が多くみられ、共通因子としてスギヒラタケの喫食が疑われた。その後、平成16年度産のスギヒラタケについては、全国レベルで原因究明が行われたが、毒性を示す物質の特定には至らなかった。そこで、その原因究明の一つとして、平成17年度産のスギヒラタケを用いて、メタノール抽出物のマウスによる毒性試験を実施した。しかし、マウスによる生物試験では平成16年度の急性脳症の状況を再現することはできなかった。

### 1. はじめに

平成16年9月から10月にかけて、原因不明の急性脳症が疑われる患者が日本海側を中心にみられ、共通因子としてスギヒラタケ（スギヒラ）の喫食が疑われた。秋田県においては23名の患者が報告され、そのうち8名が死亡している<sup>1)</sup>。その後、全国レベルで原因究明が行われ、マウスやラットの生物試験で多くの死亡例が報告されている<sup>2,3)</sup>。しかし、毒性を示す物質の特定には至っていない。

そこで、17年度に採取された秋田県産スギヒラのメタノール抽出物を用いて生物試験を行い、マウスに対する毒性の有無について検討したので報告する。

## 2. 調査方法

### 2.1 試料

平成17年度に秋田県内で採取された57検体のスギヒラの中から、地域的ばらつきを考慮し22検体を選択し、試験まで-20度で保存した。

### 2.2 試験溶液の作成

室温で解凍後、水洗し泥や枯葉などの付着物を除き、蒸留水で洗浄後、ペーパータオルで軽く水分を除いた。その後フードプロセッサーで細切したものの中から20gを丸底フラスコに採り、メタノール100mlを加え、沸騰水浴中で2時間還流した。その後、室温まで放冷後、No.5Cの濾紙で濾過、濾液を乾固した。残渣を1%Tween生理食塩水10mlに溶解し試験溶液とした。試験溶液1mlはスギヒラ2gに相当する。比較参考資料として、ハウレンソウ、キャベツ、ジャガイモ及びゲンマイも同様に操作し、試験溶液を作成した。

### 2.3 ddY系マウスによる生物試験

4週齢のddY系雄マウス(20~25g)5匹を1群とし、スギヒラ及び比較参考試料の試験溶液1mlを腹腔内投与した。観察時間は1週間とし、生死の観察及び体重を測定した。

### 2.4 BALB/C系腎症マウスによる生物試験

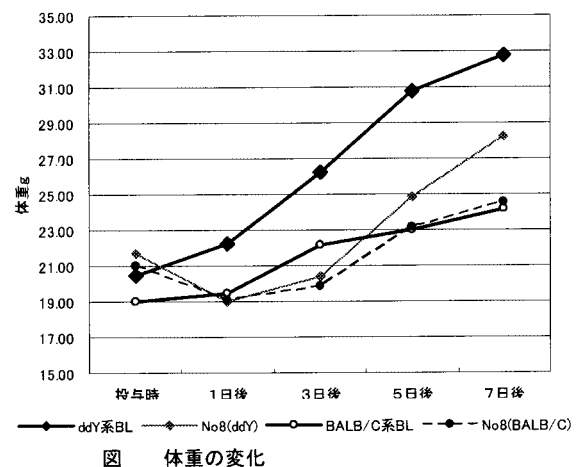
2.3の試験によって死亡例のみられた6検体、死亡例のみられなかった6検体及び比較参考試料としてキャベツ、ダイコン及びジャガイモについて、4週齢のBALB/C系雌マウス(15~22g)で2.3と同様に投与し観察した。

### 2.5 調査期間

平成18年1月~3月に実施した。

## 3. 結果および考察

スギヒラ投与時のマウスの体重変化の一例を図に、結果を表に示した。



図はNo.8の検体のddY系とBALB/C系の試験

表 平成17年度産スギヒラタケの生物試験結果

No.	管轄HC等	採取日	採取地	ddY系	BALB/C系
1	湯沢	9.26	東成瀬村		
2	秋中央	9.19	馬場目		
3	鷹巣	9.20	北秋田市中小又沢		
4	横手	9.26	山内村南郷	1/5死亡	*
5	能代	9.22	能代市常盤	1/5死亡	*
6	大館	9.21	大館市岩瀬沢		*
7	横手	9.29	雄物川町大沢		
8	生活衛生課	9.29	秋田市上新城		*
9	秋中央	9.21,28,29	五城目町富津内		
10	大館	10.5	鹿角市山根		
11	湯沢	10.10	湯沢市稲庭町		
12	秋中央	10.11	五城目町森山		*
13	大館	10.7	大館市雪沢		
14	湯沢	10.8	湯沢市高松		*
15	横手	10.7	横手市増田狙半内	2/5死亡	* 1/5死亡
16	本荘	10.3	由利本荘市東由利		*
17	鷹巣	10.11	北秋田市阿仁荒瀬	3/5死亡	*
18	湯沢	9.29	湯沢市皆瀬字羽場		
19	鷹巣	10.24	北秋田市栄		
20	鷹巣	10.5	北秋田市七日市		*
21	鷹巣	10.5	北秋田市栄	1/5死亡	*
22	本荘	9.29	由利本荘市西目町	1/5死亡	*

\*はBALB/C系で実施した検体

結果を示した。図に示したように、スギヒラの投与により一時的に体重の落ち込みがみられるが、その後回復した。また、表に示したように、ddY系マウスによる試験で、1群5匹中に死亡例がみられたものは22検体中6検体あった(9匹/110匹)。死亡例がみられた6検体中2検体が北秋田市で採取されたものであり、2検体が横手市であった。さらに、死亡例のみられた6検体と死亡例のみられなかった6検体について腎臓に対する影響を検討するため、腎症マウスによる試験を試みたところ、横手市増田産(No.15)の1検体に1匹のみ死亡例がみられた。死亡例のみられなかった6検体については、特別な変化はみられなかった(1匹/60匹)。

比較参考試料として市販されている、ハウレンソウ、ジャガイモ、ダイコン、キャベツ及びゲンマイについて、ddY系マウスを用いて同様な試験を並行して実施したところ、ハウレンソウ(3匹/6匹)及びゲンマイ(4匹/5匹)に死亡例がみられた。ゲンマイは投与3日後までに4匹死亡したが、ハウレンソウは、多量のカリウム<sup>4)</sup>による急性毒性

が考えられ、投与後数時間内に半数の死亡が認められた。ゲンマイの死因として脂質や農薬等の化学物質も考えられるが、詳細は不明である。

同様に腎症マウスにジャガイモ、ダイコン及びキャベツを投与したが、変化はみられなかった。

平成16年度産のスギヒラについては昨年度、全国レベルで生物実験が実施され、マウスやラットで各種の投与方法で多くの死亡例が報告されている<sup>5-7)</sup>。原因物質として、3-ニトロプロピオン酸、糖タンパクおよび青酸配糖体等さまざまな原因<sup>8)</sup>が推測されている。また、平成18年になって新たにスギヒラに新規化合物検出される等の報告<sup>9,10)</sup>があるが、現時点で特定された物質はない。

スギヒラ自体が、本来生物に対して何らかの毒性を有するものであれば、事件の発生していない平成17年度産のスギヒラについても昨年同様の毒性<sup>2,3,7)</sup>が観察される可能性が高い。検体No.17は5匹のマウスのうち3匹が投与3日後までに死亡し、何らかの毒性の存在が疑われた。しかし、次いで実施したBALB/C系の腎症マウスに対する



投与では特記すべき変化はみられなかった。

今回使用した BALB/C 系マウスは、生まれつき腎障害を持った近交系マウスであるが、スギヒラが腎障害者に対して特異的に毒性を発現するというこれまでの定説の裏付けにはならなかった。しかし、ddY 系マウスの実験において、5 匹中 2 匹が死亡した No.15 のスギヒラは、BALB/C 系においても唯一死亡例をみていることから因果関係を全く否定することもできない。

平成 17 年度はスギヒラの喫食によって 1 名の死者も出していない。これをスギヒラの喫食に自粛を促した行政指導の結果とみるべきか、または平成 16 年度産と 17 年度産のスギヒラに、決定的な成分差があったのか、あるいは保存等によって成分に変化が生じ、特異的な症例を実験で再現することができなかったのか不明である。いわゆる食用キノコとして広く知られているものであっても、種によっては多食することで健康障害の発生するものも多く、キノコが生物に対して何らかの生理活性を有することは周知の事実である。また、今回実施した生物試験は貝毒やフグ毒に対して用いられる試験法であるが、一般的な毒性の目安であり、必ずしもこの結果が食品の安全性の指標にはなり得ない。比較参考のため、同様の試験を実施したハウレンソウやゲンマイにおいても死亡例がみられており、小動物に対する反応を即、毒性に結びつけることにはかなり困難があるものと推察した。

#### 4. まとめ

平成 17 年度に県内で採取されたスギヒラタケ 22 検体について、ddY 系マウスによる生物試験を実施した。その結果、6 検体に死亡例がみられた。その中の 2 検体は北秋田市産、2 検体は横手市産であった。腎症者に対する影響を見るため、腎症マウスによる試験を実施したところ、横手市増田産の 1 検体に 1 匹のみ死亡例がみられたが、他に特記すべき変化はみられなかった。

#### 謝辞

スギヒラタケの採取にあたっては、生活環境文化部生活衛生課および各地域振興局福祉環境部の皆様に多大なるご協力を頂きました。ここに深謝致します。

#### 参考文献

- 1) 秋田県：秋田県急性脳炎原因究明プロジェクト検討委員会 平成 16 年度報告書
- 2) 魁新聞, 2004.11.29
- 3) 江口文陽：スギヒラタケによる食中毒発生メカニズムと予防対策, 月刊フードケミカル, 2005(5), 49-52
- 4) 香川芳子監修：5 訂食品成分表, 2001
- 5) 米谷民雄, 他：厚生労働科学特別研究「スギヒラタケ中の有害成分に関する研究」平成 16 年度総括・分担研究報告書, 平成 17 年 4 月
- 6) 魁新聞, 2005.5.14
- 7) 魁新聞, 2004.12.1
- 8) Hiroshi Akiyama, Toshihiko Toida, Shinobu Sakai, Yoshiaki Amakura, Kazunari Kondo, Yoshiko Sugita-Konishi, and Tamio Maitani: Determination of Cyanide and Thiocyanate in Sugihiratake Mushroom Using HPLC Method with Fluorometric Detection, Journal of Health Science, 52(1), 2006, 73-77
- 9) 魁新聞, 2006.9.19
- 10) 魁新聞, 2006.9.22

## Ⅱ 衛生科学研究所事業概要

### 3. 発表業績一覧

## 1. 学会発表

### 児童・生徒の生活習慣病予防健診における尿酸及び肝機能のスクリーニングについて (第2報)

高階光榮 佐藤智子 高山裕子  
田中貴子 八幡裕一郎 鈴木紀行

第64回日本公衆衛生学会総会  
2005年9月 札幌市

児童・生徒の尿酸及び肝機能の実態を把握するために、小学4年生から中学3年生を対象にスクリーニングを実施し、その追跡調査結果について検討した。その結果、尿酸値の平均値を年度間で比較すると、男子全体では有意な上昇がみられた。一方、また、ASTの平均値を年度間で比較すると、男子全体では低下したが、有意差は認められなかった。ALTでは男子全体では有意な低下がみられた。一方、女子全体ではいずれも有意な差は認められなかった。尿酸、AST、ALTにおいては、前年度検査値との間に、男女とも有意な相関がみられた。肥満度との関連については、男子では全ての血液所見との間に、女子では尿酸及びALTとの間に有意な相関がみられた。また、男子では尿酸の変化と年齢との間に有意な相関がみられた。

### 小中学校における食教育推進に関する教職員の意識—秋田県の調査を通して—

高山裕子 長沼誠子\*

日本食生活学会 2005年6月 東京都

#### 【目的】

子どもの食生活の問題点が多く指摘され、学校における食教育は、その効果的な実施が求められている。そこで、小中学校における食教育の状況と食教育に関する意識、地域社会との連携等について把握し、今後の食教育の具体的な方策を検討するための資料を得ることを目的と

して小中学校の教職員を対象として、調査を行った。本報では、教職員の食教育の推進に関する意識について報告する。

#### 【対象と方法】

秋田県内のすべての小学校と中学校を調査対象校とし、対象校に勤務する教職員のうち管理職(校長, 教頭), 養護教諭, 教諭(主に家庭科, 保健体育科等の教科を担当する者), 学校栄養職員等の食教育に携わる教職員を調査対象者とした。回答者数は1,791人で年齢, 勤務校, 職種に記入もれのあった者を除いた1,779人を解析対象とした。方法は、無記名のアンケート調査で、調査時期は平成16年12月から平成17年1月であった。

#### 【結果】

食教育の推進については、81.9%が積極的に行うべきであると答えた。食教育を推進するために重要だと思うことは、「保護者の理解と協力」(77.8%), 「指導時間の確保」(46.8%), 「関係する教職員の連携」(39.5%)が高かった。職種別にみると「保護者の理解と協力」は小学校の教諭(87.0%)や管理職(85.9%)で高く、中学校よりも小学校の教職員に重要視する傾向がみられた。また、「指導時間の確保」は、小学校の養護教諭が62.2%, 中学校の養護教諭が60.3%と養護教諭が他の職種に比べて高かった。「関係する教職員の連携」は、学校栄養職員が70.5%と他職種に比べて高かった。食教育を推進するために重要視することは職種によって違いがみられた。

\*秋田大学教育文化学部

### 中学生の食生活指導方法に関する検討—食生活質問票を活用した個別指導の実施から—

高山裕子

日本食生活学会 2005年11月 函館市

#### 【目的】

当所では、子どもの生活習慣病の早期予防を目的として町と中学校が協同で実施している生

活習慣病予防健診事業に協力し、中学生への食生活指導方法を検討してきた。今回、健診と併せて質問票による食生活調査を行い、その個人別の結果票を活用した食生活指導を行った。

#### 【対象と方法】

対象は中学校の2年生と3年生119人（男子66人，女子53人）であった。食生活調査においては、食事内容（食物摂取頻度）と食習慣に関する項目の質問票を作成した。質問票を養護教諭を通して生徒に配布し、回答を記入してもらった。回答から個人別に結果票を作成した。そして、結果票は健診の事後指導の際に生徒一人ひとりに返却して食生活のアドバイスを行った。事後指導後に養護教諭，保健師・管理栄養士に食生活質問票と結果票及び指導の際の活用状況についてアンケート調査を行った。実施時期は平成17年5月から7月であった。

#### 【結果】

質問票の作成：食事内容を食物摂取頻度から把握するために、成人用の食物摂取頻度調査を中学生向けに一部改変した。さらに、食習慣の把握のために、欠食，食事量，食事の速さ，好き嫌いの項目を加えた。結果票の作成：質問票の食物摂取頻度の回答より，栄養素等摂取量（エネルギー，たんぱく質，脂質，カルシウム，塩分）と6つの食品群摂取量を推定し，それぞれを5段階に評価して，摂取状況を視覚的に示した。食習慣については，問題がみられた項目と改善のためのアドバイスを示した。食生活指導への活用：指導者の評価では，質問票と結果票は，生徒にわかりやすい，指導の際に活用しやすいなど，概ね良好な評価を得た。しかし，食品の摂取状況を6つの食品群別に表していたが，中学生の食生活状況を考慮すると，菓子や清涼飲料水等の摂取状況がわかるようにすると，より指導に活用しやすいと考えられた。

### Factors Affecting Measles Immunization Coverage in Japan

Yuichiro YAHATA, Tomoko SATOH,  
Yong ZHANG, Kozue SASAKI<sup>1</sup>,  
Takako TANAKA, Noriyuki SUZUKI,

Kazuhiko MOJI<sup>2</sup>

133<sup>rd</sup> American Public Association Annual Meeting  
Philadelphia

#### 【INTRODUCTIONS】

WHO reports that 95% of immunization coverage is necessary to prevent outbreak of measles. Measles immunization coverage in Japan, however, is as low as 80%. We investigated factors affecting measles immunization coverage in Akita, Japan.

#### 【MATERIAL & METHODS】

One thousand and two hundred children who underwent a 3-year-old health checkup from April to December 2004, 50.5% of boys and 49.5% of girls, participated in the study. A structured questionnaire was used to collect information on characteristics of child, care-taker in daytime, history and age of measles immunization and infection, and guardians' knowledge and attitude. Cumulative immunization coverage rate was calculated. Associations between immunization with knowledge and attitude were studied and crude odds ratios were calculated. Logistic regression was used to identify factors associating with immunization.

#### 【RESULTS】

Cumulative immunization coverage rate was 92.0% at 42 months. Infected by measles was 2.2% in their age between 5 and 23 months. Guardians were getting information on measles immunization mainly from postcard notification of immunization, MCH-pocketbook and medical institutions. Immunization was significantly associated with source of knowledge, i.e. notification (OR=2.6, 95% CI: 1.4-4.9), MCH-pocketbook (OR=1.7, 95% CI: 1.1-2.7), and attitude, i.e. "should be immunization before infection" (OR=29.1, 95% CI: 15.2-55.8) and scheduling all of the routine vaccine (OR=19.1, 95% CI: 7.0-52.5).

#### 【CONCLUSION】

Our results suggest that more educational programs for guardians are needed to increase the appropriate general knowledge and desirable attitude regarding measles immunization in Japan.

\*1 Akita Prefectural Government

\*2 Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University

## 麻疹ワクチン接種割合向上のための要因 は？—フォーカス・グループ・インタビューを用いて—

八幡裕一郎 田中貴子

第14回日本健康教育学会 福岡市

### 【はじめに】

麻疹は集団発生が起きると死亡例や重篤な合併症例などの健康被害が報告される感染症である。本研究は質問紙調査では十分な情報が得られていない麻疹ワクチン未接種児の保護者の考え方、価値観及び生活環境などについてフォーカス・グループ・インタビューにより検討し、公衆衛生行政サービスに反映することを目的とした。

### 【対象と方法】

対象は秋田県内で協力の得られた南部の自治体（A町）で、平成16年10月1日に麻疹ワクチン未接種児の保護者9人を対象とした。調査内容は保護者の麻疹ワクチンに対する考え方、価値観及び生活環境などについて聞き取りを行った。フォーカス・グループ・インタビューを遂行するに当たり、テープに音声を記録するため、プライバシーの保護及び記録した内容は研究及び行政施策以外の利用はしないとあらかじめ伝え、同意を得た。分析方法はテープに録音を行い、逐語訳したものを内容分析した。

### 【結果】

麻疹ワクチン未接種児の保護者はワクチン接種について肯定的であった。児が風邪をひくことで麻疹ワクチン接種が出来なくなり、未接種の原因となった。麻疹ワクチン接種をするために「母子手帳に麻疹ワクチンの安全性についての記述」、「A町以外でのワクチン接種」、「正しい知識の普及の場」、「ワクチンの検索が携帯電話で簡単に出来る」などの環境作りを行うことが重要であると考えられた。「次に接種するワクチン検索」は既にインターネット及び携帯電

話での検索を可能にさせた。現在、公衆衛生行政サービスとして提供している。

## 秋田県における胃がんに関連する栄養摂取・食生活習慣への認識

張 勇 et al.

日本栄養改善学会 2005年9月 徳島市

### 【目的】

秋田県における胃がんの年齢調整死亡率男女とも上位となっている。胃がんの危険因子は、偏った食生活・喫煙・大量飲酒・肥満・ストレスなどと報告され、これらのライフスタイルの改善によって胃がんの発生を未然に防ぐことが重要であると考えられる。本報告は本県における胃がんに関わる栄養摂取・食生活習慣等の現状を把握し、胃がん予防対策に資することを目的とする。

### 【方法】

対象は平成13年度に行われた秋田県民の健康と食生活に関するアンケート調査に参加した一般住民1178名とした。この調査から、これまでに疫学研究から報告された胃がんに関連する要因の情報を収集し、平成13年度「国民栄養の現状」から抽出した全国のデータと比較し検討した。

### 【結果及び考察】

秋田県における胃がんに関連する食生活習慣については、緑黄色野菜、海藻類の摂取量が全国より低く、食塩の摂取量が男性13.2g/日で、女性11.6g/日であり、健康の日本21からの推奨量より多い。女性の場合は肥満割合が30.7%の高いことが示めされた。飲酒習慣の割合は男性で64.1%、女性で9.5%であり、特に男性の40代が75.9%と最も高率で、50—60歳代も60%を超えている。

## Drinkers Have a Higher Knowledge towards Drinking than Non-drinker

張 勇 et al.

日本公衆衛生学会 2005年9月 札幌市

【 Background 】

It is an important challenge to educate healthy drinking habits in order to prevent lifestyle related diseases in Japan. This study examined the drinking habits and knowledge towards drinking among Japanese physicians.

【 Methods 】

4000 Japanese physicians aged 20 years or over, were asked to complete a self-administered questionnaire survey in the autumn of 2003. Drinking habits were represented in the questionnaire by the frequency of alcohol consumption and categorized into 6 classes: <1 day/month, 1 to 3 days/month, 1 to 2 days/week, 3 days/week, 4 to 5 days/week, and every day. People who reported alcohol consumption at least once per week were asked further details on the usual amount and type of alcohol. Knowledge of healthy drinking habits was tested on the understanding that 1 Gou of Japanese wine per day is considered to be a healthy limit, as recommended by the 21<sup>st</sup> Health Plan of Japan.

【 Results 】

A total of 2649 physicians provided valid responses and were analyzed in our study (45.9% male and 54.1% female). The percentage of males considered to have a drinking habit was 78.4%, in particular 56% of 50-70 year olds were drinking almost everyday. In comparison only 39% of all females consumed alcohol, the majority of who (55%) consumed less than 1 Gou/day and 36.7% consuming between 1 to 2 Gou/day. Knowledge of healthy drinking habits was greater in men than in woman (56.4% vs 48.6%) and significantly greater for the drinking group compared to the non-drinking group, even after adjusting for sex (61.3% vs 40.4%, p<0.001).

地域住民の運動習慣およびに関連要因について

張 勇 et al.

日本行動医学会総会 2006年1月 東京

【目的】

運動不足は多様な生活習慣病と関連があると指摘されている。しかし、地域住民の運動習慣

の現状などはこれまで把握されていない。よって、本研究は地域中高年者における運動習慣及び関連要因を検討し、地域性に基づく生活習慣病の予防施策を提言する。

【方法】

秋田県 M 町の 40 ~ 60 歳住民 1400 人を対象者とし、年齢、性別、身長、体重、職種、運動習慣の有無、運動していない理由項目などを含めたアンケート調査を行った。BMI は身長と体重より算出し、肥満判定は BMI が 25 kg/m<sup>2</sup> 以上の者とした。集計分析は SPSS13.0 を用いた。

【結果及び考察】

アンケート回収率 73 % であった。有効回答者 974 人で、有効回答率 69.6 % であった。運動習慣を持つ人の割合はわずか 48.1 % で低かった。年齢・性別における運動習慣の有無をまとめた (表)。また運動していない理由は「時間的余裕がないから」、「仕事などで疲れているから」の回答率が高かった。肥満割合は 23.7 % であった。さらに、運動と肥満、飲酒などとの関連について検討した。

スギ花粉症患者の花粉暴露量による QOL 変化

笹嶋 肇 井谷 修\*<sup>1</sup> 山田昌次\*<sup>2</sup> 白鳥浩二\*<sup>3</sup> 本田耕平\*<sup>4</sup> 石川和夫\*<sup>4</sup> 本橋 豊\*<sup>5</sup>

第 55 回日本アレルギー学会秋季学術大会  
2005 年 10 月 盛岡市

【目的】

スギ花粉症患者の症状と QOL について花粉暴露量との関連を把握することを目的とした。

【方法】

QOL 調査は外来時に JRQLQNO.1 と JQRLQNO.2 (予防) 調査票を用い、併せて花粉飛散期の 2005 年 3 月下旬 ~ 4 月中旬にアレルギー日誌と最終日の症状を JQRQLQNo.1 に記入してもらい郵送回収した。QOL 調査票から領域別スコアを算出し、予防薬投与の有無・調査期

間中の服薬状況・外出時間等・地域のスギ花粉観測数(ダーラム法の値)との関係について分析した。アレルギー日誌のQOL指標は「日常生活の苦しさ」を用いた。

#### 【結果と考察】

対象者389人のうち有効回答者は200人(回収率60.7%)で、性年代別では女性64%で年代別では30～50代が77%を占めた。患者を花粉観測数の比較的多い地域と少ない地域に分けて、薬剤の種類を特定せずに、症状及びQOL項目について外来時(少量飛散期)とアレルギー日誌記入後(本格的飛散開始後)の2群間で比較した結果、花粉観測数の多い地域の症状スコアが少ない地域より大きかった。なお、JRQLQNO.2(予防)項目による症状スコア及びQOLスコア変化を検討予定である。

\*<sup>1</sup>井谷耳鼻咽喉科医院, \*<sup>2</sup>由利組合総合病院<sup>2)</sup>, \*<sup>3</sup>仙北組合総合病院<sup>3)</sup>, \*<sup>4</sup>秋田大学医学部感覚器学講座皮膚科学・形成外科学分野<sup>4)</sup>, \*<sup>5</sup>秋田大学医学部社会環境医学講座健康増進医学分野

### 自動花粉測定装置(KH3000, 新NTT, 神栄)とリファレンスサンプラーの比較

Jean-Jacques Delaunay \*<sup>1</sup> 岡本美孝 \*<sup>2</sup>  
 笹嶋 肇 横田匡彦 \*<sup>3</sup>

第55回日本アレルギー学会秋季学術大会  
 2005年10月 盛岡市

#### 【目的と方法】

2005年の花粉シーズンにおいて、千葉大学と秋田県衛生科学研究所にてKH3000, 新NTTと神栄の自動花粉測定装置, 及びリファレンスサンプラーとしてバーカードとダーラム装置を用いて測定値の比較を行った。

#### 【結果と考察】

自動装置とリファレンスサンプラーの相関係数は3装置とも同様の値が得られ、自動装置とバーカードの時間別の相関係数はともに0.80

以上であった。これは満足できる結果であったが、以下に自動装置の問題点について指摘する。自動装置は、ともに高濃度の粒子状物質の影響を受けた。自動装置においてその範囲と条件は異なったが、特に花粉濃度の低い花粉シーズンの初期と終息期の影響が顕著であった。さらにKH3000は雪粒子と花粉粒子を識別できないことが判明した。今回の実験により、自動装置の最小測定可能濃度はせいぜい50-100(個/m<sup>3</sup>)と判明したが、理想的にはさらに低濃度の50(個/m<sup>3</sup>)未満であるべきで、測定可能な最小濃度についてはさらに改良が必要であると考えられる。この実験での自動装置の絶対値はリファレンスサンプラーと異なるため、自動装置で実際に測定された体積の値のキャリブレーションに留意すべきと考えられる。

\*<sup>1</sup>東京大学大学院, \*<sup>2</sup>千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科, \*<sup>3</sup>ウエザーサービス(株)

### スギ花粉症外来患者の花粉暴露量とQOL評価について

笹嶋 肇 高階光榮 鈴木紀行  
 本橋 豊\*

第64回日本公衆衛生学会総会  
 2005年9月 札幌市

#### 【目的】

秋田県内のスギ花粉症外来患者の症状とQOLを花粉暴露量との関連から調査して実態を把握することにより、花粉情報の活用を含めた予防方法に関する対策を実施するための資料を得ることを目的とした。

#### 【方法】

患者に対するQOLアンケート調査とアレルギー日誌調査を実施した。患者アンケート調査対象者は医療機関(秋田大学医学部附属病院, 井谷耳鼻咽喉科医院, 由利組合総合病院, 仙北組合総合病院)の外来患者とし、調査期間はスギ花粉飛散開始後でピーク前と推定された2004年3月15日～4月3日までとした。調査

方法は日本アレルギー性鼻炎 QOL 調査票作成委員会が作成した標準調査票を許可を得て使用した。本調査票はアレルギー性鼻炎患者の症状の QOL(日常, 社会, 精神生活等)への影響と治療・予防効果の評価を目的とし, JRQLQ NO1(鼻眼の症状), JRQLQ NO2(鼻眼以外の症状), JQLQ NO2(治療), JRQLQ NO2(予防)の4種類で, それぞれ6領域に区分される。各項目のスコアは0~4の5段階で, 0に近いほど QOL が高いと判断し, 領域別 QOL スコアは各項目の平均値を用いた。また, 花粉飛散期間中の症状と QOL 変化を把握するためアレルギー日誌調査を実施した。アレルギー日誌の記入期間は2004年3月28日~4月4日とし, 外来受診時に配布し後日郵送で回収した。さらに, 調査期間中の日別空中スギ花粉数をダークラム型花粉捕集器を用いて測定し, 調査対象地域の患者の「日常生活の苦しさ」スコアと比較した。

#### 【結果と考察】

外来アンケート調査協力者は392人で有効回答者は387人(有効回答率98.7%)であった。鼻アレルギー症状の平均スコアは1.7で, 項目別では目のかゆみが高く, 水っぱな, くしゃみの順であった。人との会話やつき合いなどの社会生活領域スコアに比べて睡眠・倦怠感などの身体, 及びいろいろ感などの精神生活の領域スコアが高い傾向がみられた。鼻眼以外の症状領域と治療領域の平均スコアは低かったが, 予防領域では花粉の侵入防止策をとることやタバコの煙をさける項目のスコアが高く, 総括的状态を示す平均スコアは2.4であった。次にアレルギー日誌の調査協力者は192人, 郵送回収は61人(回収率31.7%)で, 毎日の朝・日中・夜の「日常生活の苦しさ」スコアと対象地域のスギ花粉日観測数を比較した。その結果, 花粉観測数の少ない地域に比べて花粉観測数の多い地域の平均スコアが大きく( $p < 0.05$ ), 治療を受けている患者の花粉暴露量の多い地域での QOL 低下が示唆された。

\*秋田大学医学部社会環境医学講座健康増進医学分野

#### 希な血清型のEHECの検査法

八柳 潤 齊藤志保子 今野貴之

第26回衛生微生物技術協議会  
2005年7月 福井市

#### 【はじめに】

腸管出血性大腸菌(EHEC)の代表的な血清型はO157であるが, その他の血清型のEHECによる感染事例も数多く発生している。秋田県ではこれまでに市販型別キットに含まれないO103, O121, O91, OX3などの血清型のEHECによる感染事例を多数確認してきた。今回は秋田県におけるEHEC検査体制と検査方法を紹介する。

#### 【秋田県におけるEHEC検査体制】

「腸管出血性大腸菌の検査体制について(通知)」(平成8年8月2日付け環第932号)により, 医療機関を受診した有症者の糞便や大腸菌分離株は当所でEHECの分離同定検査を実施することが定められている。一方, 給食従事者等については検査対象が平成8年に「O157」から「腸管出血性大腸菌」に変更されたことに伴い, 県は外郭団体である秋田県総合保健事業団にPCRによるスクリーニング検査体制の確立を依頼した。

1. 医療機関検査室における有症者からのEHEC分離方法: 常法により分離された大腸菌が当所に送付されVT遺伝子確認を実施している。一方, エンテロヘモリジンを検出するBeutin培地によるEHECスクリーニング方法が県内の医療機関検査室に普及し, スクリーニング陽性株も当所でVT遺伝子確認を実施している。この方法によりO103やO121感染者が確認されている。

2. 給食従事者のEHEC保菌検査: 秋田県総合保健事業団では給食従事者等の定期検便についてPCRによりVT遺伝子保有株のスクリーニングを実施し, 陽性検体について当所でEHECの分離同定を実施している。この方法により, O157, O26などに加えてO103, O145, OX3など, 多くの希な血清型のEHEC保菌者が確認されてきた。

3. 当所で実施しているEHECの分離同定方法: 医療機関から送付された有症者の糞便はDHL, CT加ソルビトールマッコンキー, CT加ラムノースマッコンキー培地を併用してEHECを分離同定する。定型的コロニーがない場合,



培地の濃厚発育部分をスweepして Yamazaki<sup>1)</sup>らの VTcom プライマーを使用した PCR により VT 遺伝子保有株のスクリーニングを実施する。給食従事者等の陽性検体は Fukushima<sup>2)</sup>らの塩酸処理法を併用して EHEC を分離同定する。市販型別キットに含まれないものの比較的検出頻度の高い O103, O91, O121, O145 などは Statens Serum Institut<sup>3)</sup>から O:K 血清を購入して行政からの迅速な結果要求に対応可能としている。さらに、O121<sup>4)</sup>, O91<sup>5)</sup>, O111<sup>6)</sup>, O157<sup>7)</sup>, O26<sup>8)</sup>については O 抗原合成遺伝子群の1つを標的とした PCR も実施している。O103 については O 抗原合成遺伝子群約 12Kbp の解読が終了し特異プライマーを開発中である。

#### 【まとめ】

希な血清型の EHEC の分離同定を実現するためには、実際に EHEC の分離同定を実施する医療機関検査室や検査センターなどで実施している検査方法がしかるべき方法でなければならない。秋田県においては医療機関検査室に Beutin 培地が普及し、スクリーニング陽性株の確認検査を当所が実施していること、給食従事者等の検査を実施している秋田県総合保健事業団に県が PCR 法を応用したスクリーニング方法の導入を依頼したことにより、希な血清型の EHEC の分離同定が可能となっている。型別血清が市販されていない型としては O121, O103, O91 の検出頻度が高い。特に、これらのうち O121 は佐賀県や千葉県などで集団感染事例を引き起こし、秋田県では HUS を併発するなど重要な血清型であることがわかってきている。これらの血清型の EHEC の型別用血清が市販されていないことが、行政からの要求に迅速に対応する上での大きな障害となることを経験している。型別血清の追加市販が急務であろう。

### **Ceftazidime-Resistant Nosocomial *Serratia marcescens* Harboring Mutated-Chromosomal *ampC* gene**

J. YATSUYANAGI, S. SAITO, T. KONNO, S. HARATA, N. SUZUKI, and K. AMANO

American Society for Microbiology 105th General Meeting

June 5-9, 2005, Atlanta, GA, USA

#### 【Background】

*S. marcescens* produces chromosomally encoded AmpC cephalosporinase, thereby conferring resistance to narrower spectrum cephalosporins. It has been demonstrated that some *S. marcescens* with resistance to expanded-spectrum cephalosporins harbor a chromosomal *ampC* gene with mutations that lead to an expansion of AmpC substrate specificity. The nosocomial or clinical significance, however, of *S. marcescens* harboring the *ampC* with mutations has not been well demonstrated.

#### 【Methods】

Four urinary tract infection-associated *S. marcescens* isolated from cerebral surgical ward inpatients over a 14 months period in one hospital were employed. Antibiotics resistance-related genes were detected by PCR. PFGE was performed using *Spe I*. The *ampC* sequence was determined by direct sequencing. *E. coli* AS226-51 was transformed with the recombinant pBC SK+ plasmid containing the cloned *ampC* and PCR-based site-directed mutagenesis of the cloned *ampC* gene was performed. The MICs of the *S. marcescens* and the *E. coli* transformants were determined by the NCCLS broth microdilution method. AmpC activity was assayed by UV method.

#### 【Results】

The four *S. marcescens* were positive for the *ampC* and *bla<sub>TEM-1</sub>* and showed an identical *Spe I* PFGE pattern, indicating that single *S. marcescens* clone was associated with nosocomial urinary tract infection in the cerebral surgical ward. The four strains were resistant to ceftazidime. Analysis of the deduced amino acid sequence of AmpC from one strain, ES46, revealed a Glu-to-Lys substitution in the third motif. An *E. coli* transformant harboring the *ampC* from ES46 resistance was ceftazidime resistant.

A site-directed mutagenesis experiment confirmed that the substitution is involved in the ceftazidime resistance of ES46. AmpC  $\beta$ -lactamase induction and an enzyme assay showed that ES46 is not a

constitutive AmpC overproducer.

#### 【Conclusion】

The ceftazidime-resistant *S. marcescens* clone was associated with nosocomial urinary tract infections in the cerebral surgical ward. A gene mutation leading to Glu-to-Lys substitution identified in the third amino acid of the third motif of *ampC* is the crucial mechanism for the ceftazidime resistance of ES46.

### 秋田県で分離された志賀毒素産生性大腸菌 O121のOI-122保有状況と薬剤感受性

八柳 潤 齊藤志保子 今野貴之  
原田誠三郎 鈴木紀行

第9回 腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム  
2005年6月 盛岡市

#### 【目的】

志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) O121の国内における分離報告は少ないが、秋田県においては毎年 STEC O121 感染者が確認され、感染者は溶血性尿毒症症候群 (HUS) を併発するなど比較的重篤な症状を呈する傾向がある。また、佐賀県や千葉県で本菌による集団感染事例が発生していることから、STEC O121は重要な血清型の STEC であると考えられる。STEC O121感染者が重篤な症状を呈する理由は不明であるが、最近、Karmaliらが Genomic O Island 122 (OI-122) の存在が STEC の病原性と関連する可能性を指摘している。一方、STEC O121については治療の第1選択とされるホスホマイシンを含む薬剤感受性データが乏しい。今回、STEC O121の病原性に関する知見の集積と抗生物質治療の基礎的データを得ることを目的として、秋田県で分離された STEC O121 について OI-122 の有無と薬剤感受性について検討した。

#### 【方法】

'97年から'04年に分離された STEC O121 21株を供試した。OI-122の存在はPCRにより OI-122を構成する Z4321, Z4326, Z4332, Z4333 遺伝子を検出することにより確認した。ABPC, CET, CTM, CTX, CAZ, CFPM, SM, KM, TC, CP,

FOM, NFLX に対する薬剤感受性を KB ディスクにより検討した。PFGE には *Xba* I を使用し、STEC O121 と共に県内で分離された STEC O157 21株, STEC O26 14株, STEC O103 5株を解析した。PFGE パターンの系統樹解析は Fingerprinting II により実施した。

#### 【結果・考察】

STEC O121 21株は全て Z4321, Z4326, Z4332, Z4333 遺伝子が陽性であったことから、供試した STEC O121 は全て OI-122 を保有し、標的とした範囲の OI-122 に遺伝子欠損がないことが示された。これに対して、対象とした STEC O103 14株は全て Z4326, Z4332, Z4333 遺伝子のみ陽性、Z4321 遺伝子陰性であり、STEC O103 の OI-122 には遺伝子の一部に欠損が存在することが示された。一方、STEC O121 供試株は 21株全てが CET に対して中等度耐性もしくは耐性、1株のみ TC に対して耐性であった。FOM, KM, NFLX に対しては全株感受性であった。*Xba* I PFGE パターンの系統樹解析結果から、STEC 供試株は STEC O103 を除き、血清型毎にクラスターを形成する傾向が認められた。Karmaliらは STEC O157, O121, O111, O145 が遺伝子欠損のない OI-122 を保有し、このことがこれらの血清型の STEC が集団事例や HUS の発症と高頻度に関連している理由の1つである可能性を指摘しているが、STEC O121 供試株数はわずか3株であった。今回の結果は、秋田県内で発生した STEC O121 感染事例において感染者が重篤となる傾向がみられてきたことと併せて Karmali らが提唱した可能性を裏付けるものと考えられた。一方、1997以降に県内で分離された STEC O121 には現在の治療指針上問題となる薬剤耐性を獲得した株はみられなかった。今後も STEC O121 感染者の発生状況に注目する必要があると同時に、型別用血清の早急な市販が感染者を迅速に探知する体制の実現など、健康被害の拡大防止に重要である。

**染色体性セファロスポリナーゼ遺伝子に変異を持つ、セフトジジム耐性尿路感染症由来 *S. marcescens* の性状**

八柳 潤 齊藤志保子 原田誠三郎  
天野憲一

第79回日本感染症学会総会  
2005年4月 名古屋市

### 【目的】

*S. marcescens* は染色体性セファロスポリナーゼ遺伝子 (*ampC*) を持つ。秋田県の医療機関において尿路感染症から分離された、セフトラジジムに耐性を示す *S. marcescens* の耐性機構を解明するために薬剤耐性遺伝子の保有状況、*ampC* の性状について検討した。

### 【方法】

尿路感染症由来 *S. marcescens* 5株 (脳外科病棟入院患者由来株4株, 泌尿器科入院患者由来株1株), 環境水由来 *S. marcescens* 1株を供試した。染色体性 *ampC*, プラスミド性 *ampC*, *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>* はPCRにより検出した。PFGEには *Spe I* を使用した。MICは液体微量希釈法により測定した。*ampC* の塩基配列はダイレクトシークエンスにより決定した。*E. coli* AS226-51 を使用して臨床, および環境水由来株からクローニングした *ampC/pBC SK+* を含む組み換え体を作成し, そのMICを測定した。

### 【結果・考察】

供試株は全て染色体性 *ampC* を保有し, 臨床株は *bla<sub>TEM-1</sub>* を保有していた。脳外科由来株4株は同一PFGEパターンを示し, 14ヶ月にわたり異なる患者から分離されたことから, 院内尿路感染症を惹起したものと推察された。これらの4株はアンピシリン, セファゾリン, セフォチアム, セフトラジジム耐性であった一方, 環境水由来株はセフトラジジム感受性であった。脳外科由来株の *ampC* DNA シークエンスから予測されたアミノ酸配列を検討した結果, Third motif に E → K の変異が特定された。脳外科患者由来株の *ampC* を持つ組み換え *E. coli* は, 環境水由来株の *ampC* を持つ組み換え *E. coli* と比較してセフトラジジムに対するMICが高かった。

### 【結論】

以上の成績から, AmpC の Third motif に特定された E → K 変異が脳外科由来株のセフトラジジム耐性に関与するものと推定された。この可能性の実証, および AmpC 過剰産生の有無の

検討が今後の課題と考えられた。

## ヒト由来カンピロバクター分離株の薬剤耐性年次推移及び鶏肉由来, 牛由来株との比較

齊藤志保子 八柳 潤 今野貴之

平成17年度東北獣医公衆衛生学会  
2005年9月 山形市

平成17年度日本獣医公衆衛生学会  
2006年3月 つくば市

### 【はじめに】

近年, 細菌感染症の治療において薬剤耐性菌の出現が大きな問題となっている。カンピロバクターにおいては下痢症の治療に汎用されているニューキノロン剤に対する耐性菌の増加が懸念されている。このことから, 薬剤耐性菌の侵淫状況を把握するため, 散発下痢症患者由来株について薬剤感受性試験を実施した。また, 感染源として重要視されている鶏肉及び牛の汚染実態調査の過程で分離された株の薬剤耐性について検討した。さらにキノロン剤耐性化の主たる原因は DNA の合成過程に必要な酵素 DNA ジャイレースの変異と言われていることから, その遺伝子の *gyrA* のキノロン耐性決定領域の変異について検討した。

### 【材料及び方法】

平成9年から平成16年に医療機関及び当所で分離した散発下痢症患者由来株444株, 平成12年から14年に市販食肉の汚染実態調査で分離した鶏肉由来株91株, 平成15年に牛胆汁・糞便の汚染実態調査で分離した牛由来株51株を供試した。テトラサイクリン(TC), エリスロマイシン(EM), ナリジクス酸(NA), ノルフロキサシン(NLFX), オフロキサシン(OFLX), シプロフロキサシン(CPFX) の6剤に対する感受性をKB法で検査した。*gyrA* の解析については, NA酸耐性株, ニューキノロン剤3剤耐性株, NA酸及びニューキノロン剤感受性株, 計3株を供試した。*gyrA* のキノロン耐性決定領域をPCRで増幅し, ダイレクトシークエン

スを行い、基準株と比較し、塩基の変異とアミノ酸の変異を検討した。

#### 【成績】

平成9年の散発患者由来株はすでにその50%が共試6薬剤のいずれかに耐性を示し、ニューキノロン剤に対する多剤耐性株も28.8%認められた。それ以降、年による変動がみられるものの、平成9～16年の患者由来株の59.5%に1薬剤以上に対する耐性がみられ、ニューキノロン多剤耐性株は32.4%認められた。ニューキノロン剤耐性株のほとんどはNAにも耐性を示し、NA耐性株の割合は34.5%であった。TC耐性も32.2%と高率であった。EM耐性は5.0%と低率で推移した。平成9～16年の散発患者由来株におけるニューキノロン剤耐性の年別割合に有意な差は認められなかった。平成12～15年に分離された散発患者由来株の血清型別による薬剤耐性パターンは、LIO4に型別された株が他に比べてニューキノロン剤耐性の割合がやや高い傾向を示した。ニューキノロン剤耐性率について、LIO4と型別不能株間には有意差が認められたが、LIO4とLIO7およびその他の血清型の株間では有意な差は認められなかった。鶏肉由来株ではニューキノロン多剤耐性37.4%、TC耐性41.8%、NA耐性42.9%、EM耐性5.5%であった。牛由来株ではニューキノロン多剤耐性29.4%、NA耐性29.4%、TC耐性43.1%、EM耐性7.8%であった。

鶏肉由来株とウシ由来株は分離年が異なることから、それぞれの当該年に分離された患者由来株と比較したところ、平成12年～14年に分離されたヒト由来株と鶏肉由来株、また平成15年に分離されたヒト由来株とウシ由来株の間に薬剤耐性パターンの有意な差は認められなかった。供試3株のgyrA遺伝子のキノロン耐性決定領域の塩基配列をみると、86番目のアミノ酸のチロシンが感受性株では基準株と同じくチロシンであったが、ニューキノロン剤耐性株はイソロイシンに、NA単独耐性株はアラニンに変異していた。それぞれ1個の塩基の変異によるものであった。

#### 【考察】

ヒトのカンピロバクター感染症の重要な感染源である鶏肉、及び近年原因として注目されてきた牛由来株に薬剤耐性、特にニューキノロン

剤耐性株が高度に蔓延していることが確認された。このことはヒトの散発下痢症由来株においてニューキノロン剤耐性株が高い割合で認められたことに密接に関連するものと考えられた。治療において不適切な薬剤を使用することにより重症化の危険性があると考えられることから、今後耐性菌の動向を監視するとともに耐性菌の割合を減少させるための対策が必要と考えられる。

### 秋田県で分離されたESBL産生腸管出血性大腸菌O103の性状について

今野 貴之 八柳 潤 齊藤志保子

第59回日本細菌学会東北支部総会  
2005年8月 山形市

秋田県においては1996年以降、200を超えるEHEC感染事例が報告されているが、分離株の薬剤耐性に係る知見はほとんど得られていない。そこで、これまで秋田県内で分離されたEHEC菌株のうちO157、O26、O103の血清型に属する計184株に対して、セフェム系(CFPM, CAZ, CET, CTM, CTX)、アミノグリコシド系(KM, SM)、ニューキノロン系(NFLX)、およびABPC, TC, FOM, CPの計12種類を用い、KBディスク法にて薬剤耐性を調査した。供試菌株のうち、2004年に分離されたEHEC O103 (EC8960)は、ABPC, CFPM, CET, CTM, CTX, KM, SMに耐性を示し、*bla<sub>TEM-1</sub>*と*bla<sub>CTX-M-14</sub>*を持つESBL産生EHECであった。ESBL産生EHECに関する報告はこれまでほとんどなされておらず、CTX-M-14型ESBL産生腸管出血性大腸菌O103は、本研究により初めて確認された。

### アミノグリコシド系抗生物質によるトランストランスレーション開始点のシフト

今野貴之\*<sup>1</sup> 高橋千治\*<sup>2</sup> 栗田大輔\*<sup>3</sup>  
三浦比佳理\*<sup>3</sup> 武藤 昱\*<sup>1,2,3</sup> 姫野俵太\*<sup>1,2,3</sup>

第7回日本RNA学会総会  
2005年8月 弘前市

X VII International Botanical Congress  
July 2005 Vienna, Austria.

トランスランスレーションは tRNA と mRNA の二つの機能を併せ持つ tmRNA の働きによって行われる変則的な翻訳機構である。我々はこのトランスランスレーションの翻訳再開始点が、アミノグリコシド系抗生物質の一つであるパロモマイシンの作用によって-1方向にシフトすることを明らかにした。さらに、パロモマイシンとリング I と II が共通するトブラマイシン、ゲンタマイシン、及びリング I と II のみを持つネアミンでは、パロモマイシンと同様にトランスランスレーションの翻訳再開始点のシフトが起きた。一方、リング I を持たないストレプトマイシン、ハイグロマイシン B ではそのような影響はみられなかった。各アミノグリコシド系抗生物質は翻訳の過程においてリボソームの小サブユニットの A サイト付近に結合し、その構造に影響を与えることが知られている。トランスランスレーションの翻訳再開始点をシフトさせる抗生物質は共通して、16S rRNA の A サイトのヘリックス上に位置する 1492/1493 番目のアデニンをフリップアウトさせるが、ストレプトマイシンとハイグロマイシン B はそのような構造変化を与えない。また、tmRNA の翻訳再開位置の上流に変異を入れるとトランスランスレーションの翻訳再開始点のシフトが起こる割合に変動がみられた。

- \*1 岩手大学大学院連合農学研究科
- \*2 弘前大学理学部
- \*3 弘前大学農学生命科学部

**Effect of 40 Vegetable Extracts on Differentiation of 3T3-L1 Preadipocytes into Adipocytes**

Eriko MATSUDA, Yuko YOSHIZAWA \*<sup>1</sup>,  
Noriko CHIDA \*<sup>1</sup>, Naomi WATANABE \*<sup>1</sup>,  
Akiko MATSUBUCHI, Noriko MUTO,  
Satoru KAWAII \*<sup>2</sup>, Noboru MUROFUSHI \*<sup>1</sup>

Obesity, diabetes, hypercholesterolemia, and hypertension occur primarily genetically, but they are often triggered by imbalanced lifestyle related to overnutrition. This is the reason the diseases are collectively called “lifestyle related diseases”, and as they are risk factors for atherosclerosis, their prevention is of great importance. The strategy is to take measures of primary prevention for lifetime. Diet rich in vegetable and fruit has been recommended to reduce the obesity and the risk of atherosclerosis, but their active components and mechanisms of action have not been fully understood. We examined 40 vegetable extracts for their effects on differentiation of 3T3-L1 preadipocyte cells to adipocytes. As the result, some inhibited lipid accumulation in the cells while the others accelerated it. We identified by HPLC analysis several phenolic compounds, which were partially responsible for the activity. Sobanome extract inhibited lipid accumulation, the active compounds were Rutin and Quercetin. Purification and characterization of other active ingredients are under way.

- \*1 Akita Prefectural University
- \*2 Tokyo Denki University

**杜仲茶葉添加飼料が鶏卵と鶏脂質代謝に与える影響**

松田恵理子 松渕亜希子 濱野美夫\*<sup>1</sup>  
吉澤結子\*<sup>2</sup> 室伏 旭\*<sup>2</sup>

日本農芸化学会 2006年度大会  
2006年3月 京都市

**【目的】**

最近の健康志向を反映して機能性特殊卵や低脂質鶏肉の生産が試みられており、杜仲葉添加飼料では成分中のグッタベルカが脂質を吸着し

肉質が改善されたとの報告がある。我々はさきに杜仲茶葉中にマウス脂肪細胞の脂肪蓄積を抑制する成分があることを見出したので、グッタペルカ以外の成分の影響に着目した。杜仲茶液は摂取に難があったので、乾燥杜仲葉よりグッタペルカが少ないとされる焙煎杜仲葉を飼料に添加し、鶏卵、体内脂質組成および脂質代謝系酵素活性を検討した。

#### 【方法・結果】

産卵開始後 13 週齢の産卵鶏の飼料に杜仲茶葉粉末を 0, 1, 3 % 添加し、鶏卵の脂質組成の変化を調べた。28 週添加飼育した後、肝臓脂質および代謝酵素の活性を測定した。その結果、まず、3 % 添加により産卵率が増加し、鶏卵のコレステロール量に変化はなかったが、多価不飽和脂肪酸比(n-6/n-3)が低下した。肝臓の脂質代謝酵素では、脂肪酸合成系の脂肪酸合成酵素、グルコース-6-リン酸脱水素酵素に変化はなかったが、 $\beta$ 酸化系のカルニチンパルミトイル転移酵素、アシル-CoA 酸化酵素が有意に増加した。焙煎杜仲葉添加飼料は肝臓での $\beta$ 酸化系酵素活性を増大させる可能性が示唆された。

\*1 秋田県立大学短期大学部

\*2 秋田県立大学生物資源科学部

## 2. 他誌掲載論文

### 2004 年の秋田県内のスギ花粉症患者の症状と QOL に関する調査結果

笹嶋 肇 高階光榮 鈴木紀行  
本橋 豊\*

秋田県公衆衛生学会誌 2005, 3(1), 39-48.

本研究の目的は、個人レベルの有効な予防対策支援のための基礎調査として、秋田県内のスギ花粉症患者の症状と QOL の実態を明らかにすることとした。スギ花粉症患者の有病率は、最近の金子らの報告によれば、国内のスギ花粉症患者の感作率は 1980 ~ 2000 年の 20 年間で 2.6 倍に増加し、2004 年における青年の有病率は

大都市で 28.7 %、地方で 24.5 % と推定されている。また秋田県はスギの植林面積が全国で最も大きく、今後新たに花粉を飛散するスギ林も存在することから患者増加が予想されている。本研究におけるアンケート調査は、医療機関において外来患者に対して JRQLQ 調査票への記入とアレルギー日誌への記入を依頼しアレルギー日誌を郵送回収した。その結果、外来時の症状は、目のかゆみが最もひどく、水っぱな、くしゃみ、鼻づまり、鼻のかゆみの順であった。また、QOL は人との会話や付き合いなどの日常生活の支障に比べて、睡眠・倦怠感などの身体的支障やいらいら感などの精神的支障が大きく、鼻眼症状以外の身体的精神的支障による QOL の低下が示唆された。アレルギー日誌による調査では、時間帯による QOL 変化が観察され、花粉数の変動とほぼ一致したが、花粉数の多い内陸部では花粉数の増加によって QOL が低下し、花粉数が急減しても QOL の低い状態が続いていることが明らかになった。

\*秋田大学医学部社会環境医学講座健康増進医学分野

### スギ花粉の飛散予報と花粉症患者の治療

井谷 修\* 笹嶋 肇

鼻アレルギーフロンティア (メディカルレビュー社) 2005, 5(2), 50-54.

スギ花粉症における治療の基本の一つはアレルゲンの回避である。そのために重要なのは正しい情報を得ることである。患者数及び国民の関心の増加に伴い、テレビ、新聞などのマスコミが取り上げる回数も増加している。患者、医療関係者において飛散予想に関する情報入手方法はインターネット、テレビ、新聞の順位に多いが、何をもとに出された情報か知らない場合が多い。さらに、地域に密着した情報が必要とも考えられる。市販薬と花粉回避グッズですます患者や、かかりつけ内科医にのみ受診する患者も多数存在するといわれているが、鼻閉を中心

とする重症スギ花粉症患者は季節前の処置を含め、専門医である耳鼻咽喉科の診察が必要と考える。今や、国民病ともいえるスギ花粉症患者に対し『鼻アレルギー診療ガイドライン』に沿って診察治療することが当然求められるが、地域の実情に合わせた応用や症例によっては、専門医や設備のある施設での治療よりも患者のQOL（生活の質）向上に重要であると考えられる。

\*井谷耳鼻咽喉科医院

### The *ORF1* Gene Encoded on the Class 1 Integron-associated Gene Cassette Actually Represents a Novel Fosfomycin Resistance Determinant

Jun YATSUYANAGI, Shioko SAITO,  
Takayuki KONNO, Seizaburo HARATA,  
and Noriyuki SUZUKI

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49, 2005  
2573

The class 1 integrons are genetic elements capable of integrating gene cassettes by a site-specific recombination mechanism. Gene cassettes are mobile units composed of a gene, most often an antibiotic resistance gene, and a recombination site, the 59-base element. We have previously characterized a class 1 integron containing VIM-2-type metallo- $\beta$ -lactamase gene, *bla<sub>VIM-2</sub>*, *aacA4* gene, and an unknown function gene, designated as *ORF1*, cassettes, which was identified in a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate strain M $\beta$ -7. Partridge and Hall recently searched using the predicted sequences of the proteins encoded by gene cassette-encoded open reading frames and revealed that two proteins encoded by *ORF1* and *orf i* genes showed a similarity with amino acid sequence, along with the presence of number of conserved key amino acids, of known fosfomycin resistance determinants including FosA, FosB, PA1129, lmo1702, and mlr3345. Based on these search results, they proposed that both *ORF1* and

*orf i* genes are likely to confer fosfomycin resistance.

To prove this hypothesis, we cloned the *ORF1* gene and constructed an *E. coli* transformant to examine its antibiotic resistance phenotype.

The *ORF1* gene was amplified from *P. aeruginosa* strain M $\beta$ -7 by PCR using primers ORF1 Exp5 EcoRI (5'-TCG GAA TTC AAT GAT TAC CGG CAT CAA TCA C-3') and ORF1 Exp3 HindIII (5'-TTA AAG CTT CGT CAG CTC CAC ACC AGC CCC TT-3').

The amplified fragment containing the *ORF1* gene was digested with *EcoR* I and *Hind* III and cloned into pBCSK+ to form the recombinant plasmid, ORF1:pBCSK+. *E. coli* DH5 was transformed with the ORF1:pBCSK+ plasmid to form *E. coli* DH5 ORF1:pBCSK+. Antibiotic resistance phenotypes of the *E. coli* DH5 ORF1:pBCSK+, *P. aeruginosa* strain M $\beta$ -7, and *E. coli* DH5 containing pBCSK+ (*E. coli* DH5 pBCSK+) were determined by the broth microdilution method according to the guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standard using commercially available plates, Dryplate "Eiken" DP-21 and DP-25 (Eiken Kagaku Co., Tokyo, Japan).

*P. aeruginosa* strain M $\beta$ -7 and *E. coli* DH5 ORF1:pBCSK+ showed >32  $\mu$ g / ml MIC of fosfomycin, while the control strain *E. coli* DH5 pBCSK+ was sensitive to this antibiotic. These results prove the hypothesis proposed by Partridge and Hall that the *ORF1* gene is the novel fosfomycin resistance determinant. It is important to clarify prevalence of this novel fosfomycin resistance determinant.

### 秋田県の一地域において検討した環境、および食品からの耐熱性溶血毒遺伝子保有腸炎ビブリオの検出と腸炎ビブリオ散発下痢症発生の関連

八柳 潤 齊藤志保子 今野貴之  
原田誠三郎 鈴木紀行

日本食品微生物学雑誌 21, 2005, 1-9

2000年と2001年に秋田県本荘市の子吉川の河川水と河川底泥, 2001年にイワガキにおける *tdh* 陽性腸炎ビブリオの分布実態と消長について調査し, 当該地域の医療機関における腸炎ビブリオ散発下痢症患者の発生動向との関連について検討した結果, 以下の知見を得た。

1. 腸炎ビブリオ散発下痢症発生数は2000年から2003年にかけて減少し, その減少はO3:K6感染者の減少に起因することが示された。

2. *tdh* を標的としたPCR法, 免疫磁気ビーズ法, および増菌培養液の我妻培地による直接分離培養法を併用することにより, 河川環境検体, および市販イワガキから各種血清型の *tdh* 陽性腸炎ビブリオを分離することに成功した。その結果, 散発下痢症の発生時期とイワガキの市販時期がおよそ一致し, 且つ, その期間に購入したイワガキの一部が実際にO3:K6 (*tdh*+) 汚染を受けていること, および散発下痢症の発生がみられる時期に採取した河川環境検体から実際に *tdh* 陽性腸炎ビブリオが分離されることが初めて示された。

3. イワガキがこの地域における腸炎ビブリオ下痢症の原因食品の一つとなっている可能性が示唆された。しかし, *tdh* 陽性腸炎ビブリオの発症菌量が明らかではないこと, およびイワガキ中の *tdh* 陽性腸炎ビブリオの菌数を測定しえなかったことから, 今回の調査で *tdh* 陽性腸炎ビブリオが検出されたイワガキの全てが下痢症の原因食品となりうるかどうかは不明であり, 今後の研究が必要である。

4. イワガキが販売される時期は1年で最も気温が高く, 室温ではイワガキ中の *tdh* 陽性腸炎ビブリオが短時間で増殖するものと推察される。従って, イワガキを販売する際, *tdh* 陽性腸炎ビブリオの増殖を防止するために低温下での管理を徹底することが感染予防の上で重要と考えられる。

***Campylobacter jejuni* isolated from retail poultry meat, bovine feces and bile, and human diarrheal samples in Japan: comparison of serotypes and genotypes**

S SAITO, J YATSUYANAGI, S HARATA,

Y ITO, K SHINAGAWA, N SUZUKI, K AMANO,  
K ENOMOTO.

FEMS Immunol. Med. Microbiol., 2005, 45, 311-319

To determine the significance of poultry and bovine as infectious sources of *Campylobacter jejuni* in Japan, the serotype distribution and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of poultry and bovine isolates were compared with those of isolates from patients with diarrhea in Akita (Japan). Serotypes O:2 and O:4-complex were common in human, poultry, and bovine isolates, and serotype O:23,36,53 was common in human and bovine isolates. *Sma*I PFGE patterns of isolates belonging to these serotypes were generated. Eight PFGE patterns were shared by poultry and human isolates and three patterns were shared by human and bovine isolates. Further analysis of the isolates having the same *Sma*I PFGE pattern by *Kpn*I PFGE confirmed that four patterns and two patterns were still shared by poultry and human isolates, and bovine and human isolates, respectively. Thus, serotypic and genotypic data indicated a possible link between sporadic human campylobacteriosis and *C. jejuni* from retail poultry and bovine bile and feces, suggesting that bovine serves as an infectious source of *C. jejuni* in Japan, as is observed in other countries.

**Effects of *Eucommia ulmoides* Oliver Leaf Extract on 3T3-L1 Differentiation into Adipocytes**

Eriko MATSUDA, Yuko YOSHIZAWA \*<sup>1</sup>,  
Yuki YOKOSAWA \*<sup>1</sup>, Naomi WATANABE \*<sup>1</sup>,  
Satoru KAWAII \*<sup>2</sup>, Noboru MUROFUSHI \*<sup>1</sup>

Journal of Natural Medicines (2006) 60, 126-129

The extract prepared from roasted *Eucommia ulmoides* Oliver leaves, Du-zhong tea, was examined to explore its effect on differentiation of mouse 3T3-L1 preadipocyte cells into adipocytes. The boiling water extract of Du-zhong tea inhibited lipid accumulation in



3T3-L1. The HPLC analysis of the extract identified catechin, procatechuic acid, pyrogallol, and chlorogenic acid. Catechin weakly inhibited lipid accumulation after 3T3-L1 differentiation, while procatechuic acid and chlorogenic acid showed almost no effect. The activity guided separation of Du-zhong tea lead the isolation of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (HMF). HMF inhibited lipid accumulation at the concentration of 100  $\mu$ M, and the amount of lipid in the cells was reduced to the similar level of negative control. This is the first isolation of HMF from Du-zhong tea and the first observation of its activity on 3T3-L1 differentiation.

\*1 Laboratory of Bio-organic Chemistry, Akita Prefectural University, Akita, 010-0195, Japan.

\*2 Laboratory of Bio-organic Chemistry, Tokyo Denki University, Hatoyama, Saitama, 350-0394, Japan.

## **Ⅲ 環境センターの事業概要**

### **1. 業務実績**

## 1. 試験検査等実績

## 1.1 行政依頼検査

(件数)

項 目		年 度	平成 15	平成 16	平成 17
廃棄物対策	排水基準検査	産業廃棄物等基準検査	186	151	271
		一般廃棄物最終処分場検査	14	14	0
	その他	能代地区周辺環境調査	1,382	1,588	317
		能代産業廃棄物処理センター関連調査	493	396	1,651
大気汚染対策	工場・事業場排出基準検査		87	33	24
	有害大気汚染物質モニタリング調査	VOCs 調査	432	324	324
		重金属等調査	288	216	216
	酸性雨調査	酸性雨実態調査	1,470	1,860	1,860
緊急調査		0	7	0	
水質汚濁対策	環境調査	公共用水域水質調査	3,757	931	940
		特定水域水質調査	522	446	576
		地下水調査	253	211	39
		緊急調査	0	60	5
	工場・事業場排水基準検査		93	85	83
	八郎湖水質保全調査	八郎湖流入河川水質調査	940	0	994
		リン回収関連分析	0	90	0
		シミュレーション関連分析	0	132	0
	玉川酸性水影響調査	田沢湖水質調査	1,044	1,110	1,407
		宝仙湖水質調査	216	222	168
		田沢湖流入河川調査	570	0	32
	その他	八郎湖水質調査	0	2,986	1,903
		十和田湖流入河川調査	522	0	95
		十和田湖水質生態系調査	615	783	408
		難分解性有機物等調査	0	343	0
	化学物質対策	化学物質環境調査		147	117
ダイオキシン類検査		3,808	1,504	1,056	
ゴルフ場水質調査		370	370	0	
騒音・振動・悪臭対策	航空機騒音調査		755	755	755
大気汚染常時監視	一般環境大気測定局		562,087	561,532	509,386
	自動車排出ガス測定局		138,874	136,484	137,899
	工場局		223,921	202,903	233,278
鉱害対策	休廃止鉱山対策調査		70	106	0
アスベスト対策	石綿飛散調査		0	0	62
合 計			942,916	915,759	893,790

## 1.2 環境学習

(件数)

項 目		年 度	平成 15	平成 16	平成 17
空と水の環境学習	大気測定	小学校数	9	7	9
		参加児童数	368	405	343
	水質測定	小学校数	11	15	18
		参加児童数	460	582	761
	ネイチャーゲーム	小学校数	0	3	3
		参加児童数	0	76	135
環境学習室等利用	環境学習室	団体数	31	19	12
		利用者数	365	217	149
	DVD, ビデオ貸出し		16	8	23
	パネル貸出し		8	30	22
	環境教材等の貸出し		14	16	3

## 2. 研修・学会等

## 2.1 研修

年 月 日	研 修 名	氏 名	開 催 地
17. 9.26 ~ 17. 9.27	第24回環境科学セミナー	木口 倫	東京都
17. 9.29	東北ハイテク農業研究会・資源循環部会セミナー	成田 修司	秋田県
17.11.21 ~ 17.11.22	石綿測定技術者研修	児玉 仁	神奈川県
17.11.29 ~ 17.11.30	第5回廃棄物対策研究発表会	成田 修司	千葉県
17.12.2	位相差分散染色法によるアスベスト測定の実際	黒沢 新	東京都
17.12.9	大気環境学会アスベスト公開講座	佐藤 信也	大阪府
17.12.10 ~ 17.12.11	第15回環境地質学シンポジウム	珍田 尚俊	神奈川県
17.12.12 ~ 17.12.14	化学物質環境実態調査におけるELISA法導入に向けた技術トレーニング	木口 倫	埼玉県
18. 1.25	第4回北東北環境研究交流会	佐藤 信也	岩手県
18. 2. 9 ~ 18. 2.10	平成17年度国立環境研究所環境情報ネットワーク研究会	清水 匠	茨城県
18. 3. 1	経済的な環境技術に対する産学官共同テーマの模索	成田 修司	大阪府
18. 3. 9	関東地域産学官連携推進フォーラム	成田 修司	東京都
18. 3.22	2006 バリアン Food Safety セミナー	小林 貴司	東京都

## 2.2 学会等出席

年 月 日	学 会 名	氏 名 (*:発表者)	開 催 地
17. 5.13 ~ 17. 5.14	第12回MCC共同利用研究成果発表会	斉藤 勝美*	岩手県
17. 6.15 ~ 17. 6.17	第14回環境化学討論会	小林 貴司*	大阪府
17. 7.14 ~ 17. 7.15	第13回地球環境シンポジウム	珍田 尚俊	北海道
17. 8. 3	ビーム技術を応用したエアゾル研究に関する日本・メキシコワークショップ	斉藤 勝美*	宮城県
17. 8.28 ~ 17. 9. 2	European Aerosol Conference 2005	斉藤 勝美*	ベルギー, ゲント
17. 9. 6 ~ 17. 9. 8	日本土壌肥料学会2005年島根大会	珍田 尚俊	島根県
17. 9. 7 ~ 17. 9. 9	第46回大気環境学会年会	池田 努	愛知県
17. 9.14 ~ 17. 9.16	日本分析化学会第54年会	木口 倫*	愛知県
17. 9.15 ~ 17. 9.17	化学工学会第37回秋季大会(2005)	成田 修司	岡山県
17. 9.19 ~ 17. 9.21	東アジアにおけるエアゾルの大気環境インパクトに関する国際シンポジウム	斉藤 勝美	京都府
17. 9.26 ~ 17. 9.31	3rd Air Quality Management at Urban Regional and Global Scales	斉藤 勝美*	トルコ, イスタンブール
17.10. 6 ~ 17.10. 7	第31回北海道・東北支部環境研連絡会議	斉藤 勝美*	北海道
17.10.31 ~ 17.11. 2	第16回廃棄物学会研究発表会	珍田 尚俊 成田 修司 小林 貴司	宮城県

17.11.11	第12回大気環境学会北海道・東北支部総会及び 発表会	斉藤 勝美*	青森県
17.11.18	第40回秋田化学技術協会発表会	佐藤 信也 池田 努 木口 倫* 小林 貴司	秋田県
17.11.28～17.11.30	第22回PIXEシンポジウム	斉藤 勝美*	福井県
18.1.16～18.1.18	第1回バイオマス科学会議	成田 修司	東京都
18.3.15～18.3.17	第40回日本水環境学会年会	佐藤 信也* 成田 修司* 黒沢 新 珍田 尚俊 和田 佳久 桜庭 恭司	宮城県

### 3. 決算

(平成18年5月31日現在)

款	項	目	平成17年度 決算額	備考
総務費	総務管理費	人事管理費	118,727	
		財産管理費	545,580	
	企画費	企画総務費	2,034,178	
衛生費	環境衛生費	環境衛生総務費	470,000	
		環境衛生指導費	9,037,791	
		公害対策費	116,057,380	
計			128,263,656	

## 4. 研究業務実績

### 化学物質班

#### バイオマス発電施設で生ずる燃え殻の安全性評価に関する研究（秋田県立大学木材高度加工研究所との共同研究）平成 16 年度～平成 17 年度

##### 目的

バイオマス発電施設の木質燃料の燃焼によって生じる燃え殻の有効利用を目的に、燃え殻に含有される有害物質の分析を行い、その安全性を評価する。

##### 方法

研究対象としたバイオマス発電施設から排出される 4 種類の燃え殻（燃焼装置の下に沈降した主灰、サイクロン式集塵装置により沈降した飛灰、サイクロン式集塵装置通過後の飛灰、バグフィルター内で捕集された飛灰）を対象に、粒子荷電励起 X 線（PIXE）法による元素組成、ガスクロマトグラフ質量分析（GC/MS）法による有害有機化合物の分析を行った。

##### 結果

主灰は紫灰色の粗い粒状であるのに対し、3 種の飛灰はいずれもすす状の微粒子で灰色から黒色の色調を呈していた。

元素組成分析では、すべての燃え殻から 20 元素（Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Ga, As, Br, Rb, Sr 及び Pb）が定量され、主要元素は Na, Mg, Al, Si, S, K, Ca, Ti 及び Fe であった。有害元素である Cr, As 及び Pb の含有量は、Cr で 0.2～0.6mg/g, As で 0.1～0.3mg/g, Pb で 0.1～4.4mg/g と微量であった。

燃え殻の溶出試験による溶出元素は、Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Zn, Br, Rb, Sr 及び Pb であった。廃棄物としての埋め立て処分に関して判定基準が定められている元素は、Cr, As, Se, Hg, Pb 及び Cd であるが、As, Se, Hg 及び Cd は検出されなかった。Cr と Pb の濃度は判定基準以下であった。

こうした結果から、有害元素の観点で燃え殻を利用するに当たっての一定の安全性を確認することができた。なお、燃え殻の有害有機化合物の分析結果については、解析中である。

#### 秋田スギの空気浄化能力に関する調査研究 平成 17 年度～平成 20 年度

##### 目的

秋田スギの持つ空気浄化能力とその放出芳香族成分を把握し、その特性を生かした木質製品の開発を目指すとともに、建築材料として利用されなかった部分の有効活用を図ることを目的としている。

##### 方法

平成 17 年度は予備的試験として、秋田スギ林内でガス状有機化合物を捕集し、ガスクロマトグラフ質量分析（GC/MS）法と液体クロマトグラフ飛行型質量分析（LC/TOFMS）法により有機化合物の分析を実施した。また、秋田スギ材から放出される香り成分を、励起ヘリウムガス-TOFMS 法で直接分析の試みをした。

##### 1) 秋田スギ林内のガス状有機化合物

北秋田市（旧琴丘町）の国有林内で、平成 17 年 8 月 10 日～12 日と 8 月 22 日～24 日の 5 日間、活性炭繊維フィルターにポリマー系フィルターを重ね合わせたタイプ（タイプ I）と活性炭繊維フィルターを二重にしたタイプ（タイプ II）の 2 種類の捕集材により、ガス状有機化合物を 1 日間隔で捕集した。

ガス状有機化合物を捕集した 2 タイプの捕集材について、GC/MS 法の場合にはジクロロメタン、LC/TOFMS 法の場合にはアセトニトリルで有機化合物を抽出して分析した。

##### 2) 秋田スギ材から放出される香り成分

樹齢 198 年の天然秋田スギ材と樹齢 82 年及び樹齢 78 年の造林秋田スギ材を対象に、これらから放出される香り成分を励起ヘリウムガス-TOFMS 法により直接分析した。樹齢 198 年の天然秋田スギ材は赤身、樹齢 82 年の造林秋田スギ材は白身、樹齢 78 年の造林秋田スギ材は赤身と白身の中間である。

##### 結果

##### 1) 秋田スギ林内のガス状有機化合物

GC/MS 法による分析の結果、タイプ I では環状炭化水素化合物のナフタレン、アセナフテン、フローレン、フェナンスレン、フルオランテン、ピレンが微量ではあるが検出された。タイプ II では、ナフタレンとフェナンスレンしか検出さ

れなかった。したがって、捕集材としては、タイプ I の活性炭繊維フィルターにポリマー系フィルターを重ね合わせたタイプが適していると考えられた。

LC/TOFMS 法による分析では、数百の有機化合物のピークは検出されたが、これらの同定までには至らなかった。

一般に、樹木から放出される香り成分は不飽和炭化水素化合物のテルペン類であるが、今回の予備的試験では検出されなかった。検出されなかった要因として、テルペン類の質量数と大差のない環状炭化水素化合物が検出されていることから、テルペン類の濃度が極めて低いことによると推察される。テルペン類を捕集するためには、捕集時期と捕集量を検討する必要があると考えられる。

## 2) 秋田スギ材から放出される香り成分

励起ヘリウムガス-TOFMS 法により直接分析した結果、天然秋田スギ材では質量数 (m/z) 204, 樹齢 82 年の造林秋田スギ材では質量数 281 の強いピークが検出された。また、樹齢 78 年の造林秋田スギ材では、質量数 204, 281, 286 のピークが検出された。この結果から、赤身と白身では、放出される香り成分が異なると考えられる。現在、検出された質量数に相当する有機化合物を解析中である。

## 植物性産業廃棄物の高度資源化に関する研究 (県総合食品研究所との共同研究) 平成 17 年度～平成 18 年度

### 目的

コーヒーの出し殻を対象に、アルコール化、ペレット燃料の製造の他、有用薬剤原料の製造の可能性を模索することを目的としている。当センターの分担は、ペレット燃料の製造と有用薬剤原料の製造の可能性を模索することである。

### 方法

- 1) ペレット燃料とした場合の燃え殻の安全性を確認するため、粒子荷電励起 X 線 (PIXE) 法によるコーヒー出し殻の元素組成分析を行った。
- 2) 有用薬剤原料を見出すため、ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS) 法によるコーヒー出

し殻の有機化合物の分析を行った。コーヒー出し殻から有機化合物を抽出するには、酢酸エチルを用いた。

### 結果

#### 1) コーヒー出し殻の元素

コーヒー出し殻からは、20 元素 (Na, Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Br, Rb, Sr 及び Pb) が定量され、主要元素は Na, Si, K 及び Ca であった。有害元素である Cr と Pb の含有量は、 $1.0\mu\text{m/g}$  と極めて微量で、ペレット燃料としてのコーヒー出し殻の安全性は確認された。

#### 2) コーヒー出し殻の有機化合物

コーヒー出し殻からは、カフェイン、ヘキサデカノイックアシッド、ブチルエステル、2,3-ジヒドロキシプロピルイライデート、オクタデカノイックアシッド、エイコサノイックアシッド、3,5,7-プレナトリエン-20-ワン、2-(4-ジエチルアミノフェニルイミノメチル)-6-メトキシフェノール、ベータ-トコフェロール、ビタミン E、カンペステロール、ステイマステロール、ガンマ-シトステロール、(3, ベータ)-24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オルの 14 有機化合物が定量された。なお、コーヒー中で抗菌活性を示すとされているクロロゲン酸 (ポリフェノール) は検出されなかった。

出し殻と焙煎されたコーヒー豆から定量された有機化合物の値を比較すると、カフェインは 60%、2-(4-ジエチルアミノフェニルイミノメチル)-6-メトキシフェノールを除く、ビタミン E などは 25~45% が出し殻に残存しており、出し殻には有用薬剤原料がかなりの割合で存在していることが確認できた。

## ダストの成分組成の分析手法に関する検討と評価 (科学技術振興機構 (JST) 革新技术開発研究事業) 平成 17 年度～平成 19 年度

### 研究概要

JST での研究課題は、「熱抽出によるブラックカーボン及びダストのリアルタイムモニターの開発」で、日本カノマックス(株)が研究代表者になっている。研究組織は、当センターの他、東京大学先端科学技術研究センター、(独)交通安全環境研究所である。当センターで実施する研

究課題は、「ダストの成分組成の分析手法に関する検討と評価」で、平成17年度は元素分析法、イオン分析法及び有機分析法の検討を行った。

### 結果

検討した元素分析法は、誘導結合プラス質量分析(ICP/MS)法、放射化分析(INAA)法、蛍光X線分析(XRF)法、粒子荷電励起X線(PIXE)法である。その結果、微量の試料を直接分析することが可能なPIXE法がダストの元素分析法に適していると評価された。

ダスト中のイオン種分析は、フィルターに捕集したダストを超音波処理により純水中に脱離させ、これをイオンクロマトグラフィーに大量注入することで、分析可能と判断された。

ダスト中の有機化合物分析には、レーザー脱離イオン化飛行型質量分析(LD-TOFMS)法と最近開発された励起ヘリウムガス-TOFMS法が適していると評価された。

## 大気エアロゾル粒子及び海・陸水の気中照射PIXE法による超微量多元素同時分析法の技術開発に関する研究(放射線医学総合研究所との共同研究)平成17年度～平成21年度

### 目的

大気エアロゾル粒子及び海・陸水の気中照射PIXE法による超微量多元素同時分析法の構築を目的としている。

### 方法

平成17年度は、ヘリウムイオンビームを用いた気中照射PIXE法による大気エアロゾル粒子の多元素同時分析を検討した。

### 結果

ヘリウムイオンビームは、通常PIXE法に用いられるプロトンイオンビームと異なり、テフロンや石英繊維フィルターに捕集された大気エアロゾル粒子を直接分析できることを確認した。なお、プロトンイオンビームの場合は、一般的にポリカーボネートフィルターに捕集された大気エアロゾル粒子しか直接分析できない。

ヘリウムイオンビームでは、プロトンイオンビームよりもSi, S, K及びCaなどの軽元素に対する分析感度は向上したが、その反面Pbなど

の重元素に対する分析感度の低下がみられた。

## 大気・水質班

### リン酸イオンの選択的回収能力を有する新規回収材の開発—八郎湖におけるアオコ発生因子の低減—平成16年度～平成17年度

#### 目的

一般にアオコはいくつかの諸条件がすべて揃うことで大発生につながると考えられており、これを未然に阻止するには、アオコ発生に係わる、ある一つの因子を減らすことが必要となる。そこで、我々は八郎湖における高濃度リン湧水地帯からのリン酸イオンの負荷量に着目し、アオコ発生の大きな要因の一つであるリン酸イオンの負荷量の低減を大きな目標としている。その第一歩として、リン酸イオンのみを選択的に、かつ迅速に回収できる新規回収材の開発を目指した。平成17年度は、16年度に開発したチタンを原料としたリン回収材及び粉殻を原料としたリン回収材のリン回収特性を調べることを目的とした。

#### 方法

高濃度リン湧水及びその模擬溶液を調製し、開発した2種類の回収材の選択的リン回収性能の向上及び回収に係わる種々の因子の検討を行った。さらに、回収したリンの資源としての利用についても検討を行った。

#### 結果

チタンを原料としたゲル状回収材THGは、高濃度の硝酸イオン及び硫酸イオンの存在する溶液中においても、リン酸イオンのみを選択的にかつ迅速に回収可能であった。さらに一度回収したリン酸イオンを溶液のpHを調整することによって、脱着させることが可能であり、リンの資源としての利用が考えられる。

一方、粉殻を担体とし、カルシウム塩と複合化したリン回収材のリン回収性能は、他の共存イオンが存在している溶液中においてもリン酸イオンのみを選択的にかつ迅速に回収することが可能であり、さらに一度回収したリンを100%資源化することができるだけでなく、複合化のプロセスを経ることによって、粉殻の主成分であるケイ酸成分をより効果的に利用することも見出した。

### 循環型社会に適応したフッ素回収技術の実用化へ向けた研究開発(競争的研究資金事業)平成16年度～平成17年度



## 目的

本研究は、健康環境センターが開発した回収材を用い、実用化へ向けた研究開発を行うものであり、大きく2つの段階に分けることができる。1つは、現在、特許公開中であるゲル状回収材を実用化に耐えうる材料に改良し、プラント設計に必要な基礎データを得るための段階である。もう一つの段階は、その回収材を用いて実用化へ向けたプロセス設計を行う段階である。

平成17年度は、ミニプラントを作製するためのプロセス設計を行い、製造したミニプラントによるフッ素回収特性の把握を目的とした。

## 方法

平成17年度は、16年度に得た基礎データをもとにプロセス設計を行い、製造したミニプラントによるフッ素回収試験を種々のフッ素濃度で行った。その結果を解析し、最適なフッ素回収の運転条件を検討した。

## 結果

製造したミニプラントを用いて、種々の濃度のフッ素回収試験を行った結果、フッ素回収という点においては、大きな問題もなく回収可能であった。しかしながら、円滑なミニプラントの運転という点では、回収材の粘性、攪拌に係わる部品、反応槽の素材等がもたらすと考えられる幾つかの問題が明らかとなった。これらの問題を解決するために、攪拌部材の改良(写真1)、反応槽下部の素材の交換等の改良をおこなった結果、ビーカースケールとほぼ同様の実証結果を得ることができた。

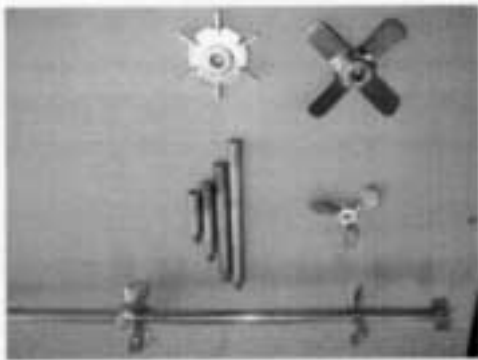


写真1 不完全な攪拌を改良するために製造したアッセンブル式攪拌羽根及び攪拌棒一式

## フッ素の回収技術及び再利用技術に係わる研究開発—循環型社会に適応したフッ素高度分離回収システムの開発—平成17年度～平成19年度

### 目的

健康環境センター環境部では、平成17年度か

ら3カ年計画で細倉金属鋳業株式会社とフッ素排水処理に係わる共同研究を実施している。本研究は、健康環境センターが開発したフッ素回収材を用い、フッ素排出事業所における回収技術の実用化を目指したものである。ターゲットの排水は、製錬煙灰を洗浄し、搾取された液体である。この液体は、フッ素濃度が数10～100mg/lと濃度幅が広いという特徴をもつ。平成17年度は、上記特徴を持つ実排水においてフッ素を分離除去し、再利用するためのフッ素回収プラントの開発を目的とした。

### 方法

本研究開発では、フッ素回収技術及び再利用技術の実用化に向け、3つのステップからなる取り組みを考えている。第1のステップは、フッ素を分離—回収可能なプラントシステムの開発である。第2のステップは回収したフッ素を濃縮し、再資源化するプロセスを完成させ、フッ素資源の有効利用・リサイクルを目指すことである。第3のステップは、県内のメッキ、ガラス工場及び温泉排水等に対応する中小規模の回収装置の開発を視野に入れた取り組みである。平成17年度は第1ステップであるプラントシステムの開発を行った。

### 結果

平成17年度は、前述の競争的研究と連動して、プラント設計に必要な基礎データを得た後、設計指針に基づいた小規模プラントの設計・製作を行った。具体的な内容は次のとおりである。

ビーカースケールの基礎試験において、フッ素吸着平衡並びにフッ素脱着平衡に達する時間が数十分から数時間必要であったことから、それぞれの反応槽は吸着材と反応液との接触時間を確保できる回分式とし、反応滞留時間を柔軟に変えられるように設計した。排水処理の容量については、フッ素分離回収槽における固液比を1:100～1000程度まで変化させることを考慮し、フッ素回収材の原料使用量、数十gに対し、分離回収槽の容量を2l程度とした。また濃縮・回収部は、脱着したフッ素を高濃度で濃縮回収できるように最大で500ml程度とした。分離回収並びに濃縮・回収槽の混合方式は固液の接触が十分行えるように、羽根状の部品による攪拌とした。本小規模プラントは回分式であることから、今後、10～100倍程度のスケールアップ機による実証を考えている。

# Ⅲ 環境センターの事業概要

## 2. 調査研究報告

# 大量死したミヤマカラスの致死要因について

## — 臓器の元素分析からのアプローチ —

斉藤勝美 小林貴司 世良耕一郎\*<sup>1</sup> 安田正明\*<sup>2</sup> 柿野 淳\*<sup>2</sup>

平成18年3月、秋田県大潟村で89羽の死亡した野鳥が発見された。このうち、88羽が渡り鳥であるミヤマカラスであった。調査により地域の農地においてリン化亜鉛( $Zn_3P_2$ )と硫酸タリウム( $Tl_2SO_4$ )を成分とする殺鼠剤の使用が確認されたことから、病因学および病理学的検査に加えて、臓器組織(肺、筋胃内容、腸、肝および腎)の元素分析を行った。分析の結果、各臓器組織からタリウムが56~365 dry- $\mu\text{g/g}$ の高濃度で検出された。また、病理組織学的には肝細胞の空胞変性と腎尿細管上皮の顆粒状あるいは滴状変性を認めた。こうしたことから、今回のミヤマカラスの大量死はタリウム中毒によるものと考えられた。

### 1. はじめに

野鳥の死骸が平成18年3月28日から31日にかけて秋田県大潟村の松林で89羽発見され、88羽が渡り鳥であるミヤマカラスであった。この致死要因を探るため、高病原性鳥インフルエンザなどの家畜伝染病や有機リン系薬物などの検査をしたが、それらの結果はいずれも陰性であった。しかし、筋胃内容物の抽出液を投与したマウスの3匹中2匹が死亡したため、ミヤマカラスの致死要因は毒物摂取によるものと推定された。ミヤマカラスの死亡した時期に、大潟村で急性殺鼠剤であるリン化亜鉛( $Zn_3P_2$ )と硫酸タリウム( $Tl_2SO_4$ )の使用が確認されたため、死亡したミヤマカラスの剖検3例について、肺、筋胃内容、腸、肝臓および腎臓に存在している元素を粒子荷電励起X線(PIXE)法で多元素同時分析をし、致死要因の毒物としてのリン化亜鉛と硫酸タリウムの可能性を検討した。

### 2. 方法

多元素同時分析の対象とした試料は、死亡ミヤマカラスの剖検3例の肺、筋胃内容、腸、肝臓および腎臓組織である。なお、筋胃内容は、マウスに投与する筋胃内容物の抽出液を得るために蒸留水で洗浄されている。これらの試料は、40mLのガラス製保存容器に入れて92時間凍結乾燥した。

凍結乾燥させた試料の前処理は、硝酸—マイクロウエーブ法<sup>1)</sup>を用いた。ここでは、試料約50mgをPTFE製の小型分解容器に入れ、これに濃硝酸1mLと内部標準物質としてインジウム標準溶液(1000mg/L)を試料重量に対して1000 $\mu\text{g/g}$ になるように加えた。これをマイクロウエーブ(170W)により、2分間加熱、10分間放置、2分間加熱の条件で溶解した。

PIXE分析のための照射試料は、ターゲットフィルムに貼り付けた厚さ4 $\mu\text{m}$ のポリプロピレン製のバックングフィルム上に、クリーンベンチ内で硝酸により溶解した試料を10 $\mu\text{L}$ 滴下し、自然乾燥させて作成した。

PIXE分析は(社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターで行った。PIXE分析により得られたX線スペクトルから検出元素のピーク面積を解析するには解析プログラム”SAPIX”<sup>2)</sup>、ピーク面積から定量値を求めるには内部標準法<sup>1)</sup>を用いた。

### 3. 結果

死亡ミヤマカラスの剖検3例の肺、筋胃内容、腸、肝臓および腎臓組織から定量された元素は、表1に示すNa, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, RbおよびTlの20元素で、剖検3例の全ての臓器組織から定量された元素はNa, P, S, K, Ca, Fe,

\*<sup>1</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター \*<sup>2</sup> 秋田県中央家畜保健衛生所

Cu, Zn, Rb および Tl であった。Tl の濃度は 56–365 dry- $\mu\text{g/g}$  の範囲で、各臓器の Tl 濃度を比較すると代謝老廃物、薬物を体外に除去する機能を持つ腎臓の濃度が、他の臓器に比べて極めて高かった。一方、Zn の濃度は 21–147 dry- $\mu\text{m/g}$  の範囲となっている。

#### 4. 考察

Tl は主として殺鼠剤、殺虫剤および工業用原料として利用されており、その毒性は Pb, Cd, Hg よりも高く、消化管、皮膚から吸収されて体内に蓄積するとされている<sup>3,4)</sup>。Tl の作用機序は十分に解明されていないが、K と同じ一価の陽イオンであるため、細胞内では K と置換し、K 依存性代謝を障害することが知られている<sup>3-5)</sup>。ヒトにおける急性中毒症状は、脱毛、悪心、嘔吐、腹痛、下痢および神経症状がみられる<sup>6,7)</sup>。神経学的には、自律神経障害とくに迷走神経障害による呼吸異常、すなわち吸気、呼気の切り替え反射異常があるとされている<sup>7)</sup>。マウスとラットにおける急性経口毒性試験において報告<sup>8)</sup>されている症状は、立毛、運動失調、呼吸困難および嗜眠等で、今回、筋胃内容抽出液を投与したマウスも数時間後に同様の症状を示した<sup>9)</sup>。また、病理組織検査により、死亡ミヤマカラスと同様に肝細胞の空胞変性と腎の尿細管上皮の顆粒状あるいは滴状変性が認められ、代謝障害が疑われた<sup>9)</sup>。

Mochizuki<sup>10)</sup> は、死亡発見された野ガモ等の臓器中 Tl を測定しており、Tl の値は肝で 1–7 dry- $\mu\text{g/g}$ 、腎で 2–28 dry- $\mu\text{g/g}$  と報告している。今回の死亡ミヤマカラスの各臓器から検出されている Tl 濃度は、56–365 dry- $\mu\text{g/g}$  の範囲で、報告されている値をはるかに超えている。また、代謝老廃物等を体外に排出する腎の濃度が他の臓器に比べて極めて高く、Tl 化合物を大量に摂取したことを示している。

一方、山本<sup>11)</sup> は、馬の腎中の Zn 濃度を 205 dry- $\mu\text{g/g}$ 、ヒトの腎臓中 Zn 濃度を 314 dry- $\mu\text{g/g}$  であったと報告している。今回の死亡ミヤマカラスの各臓器から検出されている Zn 濃度は、68.6–110 dry- $\mu\text{g/g}$  で、報告されている値よりかなり低く、リン化亜鉛を成分とする殺鼠剤の可能性は否定される。

こうしたことから、今回大量に死亡したミヤ

マカラスは、渡り鳥であることから秋田県大潟村で殺鼠剤として使用された硫酸タリウムを経口摂取したことにより死亡したとは限らないが、致死要因は硫酸タリウムであることは明らかで、Tl 中毒死であると考えられる。

#### 参考文献

- 1) Futatukawa S., Hatakeyama S., Saitoh Y. and Sera K.: Present status of NMCC and sample preparation method for bio-samples, *Int. J. PIXE*, **3**, 1993, 319–328.
- 2) Sera K., Yanagisawa T., Tsunoda H., Futatukawa S., Hatakeyama S., Saitoh Y., Suzuki S., H. Orihara H.: Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron), *Int. J. PIXE*, **2**, 1992, 325–330.
- 3) Galván-Arzate S and Santamaria A.: Thallium toxicity, *Toxicology Letters*, **99**, 1998, 1–13.
- 4) John P. and Viraraghavan T.: Thallium: a review of public health and environmental concerns, *Environment international*, **31**, 2005, 493–501
- 5) Bank W.J., Pleasure D.E., Suzuki K., Nigro M. and Katz P.: Thallium poisoning, *Arch. Neurol.*, **26**, 1972, 456–464.
- 6) 山下衛, 清野秀子, 田中淳介, 小山完二: 殺鼠剤中毒とその治療, *診断と治療*, **71**, 1983, 2009–2013.
- 7) 由村健夫, 田平 武, 柴崎 浩, 黒岩義五郎: 急性タリウム中毒における自律神経障害, *自律神経*, **19**, 1982, 300–305.
- 8) 大塚薬品工業(株)開発研究部: 硫酸タリウム毒性試験の概要, *農薬学会誌*, **18**, 1997, S209–S211.
- 9) 安田正明, 斉藤勝美, 世良耕一郎, 小林貴司, 加沢敏明, 小林正樹, 小川秀治, 柿野淳: タリウム中毒による野鳥の死亡例, *日本獣医師会雑誌*, 投稿中.
- 10) Mochizuki M., Mori M., Akinaga M., Yugami K., Oya C., Honda R. and Ueda F.: Thallium contamination in wild ducks in Japan, *Journal of wildlife diseases*, **41**, 2005, 664–668.
- 11) 山本好男, 佐藤武雄, 森 一五, 中川季子, 山田光子, 福永龍繁, 龍野嘉紹, 西 克治:

中性子放射化分析法を用いた毛髪，肝臓および腎臓中微量元素濃度，法医学の実際と

研究，34，1991，97-108.

表1 死亡ミヤマカラスの剖検臓器組織中元素濃度

元素	剖検例 1 (dry- $\mu\text{g/g}$ )					剖検例 2 (dry- $\mu\text{g/g}$ )					剖検例 3 (dry- $\mu\text{g/g}$ )				
	肺	胃	腸	肝臓	腎臓	肺	胃	腸	肝臓	腎臓	肺	胃	腸	肝臓	腎臓
Na	2100	1590	881	770	1140	1310	689	815	799	1260	3740	361	423	646	4240
Mg	434	471	179	251	225	150	128	177	106	145	439	301	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Al	183	684	46.9	33.6	60.7	108	246	54.9	46.9	62.7	172	224	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Si	113	2740	<LOQ	<LOQ	<LOQ	164	941	<LOQ	<LOQ	<LOQ	368	1410	<LOQ	<LOQ	<LOQ
P	10500	9620	4950	7490	6380	7520	1840	5600	6980	9210	11100	1070	6360	6920	13400
S	8790	4820	4290	6640	4240	6540	17400	4360	6010	5350	8690	15900	4330	6610	9420
Cl	615	952	167	164	161	111	615	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2370	1070	135	191	1460
K	12400	8510	6630	9520	8680	9340	4610	7100	8560	9230	13700	3550	6620	8680	15600
Ca	366	18600	359	238	1460	533	415	272	313	1900	529	1330	293	165	2170
Ti	<LOQ	25.6	<LOQ	2.99	<LOQ	8.11	10.3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	22.2	<LOQ	<LOQ	<LOQ
V	3.76	4.69	1.22	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.99	<LOQ	1.22	<LOQ	3.93	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.09
Cr	<LOQ	3.58	<LOQ	0.46	0.82	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.74	<LOQ	<LOQ	18.7	6.11
Mn	<LOQ	44.8	1.56	3.73	6.39	0.85	7.22	3.35	4.27	6.82	<LOQ	13.9	4.46	1.94	6.34
Fe	1760	1050	96.2	2640	351	1710	274	79.9	1330	658	1900	520	94.5	2590	885
Ni	<LOQ	<LOQ	0.55	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.42	0.81	2.59	<LOQ	5.84	13.0	0.49	12.1	294
Cu	1.96	7.92	5.21	13.9	11.0	2.50	16.3	6.89	11.6	11.2	1.24	20.1	5.08	10.5	5.90
Zn	33.9	98.0	72.1	76.2	68.6	27.7	21.4	81.6	73.3	69.0	30.6	23.1	147	81.5	110
Br	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4.90	11.7	3.01	3.08	4.24	20.8	11.4	3.31	4.54	15.4
Rb	13.9	8.62	7.56	11.9	11.7	16.7	4.88	9.77	12.1	13.8	11.1	2.05	7.91	17.3	11.8
Tl	58.3	139	128	121	365	56.1	136	130	104	278	62.2	89.8	110	97.8	324

<LOQは定量下限値以下です。

# 土壌及び底質中の塩素化ダイオキシン類とその類似化合物の抽出及び濃縮方法と汚染源の同定に関する研究

木口 倫

土壌及び底質中のダイオキシン類の高圧液体抽出（PLE法）に用いる溶媒が抽出効率に及ぼす影響及び試料濃縮における操作条件がダイオキシン類の損失に及ぼす影響を検討し最適化をした。また、秋田県の主要河川流域の水田土壌及び底質中のダイオキシン類の濃度と組成の特徴を検討し、汚染源を同定した。

## 1. はじめに

ダイオキシン類（ポリ塩化ジベンゾ-*p*-ジオキシン類とジベンゾフラン類：PCDDs/PCDFs及びコプラナーポリ塩化ビフェニル類：Co-PCBs）は脂溶性かつ難分解性であり、ひとたび環境中へ放出されると粒子等に付着して土壌や水を汚染し、長い年月の間に河川や海域の底泥（底質）に残留・蓄積され、多様な経路から食物連鎖を通して人体に取り込まれて蓄積されると考えられている。体内に摂取されたダイオキシン類は比較的長期にわたって保持され、微量でも人への悪影響が懸念されている。このため、ダイオキシン類の環境中への排出及び移動の抑制や人及び生態系への暴露影響を把握するには、環境中でのそれらの化合物の汚染レベル及び組成の特徴を検討し、その汚染源を明らかにすることが肝要である。特に、土壌や底質中には、ダイオキシン類が長期間安定に存在し、過去の様々な汚染源からの影響が残留・蓄積されているため、これらの媒体に注目した調査は対象地域の汚染源とその実態を明らかにするうえで極めて重要な意味をもっている。しかしながら、河川流域のような広い範囲を対象として、その土壌や底質中におけるダイオキシン類の濃度レベル及び汚染源の実態把握を系統的に行った調査研究は少ない。これは、ダイオキシン類の効率的かつ精密な分析測定技術の確立が容易ではないことが主たる理由であると考えられる。このため、環境中におけるダイオキシン類の詳細な汚染実態を把握するには、ダイオキシン類の分析測定技術の確立が重要な要素になると考えられる。なかでも、前処理技術については煩雑で手間と時間のかかるプロセスを効率化することの困難さによって今なお様々な検討が行われている。

こうしたことから、本研究は、前処理技術のうち、抽出及び濃縮方法に注目して最適化するとともに、これらを適用して秋田県の主要河川流域の水田土壌及び河川底質中におけるダイオキシン類の濃度レベルや汚染源の実態把握に寄与するために行ったもので、その概要は次のとおりである。

## 2. 認証標準物質を用いたソックスレー抽出法と高圧液体抽出法（PLE法）の比較

土壌及び底質中のPCDDs/PCDFs及びCo-PCBsを効率よくかつ同時に抽出するため、PLE法に適した抽出溶媒について検討した。

PCDDs/PCDFs及びCo-PCBsの土壌及び底質の認証標準物質（日本分析化学会製、JSAC0422及び0431）をトルエン、*n*-ヘキサン、アセトン、アセトン/トルエン、アセトン/*n*-ヘキサン（1:1,v/v）の5種類の溶媒で抽出し、その抽出効率をPLE法とソックスレー抽出法とで比較した。PLE法では単一及び混合溶媒ともにソックスレー抽出法での抽出効率と同等かそれ以上の良好な結果が得られた。特に、アセトンを添加した混合溶媒の抽出効率が最も良く、PLE法では単一溶媒より混合溶媒が適しており、アセトン/トルエン又はアセトン/*n*-ヘキサンが最適であることが明らかとなった。

## 3. PCDDs/PCDFs及びCo-PCBsの窒素ガス濃縮操作による損失

窒素ガス吹付け濃縮操作におけるダイオキシン類の損失を低減するため、吹付け流量と濃縮溶媒が回収率に及ぼす影響について検討した。

窒素ガス吹き付け濃縮には、流量計付き窒素ガス濃縮装置を用いた。検討した条件は、吹き

付け流量については 203, 261, 332, 456 mL/min, 濃縮溶媒についてはアセトン, *n*-ヘキサン, ジクロロメタン, トルエンである。検討の結果, 吹付け流量については 203~332 mL/min, 濃縮溶媒についてはトルエンを用いることによってダイオキシン類の損失が少なく, 良好な回収率で濃縮できることが明らかとなった。この条件を実試料に適用した結果, ダイオキシン類の回収率の低下は認められず, 実試料へも適用可能であることが明らかとなった。

#### 4. PCDDs/PCDFs 及び Co-PCBs の減圧濃縮操作による損失

減圧濃縮操作における濃縮溶媒がダイオキシン類の回収率に及ぼす影響について検討した。

減圧濃縮装置にはロータリーエバポレーターを用い, *n*-ヘキサンとトルエン溶液中の PCDDs/PCDFs と Co-PCBs の回収率を比較した。その結果, Co-PCBs の低塩素化物のみがトルエンに比べて *n*-ヘキサン溶液中で回収率の低下が認められ, トルエン溶液では減圧濃縮操作での損失の影響を受けにくいことが明らかとなった。

#### 5. 秋田県における水田土壌及び河川底質中の PCDDs/PCDFs 及び Co-PCBs

分析法の検討によって最適化された方法を用いて秋田県の主要 3 河川である米代川, 雄物川及び子吉川流域の水田土壌及び河川底質中ダイオキシン類の濃度レベルの実態把握と異性体解析による汚染源の同定を行った。

試料採取は, 水田土壌については 3 河川の上流, 中流及び下流域を代表する計 9 地点から表層土壌を採取した。底質については 3 河川本流の河口 1 地点を含む米代川では 7 地点, 雄物川では 9 地点及び子吉川では 5 地点から表層底質を採取した。また, 組成パターンの比較のため, 各河川の中流又は下流域を代表する一般環境の計 3 地点から表層土壌を採取した。分析試料は採取試料を風乾, 調製したものをを用いた。ダイオキシン類の分析は, ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル(環境庁, 平成 12 年 1 月)及び底質調査測定マニュアル(環境庁, 平成 12 年 3 月)をもとに, 抽出, 前処理, 試料調製および GC/高分解能 MS 測定を行った。

ダイオキシン類の濃度レベルについては, 毒性当量では水田土壌及び河川底質ともに環境基準値の数分の一から数百分の一の低いレベルであった。また, 毒性当量及び実測濃度ともに PCDDs/PCDFs が Co-PCBs に比べて高かった。PCDDs/PCDFs の実測濃度については水田土壌に比べて底質中で低く, 水田土壌から河川底質への流出の影響は小さいことが明らかとなった。また, 各河川底質中のダイオキシン類の濃度は源流域から下流域に比べて河口域で高く, ダイオキシン類は河口域に残留・蓄積していることが明らかとなった。

河川底質中の PCDDs/PCDFs の同族体組成を流域別にみると, 源流域では 8 塩素化 PCDD の割合が, 源域よりも下流域では 4 塩素化 PCDDs 及び 8 塩素化 PCDD の両方又はどちらか一方の寄与する割合が高かった。こうした河川底質中の PCDDs/PCDFs の同族体組成については, 源流域では一般環境土壌や大気降下物の組成パターンに, 源流域よりも下流域での同族体組成は水田土壌及び農業不純物の組成パターンと極めて良く一致した。類似の結果は異性体組成のパターンの比較によっても得られた。水田土壌及び底質中の PCDDs/PCDFs 異性体の組成と既知汚染源の異性体組成を統計的手法により定量的に検討した結果, 水田土壌及び河川底質中の PCDDs/PCDFs は, 過去に日本の水田地域で多量に使用されていたとされている塩素系除草剤農薬(クロロニトロフェン及びペンタクロロフェノール)中の不純物及び大気降下物中の PCDDs/PCDFs の主要成分と一致した。これらの結果から, 農業不純物と大気降下物に由来する PCDDs/PCDFs は, 秋田県の水田土壌及び河川底質の重要なダイオキシン類の汚染源であることが明らかとなった。

#### 謝辞

本研究の遂行及び本論文の作成にあたり御指導と御鞭撻を賜りました秋田大学工学資源学部の小川信明教授には心より深く感謝いたします。本論文作成にあたって貴重な御助言を頂きました秋田大学工学資源学部の藤原一彦助手及び菊地良栄技術専門員に謹んで感謝いたします。本研究の遂行にあたり御高配を賜りました長沼隆生活環境文化部前参事(現健康環

境センター所長)、環境あきた創造課杉本俊比古前課長(現県民文化生活課長)、環境センター吉田昇元所長(現環境あきた創造課環境管理室長)、環境政策課眞壁江田男元課長(現財団法人秋田県総合公社環境保全局長)、生活環境文化部小林裕元次長及び環境政策課(現環境あきた創造課環境管理室)の関係各位に深く感謝の意を表します。また、本研究の遂行にあたり御協力と御鞭撻を頂きました土田重二環境センター前所長(現健康環境センター環境部長)、総務管理班並びに化学物質班の関係各位に感謝の意を表します。

### 付記

本文は、著者が平成15年から17年度の3年間、環境センター(現健康環境センター環境部)の高度技術研修の一環で秋田大学大学院工学資源学研究科博士後期課程に在籍し、平成18年3月22日に工学博士の学位を授与された際の論文の概要であり、その詳細は以下に掲載されている。

1) Kiguchi, O., Kobayashi, T., Saitoh, K., Ogawa,

N.: Loss of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans and Coplanar Polychlorinated Biphenyls during Nitrogen Gas Blowdown Process for Ultra-Trace Analysis, *Anal. Chim. Acta.*, **546**, 2005, 102-111.

2) Kiguchi, O., Kobayashi, T., Saitoh, K., Ogawa, N.: Loss of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans and Coplanar Polychlorinated Biphenyls during Vacuum Concentration for Ultra-Trace Analysis, *Int. J. Soc. Mater. Eng. Resour.*, **13**, 2005, 22-27.

3) Kiguchi, O., Kobayashi, T., Saitoh, K., Ogawa, N.: Pressurized Liquid Extraction of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans and Coplanar Polychlorinated Biphenyls from Contaminated Soil, *J. Chromatogr. A*, **1108**, 2006, 176-182.

4) Kiguchi, O., Kobayashi, T., Wada, Y., Saitoh, K., Ogawa, N.: Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins and Dibenzofurans in Paddy Soils and River Sediments in Akita, Japan, *Chemosphere*, **67**, 2007, 557-573.



## 平成 17 年度大気中揮発性有機化合物 (VOCs) モニタリング調査

桜庭恭司 和田佳久 斉藤勝美

平成 17 年度に実施した大気中揮発性有機化合物 (VOCs) モニタリング調査の結果は、環境省が定める優先取組物質 (9 種の VOCs) のうち、1,3-ブタジエンを除くすべての VOCs 成分で年平均値が大気環境基準値又は濃度評価のための参考値を下回っていた。また、測定を行ったすべての優先取組物質で、年平均値が全国平均値を下回っていることがわかった。

## 1. はじめに

平成 8 年 5 月の大気汚染防止法の一部改正により、地方公共団体は有害大気汚染物質による大気汚染の状況の把握に努めなければならないと定められた。これをうけ本県では、平成 9 年 10 月から有害大気汚染物質のモニタリング調査を開始した。

優先取組物質のうち、揮発性有機化合物 (VOCs) についてはジクロロメタン、ベンゼン、トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレン等 9 化合物について測定を行っている。平成 10 年 4 月からは、米国 EPA での VOCs の分析法 TO-14A<sup>1)</sup>に定められている化合物も加えた計 44 種の VOCs について測定を行っている。

## 2. 方法

## 2.1 試料採取地点

試料採取は図 1 に示した大館、男鹿、横手の県内 3 ヶ所で実施した。

## 2.2 試料採取方法および測定方法

調査地点における空気試料は、毎月 1 回、高真空化したステンレス製容器 (キャニスター)

に、加圧ポンプとマスフローコントローラーを用いて 24 時間一定流量で加圧採取した。キャニスターに加圧採取した空気試料中の VOCs は、空気試料自動濃縮導入装置 (Tekmar-Dohrmann 社製, AUTOCAN) で濃縮した後、ガスクロマトフ質量分析計 (島津製作所製, GCMS-QP5050A) に導入して測定した。

図 1 モニタリング地点

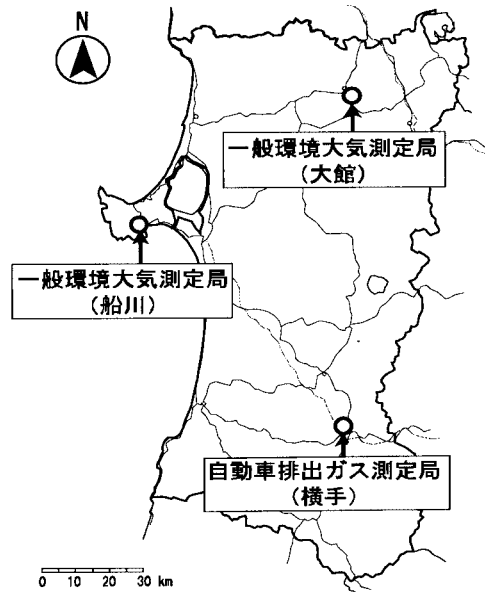


表 1 優先取組物質 9 化合物の大気環境基準または濃度評価のための参考値

化合物名	基準値または参考値	備考
塩化ビニルモノマー	1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.38 ppbv)*	オランダ大気環境目標濃度
1,3-ブタジエン	0.04 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.018 ppbv)*	EPA (米国環境保護庁) の 発がん性リスク濃度
アクリロニトリル	0.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.045 ppbv)*	
クロロホルム	0.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.081 ppbv)*	
1,2-ジクロロエタン	0.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.097 ppbv)*	
ジクロロメタン	年平均値 150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (42 ppbv)	大気環境基準
ベンゼン	年平均値 3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.92 ppbv)	
トリクロロエチレン	年平均値 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (37 ppbv)	
テトラクロロエチレン	年平均値 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (29 ppbv)	

\*濃度評価のための参考値。基準値および参考値は、気温20℃、1気圧における値である。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 優先取組物質

モニタリング調査で測定している優先取組物質9化合物のうち、ジクロロメタン、ベンゼン、トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンの4化合物については大気環境基準が定められており、その他の5化合物については濃度評価のための参考値が有害大気汚染物質測定方法マニュアル<sup>2)</sup>に示されている。優先取組物質9化合物の大気環境基準と濃度評価のための参考値は、表1のとおりである。

平成17年度のモニタリング調査で得られた各化合物の年平均濃度と濃度変動幅(最小値, 最大値)を表2に示した。優先取組物質9化合物のうち、大気環境基準が定められている4化合物については、すべての調査地点において環境基準を満たした。その他の5化合物については、一般環境調査地点の大館局と沿道調査地点の横手局において、1,3-ブタジエンの年平均値が濃度評価のための参考値を上回ったが、他の化合物はすべての調査地点において参考値以内であった。また優先取組物質9化合物について、平成17年度地方公共団体等における有害大気汚染物質モニタリング調査結果<sup>3)</sup>と比較したところ、すべての化合物において全国平均値を下回った。

#### 3.2 44種のVOCs

測定を行った44種のVOCsそれぞれについて、調査地点間の年平均濃度の差や濃度変動幅を比べると、CFC-12, CFC-114, クロロメタン, CFC-11, CFC-113 および四塩化炭素は、調査地点間で年平均濃度の差が小さく、濃度変動幅も少なかった。また、これらの化合物の年平均濃度は人為汚染の影響が少ないと考えられる白神山地における調査結果<sup>4)</sup>と同程度であった。1,1,1-トリクロロエタンは、調査地点間の年平均濃度差が小さく、いずれの調査地点においても調査開始時点から継続して減少傾向を示している。これに対して、1,3-ブタジエン, ジクロロメタン, ベンゼン, トルエン, エチルベンゼン, キシレン, 4-エチルトルエン, 1,3,5-トリメチルベンゼンおよび1,2,4-トリメチルベンゼンは、調査地点間で年平均濃度の差が大きく、濃度変動幅も大きかった。ジクロロメタンは溶剤や洗

浄剤として、トルエン, エチルベンゼンおよびキシレンは溶剤や塗料として用いられている。また、ベンゼン, トルエン, エチルベンゼン, キシレン, 4-エチルトルエン, 1,3,5-トリメチルベンゼンおよび1,2,4-トリメチルベンゼンはガソリンにも含まれており<sup>5)</sup>, 1,3-ブタジエン, ベンゼン, トルエン, エチルベンゼン, 1,3,5-トリメチルベンゼンおよび1,2,4-トリメチルベンゼンは自動車の排出ガス中からも検出されている<sup>6)</sup>。したがって、これら化合物の年平均濃度が高い調査地点では、自動車走行や溶剤, 塗料を使用する発生源等の影響を受けている可能性が考えられる。

#### 4. まとめ

測定を行った優先取組物質9化合物のうち、年平均値が環境基準値又は濃度評価のための参考値を超えたのは大館局および横手局の1,3-ブタジエンのみであった。

測定を行った優先取組物質9化合物の年平均値を全国平均値と比較したところ、すべての成分で全国平均値を下回っていた。

#### 参考文献

- 1) U. S. EPA: Determination of volatile organic compounds (VOCs) in ambient air using specially prepared canisters with subsequent analysis by gas chromatography (TO-14A), 1997.
- 2) 環境庁大気保全局大気規制課編: 有害大気汚染物質測定マニュアル, 環境庁大気保全局大気規制課, 1997, pp. 116.
- 3) 環境省環境管理局大気環境課: 平成17年度地方公共団体等における有害大気汚染物質調査結果, 2006.
- 4) 齊藤勝美, 和田佳久: 白神山地における大気環境中のVOCs(44化合物)濃度, 第40回大気環境学会年会講演要旨集, 1999, pp. 589.
- 5) 金子タカシ: ガソリン品質の市場調査結果, 日石レビュー, **40**, 1998, 100-126.
- 6) 村上雅彦, 横田久司: 自動車排出ガス中の揮発性有機化合物(VOC)の排出実態, 東京都環境科学研究所年報2004, 2004, 49-56.

表2 平成17年度の大気中揮発性有機化合物（VOCs）の調査結果

単位: ppbv

No.	化合物名	大 館		船 川		横 手		定量下限値	検出下限値
		平均値*1	最小値 - 最大値	平均値	最小値 - 最大値	平均値	最小値 - 最大値		
1	CFC-12	0.515	0.488 - 0.548	0.512	0.477 - 0.541	0.520	0.474 - 0.571	0.001	0.001
2	CFC-114	0.016	0.015 - 0.017	0.015	0.014 - 0.016	0.015	0.014 - 0.016	0.001	0.001
3	クロロメタン	0.503	0.470 - 0.620	0.508	0.470 - 0.620	0.473	0.430 - 0.530	0.005	0.001
4	塩化ビニルモノマー	0.003	ND - 0.015	0.004	ND - 0.018	0.003	ND - 0.013	0.001	0.001
5	1,3-ブタジエン	0.039	0.009 - 0.138	0.009	<0.005 - 0.014	0.049	0.016 - 0.137	0.005	0.001
6	プロモメタン	0.010	0.008 - 0.014	0.020	0.007 - 0.088	0.010	0.007 - 0.015	0.001	0.001
7	クロロエタン	0.010	<0.005 - 0.024	0.007	<0.005 - 0.014	0.019	<0.005 - 0.110	0.005	0.001
8	CFC-11	0.249	0.222 - 0.284	0.246	0.223 - 0.266	0.246	0.206 - 0.272	0.001	0.001
9	CFC-113	0.074	0.070 - 0.078	0.073	0.068 - 0.078	0.075	0.069 - 0.082	0.001	0.001
10	1,1-ジクロロエチレン	ND	ND - 0.005		ND		ND	0.001	0.001
11	3-クロロ-1-プロペン		ND		ND		ND	0.005	0.001
12	ジクロロメタン	0.104	0.044 - 0.273	0.079	0.041 - 0.203	0.108	0.051 - 0.202	0.001	0.001
13	アクリロニトリル	0.005	<0.005 - 0.014	<0.005	<0.005 - 0.008	<0.005	<0.005 - 0.008	0.005	0.001
14	1,1-ジクロロエタン	ND	ND - 0.002	ND	ND - 0.002	ND	ND - <0.001	0.001	0.001
15	シス-1,2-ジクロロエチレン		ND		ND		ND	0.005	0.001
16	クロロホルム	0.017	0.011 - 0.038	0.015	0.011 - 0.023	0.017	0.012 - 0.021	0.001	0.001
17	1,1,1-トリクロロエタン	0.019	0.015 - 0.021	0.017	0.015 - 0.020	0.018	0.015 - 0.020	0.001	0.001
18	四塩化炭素	0.092	0.081 - 0.099	0.092	0.081 - 0.099	0.093	0.081 - 0.104	0.001	0.001
19	1,2-ジクロロエタン	0.012	0.006 - 0.052	0.011	0.007 - 0.022	0.010	0.006 - 0.017	0.001	0.001
20	ベンゼン	0.28	0.13 - 0.61	0.19	0.09 - 0.32	0.31	0.18 - 0.62	0.05	0.01
21	トリクロロエチレン	0.008	<0.005 - 0.026	0.009	<0.005 - 0.025	0.014	<0.005 - 0.034	0.005	0.001
22	1,2-ジクロロプロパン	0.005	<0.001 - 0.030	0.004	0.002 - 0.012	0.003	<0.005 - 0.008	0.001	0.001
23	シス-1,3-ジクロロプロペン	ND	ND - <0.001	ND	ND - 0.003	ND	ND - 0.002	0.001	0.001
24	トルエン	0.52	0.18 - 1.54	0.21	0.12 - 0.45	1.25	0.52 - 2.28	0.01	0.001
25	トランス-1,3-ジクロロプロペン		ND		ND - 0.002		ND - <0.001	0.001	0.001
26	1,1,2-トリクロロエタン	0.004	ND - 0.043	ND	ND - <0.001	ND	ND - <0.001	0.001	0.001
27	テトラクロロエチレン	0.006	0.003 - 0.012	0.006	0.003 - 0.013	0.006	0.003 - 0.012	0.001	0.001
28	1,2-ジプロモエタン		ND		ND - <0.001		ND	0.001	0.001
29	クロロベンゼン	0.004	ND - 0.018	0.003	<0.001 - 0.013	0.001	<0.001 - 0.003	0.001	0.001
30	エチルベンゼン	0.085	0.037 - 0.211	0.043	0.018 - 0.089	0.177	0.069 - 0.317	0.005	0.001
31,32	m/p-キシレン	0.15	0.05 - 0.34	0.06	0.03 - 0.10	0.28	0.09 - 0.48	0.01	0.002
33	o-キシレン	0.065	0.028 - 0.146	0.027	0.014 - 0.053	0.120	0.038 - 0.200	0.005	0.001
34	スチレン	0.06	<0.01 - 0.19	<0.01	<0.01 - <0.01	0.03	<0.01 - 0.08	0.01	0.001
35	1,1,2,2-テトラクロロエタン	0.001	ND - 0.006	0.001	ND - 0.006	0.002	ND - 0.008	0.001	0.001
36	4-エチルトルエン	0.088	0.033 - 0.229	0.024	0.007 - 0.054	0.137	0.035 - 0.256	0.001	0.001
37	1,3,5-トリメチルベンゼン	0.027	0.008 - 0.074	0.007	0.002 - 0.015	0.042	0.010 - 0.078	0.001	0.001
38	1,2,4-トリメチルベンゼン	0.098	0.030 - 0.290	0.020	ND - 0.060	0.153	0.030 - 0.290	0.001	0.001
39	1,3-ジクロロベンゼン		ND		ND - <0.001		ND	0.001	0.001
40	1,4-ジクロロベンゼン	0.066	0.010 - 0.363	0.018	<0.005 - 0.106	0.028	<0.005 - 0.069	0.005	0.001
41	ベンジルククロライド		ND		ND		ND	0.001	0.001
42	1,2-ジクロロベンゼン	0.002	ND - 0.005	0.002	ND - 0.010	0.002	ND - 0.004	0.001	0.001
43	1,2,4-トリクロロベンゼン	ND	ND - <0.005		ND		ND	0.005	0.001
44	ヘキサクロロ-1,3-ブタジエン		ND		ND		ND	0.005	0.001

\*1: 平均値の算出にあたっては、分析値が検出下限値以上で定量下限値未満の場合にはその値とし、分析値が検出下限値未満の場合には検出下限値の1/2として計算した。

\*2: Not Detectable (検出下限値未満)

## 選択的フッ素吸着能を有する新規フッ素吸着材の合成とその吸着挙動

成田 修司 珍田 尚俊 菅原 勝康\*

チタン水酸化物からなる粉末状及びゲル状の2種類の新規吸着材を合成し、それらを用いたフッ化ナトリウム溶液中のフッ化物イオンの吸着挙動について検討を行った。

合成した新規吸着材は、TG-DTA, XRD, レーザー回折粒度分布計を用いて特性評価を行った。選択的フッ素吸着実験は高濃度の $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ の共存するフッ化ナトリウム水溶液を用いて回分式で行った。

粉末及びゲル状の新規フッ素吸着材の吸着特性を比較した結果、ゲル状のフッ素吸着材に幾つかの優位性が認められた。その優位性は以下のとおりである。(1)ゲル状吸着材のフッ化物イオン吸着容量が粉末状の容量と比較して明らかに大きい(2)粉末吸着材では、不可能であった5 mg/lという低濃度のフッ化物イオンを吸着材投入から20分までに定量下限値以下(<0.1 mg/l)まで除去可能であった。(3)ゲル状吸着材の吸着平衡に達する時間は粉末状と比較して明らかに早く、pHが2, 3及び4の場合には粉末状の数時間に対して、10~20分であった。(4)ゲル状吸着材はpHを調節することによって、吸着したフッ化物イオンを簡便に脱着した。

### 1. はじめに

近年、フッ素化合物は半導体等の製造、アルミニウム電解、過リン酸肥料、タイル、レンガ、ガラス繊維、セラミックス、練り歯磨きへの添加剤などに使用され、それらの工場からの排出により最大で15 mg/lの高濃度のフッ素が水中に混入し<sup>1)</sup>、フッ素の人体へ及ぼす影響が懸念されている。

フッ素の人体へ及ぼす主な影響は、神経障害、肝臓障害、骨格障害などが報告され、これらの障害を「フッ素中毒症」<sup>2)</sup>と総称する。現在、アメリカを中心としてイギリス、カナダ、オーストラリアなどの諸国で、フッ素が引き起こす中毒症の問題について社会問題化<sup>3)</sup>している。

このようなフッ素の問題が世界的に叫ばれる中、我が国では、平成11年2月に水質環境基準の改正が行われ、新たにフッ素が環境基準に追加された<sup>4,5)</sup>。これを受けてフッ素の排水規制も強化され、平成13年6月には、フッ素の排水基準が15 mg/lから8 mg/lに引き下げられた<sup>6)</sup>。既存事業所には暫定基準が設けられ、3年の猶予の後、平成16年7月から実施されることになっていたが、フッ素処理の安定的な技術が開発・実用化の途上であり、さらに一部業種について3年の暫定基準の延長となった。

現在、一般的に行われているフッ素処理工程は、従来のカルシウム凝集沈殿法で処理した後、アルミニウム塩及びイオン交換樹脂等の高額な高次処理を組み合わせることによって、基準値に対応している。この処理工程では、フッ素吸着後に発生するフッ化カルシウムの汚泥埋立地の確保及び埋立処理後の降雨等によるフッ素溶出の問題等を含んでおり、その廃棄物に関して半永久的に対処していかなければならない。そこで、我々は、廃棄物を出さないフッ素処理技術の確立を目指すために「1. 一次処理のみで、基準を満足させよう。2. 吸着したフッ素を資源化できる。3. 吸着材の再利用が可能である。」等の特徴を有

する新規フッ素吸着材の開発を目指した<sup>7,8)</sup>。

本研究では、フッ素と親和性の高いチタンに着目し、粉末状とゲル状の形態の異なる2種類のチタン水酸化物からなる吸着材の開発を行い、水溶液中のフッ素吸着挙動とそれに及ぼす溶液のpHの影響を調べることを目的とした。

### 2 方法

#### 2.1 フッ素吸着材の合成方法<sup>9)</sup>

##### 2.1.1 粉末状のチタン水酸化物からなる吸着材の合成方法

オキシ硫酸チタン( $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ )を2.0g 秤量し、ミリQ水50 mlに分散させた懸濁液を5分間静置する。その後アンモニア水10 mlをゆっくりと添加し、室温にて12時間熟成させた。生成した沈殿物のろ過、洗浄、乾燥(343 Kで10時間、その後383 Kで4時間)を行い、粉末状水酸化チタンを得た。以降これをTHPと記述する。

##### 2.1.2 ゲル状のチタン水酸化物からなる吸着材の合成方法

$\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ を2.0g 秤量し、ミリQ水10 mlに分散させ溶液が完全に透明になるまで攪拌した後に、アンモニア水10 mlをゆるやかに添加し、浮遊した羽衣状の生成物を得た。その後、羽衣状の生成物を静かに沈降させ、室温にて所定時間熟成させることにより水酸化チタンゲルを得た。以降これをTHGと記述する。

#### 2.2 合成した吸着材の特性評価

##### 2.2.1 吸着材の原料及び合成した吸着材のXRD解析

$\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 及びTHPの結晶構造を粉末X線回折装置(理学電機株)製、RAD-PC)を用いて分析した。

##### 2.2.2 熱重量・示差熱分析(TG-DTA)による吸着材のチタン含有量の算出

TG-DTA (理学電機(株)製, Rigaku TG8120) を用い、 $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  及び THP の重量減少特性から原料中の結晶水等の量を推算することによって、それらのチタン含有量を求めた。測定条件は標準試料としてアルミナ ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) を用いて、空气中で昇温速度 10 K/min, 保持時間 10 min で最高温度 600 K または 700 K まで加熱した。

### 2.2.3 粒度分布測定

THP と THG の粒度分布及び平均粒径をレーザー回折散乱式粒度分布測定計 (日機装(株)製, MICROTRAC9320-X100) を用いて測定した。

## 2.3 合成した吸着材によるフッ素の吸着実験

合成した吸着材を用いて、フッ化ナトリウム水溶液からフッ化物イオンの吸着実験を行った。その詳細を以下に述べる。

### 2.3.1 THP 及び THG によるフッ素吸着実験

$\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  2.0 g から調製した THP 0.5 g 及び THG を、それぞれ  $[\text{F}^-]_0 = 5$  または 50 mg/l の濃度に調整したフッ化ナトリウム水溶液 1 l に投入し、硝酸を用いて溶液を pH4 に調整した。pH が安定した後に、所定の時間ごとに 10 ml 溶液を採取し、採取した溶液を 10 倍に希釈した後に、溶液中のフッ化物イオン濃度をイオンクロマトグラフィー (日本ダイネクス(株)製, イオンクロマトグラフィー DX-120) を用いて定量した。

### 2.3.2 THG による模擬排水中 (フッ化ナトリウム溶液中) のフッ素吸着に及ぼす pH の影響

フッ素の吸着特性と pH の関係を調べるために、 $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  2.0 g から調製した THG を  $[\text{F}^-]_0 = 50$  mg/l のフッ化ナトリウム水溶液に投入した後、硝酸またはアンモニア水を用いて溶液を pH 2, 3, 4 に調整し、吸着実験を行った。溶液の pH が安定した後、所定の時間で 10 ml 溶液を採取し、採取した溶液を 10 倍に希釈した後、溶液中のフッ化物イオン濃度をイオンクロマトグラフィーを用いて定量した。また、酸性からアルカリ性領域におけるフッ素吸着に及ぼす pH の影響を調べるために、フッ化ナトリウム溶液 ( $[\text{F}^-]_0 = 50$  mg/l) の pH を 2~10 に調整し、上記と同様の試料採取を行った後、フッ化物イオン濃度をイオンクロマトグラフィーを用いて定量した。溶液の pH 変化はガラス電極式水素イオン濃度計 (TOA 社製, pH METER HM-20E) を用いて常時観測した。

### 2.3.3 THG のフッ素吸脱着特性

$\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  2.0 g から調製した THG をフッ化ナトリウ

ム水溶液 ( $[\text{F}^-]_0 = 50$  mg/l) に投入した後に、フッ化物イオンを吸着するため、硝酸を用いて溶液を pH 3 に調整した。溶液の pH が安定してから 1 時間後に 10 ml の溶液を採取した後に、フッ化物イオンを脱着するため、アンモニア水を用いて溶液を pH 9 に調整し、pH が安定してから 1 時間後に溶液を 10 ml 採取した。

pH 3 及び pH 9 における溶液採取を 1 サイクルとして、3 サイクル繰り返し行い、採取した溶液を 10 倍に希釈し溶液中のフッ化物イオン濃度をイオンクロマトグラフィーを用いて定量した。

### 2.3.4 ゲル状吸着材 (THG) によるフッ素の選択的吸着特性

硝酸イオン及び硫酸イオンが共存した溶液から THG のフッ化物イオン選択吸着性を調べるために、 $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  2.0 g から調製した THG の全量を  $[\text{F}^-]_0 = 50$  mg/l のフッ化ナトリウム水溶液に投入し硝酸を用いて溶液を pH 4 に調整した。溶液の pH が安定してから、所定の時間ごとに 10 ml 溶液を採取した後、10 倍に希釈し、それら溶液中のフッ化物イオン、硝酸イオン及び硫酸イオン濃度をイオンクロマトグラフィーで定量した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 吸着材のキャラクタリゼーション

$\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  と THP の XRD 結果を図 1 に示す。

$\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  の XRD パターンにおいて、低角側で

$\text{TiOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  に帰属されるピークが観測されたことから、 $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  は  $\text{TiOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  であると考えられる。一方、THP の XRD 結果から、この物質は非晶質であることが明らかとなった。

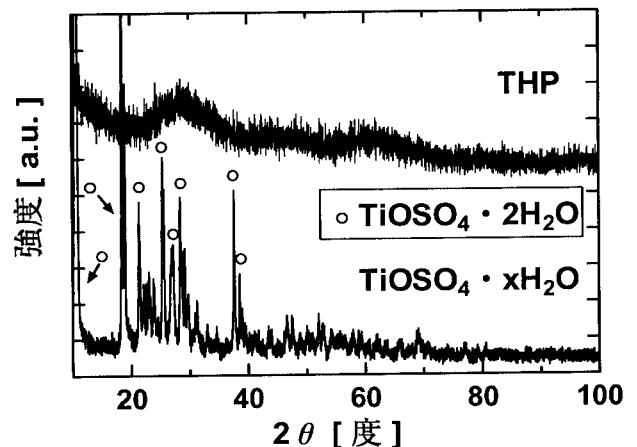


図1 XRD による THP 及び  $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  の結晶構造解析

THPのTG-DTA曲線を図2に示す。TG曲線は690Kまでに25.0%の重量減少を示した。一般的に水酸化チタンを空气中において加熱すると約650Kでアナターゼ型の酸化チタンを生成することが知られている。したがってTHPの系においても690Kでは全てのチタンが完全に酸化され、酸化チタンが生成したと考えられる。そこで加熱後に残った75.0wt%の試料が全て酸化チタンであると仮定し、THPのチタン含有量を算出した。その結果、THP 1gあたり $1.56 \times 10^2$  molのチタンを含有することが明らかとなった。

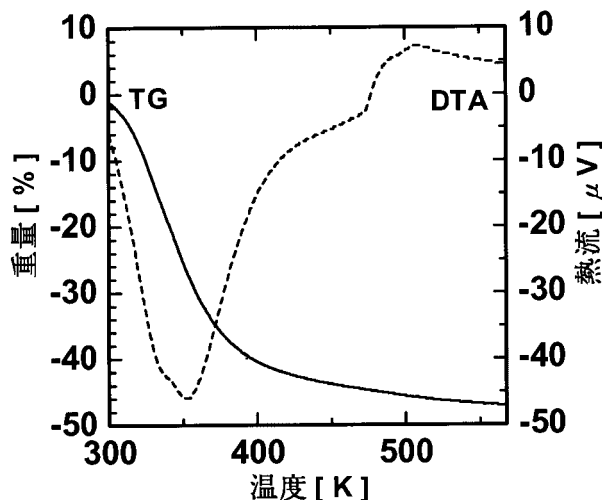


図2 THPのTG-DTA曲線

$\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ のTG-DTA曲線を図3に示す。 $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ のDTA曲線において300Kから560Kの間で3つの吸熱ピークが観測された。1つ目の吸熱ピークは370Kまでの低温域で現れたことから、表面吸着水の蒸発による吸熱反応を示していると考えられる。これに対し2つ目及び3つ目の吸熱ピークは、2つの結晶水の蒸発による吸熱反応であると考えられる。また、1つ目、2つ目、及び3つ目の各吸熱ピークに対応する重量減少率は、TG曲線からそれぞれ6.1、6.9、及び10.4%であり、全体の重量減少率は23.4%であった。以上の結果から、表面吸着水を含む $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ のxの値を求めると $x = 2.7$ であった。そこで、 $\text{TiOSO}_4 \cdot 2.7\text{H}_2\text{O}$ が含有する全てのチタンがTHGの合成において使われていると仮定し、 $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  2.0gから合成したTHGのチタン含有量を算出した。その結果、 $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  2.0gから合成したTHGは $9.58 \times 10^3$  molのチタンを含有することが明らかとなった。

しかし $x = 2.7$ という値はXRDで同定された結晶構造のxの値と異なる。この誤差の原因は、試料表面に存在する表面吸着水の重量減少率を結晶水の重量減少率としてxの値を計算したためであると考えられる。そこで、式1に示したように、全重量減少率から表面吸着水に帰属される

重量減少率を除いた17.3%が $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 中に含まれる結晶水に帰属される重量減少率であるから、その値を用いて $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ のxの値を算出した。その結果、 $x \approx 2$ であった。これらの計算結果から $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ は2つの結晶水を持つ $\text{TiOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ であると考えられ、この結果はXRDで同定された結晶構造のxの値と良く一致していた。

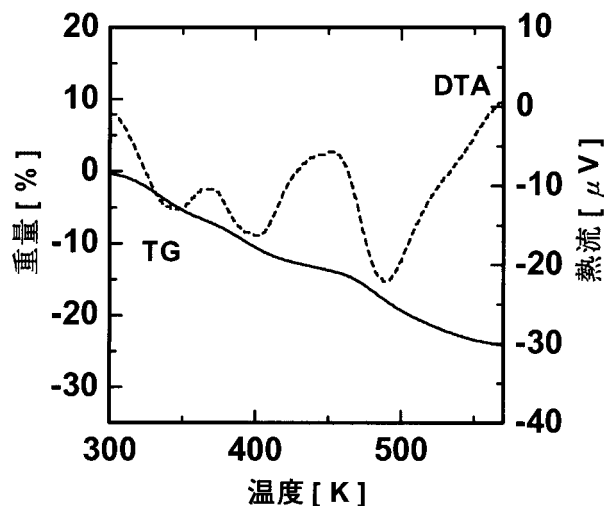


図3  $\text{TiOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ のTG-DTA曲線

THP及びTHGの粒度分布測定結果をそれぞれ図4及び図5に示す。THPの粒度分布はブロードで非対称な形をしていた。一方、THGの粒度分布はシャープで左右対称な形をしていた。また、THP及びTHGの粒度分布はそれぞれ0.6~22 $\mu\text{m}$ 及び1.8~11 $\mu\text{m}$ であり、平均粒径はそれぞれ3.6及び3.7 $\mu\text{m}$ であった。THPの粒度分布がブロードで非対称な形である理由として、THPの調製の際、懸濁液にアンモニア水を加えたときに、溶液に分散した $\text{TiOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を種結晶として成長した粒子と溶液中から核発生し成長した粒子が混在している状態であることが考えられる。

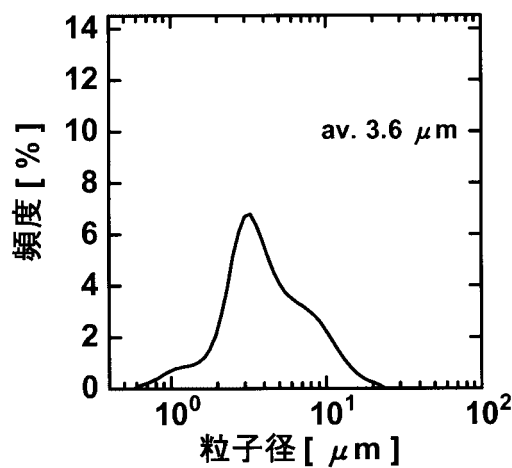


図4 THPの粒径分布

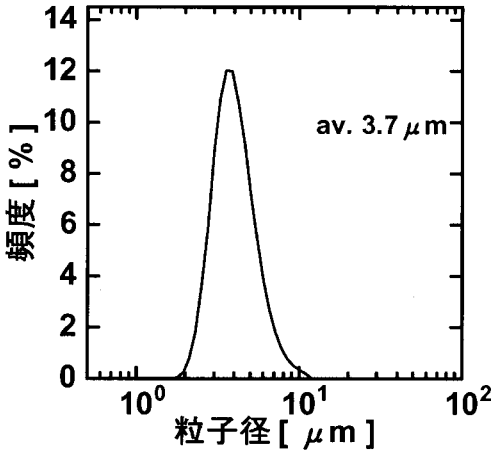


図5 THGの粒径分布

式1

$$\left( \begin{array}{c} \text{全重量減少率} \\ 23.4\% \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \text{表面吸着水に帰属される} \\ \text{重量減少率} \\ 6.1\% \end{array} \right) = \left( \begin{array}{c} \text{結晶水に帰属される重} \\ \text{量減少率} \\ 17.3\% \end{array} \right)$$

### 3.2 THP 及び THG によるフッ素吸着挙動

種々の濃度の水溶液からフッ化物イオンを吸着し、その吸着量を調べることによって、THP 及び THG の低濃度フッ化物イオンの吸着能力及びフッ化物イオン吸着容量の違いを検討した。

THP 及び THG を用いて  $[F^-]_0 = 50 \text{ mg/l}$ , pH4 のフッ化ナトリウム水溶液中のフッ化物イオンの吸着を行った結果を図6に示す。THG によるフッ化物イオンの吸着実験では、実験開始から約5分で初期濃度の70%以上を吸着し、さらに平衡に達するまでの時間は約30分であった。一方 THP によるフッ化物イオンの吸着量が平衡に達するまでの時間は約4時間であった。また、THP 及び THG によるフッ化物イオン吸着量が平衡に達したときのチタン1 molあたりのフッ化物イオン吸着量は、それぞれ  $8.70 \times 10^2$  及び  $1.97 \times 10^1 \text{ mol}$  であった。

また、合成した吸着材の低濃度フッ素に対するフッ素吸着性能を評価するため、フッ化物イオン濃度  $[F^-]_0 = 5 \text{ mg/l}$ , pH4 における吸着実験結果を表1に示す。THG は実験開始から1時間で溶液中の全てのフッ化物イオンを吸着した。これに対し、THP は24時間経過しても溶液中のフッ化物イオンを全く吸着しなかった。

THG が THP よりもフッ化物イオン吸着能力が高い理由として、形態の違いによる表面積の差が挙げられる。すなわち THG はゲル状でフレキシブルな柔らかい構造をして

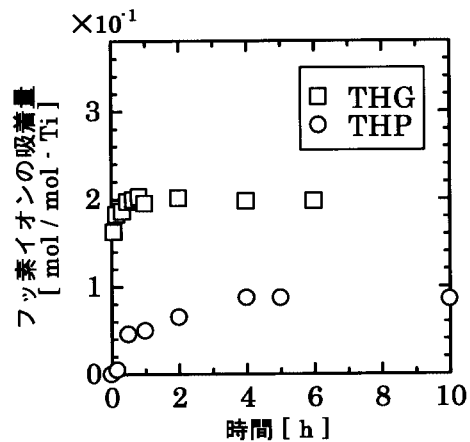


図6 吸着時間に対する THG 及び THP のフッ化物イオン吸着量の変化 ( $[F^-]_0 = 50 \text{ mg/l}$ , pH4.0)

表1 低濃度フッ素イオン水溶液における THG 及び THP のフッ素回収能力の比較

時間 [ hour ]	( $[F^-]_0 = 5 \text{ mg/l}$ , pH 4)	
	THG	THP
	[ F ] [mg/l]	
0	5.0	5.0
1	<0.1	5.0
24	<0.1	5.0

いるために外部表面だけでなく内部表面もフッ化物イオンの吸着に使うことが可能であるが、THPは棒状結晶で自由度の低い構造であるため、外部表面だけが有効に作用するからであると考えられる。

以上の結果から、実用化プロセスにおいては、低濃度のフッ化物イオンも吸着可能であり、吸着容量の大きいTHGが有効な吸着材として利用できる可能性が高いといえる。したがって、以後の実験はTHGについて行うこととする。

### 3.3 THGのフッ素吸着特性の検討

#### 3.3.1 フッ素吸着-脱着におけるpH条件

THGを用い、種々のpHにおけるフッ化ナトリウム水溶液中のフッ化物イオンの吸着挙動を調べることによって、吸着に及ぼすpHの影響を検討した結果を以下に示す。

pH 2, 3, 4の3種類のフッ化ナトリウム水溶液 ( $[F^-]_0 = 50 \text{ mg/l}$ ) を用い、フッ化物イオンの吸着実験を行った結果を図7に示す。フッ化物イオン吸着量が平衡に達するまでの時間はpH2では約20min, pH3, 4ではそれぞれ約10minであった。また、そのときのチタン1molあたりのフッ化物イオン吸着量はpH2で約  $1.5 \times 10^{-1} \text{ mol}$ , pH3及び4ではそれぞれ約2.4ならびに  $1.9 \times 10^{-1} \text{ mol}$  であった。これらの結果からTHGのフッ化物イオン吸着量及び吸着量が平衡に達するまでの時間は、溶液のpHにより異なることが明らかとなった。

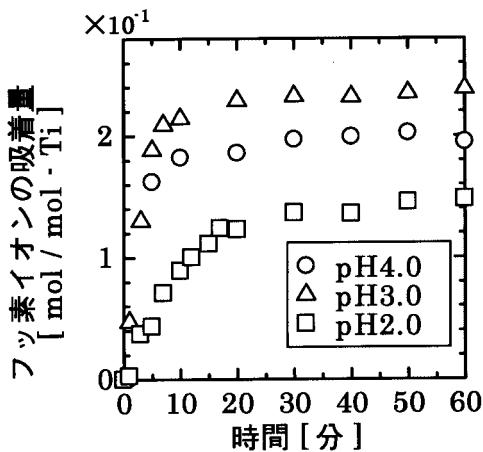


図7 THGのフッ化物イオン吸着に及ぼすpHの影響 ( $[F^-]_0 = 50 \text{ mg/l}$ )

pH 2, 3, 4の3種類のフッ化ナトリウム水溶液 ( $[F^-]_0 = 50 \text{ mg/l}$ ) におけるフッ化物イオンを吸着した際の溶液のpH変化を図8に示す。初期pH 2, 3, 4の全ての溶液においてTHGによるフッ化物イオンの吸着に伴う溶液のpHの上昇が確認された。この結果はTHGの系においてフッ

化物イオンの吸着が、溶液中のフッ化物イオンとTHGの持つOH間のイオン交換反応によるものであることを示唆している。

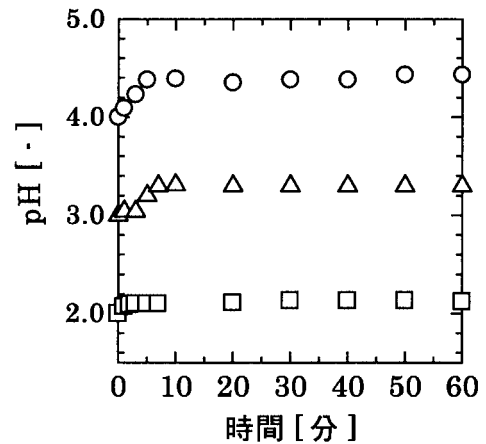


図8 THGによるフッ化物イオン吸着時のpH変化

溶液をpH2~10まで変化させ、各pHでフッ素吸着実験を行い、1時間後のフッ化物イオン濃度を図9に示す。溶液がpH2からpH3の間では溶液のpHの上昇に伴いフッ化物イオンの吸着量は増加した。pH3においてフッ化物イオンの吸着量は最も多くなり、チタン1molあたり  $2.38 \times 10^{-1} \text{ mol}$  を吸着した。一方、pH3からpH8の間では、溶液のpHの上昇に伴って吸着量が直線的に減少し、pH9以上では吸着した全てのフッ化物イオンを脱着した。これらの結果は、THGのフッ化物イオン吸着量がpH依存性を持つことを示している。つまりTHGは溶液のpHを調整することで簡単にフッ化物イオンの吸脱着が可能なのである。上記の結果は、以下のように理解できる。水酸化チタンは溶液のpHによって存在形態が変化し、pH2では  $\text{Ti}(\text{OH})_2^{2+}$ , pH3では  $\text{Ti}(\text{OH})_3^+$ , pH4以上では  $\text{Ti}(\text{OH})_4$  として溶液中に安定に存在することが知られている<sup>9)</sup>。したがってpH2におけるフッ化物イオンの吸着量が、pH3におけるフッ化物イオンの吸着量と比べて減少している理由は、pH2の溶液中においてTHGが一部溶解し、それらが  $\text{Ti}(\text{OH})_2^{2+}$  イオンとして溶液中に存在しているからである。また、pH3において吸着量が最も多くなるのは、pH3付近において溶液中の水酸化チタンが  $\text{Ti}(\text{OH})_3^+$  から  $\text{Ti}(\text{OH})_4$  または  $\text{Ti}(\text{OH})_3^+$  から  $\text{Ti}(\text{OH})_4$  への平衡状態にあり、存在状態が最も不安定で反応性に富むためであると考えられる。



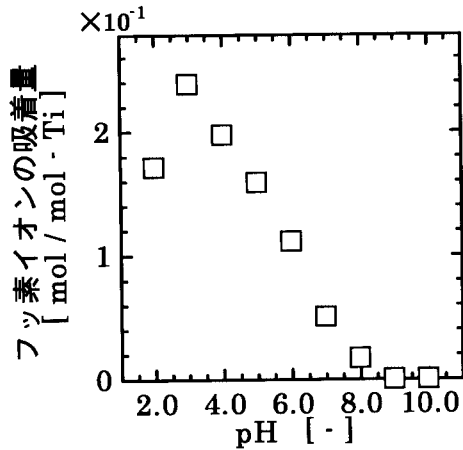


図9 pH上昇に伴うTHGのフッ化物イオン吸着量の変化 ( $[F^-]_0 = 50 \text{ mg/l}$ )

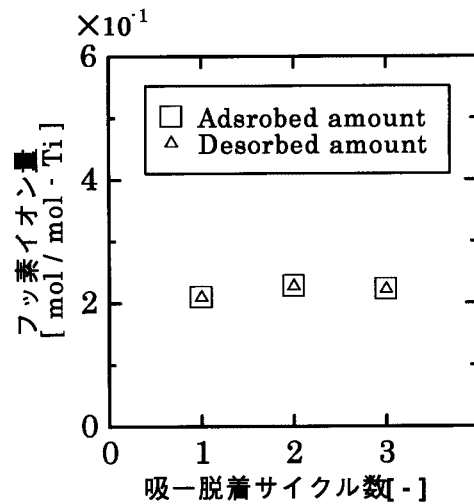


図10 吸-脱着サイクル数の増加に伴うTHGのフッ化物イオン吸脱着量の変化 ( $[F^-]_0 = 50 \text{ mg/l}$ )

### 3.3.2 吸脱着サイクル数に伴う吸着量の変化

3.3.1 において水酸化チタンゲルのフッ化物イオン吸着量はpH依存性を持ち、また、溶液のpHを調整することで簡便にフッ化物イオンの吸脱着が可能であることが明らかとなった。そこで、水酸化チタンゲルを用いて、フッ化ナトリウム水溶液中のフッ化物イオンの吸着操作及び吸着後の吸着材中のフッ化物イオンの脱着操作を繰り返し行い、それぞれの操作におけるフッ化物イオン濃度を定量し、吸脱着サイクルに伴う吸着量の変化について検討した結果を図10に示す。

1回目の吸脱着サイクルにおけるフッ化物イオンの吸着量及び脱着量はそれぞれ2.1及び $2.1 \times 10^{-1} \text{ mol}$ であり、フッ化物イオンの脱着率は100%であった。また2回目及び3回目のサイクルにおけるフッ化物イオンの吸着量は、それぞれ2.2,  $2.2 \times 10^{-1} \text{ mol}$ であり、1回目のサイクルと比べほとんど変化はなかった。一方、フッ化物イオンの脱着量はそれぞれ2.2,  $2.2 \times 10^{-1} \text{ mol}$ であり、脱着率は共に100%であった。以上の結果から、THGによるフッ化物イオンの吸着量及び脱着量は、3回の吸脱着サイクルではほとんど変化せず安定に吸脱着を繰り返すことが明らかとなった。

### 3.3.3 選択的フッ素吸着特性

一般に工場排水にはフッ化物イオンの他に硝酸イオン、硫酸イオン等の様々なアニオンが共存している。本研究でターゲットにした排水においても硝酸イオン、硫酸イオン等のアニオンが共存していた。このような工場排水中において、合成した吸着材を用いてフッ化物イオンの吸着を行う場合、吸着材にフッ化物イオンの吸着選択性があるならば、排水中のフッ化物イオンを選択的に吸着可能であり、共存アニオンの吸着によるフッ化物イオンの吸着効率の低下を避けることができる。

そのため選択的なフッ化物イオンの吸着能力は効率の良いフッ素吸着を目指す上で重要な条件と言える。

そこで、原料由来の硫酸イオン及び硝酸イオンが共存したフッ化ナトリウム水溶液中の、フッ化物イオンの吸着実験をTHGを用いて行い、それぞれのイオンの吸着量の時間変化を調べることによって、THGの選択的フッ素吸着特性を検討した結果を表2に示す。フッ化物イオンの吸着阻害が起こりやすいように、硝酸イオン及び硫酸イオンを高濃度で共存させた。溶液中のフッ化物イオン、硝酸イオン及び硫酸イオンの初濃度はそれぞれ50,  $8.0 \times 10^3$ 及び $11 \times 10^3 \text{ mg/l}$ であったが、THGによる吸着を開始してから24時間後の濃度はそれぞれ12,  $8.0 \times 10^3$ 及び $11 \times 10^3 \text{ mg/l}$ であった。フッ化物イオン、硝酸イオン及び硫酸イオンのうち、フッ化物イオンの濃度だけが時間の経過に伴って減少したが、他のアニオンの濃度にほとんど変化はなかった。また、THGによるフッ化物イオンの吸着量は60分間でチタン1 molあたり $2.1 \times 10^{-1} \text{ mol}$ であった。これらの結果からTHGはフッ化物イオンに対して選択的な吸着能力を持ち、吸着速度及びチタン1 molあたりのフッ化物イオン吸着量も共存アニオンの影響を受けることなく、フッ化物

イオン単独の溶液における吸着結果とほぼ同様の吸着特性を示すことが明らかとなった。

表2 THGのフッ化物イオン吸着に及ぼす共存アニオンの影響 ( $[F^-]_0 = 50\text{mg/l}$ , pH 4)

時間 [分]	F <sup>-</sup>	NO <sup>3-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
	[mg/l]		
0	50	$8.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$
10	15	$8.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$
27	12	$8.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$
60	12	$8.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$

#### 4 まとめ

- 1 粉末状のフッ素吸着材 (THP) とゲル状のフッ素吸着材 (THG) のフッ素吸着比較実験の結果より, THG は低濃度のフッ化ナトリウム水溶液から, 定量下限値以下までフッ化物イオンを吸着することが可能であり, またTHGはTHPと比較して吸着容量も大きいことが明らかとなった。
- 2 THGは溶液のpHを調整することによって簡便にフッ素イオンの吸脱着が可能であり, さらにTHGによるフッ化物イオンの吸着量及び脱着量は3回の吸脱着サイクルではほとんど変化しない結果が得られた。
- 3 THGは大量の硝酸イオン及び硫酸イオンの存在する溶液中においても, フッ化物イオンを選択的に吸着可能であった。

#### 参考文献

- 1) 社団法人 日本水道協会ホームページ.  
<http://www.jwwa.or.jp/index.html>
- 2) Japanese society for fluoride research home page.  
<http://members.jcom.home.ne.jp>
- 3) Japan fluoride Alert network. <http://members.jcom.home.ne.jp>
- 4) 環境庁：水質汚濁に係わる環境基準についての一部を改正する件, 平成11年2月22日, 環境庁告示第14号。
- 5) 環境庁：地下水の水質汚濁に係わる環境基準についての一部を改正する件, 平成11年2月22日, 環境庁告示第16号。
- 6) 環境庁：排水基準を定める省令の一部を改正する省令, 平成13年6月13日, 環境庁告示第16号。
- 7) 特許 特開2005-118639「フッ素イオン吸着材及びその合成方法並びにフッ素イオンの回収方法」。
- 8) 氏家千栄子, 成田修司, 菅原勝康, ケミカルエンジニアリング 2005, Vol.50, No. 2, 42-45.
- 9) Charles F. Baes, Ed., *Text book Binding* (1976).

## **Ⅲ 環境センターの事業概要**

### **3. 発表業績一覧**

## 1. 学会発表

### Temporal variation of elemental components of PM<sub>2.5</sub> along highway in a midsize city in northern Japan – non-snow-clad period to snow-clad period comparison

K. SAITOH, M. SHINOHARA\*<sup>1</sup>,  
K. SERA\*<sup>2</sup> and M. FUJIWARA\*<sup>1</sup>

European Aerosol Conference 2005,  
28 August – 2 September 2005, Ghent, Belgium

Atmospheric particulate matter (PM) has a variety of causes. It also has a variety of properties, and since those properties are ever changing, it is important to obtain high time-resolution chemical data in order to assess its behavior and characteristics. In the case of roadside PM in particular, since it is affected by the nature of the automobile traffic and the road conditions, these factors need to be studied together with high time-resolution chemical data when examining its behavior and characteristics. Consequently, we are performed at directly multi-elemental analysis by particle induced X-ray emission (PIXE) of hourly PM<sub>2.5</sub> spot sample on PTFE ultra-membrane filter-tape (HORIBA Ltd., roll type filter TFH-01) mounted in automated beta-ray absorption mass monitor, and studied the behaviour and characteristics of roadside PM<sub>2.5</sub>. Continuous measurement of PM<sub>2.5</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, O<sub>3</sub> and wind direction and velocity, were conducted along a highway at the centre of Akita City in northern Japan, from, 18 – 25 February (snow-clad period) and 23 – 30 October (non-snow-clad period) in 2004. For PM<sub>2.5</sub> spot samples of typical temporal variation pattern for PM<sub>2.5</sub>, NO<sub>x</sub> and O<sub>3</sub>, *i.e.*, affected samples by the automobile traffic, elemental concentrations in the samples were determined by PIXE at Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association. In the hourly PM<sub>2.5</sub> spot samples during the snow-clad period, 22 elements were determined in total. Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca, Fe and Zn are the major

components. On the other hand, 23 elements, including As, are found in the non-snow-clad period. Dominant elements, *i.e.*, major components, of the non-snow-clad period were the same as the snow-clad period. Comparing the arithmetic means of major elemental concentrations in PM<sub>2.5</sub> for snow-clad and non-snow-clad period, Na, Cl, K and Zn are similar. However, Mg, Al, Si, S, Ca and Fe levels in the snow-clad period samples were 1.6 and 2.3 time higher than those in the non-snow-clad period samples, respectively. Temporal variation patterns of Si, S and Ca in the snow-clad period were different from those in the non-snow-clad period, but PM<sub>2.5</sub> pattern was similar. In the snow-clad period, patterns of Si, S and Ca were similar. On the other hand, in non-snow-clad period, those patterns were different.

\*<sup>1</sup>: Horiba Ltd., \*<sup>2</sup>: Cyclotron Research Center, Iwate Medical University.

### Size distribution and chemical composition of nano- to micrometer-size particles in roadside atmosphere

S. HASEGAWA\*<sup>1</sup>, A. FUSHIMI\*<sup>1</sup>,  
S. KOBAYASHI\*<sup>1</sup>, K. SAITOH,  
K. TANABE\*<sup>1</sup> and S. WAKAMATSU\*<sup>1</sup>

The 16<sup>th</sup> Regional Conference of Clean Air and  
Environment in Asian Pacific Area,  
2-4 August 2005, Tokyo, Japan.

Number concentration and size distribution of particles were measured with scanning mobility particle sizers (SMPS) at Ikegami-Shincho Crossing in Kawasaki City, Japan. Bimodal size distribution with modal size diameters around 20 nm and 60-80 nm was observed. Diurnal variation of number concentration smaller than 50 nm correlated with NO and NO<sub>x</sub> very well. The high concentration in the morning corresponded with the increase of traffic volume, whereas the decrease of the concentration seemed to be influenced by

meteorological conditions, such as wind speed and the height of mixing layer. The concentration level in the morning was inversely proportional to temperature and wind speed. Size-resolved chemical composition was also investigated by collecting on quartz-fiber filters, aluminum foils, and polycarbonate filters by low-pressure impactors (LPI). EC and OC were analyzed with DRI model 2001 carbon analyzer. IMPROVE protocol was used for the temperature and atmosphere conditions. The analyzer is capable to correct the pyrolysis of OC by both sample laser reflectance (LR) and transmittance (LT), however pyrolysis correction was not considered in this study because pyrolyzed OC would be overestimated for impaction sample. Organic compounds were analyzed by thermal desorption gas chromatograph / mass spectrometer (TD-GC/MS). A sample was desorbed by heating from 50°C to 450°C with 50°C /min and held at the temperature for 2 min in pure He atmosphere. Particle volatility was examined using a thermal denuder (Temp=250°C) coupled to a SMPS. Elements were analyzed by proton induced X-ray emission (PIXE) method. The peak of EC mass size distribution was present at 200-300 nm, which corresponded with diesel exhaust particles (DEP). Although EC mass concentration was very low in particles smaller than around 100 nm, the fraction of 700°C in 2% O<sub>2</sub> atmosphere was primary, whereas the fraction of 550°C in 2% O<sub>2</sub> atmosphere was primary in particles larger than 300nm. Meanwhile, from the particle volatility measurement, particles smaller than around 50 nm mainly consisted of species that volatilized below 250°C in air. OC fractions constituted up to 80% of total carbon in nanoparticles (28-56 nm in diameter). The total ion chromatogram (TIC) of TD-GC/MS showed that less volatile compounds (C23-) were dominant for nanoparticles. TIC of diesel exhaust and roadside nanoparticles was similar to that of lubricating oil. However, TIC of roadside nanoparticles was slightly less volatile compared with that of lubricating oil. In addition, Na, S, Si, Mg, Ca, K and Fe were detected in roadside nanoparticles. Some of these elements

might be contributed by lubricating oil. On the other hand, it can be considered that TIC for particles of 102-163 nm was contributed by fuel and lubricating oil of diesel engine vehicles.

\*1: National Institute for Environmental Studies

## 森吉山の樹氷に含まれている化学成分の特徴

齊藤勝美 世良耕一郎\*<sup>1</sup> 吉村啓司\*<sup>2</sup>,  
児玉 仁 永淵 修\*<sup>3</sup>

第12回 NMCC 共同利用研究成果発表会,  
2005年10月, 盛岡市

日本列島はアジア大陸の東縁の中緯度帯に位置していることから、日本の大気環境は大陸から長距離輸送されてくる汚染物質に影響されている。特に、冬季から春季にかけては、自然起源あるいは人為起源の種々の汚染物質が大陸から長距離輸送されてくる。そこで、冬季の季節風によって大陸から長距離輸送されてくる汚染物質の評価を行うために、その影響を直接的に受けていると考えられる樹氷に着目し、森吉山の樹氷と新雪に含まれている粒子の元素を粒子荷電励起 X 線 (PIXE) 法、樹氷と新雪のイオン種をイオンクロマトグラフ法により分析した。他、X 線分析装置付き走査型電子顕微鏡 (SEM-EDX) による粒子の形態観察と組成分析をした。その結果、樹氷は大陸から長距離輸送されてくる汚染物質の影響を大きく受けていると示唆され、北西アジアでの長距離輸送されてくる汚染物質の評価をする上で、樹氷中の化学成分は重要な因子と考えられた。

\*1: 岩手医科大学サイクロトロンセンター,  
\*2: 秋田大学工学資源学研究所, \*3: 千葉科学大学危機管理学部

## 二層式カーボンシリカゲルを用いた PCDDs /PCDFs と Co-PCBs の分離溶出

小林貴司, 木口 倫, 山本 泉\*<sup>1</sup>, 齊藤勝美

第14回環境化学討論会, 2005年6月, 大阪市

ダイオキシン類分析の前処理操作を迅速かつ精度良く行うために, 吸着特性の異なるカーボンシリカゲルを積層にしたカラムを用いて, PCDDs /PCDFs と Co-PCBs を分離溶出させる検討を行った。検討の結果, PCDDs /PCDFs と Co-PCBs を分離するための最適な展開溶媒はトルエン濃度20%のヘキサン溶液であり, その溶出量は40mlであった。また, カラム内に残存する分離後のPCDDs /PCDFs を溶出するために必要なトルエン量は60mlであった。実試料での評価のために, 河川底質および水田土壌の抽出液を20%トルエン/ヘキサンによる分画操作で処理し, ダイオキシン類分析の底質, 土壌マニュアルで記されている25%ジクロロメタン/ヘキサンによる分画操作での定量値と比較したが, 同様の結果であった。これらの結果から, ダイオキシン類の迅速な分画法として, 二層式カーボンシリカゲルを用いたPCDDs /PCDFs と Co-PCBs の分離溶出法が有用であることがわかった。

\*1: 中外テクノス株式会社

## 秋田県の河川底質中におけるダイオキシン類の組成の特徴

木口 倫      小林貴司      齊藤勝美  
                 小川信明\*1

日本分析化学会第54年会,  
2005年9月, 名古屋市

底質中におけるダイオキシン類の濃度組成の情報入手することは, ダイオキシン類による環境汚染の実態と挙動を明らかにするうえで重要な意味をもっている。そこで, 本県の主要3河川の米代川, 雄物川及び子吉川の上流から下流域(河口地点を含む)にかけて採取された底質中におけるダイオキシン類の濃度組成比の特徴について検討した。検討の結果, 3河川の中流域から河口地点にかけて採取されたダイオキ

シン類の組成比のパターンは, PCDDs では1,3,6,8-, 1,3,7,9-TetraCDD, HeptaCDD及びOctaCDDが主体で, PCDFs では2,4,6,8/1,2,3,8/1,4,6,7/1,2,3,6-TetraCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF及びOctaCDFが主体の特徴的なものであった。こうした組成比のパターンは, 過去に日本中の水田地域で使用されていたとされる除草剤のクロロニトロフェン(CNP)とペンタクロロフェノール(PCP)に不純物として含まれていたダイオキシン類の組成と極めてよく一致する。したがって, 3河川の中流域から河口地点におけるダイオキシン類は, 水田土壌, つまり農薬不純物に由来することが示唆された。一方, 3河川の上流域から採取された底質中におけるダイオキシン類の組成比のパターンは, HeptaCDD及びOctaCDDが他に比べて高い組成比であった。こうした組成比のパターンは, 大気降下物の影響のみが主体と考えられる底質中でのダイオキシン類の組成比のパターンと類似する。したがって, 上流域の底質中におけるダイオキシン類は大気からの汚染の影響を受けているものと推察された。

\*1: 秋田大学工学資源学部

## 沿道大気中ナノ粒子の実態調査(2)化学組成

伏見暁洋\*1, 齊藤勝美, 藤谷雄二\*1,  
長谷川就一\*1, 田邊 潔\*1, 小林伸治\*1

第22回エアロゾル科学・技術研究討論会,  
2005年7月, 堺市

沿道大気粒子中の有機/元素炭素(EC/OC)と有機化合物の組成を, ナノ粒子画分を含む粒径別に調べた。サンプル粒子は, 川崎市池上新町交差点において, 低圧多段分級インパクターを用いて採取した。EC/OCと有機化合物は, それぞれ熱分離炭素分析計及び加熱脱着(TD-)GC/MS法で分析した。ナノ粒子(粒径29-58nm)ではOCがTCの80%と大きな割合を占めており, ナノ粒子は揮発性成分を多く含むというこれまでの知見を支持する結果となった。TD-GC/MSによるトータルイオンクロマトグラ

ム (TIC) のパターンは粒径によって大きく異なった。ナノ粒子の TIC は C23 n-アルカンより高沸点の成分が支配的であり、潤滑油の TIC とよく似ているが、潤滑油よりも高沸点成分の割合が若干高い。

\*<sup>1</sup>: 国立環境研究所

## 秋の稲わら焼き期間における稲わら粉じんの元素組成特徴

齊藤勝美 世良耕一郎\*<sup>1</sup> 岩田吉弘\*<sup>2</sup>

第 22 回 PIXE シンポジウム,  
2005 年 11 月, 敦賀市

東北地方の稲作地域では、稲の刈り取り後の田圃で稲わらを焼却する風景がみられ、秋の風物詩になっている。稲わら焼却は晴天日の夕方から行われるため、稲わら焼却の煙（稲わら粉じん）は接地逆転層の形成により上層に拡散せずに地上 50~100m の大気空間を漂い、周辺地域の大气中浮遊粒子状物質 (SPM) 濃度を上昇させる。そこで、稲わら粉じんの特徴を元素組成と粒子形態の面から検討するため、稲わら焼却が行われる 10 月に、秋田市の市街地と住宅地域および秋田市近郊の農村地域を対象として 1 時間間隔で TSP を捕集し、粒子荷電励起 X 線 (PIXE) 法による多元素同時分析と X 線分析装置付き走査型電子顕微鏡 (SEM-EDX) による形態観察と組成分析を行った。PIXE 法により TSP 中の元素分析を行った結果、主要元素から微量元素までの 26 元素が定量された。平成 8 年の 5~6 月にかけて行った非積雪期の結果 (平均値) と比較すると、住宅地域と農村地域で Si の濃度が約 2 倍になっている他、K と Ca の濃度は若干高くなっているが、他の元素に違いはみられない。また、秋田市市街地では元素濃度に違いは認められない。元素の時系列変化をみると、住宅地域と農村地域では稲わら焼却の煙が大気空間を漂っている時間帯で、SPM 濃度の変化と Si, K, Ca の濃度変化は一致している。こうしたことから、稲わら焼却による煙、つまり稲わら粉じんは Si, K, Ca が主体と考えられる。また、

SEM-EDX による形態観察と組成分析では、シリコン主体の粒子が確認され、その形態は稲わらの断片又は断片の集合であった。

\*<sup>1</sup>: 岩手医科大学サイクロトロンセンター,  
\*<sup>2</sup>: 秋田大学教育文化学部

## 八郎潟調整池におけるアナベナ属の増殖因子を用いた細胞数再現モデルの構築

佐藤信也 珍田尚俊 藤田賢一\*

第 40 回日本水環境学会年会  
2006 年 3 月 仙台市

アオコの形成は、藍藻類の増殖の段階と、これらが水面付近に集積する段階の二つのプロセスからなると考え、この第一段階である増殖のプロセスについて、藍藻類の一種であるアナベナ属の増殖特性に基づく細胞数再現モデルを構築した。増殖因子と考えられる温度、光、炭酸塩類及び硝酸イオン・リン酸イオンについては、すべての因子が整わなければ増殖しないことから、アナベナ属の細胞数を各因子の特性関数の積として表すこととした。各因子に関係する指標として、八郎潟調整池において平成 14 年及び平成 15 年夏季に約 7 日間隔で測定した細胞数、水温、pH、硝酸性窒素・リン酸態リン濃度の実測値及び日射量を用いることとし、既知の増殖特性に基づき関数形を仮定した。温度については、温度-光合成速度曲線に類似した指数関数を仮定し、光については、細胞数実測値と最も相関の高い前 6 日間積算日射量に比例するものと仮定し、炭酸塩類についてはアナベナ属が利用する炭酸水素イオンの濃度を 10 の pH 乗に比例すると仮定した。硝酸性窒素・リン酸態リン濃度及び滞留時間についても細胞数との相関を検討した結果、定数として取り扱うこととした。各関数の細部については、細胞数再現値と実測値との差の二乗和が最小となるように定数を定めた。この再現モデルの精度は、調査期間中のアナベナ属細胞数実測値 0~4,800 cells/0.1ml に対して確率誤差約 490 cells/0.1ml であった。

\* 秋田県北秋田地域振興局大館福祉環境部

## 天然素材から合成したリン回収材によるリン酸イオンの回収挙動

成田修司 珍田尚俊

第40回日本水環境学会年会  
2006年3月 仙台市

近年、富栄養化に伴うCODの増加や、アオコの発生等、閉鎖系水域の水質悪化が問題となっている。本県においても、同様の問題が深刻化し、それらを解決するための技術開発が求められている。本研究では、富栄養化の一つの原因と考えられるリンを回収するための吸着材を粉殻及び珪藻土などの天然素材と、リンと親和性の高いカルシウムとを複合化することによって合成した。合成したリン回収材と、それらとの比較のために製造した粉殻及び珪藻土の炭化物を用い、種々の濃度のリン酸イオン水溶液を用いてリン回収実験を行った結果、炭化物では比表面積の増加はみられたものの、リン酸イオンに対する回収能はみられなかった。一方、粉殻をカルシウム塩の懸濁溶液等に含浸した後、炭化処理を行うことによって、粉殻とカルシウムを複合化させたリン回収材では、リン回収能が発現した。さらに合成したリン回収材は、他の共存イオンが存在している溶液中においてもリン酸イオンのみを選択的にかつ迅速に回収することが可能であった。また、ク溶性試験の結果、一度回収したリンを100%溶出させることも明らかとなった。上記の粉殻とカルシウムを複合化させる合成方法は、珪藻土にも応用可能であった。

## 2. 他誌掲載論文

### PIXE法による石英繊維フィルターに捕集された大気粉じんの多元素同時分析

斉藤勝美 世良耕一郎\*<sup>1</sup>  
二ッ川章二\*<sup>2</sup> 北川政行\*<sup>3</sup>

RADIOISOTOPES, 54, 2005, 115-121.

石英繊維フィルターに捕集された大気粉じんの粒子荷電励起X線(PIXE)法による元素分析の確立を目的に、小型チャンバー等を用いてPd-carbon粉末を混入させたNIST標準物質(Urban Particulate Matter; SRM 1648)を石英繊維

繊維フィルター(Pallflex Fiber Filter, Model 2500 QAST, 47 mmΦ)上に捕集し、硝酸による簡便な化学的前処理を行い、フィルター上からのNIST標準物質の脱離状況と分析精度を検討した。フィルター試料からのNIST標準物質は、簡便な小型容器を用いた硝酸-マイクロウェーブ法によりほぼ完全に脱離していることが確認できた。PIXE分析による元素定量値は、NIST標準物質の認証値および参考値に対して70~110%で、概ね一致する結果が得られた。

\*<sup>1</sup>: 岩手医科大学サイクロトロンセンター,  
\*<sup>2</sup>: 日本アイソトープ協会滝沢研究所, \*<sup>3</sup>: ムラタ計測サービス(株)

### Loss of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans and Coplanar Polychlorinated Biphenyls during Nitrogen Gas Blowdown Process for Ultra-trace Analysis

Osamu KIGUCHI, Takashi KOBAYASHI,  
Katsumi SAITOH and Nobuaki OGAWA\*<sup>1</sup>

Analytica Chimica Acta, 546, 2005, 102-111.

This study examined standard solutions to assess the influence of the gas flow rate and organic solvent type on losses caused by gas blowdown of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans (PCDD/DFs) and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs). Results obtained here will contribute to maintaining analytical method performance and system quality for PCDD/DFs and Co-PCBs analyses. An organic solvent (with 0.5 ml each of acetone, dichloromethane, n-hexane, and toluene), PCDD/DFs or Co-PCBs, and their <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-labeled compounds were put separately into 10 ml pear-shaped flasks. The samples were blown to dryness at room temperature until the last trace of solvent disappeared. They were subsequently reconstituted in those flasks. Analyte recoveries were calculated by comparing blown samples to those that had not been blown. Recoveries of Co-PCBs were more affected than those of



PCDD/DFs when the gas flow rates were set at 203, 261, 332, and 456 ml/min. Losses of Co-PCBs were least at 203–332 ml/min. Regarding losses of PCDD/DFs and Co-PCBs, the toluene solution showed the least variation in recovery. An actual soil sample extract was also examined using optimized conditions for the gas flow rate and solvent types obtained by experiments in standard solutions. Thereby, the blowdown conditions gave quantitative recoveries of  $^{13}\text{C}_{12}$ -labeled compounds in the sample extract.

\*<sup>1</sup>: Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University.

#### **Examination of Quantitative Accuracy of PIXE Analysis for Atmospheric Aerosol Particle Samples: PIXE Analysis of NIST Air Particulate on Filter Media**

Katsumi SAITOH and Koichiro SERA\*<sup>1</sup>

International Journal of PIXE, 15, 2005, 59-63.

In order to confirm accuracy of the direct analysis of filter samples containing atmospheric aerosol particles collected on a polycarbonate membrane filter by PIXE, we carried out PIXE analysis on a National Institute of Standards and Technology (NIST, USA) air particulate on filter media (SRM 2783). For 16 elements with NIST certified values determined by PIXE analysis—Na, Mg, Al, Si, S, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn and Pb—quantitative values were 80–110% relative to NIST certified values except for Na, Al, Si and Ni. Quantitative values of Na, Al and Si were 140–170% relative to NIST certified values, which were all high, and Ni was 64%. One possible reason why the quantitative values of Na, Al and Si were higher than the NIST certified values could be the difference in the X-ray spectrum analysis method used.

\*<sup>1</sup>: Cyclotron Research Center, Iwate Medical University.

#### **Chemical Components in Rime on Mt. Moriyoshi in Northern Japan**

Katsumi SAITOH, Hitoshi KODAMA,  
Koichiro SERA\*<sup>1</sup>, Keiji YOSHIMURA\*<sup>2</sup>  
and Osamu NAGAFUCHI\*<sup>3</sup>

International Journal of PIXE, 15, 2005, 211-219.

In order to shed light on the long-range transport of atmospheric pollutants in the Northeast Asian regions, we studied the chemical components in rime and fresh surface snow on Mt. Moriyoshi (altitude: 1454 m), located on the Sea of Japan side of northern Honshu, Japan, near Northwest China and Southwest Russia. Rime and fresh surface snow samples were collected at Juhyou-Daira (near the summit; altitude: 1200 m) in February 2004. The pH range of rime samples was 4.2 – 4.9, and the electric conductivity (EC) range was 52 – 282  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . On the other hand, the pH range of snow samples was 4.5 – 4.9, and the EC range was 17 – 77  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . The elemental compositions, ionic species and particle shapes of these samples were determined and/or observed by PIXE, ion chromatography and SEM-EDX analysis. PIXE analysis of the rime and snow samples revealed 24 elements, of which Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti and Fe were found to be the major components. Comparing the determined values of rime and snow sample elements, rime samples were several times to several dozen times higher than snow samples for almost all the elements. For determined values of ionic species, rime samples were several times to several dozen times higher than snow samples. With the aid of SEM-EDX analysis, many small silicon-rich spherical particles were observed in the rime samples. Small silicon-rich spherical particles were also found in the snow samples. The existent forms of chemical components in rime will be an important factor when we consider the origin of air pollutants transported over long distances in the Northeast Asian regions.

\*<sup>1</sup>: Cyclotron Research Center, Iwate Medical University, \*<sup>2</sup>: Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University, \*<sup>3</sup>: Faculty of Risk and Crisis management, Chiba Institute of Science.

### **On the Structure and Trace Elements in Hair from Mexican Infants from Different Historical Periods**

C. SOLIS\*<sup>1</sup>, J. CANETAS\*<sup>1</sup> and K. SAITOH

International Journal of PIXE, 15, 2005, 103-109.

In this study we compared the structure and trace elements contents of three kinds of hair samples from Mexican infants: pre-Columbian mummies, mummies from the relatively recent past (less than 200 years) and from a healthy living 6-year old boy. External and internal morphology was characterized by electron microscopy. Trace elements were determined by PIXE (broad proton beam and microprobe method). The three groups showed difference in structure and elemental content. Calcium-containing mineral inclusions were observed in mummy hair but not in modern hair. Also, a progressive enrichment with age was observed for elements such as Ca, Fe, Mn, and Pb, indicating a postmortem incorporation. Other elements, such as Zn, Cu, and Sr, less affected by post-mortem processes, were present at very similar levels, but still in a higher proportion relative to modern hair, preventing any possible relation to the individual's health.

\*<sup>1</sup>: Institute of Physic, National Autonomous University of Mexico.

### **Loss of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans and Coplanar Polychlorinated Biphenyls during Vacuum Concentration for Ultra-trace Analysis**

Osamu KIGUCHI, Takashi KOBAYASHI, Katsumi SAITOH and Nobuaki OGAWA\*<sup>1</sup>

International Journal of the Society of Materials Engineering for Resources, 13, 2005, 22-27.

We investigated the effect of kinds of organic solvent on the losses of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans (PCDD/DFs), coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs), and their <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-labeled compounds during vacuum concentration. *n*-Hexane and toluene solutions containing the standards of those compounds were tested for the purpose. The kind of organic solvent has remarkable effect on the loss of <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-Co-PCBs from the standard solutions, while it has little or no effect on the losses of PCDD/DFs and <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-PCDD/DFs from the standard solutions. The losses of lower chlorinated <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-Co-PCBs with *n*-hexane solution were greater than the loss of the compounds with toluene solution. The relative amounts of <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-Co-PCBs in the condensate solvent produced during the vacuum concentration show that those of the compounds with toluene solution were less than that of *n*-hexane solution. These results demonstrate that the minimization of loss of the compounds with *n*-hexane solution may be achieved by adding toluene before the vacuum concentration. We also examined the relationship between the relative amounts of Co-PCBs and <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-Co-PCBs in the condensate solvents and vapor pressures of those compounds. There was the difference in the regression line slopes of the relative amounts vs. in the vapor pressures between the *n*-hexane solution and toluene solution. This fact could be useful for the optimization of the vacuum concentration conditions in the convenient analytical methods.

\*<sup>1</sup>: Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University.

### **Pressurized Liquid Extraction of**

**Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins,  
Polychlorinated Dibenzofurans and  
Coplanar Polychlorinated Biphenyls from  
Contaminated Soil**

Osamu KIGUCHI, Takashi KOBAYASHI,  
Katsumi SAITOH and Nobuaki OGAWA\*<sup>1</sup>

Journal of Chromatography A, 1108,  
2006, 176- 182.

Extraction solvents for pressurized liquid extraction (PLE) to extract polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans (PCDD/PCDFs), and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs) from contaminated soil were investigated. The PCDD/PCDFs and Co-PCBs in Certified Reference Material: CRM 0422 (Forest soil) were extracted using toluene, *n*-hexane, acetone, acetone/toluene and acetone/*n*-hexane (1:1, v/v). Soxhlet extraction was the reference method. Results demonstrated that PLE using mixed solvents produced better analyte recoveries than did single solvents. However, those results were lower than those for Soxhlet extraction. Additional extraction cycles using mixed solvents achieved better recovery results. Mixed solvents and several extraction cycles were necessary for satisfactory extraction of more tightly bound PCDD/PCDFs and Co-PCBs from soil.

\*<sup>1</sup>: Faculty of Engineering and Resource Science,  
Akita University.

**Characterization of atmospheric aerosol  
particles in a mountainous region in  
northern Japan**

Katsumi SAITOH, Koichiro SERA\*<sup>1</sup>  
and Tadashi SHIRAI\*<sup>2</sup>

3<sup>rd</sup> International Symposium on Air Quality  
Management at Urban, regional and Global Scales,

Proceeding pp. 46-52, 2005, Istanbul, Turkey.

The purpose of this study is to clarify the chemical characterization of particulate matter (PM) in a mountainous region and examine the effect of atmospheric pollutants transported to Japan from Northeast Asian regions. Sampling of size-resolved airborne PM was carried out on the west side of Mt. Moriyoshi near the summit in northern Japan, from 1 – 16 February (winter period) and 7 – 19 July (summer period) in 2004. The concentrations of several elemental and ionic species in each size-resolved PM sample were determined by particle induced X-ray emission (PIXE) and ion chromatography analysis. From these results, in the winter period, it is suggested that soil and sea-salt particles of PM<sub>10</sub> to PM<sub>2.5</sub> size and ammonium sulfate particles, *i.e.*, secondary-formed particles of <PM<sub>1.0</sub>, have been transported to Japan from the continent. On the other hand, in the summer period, it is suggested that PM was formed from soil and sea-salt particles of >PM<sub>10</sub> to PM<sub>2.5</sub> size and secondary-formed particles of <PM<sub>1.0</sub>.

\*<sup>1</sup>: Cyclotron Research Center, Iwate Medical  
University, \*<sup>2</sup>: Tokyo Dylec Co., Ltd..

**Analysis Technique of Inorganic  
Composition for Collection of Particulate  
Matter on a new Type of Glass-plate with  
Cascade Impactor**

Katsumi SAITOH, Kazuyoshi ITAI\*<sup>1</sup>,  
Emiko KOGA\*<sup>2</sup> and Yukihiro SHIBATA\*<sup>2</sup>

4<sup>th</sup> Asian Aerosol Conference,  
Proceeding pp. 361-362, 2005, Mumbai, India.

This study focuses on treatment techniques related to inorganic composition analysis of collected size-resolved PM (in the sense of PM of varying sizes) by ICP-MS and ion chromatography (IC) using the new glass-plate. Test analysis

samples of size-resolved PM were collected using a 3-stage NLAS impactor (Tokyo Dylec Co., Ltd., particle cut-size of stage is 10  $\mu\text{m}$ , 2.5  $\mu\text{m}$  and 1.0  $\mu\text{m}$  for a flow rate of 20 L/min) with a one-day sampling interval on the glass-plate (one set is two semicircular glass-plates) and a polycarbonate filter (back-up filter). Almost complete detachment of the collected samples from the glass-plate and back-up filter samples was achieved by 1% nitric acid and/or ultra pure water with 10 min of ultrasonication. Moreover, the accuracy of the ICP-MS analysis was confirmed by an analysis that used NIST air particulate on filter media (PM<sub>2.5</sub> on a polycarbonate filter). Characteristic inorganic composition data were obtained for each PM size, and it is believed to be possible to elucidate the behavior and major emission sources of PM by analyzing these data. The analysis results of ICP-MS for Na, Mg and Ca were almost the same as those of IC. Analysis results of NIST air particulate on filter media by ICP-MS were 70 – 100% of NIST certified and reference values, except for Al, Si, Ti and K. Therefore, obtaining highly accurate analysis data in a short time by combining collection of PM using the glass-plate with the simple method will lead to new developments in PM research.

\*<sup>1</sup>: Department of Hygiene and Preventive Medicine, Iwate Medical University School of Medicine, \*<sup>2</sup>: Yotsubishi Corporation.

### 森吉山の樹氷に含まれている化学成分の特徴

齊藤勝美 世良耕一郎\*<sup>1</sup> 吉村啓司\*<sup>2</sup>  
児玉 仁\*<sup>3</sup> 永淵 修\*<sup>4</sup>

NMCC 共同利用研究成果報文集,  
No.12 (2004), pp.304-309, 2005.

日本列島はアジア大陸の東縁の中緯度帯に位置していることから、日本の大気環境は大陸から長距離輸送されてくる汚染物質に影響されて

いる。特に、冬季から春季にかけては、自然起源あるいは人為起源の種々の汚染物質が大陸から長距離輸送されてくる。そこで、冬季の季節風によって大陸から長距離輸送されてくる汚染物質の評価を行うために、その影響を直接的に受けていると考えられる樹氷に着目し、森吉山の樹氷と新雪に含まれている粒子の元素を粒子荷電励起 X 線 (PIXE) 法、樹氷と新雪のイオン種をイオンクロマトグラフ法により分析した他、X 線分析装置付き走査型電子顕微鏡 (SEM-EDX) による粒子の形態観察と組成分析も行った。樹氷と新雪から 24 元素が定量され、主要な元素は Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti および Fe であった。樹氷と新雪の元素濃度を比較すると、樹氷の方が新雪よりも数倍～数十倍高かった。主要イオン種は、樹氷、新雪とも同じく Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> および Ca<sup>2+</sup> で、Cl<sup>-</sup> と Na<sup>+</sup> の濃度は特に高かった。また、イオン種に関しても、樹氷の方が新雪よりも数倍高かった。SEM-EDX による形態観察と組成分析では、樹氷からシリコン主体の小球体が数多く観察された。新雪からも数は少ないもののシリコン主体の小球体が観察された。樹氷は、大陸から長距離輸送されてくる汚染物質の影響を大きく受けていると示唆され、北西アジアでの長距離輸送されてくる汚染物質の評価をする上で、樹氷中の化学成分は重要な因子と考えられた。

\*<sup>1</sup>: 岩手医科大学サイクロトロンセンター,  
\*<sup>2</sup>: 秋田大学工学資源学研究所, \*<sup>3</sup>: 千葉科学大学危機管理学部

### 低濃度フッ化物イオンの選択的分離回収技術の開発

氏家千栄子\* 成田修司 菅原勝康\*

ケミカルエンジニアリング, 50, No. 2, 2005,  
42-45

2001 年の水質汚濁防止法の改正に伴い、工場排水中におけるフッ化物イオン濃度の排出基準は、15 mg/l から 8 mg/l に引き下げられた。従来のカルシウム凝集沈殿法等の除去方法では 10 mg/l が限界とされており、アルミニウム塩及び

イオン交換樹脂等の高次処理を組み合わせることによって、今後厳しくなる基準値に対応しようとしているのが現状である。しかしながら、高次処理プロセスは処理コストの増大という問題を内包しており、一次処理のみで基準を満足させ、汚泥を出さない新規回収材の開発が求められている。そこで本研究では、排水中のフッ化物イオンを吸着し、吸着したフッ化物イオンを再利用するための技術開発を目指して、新規フッ素吸着剤の開発を試みた。開発した新規吸着剤は、フッ化物イオンと親和性の高いチタンを原料としたゲル状フッ素吸着剤である。そのゲル状吸着剤を用いて吸着実験を行った結果、吸着挙動に及ぼす pH やフッ化物濃度の影響が明らかとなった。ゲル状吸着剤は、数 ppm レベルのフッ化物イオンを吸着可能であり、また多量の硝酸イオンや硫酸イオンが共存する中から選択的にフッ化物イオンを吸着することも明らかとなった。さらに、ゲル状吸着剤は、酸性から中性の領域でフッ化物イオンを吸着し、弱アルカリからアルカリ性の領域で脱着する特性も持ち合わせていた。

\* 秋田大学工学資源学部

秋田県健康環境センター年報

第1号 2005

---

発行日 平成19年 3月

発行所 秋田県健康環境センター

〒010-0874 秋田市千秋久保田町6-6

TEL (018)832-5005

FAX (018)832-5938

印刷所 有限会社 暁印刷

〒010-0914 秋田市保戸野千代田町7-31

TEL (018)863-3380