

# IV 資 料

## 地域における大腸がんに関わる生活習慣の特徴

張 勇 佐藤 智子 八幡裕一郎 田中 貴子  
高階 光栄 鈴木 紀行

To explore the situations of colorectal cancer-related lifestyle factors in Akita Prefecture, we described and compared those lifestyle factors between 1178 Akita people and 12481 Japanese people. The proportion of males aged 20 years or older considered having a drinking habit was 64.4%, especially high were the 40-50 and 60-70 year groups in 75% and 72%, respectively, 60% of males aged 40-70 years had a drinking habit. Salt intake was high trend in both males and females. 24.3% of female aged 40-49 years were considered obesity. Green-yellow vegetable intake was  $87.9 \pm 82.8$  g/day in male and  $91.5 \pm 86.2$  g/day in female less than the national average. The proportion of males aged 40-49 and females aged 30-39 years group have low physical activity habit were 8.6% and 5.7%, respectively. The groups aged 60 years over have low amount of physical activity. Our study suggests that it is important to modify these risk factors continuously to reduce colorectal cancer mortality rates in Akita prefecture.

キーワード：生活習慣、大腸がん、秋田県

### I はじめに

悪性新生物（がん）により死亡する人が年々増え続けている。特に大腸がんは世界において肺がん、胃がんに続き死亡率の高い疾患である<sup>1)</sup>。平成16年の厚生労働省のまとめによると、日本人の大腸がんによる年齢調整死亡率は男性が35.4（人口10万対）、女性が28.2（人口10万対）であり、男女ともに年々増加している<sup>2)</sup>。特に女性は平成15年に胃がんを上回り2年連続1位となっている。秋田県では、数年前から大腸がんによる死亡率が全国の中でも上位を占めるようになり、群をぬいて増加している状態である<sup>3)</sup>。世界がん研究基金（World Cancer Research Fund：WCRF）とアメリカがん研究財団（American Institute for Cancer Research：AICR）は「食物、栄養とがん予防：地球的視点」<sup>4)</sup>という報告書から、大腸がんと食物、栄養素、身体活動との関連を「確実」、「ほぼ確実」、「可能性あり」、「証拠不十分」の4段階に評価した（表1）。この結果より、身体活動と野菜摂取は大腸がんを防ぐことが確実であることがわかった。また、高アルコールの摂取、肉の摂取、食物繊維の摂取、喫煙、肥満などの生活習慣因子と大腸がんの発生との関連については多くの研究が報告されている<sup>5-15)</sup>。現在、秋田県では、大腸がんを早急に対応しなければいけない疾患として、秋田健康21計画において消化器がん（特に胃がん、大腸がん）を減らす施策が進められている。しかしながら、秋田県における大腸がんと生活習慣の要因については詳しく検討されていない。そこで我々は秋田

表1 食物、栄養素、身体活動と大腸がんの関連

評価	予防因子	リスク因子
確実	身体活動 緑黄色野菜	
ほぼ確実		肉 アルコール
可能性あり	食物繊維／非でん粉性多糖類 でん粉 カロテノイド	肥満 高身長 頻回の食事摂取 砂糖 総脂肪 飽和脂肪酸／動物性脂肪 加工肉 卵 焼きすぎの肉
証拠不十分	消化抵抗性でん粉 ビタミンC ビタミンD ビタミンE 葉酸 メチオニン 穀類 コーヒー	鉄

(WCRF/AICR報告書、一部改訂)

県民の大腸がんに関する生活習慣の現状を把握し、今後の予防策につなげることを目的とした。

### II 方法と材料

大腸がんに関わる生活習慣のデータは2001年の「県民の健康と食生活に関する調査報告書」<sup>16)</sup>と「国民栄養の現状」<sup>17)</sup>を用い、秋田県と全国を比較した。調査対象者数は秋田県が1178人（男：542人、女：636人）、全国が12481人（男：5852人、女：6629人）であった。主な生活習慣の項目はアルコール摂取、喫煙、運動、肥満度、食物摂取（油脂類、肉、海藻類、漬物、乳類、緑黄色野菜、米類など）14項目である。各項目を「予防要因として働く生活習慣」と「リスク因子として働く生活習慣」に分類した<sup>4-15)</sup>。

アルコール摂取について高アルコール摂取とは、1週間のうち3日以上さらに日本酒1合（180ml）以上を摂取することとし、ビール、焼酎、ワイン、ウイスキーを日本酒に換算した。運動習慣があるとは1週間に2回以上の運動を1回30分以上行い、1年以上継続していることとした。

集計はSPSS11.0を用いた。

### III 結 果

表2は大腸がんに関連する生活習慣の秋田県と全国との平均値を求めた結果である。リスク因子として、高アルコール摂取は秋田県では男性が64.1%であり、全国（53.3%）より高かった。特に40～50歳の75%、60～70歳の72%が高アルコール摂取であり、非常に高い割合であった（図1）。また、40～70歳の60%に飲酒習慣があった。秋田県における食塩の摂取は男性が13.2g/日、女性が11.6g/日であり、全国における調査結果とほぼ同等であった。秋田県の女性は30.7%が肥満であり、全国（21.6%）より高かった。

予防因子として、秋田県における緑黄食野菜の摂取は男性が87.9±82.8g/日、女性が91.5±86.2g/日であり全国より低かった。一方、米類の摂取は男性が501.3±256.2g/日、女性が339.5±151.2g/日であり全国より高かった。運動習慣があるのは秋田県の男性が25.5%、女性が15.9%であり全国より低かった。そのうち男性の40～49歳、女性の30～39歳はそれぞれ8.6%、5.7%であり非常に低かった（図2）。さらに男女ともに歩数が全国値と比べて少なく（表2）、60歳以上では7000歩未満であり、さらに低かった（図3）。

図1 秋田県男性のアルコール摂取状況  
（1日あたりの日本酒に換算・1Gou=180ml）

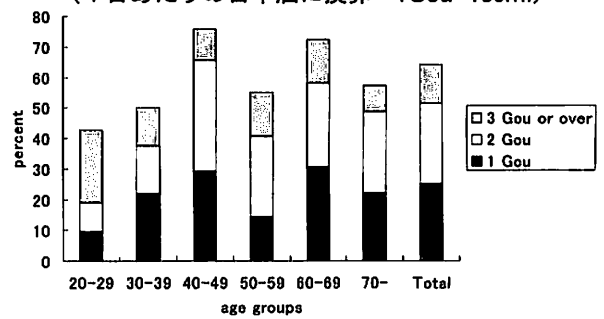


図2 秋田県民の運動習慣の割合

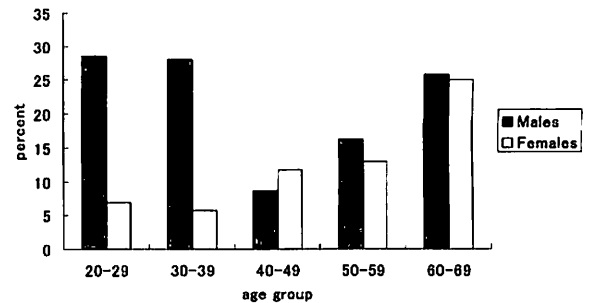


図3 秋田県民の運動量（歩数）

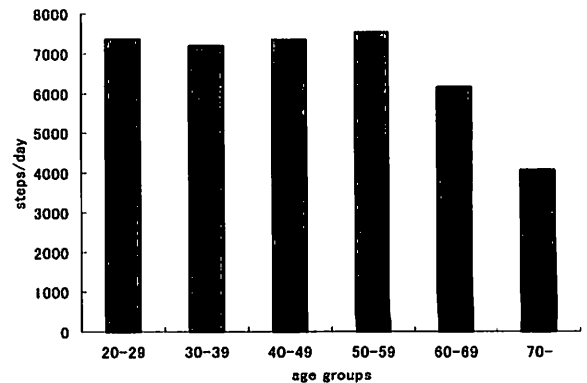


表2 大腸がんに関連する生活習慣因子（秋田県・全国）

因 子	秋田県 Percent or Mean ± SD (n=1178)		全国 Percent or Mean ± SD (n=12481)	
	男	女	男	女
<b>リスク因子</b>				
油脂類 (g/day)	11.0±10.8	8.9±8.6	12.6±10.7	10.2±9.3
肉類 (g/day)	80.7±71.9	60.8±56.1	89.0±78.8	65.0±59.9
畜肉類 (g/day)	56.1±58.5	42.6±47.6	No data	No data
乳類 (g/day)	149±188.5	137.2±153.0	165.1±201.2	174.5±179.6
食塩 (g/day)	13.2*	11.6*	12.2±5.4	11.0±4.9
漬け物 (g/day)	25.5±41.8	23.5±34.9	No data	No data
飲酒	64.1%	9.5%	53.3%	9.1%
喫煙	46.4%	6.7%	45.9%	9.9%
肥満 (BMI≥25)	27.3%	30.7%	28%	21.6%
<b>予防因子</b>				
緑黄色野菜 (g/day)	87.9±82.8	91.5±86.2	93.5±85.2	93.7±86.9
米類 (g/day)	501.3±256.2	339.5±151.2	420.9±217.3	299.3±150.6
海藻類 (g/day)	12.0±23.6	10.2±19.1	13.2±25.0	13.7±29.1
運動習慣	25.5%	15.9%	29.7%	27.1%
運動量 (step)	7008±4387	6155±3728	7797±4794	7168±3988

\*mean only

#### IV 考 察

緑黄色野菜の摂取と大腸がんの発生とは相関関係があることが、WCRF/AICR の調査も含めていくつかの研究で報告されている<sup>3, 8, 15)</sup>。今回の結果では秋田県民の緑黄色野菜の摂取が全国と比べて低い結果であったため、大腸がんの発生を抑制するためにも緑黄色野菜を積極的に摂取する必要がある。

また、先行研究から高アルコール摂取は大腸がん発生の要因として働くことが報告されている<sup>7, 8, 10, 14, 18)</sup>。秋田県において、アルコールの摂取は男性の中・高年齢層に非常に高い結果であったため、今後アルコールの節度ある適度な飲酒の知識を普及させ、アルコール摂取を減らす必要がある。

塩分の過剰摂取も大腸がんの発生と関連することが報告されている<sup>5, 6, 13)</sup>。厚生労働省が推奨している適切な塩分摂取量は10 g/日未満であり<sup>19)</sup>、今回の結果では秋田県、全国ともに推奨値を超えていた。さらに昔から漬物を好んで食べる習慣がある秋田県では、漬け物の摂取量も塩分摂取に大きな影響を及ぼしていると考えられる。

喫煙についてはWCRF/ALCR の調査では大腸がんの発生と関係があると報告している<sup>4)</sup>。国内でも国立がんセンターのコホート研究で同様の結果が公表されている<sup>14)</sup>。しかし今回の調査結果では秋田県の喫煙習慣がある人は、男性では全国とほぼ同じ、女性では全国よりも少ない結果であった。よって、喫煙は秋田県において大腸がん発生が多い生活習慣の特徴とはならないと考えられる。

女性では、肥満も大腸がん発生と関係している<sup>20)</sup>。特に活発な運動を行った場合、肥満防止につながるため、大腸がん発生の予防に有効であることがWCRF/ALCR の調査も含めて報告されている<sup>7, 8, 12-15)</sup>。秋田県の女性は運動習慣が少ない(表2)。また、男女ともに高年者の歩数が低く、中高年の運動活動量を高める必要がある。しかし、寒い冬が長く、積雪が多い秋田県では、運動活動量を高めるための環境づくりは非常に困難であり大きな課題となるが、これについては今後さらに調査する必要がある。

#### V 結 論

秋田県においては緑黄色野菜の摂取、活発的な身体活動の増加、漬物摂取の減少、中高年男性の飲酒量の減少などの生活習慣を改善することが大腸がん予防にとって重要である。今後はこれらの結果をふまえて大腸がん予防の施策につなげる研究を進める予定である。

#### 文 献

- 1) Shike M, Winawer SJ, Greenwald PH, et al. Primary prevention of colorectal cancer. The WHO Collaborating Centre for the Prevention of Colorectal Cancer. Bull World Health Organ 1990 ; 68 : 377-85.
- 2) 平成16年度人口動態統計年報 厚生労働省 2005
- 3) Age-adjusted Death Rate by Prefecture Special Report on Vital Statistics 2000, Statistics and Information Department, Minister's Secretariat, Ministry of Health and Welfare, Japan. 2002.
- 4) World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Food, nutrition and the prevention of cancer : a global perspective. American Institute for Cancer Research. 1997.
- 5) Haenszel W, Locke FB, Segi M, A case-control study of large bowel cancer in Japan. J Natl Cancer Inst 1980 ; 64 : 17-22.
- 6) Tajima K, Tominaga S, Dietary habits and gastro-intestinal cancers : a comparative case-control study of stomach and large intestinal cancers in Nagoya, Japan. Jpn J Cancer Res 1985 ; 76 : 705-716.
- 7) Kato I, Tominaga S, Ikari A, A case-control study of male colorectal cancer in Aichi Prefecture, Japan ; with special reference to occupational activity level, drinking habits and family history. Jpn J Cancer Res 1990 ; 81 : 115-121.
- 8) Kato I, Tominaga S, Matsuura A, et al. A comparative case-control study of colorectal cancer and adenoma. Jpn J Cancer Res 1990 ; 81 : 1101-1108.
- 9) Whittemore AS, Wu-Williams AH, Lee M, et al. Diet, physical activity, and colorectal cancer among Chinese in North America and China. J Natl Cancer Inst 1990 ; 82 : 915-26.
- 10) Yoshida K, A case-control study of colorectal cancer : association between smoking, drinking, family history of cancer and colorectal cancer. Jpn J Cancer Clin 1992 ; 38 : 371-378.
- 11) Hoshiyama Y, Sekine T, Sasaba T, A case-control study of colorectal cancer and its relation to diet, cigarettes, and alcohol consumption in Saitama Prefecture, Japan. Tohoku J Exp Med 1993 ; 171 : 153-165.
- 12) Kotake K, Koyama Y, Nasu J, et al. Relation of family history of cancer and environmental factors to the risk of colorectal cancer : a case-control stu-

- dy. *Jpn J Clin Oncol* 1995 ; 25 : 195–202.
- 13) Inoue M, Tajima K, Hirose K, et al. Subsite-specific risk factors for colorectal cancer : a hospital-based case-control study in Japan. *Cancer Causes Control* 1995 ; 6 : 14–22.
- 14) Murata M, Takayama K, Choi BC, et al. A nested case-control study on alcohol drinking, tobacco smoking, and cancer. *Cancer Detect Prev* 1996 ; 20 : 557–565.
- 15) Ogimoto I, Shibata A, Fukuda K. World Cancer Research Fund/American Institute of Cancer Research 1997 recommendations : applicability to digestive tract cancer in Japan. *Cancer Causes Control*. 2000 ; 11 : 9–23.
- 16) 県民の健康と食生活に関する調査報告書（上巻）. 秋田県, 2002, 1–148.
- 17) 国民栄養の現状（平成13年）. 健康・栄養情報研究会, 第一出版株式会社, 2003, 1–234.
- 18) Otani T, Iwasaki M, Yamamoto S, Sobue T, Hanaoka T, Inoue M, Tsugane S for the JPHC Study Group. Alcohol Consumption, Smoking, and Subsequent Risk of Colorectal Cancer in Middle-aged and Elderly Japanese Men and Women : JPHC Study. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2003 ; 12 : 1492–1500.
- 19) Dietary Reference Intakes of Japanese, Ministry of Health and Welfare, 2004. On line ([www.mhlw.go.jp/houdou/2004/11/dl/h1122-2a.pdf](http://www.mhlw.go.jp/houdou/2004/11/dl/h1122-2a.pdf))
- 20) Terry PD, Miller AB, Rohan TE Obesity and colorectal cancer risk in women. *Gut* 2002 ; 51 : 191–4.

## 県内産科医療機関における消毒剤使用状況と クレチン症再検査率

柴田ちひろ 石塚志津子 木村 清隆\*

新生児マス・スクリーニング検査のうち先天性甲状腺機能低下症スクリーニングにおいて、ヨード含有消毒剤を使用している医療機関では他の消毒剤を使用している医療機関と比較し、再検査率が有意に高くなるといわれており、また使用部位によっても影響の程度は異なるとされている。そこで県内産科医療機関に対して使用消毒剤に関するアンケート調査を実施した結果、ヨード含有消毒剤の使用および使用方法により再検査率が大きな影響を受けている現状が確認された。

キーワード：ヨード剤、クレチン症、TSH、Wolff-Chaikoff効果、再検査率

### I はじめに

昭和54年に先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）が新生児マス・スクリーニング対象疾患に加えられ、全国的に検査が実施されるようになってからすでに25年が経過した。その間、周産期にヨード含有消毒剤（ヨード剤）を使用する産科医療機関において、新生児の血中甲状腺刺激ホルモン（TSH）値が上昇するため偽陽性者が増加し、再検査数が多くなることが多数報告されてきた<sup>1,2)</sup>。これは消毒剤として使用されたヨードが経皮的あるいは経胎盤、経母乳的に新生児の血中に取り込まれ、過度のヨード負荷が起こることにより、Wolff-Chaikoff効果（図1）と呼ばれる甲状腺の自己調節機能が抑制に働くため、一過性にTSH値が上昇することによるものである<sup>3)</sup>。

秋田県においては同スクリーニングの再検査率が全国

と比較してやや高く、特に一部の医療機関で高率となっており、機関によって差が生じていた。しかし、これまで実際のヨード剤使用状況については把握されていなかったことから、今回県内産科医療機関の協力を得て、周産期における消毒剤使用状況についてアンケート調査を実施した。

### II 対象及び方法

#### 1. 対象

調査の対象は県内産科医療機関のうち、平成14年度から平成16年度までに、継続して新生児マス・スクリーニング検体送付のあった34機関とした。

#### 2. 方法

##### 1) アンケート調査

アンケートは郵送による自記式質問紙法とし、平成17年2月に配布、返却期限は3月とした。分娩時母体、新生児臍帯切断時、新生児臍部の部位別使用消毒剤について調査した。

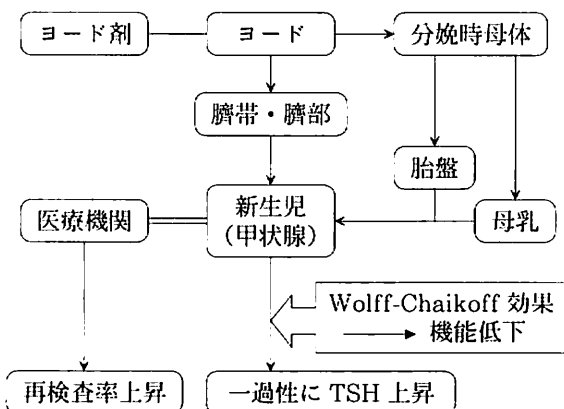
##### 2) 比較方法

アンケートの回答から群別を行い、それぞれの群ごとに再検査率および偽陽性率をt検定により比較した。再検査率および偽陽性率は平成14年度から平成16年度のクレチン症スクリーニング結果から次式より算出した。

(1) 再検査率 (%) : 再検査数 / 検体数 × 100

(2) 偽陽性率 (%) : (再検査数 - 精密検査数) / 検体数 × 100

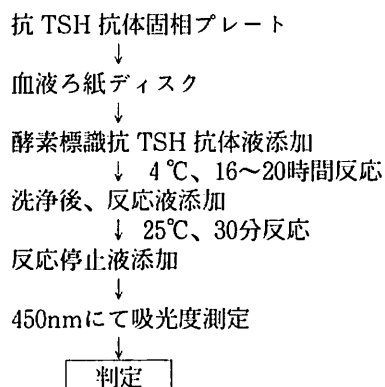
図1 クレチン症再検査率への影響機序



\* 平鹿地域振興局福祉環境部

なおクレチン症スクリーニングはエンザプレート Neo-TSH (バイエルメディカル社、ELISA 法) を用いて血中 TSH 値を測定し (図 2)、カットオフ値を 10  $\mu$ IU/mL とし、それ以上を再検査とした。

図 2 測定方法



### Ⅲ 結果及び考察

アンケート調査は32機関から回答が得られ、回収率は 94.1% (32/34) であった。回答のあった医療機関でいずれか 1 部位にでもヨード剤を使用していたのは32機関

中31機関 (96.9%) で、すべてに非使用は 1 機関のみであった。このことから県内産科医療機関では消毒剤としてヨード剤の使用が主流であることが確認された。

次に使用部位別の機関数、再検査率、偽陽性率を表 1 に示した。最も高い頻度でヨード剤が使用されていたのは分娩時母体で30機関 (93.7%)、ついで新生児臍帯切断時20機関 (62.5%)、新生児臍部 8 機関 (25.0%) であった (複数回答)。再検査率をみると、ヨード剤使用群では非使用群と比較して分娩時母体で1.4倍、新生児臍帯切断時で1.8倍、新生児臍部で1.8倍と高率になっており、各部位において再検査率に有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた。またいずれの部位においても使用群では、許容再検査率とされる1.0~1.5%を大きく上回っていた。またヨード剤を使用している機関が圧倒的に多いことから、全体の再検査率も1.70%と全国平均の1.35%よりも高いことが判明した。

表 2 にヨード剤使用部位の組み合わせ別再検査率、偽陽性率の比較を示した。すべての部位にヨード剤を使用していたのは 7 機関 (21.9%)、2 部位に使用していたのは13機関 (40.6%)、いずれか 1 部位に使用していたのは11機関 (34.4%)、すべての部位に非使用は 1 機関

表 1 ヨード剤使用部位別再検査率、偽陽性率

部位	分娩時母体		新生児臍帯切断時		新生児臍部		全 体
	○	×	○	×	○	×	
ヨード剤使用	○	×	○	×	○	×	
機 関 数 (%)	30(93.7)	2(6.3)	20(62.5)	12(37.5)	8(25.0)	24(75.0)	32(100.0)
検 体 数	23,237	2,080	15,395	9,922	6,853	18,464	25,317
再 検 査 数	405	26	318	113	171	260	431
再検査率 (%)	1.74*	1.25	2.07*	1.14	2.50*	1.41	1.70
精 査 数	34	3	24	13	9	28	37
偽陽性率 (%)	1.60	1.11	1.91	1.01	2.36	1.26	1.56

○ → ヨード剤使用、× → ヨード剤非使用 \*  $p < 0.05$

表 2 ヨード剤使用組み合わせ別再検査率、偽陽性率

ヨード剤使用部位			使用状況	機関数	検体数	再検査数	再検査率 (%)	精査数	偽陽性率 (%)
1	2	3							
○	○	○	3 部位に使用	7	6,297	157	2.49	9	2.35
○	○	×	2 部位に使用	12	7,492	136	1.82	12	1.66
○	×	○		1	556	14	2.52	0	2.52
×	○	○		0	0	0	0.00	0	0.00
○	×	×	1 部位に使用	10	8,892	98	1.10	13	0.96
×	○	×		1	1,606	25	1.56	3	1.37
×	×	○		0	0	0	0.00	0	0.00
×	×	×	全てに非使用	1	474	1	0.21	0	0.21
合 計				32	25,317	431	1.70	37	1.56

使用部位； 1. 分娩時母体、 2. 新生児臍帯切断時、 3. 新生児臍部

(3.1%)であった。再検査率、偽陽性率ともに使用部位数が多くなるほど高くなり、特に2部位以上に使用した場合には許容再検査率を上回る結果となった。また表1および表2の結果から、ヨード剤の使用による再検査率への影響は新生児臍部、新生児臍帯切断時、分娩時母体の順に大きいことが確認された。しかし再検査率に最も影響を与えている新生児臍部に使用していたのは8機関であり、他の部位に使用している機関よりも少なかった。

一方、中にはすべての部位にヨード剤を使用していないが再検査率が0.74%と低い医療機関や、比較的影響が小さいと思われる分娩時母体のみへの使用でも再検査率が3.86%と高い医療機関もみられた。このことから再検査率はヨード剤の使用部位のみならず、使用頻度や使用時のヨード含有濃度など、他の因子によっても影響を受けていることが推察された<sup>1)</sup>。本県において依然ヨード剤使用医療機関が圧倒的に多い要因として、長年使用してきたことからくる安心感、あるいはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌等による院内感染への配慮があげられる。出産時の母体および児の臍の消毒は感染症の予防には欠かせないものである。その点からするとヨード剤は皮膚や粘膜に対し広い抗菌性を示しており有効な消毒剤といえるが<sup>2)</sup>、同時にクレチン症検査に影響を与え、不要な再検査を増やし児や保護者に負担を与えるというマイナスの作用も生じている。これらのことからスクリーニング上は他の消毒剤への変更が望ましく、皮膚消毒においては消毒用エタノールもヨード剤と同等の有効性が認められており、粘膜消毒には塩化ベンザルコニウム系などが使用できることから<sup>3)</sup>、ヨード剤以外でも総合衛生対策により感染症予防は可能となるものと考えられる。今後は今回の結果を踏まえ、他の消毒剤への変更を推奨していく一方で、どうしてもヨード剤を使用したいという医療機関に対しては、使用部位の選択や使用頻度、使用

濃度などできるだけ検査に影響を与えないような適切な使用方法を紹介し、医療機関からのより深い理解と関心が得られるよう、一層の働きかけをしていきたいと考えている。

#### IV ま と め

1. 調査した県内32産科医療機関中、ヨード剤使用は31機関(96.9%)であった。
2. ヨード剤の使用により、使用部位に関わらず再検査率は高率であった。
3. 使用部位が多いほど再検査率は高率であった。
4. 使用頻度、使用濃度によっても再検査率は影響を受けるものと考えられた。

最後にアンケートにご協力をいただきました県内産科医療機関の皆様へ、心より感謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) 石毛 信之, 他. 東京都におけるクレチン症マス・スクリーニングへのヨード含有消毒剤の影響. 日本マス・スクリーニング学会誌, 2000; 10: 61
- 2) 猪股 弘明. 先天性甲状腺機能低下症. 産科と婦人科, 2002; 69 Suppl: 202-205
- 3) 松田 彰, 他. 過剰ヨードと甲状腺機能. 第5回札幌甲状腺セミナーテキスト; 2002; 34-38
- 4) 黒澤 サト子, 他. ポビドンヨード希釈液の局所清拭日数が新生児の甲状腺機能に及ぼす影響について. 日本新生児学会雑誌, 1994; 30: 766
- 5) 都築 正和. 消毒剤の殺菌力評価と選択基準. 殺菌消毒マニュアル編集委員会. 殺菌・消毒マニュアル. 東京都医歯薬出版株式会社, 1991; 1-4



## 秋田県における麻疹ワクチン接種と抗体保有状況について

佐藤 寛子 斎藤 博之 安部真理子 原田誠三郎

平成16年度の感染症流行予測調査は大館市在住の280人を対象として行った。ゼラチン粒子凝集（以下 PA と略す）法を用いた麻疹抗体価の測定と採血時に行った質問紙調査をもとに、ワクチン接種状況を調べた。その結果、280人の麻疹抗体保有率は94.3%であった。また256倍以上の PA 抗体保有率は73.2%であった。一方、全年齢群のワクチン平均接種率は44.3%であり、未接種であった者のうち、71.1%が PA 抗体価16倍以上であった。

キーワード：流行予測調査、麻疹抗体保有率、麻疹ワクチン

### I はじめに

麻疹は集団発生が起きると小児に重篤な合併症を引き起こしたり、死亡させたりする疾患である。WHO は麻疹ワクチン接種率を95%以上に維持することで麻疹の集団発生が予防できると報告している<sup>1)</sup>。我が国では1998年に MMR ワクチンが無菌性髄膜炎を引き起こすことで中止になったが、中止になった後ワクチン接種該当者のワクチン接種率が低下した<sup>2)</sup>。近年これらの世代が成人期になり、どの程度麻疹の抗体を保有しているのかは秋田県で調査されていない。本研究は秋田県における麻疹の抗体保有状況、麻疹ワクチン接種の有無と抗体保有状況及び年齢階級別麻疹ワクチン接種の有無と抗体保有状況について検討した。

### II 材料及び方法

#### 1. 被検血清

- 1) 採血年月日：平成16年7月23日～9月22日
- 2) 対象は県北部の協力が得られた住民及び病院受診者で280人とした。
- 3) 年齢区分及び検体数は各年齢階級がほぼ同数になるようにした（表1）。
- 4) 県北部保健所が検体回収し、当所（一部保健所）で血清分離を行った。血清は使用時まで-20℃に保存した。

#### 2. 方法

麻疹抗体価測定は感染症流行予測調査事業検査術式<sup>3)</sup>に準じ、PA 法であるセロディア R-麻疹（富士レリオ株式会社）を用いた。質問紙調査は医療機関と保健所が配布し、回収した。質問項目は性、年齢、ワクチン接種歴とした。

表 1

年齢階級	検体数
0～1歳	26
2～3歳	25
4～6歳	26
7～9歳	25
10～14歳	25
15～19歳	28
20～29歳	25
30～39歳	25
40～49歳	25
50～59歳	25
60歳以上	25
合計	280

### III 結果及び考察

#### 1. 麻疹抗体保有状況と抗体価について

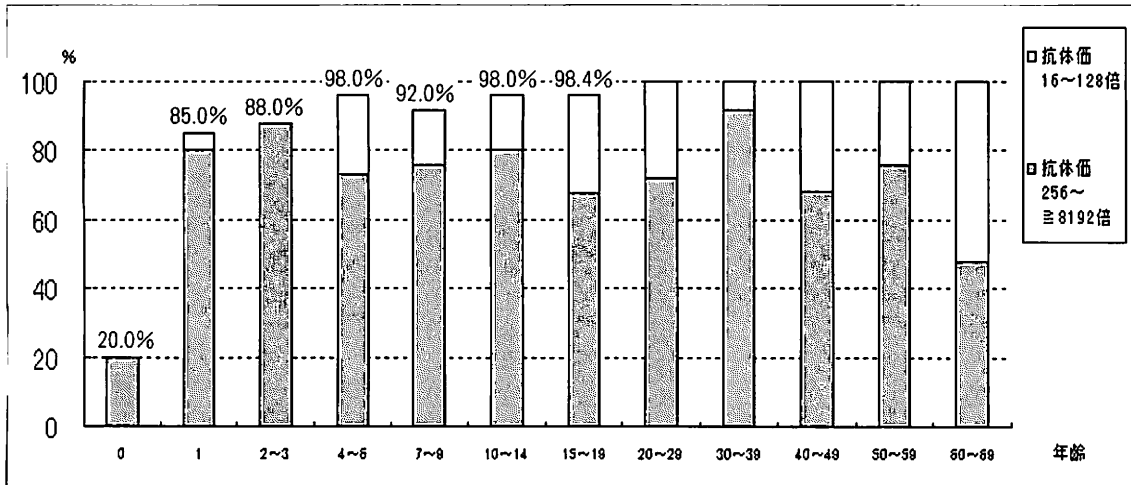
##### 1) 麻疹抗体保有状況について

全年齢での16倍以上の PA 抗体保有率は94.3%であった。20歳以上は100%であったが、0歳以上19歳以下に抗体陰性者がみられ、0歳が20.0%、1歳が85.0%、2歳以上3歳以下が88.0%、4歳以上19歳以下が90%以上であった（図1）。

2003年度の感染症流行予測調査<sup>4)</sup>では、16倍以上の PA 抗体保有率は0歳が40.2%、1歳が61.9%、2歳以上3歳以下が89.4%であった。4歳以上は9歳の88.0%を除くと90%以上であり、30歳以上はほぼ100%の人が抗体を保有していたと報告されている。本研究では全国と比較して2歳以上の抗体保有率はほぼ同等であった。

256倍以上の PA 抗体保有率は全年齢で73.2%であった。年齢階級別では3歳以下が76.5%、4歳以上14歳以下が76.3%、15歳以上19歳以下が67.9%、20歳代が72.0%、30歳代が92.0%、40歳代が68.0%、50歳代が76.0%、60歳以上が48.0%であった。全国

図1 麻疹抗体保有状況



では3歳以下が58.7%、4歳以上14歳以下が80.6%、15歳以上19歳以下が86.3%、20歳代が86.4%、30歳代が93.0%、40歳代が94.7%、50歳代が92.8%、60歳以上が98.1%であった。本県は3歳以下では全国と比べて高い保有率であったが、成人ではどの年齢階級も低い状況にあった。麻疹の感染を防御するには、PA抗体価が256倍以上必要であると報告されている<sup>5)</sup>。2000~2003年の人口動態統計<sup>17)</sup>では麻疹を死因とした者のうち40.8%が成人であったことから、成人に対する麻疹感染の予防対策が必要と考えられた。

2. 麻疹ワクチン接種歴と麻疹ワクチン効果について

1) 麻疹ワクチン接種歴について

対象者280人のうち、ワクチン接種をしたと回答したのは124人(44.3%)であった(表2)。

ワクチン接種者のPA抗体価は16倍未満が3人(2.4%)、16倍以上128倍以下が19人(15.3%)であった(表3)。ワクチン未接種者のPA抗体価は16倍

以上128倍以下は8人(17.8%)、256倍以上が24人(53.3%)であった。

年齢階級別ではワクチン接種者でPA抗体価が16倍未満は2歳以上3歳以下(8.0%)が最も高く、次いで4歳以上6歳以下(3.8%)であった。16倍以上128倍以下は4歳以上6歳以下(23.1%)が最も高く、次いで7歳以上9歳以下(16.0%)、15歳以上19歳以下(14.3%)であった(表4)。また、ワクチン未接種者でPA抗体価が16倍以上128倍以下は60歳以上(16.0%)が最も高く、次いで15歳以上19歳以下(10.7%)であった。256倍以上は15歳以上19歳以下(28.6%)が最も高く、次いで60歳以上(20.0%)であった。MMRワクチンによる無菌性髄膜炎の多発が問題となり中止となった時期に対象となった世代(2004年7月現在:12歳から22歳)での麻疹ワクチン接種率の低下が報告されており<sup>2)</sup>、この世代の感染率は高いと考えられる。実際、本研究において15歳以上19歳以下のワクチン未接種者のPA抗体保有率が最も高く、感染したことによる免疫獲得であることが考えられた。また、ワクチン接種者でPA抗体価が16倍未満であった者は1回の接種では免疫を獲得出来なかった primary vaccine failure (以下PVFと略す)または、ブースター効果が得られなくなった secondary vaccine failure (SVF) と考えられる。麻疹ではPVFは5%程度

表2 ワクチン接種歴

	人	%
麻疹ワクチン接種	124	44.3
麻疹ワクチン未接種	45	16.1
麻疹ワクチン接種不明	111	39.6
合計	280	

表3 ワクチン接種の有無と抗体価

	PA抗体価			合計 人
	16倍未満 人 (%)	16倍以上128倍以下 人 (%)	256倍以上 人 (%)	
ワクチン接種	3 (2.4)	19 (15.3)	102 (82.3)	124
ワクチン未接種	13 (20.9)	8 (17.8)	24 (53.3)	45

表4 年齢階級別抗体価

年齢階級	PA 抗体価						合計人
	16倍未満		16倍以上128倍以下		256倍以上		
	ワクチン接種 人 (%)	ワクチン未接種 人 (%)	接種 人 (%)	未接種 人 (%)	接種 人 (%)	未接種 人 (%)	
0～1歳	0 (0.0)	8 (32.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (57.7)	1 (3.8)	26
2～3歳	2 (8.0)	2 (8.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	18 (72.0)	3 (12.0)	25
4～6歳	1 (3.8)	0 (0.0)	6 (23.1)	0 (0.0)	14 (53.8)	2 (7.7)	26
7～9歳	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (16.0)	0 (0.0)	11 (44.0)	1 (4.0)	25
10～14歳	0 (0.0)	1 (4.0)	1 (4.0)	1 (4.0)	17 (68.0)	2 (8.0)	25
15～19歳	0 (0.0)	1 (3.8)	4 (14.3)	3 (10.7)	8 (28.6)	8 (28.6)	28
20～29歳	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.0)	0 (0.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	25
30～39歳	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (12.0)	0 (0.0)	25
40～49歳	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (8.0)	0 (0.0)	25
50～59歳	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.0)	0 (0.0)	1 (1.1)	0 (0.0)	25
60歳以上	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.0)	4 (16.0)	0 (0.0)	5 (20.0)	25

\* ワクチン接種歴不明者は含まない

存在するとされているが<sup>9)</sup>、本研究においても先述のようにPA抗体価16倍未満の者が2.4%存在した。また免疫は獲得したが256倍に満たない者が15.3%存在した。よって、現在のワクチン1回接種のみでは長期にわたる免疫を保持出来ないため、麻疹のEliminationが達成された米国等のように、2回接種により免疫の維持をはかることが必要と考えられた。

#### IV ま と め

1. 対象者の麻疹抗体保有率はPA抗体価16倍以上が94.3%で、PA抗体価256倍以上が73.2%であった。
2. ワクチン接種有無によるPA抗体価はワクチン接種者で16倍未満が3人(4.7%)、16倍以上128倍以下が19人(15.3%)であった。ワクチン未接種者で16倍以上128倍以下は8人(17.8%)、256倍以上が24人(53.3%)であった。
3. MMRワクチン世代である15～19歳のワクチン未接種者におけるPA抗体保有割合が最も高く、感染したことによる免疫獲得であることが考えられた。
4. ワクチン接種者でPA抗体価16倍未満が3人(2.4%)であった。
5. 麻疹ワクチン接種勧奨の積極的な取り組みと、早期の2回接種導入が必要と考えられた。

#### 文 献

- 1) WHO/UNICEF. MEASELS: Mortality Reduction and Regional Elimination, Strategic Plan 2001-2005. WHO, Geneva: 2001
- 2) 麻疹の現状と今後の麻疹対策について, 国立感染症研究所, 感染症情報センター, 平成14年10月
- 3) 感染症流行予測調査術式, 厚生労働健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症流行予測調査事業委員会, 平成14年6月, 47-52
- 4) 2003年度感染症流行予測調査報告書(平成15年度) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター, 平成16年12月, 128-133
- 5) 栄 賢司, 他, ゼラチン粒子凝集(PA)法による麻疹抗体価の測定、臨床とウイルス1992, 20, 1, 35-40
- 6) 厚生労働省大臣官房統計情報部, 平成12年人口動態統計下巻, 東京:財団法人厚生統計協会, 2000
- 7) 厚生労働省大臣官房統計情報部, 平成13年人口動態統計下巻, 東京:財団法人厚生統計協会, 2001
- 8) 厚生労働省大臣官房統計情報部, 平成14年人口動態統計下巻, 東京:財団法人厚生統計協会, 2002
- 9) 予防接種に関する検討会中間報告書、厚生労働省健康局結核感染症課、平成17年3月

## 平成16年度秋田県における性感染症検査状況について

佐藤 寛子 斎藤 博之 安部真理子 原田誠三郎

我が国のヒト免疫不全ウイルス（以下 HIV と略す）感染者、後天性免疫不全症候群（以下 AIDS と略す）患者数は年々確実に増加しており、2003年は過去最高となった<sup>1)</sup>。このような状況の中、平成16年度より秋田県は受検者にとってより受けやすい HIV 相談・検査の提供として HIV 即日検査を導入した。その結果、平成16年度の HIV 検査件数は310件で前年度を41.0%上回った。その内、抗体陽性者は1人であり性器クラミジアと梅毒抗体も陽性であった。性器クラミジア抗体陽性率は女性40.4%、男性14.8%と男女間で大きな差がみられ、また女性陽性者の若年化が目立った。

キーワード：HIV 即日検査、性器クラミジア抗体検査、梅毒抗体検査、抗体陽性率

### I はじめに

秋田県では平成14年3月27日付けの厚生労働省通知により、HIV 抗体検査及びエイズに関する相談事業を県内各保健所で開始し、その検査を当所と秋田市保健所で実施してきたが、平成14年7月14日からは「性感染症検査事業」を加えた。エイズ相談者のうち、希望者には HIV 抗体検査の他に性器クラミジア抗体検査、梅毒抗体検査を実施している。また、平成16年10月1日からは大館、秋田中央、横手および秋田市保健所において HIV 即日検査を開始している。今回、平成16年度に行った秋田県の性感染症検査状況（秋田市保健所からの情報提供含む）について報告する。

### II 材料および方法

#### 1. 材料

平成14年7月から平成17年3月に秋田県8保健所と秋田市保健所で性感染症相談事業の検査希望者から採血、検査材料とした。

#### 2. 検査機関と検査項目および使用材料

- 1) 大館保健所、秋田中央保健所および横手保健所  
HIV 抗体スクリーニング検査を全血で実施した。
- 2) 衛生科学研究所  
性器クラミジア抗体検査、梅毒抗体検査、HIV 抗体追加検査および確認検査、並びに1)を除く5保健所の HIV 抗体スクリーニング検査を血清で実施した。
- 3) 秋田市保健所  
性器クラミジア抗体検査、梅毒抗体検査、および HIV 抗体スクリーニング検査を血清で実施した。

#### 3. 使用検査キット

##### 1) HIV 抗体検査

- (1) スクリーニング検査  
ダイナスクリーン HIV-1/2（ダイナボット社）
- (2) 追加検査  
ジュネディア HIV-1/2 ミックス PA（富士レリオ社）
- (3) 確認検査  
ラブプロット1（富士レリオ社）

##### 2) 性器クラミジア抗体検査

- (1) ヒタザイムクラミジア IgA, IgG（日立化成）、衛生科学研究所
- (2) ペプタイドクラミジア IgA, IgG（明治製薬）、秋田市保健所

##### 3) 梅毒抗体検査

- (1) SST 抗原（ヤトロ社）
- (2) エスプライン TP（富士レリオ社）

#### 4. 検査件数と患者発生情報

##### 1) 検査件数

- (1) 平成14年度（HIV 抗体検査162件、性器クラミジア抗体検査150件、梅毒抗体検査148件）
- (2) 平成15年度（HIV 抗体検査219件、性器クラミジア抗体検査200件、梅毒抗体検査199件）
- (3) 平成16年度（HIV 抗体検査349件、性器クラミジア抗体検査236件、梅毒抗体検査237件）

##### 2) 患者情報発生報告数

平成14年1月から平成16年12月までに、秋田県感染症情報センターに報告された保健所の AIDS、性器クラミジア感染症および梅毒の定点あたりの発生報告数を用い、年代別、月別に集計した。

### Ⅲ 結果及び考察

#### 1. HIV 抗体検査

##### (1) 検査件数について

HIV 抗体検査件数は図1に示したように平成14年度162件、平成15年度219件、平成16年度は349件であった。平成16年度抗体陽性は男性1人であり性器クラミジア、梅毒抗体も陽性であった。平成14年度と15年度の検査件数はほぼ同様であるが、平成16年度は10月から増加し、12月は14、15年度同月の約4.3倍の検査件数であった。平成16年10月はHIV即日検査を導入した月であり、12月は1日の世界エイズデーにちなみ、保健所以外でもHIV即日抗体検査サービスイベントを実施した成果と思われる。

無料HIV検査は平成4年から全国保健所等において始まり、即日検査は平成17年3月現在、15都道府県41保健所（全国保健所数583カ所）と特別検査機関3カ所で導入されている。全国的に検査件数と陽性数は年々増加傾向にあり、平成16年は検査数65,557

件、陽性数313件であった<sup>2)</sup>。即日検査を導入した結果、江戸川保健所では検査件数が前年度に比べて約7.5倍、栃木県南健康福祉センターでは6.3倍と著しい増加であったと報告している<sup>2)</sup>。本県では平成16年度の検査件数は15年度に比べて約1.6倍の増加であったが、即日検査が実施されているのは東北では秋田県のみである。よって今後、秋田県民のみならず近県の住民からの相談および・検査希望もあると考えられる。即日検査の需要は全国的に増加傾向にあると考えられており、平成17年度から新規に即日検査実施を予定している機関は全国で55カ所である<sup>3)</sup>。

##### (2) 性別・年代別検査件数

平成16年度の検査件数349件のうち当所で性別と年齢を確認できたのは212人（60.7%）で、性別では男性126人、女性84人であった（図2）。性年代別では30代男性が最も多く、次いで20代男性であった。また、10代を除く各年代で男性が女性を上回った。

図1 HIV 即日検査導入前後の比較（検査件数）

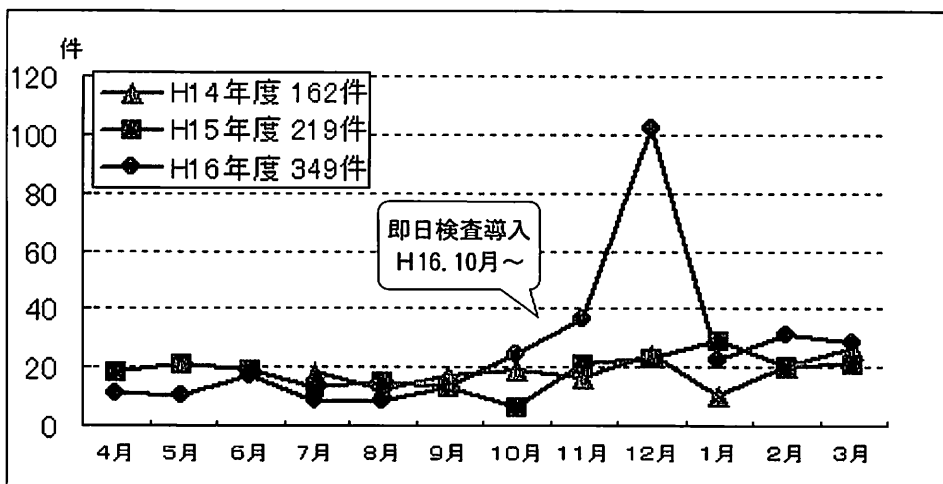


図2 H16年度 HIV 検査  
(性別/年齢未確認98人含まず)

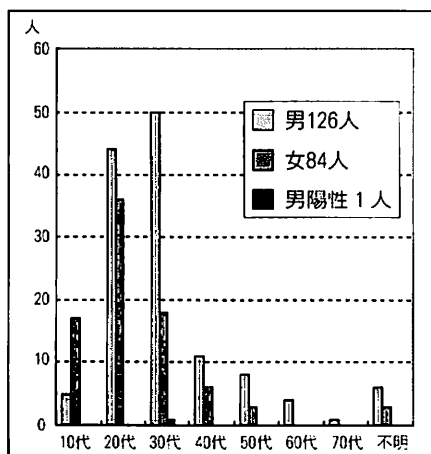


図3 H16年 全国 AIDS 届出人数

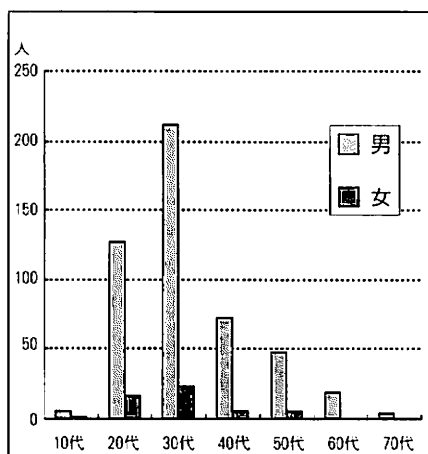


図4 H14～16年度  
地域別 HIV 抗体検査件数

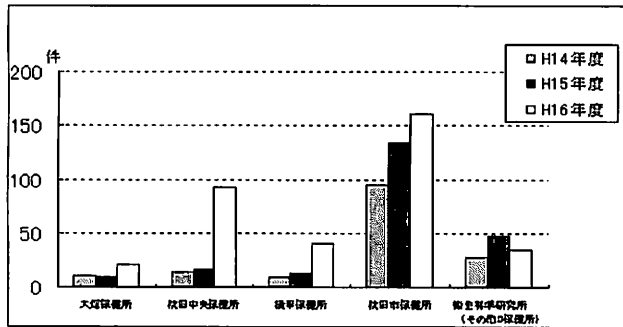


図3は平成16年度の全国 AIDS 報告数である。30代男性が最も多く、次いで20代男性である傾向は本県の受検者と同様であった。

(3) 地域別 HIV 抗体検査件数

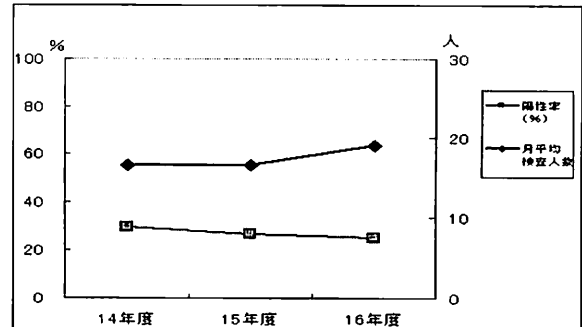
当所を除く4保健所(大館、秋田中央、横手、秋田市保健所)それぞれの HIV 抗体検査件数は図4のように年々増加しており、特に平成16年度は秋田中央保健所が前年度に比べて5.8倍と最も増加していた。他の3保健所においても前年度に比べて1.2～3.1倍と増加しており、HIV 即日検査開始の効果によるものと考えられた。なお、当所においては HIV 即日検査を行っていない保健所からの検査のみのため、検査件数は前年度に比べて36%減少した。

2. 性器クラミジア抗体検査

(1) 年度別検査件数と陽性率

性器クラミジア抗体検査の平成14年度の検査件数は150件(男性55人、女性37人、性別未確認58人)、15年度は200件(男性58人、女性68人、性別未確認74人)、16年度は236件(男性142人、女性86人、性別未確認者8人)であり、HIV 抗体検査よりも少なかった。この原因は性器クラミジア抗体検査は HIV 抗体検査に加えて希望することができるが、結果報告が後日となることが考えられた。図5に示

図5 H14～16年度  
性器クラミジア抗体検査人数と陽性率



したように、月平均検査件数は平成14、15年度が平均16.6<sup>2)</sup>、平成16年度が19.0で、若干の増加傾向がみられた。なお、陽性率は25.0～29.3%と横ばいであった。

(2) 月別・性別・年代別検査件数と陽性率

H16年度の月別検査件数を性別でみると、図6に示したように年間の受検者数は男性が多く、最も多いのは2月の28人、最も少ないのは8月の6人で、9月から3月にかけて増加がみられた。女性では最も多いのは12月の14人、最も少ないのは7月の3人で、10月から12月にかけて増加がみられた。陽性率を性別・月別にみると、検査件数とは逆に女性が常に高く、年間平均は男性の14.1%に対して女性は39.8%と大きな差がみられた。女性の陽性率を月別にみると3月は66.7%と最も高く、次いで11～1月は約60%と、11月から3月にかけて高い傾向がみられた。また、男性の陽性率は年間を通して大きな変化はみられなかった。

図7は、平成16年の性器クラミジア感染症の定点あたり月別発生報告数である。全国と比較して秋田県は男女ともに6月から10月の報告数増加が顕著であり、潜伏期間を考慮すると夏期に感染の機会が多かったと推察された。

図6 H16年度 秋田県内保健所  
性器クラミジア抗体検査数・陽性率 (性別未確認者8名除く)

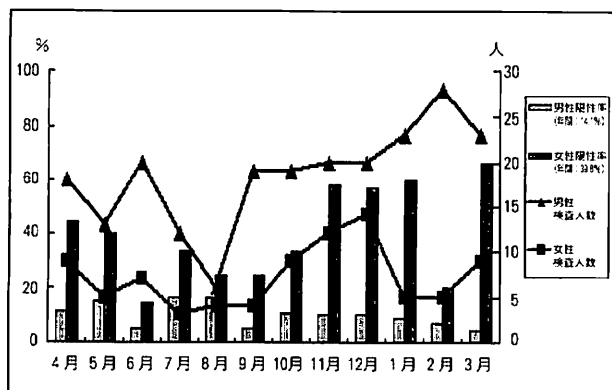


図7 H16年 性器クラミジア感染症月別報告

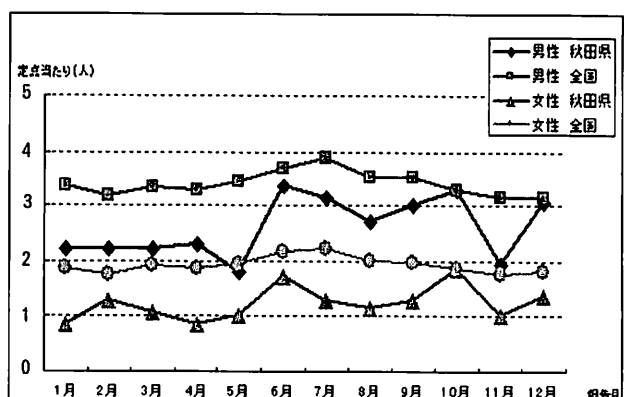


図8 H16年度 秋田県内保健所の性器クラミジア年代別陽性率（性別未確認者2名含まず）

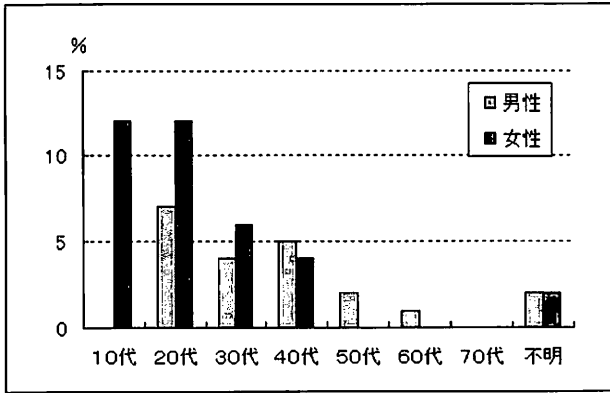


図10 H16年度 秋田県内保健所の月別梅毒抗体検査件数（性別未確認者8人含まず）

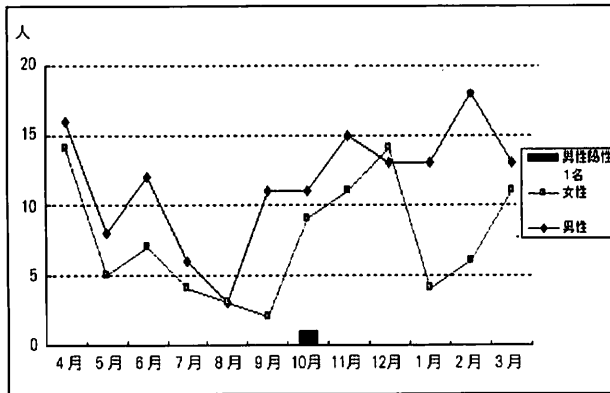


図8は平成16年度の性器クラミジア抗体検査陽性率を性別・年代別に示したものである。男性は20～40代が高いのに対して女性は10～20代が高く、男性と比較し若い年代の陽性率が高い傾向がみられた。1999～2003年の感染症発生動向調査では、全国的に患者割合は男女とも20代が高く、女性は男性よりも20代前半と15～19歳の低年齢層の感染割合が高いと言う結果が報告されている<sup>1)</sup>。本県においても同様の結果であった。なお、平成16年度のHIV抗体陽性者は性器クラミジア抗体も陽性であったが、非活動性抗体もしくは既往を示すIgG抗体と同時に活動性あるいは急性期を示すIgA抗体も陽性であり、性器クラミジアに関しては最近の感染であったものと推定された。

性感染症の中で性器クラミジア感染症は近年世界的に最も多く、その蔓延が社会的な問題となっている。また、本症はHIVに感染する危険性が高まることと、特に女性では不妊や早産を来す場合もあることが指摘されており、今回の調査における陽性率の高さと、特に女性陽性者の若年化は大きな問題であり、感染の拡大および次世代への影響が懸念された。

図9 H14～16年度 地域別性器クラミジア抗体検査件数

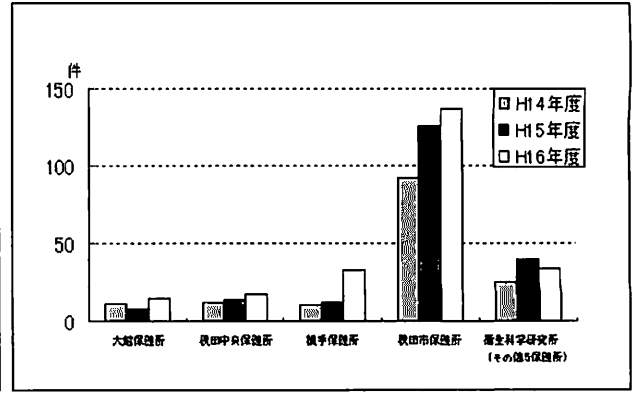
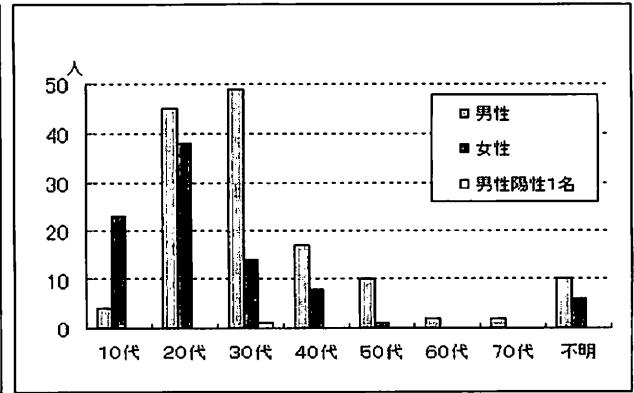


図11 H16年度 秋田県内保健所の梅毒検査件数（性別未確認者8人含まず）



(3) 地域別の性器クラミジア抗体検査件数

性器クラミジア抗体の検査件数はHIV抗体検査数と同様に当所を除く4保健所（大館、秋田中央、横手、秋田市保健所）で増加がみられた（図9）。平成16年度は横手保健所の増加率が最も大きく、前年度と比べて2.8倍であった。

3. 梅毒抗体検査について

(1) 検査件数と陽性数

梅毒抗体検査件数は231件（男性136人、女性87人、性別未確認8人）で、陽性者は1人であった。梅毒抗体検査は性器クラミジア抗体検査と同時の検査希望者が多いため、性別・月別の検査件数の推移も性器クラミジア抗体検査とほぼ同様であった（図10）。当所では梅毒抗体検査は脂質抗原に対する抗体を検出する検査法（RPR法）と病原体（TP抗原）に対する抗体を検出する検査法（TPHA法）の2法で実施している。脂質抗原に対する抗体は、梅毒感染後の比較的初期（3週間程度）から陽性になり、梅毒治療後は速やかに陰性化するが、生物学的偽陽性反応がある。一方、TP抗原に対する抗体は脂質抗原抗体に遅れて陽転するが、特異性が高く治療後もほぼ生涯にわたり陽性となる。今年度の梅毒抗体陽性者はRPR法とTPHA法の両方で陽性であった。

図12 H16年全国梅毒報告数・年代別

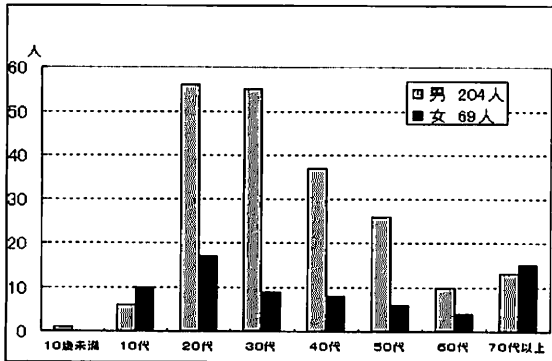
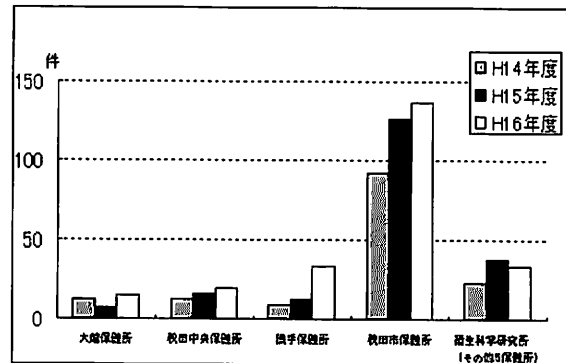


図13 H14～16年度  
地域別梅毒抗体検査件数



平成16年度の HIV 抗体陽性者の性器クラミジア抗体と梅毒抗体の検査結果は共に感染後比較的初期であることを示しており、HIV 感染の機会があった時期よりも後であったことがうかがえた。このことから、相談者への検査前の説明と結果報告時には性感染症についての十分な説明と慎重な対応がこれからの課題と考えられた。

#### (2) 性別・年代別検査数

図11は梅毒抗体検査数を性別・年代別に示したものである。男性は20～30代が多く、女性は10～20代が多かった。また男性では10代を除く各年代で女性の検査数を上回った。これらの結果は図12の平成16年全国梅毒患者年代別報告数の若年層と同様であった。かつて大流行した梅毒は現在、抗生物質の効果により下火となったが未だに感染者は後を絶たず、若年層が大半を占めている状況にある。

#### (3) 地域別梅毒抗体検査件数について

地域別検査件数も性器クラミジア抗体検査と同様であった(図13)。

当所ではこれからも性感染症相談・検査事業を通して、さらなる啓発の行うとともに検査の迅速性と精度向上に努めていきたいと考えている。また、本県で開始された HIV 即日検査事業が HIV 感染者の早期発見と性感染症に対する知識を広め、感染拡大の予防に結びついていくことを願いたい。

### IV ま と め

1. HIV 即日検査を導入した平成16年度の HIV 抗体検査件数は前年度までの検査数より増加し、10代を除く

各年代で女性よりも男性の検査数が多かった。また、平成16年度の抗体陽性者は男性1人で、性器クラミジアと梅毒の抗体も陽性であった。

2. 平成16年度秋田県内保健所の性器クラミジア抗体検査数は女性より男性が多かったが、陽性率は女性が高く、11月から3月に高い傾向がみられた。
3. 平成16年秋田県の性器クラミジア感染症の発生報告数は全国と比較して男女とも6月から10月に多い傾向がみられた。
4. 梅毒抗体検査数は性器クラミジア抗体検査数と同様であった。

### 謝 辞

本調査を行うにあたって情報提供頂きました秋田市保健所の健康管理課、衛生検査課の皆様にご感謝申し上げます。

### 文 献

- 1) 特集 HIV/AIDS 2003年, 国立感染症研究所, 病原微生物検出情報, 2004; No.7. 1-2
- 2) 今井 光信, 他, HIV 検査体制の構築に関する研究 総括研究報告, 平成17年7月7日, 3-6
- 3) 安部 真理子, 他, 特集関連情報, 過去5年間の性器クラミジア感染症の発生状況及び過去2年間の同感染症の保健所依頼件数ならびに陽性数の推移-秋田県, 国立感染症研究所, 病原微生物情報, 2004; 7. 202
- 4) 特集性器クラミジア感染症 1999~2003年, 国立感染症研究所, 病原微生物検出情報, 2004; No.8. 1-2



# 秋田県における豆腐類および原料大豆の遺伝子組換え体の検知状況

松淵亜希子 小林 淑子 武藤 倫子

秋田県における遺伝子組換え食品の流通実態を把握する一環として、県内で製造・販売されている豆腐類、その原料である大豆穀粒の遺伝子組換え体について調査した。

はじめに、秋田県内で製造・販売されている豆腐類48検体を購入し、定性 PCR 法によるスクリーニング試験を行った。その結果48検体中42検体が陽性であった。次に豆腐製造業者から大豆穀粒38検体の提供を受け、遺伝子組換え体の混入率を求めたところ、すべて5%以下であった。また IP ハンドリングも適切に行われており、表示に関する問題はなかった。

キーワード：遺伝子組換え食品、豆腐類、大豆穀粒、混入率、IP ハンドリング

## I はじめに

近年、組換え DNA 技術を応用した農作物とその加工食品（以下遺伝子組換え食品と略す）の開発や実用化が、国際的に広がっている。日本においても研究・開発が行われているが、食用作物の商業栽培までには至っていない。したがって、遺伝子組換え作物は国産品ではなく輸入品にみられるのが現状である。

遺伝子組換え作物は、厚生労働省による安全性審査が行われ認可されないと国内で流通することはできない。現在、安全性審査を終了した遺伝子組換え作物は6作物61品種にのぼる<sup>1)</sup>。安全性審査が義務化された平成13年度当初の6作物35品種に比べて約2倍の品種数であり、今後も増加すると予想される。認可された作物（じゃがいも、大豆、てんさい、とうもろこし、なたね、わた）のうち、大豆、とうもろこし等は国内の自給率が非常に低く、大部分が輸入に依存している。主要な輸入先はアメリカ、カナダ等であり、これらの国々では遺伝子組換え品種の作付け面積が増加傾向にある<sup>2)</sup>。これらの状況から、遺伝子組換え食品は確実に身近なものになりつつあり、今後、より国民の食生活に浸透していくと考えられる。

大豆は日本型の食生活には欠かせない加工食品の原料であり、伝統的になじみが深い。日本での大豆の用途は食用油用が全体の8割を占め、残りの2割が食品用で豆腐類の用途が最も多い<sup>3)</sup>。

そこで、県内における遺伝子組換え食品の流通実態を把握する一環として、県内で製造されている大豆加工食品（主に豆腐類）とその原料である大豆穀粒について、遺伝子組換え体の含有状況を調査した。調査は、安全性審査が義務化された当時にいち早く認可され、現在、流

通の大半を占めているラウンドアップ・レディー大豆（Roundup Ready Soybean 40-3-2系統、以下RRSと略す）について行った。

## II 方法

### 1. 豆腐類の定性 PCR 法によるスクリーニング試験

#### 1) 試料

秋田県内で製造された大豆加工食品48検体について調査した。内訳は、豆腐40検体（もめん豆腐33、絹ごし豆腐4、充填豆腐1、寄せ豆腐2）、油揚げ類1検体、豆腐カステラ6検体、おから1検体の計48検体である。

検体は平成15年1月から3月にかけて、秋田県内の百貨店、スーパーマーケット等で購入した。購入した検体の製造業者数は37業者で、同じ業者から複数の検体を購入している場合がある。

#### 2) 試験方法

試験方法は JAS 分析試験ハンドブック「遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル」<sup>4)</sup> 及び厚生労働省通知「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」<sup>5)</sup> に準拠し、定性 PCR 法を用いて RRS の検知を行った。

#### (1) 試薬

用いた試薬は、特級イソプロピルアルコール、特級エタノール、50xTAE 緩衝液（以上和光純薬）、DNA 抽出キット QIAGEN Genomic-tip、ProteinaseK、RNase（以上 QIAGEN）、AmpliTaq Gold & 10xPCR Gold Buffer/MgCl<sub>2</sub> with dNTP（Applied Biosystems）、内在性遺伝子 Le1用プライマー・Le1-n02、組換え遺伝子 RRS 用プライマー・RRS-01、

陽性対象コントロールプラスミド（以上 NIPPON GENE）、AgaroseL03、100bp DNA Ladder（以上 Takara）、エチジウムブロミド（フナコシ）である。水は超純水をオートクレーブ処理したものを使用した。

## (2) 検体の前処理と DNA 溶液の調製

検体を乳鉢・乳棒で磨りつぶして均一にした後、DNA 抽出キット QIAGEN Genomic-tip により DNA を抽出した。得られた DNA 原液を滅菌水で希釈し、260nm、280nm の各吸光度を測定した。280nm に対する260nm の吸光度の比（A260/A280）から、DNA の純度を求め、PCR に使用できる質であることを確認した。260nm の吸光度から DNA 濃度を求め、10ng/ $\mu$ L に調製し、PCR の鋳型として用いた。調製した DNA 溶液は PCR に用いるまでは、 $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。

## (3) PCR 条件と RRS の検知

PCR 反応液は1反応あたり、各終濃度（1xPCR 緩衝液、dNTP 0.2mmol/L、MgCl<sub>2</sub> 1.5mmol/L、プライマー0.5  $\mu$ mol/L、TaqDNA ポリメラーゼ 0.625units、鋳型 DNA 1ng/ $\mu$ L）になるよう混合して全量25  $\mu$ L とし、PCR を行った。

反応条件は95 $^{\circ}\text{C}$  で10分間反応後、95 $^{\circ}\text{C}$  30秒、60 $^{\circ}\text{C}$  30秒、72 $^{\circ}\text{C}$  30秒を1サイクルとして40サイクルを繰り返し、次いで72 $^{\circ}\text{C}$  で7分間反応後、4 $^{\circ}\text{C}$  で冷却保持した。使用した装置は PROGRAM TEMP CONTROL SYSTEMS PC-700（アクテック）である。

PCR 反応後、4%アガロースゲルに PCR 反応液を付加し、TAE 緩衝液中、100V 定電圧で電気泳動を行った。次に、泳動後のゲルをエチジウムブロミドで染色し、UV 照射装置上で観察し、写真撮影を行った。陽性コントロールと同じ121bp の断片が観察された場合に、RRS を含有していると推察した。

また、内在性遺伝子 Le1 の検知も行い、DNA 抽出や PCR 反応に支障のないことを確認した。48検体すべてに Le1 が検知された。

## 2. 大豆穀粒の定量 PCR 法による RRS 混入率の算出

### 1) 試料

秋田県内の豆腐製造業33業者から提供された大豆穀粒38検体を調査した。複数の種類の大豆を配合している業者もあり、その場合はすべての種類の大豆、または配合済みの混ざった状態の大豆を提供してもらった。33業者のうち、29業者がスクリーニング試験を実施した検体の業者と重複した。

平成15年6月、11~12月の2期にわたり検体を受けた。

### 2) 試験方法

試験方法は JAS 分析試験ハンドブック「遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル」<sup>4)</sup>、厚生労働省通知「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」<sup>6)、7)</sup> に準拠した。

#### (1) 試薬

用いた試薬は、特級イソプロピルアルコール、特級エタノール（以上和光純薬）、DNA 抽出キット DNeasy Plant Maxi kit、ProteinaseK、RNase（以上 QIAGEN）、TaqMan™ Universal PCR Master Mix（Applied Biosystems）、内在性遺伝子 Le1 用プライマー・プローブ、組換え遺伝子 RRS 用プライマー・プローブ、ダイズ用標準プラスミドセット（以上 NIPPON GENE）である。水は超純水をオートクレーブ処理したものを使用した。また TE 緩衝液を調製し、オートクレーブ処理して使用した。

#### (2) 検体の前処理と DNA 溶液の調製

検体を粉砕器で粉砕して均一にした後、DNA 抽出キット DNeasy Plant Maxi kit で DNA を抽出した。抽出して得た DNA 原液を滅菌水で希釈し、260nm、280nm の各吸光度を測定した。280nm に対する260nm の吸光度の比（A260/A280）から DNA の純度を求め、PCR に使用できる質であることを確認した。260nm の吸光度から DNA 濃度を求め、20ng/ $\mu$ L に調製し、PCR の鋳型として用いた。調製した DNA 溶液は PCR に用いるまでは、 $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。

#### (3) PCR 条件と混入率の算出

PCR 反応液は1反応あたり、TaqMan™ Universal PCR Master Mix 12.5  $\mu$ L を加え、その他の試薬は各終濃度（プライマー0.5  $\mu$ mol/L、プローブ0.2  $\mu$ mol/L、鋳型 DNA 2ng/ $\mu$ L）になるように混合して全量25  $\mu$ L とし、リアルタイム定量 PCR を行った。

反応条件は50 $^{\circ}\text{C}$  で2分間反応後、95 $^{\circ}\text{C}$  で10分間保持した。次いで95 $^{\circ}\text{C}$  30秒、59 $^{\circ}\text{C}$  1分間を1サイクルとして40サイクルの増幅反応を行った。装置は ABI PRISM 7000（Applied Biosystems）を用いた。

反応終了後、Le1 及び RRS のコピー数を求め、そのコピー数を検査法に示されている計算式に代入し、混入率（%）を算出した。

定量限界は0.1%であった。0.1%未満の場合を定量限界以下とし、RRS の増幅曲線が得られない場合を不検出とした。また混入率は、少数点第2位を

四捨五入した。

### Ⅲ 結果および考察

#### 1. 豆腐類の定性 PCR 法によるスクリーニング試験

はじめに、豆腐類の遺伝子組換え体の含有状況を知るため、定性 PCR 法により RRS の有無を調査した。

遺伝子組換え体の有無を把握するためには、DNA の分解が少ない未加工のサンプルで調べるのが望ましい。しかし定量分析には適さないものの、定性分析で DNA の検出が可能な品目に、豆腐類、煮豆、大豆缶詰、大豆粉等があり<sup>8), 9)</sup>、今回、状況を知る上では豆腐類を用いても差し支えないと判断した。

豆腐類の RRS の検知結果を表 1 に示した。豆腐類 48 検体中 42 検体から RRS が検知され、検知率は 87.5% であった。この結果から、RRS を含む豆腐類が流通していること、輸入大豆を原料とした製品が多いことが示唆された。

また遺伝子組換え食品の表示は、JAS 法と食品衛生法により定められており<sup>10), 11)</sup>、この両法の表示方法によると、本検体の表示は 48 検体すべて任意表示に該当した。

分別された遺伝子組換え作物や組換え・非組換えが不分別の作物を原材料とした食品には「遺伝子組換え」「遺伝子組換え不分別」の表示が義務づけられている。分別された非遺伝子組換え作物を原材料とした食品は、「遺伝子組換えでない」と任意での表示ができる(図)。

分別された遺伝子組換え作物と非遺伝子組換え作物は、生産・流通の各段階で、組換え・非組換え品種が互いに混入することを防ぎ、その状況を書類等で証明する管理方法である分別生産流通管理 (Identity Preserved Handling: 以下 IP ハンドリングと略す) を受けていない<sup>12)</sup>。

生産国の生産・流通実態から、適切に IP ハンドリングが行われた非遺伝子組換え作物であっても、遺伝子組換え作物の意図しない混入の可能性は否定できないのが実状である。日本では、その混入の許容範囲の上限を「混入率 5%」と設定している。混入率 5% 以下におい

表 1 豆腐類の定性 PCR 法によるスクリーニング試験

品 目	検体数	陽性	陰性
もめん豆腐	33(4)	29(2)	4(2)
絹ごし豆腐	4	4	0
充填豆腐	1	1	0
寄せ豆腐	2(1)	1(0)	1(1)
油揚げ類	1	1	0
豆腐カステラ	6	5	1
おから	1	1	0
計	48(5)	42(2)	6(3)

\* ( ) 内は「国産大豆 100%」という趣旨の表示のあったものの検体数

#### 図 遺伝子組換え食品の表示制度の概要

1. 従来のものと組成、栄養価が同等のもの  
(除草剤耐性大豆、害虫抵抗性とうもろこし等)

◆農産物及びこれを原材料とする加工食品であり、加工後も組み換えられた DNA またはこれによって生じたタンパク質が残存するもの(豆腐類、コーンスターチ等)

① IP ハンドリングが行われた遺伝子組換え作物を原材料とする場合

義務表示 例:大豆(遺伝子組換え)

② 遺伝子組換え作物と非遺伝子組換え作物が分別されていないものを原材料とする場合

義務表示 例:大豆(遺伝子組換え不分別)

③ IP ハンドリングが行われた非遺伝子組換え作物を原材料とする場合

任意表示 例:大豆(遺伝子組換えでない)

◆組み換えられた DNA 及びこれらによって生じたタンパク質が、加工後に残存しない加工食品(大豆油、醤油、コーン油、異性化液糖等)

任意表示 例:大豆(遺伝子組換えでない)  
大豆(遺伝子組換え不分別)

2. 従来のものと組成、栄養価が著しく異なるもの  
(高オレイン酸大豆)

義務表示 例:大豆(オレイン酸遺伝子組換え)

て任意表示となるが、適切に IP ハンドリングが行われていなかったり、混入が故意にあったりした場合は、不分別の扱いとなる。

したがって、この定性 PCR 法によるスクリーニング試験からは混入率がわからないので、48 検体の表示が適切か否かはこの時点での判断はできない。今回の結果では、検体の約 9 割で遺伝子組換え体が検知されたことから、生産・流通全段階においての原料大豆の取り扱い等では、完全な IP ハンドリングの実施の徹底が困難であることが推察された。

陽性だった検体のうち、2 検体に「国産大豆 100% 使用」という主旨の表示がされていた。現在国内では組換え品種は生産されていないため、国産作物は IP ハンドリングの対象にはならない。ただし、原料大豆の流通過程において輸入品も取り扱う業者が加わる場合は、その業者から後の流通段階で、IP ハンドリングが必要となる。したがって、「国産大豆 100% 使用」の検体が陽性であっても、混入率、IP ハンドリング証明書を確認しなければ、表示が適切か否かは判断できない。

このスクリーニング試験結果の段階で、「国産大豆 100% 使用」の検体から組換え体が検出された理由を推察してみると、①流通および加工の段階で、故意または不注意で組換え大豆や不分別大豆が混入していたこと、②混入率 5% 以下の意図しない混入であったこと、③国産・輸入大豆の両方を取り扱っている場合、同じ製造ラインを使用したため混入してしまったことが挙げられる。

③の同一製造ラインの併用からの混入については、平成14年度の農林水産省の調査において、「有機」とうたった豆腐・納豆製品から遺伝子組換え体が検出された問題で、製造ラインの併用で残留物が混入したことが原因となった事例がある<sup>13)</sup>。

このような結果から、意図しない混入であっても、その混入割合を少なくするために、流通過程に加えて製造過程においても、より厳しい管理が求められてきていることが示唆された。また、遺伝子組換え食品の流通状況や表示内容を調べたりする上で、混入率、IPハンドリング証明書に加えて、製造工程の調査も重要であると考えられた。

その後の県の調査により、「国産大豆100%使用」の検体が陽性となった原因は、輸入大豆と同じラインで製造したためであり、国産大豆への混入が原因ではないことが確認された。またIPハンドリングや表示も適正であることも確認された。

## 2. 大豆穀粒の定量PCR試験によるRRS混入率の算出

スクリーニング試験の結果からRRSの存在が示唆されたので、今度は未加工である大豆穀粒の段階における遺伝子組換え体の検知状況を把握するために、混入率を調査した。試料の大豆穀粒は、豆腐製造業者から提供を受けた38検体で、輸入品が36検体、国産品が2検体であった。

検査の結果、算出された混入率を表2に示す。混入率が算出できたのは26検体、定量限界以下は6検体、不検出は6検体であった(表3)。混入率の範囲は0.1~1.1%であり、平均値は0.38%(26検体分)であった。38検体について、すべてRRSの含有量が5%以下であったことから、適切にIPハンドリングが行われていたものと推察された。また、不検出の6検体のうち、国産品2

表2 原料大豆の混入率(1)

検体No.	混入率	検体No.	混入率
1	<0.1%	20	ND
2	<0.1%	21	<0.1%
3	0.4%	22	ND
4	<0.1%	23	ND
5	0.7%	24	0.9%
6	0.5%	25	0.2%
7	0.6%	26	0.2%
8	0.6%	27	0.2%
9	0.3%	28	0.5%
10	0.3%	29	ND
11	0.1%	30	0.6%
12	0.1%	31	0.2%
13	0.4%	32	0.1%
14	0.4%	33	0.2%
15	0.1%	34	<0.1%
16	0.3%	35	0.1%
17	0.1%	36	1.1%
18	ND	37	<0.1%
19	ND	38	0.8%

ND: 不検出

表3 原料大豆の混入率(2)

項目	検体数	混入率	
		範囲	平均
1%以上	1		
0.5%以上1%未満	8	0.1-1.1%	0.38%
0.5%未満	17		
定量限界以下	6		
不検出	6		
計	38		

検体が含まれたが、現在国内では遺伝子組換え大豆は生産されておらず、この事実を支持するものであると考えられた。

実際、県で行った大豆の流通ルートや製造施設、記録・書類等の調査の結果、すべての事業所においてIPハンドリングに関する問題はなかった。また、これらの事業所の製品の表示は任意表示に該当しており、この調査で適正な表示であることが確認できた。

日本の「意図せざる混入率5%」は、混入率を設定している他国(EU、ロシア:0.9%、韓国:3%等)に比べて、比較的高い値である<sup>14)</sup>。本結果のRRS混入率は0.1~1.1%で、2%以下の範囲である。他の調査でもサンプリング方法は異なるものの、分別された非遺伝子組換え大豆の場合の混入率は同様の傾向であり<sup>15)</sup>、5%に近い値はみられない。このことから、日本と各国の諸事情や各流通段階での輸送規模等を考慮に入れる必要があるが、混入率の値を5%よりも低く設定し、維持管理することは不可能ではないと思われる。

今回は表示との関連も調査するために製造業者段階からの大豆穀粒を調査した。製品の品質を維持するため、原料の品種を変えたり、配合比率を調整したり等の業者側の事情や検査自体の効率性を考慮すると、問屋等の上流の段階における混入率を求めることも、遺伝子組換え食品の流通実態の把握に寄与すると考えられた。このことは末端の混入率の推測にも有用な手がかりになると思われる。

遺伝子組換え食品の検査は、IPハンドリング証明書の確認と混入率算出が大きな枠組であるが、実際に本調査を実施してみて、作物毎の輸入形態や流通形態、またどのような商品になるのか等の情報も、遺伝子組換え体の検知状況を知る上で重要であった。

科学技術の発展や国際化の進展で食生活をとりまく環境が大きく変化する中、ここ数年、BSE問題や輸入野菜の残留農薬問題等が相次いで発生し、食品の安全性に対する消費者の関心は非常に高まっている。国においても、食品安全基本法を平成15年に制定し、食品の安全性の確保に関する施策を総合的に推進することを掲げている。このような背景をふまえて、本調査の結果が、消費

者にとって、食品の安全性に関する理解を深めたり、知識を広げるための一助になれば幸いである。

#### IV まとめ

1. 豆腐類でのスクリーニング試験の結果、48検体中42検体からRRSが検知され、検知率は87.5%であった。この結果から、RRSを含む豆腐類が流通していること、輸入大豆を原料とした製品が多いことが示唆された。
2. 秋田県内の豆腐業者から集めた大豆穀粒38検体（輸入品が36検体、国産品が2検体）について、遺伝子組換え大豆の混入率を求めた。結果、混入率5%を超える検体は無かった。
3. 県による大豆の流通ルートの確認や製造施設への聞き取り、IPハンドリング状況の調査から、検査対象となったすべての事業所でIPハンドリングが適切に行われていた。また製品の原材料に関する表示についても適切であることが確認された。

#### 謝 辞

本稿を終えるにあたり、検体の収集や情報提供などに御助言、御協力いただいた農林水産部流通経済課及び秋田市保健所の方々、また快く検体を提供して下さいました豆腐製造業者の関係者の方々に、深く感謝いたします。

#### 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部。安全性審査の手続を経た遺伝子組換え食品及び添加物一覧（平成17年4月7日現在）
- 2) James, C. 2004. Preview : Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops:2004. ISAAA Briefs No.32.
- 3) 農林水産省。大豆関連データファイル  
<http://www.maff.go.jp/soshiki/nousan/hatashin/daizu/tisiki/kakou.html>
- 4) 独立行政法人農林水産消費技術センター。JAS分析ハンドブック「遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル第2版」
- 5) 厚生労働省食品保健部長通知。「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」平成14年4月30日付食発第0430001号
- 6) 厚生労働省食品保健部長通知。「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」平成15年6月18日付食発第0618001号
- 7) 厚生労働省食品保健部長通知。「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」平成15年11月13日付食発第1113001号
- 8) 農林水産省。遺伝子組換え食品部会における技術的検討のための小委員会報告資料（平成11年7月13日）
- 9) 森田正晶，他。遺伝子組換え体に関する調査研究（第1報）農林水産消費技術センター調査研究報告，1999；23：9-16.
- 10) 農林水産省告示第517号 遺伝子組換えに関する表示に係る加工食品品質表示基準第7条第1項及び生鮮食品品質表示基準第7条第1項の規定に基づく農林水産大臣の定める基準 平成12年3月31日
- 11) 厚生省告示第232号 食品、添加物などの規格基準の一部改正 平成12年5月1日
- 12) 農林水産省総合食料局品質課、財団法人食料産業センター。アメリカ及びカナダ産のバルク輸送非遺伝子組換え原料（大豆・とうもろこし）確保のための流通マニュアル
- 13) 農林水産省総合食品局。プレスリリース有機大豆使用食品緊急調査の結果について 平成14年10月30日
- 14) 農林水産省国際政策課。海外農業情報  
<http://www.maff.go.jp/kaigai/index.htm>
- 15) 門間公夫，他。食品からの遺伝子組換え体の検知状況 食衛誌,2004；45(4)：184-190.

# 豆腐原料大豆の定量検査及び味噌の定性検査について

小林 淑子 松淵亜希子

平成16年1月から平成17年3月にかけて、県内の豆腐製造施設及びスーパーマーケット等で入手した豆腐の原料輸入大豆7検体、調合味噌2検体及び県内産味噌22検体について遺伝子組換え検査を実施した。豆腐原料大豆の遺伝子組換え体の混入率は0.1～0.4%とかなり低いレベルにあることがわかった。味噌の定性試験の結果、検査不能の1検体を除く23検体には遺伝子組換え体は検出されなかった。大豆穀粒のDNA抽出方法として、イオン交換樹脂法とシリカゲル膜法について関連をみたところ、2法は良好な相関（ $p < 0.05$ ）が見られた。

キーワード：遺伝子組換え体、輸入原料大豆、味噌、DNA抽出法、定性PCR法、定量PCR法

## I はじめに

遺伝子組換え技術を利用して開発された農作物が一般的に流通するようになり、厚生労働省では平成13年から安全性の審査や表示の義務<sup>1, 2)</sup>を設けている。

遺伝子組換え（以下GMと略す）作物は生産者側の利便性が強調される一方で、健康<sup>3)</sup>や環境<sup>4)</sup>に対する不安材料も多い。そのため、消費者側から抵抗なく受け入れられていないのが現状である。そこで、県内の市場に流通している豆腐類について遺伝子組換え体（以下GMOと略す）の定性試験を実施したところ、ほとんどの豆腐製品にGMOが検出されることがわかった。これについては前報で報告した。これを受け、豆腐製造業者の輸入原料大豆についてGMO定量試験を、また県内で販売されている味噌のGMO定性検査を実施した。併せて大豆穀粒からのDNA抽出法についての検討を行ったので報告する。

## II 材料及び実験方法

### 1. 材料：

県内の味噌製造施設及びスーパーマーケット等で平成16年1月～平成17年3月にかけて入手した豆腐の輸入原料大豆7検体、県内産コマ味噌22検体ならびに県外産調合味噌2検体（からし味噌、味噌漬け用味噌）を検査に供した。これらの検体の中で、市販の味噌については原料にGM農作物を使用した旨の表示はなかった。

DNA抽出法の検討を行った輸入大豆11検体は、行政検査で用いたものを検査に供した。

### 2. 検査対象GMO

定性試験及び定量試験ともにラウンドアップレディ遺伝子（以下RRSと略す）を対象とした。

### 3. 検査方法

厚生労働省の通知<sup>5)</sup>及び「JAS分析試験ハンドブック 遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル」に準じた。

### 4. 試薬

プライマー及びプローブは厚生労働省の通知に記載のあるものを使用した。定性及び定量試験に使用するレクチン遺伝子用プライマー（Lel02-5'とLel02-3'）及びプローブ（Lel-Taq）のセット、組換え遺伝子用のプライマー（RRS01-5'とRRS01-3'）及びプローブ（RRS-Taq）のセット、定性試験の陽性対照に用いるRRS陽性コントロールプラスミド及び定量試験の検量線作成に使用するダイズ用のGMダイズプラスミドセット、100bpラダーマーカー及びローディング緩衝液はニッポンジーン(株)製を用いた。Universal PCR Master Mix、DNAポリメラーゼはアプライドバイオシステムスジャパン(株)製のAmpli Taq Gold™ DNA Polymeraseを、dNTP、10×PCR緩衝液II及び塩化マグネシウムは付属のものを用いた。アガロースは宝酒造(株)製のL03「TAKARA」を用いた。DNAの抽出キットはキアゲン社製のGenomic-tip20/GとDNeasy Plant Maxi Kitを用いた。これらのキットに使用する緩衝液はキットに付属したもの又はキットの説明書に従って調製したものを用いた。エチルアルコール（特級）、EDTA-2Na、MOPS、2-プロパノール、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン、グアニジン塩酸塩、TE（pH8.0、遺伝子工学用）、5×TBE（遺伝子工学用）、Tween20及びTritonX-100は和光純薬工業(株)製を用いた。

### 5. 装置

インキュベーター：ヤマト科学恒温水槽BK500、遠心機：日立高速冷却遠心機CR-20形、クボタテーブルトップ遠心機5420、シグマ社製マイクロ冷却遠心機1-15K、

分光光度計：ナンドロップ ND-1000、遺伝子定量装置：ABI PRIMS 7000、遺伝子増幅装置：アステック PC-700、電気泳動装置：ミュールピッド  $\alpha$ 、粉砕器：(株)レッチェ製ミキサーミル MN301、オスターブレンダー OB-1

## 6. DNA 溶液の調製

### 1) 試料の前処理

(1) 大豆穀粒：大豆500 g、約2000粒を小型粉砕器のオスターブレンダーで粉末状にした後、プラスチック製の袋に取り、袋の中でよく混和した。その中から粉末を金属製のセルに移し、金属ボールの振とうによって微細粉末としたものを抽出に供した。

(2) 味噌：味噌を乳鉢に採り試料重量と同重量の滅菌水を加え、乳棒でよく混和し、均質な状態になったものを抽出に供した。試料の前処理に使用する機材は、すべて塩素系の洗浄剤に浸漬し、DNAフリーにした後乾燥したものを使用した。

### 2) DNA の抽出

#### (1) 大豆穀粒

前項で調製した試料 1 g を用い、キアゲン社の DNeasy Plant Maxi kit を用いて DNA 溶液を調製した。

#### (2) 味噌及び大豆穀粒

前項で調製した試料 1 g (味噌は0.5 g に相当) を用いてキアゲン社の Genomic-tip20/G を用いて、DNA 溶液を調製した。

### 3) 抽出 DNA の濃度及び純度の確認

抽出した DNA 溶液 2  $\mu$ l を用いて分光光度計で、DNA の濃度を測定した。純度の指標として O.D.260/O.D.230及び O.D.260/O.D.280を算出した。また、大豆穀粒は定量 PCR 用に20ng/ $\mu$ l、味噌は定性 PCR 用に10ng/ $\mu$ l になるように TE で希釈し、検査まで -20°C で保存した。

## 7. 組換え DNA の検出

厚生労働省で定める方法<sup>5)</sup>にしたがった。以下にその概要を示した。

### 1) ダイズ穀粒の定量試験

#### (1) PCR 反応液の調製

Universal PCR Master Mix にプライマー対とプローブを加えたマスターミックスを、大豆内在性遺伝子レクチン用と RRS 遺伝子用の 2 種あらかじめ調製した。この時プライマー対とプローブの混合溶液と Universal PCR Master Mix の比率は 1 : 1.25 となるようにした。マスターミックスの調製液量は余剰分を考慮し、1 DNA 試料液 (3 ウェル分) 当たり 81  $\mu$ l とした。混合時にミキサーを用いて十分に攪拌し、攪拌後軽く遠心した。次いでマスターミックスを必要数のマイクロチューブに 78.75  $\mu$ l (3 ウェル分) ずつ分

注した。分注後、各マイクロチューブに対応する DNA 溶液を 8.75  $\mu$ l 加え (マスターミックスと DNA 溶液の比率を 9 : 1 にした)、ミキサーを用いて十分に混合した後、軽く遠心した。このようにして調製した混合溶液を 25  $\mu$ l/well として 96 ウェルプレート上のウェルに分注した (25  $\mu$ l/well の PCR 反応液は、Universal PCR Master Mix 12.5  $\mu$ l、プライマー (25  $\mu$ mol/L) 及びプローブ (10  $\mu$ mol/L) 溶液各 0.5  $\mu$ l、滅菌蒸留水 9  $\mu$ l 及び 50ng の DNA 試料を含有している)。また、検量線用標準プラスミド DNA 溶液についても同様に操作して PCR 反応液を調製した。分注操作終了後、真上からシールし、完全にウェルを密閉した。終わりに、ウェルの底を観察し、気泡のないことを確認後 ABI PRISM Optical Cover Compression Pad を茶色の面が上になるようにセットした。

#### (2) 定量 PCR 条件と混入率の算出

装置に反応プレートをセットし、50°C 2 分の条件で保持した後、95°C で 10 分間加温し、ホットスタート法で反応を開始した。その後、95°C 30 秒、59°C 1 分を 1 サイクルとし、40 サイクルの増幅反応を行い、測定結果の解析をした。RRS 遺伝子の増幅曲線が得られないものを不検出とし、大豆穀粒の GMO 混入率は [RRS 遺伝子のコピー数 / 内在性遺伝子レクチンのコピー数  $\times$  1 / 0.95 (測定機器特有の内標比)]  $\times$  100 から算出した。定量限界は 0.1% とした。

### 2) 味噌の定性試験

#### (1) PCR 反応液の調製

PCR 反応液は反応終濃度が 1  $\times$  PCR 緩衝液、0.2mmol/L dNTP、3 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、0.2  $\mu$ mol/L プライマー、0.625U. Taq DNA ポリメラーゼ及び 1 ng/ $\mu$ l 鋳型 DNA になるように調製し、全量を 25  $\mu$ l とした。その後ミネラルオイルを 1 滴層積し遺伝子増幅装置にセットした。

#### (2) 定性 PCR 条件

装置のヒートブロックとの密着性を良くするため、ミネラルオイルを滴下し、マイクロチューブをセットした。その後、95°C に 10 分保った後、95°C 30 秒、60°C 30 秒、72°C 30 秒を 1 サイクルとして 40 サイクルの増幅反応を行った後、72°C で 7 分間伸長反応させた後、4°C で冷却保存した。

#### (3) 電気泳動

PCR 反応液の 5  $\mu$ l を 4% アガロースゲルにより TBA 緩衝液<sup>3)</sup> 中で 100V の定電圧で電気泳動した。ゲルローディング緩衝液中の BTB が、1/2 から 2/3 になったところで泳動を終了とした。次に、ゲルを TBA 緩衝液にエチジウムブロマイド溶液を加えた容器に 15 分間浸して染色した。その後、UV 照射装置上で、大

大豆内在性遺伝子レクチンの118bpの増幅産物を確認後、写真撮影した。同様にRRS遺伝子の121bpの増幅産物を確認したものを陽性とした。

### Ⅲ 結 果

#### 1. 抽出DNA

大豆穀粒の粉碎試料1gから得られたDNA量を表1に、味噌0.5gから得られたDNA量を表2に示した。大豆穀粒はすべて20μg以上得られた。しかし、味噌はNo.10の試料が15.1μgを示したものの、ほとんどが3μg前後と少量であった。最も少ないものは1.2μgであった。

#### 2. 大豆穀粒のGMO混入率

表1 大豆穀粒の抽出DNA量

試料No.	μg	260/230	260/280
1	50.8	1.3	1.7
2	50.0	1.2	1.7
3	41.4	1.5	1.7
4	48.0	1.6	1.7
5	45.1	1.3	1.7
6	37.2	1.4	1.7
7	21.0	1.8	1.8

表2 味噌の抽出DNA量

試料No.	μg	260/230	260/280
1	2.0	4.1	1.8
2	4.3	1.7	1.9
3	3.1	1.8	2.0
4	2.7	1.0	1.7
5	3.1	1.5	1.9
6	5.1	1.9	1.9
7	4.3	1.3	1.7
8	3.7	1.3	1.8
9	2.6	2.2	1.9
10	15.1	2.1	1.9
11	3.6	2.1	1.9
12	4.1	1.6	1.8
13	2.1	1.3	1.7
14	1.2	1.9	1.9
15	3.5	1.5	1.9
16	1.8	2.1	2.0
17	2.8	2.4	1.9
18	1.8	1.9	1.7
19*	1.2	0.8	1.7
20	1.7	2.4	1.9
21	1.3	1.8	2.0
22*	9.3	2.0	1.9
23*	5.0	1.9	1.9
24	1.2	1.1	1.8

\* 調合味噌  
× 検査不能

表3 大豆穀粒定量結果

試料 No.	大豆名	定量値%
1	トップビーン	0.4
2	ランドマーク	0.1
3	ファイブスター	0.1
4	ピントン81	不検出
5	オーバーサイズ	0.4
6	ピントン81	不検出
7	中国大豆	不検出

定量限界 0.1%

大豆穀粒の定量結果を表3に示した。今回の大豆試料はすべて分別生産流通管理（Identity Preserved Handling:IPハンドリング）されたものであった。混入率は最高値で米国産のトップビーンの0.4%と、かなり低いレベルにあることがわかった。また、中国産大豆と米国産のピントン81はGMOを含んでいなかった。

#### 3. 大豆穀粒におけるDNA抽出法の比較

食品衛生法における大豆穀粒の公定法であったシリカゲル膜法が、平成15年11月の改正によって適用できなくなった。そこで、シリカゲル膜法（DNeasy Plant Maxi kit）とイオン交換樹脂法（Genomic-tip 20/G）を比較検討した。その結果を図1に示したが、大豆穀粒においては、2法は良好な相関が見られた（ $p < 0.05$ ）。

#### 4. 味噌からのRRSの検知

図2に大豆内在性遺伝子レクチンの増幅産物の一部を示した。24検体の味噌試料（表2）のうち、大豆内在性のレクチン遺伝子は23検体から検知された。しかし、No.23の試料からはレクチン遺伝子（118bp）が検出されず、検査不能であった。レクチン遺伝子の検出された味噌試料23検体すべてにおいてRRSは検出されなかった。

図1 DNA抽出法の比較

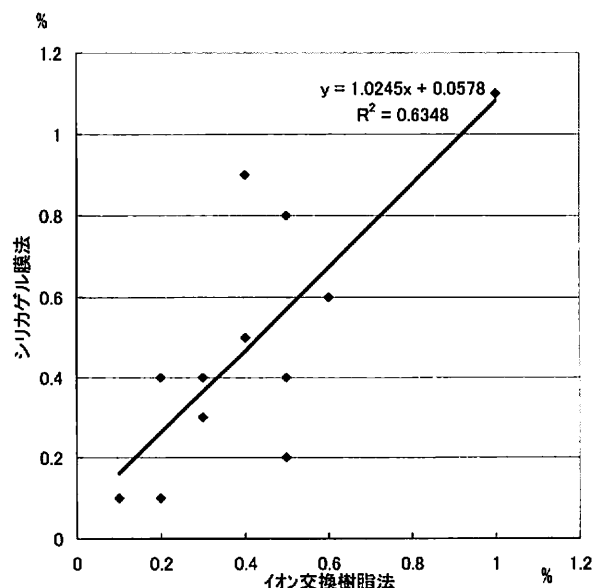
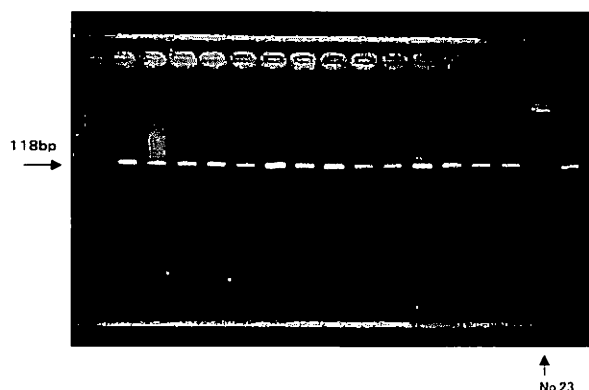




図2 味噌の大豆内在性遺伝子レクチンの増幅産物



#### IV 考 察

GM大豆は米国を中心に栽培され、年々栽培する国も面積も拡大している。このような状況下、国内消費大豆のほとんどを輸入に依存している我が国においては、GMの流通が今後益々増加することが予想される。

その一方で、安全性が確認されているにもかかわらず、豆腐、納豆及び味噌といった日常消費する食品に対してはGMに根強い抵抗感があり、消費者は食品表示によって非GM食品を選択する傾向が強い<sup>7)</sup>。

平成14年度の豆腐の定性試験の結果、ほとんどの豆腐類からGMが検出されることがわかった。その原因として、同一施設内で国内産大豆と輸入大豆を共に原料として豆腐の製造を行っていること、さらにその生産ラインが同じであることから、意図せざる混入の可能性が高いことが推察された。また、PCR検査法は痕跡程度のGMでも増幅するため、高感度な定性検査では極少量の混入であっても陽性になることがわかった<sup>3, 9)</sup>。

そこで、輸入大豆穀粒のGMの混入率を検査した。中国産や米国産の一部に不検出のものもあったが、混入の程度は低く、意図せざる混入の範囲内であり、これらの混入率は我々が既に実施した行政検査や門間ら<sup>5)</sup>の報告と類似していた。現時点では、IPハンドリングは良好に働いていることがあらためて確認された。

本調査では、大豆穀粒のDNAの抽出にキアゲン社のDNeasy Plant Maxi kit (シリカゲル膜タイプキット法)を用いたが、従来使用されていた<sup>13, 14)</sup>DNeasy Plant Mini kitが、大豆穀粒からのDNA抽出法として、食品衛生法から削除になった。そこで、大豆穀粒に、加熱等によって断片化したDNAの抽出に適しているといわれるイオン交換樹脂法とJAS法に適用されているMaxi kit (シリカゲル膜タイプキット法)を比較検討した。大豆穀粒について2つの方法は良好な相関 ( $p < 0.05$ )を示したが、いずれもJAS法による方法であり、食品衛生法には掲載されていない。食品衛生法では大豆穀粒

の定量に、CTAB法の他にシリカベースのレジソタイプのもの等市販の抽出キットの利用を認めている。しかし、CTAB法は操作の煩雑さのみならず使用試薬による環境負荷もあることから、今後、簡便で高精度なこの2法の食品衛生法への適用を期待したい。

GMの表示に関しては意図せざる混入を考慮して、国によって閾値が異なる。EUでは0.9%、オーストラリアやニュージーランドでは1%、韓国では3%以上の場合に表示が義務づけられている。平成14年度に秋田県で実施した行政検査、他の自治体で実施されている収去検査等の報告<sup>15)</sup>及び本調査の結果から考慮すると、現在の5%という閾値は高すぎるように考えられる。今後、この混入率がどのように推移していくのか不明であるが、閾値の低減化が望まれる。

また、混入率5%までは任意表示になっており、「GMは使用していない」旨の表記が出来る。しかし、消費者の立場では、この表示では全く検出しないものと受け取られ、信頼性を欠く原因になっている。EUで実施されているように全くGMを含まないものだけに、この表示を適用した方が消費者の理解が得られるものと考えられる。意図せざる混入といえども混入していることに変わりはない。

今回、中国産大豆からはGMは検出されなかった。鈴木ら<sup>16)</sup>の報告でも中国産大豆からはGMを検出していない。現在のところ、米国、カナダではGMの商業栽培は完成されているが、中国、パラグアイ、ブラジル等は、この技術導入による農作物の収穫はこれからの問題と推察された<sup>15)</sup>。また、米国産のベントン81という種類からはGMは検出されなかった。輸入米国産大豆にはGMが全く混入していないものもあり、完全なIPハンドリングも可能なのではないのだろうか。

GM食品の検査は、抽出したDNAの精製度がブレイクスルーポイントになる。今回の調査においては、特に味噌からのDNAの抽出法に問題が残った。味噌の場合、DNA由来のO.D.260の吸光度が0.5以上<sup>16)</sup>になるように、最終液量を少なくしたが、DNAの濃度はこれまで実施した豆腐類や大豆穀粒に比べ低かった。精製度の指標であるO.D.260/O.D.280の値はすべて1.7~2.0の範囲におさまっていたが、夾雑物の指標であるO.D.260/O.D.230が2.0以上を示したものは24検体中8検体と少なく、PCR反応がうまくいかないことがあらかじめ予想された。また、吸光スペクトル上では、十分な精製と量が抽出されているように見られるにもかかわらず、定性PCR反応において大豆内在性遺伝子のレクチンを検出することができず、検査不能になるものがあった。

一方、大豆穀粒はO.D.260/O.D.230が2以上を示すものがなく、糖やタンパク等の影響によって、PCR反

応がうまく進行しないことが懸念されたが、大豆内在性遺伝子のレクチンのコピー数はいずれも40,000以上になり、RRSを検出するのに十分であった。

味噌は原料に「GMOを用いていない」という表示等のあるものは、24検体中7検体のみと表示による情報が少なかった。また、分析の結果、GMOは全く検出されず、豆腐類とは異なる結果となった。DNAの抽出に関しても豆腐類のように高濃度に精製することが出来なかった。その原因として、豆腐類に比べ高濃度に含まれる塩化ナトリウム等が、抽出時に用いる各種酵素の活性を阻害すること、加熱のみならず発酵過程を経ていること<sup>1)</sup>、さらに発酵期間も製造所によって異なる等、製造所毎に独自の製造ノウハウが有り、それが影響していることも考えられた。味噌や納豆のような加工品については使用するプライマー等にも課題が残っている。

味噌製造業者は醤油製造業を兼ねているものも多く、醤油の原料には、GMO脱脂ダイズが使用される場合が多いこともよく知られている。原材料の段階での混入が推測され、GMOの検出を予想したが、今回はすべて不検出であった。この結果が豆腐に比べ製品単価が高いことから原料に割高な国産大豆を使用していることによるものなのか、あるいは全く分析上の問題でGMOを検出できなかったのか、現段階での断言は難しい。また、今後は加工品から原料のGMO混入率を推測する方法<sup>18)</sup>も期待され、これらについてはこれからの検討課題としている。

大豆の外国産に対する依存度は高く、今後原材料の高騰等によって大豆加工品はどのような影響を受けるのか先行き不明である。さらなる追跡調査や監視体制の構築が必要なものと考察された。

## V まとめ

県内で製造されている豆腐の輸入原料大豆のGMO混入率は低く、意図せざる混入の範囲内にあることがわかった。味噌試料からはGMOが検出されなかったが、検査不能になるものがあり、豆腐以外大豆加工食品のDNA抽出法に課題を残した。

JAS法に適用されているシリカゲル膜法とイオン交換樹脂法は、大豆穀粒のDNA抽出において良い相関が得られた。

## 文 献

- 1) 厚生省告示第232号(2000)“食品添加物の規格基準の一部改正”平成12年5月1日
- 2) 厚生省告示第233号(2000)“組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続きに関する告示”平成12年5月1日
- 3) 伊藤啓志男, 第6回食品化学シンポジウム遺伝子組換え食品の現状と課題. FFI JOURNAL,1998;174:115-129
- 4) 玉置雅紀, 遺伝子組換え生物の取り扱いに関する現状. 国立環境研究所ニュース, 2003;22(3):7-8
- 5) 厚生労働省医薬品食品保健部長通知食発第110号(2001)“組換えDNA技術応用食品の検査方法についての一部改正”平成13年3月27日
- 6) 中山広樹, 他. バイオイラストレイテッド<sup>®</sup>遺伝子解析の基礎, 東京: (株)秀潤社, 2001;51-60
- 7) 西浦博, 他. 遺伝子組換え食品の受容性と安全性評価の現状と動向. 日本公衛誌, 2002;49(11):1135-1141.
- 8) 松岡猛, 他. ダイズ及びダイズ加工食品からの組換え遺伝子の検知法(第1報). 食衛誌, 1999;40(2):149-157.
- 9) 笹尾忠由, 他. 遺伝子組換え食品の検査法検討. 横浜衛研年報, 2002 41:59-62.
- 10) 曾根美千代, 他. 遺伝子組換え食品検知法の検討. 宮城県保健環境センター年報, 2003 第21号:70-74.
- 11) 大森清美, 他. 遺伝子組換え食品の分析結果(平成14年度). 神奈川県衛生研究所研究報告, 2003 No.33 111-113.
- 12) 門間公夫, 他. 食品からの遺伝子組換え体の検知状況. 食衛誌, 2004;45(4):184-190.
- 13) 小川美緒, 他. 遺伝子組換え農産物の食品原材料とその加工品実態調査. 鳥取県衛生環境研究所報, 2004;44:42-45.
- 14) 鈴木智宏, 他. 輸入ダイズ穀粒における遺伝子組換え体の混入率及びトウモロコシ加工品中のCBH351遺伝子の有無について. 道衛研所報, 2004;54:93-95.
- 15) 高橋邦彦, 他. 遺伝子組換え食品の調査結果について(第2報). 埼衛研所報, 2004 第38号:152-154.
- 16) 厚生労働省監修. 食品衛生検査指針 理化学編. 2005 p314.
- 17) 門間公夫, 他. 大豆加工品からの組換え遺伝子検知法の検討. 東京健安研年報, 2003;54:136-141.
- 18) Kimio, M. et al. Detection of genetically modified organisms in foreign-made processed foods containing corn and potato. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), 2005;46(3):79-85