

### Ⅲ 論文投稿・学会発表

### III 論文投稿・学会発表

#### ■ 論文 (1)

**J. Vet. Med. Sci. ;71(4):425-9, 2009**

#### **Isolation and Characterization of *Leptospira* spp. from Raccoons in Japan**

Nobuo Koizumi<sup>1</sup>, Masaki Uchida<sup>2</sup>, Takashi Makino<sup>3</sup>, Toshitsugu Taguri<sup>4</sup>, Toshiro Kuroki<sup>5</sup>, Maki Muto<sup>1</sup>, Yukio Kato<sup>2</sup> and Haruo Watanabe<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, <sup>2</sup>Department of Veterinary Medicine, Azabu University, <sup>3</sup>Kanagawa Prefectural Natural Environment Conservation Center, <sup>4</sup>Department of Public Health, Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, <sup>5</sup>Department of Microbiology, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, <sup>6</sup>Deputy of Director General, National Institute of Infectious Diseases

We investigated whether raccoons (*Procyon lotor*) carried leptospires in their kidneys in Japan. *Leptospira* was isolated from 2 of 71 raccoons captured in Kanagawa Prefecture and 1 of 53 raccoons at a zoological park in Nagasaki Prefecture. Anti-*Leptospira* antibodies were detected in 16 of 124 raccoons (12.9%) in Kanagawa and 33 of 53 raccoons (62.3%) in Nagasaki, respectively. The partial nucleotide sequences of their flaB genes suggested that the isolates belonged to *L. interrogans*. The serovars of the isolates were identified as Copenhageni/Icterohaemorrhagiae (1 strain in Kanagawa) and *Hebdomadis* (1 strain both in Kanagawa and Nagasaki) by reactivity with the reference antisera and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis based on pulsed-field gel electrophoresis and cross-agglutination-absorption test, respectively. RFLP analysis on the serovars *Hebdomadis* strains revealed genetic diversity among serovar *Hebdomadis*. Although it is unclear if the raccoons carried leptospires in their kidneys at the time imported, there is no doubt that imported animals are a new reservoir animal of leptospires in Japan.

#### ■ 論文 (2)

**J. Agric. Food Chem. 57: 6417–6424, 2009**

#### **Coupling Reactions of Catechins with Natural Aldehydes and Allyl Alcohols and Radical Scavenging Activities of the Triglyceride-Soluble Products**

Ryusuke Fudouji<sup>1</sup>, Takashi Tanaka<sup>1\*</sup>, Toshitsugu Taguri<sup>2</sup>, Yosuke Matsuo<sup>1</sup>, and Isao Kouno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Natural Product Chemistry, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Bunkyo-machi 1-14, Nagasaki 852-8521, Japan, and <sup>2</sup>Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Ikeda 2-1306-11, Omura, Nagasaki 856-0026, Japan

Hydrophobic catechin derivatives were produced by heating with natural aldehydes or allyl alcohols. (+)-Catechin or (-)-epigallocatechin-3-O-gallate was heated with trans-2-hexenal, citral, (+)-citronellal, geraniol, or phytol. Although each reaction generated complex mixtures of products, 11 compounds were isolated and characterized by spectroscopic methods. The unsaturated aldehydes were found to attach to the flavan A-ring. Besides C-C linkage between aldehyde and the C-8 and/ or C-6 of the catechin A-ring, formation

of ether linkages between unsaturated carbons of the aldehydes and phenolic hydroxyl groups was observed. The allyl alcohols, geraniol and phytols, reacted at the galloyl group as well as the A-ring. After partitioning between triglyceride and water, the lipid layer of the reaction products showed strong 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. In contrast, epigallocatechin-3-O-gallate was not transferred to the lipid layer.

## ■ 論文 (3)

古今書院「黄砂」2009年7月発行 5.4.2 188-194

### 長崎で観測された黄砂の実態

○森 淳子

長崎は日本に飛来する黄砂を観測するのに適した地点のひとつである。

長崎市で黄砂が観測された日数は、1914年から2001年までの92年間の平均で年間5.2日であった。長崎市で黄砂が観測された日数が年々増える傾向はなく、全国での観測地点数に占める割合は減少傾向にあり、全国的に黄砂が観測される規模が広がっていることが伺われる。

2002年4月に観測された大規模黄砂では8日に長崎県内のSuspended Particulate Matter (SPM)濃度が1時間値で最高 $517 \mu\text{g}/\text{m}^3$ に達し、県内のほとんどの局で1時間値の環境基準値( $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )を大きく超過した。

2003、2004年には大規模な黄砂現象は観測されなかった。この2年間にSPMが環境基準を超えていた日には煙霧が観測された。

黄砂をろ紙に捕集し、成分分析を行ったところ、粗大粒子である土壌粒子が主成分である典型的な黄砂が観測される場合と、煙霧が観測された日の試料に硫酸塩など化石燃料の二次汚染物質が含まれる場合があることが分かった。硫酸塩などの微小粒子は、粗大粒子に比べ健康への影響がより大きいといわれており、微小粒子を対象とした観測体制の整備が望まれる。

## ■ 論文 (4)

日本獣医師会雑誌 62 (8): 649-655, 2009

### 長崎県沿岸における*Vibrio vulnificus*の分布と環境因子

○山崎省吾、右田雄二、中村まき子、浦伸孝、工藤由起子、三澤尚明、岡本嘉六、高瀬公三

長崎県沿岸の漁港7地点(有明海5地点、橘湾2地点)における海水中の*Vibrio vulnificus* (*V. vulnificus*)菌数をMost probable number (MPN)-PCR法を用いて測定し、その菌数の増減に及ぼす各種環境因子(水温、塩分濃度、DO、COD、総窒素量、総リン量、クロロフィルa量)の影響を海域性および季節性を加えながら統計学的に解析し、検討した。

*V. vulnificus*菌数は、有明海では6月から菌数上昇傾向を示し7月に最高値( $4.50 \times 10^4 \pm 17.1 \text{MPN}/100\text{ml}$ )となり、橘湾では8月に最高値を示した。両海域での*V. vulnificus*菌数は、水温( $r_s=0.711$ )および塩分濃度( $r_s=-0.712$ )との間に高い相関を認めた。またDO、総窒素量およびクロロフィルa量と*V. vulnificus*菌数の間には、単回帰分析( $R^2>0.1$ )で低度の寄与率が認められた。

*V. vulnificus*は、有明海産魚介類からの分離率が橘湾のそれらよりも高く、二枚貝で90%および魚類で94.1%を示し、その菌数の最高値は $10^6 \text{MPN}/100\text{g}$ であった。

■ 論文 (5)

*Endocrine Journal*, 57 (1): 87-91 (2010)

**Urinary Iodine Concentrations in the High Background Radiation Areas of Kanakumari District, Tamilnadu, India**

Gopalganapathi M. BRAHMANANDHAN<sup>1), 2), 3)</sup>, Naomi HAYASHIDA<sup>1)</sup>, Yasuyuki TAIRA<sup>1)</sup>, Jeyapandian MALATHI<sup>3)</sup>, David KHANNA<sup>3)</sup>, Subramaniyan SELVASEKARAPANDIAN<sup>3)</sup>, Naoki MATSUDA<sup>2)</sup> and Noboru TAKAMURA<sup>1)</sup>

1) Department of Radiation Epidemiology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

2) Division of Radiation Biology and Protection, Center for Frontier Life Sciences, Nagasaki University, Japan

3) Department of Physics, Bharathiar University, Coimbatore, India

We screened urinary iodine (UI) concentrations in high background radiation areas of the Kanyakumari district of Tamilnadu, India. We collected 331 urine samples from three villages in the district: Chinna-Villai, Kadiyapatinam, and Pallam-Annai nagar. The median UI concentrations were 257, 262, and 454 µg/L in Chinna-Villai, Kadiyapatinam, and Pallam-Annai nagar, respectively. Only 27 samples showed mild or moderate iodine deficiency (<100 µg/L) and none showed severe deficiency (<20 µg/L). These findings indicate that iodine supplementation in the villages is sufficient, probably as a result of appropriate fortification of iodized salt in the region. Further screening, including morphological and functional analysis of the thyroid gland, will be needed to clarify the health effects of chronic low-dose radiation exposure attributable to residing in a high background radiation area.

■ 論文 (6)

*The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 219: 263-267 (2009)

**Poor Chewing Ability Is Associated with Lower Mucosal Moisture in Elderly Individuals**

Tetsuko Shinkawa<sup>1)</sup>, Naomi Hayashida<sup>1)</sup>, Kurumi Mori<sup>1)</sup>, Keiichi Washio<sup>1)</sup>, Kanami Hashiguchi<sup>1)</sup>, Yasuyuki Taira<sup>1)</sup>, Michiko Morishita<sup>1)</sup> and Noboru Takamura<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Radiation Epidemiology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

Oral dryness is common among aging individuals and its objective evaluation is an important issue for improving their oral health. In the present study, we measured the objective mucosal moisture in elderly individuals with a moisture checker and evaluated its relation with laboratory findings and subjective oral status. The subjects were 502 adults (244 men and 258 women), with a mean age of 72.3 ± 6.7 years, who participated in a regular medical screening program in Nagasaki Prefecture, Japan. We evaluated the moisture of the oral mucosa by measuring the weight percentage of water content in the oral epithelium, subjective oral dryness, self-assessed chewing ability [“good” (“able to chew all foods”) or “poor” (“able to chew soft foods only” and “unable to chew any foods”)], and laboratory findings. The values obtained with a moisture checker, which represent objective oral mucosal moisture, were significantly lower in women with poor chewing ability

than those with good chewing ability ( $28.2 \pm 2.4\%$  vs.  $29.2 \pm 2.0\%$ ,  $p=0.004$ ) and in all subjects ( $28.4 \pm 2.4\%$  vs.  $29.1 \pm 2.0\%$ ,  $p=0.004$ ), but not in men ( $28.6 \pm 2.5\%$  vs.  $29.0 \pm 2.0\%$ ,  $p=0.27$ ). When multiple logistic regression analysis was performed on confounding factors, older age (OR: 1.24,  $p=0.015$ ), women (OR: 1.70,  $p=0.016$ ), and anemia (OR: 1.96,  $p=0.030$ ) were significantly associated with self-assessed chewing ability. Our current study indicates that poor chewing ability is associated with lower mucosal moisture in elderly individuals.

## ■ 論文 (7)

**Appl. Clay Sci. 46 (3): 296-299, 2009**

### **Antimicrobial activity and thermostability of silver 6-benzylaminopurine montmorillonite**

Fumihiko Ohashi<sup>1</sup>, Seiichi Ueda<sup>2</sup>, Toshitsugu Taguri<sup>3</sup>, Shoko Kawachi<sup>4</sup> and Hisao Abe<sup>5</sup>

<sup>1</sup>MRISUS-AIST, Shimo-Shidami, Moriyama, Nagoya 463-8560, Japan, <sup>2</sup>Siebold Univ. Nagasaki, 1-1-1 Manabino, Nagayo, Nagasaki 851-2195, Japan, <sup>3</sup>Nagasaki Pref. Inst. for Environ. Res. and Public Health, 1306-11 Ikeda, Omura 856-0026, Japan, <sup>4</sup>Biken Technos Co., 166-1 Shiratake, Sasebo 857-1164, Japan, <sup>5</sup>Ceram. Res. Center of Nagasaki, Hasami, Higashi-Sonogi, Nagasaki 859-3726, Japan

Novel antimicrobial materials were constructed by the intercalation of organometallic cations into montmorillonite. The silver chelate complex of 6-benzylaminopurine was intercalated into montmorillonite by a cation exchange reaction in aqueous medium. The basal spacing of 1.8 nm was attributed to an almost planar arrangement of the silver chelate complex. Most of the interlayer cations were replaced by the silver chelate complexes. Thermogravimetric/differential thermal analyses indicated that the degradation temperature of the chelating ligands was increased by complexation with the silver ions and electrostatic binding in the interlayer space. Ca. 0.15% of the silver chelate complex was released in water after 7 days followed by steady-state release up to 22 days. The intercalated montmorillonite exhibited antibacterial and antifungal activity compared with the commercial silver supported products.

## ■ 論文 (8)

**九州大学出版会「油症研究Ⅱ」2010年2月発行 第1部 第4章 40-45**

### **油症患者の血液中 PCB・PCQ 濃度の測定(長崎県)**

○山之内公子 長崎県環境保健研究センター

カネミ油症発生当時から長崎県は、「長崎油症研究班」を組織し、毎年五島市(玉之浦・奈留)及び長崎市で油症検診を実施するなど、油症の診断と治療法に関する研究等を行ってきた。当センターでは1973年から血液中のポリ塩化ビフェニル(PCB)の分析を、1979年からポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)の分析を開始し、各年度の分析結果はカネミ油症認定診査の基礎資料として長崎県認定審査会に提供してきた。35年間で延べ6,625人の試料を分析し、そのうち1,338人のデータについては経年変化を解析、認定診査会に報告してきた。

#### 1. 検診受診者数および認定患者数の推移

1968年から2008年までに延べ10,577人が検診を受診した。検診開始時は受診者が500人を超えていた

が、1987年以降受診者は100人前後で推移してきた。2007年4月に、与党カネミ油症問題対策プロジェクトチームにおいてカネミ油症被害者救済策が決定し、カネミ油症患者の実態調査が実施されたこともあり、2008年度を受診者数は最近20年では最高になった。認定患者数については、1988年以降認定される人はいなかったが、2004年に2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF)が油症診断基準に追加され、新たに25人が認定された。2009年8月現在長崎県の認定患者数は779人で、全国の認定患者の約4割を占める。

## 2. 油症認定患者の血中 PCB・PCQ 濃度の経年変化

検診受診認定患者の血中 PCB・PCQ 濃度の濃度分布をみると、高濃度者の割合が年々減少し低濃度者の割合が増加している。また、認定患者の PCB・PCQ 濃度の経年変化をみると、生体内残留性の強さは、PCDF>PCB>PCQと推定されているが、PCBと比較するとPCQはあまり変化がみられず、体内半減期が長く、体外への排出が少ないと考えられる。

## ■ 論文 (9)

**Jpn. J. Infect. Dis., 63 (2): 119-123, 2010**

### **Comparison of Ethidium Monoazide and Propidium Monoazide for the Selective Detection of Viable Legionella Cells**

Bin Chang\*, Toshitsugu Taguri<sup>1</sup>, Kanji Sugiyama<sup>2</sup>, Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, and Haruo Watanabe

*Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640; <sup>1</sup>Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Nagasaki 856-0026; and <sup>2</sup>Department of Microbiology, Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, Shizuoka 420-8637, Japan*

*(Received September 11, 2009. Accepted January 18, 2010)*

Ethidium monoazide (EMA) and propidium monoazide (PMA) have been utilized for selective PCR amplification of DNA from viable bacterial cells. In this study, we compared the abilities of EMA and PMA, together with real-time PCR, to specifically distinguish dead Legionella cells from viable cells. Several experiments showed that PMA or EMA treatment could specifically prevent the PCR amplification of DNA from dead Legionella cells in water samples. However, a 4-fold higher concentration of PMA than EMA was required to achieve this effect. EMA may therefore be more useful for practical environmental investigations of Legionella.

## ■ 論文 (10)

**J. Clin. Microbiol. 48 (3): 728-735, 2010**

### **Development of a Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Detection of Pandemic (H1N1) 2009 Virus as a Novel Molecular Method for Diagnosis of Pandemic Influenza in Resource-Limited Settings**

Toru Kubo,<sup>1,2</sup> Masanobu Agoh,<sup>3</sup> Le Q. Mai,<sup>4</sup> Kiyoyasu Fukushima,<sup>5</sup> Hidekazu Nishimura,<sup>6</sup> Akinori Yamaguchi,<sup>3</sup> Manabu Hirano,<sup>3</sup> Akira Yoshikawa,<sup>3</sup> Futoshi Hasebe,<sup>1,2</sup> Shigeru Kohno,<sup>7</sup> and Kouichi Morita<sup>2\*</sup>

*Center for International Collaborative Research, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University, 1-12-4, Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan,<sup>1</sup> Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, 1-12-4, Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan,<sup>2</sup> Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, 2-1306-11, Ikeda, Omura, Nagasaki, Japan,<sup>3</sup> National Institute of Hygiene and Epidemiology, No. 1 Yersin Street, Hai Ba Trung District, Hanoi 10000, Vietnam,<sup>4</sup> Division of Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Nagasaki Genbaku Isahaya Hospital, 986-2, Keya, Tarami, Isahaya, Nagasaki, Japan,<sup>5</sup> Virus Research Center, Clinical Research Division, Sendai Medical Center, National Hospital Organization, 2-8-8 Miyagino, Sendai, Miyagi 983-8520, Japan,<sup>6</sup> Department of Molecular Microbiology and Immunology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-12-4, Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan<sup>7</sup>*

This paper reports on the development of a one-step, real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay targeting the hemagglutinin (HA) gene for the rapid molecular-based detection of pandemic (H1N1) 2009 virus. The detection limit of the pandemic (H1N1) 2009 virus HA-specific RT-LAMP assay was same as that of the currently used real-time reverse transcription-PCR method. The assay detected the pandemic (H1N1) 2009 virus HA gene in 136 RNA samples extracted from nasopharyngeal swab specimens from Japanese and Vietnamese patients. No cross-reactive amplification with the RNA of other seasonal influenza viruses was observed, and the detection of specific viral genome targets in clinical specimens was achieved in less than 40 min. The sensitivity and specificity of the pandemic (H1N1) 2009 virus HA-specific RT-LAMP assay obtained in this study were 97.8% and 100%, respectively. Use of the (H1N1) 2009 virus HA-specific RT-LAMP assay will enable the faster and easier diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus infection, especially in resource-limited situations in developing countries.

## ■ ポスター発表 (1)

第 82 回日本内分泌学会学術総会 平成 21 年 4 月 23 日 前橋市

### チェルノブイリ周辺におけるヨード充足状況の評価:都市部と地方の比較

○平良文亨<sup>1,2)</sup>、林田直美<sup>1)</sup>、山下俊一<sup>1)</sup>、高村昇<sup>1)</sup>  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科<sup>1)</sup>、長崎県環境保健研究センター<sup>2)</sup>

#### 要 旨

1986 年のチェルノブイリ原子力発電所事故後、事故時に小児～若年者であった世代に甲状腺がんが激増したことはよく知られているが、この地域は事故当時ヨード欠乏状態であったことが推定されており、このことも甲状腺がんの増加の一因であったと考えられている。今回我々は甲状腺がんの増加が最も顕著にみられたベラルーシ共和国ゴメリ州の州都であるゴメリ市と地方都市であるホイニキ市においてヨードの充足状況の評価した。まず、ゴメリ市及びホイニキ市の一般住民 100 名及び 126 名から随時尿を採取し、simple microplate method で尿中ヨード濃度を測定後、Mann-Whitney の U 検定によって両市の濃度を比較すると同時に、ゴメリ市については、2000 年に我々が同市で実施した尿中ヨードの測定結果と比較した結果、ゴメリ市の中央値は 220.5  $\mu$ g/L であり、2000 年(中央値:47.3  $\mu$ g/L)に比して、有意に改善していた。またホイニキ市の中央値は 228.0  $\mu$ g/L であり、両市において尿中ヨード濃度に差は見られなかった( $p=0.39$ )。また中等度( $<50 \mu$ g/L)や重度( $<20 \mu$ g/L)のヨード欠乏を示すサンプルはなかった。以上から、ベラルーシ共和国の都市部及び地方においてヨードの充足状況は改善していることが示唆された。このことは、ヨード塩によるヨードの充足が都市部、地方の両方において順調に行われていることを示唆するものである。

## ■ 口頭発表 (2)

第 44 回日本脳炎生態学研究会 2009 年 6 月 19-20 日 千歳市

### 長崎県におけるイノシシの日本脳炎抗体保有率調査(2)

○吉川亮<sup>1,2)</sup>、井上真吾<sup>2)</sup>、吾郷昌信<sup>1,2)</sup>、森田公一<sup>2)</sup>  
(<sup>1</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>2</sup>長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野)

### Serological surveillance on Japanese encephalitis virus infection of wild boars in Nagasaki (2)

Akira Yoshikawa, Shingo Inoue, Masanobu Agoh, Koichi Morita

<sup>1</sup>Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health and

<sup>2</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University

【背景と目的】 昨年の本研究会において、ブタの飼育地とイノシシの生活圏が近接することにより、イノシシの日本脳炎ウイルスに感染する機会が増えることが推察され、イノシシが日本脳炎ウイルスの増幅動物となる可能性について報告した。そこで、本年もイノシシの日本脳炎ウイルス増幅動物として可能性を探索するため、長崎県におけるイノシシの抗体保有率を追加調査したので報告する。

【材料および方法】 2006 年 5 月から 2009 年 3 月の期間に長崎県内においてブタの飼育地区の近隣で捕獲されたイノシシ 120 頭及びブタの非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシ 30 頭、合計 150 頭の血清を使用した。抗体価(IgG)の測定は anti-Flavi IgG indirect ELISA を用いて行った。

【結果及び考察】 2008 年の調査では、イノシシ 42 頭中 15 頭(35.7%)で IgG 陽性、42 頭中 5 頭(11.9%)で



IgM 陽性であったが、今年の追加調査では、今回新たに入手したイノシシ 150 頭の血清のうち 87 頭 (58.0%) で IgG 陽性であった。このうち、ブタが飼育されている本土地区のイノシシにおいて、昨年 34 頭中 14 頭 (41.2%) が IgG 陽性であったのに対し、今回は 120 頭中 67 頭 (55.8%) が IgG 陽性となり、感染率が上昇した。一方、ブタの非飼育地区 (離島) のイノシシにおいては、昨年は 8 頭中 1 頭 (12.5%) のみ IgG 陽性であったが、今回は 30 頭中 20 頭 (66.7%) が IgG 陽性となり感染率が大幅に上昇した。

以上のことからブタの非飼育地区 (離島) においても活発に日本脳炎ウイルスが活動していることが確認され、近年離島においても増加傾向にあるイノシシが日本脳炎ウイルスの増幅動物となる可能性が示唆された。現在、さらにウイルス分離、IgM 抗体及び中和抗体等について解析中である。

## ■ 口頭発表 (3)

第 50 回大気環境学会年会 平成 21 年 9 月 16 日 横浜市慶應義塾大学

### 長崎県北部高地における水稻葉枯症とその発症要因

○森淳子<sup>1)</sup>、伊藤祥子<sup>2)</sup>、清水英幸<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>2)</sup>国立環境研究所

長崎県北部の高標高地帯の水田では、水稻葉枯症が昭和 40 年代から発生しており、累積被害額は 8 億円にも及ぶ。これまでの長崎県による調査では、酸性霧を含めた大気汚染や気象条件が関係している可能性が指摘された。

2006 年 4 月から 3 年間は環境省地域密着型研究として長崎県環境保健研究センター、長崎県総合農林試験場、国立環境研究所および中央農業総合研究センターの共同研究として取り組んだ。

長崎県総合農林試験場は毎年、田植えから収穫時期まで県北部一体での被害発生状況をモニタリングするとともに、対策技術について検討を行った。長崎県環境保健研究センターは被害頻発地区 (里美) と対象地区 (心野) において、酸性霧、気象、水田水質の観測を行い水稻被害との関係を検討した。

2006 年と 2007 年は 6 月 10 日前後に入梅し、7 月 20 日前後に梅雨明けし、梅雨の期間としてはほぼ平年並みであった。この間、里美では、強い酸性度の霧が観測された。2006 年には梅雨明け後 8 月の初頭に被害が初発し、その後広い範囲で確認された。2007 年は 7 月 17 日に被害が確認された。2007 年 7 月 21 日に採取された霧は、最低 pH が 2.41、最高 pH が 2.78 と、2006 年からの観測でも最低レベルの pH を示した。このときの硫酸イオン濃度は最高 6800  $\mu$  eq/L、硝酸イオンは最高 2800  $\mu$  eq/L であった。酸性霧の存在は梅雨時期の日照不足、低温などの条件とともに、被害発現との関係が示唆される。

2008 年の入梅時期は平年並みであったが、梅雨明けが 7 月 6 日とやや早かった。この年、被害の発生はごく一部に限られた。この年被害が発生した水田の共通点として、未熟堆肥の投入や乾土効果で地力が高い傾向にあることがあげられ、窒素過多と被害発生の関係が示唆された。

被害頻発地区 (里美) と対象地区 (心野) の気象、水田水質データの比較からは、被害発生地区の方が気温、水温が低く、湿度が高く、日照が不足していることが確認できた。

## ■ 学会発表 (4)

日本分析化学会第 58 年会 平成 21 年 9 月 24-26 日 北海道

### 閉鎖性海域である大村湾の難分解性溶存有機物の実態とその起源について

○中村 心一、浦 伸孝、本多 隆 (長崎県環境保健研究センター)

【緒言】長崎県の中央に位置する大村湾は、閉鎖性内湾であるため、外海との海水交換率が悪く、また湾流域における人口の増加も重なり、水質の悪化が懸念されている。これまで長崎県は、大村湾への汚濁負荷量を削減するために、生活排水や工場・事業場排水に対して排水基準の規制強化等の各種対策を講じてきた。しかしながら、水質の汚濁指標である COD (化学的酸素要求量) が依然として環境基準 (2 mg/L) を超過している。

そこで本研究では、水質汚濁の一つの要因として考えられる難分解性溶存有機物に着目し、大村湾における実態解明を目的に大村湾海域、流入河川及び工場・事業場排水について非イオン性交換樹脂による分画法を用いた溶存有機物調査を行った。

【調査方法】海域調査は、2007 年 10 月から 2008 年 8 月まで、湾口部から湾奥部にかけての 5 地点において表層水及び底層水を採取した。流入河川及び工場・事業場調査は、2007 年 10 月及び 2008 年 1 月に実施し、6 河川及び下水処理施設と食品製造業の 10 工場・事業場について実施した。採水試料は、ろ過後 pH 2 に調整し、非イオン性交換樹脂 (Supelco 社製 Spelite DAX-8) を充填した分画カラムに通水し、親水性成分・疎水性塩基成分を分画した。次に、逆方向から水酸化ナトリウム水溶液を通水し、疎水性酸成分を溶出させた。溶存有機物測定には、島津製作所製 TOC-V<sub>CPN</sub> を用いた。また、疎水性中性成分は、カラムに保持されたまま溶出されないため、全溶存有機物濃度から親水性成分・疎水性塩基成分及び疎水性酸成分濃度を差し引いた値とした。

【結果】海域、河川及び工場・事業場排水の溶存有機物濃度は、それぞれ 0.9-1.5、0.2-1.7 及び 0.4-29.3 mgC/L であった。海域試料の生分解試験の結果、64 日後においても約 60%の有機物が残存しており、難分解性有機物の存在が示唆された。また、海域試料中の形態別溶存有機物組成は、親水性成分・疎水性塩基成分が全体の約 70%を占め、疎水性酸成分は約 15%であった。河川では、人為的負荷の少ない河川において、疎水性中性成分の割合が極端に少ない結果が得られた。また、各試料の形態別溶存有機物組成によるクラスター分析を行った結果、海域表層試料と工場・事業場排水が同グループに区分され、類似性が示唆された。この結果を基に、今後は工場・事業場の業種や排水の処理工程による溶存有機物組成の違いを把握し、海域試料との関係性を調査していく予定である。

## ■ 口頭発表 (5)

第 148 回日本獣医学会学術集会 2009 年 9 月 26-27 日 鳥取市

### 長崎県沿岸における *Vibrio vulnificus* の分布と環境因子

○山崎省吾<sup>1)</sup>、右田雄二<sup>1)</sup>、吾郷昌信<sup>1)</sup>三澤尚明<sup>2)</sup>、岡本嘉六<sup>2)</sup>、高瀬公三<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>2)</sup>山口大学連合獣医学研究科

【目的】*Vibrio vulnificus* (*V. vulnificus*) 感染症は、その発生に地域的特徴があり、国内では有明海沿岸を中心に多くの患者が報告されている。本菌は、海洋細菌であるビブリオ属の一菌種で、海水中に生息するが、本菌と環境因子との関係について、未だ不明な点が多い。そこで本研究では、沿岸海水における *V. vulnificus* の季節消長と環境因子の関係を調べた。

【方法】長崎県沿岸の漁港 7 地点 (有明海 5 地点、橘湾 2 地点) で 2004 年 7 月から 2007 年 1 月に採取された海水中の *V. vulnificus* 菌数を Most probable number (MPN)-PCR 法を用いて測定し、その菌数の増減に及ぼす各種環境因子 (水温、塩分濃度、溶存酸素 (DO)、化学的酸素要求量 (COD)、全窒素、全リン、クロロフィル a 量) の影響を地域性および季節性の要因を加味して統計学的に検討した。

【結果および考察】*V. vulnificus* 菌数は、有明海では 6 月から菌数上昇傾向を示し 7 月に最高値 ( $4.50 \times 10^4 \pm 17.1$  MPN/100ml) となり、橘湾では 8 月に最高値 ( $4.46 \times 10^3 \pm 8.72$  MPN/100ml) を示した。両海域での *V. vulnificus* 菌数は、水温 ( $r_s=0.711$ ) および塩分濃度 ( $r_s=-0.712$ ) との間に高い相関を認めた。また

DO、全窒素およびクロロフィル a 量と *V. vulnificus* 菌数の間には、単回帰分析 ( $R^2 > 0.1$ ) で低度の寄与率が認められた。また、魚介類における *V. vulnificus* の分離率は、橘湾産で 43.8%、有明海産で 80.8%と有明海産魚介類で高く、有明海産の二枚貝で 90%および魚類で 94.1%を示し、その菌数の最高値は  $10^6$  MPN/100g であった。

以上の結果より、有明海での海水中の *V. vulnificus* の菌数および魚介類からの *V. vulnificus* の分離率が高いのは、環境因子が複合して形成される有明海特有の環境を反映した結果であると推察される。

## ■ 口頭発表 (6)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

### 長崎県大村湾における水産有用底生生物浮遊幼生の分布

○粕谷智之、川井仁、中村心一、山口仁士 (長崎県環境研セ)、中田英昭 (長大水産)、高橋鉄哉 (東大海洋研)

#### 要 旨

大村湾では近年、二枚貝やマナマコなどの漁獲量の減少が問題となっている。しかし、大村湾における水産有用底生生物に関する生態学的な研究はあまり行われておらず、浮遊期の幼生に関する知見は極めて少ない。本研究では予備調査などによって選定した水産有用種 9 種(マナマコ、アサリ、タイラギ、マガキ、アコヤガイ、アカガイ、ハマグリ、アカガイ、トリガイ)を対象として 2007 年から 2009 年にかけて浮遊幼生の分布状況を調べた。幼生が最も多く出現したのは 2007 年で、出現密度のピークは主に夏期に見られた。2007 年 9 月および 2008 年 9 月には湾奥を中心に大規模な青潮が発生し、魚介類が大漁に斃死した。また、2007 年と比較して、2008 年および 2009 年には肉食性動物プランクトンであるカブトクラゲが多く出現した。青潮による親貝の大量死やカブトクラゲによる幼生の捕食が、浮遊幼生出現密度の年変動の一因となっている可能性がある。

## ■ 口頭発表 (7)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

### 長崎県における食品とアレルギーに関する実態調査

○土井康平、辻村和也、濱野敏一 長崎県環境保健研究センター

国民の約 3 人に 1 人がアレルギー疾患に罹患していることが明らかにされており、アレルギーは国民病であるといえる。このような背景を踏まえ、平成 14 年 4 月には、食物アレルギーを防止する観点から食品への特定原材料 5 品目(現在 7 品目)の表示が義務化され、「食」の安全・安心の観点からもアレルギー対策が必要となっている。しかながら、本県においては、アレルギーに関する実態把握が行われていない状況であり、今後食物アレルギー対策に取り組むための基礎資料を得ることを目的に実態調査を行った。

調査対象は、長崎県内の 2 地域(大村市(本土)と五島市(離島))の小学校児童およびその同居の家族(2,272 世帯)を調査の対象とした。調査方法はアンケート方式で実施した。主な調査事項は、アレルギーおよび食物アレルギーの有無並びにアレルギーを起こす食品、食物アレルギーに対する免疫学的寛容の有無等について調査を行った。

アンケートは 1,813 世帯からの回答があり、回収率は 79.8%で、7,681 名のデータを得た。自己診断により何らかのアレルギー症状を有する人は全体の 40.8%であった。アレルギーの有症頻度に関しては、地域間差は

ほとんど無かった。食物アレルギーの有症率は全体の 9.0%であり、原因食品としては、卵、牛乳に加え魚介類や野菜、果物、ソバによるアレルギー有症頻度が高かった。魚介類アレルギーについて種類別でみると、平成 20 年 4 月 1 日から特定原材料として追加されたエビ・カニや特定原材料に準ずるサバ、イカの有症数が多かった。魚介類アレルギーに関しては、ヒスタミン等の仮性アレルゲンによるアレルギー様症状も影響しているものと考えられた。野菜アレルギーについて種類別にみると、特定原材料に準ずるヤマモモの発症数が多かった。ヤマモモはシュウ酸カルシウムを含有しており、物理的刺激により皮膚症状を起こしているものと推察された。果物アレルギーに関しては、特定原材料に準ずるキウイフルーツの他にパイナップル、メロン、スイカで発症数が比較的多かった。食物アレルギーの原因食品ごとに食品間の相関を調べた結果、エビ・カニの甲殻類とキュウリ・スイカ、メロン・スイカのウリ科の食物にアレルギー発症における相関があったが、異なる食品群間では相関は認められなかった。魚介類、特に魚アレルギーに関しては一般的に多種の魚に対して反応を起こす例が多いことが知られているが、今回の調査結果ではエビ・カニを除いて魚介類ではアレルギー発症における種間の相関は低かった。

## ■ 口頭発表 (8)

### 第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

#### 原因菌が分離されたヒスタミン食中毒の一事例

○山崎省吾、土井康平、右田雄二、高藤美和子、濱野敏一、吾郷昌信

**【目的】** ヒスタミンは、即時型アレルギーの原因物質の一つであり、肥満細胞、好塩基球顆粒に存在し、アレルゲンの侵入により放出されアレルギーを惹起する。また、体内では経口摂取においても同様の作用を発現する。ヒスタミン食中毒の原因食材はすべて海産魚に由来する刺身あるいはその調理加工品であり、脱炭酸酵素 (Histidine decarboxylase: HDC) により分解されてヒスタミンが生成される。

通常、アレルギー様食中毒が疑われる時は、ヒスタミンの理化学的検出により食中毒事件は帰結するため、一般には細菌検査や生成菌の検出まで行われることは少ない。このため、ヒスタミン生成菌に関する知見は多いとはいえないのが実情である。

今回、原因食材にヒスタミン含有を認めたアレルギー様食中毒事例が発生し、さらにヒスタミン生成菌を分離したので報告する。

**【材料および方法】** アレルギー様食中毒事例の原因食品として推定された魚肉練り製品“まさご揚げ”の魚肉のみの原料(魚肉原料)および加熱加工後の製品(製品)を検体とした。ヒスタミンを既報(食品衛生検査指針)に従い定量した。

ヒスタミン生成菌の分離は既報に従い、希釈攪拌した食品を 2.5% NaCl 添加ヒスチジンブロスで 25°C、48 時間増菌後、ヒスタミン産生能を濾紙クロマトグラフィー法にてスクリーニングした。菌は Niven's agar に塗抹培養後分離した。

PCR による検出は、既報を一部変更し、*hdc* 遺伝子の検出を行った。また、PCR 増幅後の産物は塩基配列を決定し、得られたアミノ酸配列を Blast 検索して同定した。

**【結果】** 平成 20 年 9 月 30 日に長崎県立保健所管内で、“まさご揚げ”を食べた保育所の園児 8 名がアレルギー様症状を呈し、うち一名が病院を受診した。園児および保育士等 35 名が原因食を喫食し、発症数は 8 名 (22.9%) であった。患者の男女構成比は男:女=1:1 で、年齢は 2 歳以下 3 名、4 歳以下 3 名および 6 歳以下 2 名であった。主な症状として、喫食後、約 30 分以内に蕁麻疹 (1 名) および発赤 (8 名) が認められた。

ヒスタミン量は、魚肉原料で 100 mg/100g、製品で 59 mg/100g であった。

ヒスタミン生成菌 (*hdc* 陽性菌) の分離および *hdc* 遺伝子を解析した結果、原料のヒスチジンブイオン増菌液の PCR スクリーニングで、*hdc* はいずれも陽性を示した。さらに、Niven's agar 上のヒスタミン生成菌を疑うコロ

ニーでも *hdc* 陽性菌が確認された。一方、製品から菌分離できなかった。得られた *hdc* のアミノ酸配列の Blast 検索の結果、*Photobacterium phosphoreum* (Accession No. BAE94284) と 94% の相同性を示した。

**【考察】** 製品におけるヒスタミン量の減少は、つなぎ等の添加物の付加によるものと考えられた。ヒスタミンは耐熱性であるため加熱工程を経ても、ヒスタミンの減少はほとんどなかったものと推察される。また、HDC のアミノ酸配列は、同種間においても多型が示されており、本分離株のヒスタミン生成能等について、さらに検討する予定である。

ヒスタミン食中毒の検査において、ヒスタミンを含む不揮発性アミン類の定量は「食品衛生検査指針」や「衛生試験法」に記載されているものの、その生成菌の分離に関して“公定法”は存在しない。生成菌の検索に今回、東京海洋大学で確立された方法を用いることによりヒスタミン生成菌が分離された。しかしながら、本方法を全て実施すると煩雑になるため、PCR 法を用いて簡便化した。PCR 法を用いた食品中の原因菌のスクリーニングは、通常の食中毒菌でよく用いられる方法であり、起因菌検索において導入しやすいものとする。

## ■ 口頭発表 (9)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

### エンテロウイルスの高感度検出法に関する検討

○吾郷昌信、平野 学、山口顕徳、吉川 亮 長崎県環境保健研究センター

**【目的】** 夏かぜの代表的な原因ウイルスの一つであるヒトエンテロウイルス(HEVs)には 100 以上もの血清型が存在し、分離同定は中和試験により行われてきたが、煩雑で長時間を要する上に分離同定が困難な場合も少なくない。近年、RT-PCR で VP4 領域を増幅して塩基配列を解読することにより迅速に型別同定が行われるようになってきたが、比較的保存された領域のため同定できない場合も多い。最近、Nix らによって開発された Consensus-Degenerate Hybrid Oligonucleotide Primers (CODEHOP) を用いてエンテロウイルス間で多様性のある VP1 領域を増幅する CODEHOP RT-PCR 法が、より高率に HEVs の型別同定を可能にする方法として注目されている。本研究では、夏かぜにおける HEVs の侵淫状況を明らかにするために、臨床検体から CODEHOP RT-PCR 法を用いた HEVs 高感度検出法の有効性を確認すると共に、培養細胞を用いたウイルス分離・同定との比較検討を行った。

**【材料と方法】** 来院時、上気道炎症状を呈した患者より採取された咽頭ぬぐい液 216 検体を材料とした。ウイルス RNA を抽出後、Nix らの方法に準じて CODEHOP RT-PCR により VP1 領域を増幅した後、塩基配列を決定して型別同定した。ウイルス分離・同定は、HEp-2、RD-18S、Caco-2、Vero 細胞を用いて中和法により行った。

**【結果】** 使用した培養細胞では HEVs 49 株が分離され、49 株中 48 株は HEV B に属するウイルスで、HEV A に属するウイルスはコクサッキーウイルス A3 の 1 株のみであった。本法による HEVs の分離率は、22.7% であった。これに対して、CODEHOP VP1 RT-PCR 法による HEVs の検出、同定では、105 株が検出・同定され、陽性率は 48.6% と培養細胞法の 2 倍以上の高値を示した。同定された HEVs の 7 割以上は培養細胞で分離しにくい HEV A に属するウイルス(77 株)であった。

**【考察】** CODEHOP RT-PCR 法は、従来法に比較して多検体処理への応用も可能で、高感度かつ比較的短時間に同定まで行える上に、HEV A に属するウイルスでも問題なく型別同定でき、同定後に使用する細胞を選択して目的のウイルスを分離することもできることなどから極めて有用な方法であるとする。

## ■ 口頭発表 (10)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

## 長崎県におけるイノシシの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況

○吉川亮、山口顕徳、平野学、吾郷昌信 長崎県環境保健研究センター

### 【目的】

長崎県では、2000 年以降、イノシシの捕獲頭数が急増し、生息数・生息密度・生息範囲いずれも増加していることが推計されていることから、ヒトの生活圏とイノシシの生息域が近接・交差し、イノシシが保有もしくは媒介する病原体による Zoonosis が懸念されている。特に、イノシシはブタに近縁であることから日本脳炎ウイルス(JEV)の増幅動物としての可能性が示唆され、新たな日本脳炎の感染源として留意する必要がある。

そこで、長崎県におけるイノシシの JEV 感染状況を調査し、イノシシの JEV 増殖動物としての可能性について検討した。

### 【材料と方法】

2006 年 5 月から 2009 年 3 月の期間に長崎県内でブタの飼育地区の近隣で捕獲されたイノシシ 154 頭及びブタの非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシ 38 頭、合計 192 頭の血清を使用した。

JEV に対する抗体価(IgG・IgM)は、anti-JEV IgG indirect ELISA 及び anti-JEV IgM capture ELISA により測定した。

また、IgG 抗体の上昇が認められなかった血清は、JEV 遺伝子の検索並びに Vero 9013 細胞を用いてウイルス分離を行った。

### 【結果】

捕獲されたイノシシ 192 頭中 102 頭(53.1%)が抗 JEV IgG 陽性、16 頭(8.3%)が抗 JEV IgM 陽性であった。このうち、ブタの飼育地区近隣で捕獲されたイノシシでは 154 頭中 81 頭(52.6%)が抗 JEV IgG 陽性、16 頭(10.4%)が抗 JEV IgM 陽性であった。一方、ブタの非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシでは 38 頭中 21 頭(55.3%)が抗 JEV IgG 陽性を示したものの、抗 JEV IgM 陽性個体は確認されなかった。

また、IgG 抗体の上昇が認められなかったイノシシ 90 頭の血清から JEV 遺伝子の確認及び JEV の分離はできなかった。

### 【考察】

今回の調査では、イノシシの血清中から JEV を直接検出することはできなかった。

しかしながら、イノシシはブタの飼育状況に関係なく同程度の JEV 感染状況を示し、イノシシの生息域でも活発に JEV が活動していることが確認されたことから、増加傾向にあるイノシシが JEV の増幅動物となる可能性が示唆された。

## ■ 口頭発表 (11)

### 第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

#### 環境マネジメントシステム エコアクション 21 への取組み

○森 淳子、荒木昌彦、赤木 聡、西村 昇 長崎県環境保健研究センター

【はじめに】平成 20 年 4 月、長崎県環境保健研究センター(以下「当センター」という)は、設置理念及び3つの基本方針並びに運営計画(平成 19~22 年度)の実現と併せ、自ら率先して環境に配慮する行動を継続的に実施していくためエコアクション 21(以下「EA21」という)への取り組みを決定した。ここでは、平成 21 年 3 月 13 日、財団法人地球環境戦略研究機関持続性センターから EA21 の認証・登録を受けるまでの取り組みの概要を紹介する。

【取組概要】取り組みにあたっては、EA21 地方公共団体向けマニュアル試行版及び EA21 大学等(教育・

研究機関)向けマニュアル試行版に従った取り組みを行った。また取り組みの結果については、「環境活動レポート」を作成し、公表することがEA21の特徴ともなっている。

**【まとめ】**当センターのEA21の認証・登録は長崎県で22番目、公共団体としては初めてとなった。九州全体では市の機関が2施設登録を果たしたのみで、県の機関としては初めてとなった。これを契機として、長崎県をはじめ九州各県においても公的機関の認証・登録が拡大することが期待されている。

EA21は、代表的な環境マネジメントシステムであるISO14001に比べ、国際的には有効性を持たないものの、一桁小さい費用で取り組むことができる。また、マニュアルや様式、審査基準がホームページ上に整備されており、大変取り組みやすいシステムとなっている。また結果を環境活動レポートとして公表することを義務付けているため、成果が確実に得られるという特徴を持っている。今後、県内中小企業、公共団体等に普及すれば、温暖化ガスの削減をはじめ、環境負荷の削減が確実に図れることが期待できる。

このようなことから、当センターにおいても、企業などを対象とした支援制度説明会において、資料の配布を行ったが、今後も機会を捉えて普及・啓発に努めたいと考えている。

## ■ 口頭発表 (12)

**LEGIONELLA 2009 Paris October 2009.**

### **Detection and quantification of viable Legionella cells from environmental water samples by combined use of ethidium monoazide and real-time PCR**

Bin Chang<sup>1</sup>, Toshitsugu Taguri<sup>2</sup>, Kanji Sugiyama<sup>3</sup>, Junko Amemura-Maekawa<sup>1</sup>,  
Fumiaki Kura<sup>1</sup> and Haruo Watanabe<sup>1</sup>

*1Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, 162-8640, Tokyo, Japan; 2Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Ikeda, 2-1306-11, 856-0026, Oomura City, Nagasaki, Japan; 3Department of Microbiology, Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, 4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, 420-8637, Shizuoka City, Shizuoka, Japan*

Legionellae are ubiquitous inhabitants of biofilms in aquatic environments and moist soil, replicating as intracellular parasites of protozoa. The bacteria widely exist in man-made water systems and cause legionellosis in humans. Because it takes 4-7 days to isolate Legionella organisms from environmental and clinical samples, we have worked on development and improvement of rapid detection methods in order to identify sources and routes of infections caused by Legionella at an early stage. In this study, ethidium monoazide (EMA) treatment was used together with real-time PCR targeting 16S or 5S rRNA genes for specific detection of DNA from viable Legionella cells. EMA could covalently link to the genomic DNA and inhibit PCR amplification of dead Legionella cells. Combined use of EMA and real-time PCR targeting 16S rRNA gene could specially and rapidly determine the number of viable cells in environmental samples. However, detection sensitivity of real-time PCR was low (100 CFU/100 ml). In order to increase sensitivity, EMA treatment and real-time PCR targeting 5S rRNA gene (1 CFU/100 ml) was tried. As a result, the number of Legionella cells estimated by the combination of EMA treatment and real-time PCR targeting 5S rRNA gene was found to be larger than that determined by plating, suggesting that EMA treatment could not completely inhibit PCR amplification targeting 5S rRNA gene of DNA from dead cells. It may be attributed to the difference between the lengths of PCR fragments targeting 16S and 5S rRNA genes and/or between the effects of EMA binding to the DNAs of the two genes. In conclusion, combined use of EMA and real-time PCR targeting 16S rRNA gene is appropriate to specifically detect viable Legionella cells from environmental samples.

■ 口頭発表 (13)

LEGIONELLA 2009 Paris October 2009.

**Using Flow Cytometry to Monitor the Risk of Legionellosis in Bath Water**

Toshitsugu Taguri<sup>1</sup>, Yasunori Oda<sup>2</sup>, Kanji Sugiyama<sup>3</sup>, Shinji Izumiyama<sup>4</sup> and Fumiaki Kura<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Health Department, Nagasaki Prefectural Institute for ER and Public Health, 2-1306-11 Ikeda, Omura 856-0026, Japan, <sup>2</sup> Sysmex Corporation, <sup>3</sup> Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, <sup>4</sup> National Institute of Infectious Diseases

Maintaining clean water in public bathing facilities is necessary in order to prevent water borne diseases, and thereby protects the bathing facility industry's reputation for health and safety. It is for that reason that water quality is constantly checked for contaminants, and chlorine is added whenever levels of contamination exceed the guidelines established by local and national governments. In the case of Legionella, however, the effectiveness of chlorination is greatly reduced by the presence in the water of Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, NH<sub>3</sub>, skin debris and/or biofilms; and therefore it is necessary to add more chlorine whenever such presence occurs. In the present detection system, we use a flow cytometer to measure the total number of bacteria (both intact and degraded) within 2 minutes per sample by detecting typical patterns of light scattering and fluorescence (derived from DNA/RNA stained with BactQuick Dye), and thereby above a threshold of 3,000 of total bacteria consistently indicates the occurrence of Legionella in the bathing system tested. First, 4 bath waters of hot springs with inocula of 10 species of bacterial strains were fully chlorinated to provide the specific scattergram in FCM and their inactivation was assessed by using Live/Dead bacterial fluorescence assay and plate counting. Second, in a laboratory model of a hot tub, it was demonstrated that this specific criteria could monitor the growth curve of naturally-occurring heterotrophic bacteria with one and two days-delayed growth of Amoeba and Legionella, respectively, and also the killing curve of these bacteria by chlorination. Finally, "positive" or "negative" samples determined by the FCM criteria in samples from different 149 hot tubs were significantly correlated with positive or negative for Legionella in samples (detection limit, 10 CFU/100mL) with 95% sensitivity and 84% specificity. As a result, the FCM assay can be used for Legionella control at bathing facilities, especially those where the effectiveness of chlorine is reduced. ACKNOWLEDGEMENT This work was supported by grants from H19-20 Nagasaki Prefectural Specific Research Project and Health and Labour Sciences Research Grant (H19-kenki-015 to T. E.).

■ 口頭発表 (14)

第 57 回日本ウイルス学会学術集会 2009 年 10 月 25-27 日 東京

**長崎県におけるイノシシの日本脳炎ウイルス感染状況**

○吉川亮<sup>1,2</sup>、井上真吾<sup>2</sup>、吾郷昌信<sup>1,2</sup>、森田公一<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>2</sup>長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野)

【目的と意義】長崎県では、2000 年以降、イノシシの捕獲頭数が急増し、生息数・生息密度・生息範囲いずれも増加していることが推計されていることから、ヒトの生活圏とイノシシの生息域が近接・交差し、イノシシが保有もしくは媒介する病原体による Zoonosis が懸念されている。特に、イノシシは豚に近縁であることから日



本脳炎ウイルス(JEV)の増幅動物としての可能性が示唆され、新たな日本脳炎の感染源として留意する必要がある。そこで、長崎県におけるイノシシの JEV 感染状況を調査し、イノシシの JEV 増殖動物としての可能性について検討した。

**【材料と方法】** 2006年5月から2009年3月の期間に長崎県内で豚の飼育地区の近隣で捕獲されたイノシシ 154頭及び豚の非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシ 38頭、合計 192頭の血清を使用した。JEV に対する抗体価(IgG・IgM)は、anti-JEV IgG indirect ELISA 及び anti-JEV IgM capture ELISA により測定した。IgG抗体の上昇が認められなかった血清は、JEV 遺伝子の検索並びに Vero 9013細胞を用いてウイルス分離を行った。

**【結果】** 捕獲されたイノシシ 192頭中 102頭(53.1%)が抗 JEV IgG 陽性、16頭(8.3%)が抗 JEV IgM 陽性であった。このうち、豚の飼育地区近隣で捕獲されたイノシシでは 154頭中 81頭(52.6%)が抗 JEV IgG 陽性、16頭(10.4%)が抗 JEV IgM 陽性であった。一方、豚の非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシでは 38頭中 21頭(55.3%)が抗 JEV IgG 陽性を示したものの、抗 JEV IgM 陽性個体は確認されなかった。また、IgG抗体の上昇が認められなかったイノシシ 90頭の血清から JEV 遺伝子の確認及び JEV の分離はできなかった。

**【考察】** 今回の調査では、イノシシの血清中から JEV を直接検出することはできなかった。しかしながら、イノシシは豚の飼育状況に関係なく同程度の JEV 感染状況を示し、イノシシの生息域でも活発に JEV が活動していることが確認されたことから、増加傾向にあるイノシシが JEV の増幅動物となる可能性が示唆された。

## ■ 口頭発表 (15)

第 57 回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月25-27日 東京

### 上気道炎患者由来検体からの高感度エンテロウイルス検出同定法

○吾郷昌信<sup>1)2)</sup>、平野 学<sup>1)</sup>、山口顕徳<sup>1)</sup>、吉川 亮<sup>1)2)</sup>、Umami Qifqiyar Nur<sup>3)</sup>、西村順裕<sup>3)</sup>、清水博之<sup>3)</sup>  
長崎県環境保健研究センター<sup>1)</sup>、長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野<sup>2)</sup>、国立感染症研究所ウイルス第二部<sup>3)</sup>

**【目的と意義】** 夏かぜの代表的な原因ウイルスの一つであるヒトエンテロウイルス(HEVs)には 100 以上もの血清型が存在し、分離同定は中和試験により行われてきたが、煩雑で長時間を要する上に分離同定が困難な場合も少なくない。近年、RT-PCR で VP4 領域を増幅して塩基配列を解読することにより迅速に型別同定が行われるようになってきたが、比較的保存された領域のため同定できない場合も多い。最近、Nix らによって開発された Consensus-Degenerate Hybrid Oligonucleotide Primers (CODEHOP)を用いてエンテロウイルス間で多様性のある VP1 領域を増幅する CODEHOP RT-PCR 法が、より高率に HEVs の型別同定を可能にする方法として注目されている。本研究では、夏かぜにおける HEVs の侵淫状況を明らかにするために、臨床検体から CODEHOP RT-PCR 法を用いた HEVs 高感度検出法の有効性を確認すると共に、培養細胞を用いたウイルス分離・同定との比較検討を行った。

**【材料と方法】** 来院時、上気道炎症状を呈した患者より採取された咽頭ぬぐい液 216 検体を材料とした。ウイルス RNA を抽出後、Nix らの方法に準じて CODEHOP RT-PCR により VP1 領域を増幅した後、塩基配列を決定して型別同定した。ウイルス分離・同定は、HEp-2、RD-18S、Caco-2、Vero 細胞を用いて中和法により行った。

**【結果】** 使用した培養細胞では HEVs 49 株が分離され、49 株中 48 株は HEV B に属するウイルスで、HEV A に属するウイルスはコクサッキーウイルス A3 の 1 株のみであった。本法による HEVs の分離率は、22.7%であった。これに対して、CODEHOP VP1 RT-PCR 法による HEVs の検出、同定では、105 株が検出・同定され、陽性率は 48.6%と培養細胞法の 2 倍以上の高値を示した。同定された HEVs の 7 割以上は培養細胞で分離しにくい HEV A に属するウイルス(77 株)であった。

【考察】 CODEHOP RT-PCR 法は、従来法に比較して多検体処理への応用も可能で、高感度かつ比較的短時間に同定まで行える上に、HEV A に属するウイルスでも問題なく型別同定でき、同定後に使用する細胞を選択して目的のウイルスを分離することもできることなどから極めて有用な方法であると考えられる。

## ■ 口頭発表 (16)

**The 10th Joint International Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University**

**2009. 29th. Oct. College of Fisheries Science, Pukyong National University, Busan, Korea**

### **Distribution of *Vibrio vulnificus* in Coastal and Estuarine Water of Ariake Sea**

Yuji Migita (Supervisor: Minoru Wada)

*V. vulnificus* causes the most lethal infection such as the necrotizing fasciitis or septic shock for humans with some underlying diseases, particularly the cirrhosis. *V. vulnificus* is a common inhabitant in estuarine environments, and infectious for humans through consumption of raw seafood or exposure of wounds to seawater. There have been many patients in coastal areas of Ariake Sea, Japan. This study intends to contribute to the infection prevention of *V. vulnificus*.

We investigated the distribution of free-living *V. vulnificus* at five stations in Ariake Sea and ten sampling points along the Funatsu River that flow into the sea from August 2004 through September 2008.

*V. vulnificus* increased in the seawater from June, reached a maximum number of  $3.65 \pm 0.80$  Log MPN/100 ml in July, and decreased toward December while keeping the detectable levels. There was a clear tendency for *V. vulnificus* to become higher in number in waters of estuarine basin than in other sampling points of the Funatsu River. In contrast, despite a less-variable salinity range in offshore points (26.5 to 32.6 psu), there was a clear negative correlation between *V. vulnificus* counts and salinity ( $r_s = -0.584, p < 0.001$ ).

These results demonstrated that estuary basin was a suitable habitat for *V. vulnificus* in Ariake Sea, and that salinity was a controlling factor for the bacterial population in the environments.

## ■ ポスター発表 (17)

**2009 年度水産海洋学会研究発表大会 平成 21 年 11 月 19 日 長崎市**

### **海底からの曝気による水塊の鉛直混合(夏季内湾における実験的研究)**

○山口仁士、川井仁、粕谷智之、中村心一 (長崎県環境保健研究センター)

海底(水底)からの曝気は水塊の鉛直混合を誘起し、その影響範囲では溶存酸素濃度の上昇や成層破壊による水温や塩分の均一化が指摘されている。

ここでは夏季の高水温に脆弱なアコヤガイの養殖海区を対象に、海底に曝気管を敷設して曝気実験を行い、鉛直混合によるアコヤガイ養殖深度での水温低下が期待される結果を得たので報告する。

実験を行った対象海区は佐保浦(対馬市)とした。曝気管は先端の 15m に 2m 間隔の穴を開け、禁油の空気圧縮機で給気量(曝気量)  $18L \cdot \text{min}^{-1}$  で給気した。鉛直混合を表層と底層の水温差で評価するために、水温計を表層と底層とで 30 分間隔で計測記録した。鉛直混合は

その結果、曝気期間中の表層と底層の水温差の平均は曝気停止期間中のそれよりも  $0.2^\circ\text{C}$  程度小さかった。このことから曝気による鉛直混合は夏季高水温期の水温低下に効果があり、アコヤガイ生残に有効であ

ることが窺えた。

## ■ 口頭発表 (18)

2009 年度水産海洋学会研究発表大会 平成 21 年 11 月 19 日 長崎市

### アコヤガイの殻体運動と摂餌活動との関係

○川井 仁、粕谷 智之、山口 仁士 長崎県環境保健研究センター研究部環境科

#### 【目的】

アコヤガイの成長は主に餌料環境によって左右されるが、餌料密度が十分であっても摂餌活動が低下する可能性があることが指摘されている。この要因の一つとして溶存酸素(DO)濃度の低下が考えられるが、詳細な検討はなされていない。また、アコヤガイは生息環境が悪化すると異常な殻体運動(貝殻の開閉運動)を示すことが知られている。ここでは、DO 濃度低下に伴うアコヤガイの応答を把握することを目的として、DO 濃度とアコヤガイの摂餌活動と殻体運動の関係について検討した。

#### 【材料と方法】

海水はグラスフィルターでろ過をした自然海水を用いた。殻体運動の計測は貝リングルを用いた。実験に供する餌は珪藻類 *Chaetoceros gracilis* を用いた。アコヤガイは形上湾(大村湾の支湾)で養殖されている二年貝を用いた。DO 濃度ならびに水温の計測は小型メモリーDO 計を用い、クロロフィル *a* 濃度の計測は小型メモリークロロフィル濁度計を用いて連続観測を行った。

4 基の実験水槽を用意し海水 10L を注水して、それぞれ DO 濃度 ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) を 0.5(水槽 A)、1.5(水槽 B)、3.6(水槽 C)、および、6.0(水槽 D) に設定した。DO 濃度の調整は水槽内へ空気と窒素を吹き込んで行った。水温は各水槽ともに 24.5°C に保った。計測開始時の餌料密度は各水槽ともに  $10.0 \times 10^4 \text{cell}\cdot\text{mL}^{-1}$  (100%) とした。計測はアコヤガイ、DO 計およびクロロフィル濁度計を一括して水槽 A から D まで順次移動させながら行い、計測時間は各水槽ともに 1 時間とした。

#### 【結果と考察】

DO 濃度  $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  以上の場合はクロロフィル *a* 濃度が時間経過とともに減少したことから、アコヤガイの摂餌活動は維持されていたことが示唆された。一方 DO 濃度が  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  の場合はクロロフィル *a* 濃度がほとんど減少しなかったことから、アコヤガイの摂餌活動が低下したことが示唆された。また、アコヤガイの摂餌活動と殻体運動の関係は DO 濃度が  $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  以上の場合は殻体運動が少なくクロロフィル *a* 減少量(摂餌活動)は多かったが、DO 濃度が  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  の場合は殻体運動が多くなり、クロロフィル *a* 減少量(摂餌活動)は少なくなることが確認された。このことから、アコヤガイの摂餌活動と殻体運動とは密接な関係があることが示唆された。

## ■ ポスター発表 (19)

第 71 回九州山口薬学大会 平成 21 年 11 月 21-23 日 別府市

### 長崎県内で発生したヒスタミン食中毒の一事例

○土井康平、西川 徹、辻村和也、山之内公子、濱野敏一 長崎県環境保健研究センター

平成 20 年 9 月 30 日、長崎県対馬市において、すり身揚げを食べた保育所の児童 8 人が発赤、蕁麻疹等のアレルギー様症状を呈し、うち 1 人が病院を受診した。児童は喫食直後から次々に発症したが、数時間後には症状は消失し、回復に至った。発症までの時間が非常に短いこと、アレルギー様症状を呈していることか

ら、ヒスタミンが原因物質として疑われたため、検査を行った。

原因として疑われた試料中のヒスタミン含量は、すり身揚げが 590 mg/kg、原料が 1,000 mg/kg であった。すり身揚げと原料におけるヒスタミン含有量の差は、ヒスタミンが耐熱性という物性から、調理する過程で卵や野菜等の食材が添加されたためと考えられた。一般的にヒスタミンの中毒量は 500~1,000 mg/kg 以上とされている。今回、原料はもとより、すり身揚げでも中毒量を超えて検出された。以上のことから、当該食中毒の原因物質はヒスタミンと断定した。

## ■ 口頭発表 (20)

第 29 回日本微生物生態学会学術総会 2009 年 11 月 12-13 日 広島市

### 有明海河口域における *Vibrio vulnificus* の分布 Distribution of *Vibrio vulnificus* in the Estuarine Water of Ariake Sea

○右田 雄二<sup>1)3)</sup>、山崎 省吾<sup>1)</sup>、高藤 美和子<sup>1)</sup>、西山 雅也<sup>2)</sup>、和田 実<sup>3)</sup>、吾郷 昌信<sup>1)</sup>  
長崎県環境研<sup>1)</sup>、長大・環境<sup>2)</sup>、長大院・海洋<sup>3)</sup>

*V. vulnificus* は、特に肝硬変などの基礎疾患を有するヒトに壊死性筋膜炎や敗血症ショックなどの劇症型感染症を惹き起こす。本菌は河口域に広く生息し、魚介類の生食や創傷部の海水暴露を通してヒトに感染するが、有明海沿岸は全国的に患者の発生が多い。我々は有明海沿岸域における本菌の感染症予防へ貢献することを目指し、2004 年 8 月から 2008 年 9 月にわたり、有明海沿岸の 5 地点と河川から沖合にかけての 1 流域内 10 地点において *V. vulnificus* の分布を調査した。有明海沿岸の海水中では *V. vulnificus* は 6 月から増加し、7 月に最高値  $3.65 \pm 0.80$  Log MPN/100 ml に達し、12 月まで減少傾向を示しながらも常に検出された。河川から沖合においては、感潮域の菌数が沿岸海水中よりも高くなる傾向がみられた。感潮域の塩分は 0.5~31.7 psu を示し、*V. vulnificus* は高検出率(69%)および高菌数(最高値:  $3.66$  Log MPN/100 ml)であったが、菌数と塩分の相関は認められなかった。一方、沿岸域の塩分は 26.5~32.6 psu を示し、菌数と塩分の間に負の相関( $r_s = -0.584$ ,  $p < .001$ )が認められた。以上の結果より、感潮域の完全な淡水あるいは海水とならない塩分の変動が、*V. vulnificus* に好適な生息場を提供する重要な因子の一つとなっていることが分かった。

## ■ 口頭発表 (21)

平成 21 年度生産科学研究科 (博士後期課程) 公開論文発表会 平成 22 年 1 月 25 日 長崎大学

### 液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いたアルギン酸オリゴマーの高感度定量法の確立及びその経口投与後のマウス及びマハタにおける体内動態解析

○西川 徹 (長崎県環境保健研究センター)

【背景・目的】アルギン酸オリゴマー(以下、「AOs」)については多くの生理活性が報告されているが、AOs を高感度で定量する分析法や、経口投与における消化管吸収を *in vivo* で確認している報告はほとんどない。しかしながら、健康食品や飼料の開発という研究の出口を考えた場合、高感度分析法や、経口投与で消化管から吸収されるかどうかの知見は重要である。そこで筆者は液体クロマトグラフ-タンデム質量分析器 (LC-MS/MS) を用いた分析法を確立し、マウスとマハタにおける AOs の体内動態に関する知見の集積を試みた。さらに養殖が困難とされているマハタを用い、アルギン酸オリゴマーの生理活性について、基礎的知見

の集積を試みた。

【方法・結果】LC-MS/MS を用いた分析により、ポジティブイオン化で生成するアンモニウムイオン付加体 ( $[M+NH_4]^+$ ) をプレカーサーイオンとし、さらに生成するフラグメントイオンから、3量体をターゲットとした MRM ( $m/z$  546  $\rightarrow$  141) を設定することで AOs の検出が可能であった。そのピーク面積比より AOs の濃度を算出した。検出感度は  $0.05 \mu\text{g/ml}$  であった。分離について、第4級アンモニウムイオンを付加させた弱陰イオン交換樹脂に、移動相を  $100 \text{ mM}$  ギ酸アンモニウム溶液にすることにより、オリゴマー中の2量体～4量体を分離することが可能であった。

AOs をマウスへ経口投与後の消化管吸収をみたところ、投与量に比べれば少量ではあるが、少なくとも2量体～4量体の AOs 血中に移行しているということが確認された。単回経口投与後の経時変化をみたところ、AOs の一部は投与後直ぐに消化管より吸収され、それから速やかに尿細管からの再吸収なしに尿中排泄されることが示唆された。

AOs 混合飼料の給餌が中枢性神経壊死症に及ぼす影響を調べたところ、外海に放流して 30 日を過ぎたあたりから生存率に差が付き、60 日後にはコントロール飼料給餌グループの生存率がそれぞれ 21%、5% AOs 混合飼料給餌グループの生存率が 54% であった。AOs をマハタへ単回腹腔内投与し、血漿中サイトカインについて調べたところ、5% AOs 混合飼料給餌グループのマハタ血漿から TNF- $\alpha$  などのサイトカイン類が検出された。このことから AOs がマハタに対して免疫賦活作用を示すことが示唆された。

## ■ 口頭発表 (22)

平成 21 年度生産科学研究科 (博士後期課程) 公開論文発表会 平成 22 年 1 月 25 日 長崎大学

### 低分子化アルギン酸オリゴマーの多様な生物活性に関する研究

○横瀬健 (長崎県環境保健研究センター)

アルギン酸は、食品の増粘剤、医薬品、化粧品、歯科材料などの分野で多岐にわたって利用されている。近年、アルギン酸を分解したオリゴマーが幅広い生物種に対して様々な生物活性を発現することが報告されており、機能性オリゴ糖として種々の産業への利用が期待されている。今回我々は、アルギン酸オリゴマーの様々な生物活性を解析した。その結果、種々の動物細胞株及び腫瘍に対し、アルギン酸オリゴマー添加の顕著な影響は認められなかった。一方、アルギン酸オリゴマー高濃度添加条件下において、養殖産業で非常に有用な植物プランクトンである珪藻 *Chaetoceros gracilis*、及びその他の珪藻である *Skeletonema* sp. の増殖が顕著に抑制された。興味深いことに、低濃度添加条件下において、*C. gracilis* の増殖は促進されたが、*Skeletonema* sp. の増殖は抑制された。アルギン酸オリゴマー添加により増殖促進された *C. gracilis* の栄養価は対照区とほぼ同程度であり、高い飼料価値をもつことがわかった。これらの結果より、アルギン酸オリゴマーは哺乳類動物細胞に対し、顕著な細胞毒性を示さず、*in vivo* での明確な抗腫瘍効果も示さなかった。しかしながら、種苗生産において有用な、*C. gracilis* の増殖を特異的に促進し、種苗生産における培養技術の安定化に有用である事がわかった。

## ■ 口頭発表 (23)

大気環境学会九州支部 第 10 回研究発表会 2010 年 1 月 26 日 福岡市

### 平成 21 年 10 月に長崎で観測された黄砂について

○古賀康裕 (長崎県環境保健研究センター)

大気環境問題の一つである黄砂は、春期に飛来することが広く知られている。しかし、まれにではあるが秋期や冬期にも観測されることがあり、平成 21 年 10 月 19 日には長崎を含む 6 地点で黄砂が観測された。また、翌 20 日には那覇等の沖縄県内 3 地点、21,22 日には山陰地方の 2 地点において黄砂が観測されている。長崎において 10 月に黄砂が観測されるのは昭和 47 年 10 月 30 日以来 37 年ぶりであり、全国でも平成 4 年に那覇で観測されて以来 17 年ぶりであった。平成 21 年 10 月に観測された黄砂について、平成 20 年及び 21 年の 2 年間の他の黄砂事例との比較解析を行ったところ、他の 4 事例においては黄砂単独で飛来している事例もあったが、平成 21 年 10 月に観測された黄砂現象では、汚染物質と共に黄砂が飛来してきていたことが示唆された。秋期に黄砂が飛来した要因としては、発生地乾燥と黄砂等が飛来しやすい西高東低の気圧配置が挙げられる。

## ■ 口頭発表 (24)

山口大学獣医連合大学院学位論文公開発表会 2010 年 2 月 3 日 鹿児島大学

### 長崎県における食品媒介感染症起因菌、 特に *Vibrio vulnificus* および *Salmonella* Enteritidis の疫学に関する研究

○山崎省吾 (長崎県環境保健研究センター)

わが国において、2,000 年以降に細菌性食中毒(食品媒介感染症)の患者数は、減少傾向にある。長崎県でも同様に細菌性食品媒介感染症の減少が認められるが、近年 *Vibrio vulnificus*(*V. vulnificus*)感染症と非定型的性状を示す *Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*)感染症の発生事例が注目されるようになった。そこで本研究では、起因菌である *V. vulnificus* および *S. Enteritidis* の疫学的背景を解明することを目的とした。第 1 章では長崎県沿岸における *V. vulnificus* の生息について、第 2 章では長崎県内で発生した非定型的性状を示す *S. Enteritidis* の地理的背景について調査した。

*Vibrio vulnificus* は、食品媒介感染症の起因菌の一つである腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus*)と同属の海洋性細菌であるが、腸炎ビブリオとは異なり、胃腸炎型の症状を示さず、魚介類の生食による経口および海水の暴露による創傷感染により原発性敗血症を引き起こす。わが国において、*V. vulnificus* は九州の熊本県、福岡県、佐賀県および長崎県の有明海沿岸 4 県に患者が集中して発生している。そこで有明海沿岸の海水中および魚介類の *V. vulnificus* の生息状況を調査した。

調査は、長崎県沿岸の漁港 7 地点(有明海 5 地点、橘湾 2 地点)における海水中の *V. vulnificus* 菌数を Most probable number (MPN)-PCR 法を用いて測定した。さらに、その菌数の増減に及ぼす各種環境因子(水温、塩分濃度、DO、COD、総窒素量、総リン量、クロロフィル a 量)の影響を海域性および季節性を加えながら、統計学的に解析し検討した。

*V. vulnificus* 菌数は、有明海では 6 月から菌数上昇傾向を示し、7 月に最高値( $4.50 \times 10^4 \pm 17.1 \text{MPN}/100\text{ml}$ )となり、橘湾では 8 月に最高値を示した。両海域での *V. vulnificus* 菌数は、水温( $r_s=0.711$ )および塩分濃度( $r_s=-0.712$ )との間に高い相関を認めた。また DO、総窒素量およびクロロフィル a 量と *V. vulnificus* 菌数の間には、単回帰分析( $P > 0.1$ )で低度の寄与率が認められた。*V. vulnificus* は、有明海産魚介類からの分離率が橘湾のそれらよりも高く、二枚貝で 90%および魚類で 94.1%を示し、その菌数の最高値は  $10^6 \text{MPN}/100\text{g}$  であった。

これらの成績は、有明海の環境が魚介類に反映された結果であろうと推察された。

一方、長崎県内でも全国の発生傾向と同様に患者の減少傾向が見られている *S. Enteritidis* 感染症において、2000 年以降に分離される菌株の中で、リジン脱炭酸試験(LDC)が陰性の性状を示す *S. Enteritidis* 株が増加した。そこで、LDC 陰性株の発生前である 1992 年から 2005 年に長崎県内で分離された *S. Enteritidis* 株について、LDC 能、薬剤感受性、ファージ型(PT)および遺伝子(PFGE)型別によるクラスター解析により

LDC 陰性株の発生年の変化について調査した。さらに、同時期に本州でも LDC 陰性株の散発が報告されていることから、長崎県内由来株および本州由来株の地理的背景について検討した。

LDC 陰性株は、供試 120 菌株中 18 株検出され、そのうち 15 株がストレプトマイシン耐性であった。PT 型別においては PT1 型 (31 株) および PT4 型 (33 株) が優位を占めた。PFGE 型別では、5 つのクラスター A~E に分類され、LDC 陰性 3 株はクラスター A に、残りの LDC 陰性 15 株は全てクラスター E に属した。クラスター A に属した LDC 陰性 3 株は 2000 年および 2003 年に分離された PT4 型であり、本州由来株である Fukuoka 101 株 (福岡県内で分離、本州旅行者由来株) : (PT4 型) および Okayama S-HC359 株 (岡山県内の食中毒事例) : (PT14b 型) と同一泳動パターンを示した。一方、クラスター E に属した LDC 陰性 15 株は、PT1 型が 5 株、RDNC (Reacted but did not conform) が 7 株及び型別不明 3 株であり、県外で分離された LDC 陰性株とは異なる PFGE パターンを示した。長崎県においては、クラスター E に属す LDC 陰性株は 2001 年以降に分離された。

したがって、2001 年以降に長崎県内で分離された LDC 陰性株は県外由来株とは異なり長崎県内でのみ分離される菌群であることが示唆される。

本研究で、長崎県に特有な *V. vulnificus* および LDC 陰性 *S. Enteritidis* の疫学的背景の一部が解明された。両疾病の予防・対策にはさらに解明されなければならない部分も多く残されている。

## ■ 口頭発表 (25)

**長崎大学グローバル COE プログラム「放射線健康リスク制御国際戦略拠点」第 5 回研究課題報告会  
平成 22 年 3 月 11 日 長崎市**

### チェルノブイリ、セミパラチンスク及び長崎における放射線被ばくリスクについて

○平良文亨<sup>1), 2)</sup>

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科<sup>1)</sup>、長崎県環境保健研究センター<sup>2)</sup>

#### 要 旨

1986 年 4 月に発生したチェルノブイリ原子力発電所の事故、1989 年までに 450 回以上の核実験を実施してきたセミパラチンスク核実験場の閉鎖から 20 年以上が経過したが、環境中の放射能レベルは経時的に減少しているが、フォールアウト核種の中には長半減期核種であるセシウム 137 (<sup>137</sup>Cs、約 30 年) 等が含まれており、それらの慢性的な被ばくによる健康影響が懸念される。そこで、チェルノブイリ周辺地域、セミパラチンスク核実験場周辺及び 60 年以上前に原爆被ばくを経験した長崎における食物摂取による内部被ばく評価と環境中の放射能レベルの現状把握のために、キノコ類 (内部被ばく)、土壌 (外部被ばく) 及び石の核種分析等を実施した。チェルノブイリ周辺地域のキノコ類は、長崎の 2~3 桁大きいレベルの <sup>137</sup>Cs が検出され、チェルノブイリ原子力発電所に近接する地域ほど高値を示した。内部被ばくの実効線量はコロステン及びゴメリでそれぞれ年間 0.18 ミリシーベルト (mSv) 及び 0.17mSv であり、公衆の年間被ばく線量限度である 1mSv (ICRP1991) の約 6 分の 1 で、胸部レントゲン写真 (エックス線) 1 回当たりの被ばくと同程度であった。土壌では、キノコ類と同様の傾向がみられた。一方、セミパラチンスクでは市内で採取したキノコ類の放射能レベルは、長崎とほぼ同程度で実効線量は低値を示したが、核実験場敷地内の石からは、<sup>137</sup>Cs 等 4 種類の人工放射性核種が検出され、チェルノブイリ原子力発電所近傍及びセミパラチンスク核実験場では、人工放射性核種が大量に放出された当時に比べ低レベルであるものの、現在も複数の人工放射性核種が環境中に存在し、放射線被ばくリスクが賦存していることが示唆された。

## ■ ポスター発表 (26)

**第 47 回長崎県総合公衆衛生研究会 平成 22 年 3 月 12 日 長崎市**

**長崎県の実産生物を指標とした放射線被ばくのリスク評価**

○平良文亨<sup>1), 2)</sup>、古賀康裕<sup>1)</sup>、山口仁士<sup>1)</sup>、西村昇<sup>1)</sup>、林田直美<sup>2)</sup>、高村昇<sup>2)</sup>  
長崎県環境保健研究センター<sup>1)</sup>、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科<sup>2)</sup>

**要 旨**

放射性核種は大陸起源のエアロゾルや土壌粒子に起因した物質輸送が考えられ、長崎県内における調査結果から放射性核種が気流の影響を受け大気環境に依存した挙動を示すことがわかっている。2009 年 11 月、九州電力(株)玄海原子力発電所 3 号機(佐賀県玄海町)では、国内初の MOX 燃料によるプルサーマル発電が実施され、近接する松浦市鷹島町では住民の安全・安心を担保する対策が切望されている。しかし、人体への放射線リスク評価を行うためには、環境中の人工放射性核種の同定が不可欠であり、そのための基礎データの蓄積が必要であることから、環境中の蓄積メカニズムや人体への影響評価を目的に、海産生物(長崎市、松浦市及び五島市)を指標とした核種分析等を実施した結果、魚種及び産地に関わらず各年度におけるセシウム  $^{137}\text{Cs}$  等の濃度に大きな差はなかった。また、預託実効線量を算出した結果、いずれも公衆被ばくの年間線量限度である  $1\text{mSv}$  を大きく下回る数値を示した。さらに、海産生物における  $^{137}\text{Cs}$  の蓄積メカニズムを調査するために、トラフグを指標として部位別(可食部、皮、骨及び内臓)の核種分析を実施した結果、可食部に  $^{137}\text{Cs}$  が蓄積される傾向にあることがわかった。以上から、長崎県内におけるフォールアウト核種の分布及び蓄積状況を把握するためには、海産生物を指標とした核種分析が有効であることが確認された。特にトラフグに着目した結果、可食部に  $^{137}\text{Cs}$  が蓄積される傾向にあり、採取地域の海水中の  $^{137}\text{Cs}$  レベルの約 30 倍であった。このことから、海水を介してトラフグ等の海産生物に取り込まれた  $^{137}\text{Cs}$  は、その後生体内に蓄積されることが示唆される。

■ 口頭発表 (27)

**2010 年度日本海洋学会春季大会 平成 22 年 3 月 26-30 日 東京海洋大学**

**長崎県大村湾における底生水産生物浮遊幼生出現密度の変動要因**

○粕谷智之、川井仁、山口仁士(長崎県環境研セ)、中田英昭(長大水産)、高橋鉄哉(東大海洋研)

**要 旨**

長崎県大村湾の環境改善に向けた取り組みの一環として、2007 年から 2008 年にかけて底生水産生物浮遊幼生の定量を行った。調査の結果、アサリ、タイラギなどの浮遊幼生が採集された。2008 年の幼生出現量は 2007 年と比較して激減した。浮遊幼生(特にタイラギ)の減少は湾口域よりも湾奥域で顕著であった。湾奥域では 2007 年 9 月に発生した大規模な青潮により魚介類が斃死したことから、親個体群の激減が幼生出現量の減少につながった可能性がある。2008 年の観測ではタイラギ浮遊幼生は 9 月になってようやく湾奥域から採集された。同種幼生は 2007 年、2008 年ともに湾口域周辺から採集されていることから、湾口域の親個体群が湾奥域への幼生の供給源となっている可能性がある。

■ 口頭発表 (28)

**日本農芸化学会 2010 年度大会 平成 22 年 3 月 27-30 日 東京大学**

**マハタへの経口投与におけるアルギン酸オリゴマーの消化管吸収**



○西川 徹<sup>1, 2</sup>、横瀬 健<sup>1, 2</sup>、宮木廉夫<sup>3</sup>、門村和志<sup>3</sup>、築山陽介<sup>3</sup>、山口健一<sup>2</sup>、小田達也<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>2</sup>長崎大学生産科学研究科、<sup>3</sup>長崎県総合水産試験場)

【背景・目的】アルギン酸オリゴマーについては多くの生理活性が報告されているが、魚類において、経口投与後の消化管からの吸収性に関する知見は報告されていない。本研究ではアルギン酸オリゴマー分析法を検討し、VNN による大量へい死のため養殖が困難とされているマハタを用い、アルギン酸オリゴマーの消化管吸収を調べた。

【方法・結果】液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いた分析により、マハタ血漿中アルギン酸オリゴマーの検出が可能であった。重量濃度 5%及び 10%となるようにアルギン酸オリゴマーを添加した試料をマハタへ単回給餌させたところ、給餌して 6 時間後のマハタ血漿中からアルギン酸オリゴマーが検出された。アルギン酸オリゴマーの三量体のピークを基準ピークとして検量線を作成し、濃度を定量したところ、その濃度はそれぞれ 6.5  $\mu\text{g/mL}$  及び 7.9  $\mu\text{g/mL}$  であった。これらの結果から、アルギン酸オリゴマーのマハタにおける消化管吸収が確認された。

## ■ 口頭発表 (29)

日本農芸化学会 2010 年度大会 平成 22 年 3 月 27-30 日 東京大学

### 低分子化アルギン酸オリゴマーの哺乳類培養細胞、及び単細胞植物プランクトンの増殖に対する影響

○横瀬健<sup>1, 2</sup>、山崎康裕<sup>3</sup>、西川徹<sup>1, 2</sup>、姜澤東<sup>2</sup>、山口健一<sup>2, 3</sup>、小田達也<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>2</sup>長崎大学大学院生産科学研究科、<sup>3</sup>長崎大学水産学部

アルギン酸オリゴマーが哺乳類培養細胞および単細胞植物プランクトンの増殖に与える影響を調べるため、酵素処理で調整したアルギン酸オリゴマーを種々の動物細胞株、及び植物プランクトンに添加し、その増殖に与える影響を調べた。種々の動物細胞株に対してアルギン酸オリゴマー添加の顕著な影響は認められなかった。一方、アルギン酸オリゴマー高濃度添加条件下において、養殖産業で非常に有用な植物プランクトンである珪藻 *Chaetoceros gracilis*、及びその他の珪藻である *Skeletonema* sp. の増殖が顕著に抑制された。興味深いことに、低濃度添加条件下において、*C. gracilis* の増殖は促進されたが、*Skeletonema* sp. の増殖は抑制された。これらの結果より、植物プランクトンの種、及びアルギン酸オリゴマー濃度の組み合わせにより、選択的に増殖促進、抑制効果をコントロールすることで、今後、種苗生産への応用が期待できると思われる。