

III 論文投稿・学会発表

■ 論文 1

Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 32(6):977-83, 2015

A rapid method for tetrodotoxin (TTX) determination by LC-MS/MS from small volumes of human serum, and confirmation of pufferfish poisoning by TTX monitoring.

Kazunari Tsujimura & Kimiko Yamanouchi

Research Department, Division of Food and Drug Hygiene, Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Omura, Nagasaki, Japan

A simple and rapid detection method for tetrodotoxin (TTX), a powerful sodium channel blocker, in small volumes of the serum of patients with pufferfish poisoning, was developed using an ultrafiltration spin column. The separation and identification of TTX was performed by liquid chromatography (LC) with a multi-mode ODS column and tandem mass spectrometry. TTX and an internal standard (voglibose) were monitored and quantitated using ion transitions: the respective precursor-to-product ion combinations, m/z 320/162 for TTX and 268/92 in MRM mode. The recoveries of TTX and voglibose were 91.0-110.8% and 104.7-107.4%, respectively, and with high accuracy (intra-run, 4.35-5.29%; inter-run, 2.95-5.79%) and linearity (0.5-200 ng/ml serum: $r = 0.9994$). The lower limit of quantification was 0.5 ng/ml serum. In patients, maximum serum TTX concentrations were 30.2 ng/ml serum for patient 1 on day 0 and 56.1 ng/ml serum for patient 2 on day 1. These results are important for the treatment of patients and for the identification of poisoning as well as for the determination of the cause of the food poisoning.

■ 論文 2

J Clin Microbiol. 53(8):2427-32, 2015.

***Escherichia coli* O-Genotyping PCR: a Comprehensive and Practical Platform for Molecular O Serogrouping.**

Iguchi A¹, Iyoda S², Seto K³, Morita-Ishihara T², Scheutz F⁴, Ohnishi M²; Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan.

¹Department of Animal and Grassland Sciences, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan iguchi@med.miyazaki-u.ac.jp.

²Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.

³Division of Bacteriology, Osaka Prefectural Institute of Public Health, Osaka, Japan.

⁴Department of Microbiology Infection Control, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Escherichia* and *Klebsiella*, Statens Serum Institut,

Copenhagen, Denmark.

Members of Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan include the following ; Takenuma H, Fukuda O, Kitahashi T, Yokoyama E, Hirai S, Semba K, Nagata A, Ishiguro F, Etoh Y, Sera N, Kikuchi R, Makiko N, Yutaka S, Kawanishi S, Takeda Y, Yamada H, Imai K, Masuda K, Nagase T, Ogawa K, Ikeda T, Morimoto Y, Shimizu S, Kitagawa E, Kawakami K, Fukuda C, Iwashita Y, Arizuka M, Uchida J, Kuroki T, Homma S, Kubomura A, Sato H, Kojima Y, Harada S, Nagai Y, Hatakeyama T, Kawano K, Yoshino S, Kurogi M, Kasahara H, Sekiguchi M, Nishimura H, Tanabe S, Kawase M, Kikuyo O, Hiroshi N, Mari S, Nakajima H, Kawai H, Ohata R, Nakane K, Nakamura H, Nishikawa Y, Taguchi M, Yoshitake S, Kurazono T, Ishikawa K, Umehara S, Kono T, Kawakami Y, Ishida H, Kimata K, Isobe J, Okayama A, Saeki Y, Nakaoka K, Tominaga K, Yabata J, Kameyama M, Ogawa A, Matsumoto Y.

The O serogrouping of pathogenic *Escherichia coli* is a standard method for subtyping strains for epidemiological studies and enhancing phylogenetic studies. In particular, the identification of strains of the same O serogroup is essential in outbreak investigations and surveillance. In a previous study, we analyzed the O-antigen biosynthesis gene cluster in all known *E. coli* O serogroups (A. Iguchi *et al.*, DNA Res, 22:101-107, 2015, <http://dx.doi.org/10.1093/dnares/dsu043>). Based on those results, we have arranged 162 PCR primer pairs for the identification or classification of O serogroups. Of these, 147 pairs were used to identify 147 individual O serogroups with unique O-antigen biosynthesis genes, and the other 15 pairs were used to identify 15 groups of strains (Gp1 to Gp15). Each of these groups consisted of strains with identical or very similar O-antigen biosynthesis genes, and the groups represented a total of 35 individual O serogroups. We then used the 162 primer pairs to create 20 multiplex PCR sets. Each set contained six to nine primer pairs that amplify products of markedly different sizes. This genetic methodology (*E. coli* O-genotyping PCR) allowed for comprehensive, rapid, and low-cost typing. Validation of the PCR system using O-serogroup references and wild strains showed that the correct O serogroups were specifically and accurately identified for 100% (182/182) and 90.8% (522/575) of references and wild strains, respectively. The PCR-based system reported here might be a promising tool for the subtyping of *E. coli* strains for epidemiological studies as well as for the surveillance of pathogenic *E. coli* during outbreaks.

■ 論文 3

Journal of Diabetes Research. Volume 2015, Article ID 675201, 2015.

Polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* Improve Glucose Metabolism in Diabetic Rats

Wenting Lin,¹ Wenxiang Wang,^{2,3,*} Guoxi Cai,^{4,5} and Aoyagi Kiyoshi⁶

¹Department of Nutrition and Health Care, School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350108, China

²Department of Health Inspection and Quarantine, School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350108, China

³Fujian Province Key Laboratory of Environment and Health, School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350108, China

⁴Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki 852-8523, Japan

⁵Nagasaki Prefectural Institute of Environmental Research and Public Health, Nagasaki 2-1306-11, Japan

⁶*Department of Public Health, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki 852-8523, Japan*

This study investigated the effects of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* (PEP) on glucose metabolism in a rat model of diabetes mellitus (DM). PEP (0, 150, 300, and 600 mg/kg) was administered intragastrically to rats for four weeks. After treatment, fasting blood glucose (FBG) and insulin (INS) levels were measured, and the insulin sensitivity index (ISI) was calculated. The morphopathological changes in the pancreas were observed. Serum samples were collected to measure the oxidant-antioxidant status. The mRNA expression levels of glucokinase (GCK) and insulin receptor (InsR) in liver tissue and glucose transporter type 4 (GLUT-4) and adiponectin (APN) in adipose tissue were determined. Compared with the model group, the FBG and INS levels were lower, the ISI was higher, and the number of islet β -cells was significantly increased in all the PEP groups. In the medium- and high-dose PEP groups, MDA levels decreased, and the enzymatic activities of SOD and GSH-Px increased. The mRNA expression of InsR and GCK increased in all the PEP groups; APN mRNA expression increased in the high-dose PEP group, and GLUT-4 mRNA expression increased in adipose tissue. These findings suggest that PEP is a potential therapeutic agent that can be utilized to treat DM.

■ 論文 4

Infection, Genetics and Evolution. **35**:82–88, 2015.

Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation

Junji Seto ^a, Takayuki Wada^b, Tomotada Iwamoto ^c, Aki Tamaru ^d, Shinji Maeda ^e,
Kaori Yamamoto ^{f,g}, Atsushi Hase ^f, Koichi Murakami ^h, Eriko Maeda ^h, Akira Oishi ^h, Yuji Migita ⁱ, Taro Yamamoto ^{b,g}, Tadayuki Ahiko ^a

a Department of Microbiology, Yamagata Prefectural Institute of Public Health, 1-6-6 Toka-machi, Yamagata-shi, Yamagata 990-0031, Japan

b Department of International Health, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan

c Department of Microbiology, Kobe Institute of Health, 4-6 Minatojima-nakamachi, Chuo-ku, Kobe 650-0046, Japan

d Department of Microbiology, Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan

e School of Pharmacy, Hokkaido Pharmaceutical University, 7-15-4-1 Maeda, Teine-ku, Sapporo, Hokkaido 006-8590, Japan

f Department of Microbiology, Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences, 8-34 Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan

g Department of International Health, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan

h Department of Health Science, Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

i Department of Microbiology, Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public

Health, 2-1306-11 Ikeda, Ohmura, Nagasaki 856-0026, Japan

Intra-species phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* has been regarded as a clue to estimate its potential risk to develop drug-resistance and various epidemiological tendencies. Genotypic characterization of variable number of tandem repeats (VNTR), a standard tool to ascertain transmission routes, has been improving as a public health effort, but determining phylogenetic information from those efforts alone is difficult. We present a platform based on maximum a posteriori (MAP) estimation to estimate phylogenetic information for *M. tuberculosis* clinical isolates from individual profiles of VNTR types.

This study used 1245 *M. tuberculosis* clinical isolates obtained throughout Japan for construction of an MAP estimation formula. Two MAP estimation formulae, classification of Beijing family and other lineages, and classification of five Beijing sublineages (ST11/26, STK, ST3, and ST25/19 belonging to the ancient Beijing subfamily and modern Beijing subfamily), were created based on 24 loci VNTR (24Beijing-VNTR) profiles and phylogenetic information of the isolates. Recursive estimation based on the formulae showed high concordance with their authentic phylogeny by multi-locus sequence typing (MLST) of the isolates. The formulae might further support phylogenetic estimation of the Beijing lineage *M. tuberculosis* from the VNTR genotype with various geographic backgrounds. These results suggest that MAP estimation can function as a reliable probabilistic process to append phylogenetic information to VNTR genotypes of *M. tuberculosis* independently, which might improve the usage of genotyping data for control, understanding, prevention, and treatment of TB.

■ 論文 5

全国環境研会誌 vol.40 No.4(2015) 179-185

もみ殻炭のリン除去効果の検証

船越章裕¹, 玉屋千晶¹, 成田修司², 山内康生¹

1 長崎県環境保健研究センター 2 秋田県健康環境センター

圃場からの排水中のリンの除去を目的に、干拓地排水(遊水池)においてリン吸着に効果のあるカルシウム含有もみ殻炭(秋田県特許)を利用し、当該もみ殻炭のリン除去効果についてフィールドでの検証を行った。試験は上向流式レーンで実施した。その結果、もみ殻炭 1g 当たりのリン除去効果は約 1 カ月で小さくなるが、もみ殻炭を 1 カ月ごとに攪拌することで 4 カ月間は持続すること、また攪拌時にもみ殻炭が湿潤状態を脱するほどリン除去効果が回復しやすいことが確認された。

■ 論文 6

Journal of Infectious Diseases. **212** (6): 889-98, 2015.

Phylogenetic and Geographic Relationships of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in China, South Korea, and Japan

T. Yoshikawa¹, M. Shimojima¹, S. Fukushi¹, H. Tani¹, A. Fukuma¹, S. Taniguchi¹, H. Singh¹, Y. Suda¹, K.

Shirabe², S. Toda², Y. Shimazu³, T. Nomachi⁴, M. Gokuden⁵, T. Morimitsu⁶, K. Ando⁷, A. Yoshikawa⁸, M. Kan⁹, M. Uramoto¹⁰, H. Osako¹¹, K. Kida¹², H. Takimoto¹³, H. Kitamoto¹⁴, F. Terasoma¹⁵, A. Honda¹⁶, K. Maeda¹⁷, T. Takahashi¹⁸, T. Yamagishi¹⁹, K. Oishi¹⁹, S. Morikawa²⁰ and M. Saijo¹

¹ *Special Pathogens Laboratory, Department of Virology I, National Institute of Infectious Diseases.*

² *Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment.*

³ *Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, Public Health and Environment Center.*

⁴ *Miyazaki Prefectural Institute for Public Health and Environment.*

⁵ *Kagoshima Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health.*

⁶ *The Public Institute of Kochi Prefecture.*

⁷ *Saga Prefectural Institute of Public Health and Pharmaceutical Research.*

⁸ *Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Omura-shi.*

⁹ *Ehime Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, Matsuyama-shi.*

¹⁰ *Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Centre.*

¹¹ *Kumamoto Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, Uto-shi.*

¹² *Okayama Prefectural Institute for Public Health and Environmental Science.*

¹³ *Shimane Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, Matsue-shi.*

¹⁴ *Public Health Science Research Center, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Consumer Sciences, Hyogo-ku Kobe-shi.*

¹⁵ *Wakayama Prefectural Research Center of Environment and Public Health.*

¹⁶ *Oita Prefectural Institute of Health and Environment.*

¹⁷ *Laboratory of Veterinary Microbiology, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Yamaguchi University.*

¹⁸ *Department of Hematology, Yamaguchi Grand Medical Center, Hofu-shi.*

¹⁹ *Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases.*

²⁰ *Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.*

BACKGROUND: Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is a tick-borne acute infectious disease caused by the SFTS virus (SFTSV). SFTS has been reported in China, South Korea, and Japan as a novel Bunyavirus. Although several molecular epidemiology and phylogenetic studies have been performed, the information obtained was limited, because the analyses included no or only a small number of SFTSV strains from Japan.

METHODS: The nucleotide sequences of 75 SFTSV samples in Japan were newly determined directly from the patients' serum samples. In addition, the sequences of 7 strains isolated in vitro were determined and compared with those in the patients' serum samples. More than 90 strains that were identified in China, 1 strain in South Korea, and 50 strains in Japan were phylogenetically analyzed.

RESULTS: The viruses were clustered into 2 clades, which were consistent with the geographic distribution. Three strains identified in Japan were clustered in the Chinese clade, and 4 strains identified in China and 26 in South Korea were clustered in the Japanese clade.

CONCLUSIONS: Two clades of SFTSV may have evolved separately over time. On rare occasions, the viruses were transmitted overseas to the region in which viruses of the other clade were prevalent.

KEYWORDS: Bunyavirus; SFTS; SFTS virus; severe fever with thrombocytopenia syndrome; tick-borne virus infection

■ 論文 7

ICES (International Council for the Exploration of the Sea) CM 2015/R:04

Scientific knowledge of physical causes and ecological consequences of hypoxia in an enclosed bay as a basis for regional management planning

Hideaki Nakata¹, Hirokazu Suzaki², Sangdeok Chung³ and Hitoshi Yamaguchi⁴

1: Faculty of Fisheries, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

2: Faculty of Engineering, Kyushu University, Japan

3: National Fisheries Research & Development Institute, Korea

4: Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Japan

Physical mechanisms of bottom hypoxia formation and movement in Omura Bay, an enclosed bay in the western Japan, were investigated using existing field data and a numerical simulation. It was revealed that density-driven water inflow from outer to inner bay could play a crucial role in the hypoxia formation in the bay, and also in the inshore movement of hypoxia during the transitional period from summer to autumn, occasionally causing serious damage to fisheries resources in the shallow water. Long-term increase in the volume of hypoxic water and subsequent contraction of potential habitat volume could be responsible for simplified fish community structure as seen in the fisheries landings. Practical field experiments aiming at restoring hypoxic environment by aeration from the sea bottom in combination with bio-remediation in the shallow water has been started in cooperation with local government of Nagasaki Prefecture as a part of the 5-year Action Plan for Environmental Conservation and Regional Promotion of Omura Bay.

■ 論文 8

Tropical Medicine and Health. **44**: 8-17, 2016.

Molecular and serological epidemiology of Japanese encephalitis virus (JEV) in a remote island of western Japan: an implication of JEV migration over the East China Sea

A. Yoshikawa^{1,2,3}, T. Nabeshima², S. Inoue², M. Agoh² and K. Morita²

¹Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki, Japan.

²Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan.

³Department of Public Health, Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Nagasaki, Japan.

Background: Japanese encephalitis (JE) is a mosquito-borne infectious disease caused by Japanese encephalitis virus (JEV). About 1–10 cases with severe central nervous system symptoms have been constantly reported every year in Japan. To clarify the mechanism of maintenance of JEV, the present study surveyed pigs for serological evidence of JEV infection and isolated JEV strains from pigs and

mosquitoes in Isahaya City (Isahaya) and Goto City (Goto) in the islets of Goto in Nagasaki Prefecture from 2008 to 2014.

Results: The serological survey of pigs showed the increase of IgM sero-positivity against JEV in July or August, and it was maintained until October or November in both Isahaya and Goto every year. There were 47 JEV strains isolated in Nagasaki from 2001 to 2014 including the isolates in this study, and they belonged to genotype 1. Thirty four of the isolated strains were from pigs in Isahaya and were classified under six subclusters (1-A-1, 1-A-2, 1-A-3, 1-A-4, 1-A-5, and 1-A-9). Thirteen strains were isolated from pigs and mosquitoes in Goto and were classified into three subclusters (1-A-5 (2008); 1-A-1 (2009); and 1-A-2). In the subcluster 1-A-2, three different monophyletic subgroups, 1-A-2-2 (2010), 1-A-2-3 (2011), and 1-A-2-1 (2013, 2014), appeared in Goto.

Conclusions: These data strongly suggested that JEV appearance in Goto seems to depend on the frequent introduction of JEV from outside of the island and this pattern is different from what has been observed in subtropical islands in the East China Sea such as Okinawa and Taiwan, where the same populations of JEV (1-A-7 (1998–2008) in Okinawa; genotype 3 (until 2012) in Taiwan) have been maintained for a long period.

Keywords: Japanese encephalitis virus, Remote island, Goto, Isahaya, Nagasaki, Maximum-likelihood phylogenetic tree, Subcluster

■ 論文 9

PLOS Neglected Tropical Diseases. 10(4):e0004595. 2016.

Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Antigen Detection using Monoclonal Antibodies to the Nucleocapsid Protein

A. Fukuma¹, S. Fukushi¹, T. Yoshikawa¹, H. Tani¹, S. Taniguchi¹, T. Kurosu¹, K. Egawa¹, Y. Suda¹, H. Singh¹, T. Nomachi², M. Gokuden³, K. Ando⁴, K. Kida⁵, M. Kan⁶, N. Kato⁷, A. Yoshikawa⁸, H. Kitamoto⁹, Y. Sato¹⁰, T. Suzuki¹⁰, H. Hasegawa¹⁰, S. Morikawa¹¹, M. Shimojima¹, and M. Saijo¹

¹ Department of Virology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan,

² Miyazaki Prefectural Institute for Public Health and Environment, Miyazaki, Japan,

³ Kagoshima Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Kagoshima, Japan,

⁴ Saga Prefectural Institute of Public Health and Pharmaceutical Research, Saga, Japan,

⁵ Okayama Prefectural Institute for Public Health and Environmental Science, Okayama, Japan,

⁶ Ehime Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, Ehime, Japan,

⁷ Health and Sanitation Office, Tottori Prefecture Institute of Public Health and Environmental Science, Tottori, Japan,

⁸ Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Nagasaki, Japan,

⁹ Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Consumer Sciences, Hyogo-ku Kobe-shi, Japan,

¹⁰ Department of Pathology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan,

¹¹ Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

Background Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is a tick-borne infectious disease with a high case fatality rate, and is caused by the SFTS virus (SFTSV). SFTS is endemic to China, South Korea, and Japan. The viral RNA level in sera of patients with SFTS is known to be strongly associated

with outcomes. Virological SFTS diagnosis with high sensitivity and specificity are required in disease endemic areas.

Methodology/Principal Findings We generated novel monoclonal antibodies (MAbs) against the SFTSV nucleocapsid (N) protein and developed a sandwich antigen (Ag)-capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of N protein of SFTSV using MAb and polyclonal antibody as capture and detection antibodies, respectively. The Ag-capture system was capable of detecting at least 350–1220 TCID₅₀/100 µl/well from the culture supernatants of various SFTSV strains. The efficacy of the Ag-capture ELISA in SFTS diagnosis was evaluated using serum samples collected from patients suspected of having SFTS in Japan. All 24 serum samples (100%) containing high copy numbers of viral RNA (>10⁵ copies/ml) showed a positive reaction in the Ag-capture ELISA, whereas 12 out of 15 serum samples (80%) containing low copy numbers of viral RNA (<10⁵ copies/ml) showed a negative reaction in the Ag-capture ELISA. Among these Ag-capture ELISA-negative 12 samples, 9 (75%) were positive for IgG antibodies against SFTSV.

Conclusions The newly developed Ag-capture ELISA is useful for SFTS diagnosis in acute phase patients with high levels of viremia.

■ 学会発表 1

日本防菌防黴学会 第42回年次大会 2015年9月1日～2日 大阪府豊中市千里ライフサイエンスセンター

LC EMA-qPCR 法(レジオネラ生菌迅速検査法)に与える夾雑菌の影響

浦山みどり¹、田栗利紹¹、石本陽介¹、金谷潤一²、倉文明³

¹長崎県環境保健研セ・保健科、²富山衛研・細菌部、³国立感染研・細菌第一部

【目的】レジオネラ属菌の検査は一般的に平板培養法が用いられているが、結果が判明するまでに7～10日を要するため、レジオネラ属菌の遺伝子を検出する迅速検査法の開発が進められている。我々はLiquid culture ethidium monoazide quantitative polymerase chain reaction (以下LC EMA-qPCR)によるレジオネラ生菌迅速検査法を開発し¹⁾、その有用性を検討している。その中で、汚染ろ材を用いた実験モデルを独自に作製し、循環式浴槽でのレジオネラ自然汚染を再現した浸漬式実験において、レジオネラ属菌の定量値に、発生する夾雑菌が与える影響を検討したので報告する。

【方法】浸漬式実験モデルは観賞用水槽を用いて作製した。即ち、水と汚染ろ材を一定温度(40～42℃)で攪拌して、レジオネラ属菌発生に適する環境を作り出した。水槽の水は、水道水を使用し、ろ材は入浴施設から入手した汚染ろ材(多孔質ろ材と砂の混合物、客数500人/日規模の入浴施設で約6年間使用したろ材)を用い、水きりネットで包装したものを水槽に浸漬させた。採水は実験開始から経時的に10日間行い、100倍濃縮した検体についてATP量を測定した。前処理は熱処理(50℃、20分間)をした後、酸処理(0.2M HCl・KCl buffer, pH2.2を等量添加、室温5分間)を行った。平板培養法は新版レジオネラ防止指針に基づき実施し、LC EMA-qPCR法は、1,000倍濃縮液及び100倍濃縮液の両方について、レジオネラ生菌遺伝子迅速検査システム(タカラバイオ)に従い実施した。

【結果】今回行った一連の実験でレジオネラ属菌が検出された検体において、1,000倍濃縮液と100倍濃縮液で実施した場合の平板培養法とLC EMA-qPCR法の菌数(定量値)をそれぞれ比較すると、1,000倍濃縮液は $R^2=0.916$ 、100倍濃縮液は $R^2=0.9926$ とどちらも高い相関が示されたが、100倍濃縮液の方が1,000倍濃縮液より高い相関が認められた。そこで1,000倍濃縮液と100倍濃縮液の定量値の差が10 CFU/100ml以上ある検体のATP量をみると、すべての検体において4,000 RLU/10ml以上であった。今回の実験で得られたレジオネラ属菌の定量において、平板培養法とLC EMA-qPCR法の高い相関が示された。また、LC EMA-qPCR法を実施するにあたり、ある一定以上のATP量になると、定量値に影響があると考えられ、本実験では、それが4,000 RLU/10ml以上であった。したがって、LC EMA-qPCR法では1,000倍濃縮液よりも100倍濃縮液の方が夾雑菌の影響を受けにくいと推察された。本研究は、厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)により実施された。

【文献】

1) 倉文明ら: 公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究、厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)平成24年度 総括・分担研究報告書P.71(2013)

■ 学会発表 2

日本防菌防黴学会 第42回年次大会 2015年9月1日～2日 大阪府豊中市千里ライフサイエンスセンター

アレルギー様食中毒の原因微生物と特定しうるヒスタミン産生菌の分離株に対するカテキン類の抗菌活性

田栗 利紹¹、石原 雅行^{1*}、蔡 国喜¹、吉田 朝美²、長富 潔²、本多 隆¹

¹長崎環境研セ、²長崎大院水環 (*現所属 長崎諫早食肉検)

【目的】Histamine Producing Bacteria (以下 HPB) は食中毒の原因微生物に指定されていないため、行政としての事件の調査はヒスタミン定量で終息することが多く、HPB の分離はもちろん、その Histidine decarboxylase (以下 HDC) について遺伝学的変異を解析した例は少ない。また、HPB に対する抗菌作用や HDC 発現抑制作用は特定の食品添加物や製油について知られるのみである。我々は食中毒事件で高濃度ヒスタミンが検出された食品原料から HPB クローンを徹底的に分離し、それらの HDC 遺伝子の塩基配列に基づいて、いくつかの細菌株を同定した。さらにヒスタミン産生阻害や抗酸化活性が知られる(+) Catechin (以下 C) とその類縁物質に着目し、分離株に対する抗菌活性を調査した。

【方法】1000 mg/L のヒスタミンが検出されたことによりアレルギー様食中毒と特定された事件の魚肉練り製品原料から Takahashi ら¹⁾の方法に準拠して HPB を検出した。即ち、検体を histidine broth に加えて増菌し、Niven の培地に塗抹した後、紫から青色調のコロニーを呈して HDC 遺伝子を保持する株を HPB 株とした。全ての株を同定するとともに、Kanki ら²⁾に準じて HDC 遺伝子の塩基配列決定を行い演繹アミノ酸配列の異なる菌株を分離菌とした。抗菌活性実験には、C、(-) Epigallocatechin gallate (以下 EGCG)、Gallic acid (以下 GA) および Green tea extract (以下 GTE) を用いた。上記により分離した *Morganella morganii*、および *Raoultella planticola* に加えて、これらと性質の異なる HPB として知られる *Photobacterium damsela*、および *Photobacterium phosphoreum* に対する抗菌活性を Minimum inhibitory concentration (以下 MIC) 法により評価した。

【結果】魚肉練り製品の原料から 110 株の HDC 遺伝子陽性クローンを検出した。検出菌における HDC 遺伝子の部分塩基配列を決定 (504bp) し演繹アミノ酸配列を比較解析した結果、2 株の *M.morganii* と 1 株の *R.planticola* を同定した。*M.morganii* の分離株に対して最も強い抗菌活性を示した EGCG の MIC は 100 mg/L であった。*M.morganii* は *R.planticola* よりもカテキン類に対する感受性が高く、その強度は EGCG > GTE > C の順であった。GA は全体的に比較的高い感受性を示したが、中温菌に対して高濃度での活性が消失した。各化合物は *M.morganii* や *R.planticola* よりも *P.damsela* と *P.phosphoreum* に感受性が高い傾向を示した。カテキン類に対して、*M.morganii* では分離株は標準株よりもやや抵抗性を示したが、*R.planticola* には分離株と標準株との間に差を認めなかった。

今後、分離株のヒスタミン産生能の比較、遺伝子組換えによる HDC タンパク質の発現・精製、および組換え HDC に対するカテキン類の阻害作用を明らかにすることにより、アレルギー様食中毒予防に寄与したい。

【文献】

- 1) Takahashi ら: Applied and environmental microbiology, pp. 2568-79 (2003)
- 2) Kanki ら: Applied and environmental microbiology, pp. 1467-73 (2007)

■ 学会発表 3

平成 27 年度全国環境研協議会廃棄物資源循環学会年会併設研究発表会 2015 年 9 月 3 日 九州大学

バイオメタノールを活用した BDF 製造技術の検討

富永勇太

【はじめに】バイオディーゼル燃料(以下、BDF という。)とは、菜種油等の植物油、廃食用油を原料として製造されたディーゼル燃料である。廃食用油から BDF を製造する方法としては、アルカリ触媒下でメタノールを作用させるエステル交換反応が主流である。このとき、原料としてメタノールが必要となるが、一般的に使用されているのは工

業用メタノール、つまり化石燃料由来のものであり、これを使用して製造された BDF は、メタノール分だけ新たに二酸化炭素を排出するため、厳密にはカーボンニュートラルとは言えない。長崎県内においては近年、民間企業によりバイオメタノール製造装置の開発が行われ、実用化がされている。ここで製造されるバイオメタノールを使用することで、より二酸化炭素排出量の少ない BDF の製造が実現できるが、工業用メタノールの純度が 99.9% であるのに対し、このバイオメタノールの純度は 95% 程度(残り 5% はほとんど水分)であり、従来の BDF 製造方法では、品質の良い BDF を製造するのは難しいと考えられる。そこで今回、より二酸化炭素排出量の少ない BDF の製造技術を確立させることを目的として、バイオメタノールを活用した BDF 製造試験を実施したので、結果について報告する。

【方法】BDF 製造試験に必要なバイオメタノールは、長崎県内で唯一製造を行っている民間企業のものを使用した。また、エステル交換反応に必要となるアルカリ触媒については、試薬特級の水酸化カリウム (KOH) を用いた。BDF の製造は、ピーカーレベルで廃食用油を 200mL として、バイオメタノール量と KOH 量を変えることにより実施し、良好な品質の BDF が製造できる条件について検討した。製造した BDF の品質については、BDF の主成分である脂肪酸メチルエステル (FAME) の含有量を測定し、90% を超えるものを良好な品質の BDF として評価した。FAME 含有量の分析方法は欧州規格 EN14103 に従い、ガスクロマトグラフにより分析した。

【結果】通常の工業用メタノールで BDF を製造するときと同様の条件(廃食用油量 200mL に対しメタノール量 40mL、KOH 量 2.0g)でバイオメタノールを用いて BDF 製造試験を行ったところ、工業用メタノールを用いて製造したときの FAME 含有量が 91% であったのに対し、バイオメタノールを用いて製造したものは 88% であり、良好な品質の BDF は得られなかった。そこで、バイオメタノール量を 40mL から 50mL に増やして製造したところ、FAME 含有量は 91% となり、良好な品質の BDF が製造できることが示唆された。次に、バイオメタノール量を 40mL として、KOH 量を増やして製造したところ、KOH 量が増えるほど製造した BDF の FAME 含有量も向上するという結果が得られた。そこで、バイオメタノール量と KOH 量をどちらも増やして BDF 製造を行ったところ、FAME 含有量が 93% とバイオメタノールを使用した中でも最も良好な品質の BDF が得られた。製造にかかるコスト等も考慮し、廃食用油量 200mL に対しバイオメタノール量 50mL、KOH 量 2.4g を投入するのが最適な製造条件と考えられた。今後は長崎県内の BDF 製造者に協力していただき、実際の製造スケールでバイオメタノールを使用した BDF 製造を実施する予定である。

■ 学会発表 4

平成 27 年度全国環境研協議会廃棄物資源循環学会年会併設研究発表会 2015 年 9 月 3 日 九州大学

もみ殻炭によるリン除去効果の検証

玉屋千晶¹⁾、船越章裕¹⁾、富永勇太¹⁾、山内康生¹⁾、成田修司²⁾
長崎県環境保健研究センター¹⁾、秋田県健康環境センター²⁾

諫早湾干拓事業に伴い諫早湾奥部が潮受堤防により締め切られ、諫早湾干拓調整池が創出された。調整池には水質保全目標が設定され、目標達成のために様々な対策が展開されている。秋田県が開発したカルシウム含有もみ殻炭は、リン酸イオンを選択的に回収する機能を持つだけでなく、リン回収後に肥料や土壌改良材として再利用可能である。今回新干拓地内ほ場を通過した浸透水が集合する遊水池(最終的に調整池へ放流される)において、諫早湾干拓調整池への水質汚濁負荷削減に向けた適応手法の一環として、水質浄化材としての活用が期待できるもみ殻炭のリン除去効果について検証した。中央遊水池においてフィールド施設(もみ殻炭充填レーン)を設置し、9月～1月まで遊水池の水を通水し、通水前後の T-P 濃度より効果検証をおこなった。試験概要を表1に、実験施設の概略図を図1に示す。

表1 試験概要

試験期間	(第1期) 2013年9月10日～12月24日 (第2期) 2014年7月15日～11月18日
調査頻度	0日、1日後、2日後、1週間後、以降 1週間おきに調査
通水方式	下横向流式
設定流量	5 L/min (滞留時間は約1日)
調査項目	全りん (T-P)、りん酸態りん (PO ₄ -P) および浮遊物質 (SS)

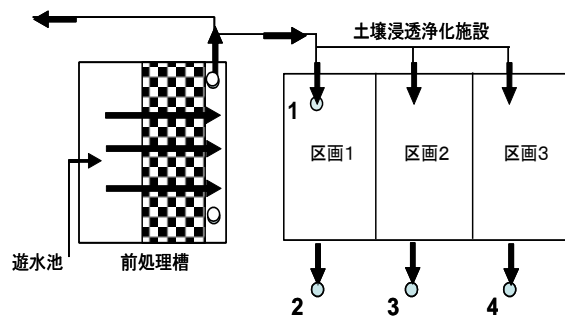


図1 遊水池実験施設外略図

試験の結果、以下のことが明らかになった。

- 1) T-P 除去率、PO₄-P 除去率の結果から、リン除去効果が最も高いのは、もみ殻炭のみの試験区であった。土壌のみの区画でも一定のリン除去効果があることがわかった。
- 2) もみ殻炭のみの試験区では攪拌することで、低下したリン除去率が再び上昇すること明らかになった。
- 3) 土壌のみの区画、土壌ともみ殻炭の区画において、T-P 吸着除去率、SS 除去率は、昨年度より上昇したが、植物の繁茂状態が昨年度よりも良好であったことが影響していると考えられた。
- 4) 植物の生育によるリン吸収効果は、土壌のみの試験区で 15% 見られた。土壌ともみ殻炭の試験区では、19% の差が生じたが、これはもみ殻炭と植物によるリン除去効果と考えられた。

■ 学会発表 5

第120回日本畜産学会 2015年9月12日 札幌グランドホテル

肥育牛の生検皮下脂肪材料を用いた脂肪酸組成推定の可能性

橋元大介¹・辻村和也²・早田 剛¹

(1 長崎県農林技術開発センター、2 長崎県環境保健研究センター)

【目的】牛肉中の脂肪酸組成は、美味しさに関与するとされている。一方、我々は第116回大会で、出荷1ヵ月前の肥育牛の最後位胸椎位胸最長筋から得られた生検筋肉材料の粗脂肪含量によって BMS No.を推定する可能性を報告した。そこで、生検法を用いた生体時肥育牛脂肪酸組成分析の可能性を明らかとするために、生体から生検皮下脂肪材料を採取し、その脂肪酸組成と枝肉の脂肪酸組成との関係を調査した。

【方法】黒毛和種去勢牛 18 頭、乳用種去勢牛 5 頭および交雑種去勢牛 5 頭の計 28 頭(26.6±5.1 ヶ月齢)を供試し、出荷約 1 ヶ月前に生体左側の最後位胸椎位から頭部方向へ生検針(11G×150 mm)を皮下脂肪に対して水平に差し込み、皮下脂肪材料約 20 mm が採取されるまで数回穿刺した。この生検皮下脂肪材料と枝肉の第 6-7 肋骨間皮下脂肪および筋間脂肪の脂肪酸をガスクロマトグラフにより測定し、それらの脂肪酸割合の関係を調べた。

【結果】枝肉の皮下脂肪と筋間脂肪の不飽和脂肪酸割合の間に有意な正の相関が認められた($r=0.81$, $P<0.01$)。また、生検皮下脂肪材料と枝肉皮下脂肪の不飽和脂肪酸割合との間にも有意な正の相関が認められた($r=0.83$, $P<0.01$)。以上より、出荷 1 ヶ月前の肥育牛の最後位胸椎位から得られた生検皮下脂肪材料の脂肪酸割合によって、出荷後の牛肉中脂肪酸割合を推定する可能性が示唆された。

■ 学会発表 6

大気環境学会 2015 年 9 月 15 日～17 日 早稲田大学

長崎県の春季 PM_{2.5} 成分分析結果について —炭素成分を中心に—

○田村圭¹⁾, 土肥正敬¹⁾, 浅川大地²⁾, 山本重一³⁾, 鶴野伊津志⁴⁾

1) 長崎県環境保健研究センター, 2) 大阪市立環境科学研究所, 3) 福岡県保健環境研究所, 4) 九州大学

【はじめに】長崎県は九州北西部に位置し、大陸方向からの大気の流れにより、長距離輸送される黄砂や PM_{2.5} の影響を受けやすい。特に 3 月～5 月は高濃度の PM_{2.5} が観測されており、その寄与は硫酸塩が最も大きい、炭素成分も多くを占める。炭素成分の起源を検討するため、有機炭素 (OC)、元素状炭素 (EC) に加え、光化学生成粒子の指標とされる水溶性有機炭素 (WSOC)、しゅう酸や植物燃焼の指標とされるレボグルコサンを測定した。

【方法】2014 年 2 月中旬から 3 月は諫早 (諫早市、諫早局)、2014 年 5 月は大村 (大村市、環境保健研究センター) 及び五島 (五島市、五島局) で PM_{2.5} サンプラー (諫早: 柴田科学 LV-250、大村及び五島: 東京ダイレック FRM2025) を用いて石英ろ紙及び PTFE ろ紙に 24 時間サンプリングを行った。(図 1) 石英ろ紙は、イオン成分 (Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, しゅう酸, Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺)、OC、EC、WSOC、レボグルコサンの測定に使用した。イオン成分はイオンクロマトグラフを使用し、OC 及び EC は熱分離・光学補正式炭素分析装置、IMPROVE プロトコルを用い、分析中の OC 炭化は反射光で補正した。レボグルコサンはイオンクロマトグラフィー質量分析 (IC/MS) 法により測定した。WSOC は超純水による抽出後、TOC 計により測定した。PTFE ろ紙は無機元素成分を ICP-MS 法により測定するために用いた。それぞれ PM_{2.5} 重量濃度及びその他の常時監視項目は、県常時監視局 (諫早局、五島局、大村局) の値を用いた。



図 1 サンプリング地点

【結果と考察】期間中の各地点における炭素成分 (OC+EC) は、PM_{2.5} 重量濃度に対して、諫早 26%、五島 16%、大村 19% を占めていた。OC と EC はいずれの地点もよい相関を示し ($r^2=0.86\sim0.91$)、期間中の OC/EC 比の平均値は、諫早 (2.0) 五島 (2.0) 大村 (2.7) であった。採取時期は異なるもののその値は既報¹⁾²⁾の値を参考にした場合、石炭燃焼の寄与が大きいことを示していた。しかし光化学反応の寄与等を考慮する必要がある。2 月から 3 月に諫早で観測した炭素成分の経日変化を示す (図 2)。EC や OC、WSOC 濃度の上昇に連動してレボグルコサン濃度の上昇が観測された。この期間のレボグルコサンの平均値は、49 ng/m³ (2~155 ng/m³) であり、やや高めではあるものの 2002 年から 2003 年にかけて済州島で観測された値³⁾と近い値を示した。レボグルコサンは地域由来で高濃度となる場合があるが、これまでの報告³⁾⁴⁾から長距離輸送による濃度上昇も考えられる。また今回の事例は石炭燃焼の寄与が大きいとすると、大陸からの移流の影響を示している可能性がある。今後も植物燃焼起源の指標として継続して測定する予定である。また諫早での観測結果から WSOC

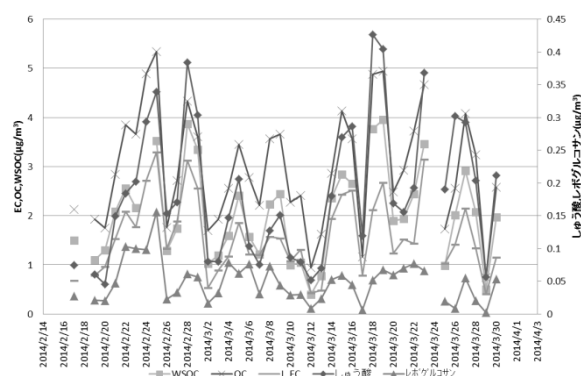


図 2 炭素成分のグラフ (諫早)

濃度の上昇が観測された。この期間のレボグルコサンの平均値は、49 ng/m³ (2~155 ng/m³) であり、やや高めではあるものの 2002 年から 2003 年にかけて済州島で観測された値³⁾と近い値を示した。レボグルコサンは地域由来で高濃度となる場合があるが、これまでの報告³⁾⁴⁾から長距離輸送による濃度上昇も考えられる。また今回の事例は石炭燃焼の寄与が大きいとすると、大陸からの移流の影響を示している可能性がある。今後も植物燃焼起源の指標として継続して測定する予定である。また諫早での観測結果から WSOC

としゅう酸はよい相関 ($r^2=0.91$) が得られ、これらと $PM_{2.5}$ 日平均濃度は相関があった ($r^2=0.88, 0.93$)。さらに $WSOC$ やしゅう酸と Ox の日最大値との相関も得られた ($r^2=0.48, 0.52$) ことから、 $WSOC$ の生成に光化学反応が関与していると考えられるが、 Ox 濃度によらず $WSOC$ が上昇している場合があることから、今後も検討を続けていく。また植物燃焼由来とされる $char-EC$ や主にディーゼル排気由来とされる $soot-EC$ についても検討した。なお五島や大村の結果からは 2014 年春季の特徴であった長期間の黄砂事例についても後方流後線解析などを交えながら報告する予定である。

【参考文献】 1) Bond et al., J. Geophys. Res., 109, D14203, doi:10.1029/2003JD003697 2) Cooke et al., Geophys. Res., 104, D18, doi:10.1029/1999JD900187 3) Kumata et al., Chikyukagaku (Geochemistry) 41, 135—143 (2007) 4) Mochida et al., Atmospheric Environment 44(2010)3511-3518

■ 学会発表 7

大気環境学会 2015 年 9 月 15 日～17 日 早稲田大学

2015 年 1 月の九州北部域の越境 PM 汚染の集中観測の概要

○ 鶴野伊津志 1), 長田和雄 2), 田村 圭 3), 山本重一 4), PAN Xiaole 1), 原由香里 1), 桑原昇平 1), 板橋秀一 4), 弓本桂也 5), 金谷有剛 6)

1)九州大学応力研, 2)名古屋大学, 3)長崎県環境保健研究センター, 4)福岡県保健環境研究所, 5)電力中央研究所, 6)気象研究所, 6)JAMSTEC

【はじめに】 2015 年 1 月 10 日から 24 日かけて、九州北部地域で 3 回の $PM_{2.5}$ の高濃度汚染が起こった。我々は同時期に集中観測を行い、高濃度汚染の詳細な時間変化・組成を捉えることに成功した。観測・モデル解析結果を一連の 5 件の発表として報告する。本報では観測概要と PM 変化の特徴を述べる。

【観測と化学輸送モデル】九州大学・福岡県保健環境研究所では、(1) エアロゾル化学成分連続自動分析装置 (ACSA-12; 紀本電子製) による $PM_{2.5}$ と PM_{10} のエアロゾル成分 (SO_4^{2-} , NO_3^- , OBC , $WSOC$, 酸性度) の 1 時間値、(2) 偏光光散乱式粒子数濃度計 POPC; 山梨技研製) による $0.5 \sim 10\mu m$ の粒径の全個別粒子の個数濃度計測、(3) 多波長ミー・ラマン散乱ライダー観測、(4) MAAP- BC & Thermo CO 連続観測 (福江島でも同一装置で) を行った。九大では、同時に名古屋大学の長田研究室による NH_3 ガスと NH_4^+ 粒子の連続測定 (Osada et al., AAQR 2011)、6 時間毎の粗大と微少粒子のフィルターパック・デニューダ法でのエアロゾル組成分析を行った。福岡市と風上離島の比較のため、長崎県環境保健研究センターによる国設対馬酸性雨局と五島局の $PM-712$ のテープフィルター捕集の粗大と微少成分のイオンクロマトによるエアロゾル組成分析も行った。観測と連携して越境汚染の解析を行うために、化学輸送モデルとしては CMAQ (Community Multi-scale Air Quality Model Ver. 4.7.1) と GEOS CHEM ver. 9.2 を用いた数値シミュレーションも実施した。

【結果】 図 1 に $PM_c (=PM_{10} - PM_{2.5})$, $PM_{2.5}$, SO_4^{2-} , NO_3^- , BC の

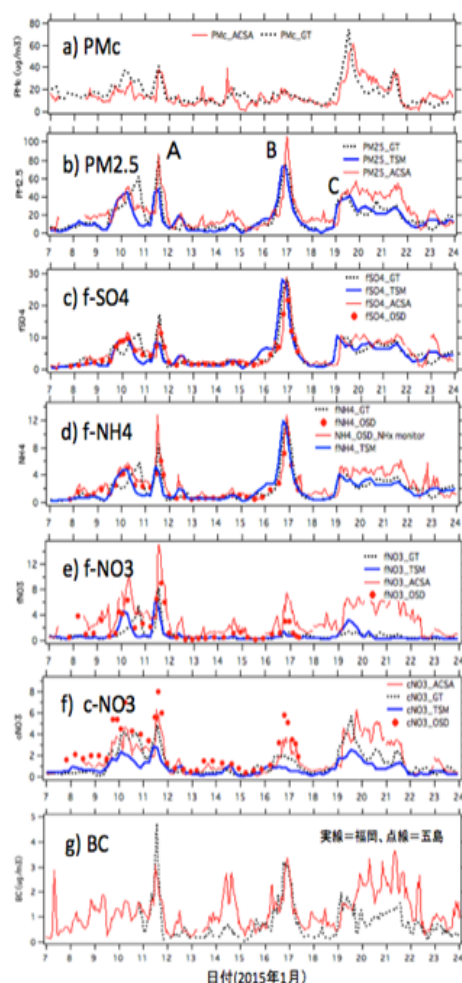


図1 濃度の時間変化(GT:五島, TSM:対馬, ●はフィルターパック, ACSA:九大)

福岡、対馬、五島の観測時系列を示す。期間中 $PM_{2.5}$ の3回の高濃度 (図の A-C) が起こったが、主成分が異なっていた (Aは NO_3^- の高濃度、Bは SO_4^{2-} の高濃度、Cは両方とも高濃度)。 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ は3地点もほぼ同じ挙動で越境が主であり、fine NO_3^- には、越境寄与と国内寄与が存在する。BC (福岡、福江) から越境と国内寄与が示される。一方、1月19-21日には Ca^{2+} が上昇し黄砂の飛来と同期して、粗大 NO_3^- 濃度が上昇し、f NO_3^- と c NO_3^- の割合が非黄砂時と明らかに異なっていた。A-C ケースについて POPC による偏光解消度-粒径分布を図2に示す。ACSA による成分と POPC の2D分布を組み合わせることで、汚染の主要なエアロゾルの寄与が明瞭に示された。今後はより詳細な総合解析を進める予定である。

謝辞) 本研究は科研費基盤研究S(25220101)の一部として行った。

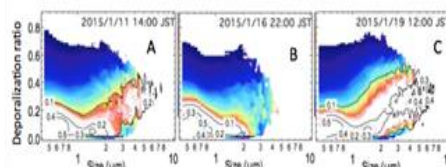


図2 図1bのA-Cに対応したPOPCによる体積濃度の粒径-偏光解消度プロット、Bピーク時では微小粒子が主、Cピーク時は非球形状の粗大粒子(黄砂)と微小大気汚染粒子の混在を示す。

■ 学会発表 8

大気環境学会 2015年9月15日~17日 早稲田大学

2015年1月の九州北部域の越境PM汚染の集中観測期間のモデル解析

○板橋秀一 1), 鶴野伊津志 2), 長田和雄 3), 山本重一 4), 田村圭 5), Pan Xiaole 2), 原由香里 2), 金谷有剛 6)
 1) 電力中央研究所, 2) 九州大学応用力学研究所, 3) 名古屋大学,
 4) 福岡県保健環境研究所, 5) 長崎県環境保健研究センター, 6) 海洋研究開発機構

2015年1月には九州北部域で $PM_{2.5}$ が高濃度となるエピソードが3回続けて生じた。本研究では、この期間中について、領域化学輸送モデルの再現性を包括的に評価し、さらに感度実験により国内外の寄与推定を行った。Aerosol Chemical Speciation Analyzer (ACSA) では、硫酸塩 (SO_4^{2-}) や硝酸塩 (NO_3^-)、水溶性有機炭素 (WSOC) を微小粒子と粗大粒子の2粒径について高時間分解能 (本研究では1時間と設定) で観測できる。この機器を福岡県の都市部から約10km程度離れた太宰府市内の施設屋上 (地上から16.4m) に設置した。また、アンモニア計によるガス態および粒子態アンモニア (NH_4^+)、Multi-Angle Absorption Photometer (MAAP) による元素状炭素 (EC) の観測も九州大学筑紫キャンパス内で行われている。これらに加え、1月11日から17日には、フィルターパック・デニューダ法による6時間毎のサンプリングを行った。領域化学輸送モデルには CMAQ を適用し、気象データは気象モデル WRF、排出量データは REAS version 2.1 を用いた。計算領域は東アジア全域をカバーし、水平解像度は81kmである。解析対象としたのは2015年1月であるが、REASは2008年まで利用可能であり、試験計算として2008年の排出量データを用いた計算を行った。日本の人為起源排出量をゼロにした感度実験も合わせて行った。Fig. 1には2015年1月11日から24日までの種々の大気汚染物質の濃度変化の時系列を示す。この期間中には11日に半日程度 (Fig. 1のA)、17日に1日程度 (同B)、19日から22日にかけて3日程度 (同C) 持続した計3回の高濃度事例が観測された。Fig. 1には灰色実線でモデル計算値を、灰色点線でモデル感度実験の結果を示す。灰色のシェード部分は両者の差で日本の人為起源排出量の寄与を示す。Fig. 1(a)より SO_4^{2-} に対しては国内の寄与はほぼ見られなかった。期間を通じてモデルは SO_4^{2-} を過小評価した。Fig. 1(b)および(c)には微小および粗大粒子の NO_3^- 、Fig. 1(d)には NH_4^+ を示す。AとBのピークは越境輸送が支配的であったが、Cにおいては特に後半にかけて国内のローカル汚染との複合的な汚染状況が考えられる。このときは黄砂が飛来しており、粗大粒子の NO_3^- 濃度が高かった。Fig. 1(e)に示す EC には、微小粒子の NO_3^- と同様にローカルの寄与が見られたが、一方で Fig. 1(f)に示す WSOC は SO_4^{2-} と同様に越境輸送の寄与が支配的であった。

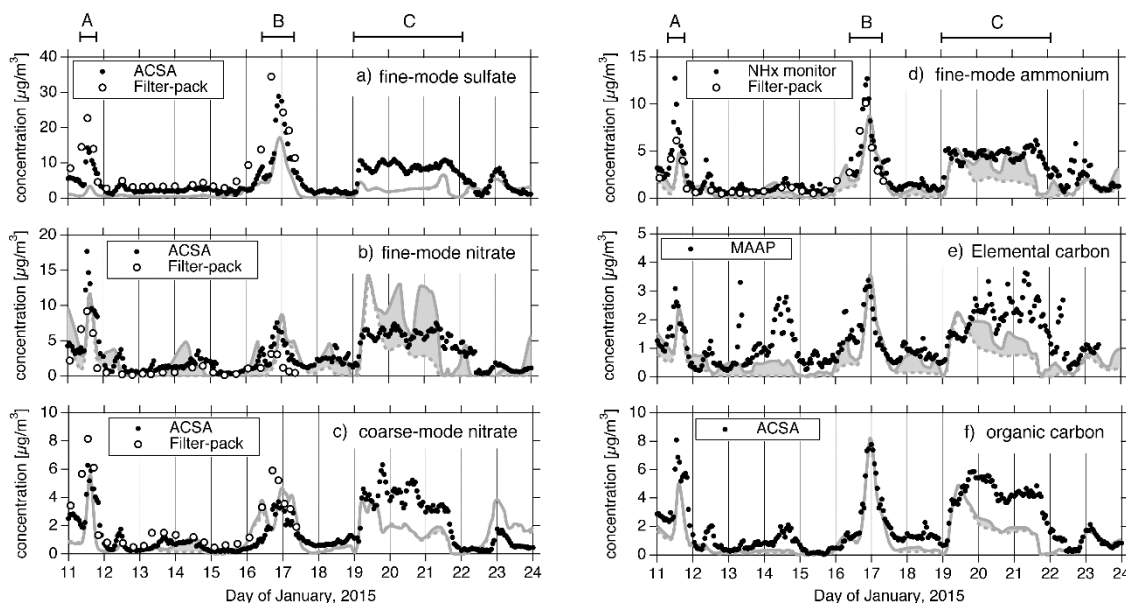


Fig. 1. Temporal variation of (a) fine-mode SO_4^{2-} , (b) fine-mode NO_3^- , (c) coarse-mode NO_3^- , (d) fine-mode NH_4^+ , (e) elemental carbon, and (f) organic carbon during January 2015 at Fukuoka. Open and closed black circles denote observation data, and gray lines indicate model simulation

■ 学会発表 9

大気環境学会 2015年9月15日～17日 早稲田大学

2014年におけるPM_{2.5}高濃度事例の特徴について—福岡での観測を中心に—

○山本重一¹⁾, 長田健太郎²⁾, 山田早紀³⁾, 田村圭⁴⁾, 緒方美治⁵⁾, 鶴野伊津志⁶⁾, Pan Xiaole⁶⁾

1) 福岡県保健環境研究所, 2) 山口県環境保健研究センター, 3) 佐賀県環境センター, 4) 長崎県環境保健研究センター, 5) 熊本市環境総合センター, 6) 九州大学

【はじめに】福岡のPM_{2.5}濃度は春季に高い傾向を示す。2014年もPM_{2.5}の月平均濃度や環境基準を超えた日平均濃度日数は春季に高かった。このような高濃度時の現象を詳細に解明するため、高時間分解能でのPM_{2.5}成分濃度分析を実施した。その結果、汚染単独のケースや汚染と黄砂が混在するケースなど、時間経過とともに変化する汚染の特徴を把握することができた。

【観測方法】PM_{2.5}の採取に際して、複数のシミュレーション、東アジアの大気汚染状況、衛星画像の情報から高濃度期間を予測して採取期間を決定した。この採取期間においてPM_{2.5}粒子はローポリウムエアサンプラで6時間毎に石英繊維製ろ紙上に採取し、水溶性成分と炭素成分を分析した。また、大気エアロゾル化学成分連続分析装置（紀本電子工業社製ACSA-12）により微小粒子（PM_{2.5}）と粗大粒子（PM_{10-2.5}、以下PMc）の1時間毎の質量濃度及び成分濃度〔硫酸イオン、硝酸イオン、水溶性有機化合物（以下、WSOC）、酸性度、光学的ブラックカーボン（以下、OBC）（微小粒子のみ）〕を測定した。偏光式光学粒子計測装置（以下、POPC）では0.5～10μmの粒子に対する偏光解消度（粒子の形状）と体積濃度を計測した。後方流跡線はNOAAのHYSPLIT MODELを利用した。今回は2014年3月から6月における結果を報告する。

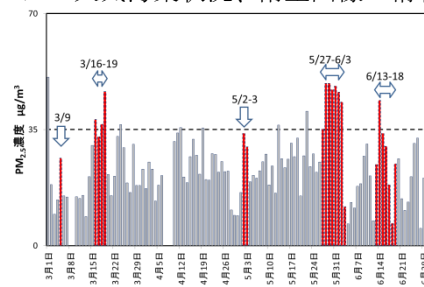


図1 PM_{2.5}日平均濃度

【結果と考察】 2014年3月から6月におけるPM_{2.5}の日平均濃度を図1に示す。図中の矢印と日付は成分濃度観測を実施した期間である。先に述べたように予測情報等により決定した計5回の採取は、日平均濃度が環境基準[図1の点線]を超える事例を採取することができていた。これらのうち、3月9日と3月18-19日の2事例について紹介する。

3月9日のPM_{2.5}濃度、PMc濃度、微小の硫酸イオン濃度及び微小の硝酸イオン濃度を図2に、3月18-19日の各濃度を図3に示す。3月9日はPM_{2.5}の日平均濃度は低かったが、時間値最高濃度は100 μg/m³を超えていた。最高濃度となった3月9日14時、福岡を起点とした後方流跡線は山東半島付近から黄海、朝鮮半島南西部を経て九州北部に至る経路となっていた。図2を見るとPM_{2.5}濃度の急上昇とともに硫酸イオンと硝酸イオンが同時に濃度上昇していた。これらのことから大陸からの大気汚染による影響を受けてPM_{2.5}濃度が上昇したと考えられる。次に3月18-19日について、PM_{2.5}は18日の12時から濃度上昇していた。高濃度となった3月18日17時、福岡を起点とした後方流跡線は、大陸から黄海を経て九州北部へ至っていた。図3を見ると、微小粒子と硫酸イオン濃度が同時に上昇していた。その後19日1時に粗大粒子濃度が急上昇した。この時刻の後方流跡線はモンゴルと中国の国境付近から至る経路となっており、黄砂の飛来と考えられる。なお、この粗大粒子濃度上昇時に微小粒子が継続して高濃度であったことから黄砂と大気汚染が混在した状態であったと考えられる。

発表では成分濃度結果による構成成分の割合や発生源の推定、POPCによる粒径分布と粒子の形状、大気汚染物質の空間分布を合わせた結果を報告する。

■ 学会発表 10

大気環境学会 2015年9月15日～17日 早稲田大学

2015年1月の九州北部域の越境PM汚染の集中観測期間の排出量逆推計

○弓本桂也 1), 鶴野伊津志 2), 長田和雄 3), 山本重一 4), 田村圭 5),

1) 気象研究所, 2) 九州大学応用力学研究所, 3) 名古屋大学, 4) 福岡県保健環境研究所, 5) 長崎県環境保健研究センター

【はじめに】九州大学応用力学研究所を中心とした研究グループでは、九州北部に焦点を当てたエアロゾルの長期観測を2013年11月から行っている。そのうち、高PM_{2.5}濃度イベントが3回発生した2015年1月を対象に、観測データと、数値モデルを利用した感度実験結果を用いて排出量逆推計を行った。

【手法】最適化法としてグリーン関数法(Yumimoto et al., 2014)を採用した。グリーン関数法では、観測された濃度とモデルで再現された濃度の差の二乗和を評価関数として定義し、その値が最小となるように各地域の排出量を最適化する。各地域の排出量と評価関数を繋ぐ感度の情報は、ソースレセプター解析による計算で求めた。本研究では、日本、朝鮮半島、台湾、11の地域に細分化した中国、東南アジア諸国に火山起源を加えた16の排出源を逆推計の対象とした。

【結果】図1に一酸化炭素(CO)に対する逆推計の結果を示す。モデル結果は過小評価の傾向であったが、逆推計によって改善していることがわかる(相関係数、平均二乗誤差の値も大きく改善している)。特に10日、17日、19-20

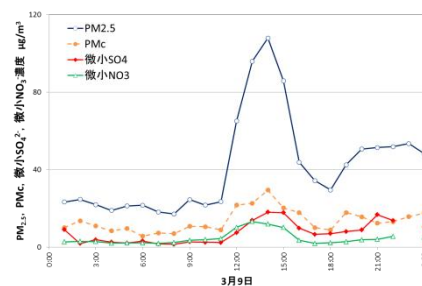


図2 3月9日のPM_{2.5}、PMc、微小の硫酸イオン及び硝酸イオン時間値濃度

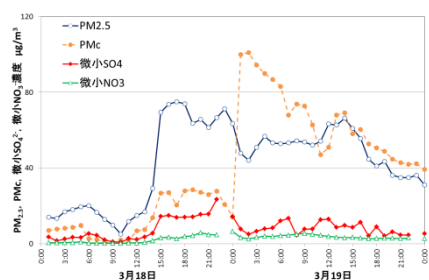


図3 3月18-19日のPM_{2.5}、PMc、微小の硫酸イオン及び硝酸イオン時間値濃度

日の高濃度イベントでのインパクトが大きい。逆推計された排出量を見てみると、北京周辺、遼東半島、中国東北部で排出量が大きく増加しており、この領域での排出量の過少評価がモデルの再現性に大きく影響していることを示唆している。図2に黒色炭素(BC)に対する逆推計の結果を示す。全体の印象はCOに近く、COほどではないが濃度の過少評価がモデルには見られる。逆推計後は、全体的に濃度が増える傾向にあり、3つの高濃度イベントを中心に再現性が向上している(相関係数、平均二乗誤差ともに改善している)。しかし14日付近のイベントは逆推計後も捉えられていない。これは、モデルに含まれていないメカニズムが原因と考えられる(局地的な大気汚染など)。COとBCをそれぞれについて逆推計を行ったが、その結果には幾つかの共通点が見られる。まず、両物質とも3つの高濃度イベントにおいて大きな改善が見られた点(越境大気汚染が原因と見られる)と、逆推計後の排出量の増減の分布(両物質とも北京、遼東半島、中国東北部といった比較的北の地域で排出量が大きく増加し、上海周辺や安徽省といった南寄の地域で減少または微増している)である。発表時には、他の物質(例えばSO₄など)の排出量逆推計の結果も示す予定である。

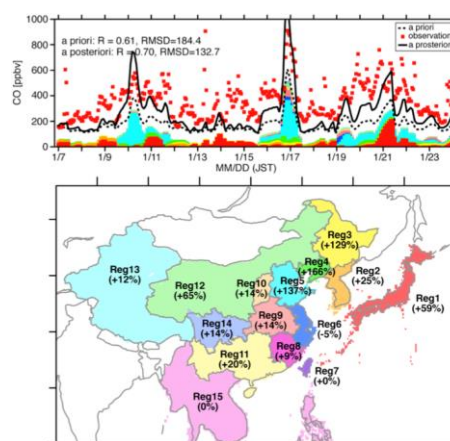


図1 COに対する逆推計結果。上段は観測とモデルの時系列の比較。●は観測、破線は逆推計前、実線は逆推計後の濃度。色付きのバーは各領域(下段参照)の寄与(逆推計前)。逆推計前後の統計量(相関係数とRMSD)も付記する。下段は各領域における逆推計前後の排出量の増減。

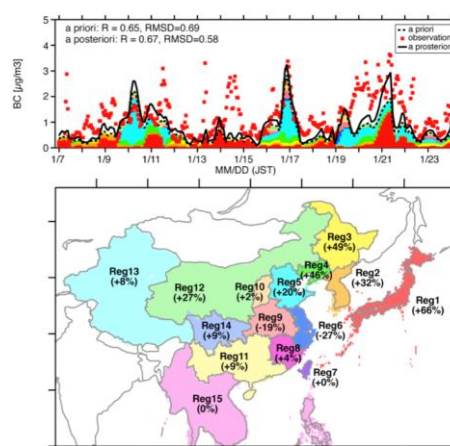


図2 BCに対する逆推計結果。上段は観測とモデルの時系列の比較。●は観測、破線は逆推計前、実践は逆推計後の濃度。色つきのバーは各領域(下段参照)の寄与(逆推計前)。逆推計前後の統計前後の排出量増減。

■ 学会発表 11

平成 27 年度日本獣医三学会(獣医学術九州地区学会) 2015 年 10 月 16 日 メルパルク熊本

ELISA による日本脳炎ウイルスの流行探知

吉川 亮

【はじめに】日本脳炎患者の報告数は、全国で 1990 年代以降 10 名以下となっており、長崎県においても 2001～2009 年の 9 年間患者報告がない状況である。その一方で、厚生労働省、国立感染症研究所及び地方衛生研究所等により実施される感染症流行予測調査事業の日本脳炎感染源調査では、日本脳炎に対する県内産豚の HI 抗体価は毎年 100%を示し、調査血清からは日本脳炎ウイルス(JEV)が分離されている。そのような状況下、長崎県では 2010 年、2011 年と患者報告が続き、2013 年には死亡事例が発生したことから、患者発生防止に向けた県民への早期注意喚起が必要と考えられた。そこで、流行の早期把握を目的とした ELISA による豚の抗 JEV-IgM 検出について検討を行うとともに、感染症流行予測調査事業の日本脳炎感染源調査に示された現行法(赤血球凝集抑制試験)と比較した。

【材料と方法】材料は、日本脳炎の流行が確認されている場所と時期に JEV に未感染な 5 週齢の子豚 5 頭を感染曝露させ、1 週間おきに採血を 10 回行ってえられた血清 50 検体とした。方法は、これら血清を用いて anti JEV-IgM capture ELISA による JEV に対する IgM 抗体価を測定し、日本脳炎に対する抗体の陽転を確認した。

また、併せて行った現行法との比較には、2011～2014 年に本県で実施した日本脳炎感染源調査で採取した豚血清 320 検体を材料として用いた。

【結果と考察】曝露後、3～6 週間後にすべての子豚から IgM 抗体が確認された。このことから曝露開始から感染成立までの時期は特定できないが、野外飼育された豚を対象とした ELISA による流行の探知は可能であることが示された。

また、現行法との比較では、いずれの年も IgM 抗体は HI 試験における初期感染を示す 2-ME 感受性抗体より早期に検出された。以上の結果から ELISA は現行法である HI 試験に比べ早期に流行を探知できることが明らかとなった。特に 2014 年のように流行が低調であった場合、IgM 抗体検出と 2-ME 感受性抗体検出には 1 か月の開きがあり、その有用性が顕著であった。

■学会発表 12

第 74 回日本公衆衛生学会 2015 年 11 月 4 日～6 日 長崎ブリックホール

循環ろ過式入浴施設における細菌数迅速測定法を用いた衛生管理の塩素消毒への影響

田栗 利紹¹、蔡 国喜¹、安部恵代²、有馬和彦²、西村貴孝²、青柳 潔²

¹長崎県環境保健研究センター

²長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

【目的】浴槽水を再利用する循環風呂は温水の保温や浄化機能のための利便性を備えているが、レジオネラ症等感染症の不安とその対策として施される消毒剤の過剰投与等の問題を抱えている。本研究では、レジオネラ属菌汚染のリスク評価¹⁾や浴槽水の消毒効果判定機能²⁾を備えた細菌数迅速測定法(以下 RDM)により浴槽水中の細菌数を一定基準以下に制御することを試みた結果、レジオネラ属菌予防だけでなく、消毒剤使用量や塩素剤の安定性への寄与が認められたので報告する。

【方法】1 日入浴者数が千人規模の循環ろ過式入浴施設の中で最も利用頻度が高いと予想された浴槽を調査した。本浴槽は、もともと浴槽水中の塩素濃度が不安定であったことから調査を開始し、市販の配管洗浄剤による洗浄の過程で高度の生物膜汚染(レジオネラ属菌を含む)を認めたことから 2010 年 6 月にろ材を交換した。RDM による細菌数の基準値はモデル実験により設定して 3000 個/mL とした。月 2～3 回の頻度で浴槽水とろ過器逆流洗浄水(以下逆洗水)を測定し、浴槽水が基準を超えた場合には配管洗浄を行った。RDM 値はろ材交換後の 1 年 7 ヶ月間(2010 年 7 月～2012 年 2 月)と最近 10 ヶ月間(2014 年 8 月～2015 年 5 月)を比較した。消毒剤使用量と遊離塩素濃度は、施設管理者の衛生管理記録から抽出した。後者は DPD 法により毎日計測されており、ろ材交換前(2007 年)、交換後(2011 年)および本年(2015 年)の繁忙期(1 月)のデータを比較した。

【結果】浴槽水の細菌数はろ材交換後から最近まで低い値を保っていた。逆洗水の細菌数はろ材交換後でも高い数値を示したが、適切な配管洗浄後に明らかに減少した。入浴施設全体の消毒剤使用量において、2011 年は 2007 年よりも 1 日あたり 3%次亜塩素酸 Na として 12.6 L 減少し、2015 年にはさらに 9.4 L 低減した(対 2007 年比 30.7%減)。各年の営業中の遊離塩素濃度(平均値±標準偏差)は 1.21±0.91、0.80±0.42 および 0.98±0.58 (mg/L)であり、0.2 mg/L を下回る頻度は 18 回、5 回、2 回と減少した。

【結論】循環施設の塩素の安定性にはろ材交換と配管洗浄が大きく影響していた。RDM による循環施設の衛生管理はレジオネラ属菌予防に効果があるだけでなく、消毒剤使用量の低減や薬剤の安定性に寄与できる。

¹⁾ Taguri *et al.*, *J. Microbiol. Method*, 2011

²⁾ 倉ら, 厚生労働科学研費総合分担報告書 201134019A, 2011

■ 学会発表 13

第 74 回日本公衆衛生学会 2015 年 11 月 4 日～6 日 長崎ブリックホール

長崎県における日本脳炎流行の早期探知法

吉川亮^{1,2}、松本文昭¹、三浦佳奈¹、蔡国喜^{1,2}、斎藤佳子¹、西村貴孝²、有馬和彦²、安部恵代²、青柳潔²

¹長崎県環境保健研究センター

²長崎大学大学院医歯薬総合研究科

【目的】国内の日本脳炎患者は 1990 年代以降 10 名以下を推移し、本県は 2001 年から 2009 年の 9 年間患者報告がなかったが、2010 年、2011 年と患者報告が続き、2013 年には死亡事例が発生したことから患者発生防止に向けた県民への早期の注意喚起が必要となった。そこで、注意喚起を行うにあたり流行の端緒を早期に把握するために感染症流行予測調査事業の日本脳炎感染源調査に示された現行法(HI 試験)に加え、迅速かつ感度の高い ELISA 及び RT-PCR の併用を検討したので報告する。

【方法】日本脳炎感染源調査で 2011 年から 2014 年に採取したブタ血清 320 検体を用いた。ブタ血清は毎年 7 月初旬から 9 月中旬まで概ね 10 日おきに 8 回採取し、1 回につきブタ 10 頭の血清を採取した。これら血清から IgM capture ELISA による日本脳炎ウイルス(JEV)に対する IgM 抗体価及び RT-PCR による JEV 遺伝子の検出を試み、その結果と HI 試験で流行の端緒を示す 2-ME 感受性抗体の検出結果を比較した。

【結果】IgM 抗体、JEV 遺伝子及び 2-ME 感受性抗体を各々の年で最初に検出したのは、2011 年は 7 月初旬、7 月中旬及び 7 月下旬で、2012 年は 8 月初旬、8 月初旬及び 8 月中旬で、2013 年は 7 月下旬、7 月下旬及び 8 月上旬で、2014 年は 7 月下旬、8 月上旬及び 8 月下旬であった。すべての年で 2-ME 感受性抗体より IgM 抗体及び JEV 遺伝子は早期に検出された。

【結論】以上の結果から ELISA 及び RT-PCR は HI 試験に比べ早期に流行を探知できることが明らかとなった。特に 2014 年のように流行が小さい場合、IgM 抗体検出と 2-ME 感受性抗体検出には 1 か月の開きがあり、その有用性が顕著となった。日本脳炎は、発症すると重症化し後遺症が残るケースも多く、場合によっては死亡に至る公衆衛生上留意すべき疾患であることから、現在、これら成績をもとに本県では独自の基準を設け、日本脳炎に対する早期の注意喚起を行なっている。

■ 学会発表 14

第 74 回日本公衆衛生学会総会 2015 年 11 月 4 日～6 日 長崎ブリックホール

ヒスタミン産生菌 *M.morganii* 食中毒分離株からの HDC 遺伝子のクローニング

蔡国喜¹、田栗利紹¹、吉川亮¹、本多 隆¹、長富 潔²、吉田朝美²、青柳潔³、山本太郎³

¹長崎県環境保健研究センター

²長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

³長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

【目的】魚肉やその加工品中で異常に蓄積したヒスタミンによって起こる食中毒のことをアレルギー様食中毒と呼ぶ。食品中のヒスタミンは、ヒスチジン脱炭酸酵素(histidine decarboxylase, HDC)を保有するヒスタミン産生菌により産生される。本研究では、長崎県で発生したアレルギー様食中毒の原因食品から分離したヒスタミン産生菌 *Morganella morganii* (以下 *M. morganii*)の HDC 遺伝子に着目し、アレルギー様食中毒の予防及び対策へとつながる基盤研究を目指している。その第一歩として、*M. morganii* 食中毒分離株 HDC 遺伝子のクローニングによりそ

の塩基配列を決定し、標準株と比較したので報告する。

【方法】実験材料: 2008年9月、長崎県内の保育所で喫食した園児、保育士35名中8名が喫食後30分以内に蕁麻疹と発赤を呈した。原因はすりみ揚げと考えられ、その食品と原料から各々59 mg/100g及び100 mg/100gのヒスタミンが検出されたためにアレルギー様食中毒と断定した。

ヒスタミン産生菌の分離: すりみ揚げから100個の分離株を検索し、HDC遺伝子を保有する *M. morgani* が検出された。

HDC遺伝子のクローニング: *M. morgani* の食中毒分離株を35°C、18時間培養後、得られた菌体(約 2×10^9 個)から全DNAを抽出した。これを鋳型として、*M. morgani* JCM1672(標準株)のHDC遺伝子の配列情報より設計したプライマーを用いてPCRを行い、得られたPCR産物をTAクローニング後、サイクルシーケンス法により塩基配列を決定した。

【結果】*M. morgani* の食中毒分離株よりHDC遺伝子のクローニングを行ったところ、そのコード領域の塩基配列1,137 bp(378アミノ酸)を決定した。次に、*M. morgani* 食中毒分離株と標準株のHDC遺伝子を比較した。その結果、食中毒分離株HDC遺伝子では、6カ所の塩基置換が認められたものの、アミノ酸置換は見られなかった。

【結論】今回、*M. morgani* 食中毒分離株よりHDC遺伝子をクローン化することができた。今後はHDC遺伝子を用いて、大腸菌による大量発現系の構築、更には組換えHDC酵素を用いた酵素活性阻害物質の探索を行う必要がある。

■ 学会発表 15

第74回日本公衆衛生学会総会 2015年11月4日～6日 長崎ブリックホール

長崎県における学校欠席者情報収集システムによる保健所別のインフルエンザ流行状況

竹野大志¹、松本文昭²、森史江³、菅原民枝⁴、大日康史⁴

- 1 長崎県医療政策課感染症対策班
- 2 長崎県環境保健研究センター
- 3 長崎県教育庁体育保健課
- 4 国立感染症研究所感染症疫学センター

【目的】長崎県において導入、実施されている「学校欠席者情報収集システム」を用いて、保健所別のインフルエンザ流行状況を比較し、流行状況の把握、早期探知、感染拡大防止対策等における有用性を検討する。

【方法】2014年9月1日から2015年3月29日までを対象期間とした。長崎県内の10の保健所(長崎市保健所、佐世保市保健所、西彼保健所、県央保健所、県南保健所、県北保健所、五島保健所、上五島保健所、壱岐保健所、対馬保健所)の管内に所在する全学校を対象とし、学校欠席者情報収集システムに登録された小、中、高等学校の在籍者数(45,910人)及びインフルエンザ欠席者数(出席停止者数)から、日別の新規患者数による流行曲線及び累積罹患率を計算し、保健所単位での流行の立ち上がりと期間全体での流行規模を比較した。

【結果】対象期間中の累積罹患率の動向は保健所によって異なっていた。上五島保健所管内では11月上旬には他の地域に比べて流行の立ち上がりが観測されたものの流行規模は小さかった。五島保健所管内では12月中旬に立ち上がりが観測され、そのまま拡大の傾向が見られた。壱岐保健所管内は県内でも最も遅く流行が立ち上がったが流行規模は大きかった。

【考察】インフルエンザ流行の動向の違いは特に離島保健所においてみられ、システムによる患者数は、週報値より早期に流行を探知していた。このことから、各施設や地域への日々の情報提供は、システム内におけるお知らせ等、保健所単位で行う必要があると考えられた。

■ 学会発表 16

第 74 回日本公衆衛生学会総会 2015 年 11 月 4 日～6 日 長崎ブリックホール(長崎市茂里町 2-38)他

長崎県下の結核対策における遺伝型別(VNTR)の有用性

○右田雄二¹ 中村まき子² 田栗利紹² 眞崎哲太郎³ 藤田利枝¹ 長谷川麻衣子⁴ 大塚俊弘⁵ 和田崇之⁶

- 1 長崎県上五島保健所
- 2 長崎県環境保健研究センター
- 3 長崎県対馬保健所
- 4 長崎県県南保健所
- 5 長崎県県央保健所
- 6 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門国際保健学分野

【目的】大部分が北京型に属する国内結核菌株の識別には、JATA12-VNTR(Variable Number of Tandem Repeats)法が適しており、国内標準法となっている。長崎県においても、感染症法第 15 条の積極的疫学調査の一環として、結核菌の伝播経路の推定や集団感染の探知のために追加領域[JATA15(3) + 超可変領域(3)]を加えた計 18 領域で解析を行っている。本総会では、2011 年以降、県内の結核病床を有する医療機関から分与された結核菌株の遺伝型別結果を取りまとめたので報告する。

【方法】2011 年 12 月から 2015 年 3 月までの結核発生届に基づき収集された 121 株を解析対象とした。鋳型 DNA は熱処理による小川培地粗抽出液を精製して作製し、VNTR 領域ごとの反復回数の測定方法は「結核菌 VNTR ハンドブック(地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編)」に準拠した。本研究では、反復回数が 18 領域中 1 領域違いまでを同一の遺伝型(クラスタ)と判定し、保健所の実地疫学との関連性を調査した。

【結果】県内 121 株の解析結果では 15 クラスタ[(2 株間:12 クラスタ、3 株間:2 クラスタ、10 株間:1 クラスタ)]が認められ、クラスタ形成率は 27.4%であった。実地疫学との関連性が確認された事例は 3 事例あり、そのうちの 1 事例は 10 株間でクラスタが確認された集団発生例であった。この集団との接触可能性が疑われた患者 1 名は遺伝子型が集団と異なることで関連性が否定できた。一方、県内株のうち 50 株(41.3%)を占めた県南保健所管轄地域では、3 クラスタ[(2 株間:2 クラスタ、3 株間:1 クラスタ)]を認め、クラスタ形成率は 14.0%と低かった。解析した患者の平均年齢は全株および県南保健所管轄株でそれぞれ 74.6 歳および 79.5 歳であった。

【考察】長崎県は全国でも結核罹患率が高く(2013 年:19.9)、県内では県南保健所管轄(2013 年:36.5)が最も高い地域となっている。今回の解析結果から、県南地域では罹患率に反してクラスタ形成率が低く、多様な遺伝型が存在することが分かった。このことは、本地域内における特定菌株の流行、拡散がなかったことを意味しており、県南地域における高罹患率は高齢者の再燃によるものと推察される。現在の結核対策は、地域DOTSやクオンティフェロン等が導入され成果を挙げているが、これに分子疫学的手法であるVNTR法を加えることで効率の良い疫学調査が推進されると思われる。

■ 学会発表 17

第 36 回日本食品微生物学会総会 2015 年 11 月 12 日(木)～13 日(金) 川崎市教育文化会館

原因不明事例の患者糞便からの多殻目粘液胞子虫遺伝子の検出法

○江藤良樹¹⁾、前田詠里子¹⁾、村上光一¹⁾、丸山浩幸²⁾、右田雄二³⁾、世良暢之¹⁾、堀川和美¹⁾

1) 福岡県保健環境研究所, 2) 福岡市保健環境研究所, 3) 長崎県環境保健研究センター

【目的】我々は、2013年12月に経験した原因不明胃腸炎事例から、多殻目粘液胞子虫の多くの種が食中毒を起こす可能性があるのではないかと仮説を立てた。しかし、生鮮魚喫食歴のある食中毒疑い事例で刺身・寿司等が残っていることがほとんど無い為、食品残品から多殻目粘液胞子虫と健康被害との関連性を調べることは困難である。そこで、この研究では、比較的確保が容易な糞便から多殻目粘液胞子虫遺伝子を網羅的に検出する手法を確立する事を目的とした。

【方法】12種の多殻目粘液胞子虫の28S ribosomal DNA (rDNA)を元に information content(IC)を計算し、最も多様性の高い部分が増幅されるようプライマーを設計した。PCRによる遺伝子増幅は、Quick Taq HS DyeMix(東洋紡)を用いて50 μ l系で実施した。サイクル条件は、94 $^{\circ}$ C 2分の後、94 $^{\circ}$ C 30秒、58 $^{\circ}$ C 30秒、68 $^{\circ}$ C 40秒を45回繰り返した。PCR産物は、Big Dye Terminator v3.1 (Life Technologies)を用い、3500 Genetic Analyzer (Life Technologies)にて塩基配列を決定した。評価の対象として、2011年から2014年に起きた生鮮魚喫食歴のある原因不明胃腸炎事例16事例(患者糞便74検体)と粘液胞子虫以外が原因と特定された食中毒確定事例15事例(患者糞便79検体)を用いた。糞便からのDNA抽出には、QIAamp stool mini kit (QIAGEN)、又は、QIAamp fast stool mini kit (QIAGEN)を用いた。

【結果】ICの計算から28S rDNAの5'側に連続して多様性のある領域があったことから、この領域を増幅するようにプライマーを設計した。設計したプライマーを用いて糞便153検体を検査したところ、37/153(24%)で約638-701bpの増幅が観察された。このうち、原因不明胃腸炎事例の陽性数は36/74(49%)で、これらのPCR産物は塩基配列決定により、*K. septempunctata*、*K. hexapunctata*、*K. iwatai*、*Unicapsula seriola*、及び、未知の*Kudoa*属の28S rDNAと同定された。喫食から検体採取(排便)までの時間が、48時間未満の場合の陽性率は66%(21/32)、48時間以上では35%(14/40)であった。一方、食中毒確定事例では2/79(2.5%)で遺伝子が増幅され、塩基配列を決定した結果、未知の*Kudoa*属の28S rDNAと粘液胞子虫の28S rDNAでは無い未知の遺伝子であった。

【考察】この手法は、生鮮魚喫食歴のある原因不明胃腸炎事例の患者糞便の49%から粘液胞子虫の28S rDNAの遺伝子を検出・同定することができた。このことから、これらの事例において多殻目粘液胞子虫の関与を網羅的に検査できる有用なツールとなるだろう。今後、患者糞便からの遺伝子検出と生鮮魚の喫食調査の情報を蓄積することで、粘液胞子虫と感染魚と健康被害の関係を明らかにする一助となると考えられた。

■ 学会発表 18

第42回 環境保全・公害防止研究発表会 2015年12月1日～12月2日 文京シビックホール

陶磁器くずなどの再生砂を用いた大村湾(長崎県)におけるアサリ生息場造成の可能性について

粕谷智之

【はじめに】大村湾では海への栄養蓄積進行にともなう水環境の悪化が問題となっている。長崎県環境保健研究センターではアサリなどの二枚貝を増やして漁獲することによって海から栄養物質を取り上げることに取り組んでおり、2012年度からはテストプラントとして二枚貝人工生息場(以下、生息場)を覆砂により造成した。講演では生息場造成に至るまでの研究経緯を併せて紹介し、生息場のアサリ出現状況および底質状況について報告する。

【材料と方法】生息場は2012年7月大村競艇場横水路に長さ12m×幅1.5m、厚さ20cmの規模で造成した。土嚢で地盤を安定させた後、杉板製の木枠を設置し、その中に、先ず軽く砕いたカキ殻を敷き、次に陶磁器くず(長崎県認定リサイクル製品 A108008、粒径0～5mm)と廃ガラス砂(同 A108007、0～3mm)を容積比1:1でよく混ぜ合

わせた人工砂を15cm厚となるように投入した。覆砂面高は大村湾の平均潮位(50cm)−50cmとした。底生生物および底質を数ヶ月ごとに調査するとともに、生息場の水温、塩分および溶存酸素量を測器を覆砂面と同じ高さとなるように設置して連続観測した。

【結果と考察】(水質・底質環境) 生息場造成後から2015年1月までの間で、底質は、中央粒径および泥分率については、生息場ではそれぞれ1.0~1.2mm、および2.1~5.3%の範囲、周辺では0.075~0.11mm および46.1~69.2%の範囲で推移した。また、強熱減量は生息場では1.4~1.9%、周辺では10.9~11.9%の範囲であった。生息場の底質は造成当初と比較して大きな変化は見られず、造成後2年6ヶ月経過した時点でアサリの生息適性範囲内であった。

(アサリ出現状況) 生息場におけるアサリ出現密度は造成した翌年、2013年2月に263個体/m²を観測した後、2013年9月に37個体/m²まで減少した。2014年1月には若干増えたものの、70個体/m²と前年同時期の1/3以下に留まった。その後、徐々に増加し、2015年1月には144個体/m²となった。一方、周辺ではアサリは2013年2月に7個体/m²確認されたものの、それ以降の調査では採集されなかった。

2014年1月のアサリ出現密度が前年同時期と比べて大幅に低いのは、殻長5mm未満のアサリの加入が少なかったからである。大村湾ではアサリの産卵盛期は主に夏期であるが、2013年は7月中旬から8月にかけての生息場の水温はアサリの成長可能水温を超える30℃以上を記録したとともに、斃死する個体が観察され始める35℃以上にしばしば達した。加えて、魚介類に有害な植物プランクトンであるカレニア・ミキモトイの赤潮が観察されたことから、2013年9月から2014年9月におけるアサリ出現密度の減少は、これらの要因によって大村湾内のアサリ産卵個体群が疲弊したとともに、アサリ稚貝の生残が悪かったことによると考えられる。2015年1月のアサリ出現密度は増加したものの、2013年2月の出現密度と比較して半分程度であることから、湾内の産卵個体群は十分に回復していない可能性がある。引き続き、アサリ出現密度をモニタリングする必要がある。

■ 学会発表 19

大気環境学会九州支部第16回研究発表会 2016年1月29日 アクロス福岡

2015年1月に北部九州域で観測された2回の高濃度PM2.5 エピソードのモデル解析

○板橋秀一 1), 鶴野伊津志 2), 長田和雄 3), 上口友輔 3), 山本重一 4), 田村圭 5)

1) 電力中央研究所, 2) 九州大学応用力学研究所, 3) 名古屋大学,
4) 福岡県保健環境研究所, 5) 長崎県環境保健研究センター

【はじめに】

2015年1月に北部九州域ではPM2.5が高濃度となるエピソードが2回生じた。本研究ではこの期間について、北部九州域における包括的な観測網により領域化学輸送モデルの再現性を評価し、モデルと後方流跡線解析とを統合的に解析したことで高濃度事例の特徴をそれぞれ明らかとした。

【観測とモデルの概要】

九州大学と福岡県保健環境研究所では、Aerosol Chemical Speciation Analyzer (ACSA; Kimoto et al., 2013)により、福岡県の都市部から約10km程度離れた太宰府市内の施設屋上(地上から16.4m)において、硫酸塩(SO₄²⁻)や硝酸塩(NO₃⁻)などを微小粒子と粗大粒子の2粒径について高時間分解能(本研究では1時間と設定)で観測を行っている。また、九州大学と名古屋大学では、アンモニア計(Osada et al., 2011)によるガス態および粒子態アンモニア(NH₄⁺)の観測を九州大学筑紫キャンパス内で行っている。これらに加え、1月7日から18日には、フィルターパック・デニューダ法による6時間毎のサンプリングを九州大学筑紫キャンパスにて行った。以上に述べた福岡県における観測結果に加えて、風上側での比較として、長崎県環境保健研究センターによる国設対馬酸性雨局と五島局のPM-712のテープフィルター捕集の微小粒子と粗大粒子の粒子成分のイオンクロマトによる組成分析も合わせて行った。領域化学輸送モデルにはCMAQを適用し、気象データは気象モデルWRF,

排出量データは REAS version 2.1 などを用いた。東アジア全域をカバーした計算領域は水平解像度は 81 km であり、これに中国東部から日本域を 27 km でカバーしたネスト計算領域を設定した。解析対象としたのは 2015 年 1 月であるが、REAS は 2008 年まで利用可能であり、ここでは暫定的に 2008 年の排出量データを用いた計算を行った。

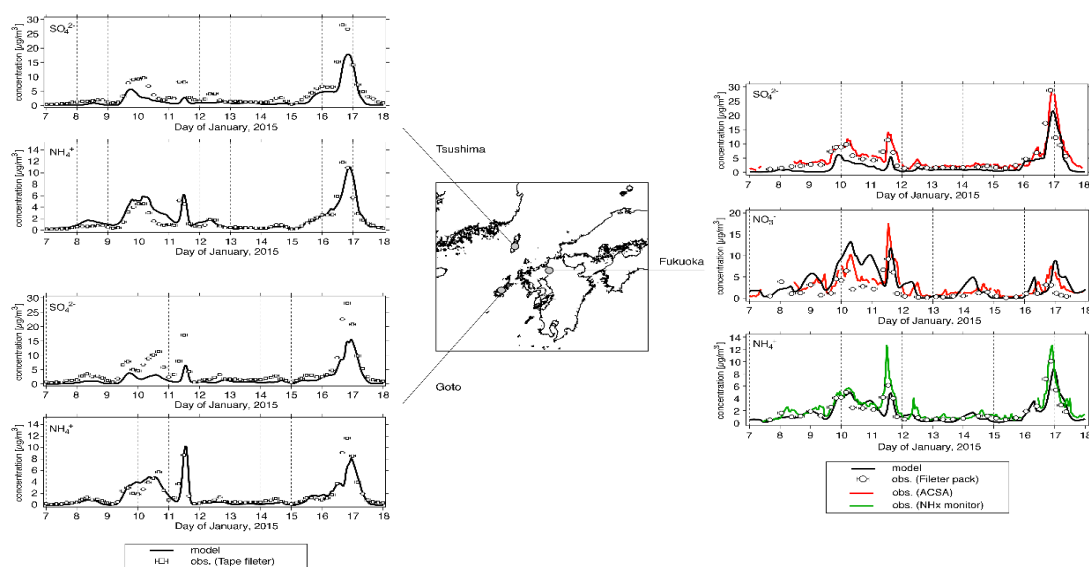


Fig. 1. Temporal variation of SO_4^{2-} , NO_3^- , and NH_4^+ in $\text{PM}_{2.5}$ during January 2015 at Fukuoka, Tsushima, and Goto. Black thick lines indicate model simulation and other symbols denote observations.

■ 学会発表 20

第 89 回日本細菌学会総会 2016 年 3 月 23 日～25 日 大阪国際交流センター

国内における腸管出血性大腸菌 O146 の発生動向について

石原朋子¹⁾、伊豫田淳¹⁾、寺嶋淳²⁾、泉谷秀昌¹⁾、大西真¹⁾、EHECWorking group³⁾

1) 感染研・細菌第一, 2) 国衛研・衛生微生物, 3) 地衛研等,

1999 年以降、国内で報告される腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic E.coli : EHEC)の感染者数は毎年 3,000 例(無症状保菌者を含む)を超える。分離された EHEC の O 群は例年 O157 が最も多いが、近年 non-O157 の分離株数が増加している。さらに、同一感染源による感染事例が広域で散発的に発生する事例が増加傾向にあり、それらの動向には注意が必要である。EHEC の国内サーベイランスにおいて、2013 年以降 EHEC O146 分離株数の増加が認められる。

本研究では、国内における流行株の把握、広域・散発的発生事例の探知、およびこれらの原因究明や今後の発生予防・対策に寄与するため、分子疫学解析により EHEC O146 の発生動向を調べた。2007 年以降に地方衛生研究所等から感染研・細菌第一部に送付されたヒト由来の EHEC O146 分離株 68 株(2016 年 3 月 10 日現在)について、PFGE(pulsed-field gel electrophoresis)による分子疫学解析を実施した。PFGE 解析の結果、同一 PFGE 型(type number: TN)146k1 株が広域で検出されていることが明らかとなった。TN146k1 株は 2013 年に初めて 2 株(1 県)が検出され、2014 年には 4 県(12 株)、2015 年には 1 道 3 県(6 株)において検出された。いずれも散発事例由来株(家族内事例株を含む)であったが、2014 年以降の EHEC O146 分離株の半数以上を占め、PFGE 解析結果から近縁と推測される EHEC O146 が近年広域で流行していることが示唆された。