

## IV 研究発表

## 1. 他誌発表(抄録)

**パルスフィールド電気泳動による病原細菌の分子型別の標準化に関する研究** 水口康雄, 小岩井健司:平成12年度厚生科学研究費補助金(健康科学総合研究事業:科学的根拠及び情報を提供する地研の検査機能の強化に関する研究 研究班)

食品媒介性感染症の原因微生物10菌種について、パルスフィールド電気泳動による分子型別を行う際の standard protocol を決定した。この方法を用いることによりコンピューターネットワークを用いてのパターンの比較が可能になる。この方法を標準法として全国の地方衛生研究所に提供する予定である。

**結核菌の臨床分離株を用いたRFLP分析に関する研究**

水口康雄, 岸田一則:平成12年度厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業:薬剤耐性結核のサーベイランス, 耐性の分子機構, および多剤耐性結核の治療に関する研究 研究班)

千葉県下において発生した結核の集団発生事例を対象に、結核菌のRFLP分析, 薬剤耐性パターンなどの解析を行い、その因果関係について考察を行った。

**結核, 世界で最も重要な感染症(その1)**

水口康雄: J. Biomed. Sci Assoc. 12(2):6-8, 2000

**結核, 世界で最も重要な感染症(その2)**

水口康雄: J. Biomed. Sci Assoc. 12(3):2-5, 2000

**結核, 世界で最も重要な感染症(その3)**

水口康雄: J. Biomed. Sci Assoc. 12(4):2-5, 2001

結核病の歴史, 結核菌の研究の歴史, 世界における結核の現状, 我が国における結核の現状とその特徴, さらに進歩の著しい結核菌の分子遺伝学的研究の進歩とその応用, 等についての解説をシリーズで行ったものである。(その4)に関しては平成13年度に発行予定。

**結核—分子遺伝学からのアプローチ** 長谷川好規, 阿部千代治, 飯沼由嗣, 鈴木定彦, 高橋光良, 水口康雄:結核, 75:

725-728, 2000

第75回日本結核病学会のシンポジウムにおいて発表したものをまとめたものである。

**千葉県でのインフルエンザの流行状況** 市村 博:千

葉県医師会雑誌53-2, 239-241,2001

1987年以降の千葉県内で発生したインフルエンザの流行状況を、千葉県結核・感染症発生動向調査資料をもとに、患者の発生状況, 流行要因となったウイルスの分離の実態, 疫学的エピソード, トピックを加え報告した。かつての流行は小学校がウイルス増幅の場であること, 当時の国鉄(現JR)沿線に沿って東京から流行が波及してくること, 成田空港開港以来その年の初発が成田から始まったこと, また近年の高齢者感染による超過死亡率の問題, 高齢者への予防接種問題, 小児の脳炎・脳症。新型ウイルスの出現の可能性, 待望久しい生ワクチン, 経鼻投与型ワクチンの開発, 家庭医との連携システム等予防対策をも含め報告した。

**超過死亡を指標としたインフルエンザ予防対策** 三瓶憲

一, 小倉誠, 石井俊靖, 市村博, 水口康雄:千葉県医師会雑誌, 第52巻, 第12号, 100-105, (2000)

千葉県における超過死亡の実態を分析し, 県民に対する効果的なインフルエンザ予防対策について検討した。その結果, 本県におけるインフルエンザ対策の重要課題は高齢者対策であることから, より多くの高齢者に対する予防接種の重要性を報告した。

**アルキルフェノール類の分析方法の検討結果 — 固相抽出-GC/MS法による検討結果 —**

平成11年度通商産業省工業技術院委託 用水・排水中の微量有機化学物質の試験法に関する調査研究成果報告書, 中西成子, 日野隆信:頁11-28, 日本工業用水協会, 2000

水中の内分泌攪乱化学物質関連のフェノール類17物質を保持容器がガラス製の固相抽出カラムで1,000倍濃縮し, GC/MS(SIM)により分離測定を行い, 内標準添加法により目的成分の濃度を算出する一斉分析法を検討した。検討した分析法を用いて, JIS用水・排水中のアルキルフェノール類試験方法の原案作成のための共同実験に参加し, 実験結果を報告した。

**蛍光偏光度測定法による内分泌攪乱化学物質の迅速スクリーニング** 福嶋得忍:ぶんせき, 304, 226-227 (2000)

蛍光偏光度測定法について, ホルモン受容体に結合する化学物質のマススクリーニングに適した測定法であり, 内分泌攪乱作用が疑われている化学物質の迅速スクリーニング法として有用であることを紹介した。

**Sensitive method for the determination of bisphenol A in serum using two systems of high-performance liquid chromatography.** J.Sajiki, K.Takahashi, J.Yonekubo<sup>1)</sup>: J.Chromatogr.B, 736:255-261 (1999)

電気検出器(ECD)付きHPLC (HPLC-ECD)ならびに, LC/MSによる血清中のBPA 測定法を検討した。HPLC-ECD, LC/MSによる検出限界はそれぞれ0.2ng/ml (CV=2.9, S/N=3.0 (n=5)), 0.1ng/ml (CV=7.0, S/N=3.1 (n=5))であった。なお, 10ng/mlのBPAが血清に添加された場合の回収率は93%以上であった。BPA濃度は, 成人男血清0.59±0.21ng/ml (0.38-1.0ppb, n=9), 成人女血清0.33±0.51ng/ml (0-1.6ppb, n=12), 羊血漿 ND(n=3), 豚血清0.86±1.1ng/ml (0-3.0ppb, n=6)であった。一方, 市販のプラスチック容器に保存された胎児牛血清は, 24-236ng/ml(n=4)と高値を示した。

1) 日本ウオーターズKK

**千葉県における小児慢性特定疾患治療研究費の受給者数ならびに先天性代謝異常患児数の年度変化** 佐二木順

子, 高橋勝弘, 笹山篤子<sup>1)</sup>:公衆衛生, 64:518-521 (2000)

千葉県における小児慢性特定疾患の研究事業受給者数, 先天性代謝異常等患児数について年度変化を調べた。慢性心疾患, ぜん息, 内分泌疾患の受給者数は1987年度以降増加を続け, 1997年度の千葉県における数は1987年度のそれぞれ2.6, 3.2, 2.3倍となった。最も受給者数が多いぜん息の受給者のうち, 1か月以上の入院を

要する者に1987年度以降1997年度まで変化はみられないが、1ヶ月未満の入院ならびに通院は漸次増加した。成長ホルモン（GH）分泌不全性低身長症（GHD）の内分泌疾患受給者総数に占める割合は、1988年度に約28%であったものが1997年度には約半数にまで上昇した。

1) 野田保健所

**Determination of bisphenol A in blood using high-performance liquid chromatography-electrochemical detector with solid-phase extraction.** J.Sajiki: J.Chromatogr.B, 755:9-15 (2001)

血清中におけるビスフェノールA(BPA)の添加回収率は94%と高いが、溶血液では36-46%と著しく低い。その主な原因は、ヘムと結合することが考えられる。しかし、ヘム結合BPAの70-80%は血清の添加で回収されることが明らかであった。以上の結果は、血液中における正確なBPAの測定は、血清と固形物を分離し、それぞれの画分について別個に行う必要があることを示すものであった。なお、血清中のBPA測定において、血清分離の過程で生じた機械的な溶血の影響はほとんどなかった。

**A decline in bisphenol A recovery in the presence of hematin and an inhibitory effect of serum proteins.**

J.Sajiki, J.Yonekubo: Environ.Science, 8:162 (2001).

酸化型ヘム本体であるヘマチン水溶液にBPAならびにヒト血清を添加し、経時的に回収率を調べたところ、BPAの回収率は濃度依存的に低下し、低下率はメトヘモグロビン(metHb)に比べ大きかった。なお、アルブミン、トランスフェリン、IgGすべてにBPAの回収率低下阻止作用が認められた。血清蛋白質の電気泳動の結果、metHbにBPAとヒト血清を添加したサンプルで、トランスフェリン、アルブミンの減少ならびにグロブリン画分における未知バンドの出現が確認された。以上の結果は、BPAがmetHbのヘマチン部位と結合する可能性を示しており、その結合は血清蛋白質と競合するものと考えられた。生体試料中のBPAの測定にあたっては、ヘム類の存在を十分考慮に入れる必要がある。

1) 日本ウォーターズKK

2. 学会発表（口演、示説等の抄録）

**結核菌におけるゲノム解析とその有用性（シンポジウム「結核—分子遺伝学からのアプローチ」）** 水口康雄：第75回日本結核病学会 2000, 4. 18-19, 大阪市

結核菌のゲノムの全構造の解説がColeらにより行われた。このことが今後の結核菌やその関連の研究にどのような結果をもたらすかについて解説した。特に、結核菌の病原性の解明や抗結核剤の開発に期待がもてることを強調した。

**パラチフスの流行・集団発生事例の分子疫学的解析**

依田清江, 小岩井健司, 水口康雄：第73回日本細菌学会大会, 2000.5.29-31, 札幌市

千葉県におけるパラチフスの患者発生は、1970年から1999年の30年間に62例あった。これらのうち44例は、1993年以後の7年間に発生した一流行例と一集団例、その他の散発例に由来する。こ

れらの分子疫学的解析を行った。

1993年9月から一年間にわたり、ファージ型4の*Salmonella* Paratyphi A(S. Paratyphi A)による患者発生が8例あった。患者はいずれも渡航歴が無く、その居住地は千葉県内のきわめて狭い地域であることから、同一の感染源からの感染が疑われたが特定には至らなかった。

一方、1998年春、千葉県内K料理店利用者の間にパラチフスが発生し、19人からS. Paratyphi A が分離された。分離菌のファージ型、薬剤耐性、患者の渡航歴、発生地域が上記流行例と一致することから2事例の関連が推定された。そこで、これらのS. Paratyphi A のDNAをパルスフィールドゲル電気泳動法により比較した。

制限酵素 *Bln* Iによる切断パターンは、上記流行例および集団例由来の全株で一致し、由来の異なる国内感染例や海外感染例には見られ無い特徴的なパターンであった。また、制限酵素 *Xba* I, *Spe* Iあるいは*Xho* Iによる切断パターンの比較でも同様の結果が得られた。これらのことから、2事例は同一の感染源から伝播したことが強く示唆された。

さらに、散発の国内感染例のうち1996年から1998年に発生した4例が、上記感染源由来であると判定された。これらのことから、千葉県における一連の国内感染例は、少なくとも31人におよぶ集団発生であると考えられる。

近年、日本におけるパラチフスの集団発生は稀であるが、本報は、時により、一保菌者が感染源と考えられる集団発生があることを、分子疫学的方法により明らかにした。

(ファージ型別は、国立感染症研究所に依頼した。)

**結核対策における地方衛生研究所の役割** 水口康雄：衛生微生物協議会第21回研究会 2000, 7. 13-14 郡山市

千葉県衛生研究所における結核の研究、結核菌に関する研修、あるいは結核対策について述べた。特に結核菌のRFLP型別に関する結果について解説し、この方法が集団発生における疫学的な解析に如何に有用であるかについて強調した。

**パルスネット構築に向けて** 小岩井健司, 水口康雄：衛生微生物技術協議会第21回研究会, 2000.7.13-14, 郡山市

様々な食水系統感染事例に対し、従前からの情報に加え菌が持つ遺伝子情報(PFGE解析結果)もネットワーク上で共有化し、dif fuse outbreakの早期発見や感染源等の追求に有効利用しようとするシステム、「パルスネット」の構築が進められている。このシステムを稼働させるために、対象菌株、PFGEの標準化、異なった機種あるいは施設でPFGEを実施した場合の比較、得られた結果が疫学的に重要な情報を提供する事ができるか等々について様々な検討が重ねられている。

①対象菌株について：腸管出血性大腸菌をはじめ、赤痢菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、毒素原性大腸菌、A群レンサ球菌等多くの病原細菌から得られた遺伝子情報は、疫学的な意味を持つ情報を提供できた。しかし、これらをすべてパルスネットの対象菌株とするのは困難で、当面EHECおよび疫学的に意味があると考えられるサルモネラなどを対象菌株としてスタートするのが現実的と思われる。

②異なる機種、施設でPFGEを実施した場合の比較：O157お