

i211e

ISSN 0385-1575

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県衛生研究所報

第 3 6 号

平 成 3 年

Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health

No. 3 6

1 9 9 1

岐阜県衛生研究所

Gifu Prefectural Institute
of Public Health

目 次

<調査研究>

・小児ろ紙尿から分離された <i>Arthrobacter</i> sp. によるバニルマンデル酸、 ホモバニリン酸の分解.....	1
後藤喜一, 今井準三, 所 光男, 長野 功, 伊藤嘉浩	
・岐阜県におけるコクサッキーA群ウイルス分離成績(1973-1990)	7
三輪智恵子, 渡辺 豊, 川本尋義, 野田伸司, 加藤樹夫	

<資料>

・岐阜県における平均余命と社会・経済要因の関連性について.....	13
森 洋隆, 河合 信	
・ビル給水栓水の赤水の実態及び腐食の要因物質.....	19
森 仁, 梶川正勝, 今井準三	
・水道管による残留塩素の消費について.....	23
梶川正勝, 森 仁, 今井準三	
・水田地帯の水道水源井の水質変動.....	27
寺尾 宏	
・麻黄中のエフェドリン, プソイドエフェドリン, ノルエフェドリン, メチルエフェドリン 含量について.....	30
坂井至通, 清水英徳, 孟 正木	
・薬用歯磨中の総フッ素量とフッ素イオン濃度について.....	38
清水英徳, 坂井至通	
・岐阜県における神經芽細胞腫マスクリーニングの結果について (昭和61年度~平成2年度)	44
今井準三, 伊藤嘉浩, 森 洋隆, 後藤喜一, 河合 信	
・薄層デシントメトリーによるテトラミンの定量法.....	50
白木康一, 小林香夫, 棚橋宣康	
<他誌掲載論文>.....	52
<学 会 報 告>.....	58

CONTENTS

<ORIGINAL ARTICLE>

Bacterial Degradation of Vanillylmandelic acid and Homovanillic acid by <i>Arthrobacter</i> sp. Isolated from Contaminated Infant Urine Samples	1
Kiichi GOTO, Junzo IMAI, Mitsuo TOKORO, Isao NAGANO, and Yoshihiro ITO	
Isolation of Group A Coxsakieviruses in Gifu Prefecture from 1973 to 1990	7
Chieko MIWA, Yutaka WATANABE, Hiroyoshi KAWAMOTO, Nobuji NODA, and Mikio KATO	

<REPORT>

A Relationship between Life Expectancy and Socioeconomic Factors in Gifu Prefecture	13
Hirotaka MORI and Makoto KAWAI	
Studies in the Factors Responsible for Occurrence of So-Called Red Water in Building Water Supplies	19
Hitoshi MORI, Masakatsu KAJIKAWA, and Junzo IMAI	
Consumption of Residual Chlorine in Tap Water by Water Pipes	23
Masakatsu KAJIKAWA, Hitoshi MORI, and Junzo IMAI	
Variation in Chemical Composition of the Well Water for Water Supply Use Surrounded by Paddy Field	27
Hiroshi TERAO	
Determination of Ephedrine, Pseudoephedrine, Norephedrine and Methylephedrine in Ephedra Herba	30
Yoshimichi SAKAI, Hidenori SHIMIZU, and Zheng-mu MENG	
Total Fluorine and Fluoride Ion Concentrations in Dentifrices	38
Hidenori SHIMIZU and Yoshimichi SAKAI	
Results of Mass Screening for Infant Neuroblastoma in Gifu Prefecture, 1986~1990	44
Junzo IMAI, Yoshihiro ITO, Hirotaka MORI, Kiichi GOTOH, and Makoto KAWAI	
Determination of Tetramine by Thin Layer Chromatography and Densitometry	50
Koichi SHIRAKI, Yoshio KOBAYASHI, and Nobuyasu TANAHASHI	
<i>Papers and Abstracts in Other Publications</i>	52
<i>Presented Themes at Conferences and Society Meetings</i>	58

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

小児の紙尿から分離された*Arthrobacter* sp.によるバニルマンデル酸、ホモバニリン酸の分解

後藤喜一、今井準三、所光男、
長野功、伊藤嘉浩、

Bacterial Degradation of Vanillylmandelic acid and Homovanillic acid by *Arthrobacter* sp. Isolated from Contaminated Infant Urine Samples.

Kiichi GOTO*, Junzo IMAI*, Mitsuo TOKORO*,
Isao NAGANO* and Yoshihiro ITO*

Summary

Tow strains of *Arthrobacter* sp. were isolated, using nalidixic acid-creatinine medium, from infant urine sample for mass-screenig of neuroblastoma. The strains degraded vanillylmandelic acid (VMA) and homovanillic acid (HVA). We studied the condition of their degradation, and obtained the following results.

- 1) The disapperence of VMA or HVA added to tryptosoy broth was parallel to the bacterial growth, and marked in the logarithmic phase.
- 2) UR-88 strain requiring methionine for growth was well grown on chemical defined medium containing VMA or HVA, and utilized them as carbon and energy source.
- 3) It has been presumed from the result of UV spectral analysis that the degradation of VMA and HVA by the strains involves benzene ring cleavage.

総括

神経芽細胞腫マスクリーニング検査用小児尿からNA-Cre培地を用いて分離された分離株のうち、VMAおよびHVA分解能を有するとみられた2菌株を用い、VMAまたはHVAの分解条件を検討し、次のような結果を得た。

1. トリプトソイブイヨンに添加されたVMA、およびHVAの消長を観察した結果、その消失は菌発育とパラレルであり、特に、対数増殖期にVMA、HVA消失量が高かった。
2. メチオニン要求株UR-88はVMAまたはHVA加合成培地で良好に発育し、VMAまたはHVAを分解して炭素+エネルギー源として利用した。
3. UVスペクトル測定結果から、供試株によるVMAまたはHVA分解はベンゼン環開裂を伴っていると推定された。

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

はじめに

小児の神経芽細胞腫マススクリーニング検査(NB検査)¹⁾において、検査材料となる小児尿²⁾の常温郵送による細菌汚染の検査精度におよぼす影響が懸念された。細菌汚染は測定項目となっているバニルマンデル酸(VMA)、ホモバニリン酸(HVA)、クレアチニン(Cre)に影響のあることを水田ら³⁾今井ら⁴⁾により報告された。さらに、著者ら⁵⁾はNA-Cre培地を用いて、Cre分解菌(Cre菌)検索を行い、Cre異常低値現象は細菌汚染に起因することを明らかにした。また、分離されたCre菌のうち、一部の分離株はVMAまたはHVA分解能⁶⁾のあることを明らかにし、特に、HVAが唯一の炭素源(C源)として利用されることを報告した。

本報はVMAおよびHVAの異常低値出現の要因が細菌汚染と推定されたので、Cre菌分離株の中から選択したVMA、HVA分解性菌を用い、VMA、HVA分解に関与すると考えられる培養温度、時間、培養基成分等を検討したものである。

材料および方法

(1)供試株：Cre菌分離株500株の中から、VMA、およびHVA分解能予備試験で、VMAまたはHVA分解性菌と推定された分離株UR-88およびUR-106を用いた。アミノ酸要求試験の対照株として*Arthrobacter aurescens* IAM 12340を用いた。

(2)試薬類：基質として用いたDL-VMA、HVAはSigma社、アミノ酸は味の素KK、その他の試薬は和光純薬工業社製の試薬特級品を用いた。

(3)温度勾配培養試験：市販トリプトソイ(TS)ブイヨン培地を2分の1濃度になるように調整し、これにVMA、HVA、各々500mg/l、Cre 5g/l添加し、L字培養管(18×180mm)に分注し、滅菌した。供試株はTS寒天培地で30℃24時間培養し、滅菌生理食塩水で洗浄後、滅菌生理食塩水に再浮遊した。この菌液を適宜希釈して生菌数約10⁴CFU/mlになるように接種した。これを温度勾配培養器(Model TM-3、東洋科学)にセットした。細菌の発育状況は波長650nmでの濁度(OD₆₅₀)測定および肉眼的観察によった。生菌数は標準寒天培養法で計測した。

(4)アミノ酸要求試験：シモンズ・クエン酸塩培地

(寒天を除く)にブドウ糖200mg/l、ビタミンB120mg/l、ビオチン10mg/lを加えたものを基礎培地とした。この基礎培地にカザミノ酸2g/lまたは各種アミノ酸40mg/lを加えた。菌接種は(3)に準じ、培養は30℃、72~96時間培養で菌発育の有無を肉眼的観察により判定した。

(5)合成功地におけるVMAおよびHVAの分解試験：UR-88によるVMAまたはHVAの分解試験にはアミノ酸要求試験用基礎培地からクエン酸ナトリウムおよびブドウ糖を削除し、L-メチオニン40mg/l、VMAまたはHVAを500mg/lを添加した培地を用いた。この培地にブドウ糖200mg/lを添加して、UR-106によるVMA、HVAの分解試験に供した。菌発育、培養時間とVMA、HVAの消長を観察した。培養法および菌数測定は(3)に準じた。

(6)基質の分析：基質分析試料は培養液を4,000 rpm、30分間遠心分離し、上澄液をメンブランフィルターで濾過したものを用いた。上澄液のVMA、HVA、およびCreは既報⁷⁾に準じて分析するとともに、UVスペクトルも測定した。遠心分離で得られた菌体は超音波処理後にVMA、HVAの測定に供した。

実験結果

温度勾配培養装置で48時間培養した時の菌発育と基質消失量との関係は図1a、bに示した通りである。

図1aに示したように供試株UR-88の発育許容温度は14~39℃を示した。なお、肉眼的観察で菌発育を認めなかった42.5℃における培養試料の後培養では菌発育を認めず、接種菌は生残していないかった。Cre、VMA、HVAの消失量は細菌発育とほぼパラレルであった。HVAは20~39℃、VMAは23~37℃の温度領域の培養上澄液から消失した。

供試株UR-106の発育許容温度域は13~39℃を示した。Cre、HVAの消失量は細菌発育と平行関係を示した。HVAは肉眼的観察で、良好な発育を示した25~39℃のうち、25~31℃培養上澄液から完全に消失した。一方、VMAは消失量と菌発育とパラレルであるように観察されるが、消失量が少ないので明確ではない。培地のpHは菌発育により、6.8から8.5まで上昇した。

温度勾配培養で、両供試株間に発育温度、Cre、

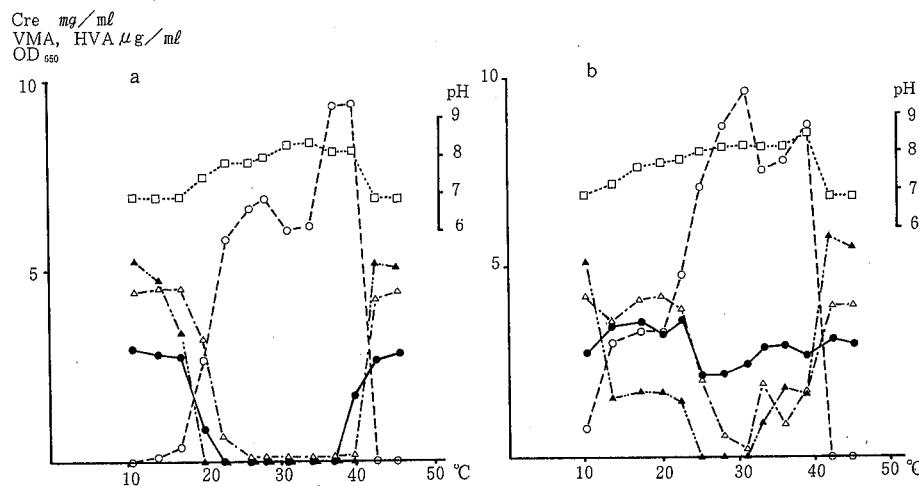


図1 培養温度とCre, VMAおよびHVA消失 (a : UR-88, b : UR106)
 □ pH ○ OD₆₅₀ △ Cre ▲ HVA ● VMA

HVAの消失量には差異が認められなかった。しかし、VMA消失量はUR-106に比較してUR-88は極めて高い値を示した。

次に、培養温度30°Cにおける培養時間と基質消失量との関係を検討した。図2に示したように、両供試株とも対数増殖期にVMA, HVAの急激な消失が観察され、培養24時間後の定常期には、緩やかなVMA, HVA消失が観察された。なお、菌体中にはVMA, HVAは検出されなかった。

UR-106はVMA, HVAのうち、HVAをC源⁵⁾として利用、発育した。一方、UR-88はTSブイヨンに添加されたVMA, HVAを消失させたが、C源とはならなかった。UR-88はクリステンセン・クエン酸塩培地に発育し、この培地成分の酵母エキスをカザミノ酸で置換し得た。このことから、UR-88はアミノ酸要求株ではないかと推定し、アミノ酸要求試験を行なった。

表1にUR-88のアミノ酸要求性を検討した結果を示した。アミノ酸I～VI群について検討した結果、アミノ酸I群に良好な発育を示した。アミノ酸I群について検討した結果、UR-88はメチオニン要求性を示した。なお、メチオニンのD, L体の両者ともUR-88の発育を支持した。

UR-88はメチオニン要求株であることが確定したので、VMAまたはHVAを添加した合成培地で、

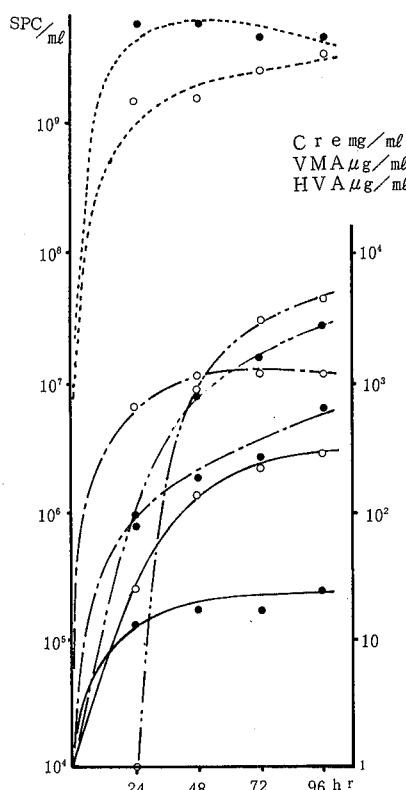


図2 細菌増殖曲線とCre, VMAおよびHVA消失
 ○ UR-88 ● UR106
 - - - spc — Cre
 — VMA — HVA

表1 UR-88のアミノ酸要求

培地または基質	UR-88
シモンズ・クエン酸塩培地	- ^{1*}
クリステンセン・クエン酸塩培地	+++ ^{2*}
カザミノ酸	+++
I リジン ^{3*} , アルギニン, メチオニン	+++
II ロイシン, イソロイシン, バリン	-
III フェニルアラニン, チロシン, トリプトファン	-
IV ヒスチジン, スレオニン, グルタミ ン酸, プロリン, アスパラギン酸	-
V アラニン, グリシン, セリン, ヒド ロキシプロリン	-
VI オルニチン, チトルリン	-
リジン	-
アルギニン	-
L-メチオニン	+++
D-メチオニン	+++
シスチン	-

1* - : 発育せず。

2* + : 良好発育。

3* 表示のないアミノ酸はL体。

VMAおよびHVA分解能を検討した。その結果を表2に示した。

VMA加合成培地におけるUR-88の発育は培養開始時の生菌数 1.5×10^4 CFU/ml, 24時間培養で 1.1×10^6 CFU/ml, 72時間培養で 2.5×10^8 CFU/ml, 120時間培養 2.7×10^8 CFU/mlとなり、緩やかな増殖を示した。一方、HVA加合成培地における細菌増殖は24時間培養 1.6×10^7 CFU/ml, 72時間培養 3.0×10^8 CFU/mlに達した。UR-88のVMA, HVA分解は菌増殖に平行しており、基質分析結果から、その分解量は添加VMA量の20%, 添加HVA量の100%を示した。なお、UR-88のVMA, HVAを含まない対照培地における細菌増殖は肉眼的観察で認められなかつたが、120時間培養の生菌数は 1.2×10^6 CFU/mlであった。

UR-106によって、VMAはC+E源として利用されるかどうかを検討した結果を表3に示した。

UR-106のVMA加合成培地における細菌増殖は24時間培養生菌数 6.0×10^7 CFU/ml, 96時間培養

表2 合成培地におけるVMA, HVAの分離株UR-88による分解

培養時間	VMA		HVA		対照*
	生菌数 CFU/ml	残存率 %	生菌数 CFU/ml	残存率 %	
0	1.5×10^4	100	1.5×10^4	100	
12	2.0×10^4	97.8	2.5×10^6	99.7	NG
24	1.1×10^5	104	1.6×10^7	92.0	NG
48	1.7×10^7	103	7.5×10^8	32.1	NG
72	2.5×10^8	84.8	3.0×10^8	0	NG
96	1.5×10^8	90.4	3.2×10^8	0	1.5×10^6 **
120	2.7×10^8	80.8	2.0×10^9	0	1.2×10^6 **

*: 基質のVMAまたはHVAを削除。

**: 菌発育を認めないが生菌数を測定

NG: 菌発育を認めない。

表3 合成培地におけるVMA, HVAの分離株UR-106による分解

培養時間	VMA		HVA		対照*
	生菌数	残存率	生菌数	残存率	
30°C					
0	4.4×10^6	100	4.0×10^6	100	4.4×10^6
12	2.5×10^6	96.7	5.5×10^7	89.6	2.8×10^6
24	6.0×10^7	95.5	1.7×10^8	9.2	9.0×10^7
48	1.7×10^8	86.2	3.0×10^8	0	1.5×10^8
72	1.5×10^8	101	1.3×10^9	0	1.1×10^8
96	1.1×10^8	91.6	5.0×10^8	0	1.8×10^8

*: 基質のVMA, HVAを削除。

で 1.1×10^8 CFU/ml となっている。これに対してVMA無添加の対照培地の生菌数は96時間培養で 1.8×10^8 CFU/mlに達した。

一方、HVA加合成培地では72時間培養生菌数 1.3×10^9 CFU/mlに達した。基質分析結果から、VMAはほとんど消失されないが、HVAは添加HVA量の100%消失していた。なお、UR-88, 106の菌体中にVMA, HVAの蓄積は認められなかった。

UR-88のVMAおよびHVA加合成培地における培養上澄液と未接種培地とを比較したUVスペクトルを図3および図4に示した。

VMAでは未接種培地の波長278nmでの吸光度 (A_{278}) に対して培養上澄液の A_{278} は培養時間の経過とともに低下した。HVAでは72時間培養上澄液の A_{278} は消失し、HPLC法による定量値とも一致した。

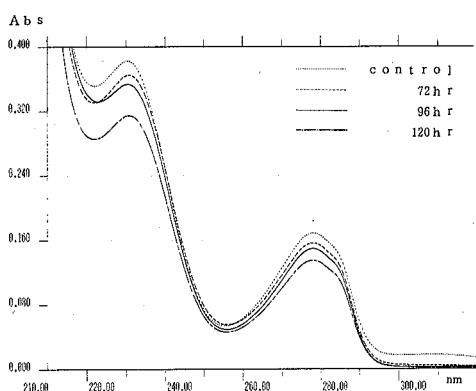


図3 VMA加合成培地培養上澄液のUVスペクトル(UR-88)

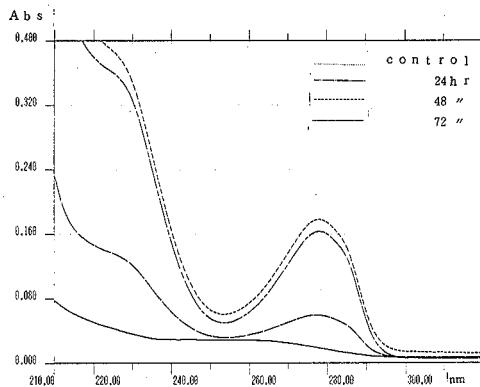


図4 HVA加合成培地培養上澄液のUVスペクトル(UR-88)

考 察

NB検査における小児尿の取り扱いで、保護者による無菌的配慮なしの採取および常温郵送は細菌汚染を引き起こす条件を満足しているものと推定される。

C_{re}の異常低値の主要原因はC_{re}菌汚染⁵⁾であることを報告した。小児尿中のC_{re}の細菌分解は検体をアルカリ化させ、他の測定項目に悪影響をおよぼす原因となる。2供試株の温度勾配培養で、その発育温度は13~39°Cと幅広くなっていることが確認された。このことは検体郵送における所用時間、外気温から考えて、通年にわたって検体取り扱いに注意が必要である。ちなみに、月別C_{re}菌検出率は年間を通じて大きく変化しなかった。

供試株のUR-88はC_{re}を分解するのみならず、VMA、HVAをも分解した。即ち、TSブイヨンに添加されたVMA、HVAを消失させた(図1)。この消失が細菌分解によるものかどうかを確認するため最小培地を案出し、検討した(表2)。VMA加合成培地において、UR-88の発育菌量は10⁸CFU/mlレベルに達し、VMAを消失させた。また、培養上澄液のUV測定で、A₂₇₈低下はベンゼン環の開裂が示唆された。遠心分離菌体中にVMAは蓄積されていなかった。以上の事実から、VMAはUR-88により分解されるものと結論された。

UR-106によるVMA分解はVMA加TSブイヨン培養で少量のVMA消失を認めたものの、VMA加合成培地では、VMA消失が観察されなかった。VMA加合成培地におけるUR-106の発育はVMAを含まない対照培地の発育菌量から考えて、VMAの利用によるものではなく、培地中に少量添加されているブドウ糖の利用によるものと推定された(表3)。これら事実から、VMAはUR-106により分解されないと結論された。なお、少量のブドウ糖添加は細菌による有機酸利用の起爆剤の役割を果たすことが知られているが、UR-106によるVMAの利用には無効であると推定された。

HVAは供試株2株により分解されるが、UR-106はC源として利用することを報告⁵⁾しているが、UR-88はHVAを炭素+エネルギー源として利用し、発育するものと推定した。HVAはVMAに比較して、利用されやすい有機酸であると考えられ、その発育支持能力はクエン酸と同等であると推定された。

HVA加合成培地において、菌発育とともに上澄液のA₂₇₈低下が観察され、HPLC法による定量値とも一致することから、ベンゼン環開裂が示唆された。VMAについてもほぼ同様であった。従って、VMA、HVAの細菌分解はベンゼン環開裂を伴うものと推定された。

NB検査用小児尿のVMA、HVAの異常低値出現の要因は細菌汚染と推定された。しかし、大平ら⁶⁾はVMA、HVA溶液の安定性を検討し、強アルカリ、紫外線照射等により分解されることを報告した。C_{re}分解による尿アルカリ化もNB検査精度向上の障害となろう。小児ろ紙尿からのC_{re}菌検索でArthro-

*bacter*と推定された分離株約500株のうち、18株がL-メチオニン要求株で、そのうちの1株がUR-88であった。Owens,J.D.ら⁹⁾はL-メチオニン要求株は牧草からの分離株に多いことを報告している。UR-88のような生物学的性状を有する細菌の検出頻度は低いように思われる。UR-88の分離された汚染小児尿の汚染源は明確ではないが、家庭ダストに関連するのではないかと推定された。また、*Arthrobacter*と推定した分離株のなかにUR-106と同様、HVA分解能を有する分離株は十数株存在した。

NB検査精度向上には、小児尿採取時の細菌汚染防止とともに検体容器、検体郵送等の物理的条件の改善も必要であろう。

文 献

- 1) 厚生省児童家庭局長：神経細胞腫の実施について、児発第573号、1984、7、10。
- 2) 中田利一、石井譲治、児玉京子、三谷一憲、土平一義、山中克巳、磯村修三、角岡秀彦、加藤敬純、長繩信幸、正岡昭、加藤浩：DIP法を利用した乳児期における神経芽細胞腫のVMA (Vanillylmandelic acid) の検査、日本公衛誌、30、227～233、1983。
- 3) 水田満里、海佐裕幸：神経芽細胞腫のマス・スクリーニングについて、日本公衛誌、35、179～183、1988
- 4) 今井準三、田中久子、後藤喜一、坂井至通、森下有輝、河合信：神経芽細胞腫マススクリーニングにおけるろ紙尿のクレアチニン異常低下の解析、日本公衛誌、35、521～525、1988。
- 5) 後藤喜一、田中久子、今井準三、河合信：神経芽細胞腫マススクリーニングにおけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究（第一報）クレアチニン分解菌の分離とその汚染状況について、日本公衛誌、36、645～651、1989。
- 6) 後藤喜一、今井準三、岩田久子、河合信：小児ろ紙尿検体汚染クレアチニン分解性 *Arthrobacter* 菌のVMA、HVAおよび関連芳香族化合物の分解能、防菌防黴、19、459～462、1991。
- 7) 今井準三、田中久子：神経芽細胞腫マススクリーニングの精度向上に関する検討（第二報）高速液体クロマトグラフ法による尿中VMA、HVA定量法の検討、岐衛研所報、32、30～33、1987。
- 8) 大平恵美子、岩田久子、今井準三、後藤喜一、河合信：神経芽細胞腫マススクリーニングの精度向上に関する研究－VMA、HVA溶液の安定性－、岐衛研所報、34、27～30、1989。
- 9) Owens,J.D.& Keddie,R.M.:The Nitrogen Nutrition of Soil and Herbage Coryneform Bacteria.J. Appl. Bact.32, 338～347, 1969.

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県におけるコクサッキーA群ウイルス 分離成績（1973～1990）

三輪 智恵子*, 渡辺 豊, 川本 審義;
野田伸司*, 加藤樹夫**

Isolation of Group A Coxsackieviruses in Gifu Prefecture from 1973 to 1990.

Chieko MIWA, Yutaka WATANABE, Hiroyoshi KAWAMOTO,
Nobuji NODA and Mikio KATO.

Summary

Three hundred and seventy-nine strains of group A coxsackieviruses were isolated from 262 children and 11 adults for 18 years from 1973 to 1990.

1. Nine serotypes of group A coxsackieviruses were isolated from the patients with various illness.
2. Six serotypes except for type 4, 10 and 16 were isolated from the children under 6 years old.
3. Group A coxsackieviruses were isolated mainly from the patients with hand foot and mouth disease, and herpangina.
4. Coxsackievirus group A type 4 and type 16 were isolated from vesicular fluid of patients with hand foot and mouth disease.
5. Group A coxsackieviruses of type 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 and 16 were isolated from the patients with herpangina, and main serotypes of them isolated from the patients were type 10 (38.4%) and type 4(28.8%).

総括

1973～1990年の18年間に273人より379株のコクサッキーA群ウイルスを分離した。

- 1) 分離されたCox.A群ウイルスは、2～6, 8～10と 16の 9 血清型であった。
- 2) Cox.A-4, 10及び16以外の 6 血清型は、6 才以下の小児より分離された。
- 3) Cox.A群ウイルスは、手足口病 (52.0%) とヘルパンギーナ (26.7%) 患者から多く分離された。

* 岐阜県衛生研究所、岐阜市野一色4丁目6番3号

Gifu Prefectural Institute of Public Health:6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan.

** 岐阜県衛生環境部保健予防課、岐阜市藪田1-1

Health Service Division of Gifu Prefecture:1-1, Yabuta, Gifu 500, Japan.

- 4) Cox.A群ウイルスで手足口病の病原ウイルスと確定されたのは、Cox.A-4とCox.A-16であった。
 5) ヘルパンギーナの病原ウイルスとしては、Cox.A-2～A-6, A-8, A-10及びA-16が考えられるが、
 多数分離されたのは、Cox.A-10 (38.4%) とCox.A-4 (28.8%) であった。

はじめに

コクサッキーA群ウイルス (Cox.A) の血清型は、現在1～24型まで知られている。日常的に分離される血清型では、9型と16型を除いては、乳のみマウスによってのみウイルスの分離が可能であった¹⁾。ところが、最近Cox.Aの標準株は、RD細胞²⁾やMK細胞³⁾でも継代することによって、高い感染価が得られることが報告された。そこで、著者等は1985年よりRD細胞をウイルス分離に使用し、5年間にわたって臨床材料を検査した結果を報告した⁴⁾。またCox.Aに関連した流行が認められた時には、その度ごとに流行像を報告してきたが^{5), 6)}、今回1973年～1990年の18年間のウイルス感染症の長期観察で分離されたコクサッキーA群ウイルスの分離状況及び疾病との関連性について検討したので報告する。

材料と方法

1. 被検査材料：1973年～1980年の8年間は、ウイルス定点観測事業として453人、1981年～1983年は感染症サーベイランス事業の検査定点と調査研究の対象者1107人、1984年～1990年は、感染症サーベイランス事業と行政検査の患者1329人の合計2889人を検査対象とした。検査材料は、岐阜県内における医療機関の患者（主として小児科）または健康者（保育園児）の咽頭ぬぐい液、水疱内容液、膿液、糞便等4588検体であった。

2. ウィルス分離方法：表1に示したように事業と実

施年次によって分離方法は異なっていた。分離方法の詳細は、前報^{7), 8)}と同じである。

3. 分離ウイルスの同定：マウスで分離されたウイルス材料は、1973年～1983年はマウスを用いた中和法で同定した⁹⁾。1984年以降は国立予防衛生研究所腸内ウイルス部萩原昭夫博士より分与されたコクサッキーA群ウイルス同定用補体結合試験用抗血清を使用し、常法通り行なった⁹⁾。細胞から分離されたウイルス材料は組織培養を用いた中和法で同定した。

成績

1. Cox.A群ウイルス分離患者の年次別発生状況について

1973年から1990年に分離されたCox.A群ウイルスの血清型は、表2に示したようにCox.A-2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, および16の9血清型であった。Cox.A-2は、3年間に13人から分離された。Cox.A-3は、1年間に2人から分離されたに過ぎなかった。Cox.A-4は8年間に34名より、Cox.A-5は5年間に13人より、Cox.A-6は3年間に17人より分離できた。Cox.A-8は、2年間に6人から分離されたに過ぎなかった。Cox.A-9は4年間に16人から、Cox.A-10は5年間に37人より分離された。Cox.A-16は、9年間に132人より分離された。1988年にはCox.A-4とCox.A-16が2人の患者より分離され、1989年にはCox.A-4とCox.A-6が1名より分離された。

表1 年次別・事業別ウイルス分離方法

事業	実施年(西暦)	ウイルス分離方法	
		使用細胞	乳のみマウス
ウイルス定点観測	1973～1977	HeLa, MK&Vero	使用
"	1979～1981	HeLa, CMK ₁ -S ₁ , Vero&LL, MK ₂	非使用
感染症サーベイランス	1981～1983	HeLa&CMK ₁ -S ₁	使用
調査研究	1981～1982	"	非使用
"	1983	"	使用
感染症サーベイランス	1984～1990	HeLa, CMK ₁ -S ₁ &RD-18S	使用

表2 Cox. A群ウイルスの年次別分離状況(1973~1990)

年	CA-2	CA-3	CA-4	CA-5	CA-6	CA-8	CA-9	CA-10	CA-16	CA-4&CA-6	CA-4&CA-16	Total (ウイルス分離数)
1973 (S.48)							3(5)					3(5)
1974 (S.49)				1(1)			3(6)					4(7)
1975 (S.50)				1(2)								36(48)
1976 (S.51)												1(2)
1979 (S.54)												37(60)
1980 (S.55)												8(16)
1981 (S.56)												30(37)
1982 (S.57)												30(47)
1983 (S.58)	9(9)											20(20)
1984 (S.59)				5(6)								8(12)
1985 (S.60)	3(3)	2(2)										13(18)
1986 (S.61)	1(2)			1(1)			3(4)					9(12)
1987 (S.62)				2(2)	6(8)							14(20)
1988 (S.63)				12(14)								25(32)
1989 (H.1)				11(12)	1(1)							21(29)
1990 (H.2)				1(1)			3(3)		10(10)			14(14)
Total	13(14)	2(2)	34(39)	13(19)	17(18)	6(9)	16(25)	37(41)	132(208)	1(2)	2(2)	273(379)

2. Cox.A群ウイルスの分離と患者の年令との関係
表3に示したように、Cox.A群ウイルスが分離された患者の年令は、5才以下が247人(90.5%)であった。Cox.A-2が分離された患者の年令は、5才以下が12人(92.3%)であった。そのうち1名の患者の年令は不祥であった。Cox.A-3が分離された患者の年令は不祥であった。Cox.A-4の分離された患者の年令は、5才以下が29人(88.2%)であったが、11才の1名と33才の成人からも分離された。Cox.A-5,A-8およ

びA-9は、すべて5才以下の小児から分離され、Cox.A-6は、すべて6才以下の小児から分離された。分離されたCox.A-10のうち97.3%は6才以下より分離された。Cox.A-16は、90.2%は5才以下より分離されたが、20才代の男子3名と女子3名からも分離された。Cox.A-4とCox.A-6の混合感染が2才児に、Cox.A-4とCox.A-16の混合感染は5才児と6才児に確認された。

表3 年令別Cox. A群ウイルス分離状況(1973~1990)

年令 (才)	CA-2	CA-3	CA-4	CA-5	CA-6	CA-8	CA-9	CA-10	CA-16	CA-4&CA-6	CA-4&CA-16	Total (%)
0			4	3			1	6	9			23(8.4)
1	1		13	3	3	4	4	13	39			80(29.3)
2	2		6	1	1		1	5	25	1		42(15.4)
3	4		3	3	5	1	2	4	20			42(15.4)
4	3		3	1	1	1	6	6	15			36(13.2)
5	2		1	2	5		2		11	1		24(8.8)
6					2			2		1		7(2.6)
7			1						1			2(0.7)
8			1						1			2(0.7)
9												0(0.0)
10									1			1(0.4)
11~15			1						2			3(1.1)
>20			1					1	6			8(2.9)
=												
不明	1	2										3(1.1)
Total	13	2	34	13	17	6	16	37	132	1	2	273(100.0)

表4 Cox. A群ウイルスと疾病との関係 (1973~1990)

疾病名又は症状	CA-2	CA-3	CA-4	CA-5	CA-6	CA-8	CA-9	CA-10	CA-16	CA-4&CA-6	CA-4&CA-16	Total (%)
ヘルパンギーナ	3	1	21	11	5	2		28	1	1		73(26.7)
夏かぜ	2				5	1	2					10(3.7)
上気道炎			1			1						2(0.7)
異型肺炎									1			1(0.4)
発熱	3											3(1.1)
発疹		1	3			2	3	2				11(4.0)
発熱・発疹							1					1(0.4)
水痘									1			1(0.4)
手足口病			4	2			2	4	128		2	142(52.0)
無菌性髄膜炎			4		1		8	1	1			15(5.5)
その他の										1	1	
中枢神経障害			1									3(1.1)
下痢					1							1(0.4)
健康	4					3						7(2.6)
不明	1					2						3(1.1)
Total	13	2	34	13	17	6	16	37	132	1	2	273(100.0)

3. Cox.A群ウイルスと疾病との関係

表4に示したように、cox.A-2はヘルパンギーナ、夏かぜ、発熱等の患者から分離されたが、健康者からも分離された。Cox.A-3は、ヘルパンギーナと発疹症患者から分離された。Cox.A-4が分離されたうち21人(61.8%)は、ヘルパンギーナであった。その他に、上気道炎、発疹症、手足口病、無菌性髄膜炎(AM)、意識障害等の患者からも分離された。Cox.A-5が分離されたうち11人(84.6%)はヘルパンギーナ患者から分離されたが、手足口病患者からも分離された。Cox.A-6は、ヘルパンギーナ、夏かぜ、AMおよび下痢症の患者から分離されたが、健康者からも分離された。Cox.A-8は、ヘルパンギーナ、夏かぜ、上気道炎、発疹症患者等から分離された。Cox.A-9は、夏かぜ、発疹症、手足口病およびAM患者から分離されたが、分離患者の半数はAM患者であった。Cox.A-10は、ヘルパンギーナ、異型肺炎、発疹症、手足口病、AMおよび死亡者から分離されたが、28名(75.7%)はヘルパンギーナ患者であった。Cox.A-16は、ヘルパンギーナ、水痘、AMおよび麻痺患者からも分離されたが、128名(97.0%)は、手足口病患者であった。Cox.A-4とCox.A-6の混合感染が、ヘルパンギーナ患者1名に認められた。また、Cox.A-4とCox.A-16の混合感染が手足口病患者2名に認められた。

Cox.A群ウイルスで異なった血清型が同一人より分離された症例は表4に示したが、Cox.A群以外のウイルスが同一人に混合感染していた症例は表5に示したように、17症例確認できた。表5の症例2~症例6のように明らかに手足口病の病原ウイルスはCox.A-16でポリオウイルスは生ワクチン由来であろうと推察可能な症例も認められたが、症例10や症例15のようにCox.A-4とAMと病原性を立証することが困難な場合も認められた。

4. Cox.A群ウイルスの材料別分離状況

Cox.A群ウイルスは、咽頭ぬぐい液から165株(43.4%)、発疹水疱液より53株(13.9%)、髄液又は脳材料より6株(1.6%)、糞便より156株(41.1%)が分離された。Cox.A-2は、咽頭ぬぐい液よりも糞便から、より多く分離できた。Cox.A-4は、咽頭ぬぐい液より26株(65%)が分離できた。AM患者の髄液より3株のCox.A-9が分離された。1981年脳幹脳炎と診断され死亡した55才男子の剖検脳材料からCox.A-10が分離された。Cox.A-16は、手足口病患者の水疱内容液より49株(23.6%)が分離出来た。Cox.A-4とCox.A-6の混合感染は、ヘルパンギーナ患者の咽頭ぬぐい液と糞便よりそれぞれ1株ずつ分離できた。Cox.A-4とCox.A-16は、2名のうち1名は手足口病患者の糞便から分離され、他の1名は咽頭ぬぐい液よ

り分離できた。しかし、後者の水疱内容液からはCox. A-4が分離された。一般に Cox. A群ウイルスは、咽頭ぬぐい液や糞便からよく分離されるが、Cox.A-4, A-9およびA-10は髄液又は脳材料からも分離されたし、

Cox.A-4とCox.A-16は水疱内容液からも分離され、これらのウイルス型は患者の病原ウイルスと考えられる。

表5 Cox. A群ウイルスとその他のウイルスの混合感染症例

症例 No.(年令、性)	疾患名 又は症状	検体採取 年月	分離ウイルス型	
			咽頭ぬぐい液	糞便
1. (2才、男)	手足口病	1975-5月	CA-16	CA-16& Ad-2
2. (0才、女)	"	-6月		CA-16& Polio
3. (11か月、男)	"	-7月	CA-16&Polio	CA-16
4. (1才、男)	"	-6月		CA-16&Polio (1&2)
5. (1才、女)	"	-6月		CA-16&Polio-2
6. (1才、女)	"	-7月		CA-16&Polio-3
7. (1才、男)	ヘルパンギーナ	1981-7月		CA-10& CB-2
8. (5才、男)	かぜ	1983-6月		CA-6 & E-30
9. (5才、男)	健康	-7月		CA-6 & E-30
10. (1才、女)	無菌性髄膜炎	1984-8月		CA-4 & CB-5
11. (9か月、男)	"	-8月		CA-10& CB-4
12. (5才、男)	不明熱	1985-9月		CA-2 & E-3
13. (4才、男)	"	-9月		CA-2 & E-3
14. (7才、男)	ヘルパンギーナ	1988-7月	CA-4 & E-18	CA-4 & E-18
15. (4才、男)	無菌性髄膜炎	-7月		CA-4 & EV-71
16. (33才、男)	手足口病	-9月	CA-4 & E-30	
17. (5才、男)	ヘルパンギーナ	1989-6月	CA-4 & E-3	

CA:コクサッキーウィルスA群

Polio:ポリオウイルス

CB: " B群

E:エコーワイルス

Ad:アデノウイルス

EV:エンテロウイルス

表6 検査材料別Cox. A群ウイルスの分離状況

ウイルス	咽頭ぬぐい液	水疱内容液	髄液	糞便	Total
Cox. A-2	2			12	14
Cox. A-3	1			1	2
Cox. A-4	26	4	2	8	40
Cox. A-5	11			8	19
Cox. A-6	5			13	18
Cox. A-8	6			3	9
Cox. A-9	11		3	11	25
Cox. A-10	26		1(脳)	14	41
Cox. A-16	75	49		84	208
CA-4 & CA-6	1			1	2
CA-4 & CA-16	1			1	2
Total	165	53	5 (+1)	156	380

考 察

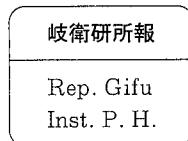
1973年から1990年の18年間に著者らが検査した被検者数2889人のうちCox.A群ウイルス分離者は273人(9.4%)であった。検査検体(4588)のうちCox.A群ウイルス分離株は、379株(8.3%)であった。Cox.Aの血清型は1~24型まであるが、通常分離される型は、2~6、8~10と16の9血清型である^{10), 11)}。中村等はCox.A-7の分離を報告している¹⁰⁾が、分離率は585株のうち1株のみと他の血清型比して極めて低率であった。著者等は、Cox.A-7を分離することは出来なかった。表2から明らかなように、CoxA-16の分離患者数は132名とCox.A分離全患者数273名の5.4%であった。132名のうち128名が手足口病患者からの分離であったので、著者等が以前、手足口病を調査研究のテーマとしていたことと関連していると考えられる。中村等の1973~1980年の分離成績と比較すると、Cox.A-16の分離数は585名のうち111名(19.0%)で、著者等の成績は際だった偏りが認められる。しかし、1981年は全国的に感染症サーベイランス事業が開始された年で、岐阜県でも偏りが観られなくなった。Cox.Aは、血清型によって分離間隔や流行状況が異なっているようである。比較的よく分離される血清型と稀にしか分離されない血清型がある。前者の血清型はCox.A-4で、後者の血清型はCox.A-3とCox.A-8が考えられる。

Cox.A群ウイルスと疾病との関係を考察すると、ヘルパンギーナ患者から8血清型が分離されたが、最も多かったのはCox.A-10とCox.A-4であった。かぜ症状患者からは、5血清型が分離された。発熱・発疹の症状のある患者からは、6血清型が分離された。手足口病からは、5血清型が分離されたが、水疱内容液から分離されたのは4と16であった。AM患者から分離された血清型は、5血清型であったが、髓液から分離されたのは4と9であった。その他の中枢神経障害患者からの分離血清型は、意識障害患者からCox.A-4、麻痺患者からCox.A-16、脳幹脳炎剖検材料(脳)からCox.A-10が分離された。これらの血清型は、中枢神経障害との関連性が深いと考えられる。下痢症状患者からは、Cox.A-6が分離された。健康者(調査研究対象小児)からは、Cox.A-2とCox.A-6が分離された。健康者の調査研究は、小区域で1年間実施し

たのみであったので、長期間実施すれば種々の血清型が分離されると推察される。

文 献

- 1) 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学各論，丸善，142，1982
- 2) 栄 賢司，石原佑式，森下高行，西尾治，鷲見順子，井上裕正：RD細胞からのクローン株，RD-18 SのコクサッキーA群とエコーウィルスに対する感受性および各種材料からのウイルス分離，感染症誌，59，664~669，1985.
- 3) A.Hagiwara and H.Amano: Replication of Group A Coxsackieviruses in Monkey Kidney Cells, Microbiol.Immunol.29,85-89, 1985.
- 4) 三輪智恵子，渡辺 豊：ウイルス分離状況と分離方法との関連性について，岐衛研所報，35,1-8, 1990.
- 5) 三輪智恵子，野田伸司，松浦章雄，吉沢邦重：昭和50年岐阜県で流行したHand, Foot and Mouth Diseaseのウイルス学的研究，岐衛研所報，23,1-5, 1978.
- 6) 三輪智恵子，川本尋義，加藤樹夫：昭和56年岐阜県におけるヘルパンギーナの流行について，岐衛研所報，28,1-6, 1983.
- 7) 三輪智恵子，川本尋義，吉沢邦重，松浦章雄：昭和48年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績，岐衛研所報，19,1-6, 1974.
- 8) 三輪智恵子，野田伸司，松浦章雄，吉沢邦重：昭和50年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績，岐衛研所報，21,1-5, 1976.
- 9) 厚生省監修：微生物検査必携，ウイルス・リケッチャ検査，第2版，73~83，日本公衆衛生協会，1978.
- 10) 中村忠義，赤見正行，高橋ふさ子，五十嵐艶子，氏家淳雄：コクサッキーA群ウイルス感染症の長期観察と中和抗体保有からみた血清疫学，臨床とウイルス，16,359~364，1988.
- 11) 板垣朝夫，飯塚節子，伊藤義広：ヘルパンギーナを中心としたコクサッキーA群ウイルス感染症の調査成績(1975-1984)，臨床とウイルス，14,215~219, 1986.



岐阜県における平均余命と社会・経済要因 との関連性について

森 洋 隆*, 河 合 信*

A Relationship between Life Expectancy and Socioeconomic
Factors in Gifu Prefecture
Hirotaka MORI, Makoto KAWAI

はじめに

平均余命は死亡状況が今後も変わらないものと仮定し、各年令の人が平均してあと何年生きられるかを算出したもので、0才の平均余命を平均寿命と言い、保健福祉水準の総合指標として広く用いられている。

平均余命には医療水準、生活水準、社会・経済状況、地理・気候条件など多くの要因が複雑な形でかかわっており、そのことが平均余命に地域格差をもたらしている。

これらの諸要因のうち、社会・経済的要因について考えると、岐阜県のような地方の一地域においても、それらは等質ではなく各市町村ごとに人口密度、医療機関数、所得、産業別就業者比率などをそれぞれ異にしており、それらが市町村の平均余命にどのように反映しているかということは極めて興味深いことと思われる。

この研究は岐阜県における社会・経済的諸指標を少數の総合的指標に要約し、それが各市町村の平均余命とどのように関連しているかを知るために行ったものである。

資料および方法

1. 資料

平均余命：1985年・市区町村別生命表（厚生統計協

会、1989）に記載されたものを用いた。

社会・経済指標：99市町村ごとに出来るだけ多くの指標を網羅するよう努めたが、市町村別に整った資料は少なく、下記に示す23指標にとどまった。

社会・経済指標	資料
1) 人口密度（宅地1Ha当たり）	A
2) 1次産業就業者比率	D
3) 2次産業 "	D
4) 3次産業 "	D
5) 人口密度（1Ha当たり）	A
6) 医療機関数（人口1万当たり）	A
7) 病床数（"）	A
8) 医師数（"）	A
9) 衛生費歳出額（"）	A
10) 所得（1人当たり）	E
11) 世帯人数	D
12) 世帯たたみ数	D
13) 室数（1人当たり）	D
14) 車保有数（10人当たり）	A
15) 消費電力（人口1万当たり）	A
16) 水道普及率	A
17) 市町村歳入（人口千当たり）	A
18) 農用地比率	A
19) 森林比率	A

*岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

*Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

- 20)道路比率 A
 21)宅地比率 A
 22)事業所数（人口千当たり） B
 23)商店数 () C

A : S60年岐阜県統計書 B : S61年岐阜県統計書

C : 統苑, 増刊No.3, 1986 D : 統苑, 増刊 No.4, 1986

E : 岐阜県の市町村民所得, S60年

2. 方法

主成分分析により、各市町村に対応する社会・経済指標のもつ情報を少数個の総合特性値（主成分）に要約、99市町村を特性値の異なるI～IVの地域に分類し、平均余命との関連を調べた。また、第1および第2主成分から合成指標（第1主成分スコアをX、第2主成分スコアをYとする）を作成し、平均余命（E）に対してその2次の項までを説明変数とする重回帰分析（総当たり法、変数選択基準F値=2）を行い、平均余命が第1および第2主成分の合成指標によりどのように説明されるかを調べた。

主成分分析及び重回帰分析¹⁾は、市販ソフト（学習多変量統計解析法：現代数学社）を用い、パソコン用コンピュータ（NEC N5200）により計算した。

結果

1. 主成分分析結果

99市町村に対応する23項目の社会・経済指標値を変量として主成分分析を行い、指標値の持つ情報を主成分に要約し、その第3主成分までを表1に示した。また、第1、第2主成分と各変量との相関を求め、因子負荷量として図1に示した。

累積寄与率からみて、第2主成分までで、もとの変量のもつ情報のおよそ1/2が説明された。

第1主成分Z₁の因子負荷量は、道路占有比率、人口密度、宅地比率が正で大きな値を示し、3次産業および2次産業就業者比率、所得、人口密度（宅地1Ha当たり）、および消費電力などが正の値となっている。これらは都市的特徴を示すものである。一方、1次産業就業者比率、森林比率、室数、車保有数、衛生費歳出額などは負で大きな値を示す。これらは山村的特徴を示すものである。従ってZ₁は都市と山村を分けるもの、すなわち都市化の程度を示す因子と考えられる。また、Z₁の因子負荷量は農用地比率が正で大きな値

を示すのに対し、森林比率が負で大きな値を示すことから、農用地の多い平野部と森林の多い山地とを分ける地勢的因素をも含むと推察される。

以上のことから、第1主成分Z₁は都市化－地勢的因素と考えられる。

表1 主成分分析結果

(固有値、固有ベクトル、寄与率)

変量	主成分	I	II	III
X 1 人口密度（宅地）	0.181	0.162	0.726	
X 2 1次産業就業者比率	-0.281	-0.136	-0.166	
X 3 2次 "	0.126	-0.153	0.300	
X 4 3次 "	0.199	0.328	-0.125	
X 5 人口密度	0.292	0.044	-0.223	
X 6 医療機関数	-0.165	0.106	-0.261	
X 7 病床数	0.065	0.247	0.261	
X 8 医師数	0.104	0.343	0.136	
X 9 衛生費歳出額	-0.213	0.186	-0.244	
X 10 所得	0.204	0.122	-0.202	
X 11 世帯人数	0.024	-0.388	0.253	
X 12 " たたみ数	-0.198	-0.286	0.140	
X 13 室数（一人当たり）	-0.290	0.053	-0.078	
X 14 車保有数	-0.241	-0.008	-0.203	
X 15 消費電力	0.155	-0.052	-0.061	
X 16 水道普及率	0.150	0.024	-0.092	
X 17 市町村歳入	-0.256	0.093	-0.345	
X 18 農用地比率	0.245	-0.226	-0.190	
X 19 森林 "	-0.294	0.169	0.206	
X 20 道路 "	0.294	-0.116	-0.231	
X 21 宅地 "	0.298	-0.023	-0.241	
X 22 事業所数	-0.048	0.299	0.024	
X 23 商店数	0.023	0.390	0.181	
固有値	8.112	3.421	2.431	
寄与率	0.353	0.149	0.106	
累積寄与率	0.353	0.502	0.608	

第2主成分Z₂の因子負荷量は、商店数、事業所数、3次産業就業者比率、医師数等が正で大きな値を示し、病床数、衛生費歳出額が正の値となっている。これらは都会的で経済的に活発な状態を示すものである。一方、世帯人数、世帯たたみ数が負で大きな値を示し、また農用地比率、2次産業就業者比率が負の値となっている。これらは農・山村的で経済的に不活発な状態を示すものである。従って第2主成分Z₂は地場の産業形態および経済状態を分ける因子、すなわち経済的活性度と考えられる。

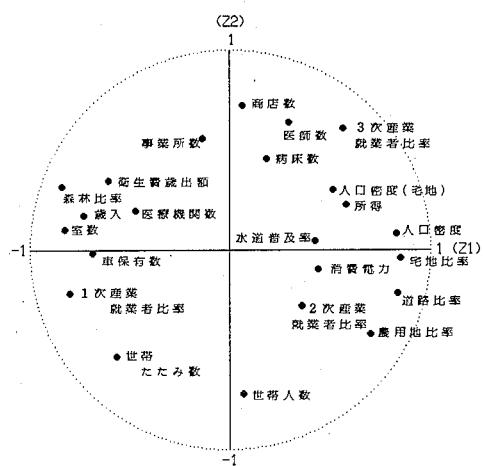


図1 因子負荷量図

2. 社会・経済特性による市町村の分類

岐阜県下99市町村について、 Z_1 スコアおよび Z_2 スコアを求め、主成分スコア散布図として図2に示した。

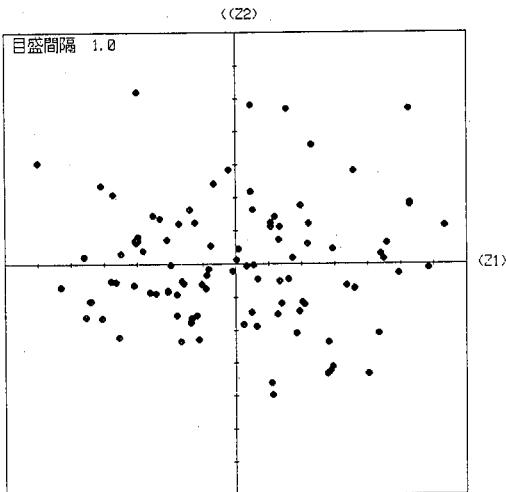


図2 主成分スコア散布図

主成分スコア散布図の第1～第4象限に分布する各市町村を社会・経済特性の異なる第I～第IVの地域に分類することが出来た。第I地域は主に平野部で、1次産業の比率が低く都市化が進んでおり、事業所、商店等などが多く、製造業などの2次産業よりサービス、金融、商業などの3次産業の比率が高く、経済的活性度の高い都市・商業型の地域である。

第II地域は主に山地で、林業などの1次産業の比率が高く都市化の程度は低いが、経済的活性度の高い山

村・商業型の地域である。

第III地域は主に山地で、林業などの1次産業の比率が高く、都市化の程度が低い地域で、かつ経済的活性度の低い山村・製造業型の地域である。

第IV地域は主に平野部で、都市化の進んだ地域ではあるが、農業がさかんに行われ、かつサービス、金融、商業などの3次産業より製造業の比率が高く、経済的活性度の低い都市・農・製造業型の地域である。

3. 平均余命と社会・経済特性との関連

主成分スコア散布図における第1～第4の各象限に対応する各地域をI～IVとして、地域間の平均余命に差があるかどうかを有意水準5%で検定を行い、その結果を表2に示した。また、平均余命の地域間の高低

表2 平均余命の地域間の有意差の検定

	地域区分	市町村数	平均	有意水準5%での検定
才	I	25	75.60	I < III
	II	20	75.88	
	III	28	75.96	
	IV	26	75.76	
男	I	25	56.50	I < II, I < III IV < III
	II	20	56.93	
	III	28	57.01	
	IV	26	56.70	
才	I	25	37.40	I < II, I < III IV < II, IV < III
	II	20	37.92	
	III	28	38.06	
	IV	26	37.57	
才	I	25	15.97	I < II, I < III IV < III
	II	20	16.41	
	III	28	16.46	
	IV	26	16.09	
女	I	25	80.58	IV < I, IV < II IV < III
	II	20	80.70	
	III	28	80.61	
	IV	26	80.21	
才	I	25	61.35	IV < II, IV < III
	II	20	61.52	
	III	28	61.46	
	IV	26	61.04	
才	I	25	41.89	IV < I, IV < II IV < III
	II	20	42.12	
	III	28	42.09	
	IV	26	41.56	
才	I	25	19.08	IV < I, IV < II IV < III
	II	20	19.14	
	III	28	19.09	
	IV	26	18.74	

と地域特性との関係を図3に示した。

20才以上の男では、平野部の都市化の進んだIおよびIV地域は、都市化の程度の低い山地のIIおよびIII地域より平均余命が低かった。このことから20才以上の男の平均余命に対し、都市化は負の影響を及ぼす可能性が示唆された。

男では各年令とも、I地域はIII地域よりも平均余命が低いことが認められた。また、IとIV地域およびIIとIII地域とでは地域間に有意差が認められなかつことから、地場の経済的活性度は男の平均余命とあまり関係がないと考えられる。また男ではI地域はIII地域より、各年令とも平均余命が低かったが、地場の経済的活性度があまり影響していないことを考慮すると、都市化の影響に負うところが大きいと推察される。一方0才の男ではI地域がIII地域より低いこと以外に地域間に高低関係が得られておらず、都市化・地勢因子および地場の経済的因子だけで説明することは困難であった。

女では20才におけるIとIV地域との関係を除き、IV地域が他のI、II、III地域より各才の平均余命が低い傾向にあり、平野部で都市化の程度が進みかつ、地場の経済的活性度のあまり高くない地域において、女の平均余命が最も劣悪であることが認められた。

しかしながら、地域間の平均余命の高低関係と地域特性との組み合わせからは、男の場合のように、都市化の程度および地場の経済活性度と平均余命との間に一定の関係を推察することは困難であった。

4. 重回帰分析結果

全地域99市町村を対象とした重回帰分析を行い、その結果を表3に示した。

予測式から男は都市化・地勢因子が小さいほど各才の平均余命の予測値Eは大きくなる（平均余命に負に影響する）ことが推察された。また、地場の経済的活性度は各才の予測式において説明変数として採用されなかったことから、あまり関係がないと考えられ、これらの結果は主成分分析におけるI～IV地域での検討結

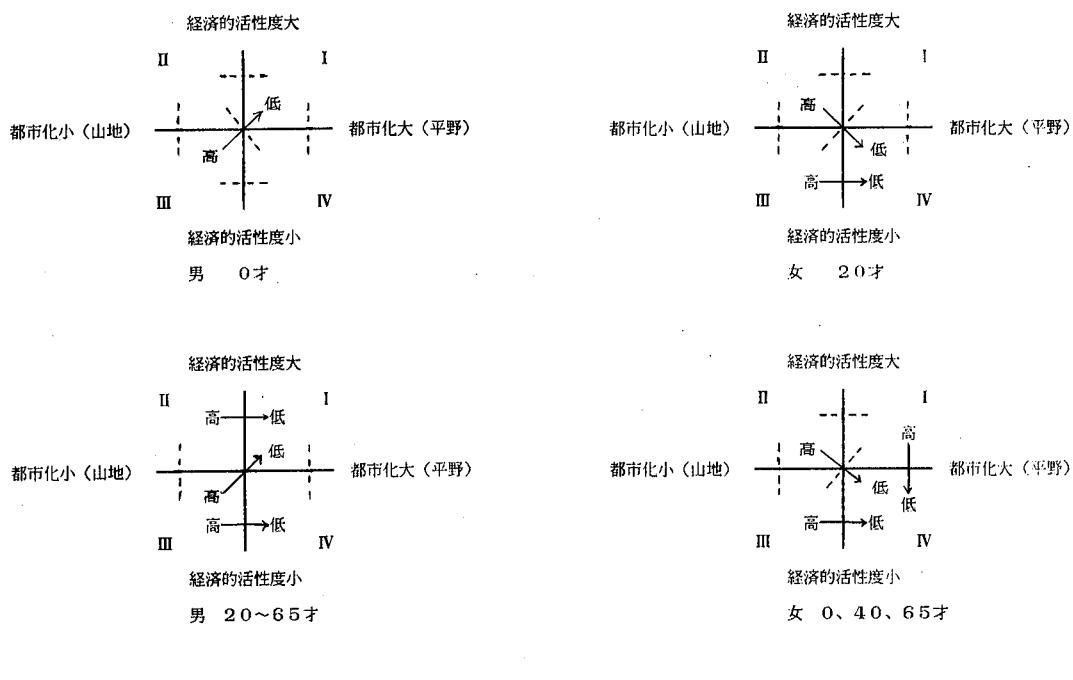


図3 平均余命の地域間の高低と地域特性との関係

表3 平均余命に対する合成指標の説明力

重相関係数		平均余命の重回帰式(標準偏回帰係数)
0才	男	0.280 $E = -0.280X$ *
	女	0.441 $E = -0.223X - 0.214X^2 + 0.312Y$ **
20才	男	0.407 $E = -0.407X$ **
	女	0.427 $E = -0.250X - 0.207X^2 + 0.278Y$ **
40才	男	0.512 $E = -0.512X$ **
	女	0.451 $E = -0.328X - 0.150X^2 + 0.263Y$ **
65才	男	0.482 $E = -0.482X$ **
	女	0.452 $E = -0.221X - 0.167X^2 + 0.362Y$ **

* p<0.01 ** p<0.005

E : 平均余命 X : 第1主成分スコア (都市化-地勢)

Y : 第2主成分スコア (経済的活性度)

果をフォローするものである。

一方、女では主成分分析のI～IV地域での検討において、平野部にあり都市化の程度が進んでいて、かつ地場の経済的活性度の低いIV地域が他の地域よりも平均余命が劣悪であること以外、因子と平均余命との間に何らかの傾向を把握することは困難であったが、各才の予測式において都市化- 地勢因子が小さいほど、また地場の経済的活性度が高いほど平均余命の予測値Eが大きくなることが推察された。このことは女の平均余命に対して、都市化- 地勢因子は負に、地場の経済的活性度は正に影響を及ぼす可能性を示唆するものである。

考 察

平均余命と社会・経済要因との関連性については重回帰分析あるいは主成分分析の手法により渡慶次²⁾、角南³⁾、そして山本⁴⁾⁻⁵⁾らの研究者によって調べられている。渡慶次は兵庫県下の29保健所別平均寿命に対し、40の社会・経済指標について重回帰分析を行い、平均寿命の高い地域は男性では都市的要因の大きい地域であり、女性では分布状態を考慮すると近郊都市的色彩の濃い地域であると述べている。また山本⁴⁾は全都道府県の0才の平均余命に対応する15の指標について重回帰分析を行い、わが国民の0才平均余命については都市化の条件が正に強く影響を及ぼすと述べている。

今回の岐阜県下99市町村における検討では、渡慶次や山本らの見解とは異なり、都市化は男女の平均余命に対し負の影響を及ぼす可能性が認められた。このことは実際の分布の状況においても認められ、都市的色彩の濃い地域は男女の平均余命は概して不良である。

上述のように、都市化の平均余命に対する影響の及ぼし方に相違が見られるのはどうしてであろうか。第一に考えられるのは検討の対象となる地域の規模である。都道府県を単位とする大規模地域と市町村を単位とする小規模地域とでは社会・経済指標値の構造に何らかの相違があるためかも知れない。

第二に考えられるのは、地域の特殊性である。岐阜県を地目別に見ると、およそ総面積の7%が農用地、82%が森林、3%が宅地、1.5%が一般道路、その他6.5%となっており、森林の比率に対して農用地、宅地が少ないので地目上の特徴となっている。すなわち、岐阜県は全体からみれば社会・経済的に発展途上にある山国と考えられ、大都市に近接し社会・経済的に既にかなり発展を遂げた地域とでは、全体の社会・経済指標値の構造および水準が異なるためとも考えられる。

20才から65才の男では、平野部より山地のほうが平均余命が高い傾向が認められるが、これには海拔の高低が影響しているのか、海拔の高低に由来する平均気温、積雪量、降水量などの気象条件の差が影響しているのか、あるいは森林の多少が影響しているのか検討を要すると考えられる。

ま と め

岐阜県下99市町村に対応する23項目の社会・経済指標を主成分分析により少数個の主成分に要約し、平均余命との関連性を調べた。また、合成指標を説明変数として重回帰分析を行い、平均余命がどのように説明されるかを調べた。

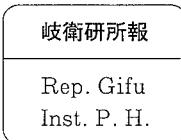
1. 第1主成分は都市化-地勢を、第2主成分は地場の経済的活性の程度を表す因子と解釈された。
2. 各市町村は主成分スコア散布図により地域特性の異なる I～IV の地域に分類され、地域特性と平均余命

の地域間の高低関係から下記の結果が得られた。

- 1) 20才から65才の男の平均余命に対し、地場の経済的活性度はあまり関係がないが、都市化－地勢因子は負に影響を及ぼす可能性が示唆された。
- 2) 女では、平野部で都市化の程度は進んでいるが、地場の経済的活性度の低いIV地域の平均余命は他のI, II, III地域より劣悪である事が認められた。
3. 重回帰分析により、重相関係数はあまり高くはないが、男では主成分分析の結果をフォローする結果が得られた。一方、女では都市化－地勢因子は平均余命に対し負に、地場の経済的活性度は正に影響を及ぼす可能性が示唆された。

文 献

- 1) 田中豊、脇本和昌：多変量統計解析法、現代数学社、1988
- 2) 渡慶次重美：兵庫県の平均余命の動向と地域格差に関する研究、神戸大学紀要、49(1), 29-35, S63
- 3) 角南重夫：最近における我が国の平均余命の都道府県格差に関する要因、民族衛生、51(2), 85-98, 1985
- 4) 山本幹夫、他：0才平均余命に影響する諸条件、日本人口学会誌、4, 32-35, 1970
- 5) 山本幹夫、他：国民健康の生態、行動計量学、4(1), 64-74, 1976



ビル給水栓水の赤水の実態及び腐食の要因物質について

森 仁*, 梶川正勝*, 今井準三*

Studies in the Factors Responsible for Occurrence of So-Called Red Water in Building Water Supplies

Hitoshi MORI Masakatsu KAJIKAWA and Junzo IMAI

はじめに

ビル給水施設における赤水の発生は、水質悪化により衛生的で安全な飲料水の確保を困難にするとともに、給水施設の改善、給水管の取り替え等の経済的な損失を与える^{1), 2)}。これら腐食の原因としては、給水管の材質（内部的要因）と使用水の水質（外部的要因）とがある。外部的要因として影響が大きいものは、侵食性遊離炭酸、溶存酸素等であることが報告されている^{3), 4)}。

当県においても、地下水中の侵食性遊離炭酸濃度が高い地域があり⁵⁾、この地下水を曝気などの処理を行わず直接利用しているビルでは赤水の発生が懸念されている。

そこで、これらの地域のビル給水栓水の赤水発生の状況を把握するため、給水栓水中の鉄及び亜鉛濃度等の実態調査を実施するとともに、外部的要因である侵食性遊離炭酸、溶存酸素等と赤水発生との関連性を調べるためにテストピースを用いて実験室的に検討を行ったので報告する。

調査方法

1 実態調査

調査は岐阜市周辺のビルで地下水を使用している11

のビルを対象とした。そのビルの概要を表1に示した。水質の測定は、早朝水（朝一番の水）、通常水（5分間以上通水した後の水）等を採取し、pH、電気伝導率、溶存酸素、総アルカリ度、総硬度、侵食性遊離炭酸、鉄、亜鉛について実施した。また、止水期間の相違による鉄、亜鉛の溶出量の測定はKビルを対象に早朝水を1ℓづつ10検体を採取し、鉄、亜鉛の濃度を求めた。

2. テストピースを用いた腐食試験

蒸留水を用いて溶存酸素（約0, 1.1, 2.2, 4.4, 8.8 mg/ℓ）、侵食性遊離炭酸（約0, 25, 50, 100, 200 mg/ℓ）、総アルカリ度（約0, 25, 50, 100, 200 mg/ℓ）、総硬度（約0, 25, 50, 100, 200 mg/ℓ）、残留塩素（約0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mg/ℓ）の5因子5段階の直交配列 5×5 ($n=25$)に割り付けた溶液を調製した後、各成分の濃度を実測して試験溶液とした。その試験溶液を200mlのふ卵ビン3本にとり、それぞれのふ卵ビンにテストピースとして鉄棒（0.6φ×5.3cm 鉄95%）、亜鉛板（2×5cm 亜鉛 99.9%）および鉄棒・亜鉛板を入れ20℃で24時間放置後、鉄、亜鉛の濃度を求めた。なお、この操作は2回繰り返した。

次に、鉄、亜鉛の濃度を目的変数とし、溶存酸素、総アルカリ度、侵食性遊離炭酸、総硬度、残留塩素濃

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

度を説明変数として重回帰分析（ステップワイズ法）を行い寄与率を求めた。

3 実試料を用いた腐食試験

水質の異なる5種類の地下水500mlをとり無処理、空気曝気（空気50ml／分で15分間曝気）、窒素曝気窒素ガス50ml／分で15分間曝気）処理および総アルカリ度80mg／ℓ（炭酸ナトリウムを添加）を添加した試験溶液を調製し、鉄および亜鉛板のテストピースを添加して2.と同様に操作し、鉄および亜鉛の濃度を求めた。

4 測定方法

測定対象としたpH、溶存酸素、総アルカリ度、侵食性遊離炭酸、総硬度、残留塩素、鉄および亜鉛の分析は、上水試験方法によった⁶⁾。

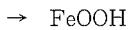
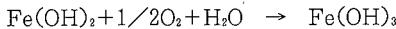
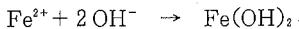
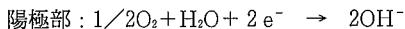
結果及び考察

1 実態調査結果

1.1 ビル給水栓水の水質測定結果

調査対象とした11のビル給水栓水の早朝水および通常水の鉄、亜鉛等の測定結果を表1に示した。鉄、亜鉛の濃度は、ビルにより異なっていたがいずれも通常水に比べ早朝水が高値を示しており、鉄、亜鉛の最高値はそれぞれ2.3mg／ℓ、1.5mg／ℓと水質基準値の約8倍、約2倍を示し、赤水の発生が認められた。

一般に腐食に伴う赤水の発生は、金属（鉄）と水との接触面で局部電池が生成するためと言われている⁷⁾。



（あかさび）

また、亜鉛については赤水の原因とはならないが鉄と同様の反応を起こし水酸化亜鉛を生成して鉄の腐食を進行させると言われている。

表1に示した結果でも鉄、亜鉛の濃度が高いビルの給水栓水では通常水に比べ早朝水のpHが上昇し、溶存酸素は減少する傾向を示していた。

今回の結果では、水道管の腐食に影響を及ぼすと言われている侵食性遊離炭酸と鉄、亜鉛の溶出濃度量との間には有意の相関は認められなかった。

1.2 止水期間による鉄及び亜鉛の溶出量

止水期間の相違による鉄および亜鉛の溶出量の実態を調べるため、Kビルの早朝水を対象に1日、2日、3日間止水した場合における鉄および亜鉛濃度を測定した。その結果を図1に示した。

鉄、亜鉛の濃度は止水時間が長くなるにしたがって増加し、特に鉄濃度の増加が顕著であり、3日間止水した場合4mg／ℓと高値を示した。

また、採水量と鉄、亜鉛濃度との関係を見ると亜鉛は採水初期に高い値を示したのに対して鉄では5ℓ前後に最高値を示し溶出パターンが異なっていた。これ

表1 ビル給水栓の通常水、早朝水の水質測定結果

項目	Aビル	Bビル	Cビル	Dビル	Eビル	Fビル	Gビル	Hビル	Iビル	Jビル	Kビル
建物の階数	4F	6F	3F	5F	3F	3F	3F	4F	4F	2F	3F
築後年数(年)	20	23	14	11	15	20	15	20	13	5	18
使用水道管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管	亜鉛引き鋼管
検体種別	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水	通常水・早朝水
pH	7.1 7.4	6.8 6.7	7.0 7.0	6.9 7.0	6.6 6.6	5.7 5.9	6.4 6.6	6.6 6.7	6.6 6.5	6.1 6.1	6.7 6.8
導電率(μS/cm)	88 99	88 82	220 220	72 75	190 190	210 220	140 140	81 84	95 93	160 160	160 160
溶存酸素(mg/ℓ)	8.5 8.6	7.4 3.9	7.2 5.3	9.2 9.0	4.3 4.3	8.6 2.5	4.8 1.9	9.4 7.9	9.3 6.6	2.0 1.6	8.3 1.8
総硬度(mg/ℓ)	38 39	34 31	87 86	22 28	68 67	88 83	38 38	31 31	34 29	65 67	50 50
総アルカリ度(mg/ℓ)	36 37	30 29	86 88	26 26	64 63	12 16	12 16	28 28	21 22	62 63	33 34
侵食性遊離炭酸(mg/ℓ)	4.2 3.6	8.5 8.5	13 12	5.7 4.8	28 26	38 24	24 23	8.6 8.5	13 14	79 76	13 13
鉄(mg/ℓ)	0.02 0.31	0.03 1.4	0.00 0.05	0.00 0.02	0.00 0.27	0.05 0.85	0.00 0.16	0.00 0.22	0.03 1.7	0.00 0.71	0.00 2.3
亜鉛(mg/ℓ)	0.00 0.94	0.01 1.0	0.00 0.05	0.00 0.26	0.00 0.02	0.03 0.22	0.00 1.5	0.01 0.08	0.00 0.30	0.00 0.04	0.00 1.1

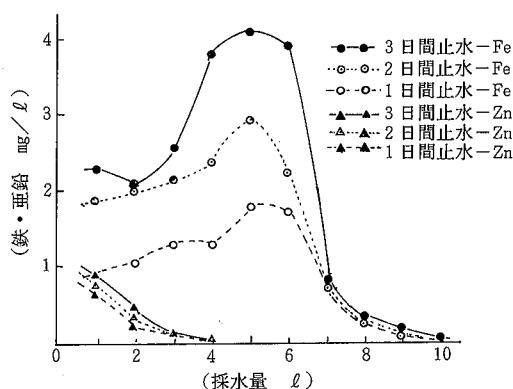


図1 止水期間による給水栓水中の鉄及び亜鉛

は、管表面の水酸化亜鉛が洗い流され、次に水酸化鉄が洗い流されるためではないかとも考えられるが、詳細については不明である。

これらのことから、ビル給水栓水の赤水は、ビル規模、給水管の長さ等により異なるとも考えられるが使用前に概ね10ℓ流せば影響は少なくなるものと思われる。

2 テストピースを用いた腐食試験結果

表2 処理方法の相違による鉄及び亜鉛の溶出量

項目	処理方法	pH	溶存酸素 (mg/ℓ)	侵食性遊離炭酸 (mg/ℓ)	総アルカリ度 (mg/ℓ)	鉄添加		鉄・亜鉛添加		
						鉄(mg/ℓ)	亜鉛(mg/ℓ)	鉄(mg/ℓ)	亜鉛(mg/ℓ)	
地 下 水	試料1	無処理 窒素曝気 窒素曝気+M 空気曝気 空気曝気+M M	6.6 7.2 8.6 7.6 8.6 7.6	8.7 1.1 1.5 8.9 8.9 8.7	13 1.5 0 2.0 0 5.0	32 32 120 30 120 120	15 1.4 2.8 16 17 19	2.7 1.1 2.3 2.4 4.6 1.6	1.6 2.9 0.6 1.7 14 16	17 1.1 8.6 20 6.1 2.5
	試料2	無処理 窒素曝気 窒素曝気+M 窒素曝気 空気曝気 空気曝気+M M	6.4 7.8 8.7 7.6 8.6 7.3	6.3 0.5 1.4 8.9 8.9 6.7	19 0.8 0 0.8 0 11	28 28 110 29 110 110	11 1.9 3.3 16 14 13	5.3 0.9 3.0 5.6 14 4.1	9.8 2.1 0.7 1.5 1.0 0.7	4.3 0.6 7.1 22 21 14
	試料3	無処理 窒素曝気 窒素曝気+M 窒素曝気 空気曝気 空気曝気+M M	6.2 7.6 8.7 7.6 8.7 7.1	8.0 0.8 1.3 8.9 8.9 8.1	35 1.0 0 1.0 0 18	42 40 130 42 130 130	14 2.2 2.9 14 15 13	7.4 1.1 2.2 4.7 14 5.2	12 2.9 3.3 15 13 9.5	5.2 0.5 1.6 5.1 5.1 9.9
	試料4	無処理 窒素曝気 窒素曝気+M 窒素曝気 空気曝気 空気曝気+M M	6.4 8.4 8.8 7.7 8.6 7.1	8.8 0.6 1.3 8.9 8.9 8.0	40 0.5 0 0.5 0 19	42 42 130 42 130 130	15 2.3 4.7 14 13 14	7.3 0.8 2.2 3.0 8.9 5.1	12 1.3 1.6 13 5.5 13	17 1.1 8.6 3.6 14 4.7
	試料5	無処理 窒素曝気 窒素曝気+M 窒素曝気 空気曝気 空気曝気+M M	6.4 7.8 8.5 7.8 8.5 7.2	1.9 0.5 0.7 0.5 0 3.0	40 0.5 0 0.5 0 19	55 56 140 56 140 140	9.8 2.0 3.9 16 14 11	7.2 0.8 2.3 4.7 8.5 6.9	8.7 0.7 3.3 1.4 14 0.9	6.6 1.2 4.3 11 20 20

M: 総アルカリ度 (約 80mg/ℓ) 添加

2.1 重回帰分析結果

水道水中には多くの成分が含まれており、その成分の中には腐食に対して正に寄与するものと負に寄与するものとが存在する。水質と赤水発生との関係を調べるには単一項目との相関を求めるだけでなく総合的な解析が必要である。そこで、重回帰分析を行ない鉄、亜鉛の腐食に及ぼす各成分の影響について検討を試みた。

テストピースを用いた腐食試験の測定結果を用いて、鉄、亜鉛の濃度を目的変数とし、pH、溶存酸素、総アルカリ度、侵食性遊離炭酸、総硬度及び残留塩素の濃度を説明変数とし重回帰分析を行なった。

なお、数値の重みを一定とするため、標準化を行なった標準偏回帰係数及び寄与率を求めた。その結果を下記に示した。

(鉄単独の場合)

$$Y = 0.150X_1 + 0.961X_2 - 0.090X_3$$

($r=0.965 R^2=93.3\% n=50$ 分散比=213 $p>0.05$)

Y:鉄 X_1 : 溶存酸素 X_2 : 侵食性遊離炭酸 X_3 : 総硬度

(亜鉛単独の場合)

$$Y = 0.322X_1 + 0.648X_2 - 0.221X_3 + 0.157X_4$$

($r=0.802 R^2=64.5\% n=50$ 分散比=20.4 $p>0.05$)

Y:亜鉛 X₁:溶存酸素 X₂:侵食性遊離炭酸

X₃:総アルカリ度 X₄:残留塩素

(鉄・亜鉛共存の場合の鉄)

$$Y = 0.145X_1 - 0.156X_2 + 0.174X_3 + 0.104X_4$$

(r=0.238 R²=5.7% n=50 分散比=0.67)

Y:鉄 X₁:溶存酸素 X₂:総アルカリ度

X₃:総硬度 X₄:残留塩素

(鉄・亜鉛共存の場合の亜鉛)

$$Y = 0.179X_1 + 0.311X_2 - 0.497X_3$$

(r=0.596 R²=35.6% n=50 分散比=8.47 p>0.05)

Y:亜鉛 X₁:溶存酸素 X₂:侵食性遊離炭酸

X₃:総アルカリ度

鉄単独の場合では重相関係数が0.965と高い値がえられ、鉄の溶出に寄与するものは溶存酸素及び侵食性遊離炭酸、負に寄与するものとしては総硬度であり、なかでも侵食性遊離炭酸の寄与率が大きいことを示していた。亜鉛単独の場合では、侵食性遊離炭酸の寄与が最も大きく、次いで溶存酸素、残留塩素の順であり、総アルカリ度は負に寄与することを示した。

鉄・亜鉛を共存させた場合、亜鉛については重相関係数が0.596と相関関係が認められ、亜鉛の溶出に寄与するものは侵食性遊離炭酸、溶存酸素であり、負に寄与するものは総アルカリ度であることを示した。しかし、鉄については重相関係数が0.238といずれも相関関係は認められなかった。

2.2 実試料を用いた腐食試験結果

腐食の防止方法を検討するため、水質の異なる5種類の地下水を用いて2.1の結果をもとに窒素曝気、空気曝気、総アルカリ度添加等の処理を行い、それらが鉄、亜鉛の腐食に及ぼす影響を調べた。その結果を表2に示した。

曝気処理方法による鉄、亜鉛の溶出量を比較してみると試料により若干異なっていたが窒素曝気処理が鉄、亜鉛の溶出量を少なくするのに効果があり、次いで無処理、空気曝気処理の順であった。また、総アルカリ度添加については亜鉛の溶出量を減少させる傾向が認められたが試料により異なっており、腐食防止に対して効果が少ないことを示した。

ま　と　め

ビル給水施設における赤水発生の実態及び溶存酸素、

侵食性遊離炭酸、総アルカリ度等と赤水発生との関連性を調べるために、鉄、亜鉛のテストピースを用いて実験室的に検討し、赤水発生の要因を重回帰分析により求めたところ、以下の結果を得た。

- 1) 赤水の発生が認められたビルの給水栓水では、最高値として鉄2.3mg/l、亜鉛1.5mg/lを検出した。また、赤水の発生が認められたビルでは通常水に比べ早朝水はpHが上昇、溶存酸素が減少する傾向を示した。
- 2) テストピースを用いた実験結果を用いて鉄、亜鉛の濃度を目的変数とし、溶存酸素、侵食性遊離炭酸等を説明変数として重回帰分析を行なったところ、鉄、亜鉛の溶出に寄与する要因は溶存酸素、侵食性遊離炭酸及び残留塩素であり、負に寄与する要因は総アルカリ度、総硬度であることが認められた。
- 3) 実試料を用いて鉄、亜鉛の溶出量を減少させる処理方法を検討したところ、窒素曝気処理、すなわち溶存酸素および侵食性遊離炭酸を少なくすることが有効であることが判った。

文　献

- 1) O.H.Tuovine:Bacterial Chemical and Mineralogical Characteristic of Tubercles in Distribution Pipelines, Jour, AWWA, 72, No.11, 625-635, 1980
- 2) 堀尾憲一:鳥取市における赤水現象の原因究明と対策、第42回全国水道研究発表会、講演集、671-673, 1991
- 3) 日本工業用水協会編:工業用水便覧、P193 産業図書、1958
- 4) 厚生省環境衛生局水道環境部監修:水道維持管理指針、日本水道協会、1982
- 5) 梶川正勝、寺尾 宏、森下有輝、日比 誠、山田 不二造:地下水を水源とする県内水道原水中の遊離炭酸濃度について、岐阜衛研所報、29, 34-40, 1984
- 6) 厚生省環境衛生局水道環境部監修:上水試験方法、日本水道協会、1985
- 7) 用水廃水便覧編集委員会編:用水廃水便覧、P625, 丸善、1973

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

水道管による残留塩素の消費について

梶川正勝*, 森 仁*, 今井準三*

Consumption of Residual Chlorine in Tap Water by Water Pipes.

Masakatsu KAJIKAWA*, Hitoshi MORI* and Junzo IMAI*

はじめに

水道水の塩素添加は細菌類に対する消毒効果を主目的とされている。添加された塩素量は水道施設の材質、水質、滞留時間、水温等によって消費され、消毒効果が減少するといわれている^{1~3)}。従って、飲料水の安全性の確保の点から、これら要因を考慮して塩素添加量が決定されている。

比較的水質の良い水道においても、給配水管の末端部では残留塩素濃度が減少し、水道法に定められた基準値である遊離残留塩素濃度0.1ppm（結合残留塩素濃度 0.4ppm）を下回ることもある。この原因の一つには、塩素を含む水道水が水道管等の水道施設に接触する間に消費されることが考えられる。

そこで、今回、施設の材質による残留塩素消費の影響をみるために、給配水管として一般的に使用されている4種類の水道管を用いて、実験室的に残留塩素の消費について検討を行った。

材料及び方法

1. 材料

用いた水道管はモルタルライニングダクタイル鉄管（ダクタイル管）、硬質塩化ビニル管（塩化ビニル管）、亜鉛びき鋼管（亜鉛びき管）、石綿セメント管

（石綿管）とし、管の詳細については表1に示した。他に、ふ卵ビン（100ml）、ビーカ（200ml）を用いた。

表1 材料として用いた水道管

水道管種	内 径	備 考
ダクタイル管	67mm	
	67mm	使用して10年以上経過
塩化ビニル管	77mm	
	77mm	使用して10年以上経過
亜鉛びき管	81mm	
	81mm (2) 55mm	室内試験に使用済みのもの 使用して10年以上経過
石綿管	75mm	
	75mm (1) 75mm (2) 75mm	使用して約19年経過 使用して約30年経過

試験水は次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素量約6.5%）を蒸留水で希釈し、残留塩素濃度0.3ppm、1.0ppmとなるように調製した。

2. 方法

1) ガラス容器を用いた残留塩素の消費

ガラス容器に試験水を入れ、表2の条件で試験を行い、そのときの残留塩素濃度をDPD法^{⑤)}により測定した。

* 岐阜県衛生研究所 : 500 岐阜市野一色4丁目6番3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

表2 試験条件

項目	条件
気密状態	満水・密封 (ふ卵びん使用)
開放	(ビーカ使用)
水温	4°C (水室内保存)
	20°C (BODふ卵器内保存)
	35°C (恒温水槽内保存)
初期残留塩素濃度	0.3, 1.0 ppm
保存時間	6, 24, 48, 120, 240 時間

2) 水道管(未使用管)を用いた残留塩素の消費

未使用の4種類の水道管をそれぞれ長さ10cmに切断し、底部をテフロンシートで密封した。その中に試験水を入れ満水とした後、上部をテフロンシートで密封した。試験条件は1)に準ずるが、保存時間を1, 6, 24, 48時間とし、そのときの残留塩素濃度を測定した。

3) 水道管(使用管)を用いた残留塩素の消費

使用済みの水道管を次のように切断して用いた。ダクタイル管—長さ26cm、塩化ビニル管—長さ30cm、亜鉛びき管—(1)長さ10cm、(2)長さ37cm、石綿管—(1), (2)それぞれ長さ30cmとした。試験方法及び試験条件は2)に準ずるが、温度条件を20°C、初期残留塩素濃度を1.0ppmとした。

なお、水道管(未使用管、使用管)を用いた残留塩素濃度は、その消費が体積当たりの接触面積に影響されることから、石綿管の面積/体積比を1として換算表示した。

結果及び考察

1. ガラス容器を用いた残留塩素の消費

水道管を用いる試験の比較対照の目的で、残留塩素消費が殆どないと思われるガラス容器による残留塩素の消費を測定した。その結果を表3に示した。初期残

留塩素濃度0.3ppmの試料は密封条件では10日後に水温35°Cの場合0.1ppm, 20°Cの場合0.2ppm, 4°Cの場合0.25ppmとなり、水温による影響が考えられた。また、開放条件との差は明らかであり、4°Cの場合で10日後には不検出となった。この傾向は初期残留塩素濃度1.0ppmの試料でも同じであり、密封条件では残留塩素の消費は少ないとわかった。実際の給配水管での残留塩素消費は密封条件に相当するものと思われたことから、以後の水道管を用いた実験を密封条件で行えば、水温、保存時間による各種水道管の残留塩素消費の傾向を把握できるものと考えた。

2. 水道管(未使用管)を用いた残留塩素の消費

未使用の4種類の水道管について、密封条件で行った残留塩素消費の結果を表4に示した。(次頁)

水道管の種類によりに差がみられ、初期残留塩素濃度0.3ppm, 1.0ppmいずれにおいても、また、いずれの水温においても亜鉛びき管の残留塩素消費が顕著であり、次いでダクタイル管、石綿管、塩化ビニル管の順序で消費する傾向がみられた。水中の残留塩素は金属亜鉛を酸化し亜鉛を溶出する結果、消費が増大したものと思われる。ダクタイル管、石綿管の残留塩素の消費について、井川ら⁴⁾は材質によるpHの上昇により酸化反応が速くなるためと説明している。しかし両管の残留塩素消費に差異が生じた理由については不明である。なお、塩化ビニル管の残留塩素消費は対照のガラス容器に近似していた。また、水温による残留塩素の消費を比較してみると、いずれの水道管においても水温が高くなるほど速く残留塩素が消費された。これは井川ら⁴⁾の結果と一致していた。

なお、残留塩素の消費が顕著であった亜鉛びき管について、保存時間及び残留塩素濃度を変化させ、水温20°Cで試験を行った。その結果を表5に示した。

表3 ガラス容器による残留塩素の消費 (ppm)

保存時間(hr)	4°C		20°C		35°C	
	密 封	開 放	密 封	開 放	密 封	開 放
0	0.3 1.0	0.3 1.0	0.3 1.0	0.3 1.0	0.3 1.0	0.3 1.0
6	0.3 1.0	0.25 0.7	0.25 1.0	0.2 0.55	0.2 0.8	0.1 0.3
24(1日)	0.3 1.0	0.15 0.45	0.25 0.9	<0.1 0.1	0.2 0.8	0 <0.1
48(2日)	0.25 0.9	0.15 0.35	0.25 0.8	0 0	0.2 0.8	0 0
120(5日)	0.25 0.9	0.1 0.2	0.2 0.8	0 0	0.15 0.8	0 0
240(10日)	0.25 0.9	0 0.1	0.2 0.8	0 0	0.1 0.7	0 0

備考: <0.1は微量の検出を示す

表4 水道管(未使用管)による残留塩素の消費
(ppm)

保存時間(hr)	4 °C				20 °C				35 °C			
	ダクタ イル管	塩化ビ ニル管	亜鉛び き管	石綿管	ダクタ イル管	塩化ビ ニル管	亜鉛び き管	石綿管	ダクタ イル管	塩化ビ ニル管	亜鉛び き管	石綿管
0	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.25	0.25	0.2	0.25
1	0.3	0.3	0.25	0.3	0.2	0.3	0	0.25	0.1	0.25	<0.1	0.25
6	0.2	0.3	0	0.25	0	0.25	0	0.15	<0.1	0.25	0	0.2
24	<0.1	0.25	0	0.15	0	0.2	0	<0.1	0	0.2	0	0.15
48	<0.1	0.2	0	0.1	0	0.15	0	<0.1	0	0.15	0	0.1
保存時間(hr)	4 °C				20 °C				35 °C			
	ダクタ イル管	塩化ビ ニル管	亜鉛び き管	石綿管	ダクタ イル管	塩化ビ ニル管	亜鉛び き管	石綿管	ダクタ イル管	塩化ビ ニル管	亜鉛び き管	石綿管
0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	0.8	0.8	0.7	0.8
1	0.8	1.0	0.7	0.9	0.7	0.8	0.45	0.8	0.55	0.8	0.3	0.8
6	0.6	0.9	0.15	0.8	0.55	0.8	0	0.8	0.2	0.7	0	0.6
24	0.45	0.8	0	0.7	0.35	0.8	0	0.5	<0.1	0.55	0	0.3
48	0.3	0.8	0	0.6	0.25	0.7	0	0.35	<0.1	0.25	0	0.15

備考 : <0.1は微量の検出を示す。

亜鉛びき管については遊離残留塩素濃度を示した。

表5 亜鉛びき管による残留塩素の消費

保存時間(hr)	残留塩素(遊離)濃度(ppm)			
0	0.45	1.0	2.0	5.0
0.5	0.3	0.8	1.8	4.5
1.5	<0.1	0.4	1.4	4.0
6	0	0	0	2.3
24	0	0	0	0

備考 : <0.1は微量の検出を示す。

残留塩素は初期濃度0.45ppmのとき30分後に0.3ppmに、1時間半後には0.1ppm未満となった。1.0ppmのとき1時間半後には0.4ppm、6時間後には不検出となった。2.0ppmのとき1時間半後には1.4ppm、6時間後には不検出となった。5.0ppmのとき6時間後には2.3ppm、24時間後には不検出となり、比較的短時間に消費された。この結果は、井川ら⁹が行った鉄錆管を用いた試験結果とほぼ一致していた。

3. 水道管(使用管)を用いた残留塩素の消費

水道管は使用年数の経過とともに管内が腐食し、錆が生じたり表面が磨耗する。このことが残留塩素の消費に与える影響について調べるために、過去に埋設されていた水道管を用いて試験を行った。その結果を表6に示した。残留塩素の消費は未使用管と同様亜鉛びき

表6 水道管(使用管)による残留塩素の消費

(ppm)

水道管種	保存時間(hr)			
	0	1	6	24
ダクタイル管	1.0	1.0	0.8	0.25
塩化ビニル管	1.0	1.0	1.0	1.0
亜鉛びき管(1)	0.9	0.25	0	0
(2)	1.0	0.6	0	0
石綿管(1)	1.0	0.8	0.2	0.1
(2)	1.0	0.7	0.2	0.1

備考 : 亜鉛びき管については遊離残留塩素濃度を示した。

管が速く、初期残留塩素濃度1.0ppmが6時間後には不検出となった。次に石綿管、ダクタイル管の順序で減少していた。石綿管、ダクタイル管の順序が未使用管の場合と比べて逆転していたが、この理由は不明である。また、塩化ビニル管による残留塩素の消費は24時間経過後も認められなかった。

次に、前述の未使用管と比較すると、石綿管は使用管の方が残留塩素の消費が速く、ダクタイル管と亜鉛びき管は使用管の方が多少速く消費する傾向にあったが、その差異は明らかではなかった。塩化ビニル管では使用、未使用管のいずれでも塩素消費はみられなかっ

た、そこで、ダクタイル管と亜鉛びき管の未使用管と使用管の残留塩素の消費について、保存時間を変ええて水温20°Cで試験を行った。その結果を表7に示した。

表7 ダクタイル管及び亜鉛びき管による残留塩素の消費 (ppm)

水道管種	保存時間 (hr)					
	0	0.5	1	2	6	24
ダクタイル管(使用)	0.9		0.8		0.25	0.1
	0.9		0.8		0.7	0.45
亜鉛びき管(使用)	0.9	0.55	0.25	0	0	
	0.9	0.7	0.5	0.1	0	

備考：亜鉛びき管については遊離残留塩素濃度を示した。

ダクタイル管の残留塩素の消費は保存時間1時間後にはともに0.8ppmとなり、未使用、使用管の差異はなく、6時間、24時間後には使用管が未使用管の約1/3の濃度に減少した。また、亜鉛びき管では30分後で使用管の残留塩素濃度は0.55ppm、未使用管で0.7ppm、1時間後で使用管の残留塩素濃度は0.25ppm、未使用管で0.5ppm、2時間後で使用管の残留塩素濃度は不検出、未使用管で0.1ppmとなり、使用管の残留塩素が速く消費されることがわかった。

ま　と　め

水道管による残留塩素の消費を調べるために一般的に使用されているダクタイル管、塩化ビニル管、亜鉛びき管、石綿管の4種類の未使用管、使用管を用いて、その材質、保存時間及び水温と残留塩素消費との関係について実験的に調査を行い、次の結果を得た。

1. 比較対照としてガラス容器による残留塩素の消費試験を行ったところ、水温による影響も若干みられたが、満水・密封条件では長期間(10日間)にわたって残留塩素消費量は少なかった。

2. 水道管による残留塩素の消費は、塩化ビニル管<

石綿管<ダクタイル管<亜鉛びき管の順に速くなり、材質の影響がみられた。その中でも亜鉛びき管の消費が著しく速かった。

3. 未使用管と使用管の残留塩素の消費を比較してみると、塩化ビニル管を除いて使用管が未使用管よりも消費が速かった。鉄錆が発生していた亜鉛びき管(使用して10年以上経過したもの)では急速に残留塩素が消費された。

4. その他、残留塩素の消費は保存時間、水温によっても影響され、保存時間が長くなるほど、水温が高くなるほどその消費は増大した。

謝　　辞

この調査を終えるにあたり、調査の機会を与えて頂いた岐阜県簡易水道協会、岐阜県薬務水道課および水道管を提供して頂いた町村の水道担当者の皆様に深謝いたします。

文　　献

- 厚生省環境衛生局水道環境部監修：水道維持管理指針、日本水道協会、1982
- 後藤圭司：配水管網における水質変化(Ⅲ)管路内の残留塩素濃度減少速度係数、水道協会雑誌、57 1, 51-65, 1982
- 松井克肇、徳光信治、奥勇治：市内給水栓水の残留塩素適正保持に関する一考察、第37回水道研究発表会講演集、530-532, 1986
- 井川清、松井克肇、徳光信治：市内給水栓水の残留塩素適正保持に関する一考察(Ⅱ)、水道協会雑誌、631, 120-123, 1987
- 永島真知子、筒井剛毅、森本温威：水質による塩素消費量推定に関する一考察、水道協会雑誌、631, 136-138, 1987
- 厚生省環境衛生局水道環境部監修：上水試験方法、日本水道協会、1985

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

水田地帯の水道水源井の水質変動

寺尾 宏*

Variation in Chemical Composition of the Well Water for Water Supply Surrounded by Paddy Field

Hiroshi TERAO*

1. はじめに

地下水は河川水と異なり降雨などの影響を直接受けず、一般に懸濁物を含まないために水処理の必要もなく塩素消毒だけで給水できるなどのメリットがあり、水道水源として広く利用されている。しかし、近年地下水の汚染問題が全国各地で明らかにされており、従来から良好とされてきた地下水の水質も種々の汚染物質を含む可能性が懸念され、十分に監視を行っていかねばならない。岐阜県では、岐阜市をはじめ平野部の市町村の水道施設の多くは地下水を水源としており貴重な水資源となっている。

水道水の水質の監視は、水道法に基づき定期的に行われているが、毎月検査などの日常の検査は、給水栓水について行われており、個々の水源井については、年1回行われている原水の全項目検査だけである。よって、水道水源井の詳細な水質変動を普段から把握しておくことは、施設の維持管理の面から意義のあることである。特に、人為的な影響を受けやすい不圧地下水を取水する施設ではその必要性が大きいと考えられる。

著者は、肥料の影響を受けて硝酸性窒素濃度の高い畑作地帯における不圧地下水の水質変動調査を行い、10m以下の中極めて浅い井戸を除いて主要化学成分の季節的な変動はほとんどないことを明らかにした¹⁾。

今回は、水田地帯のほぼ中央に位置する不圧地下水

を取水している水道水源井を調査対象に選び、1年以上継続して水質調査を行い、水田への肥料の投与が水質に与える影響を調査した。

2. 調査対象とした水源井、調査項目

調査対象として、平野部に位置する周辺を水田で囲まれた2地点の水道水源井（A井戸、B井戸と呼ぶ）を選んだ。A井戸は深度70m、ストレーナ位置18～38m、B井戸は深度71m、ストレーナ位置20～40mの井戸であり、1日の揚水量はそれぞれ3,600ton、3,800tonである。A、Bの井戸は直線距離で約730m離れている。

調査期間は詳細な変動をみるために1987年5月から1988年6月までの14か月にほぼ2週間に1回の間隔でそれぞれ28回の採水を行った。

測定項目は、水温、水質の一般的な項目であるpH、電気伝導度、さらに肥料の影響を見るために硬度、および硝酸性窒素を対象にした。水温の測定は井戸直近で基準温度計を使用して行い、pH、電気伝導度の測定は、実験室で採取後30分以内に行った。硬度、硝酸性窒素はそれぞれEDTA滴定法、銅カドミウムカラム法によった。

また、水位観測データ（静水位）も合わせて利用した。

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

3. 結果および考察

各項目の平均値、標準偏差、変動係数、範囲を算出し、その結果を表1に示した。

3.1 水温

14か月、28回の測定における水温の変動幅はA井戸でわずか0.3°C、B井戸は0.9°Cであった。地下水温の年変化は10~20mで消失することが知られており²⁾、これらの井戸はいずれもいわゆる浅井戸であるが、ストレーナの位置が比較的深いことが水温の変動を極めて小さくしている大きな要因と考えられる。

3.2 pH

pHの変動も非常に小さかった。A、B井戸の測定結果はそれぞれ6.25~6.41、6.24~6.35の範囲であり、変動係数も1%以下であり、季節的な変動は認められなかった。

3.2 電気伝導度

電気伝導度も年間を通しての変動幅が小さく季節的な変動がみられなかった。電気伝導度の変動幅が小さいことは、溶存成分の変動が小さいことを示しており、水田へ肥料が投与されても水質に直接影響を及ぼしていないことを示した。

3.3 硬度

肥料の影響をみる指標の1つとして硬度を選んだ。肥料の影響がカルシウムイオン、マグネシウムイオンの上昇となって現れることが考えられる。

しかし、電気伝導度の測定結果から類推できるように、その変動幅は非常に小さく、変動係数はそれぞれ2.2、2.3%であった。

3.4 硝酸性窒素

A、B井戸の硝酸性窒素の測定結果を図1に示した。濃度範囲はそれぞれ2.6~3.1mg/l、2.4~3.1mg/lであり、水道水の水質基準（亜硝酸性窒素との合量で10mg/l以下）と比較すると低い値であるが、岐阜県の地下水の平均値1.4mg/l³⁾を上回る値であった。変動係数はそれぞれ4.9、8.5%であり、他の項目に比べて大きかったが、変動幅は他の成分と同様小さかった。

図1に示すように、B井戸では夏期に濃度の減少がみられ、冬から春にかけて上昇するという季節的な変動が変動幅は小さかったが認められた。水位の観測データをみると、水田に灌水が始まる6月後半から水位が上昇し、静水位は、A、B井戸でそれぞれ-3.3m、-4.1mまで上昇した。一方10月から下降に向かい4月にはそれぞれ-12.0m、-13.0mまで下がった。年間の水位差は両井戸とも約9mに達しかなり大きい水位変動がみられた。この観測結果と比較すると、B井戸では水位の上昇とともに硝酸性窒素の濃度が低下し、水位の低下とともに濃度が上昇するという、若干の関連性が認められた。

水田地帯にある不圧地下水を揚水している井戸のかん養源は、水田に灌水された農業用水に大きく依存し

表1 水道水源井の水質測定結果

測定回数=28

測定項目	測定値	A井戸	B井戸
水温 (°C)	平均値	18.0±0.1	17.4±0.3
	変動係数(%)	0.5	1.5
	範 囲	17.9~18.2	16.9~17.8
pH	平均値	6.31±0.04	6.27±0.03
	変動係数(%)	0.6	0.5
	範 囲	6.25~6.41	6.24~6.35
電気伝導度 (μS/cm)	平均値	134.9±3.0	138.5±3.1
	変動係数(%)	2.2	2.3
	範 囲	125~139	132~143
硬度 (mg/l)	平均値	39.4±0.9	40.1±0.8
	変動係数(%)	2.2	2.3
	範 囲	37.3~40.9	38.6~41.8
硝酸性窒素 (mg/l)	平均値	2.84±0.14	2.75±0.23
	変動係数(%)	4.9	8.5
	範 囲	2.6~3.1	2.4~3.1

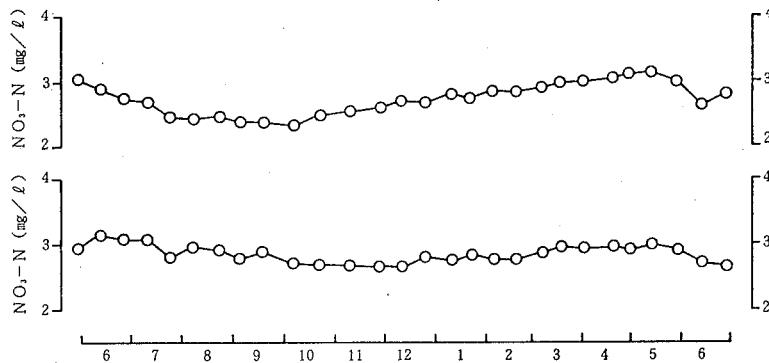


図1 水道水源井の硝酸性窒素の濃度変動

ている。^④水田では、肥料が田植え前の元肥、成長期の追肥として投与され、その量は年間10アール当たり窒素として6-10kgである。多量の肥料が年間2~3回の限られた期間に施肥されており、季節的な水質変動が現れることも十分予想されたが、今回調査対象とした地点では大きな変動は認められなかった。

また、硝酸性窒素の濃度は2~3mg/lのレベルであり比較的低濃度であった。湛水している作土層（粘土層）は還元状態にあるため、アンモニア窒素として土壤に吸着されるか、さらに還元が進んで脱窒作用により大気中に除去されるため、地下水へ移行する硝酸性窒素の割合は少なかったためと考えられる。

4.まとめ

今回調査対象とした水田地帯に位置する水源井の水質は年間を通して変動がほとんどなく、施肥による影響はみられなかった。この結果は、肥料成分の種によ

る吸収、あるいは粘土層での吸着によって地下水への移行量が減少すること、ストレーナの位置が深く、幅が広いために垂直方向だけでなく、水平方向の拡散、混合も進んでいることなどが原因と考えられる。

文 献

- 1) 寺尾宏、梶川正勝、森下有輝、加藤喜久雄：畑作地帯の地下水に対する農薬、肥料の影響、地球化学, 19, 31-38, 1985
- 2) 山本莊毅：地下水調査法, 354-359, 古今書院, 1983
- 3) 寺尾宏、森仁、加藤喜久雄：岐阜県における地下水、河川水の主要化学成分、日本陸水学会第53回大会講演要旨集, C-23, 1988
- 4) 寺尾宏、加藤喜久雄：岐阜県各務原台地の地下水のかん養源について、日本地球化学会年会講演要旨集, 1988

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

麻黄中のエフェドリン、プソイド エフェドリン、ノルエフェドリン、 メチルエフェドリン含量について

坂井至通*, 清水英徳*, 孟正木**

Determination of Ephedrine, Pseudoephedrine, Norephedrine and
Methylephedrine in Ephedra Herba

Yoshimichi SAKAI, Hidenori SHIMIZU, and Zheng-mu MENG

1. はじめに

漢方薬が薬価基準に収載され、漢方製剤技術も著しく向上したことから、医療の場での漢方薬使用が容易となった。また、西洋薬で治療効果の上がらない疾患に対する効果の期待や薬効の見直しにより、漢方薬の需要も大幅に伸びてきた¹⁾。その原料となる生薬の輸入量は増加の一途をたどっているが、生薬そのものは天産物であることから、急激な生産増加は困難であり、漢方薬の需要が増せば品薄となり品質低下を招くことも必然的である。良品質の生薬原料を用いてはじめて漢方薬の薬効を期待できるのであり、生薬の品質確保は不可欠なことである。

麻黄は、日本で生産されず中国より年間約140トン輸入され、漢方210处方に配合される重要な生薬で（出現頻度8.6%）²⁾、日本薬局方には第6局から生薬原料、鎮咳去痰薬として収載されている。局方の麻黄³⁾は、「*Ephedra sinica* Stapf又はその他同族植物 (Ephedraceae) の地上茎」とされ、市場品には*Ephedra sinica*を基原とするものが主といわれている。しかし、

中国で産出する麻黄には、草麻黄、中麻黄、木賊麻黄など基原植物の異なるものがあり、主成分のエフェドリン含量もそれぞれ異なるといわれている⁴⁾。そこで、日本市場で流通する麻黄について、産地、品位等級、基原植物等を調査し、エフェドリン (E)、プソイドエフェドリン (PE)、ノルエフェドリン (NE)、メチルエフェドリン (ME) の4種アルカロイド含量を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定^{4) 5)}し、麻黄の品質について比較検討したので報告する。

2. 実験方法

2-1 試料

1990年4月より8月にかけ、日本の市場で流通する麻黄を、大阪卸市場で3社、名古屋卸市場で2社、岐阜県内製薬会社2社より合計33検体入手し、表1に示した。また、入手した麻黄に貼付されたラベル等の表示および入手先への問い合わせにより、産地、品位等級（散、斎、束）、ロット番号を調査した。

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

** 中国薬科大学：中国南京市

** China Pharmaceutical University : Nanjin, China

表1 入手した麻黄

試料番号	品位等級	ロット番号	産地	入手先
1		912-H117	中國	A
2		002-C117	中國(陝西省)	A
3	束麻黃	912-C117	中國(内蒙古)	A
4		A	中國(内蒙古自治区)	B
5	散麻黃	A-9980	中國(天津市)	C
6	散麻黃	A-6987	中國(甘肃省)	C
7	散麻黃	A-5151	中國(吉林省)	C
8			中國(河北省)	D
9	斎麻黃	W10402	中國(内蒙古自治区)	E
10	斎麻黃	V05702	中國(内蒙古自治区)	E
11	束麻黃	X00801	中國(内蒙古自治区)	E
12	束麻黃	V12201	中國(天津市)	E
13	束麻黃	V18021	香港	E
14	束麻黃	W0321		E
15	散麻黃	X04502	中國(甘肃省)	E
16	散麻黃	X0106		E
17	散麻黃	V19101	香港	E
18	束麻黃		中國(大連市)	E
19	斎麻黃	C900215	中國(吉林省)	F
20	散麻黃	C880915	中國(甘肃省)	F
21	散麻黃	C870302	中國(甘肃省)	F
22	散麻黃	C900404	中國(内蒙古自治区)	F
23	散麻黃	C900109	中國(黒竜江省)	F
24	散麻黃	C890102	中國(甘肃省)	F
25	散麻黃	C890706	中國(天津市)	F
26	斎麻黃	C900702-B	中國(遼寧省)	F
27	散麻黃	C900704	中國(青海省)	F
28	散麻黃	C900711	中國(河北省)	F
29		2030106	中國(内蒙古自治区)	G
30		A-0978		C
31		A-0686		C
32				B
33		P 1 - 365		B

A, C, E (大阪市場卸業) B, F (岐阜県内製薬会社) D, G (名古屋市場卸業)

2-2 麻黄の外観計測

各試料から任意に十本ずつ採取し、節間の長さおよび茎径、鱗葉の枚数を計測した。また、茎横切片を作成し、実体顕微鏡下（倍率16倍）で観察し茎外周皮にみられる稜線数を計測した。

2-3 乾燥減量、エキス含量、灰分、酸不溶性灰分の測定

乾燥減量、エキス含量、灰分および酸不溶性灰分の試験は、第十一改正日本薬局方生薬試験法に記載された方法^⑤によった。

2-4 HPLCによる麻黄中のE, PE, NEおよびME含量の測定

a. 標準品

標準品は、E（塩酸エフェドリン、三和化学研究所）、PE（塩酸プロソイドエフェドリン、アルプス薬品工業）、NE（塩酸dl-フェニルプロパノールアミン、東京化成）、ME（dl-塩酸メチルエフェドリン、藤沢薬品工業）を用い、シリカゲルデシケーター中で乾燥保存した。

b. 移動相の調製

ラウリル硫酸ナトリウム（イオンペナークロマト用、ナカライトスク）約5gを精製水480mlに溶解した後、アセトニトリル（HPLC用、含量99.8%，キシダ化学）520mlを加え、さらにリン酸（試薬特級、小宗化学）

1 mlを添加し移動相とした。

c. 標準溶液および試料溶液の調製

各標準品は、105°Cで3時間乾燥した後、EおよびPE標準品は約35mg、またNEおよびME標準品は約4.5mgをそれぞれ精密に量り、移動相で正確に50mlとした。この5mlずつを正確に取り移動相で50mlとし、各標準溶液とした。

各麻黄は錠剤粉碎機で粉末とし、それぞれ約0.3gずつを精密に量り遠沈管に秤取した。これらに移動相25mlを加え15分振盪した後、3000r.p.m.で10分遠心分離した。各上清液は50mlメスフラスコに取り、沈殿物には新たに移動相20mlを加え同様に操作した。各上清液を合わせ移動相で正確に50mlとした。この5mlを正確に取り移動相で50mlとし、各試料溶液とした。

d. HPLC条件

HPLC装置(880-PU、日本分光)に、TSKgel ODS-80T_M(5 μm、トーソー)を充填したステンレスカラム(4.6φ×150mm)を接続し、移動相を1.0 ml/分で流し、210nm(875-UV、日本分光)で検出した。麻黄中のNE、PE、E、ME含量は、ピーク面積による絶対検量線法で測定した。

3. 結果および考察

3-1 鑑定

中国で流通する麻黄は主に、草麻黄(*Ephedra sinica* Stapf)、中麻黄(*E. intermedia* Schrenk et C. A. Meyer)、木賊麻黄(*E. equisetina* Bunge)の3種であるが、このほかに、麗江麻黄(*E. likiangensis* Florin)、膜果麻黄(*E. prezwalskii* Stapf)、矮麻黄(*E. gerardiana* Wall.)、双穗麻黄(*E. distachya* L.)などの麻黄も市場に流通している。これらの麻黄はすべてマオウ属⁷で、局方でいう「その他同族植物」に当たる。試料33検体のうち、入手由来の明らかなものは27検体で、中国産25、香港経由2検体で、産地は内蒙ゴ7、甘瀬5、天津3、吉林2、河北2、遼寧1、陝西1、大連1、黒竜江1、青海1検体であり、ほとんどは産地が明示されていた。中国では、草麻黄、中麻黄、木賊麻黄の市場性が高く、これらについては外観(節間の長さ、鱗葉の枚数、茎縦稜線数など)による薬材鑑定⁸が行われている。この薬材鑑定の基準を表2に示し、試料とした麻黄の節間の長さおよび茎径、鱗葉の枚数、茎縦稜線数を測定した結果およびこの基準に従い麻黄を判別した結果を表3に示した。

表2 麻黄の鑑定要領

項目	草麻黄 <i>E.sinica</i>	木賊麻黄 <i>E.equisetina</i>	中麻黄 <i>E.intermedia</i>	麗江麻黄 <i>E.likiangensis</i>
◎外観				
分枝の数	分枝少ない	小枝多く分枝	小枝多く分枝	茎枝粗(φ1.5~4 mm)
茎の形状	細長円柱形 直径1~2 mm 折れやすく脆い 辺縁緑黄色 中央髓部暗紅赤色	直径1~1.5 mm	直径1.5~3 mm	淡黄或いは黄緑 内心紅色
節間の長さ	2.5~6 cm 多くは3~4 cm	1.5~2.5 cm	2~6 cm	2~6 cm
茎縦稜の数	24以上	13~14	18~28	粗深明瞭
鱗葉の形	2裂(3裂もある) 膜質先端反巻 1/3~2/3裂開 基部常に筒状	2裂、紅色 不反巻 上部1/4分裂 短い三角形	3裂(希に2裂) 1/3分裂 先端鋭尖	2裂(3裂もある)、純三角形 茶或深褐色 1/2分裂 筒状
鱗葉の長さ	3~4 mm	1~2 mm	2~3 mm	2~4 mm
◎成分				
総アルカロイド含量	1.3%	1.02~3.33%	0.25~0.85%	
エフェドリン含量	80~85%	55~75%	30~40%	

表3 麻黄の外観測定および判別結果

試料番号	節間長 (mm)			茎 径 (mm)			鱗葉数	稜線数	判別結果
	Av.* ¹	SD* ²	CV* ³	Av.* ¹	SD* ²	CV* ³			
1	45.5	4.3	9.5	1.0	0.2	18.3	2	28	草麻黄
3	39.2	1.7	4.2	1.1	0.1	9.7	2	29	草麻黄
5	41.4	5.4	12.9	1.2	0.2	13.3	2	30	草麻黄
6	43.3	7.7	17.8	1.3	0.2	12.3	2	31	草麻黄
7	39.2	4.8	12.2	1.2	0.2	13.1	2	18	草麻黄
8	—* ⁵	—	—	1.3	0.1	9.8	2	20	草麻黄
9	42.9	3.8	8.9	1.0	0.1	11.5	2	31	草麻黄
10	46.6	4.8	10.4	1.2	0.2	14.5	2	24	草麻黄
11	46.0	7.1	15.3	1.1	0.1	10.0	2	23	草麻黄
12	47.9	5.1	10.5	1.1	0.1	6.3	2	22	草麻黄
13	50.8	3.5	6.9	1.2	0.1	10.0	2	23	草麻黄
16	43.8	5.5	12.6	1.2	0.2	13.2	2	23	草麻黄
18	42.3	6.0	14.1	1.2	0.2	12.1	2	24	草麻黄
19	46.8	6.0	12.8	1.1	0.1	10.1	2	18	草麻黄
22	34.0	6.1	18.0	1.2	0.1	9.4	2	24	草麻黄
23	44.0	4.9	11.1	1.4	0.1	9.5	2	29	草麻黄
25	39.8	7.0	17.5	1.2	0.2	15.4	2	21	草麻黄
29	40.0	10.0	10.0	1.3	0.3	20.8	2	26	草麻黄
30	52.5	5.2	9.8	1.0	0.1	11.8	2	22	草麻黄
31	41.1	4.0	9.8	1.3	0.1	8.4	2	19	草麻黄
32	32.4	2.1	6.4	1.3	0.2	12.5	2	20	草麻黄
14	63.2	8.2	12.9	1.7	0.1	8.1	3	34	中麻黄
15	58.2	11.9	20.5	1.5	0.2	13.0	3	25	中麻黄
17	57.1	8.6	15.1	1.3	0.2	16.8	3	14	中麻黄
20	44.2	5.3	11.9	1.5	0.2	14.9	3	22	中麻黄
21	44.9	10.2	22.7	1.4	0.2	14.9	3	26	中麻黄
24	46.0	6.5	14.1	1.5	0.2	11.0	3	27	中麻黄
29	44.1	4.2	9.5	1.4	0.1	8.6	3	27	中麻黄
28	37.2	4.6	12.4	1.0	0.3	30.7	2	21	木賊麻
33	25.7	3.0	11.8	1.3	0.1	9.5	2	25	木賊麻
2* ⁶	44.3	7.0	15.9	1.2	0.2	13.1	2	24	
	41.5	6.8	16.3	1.2	0.1	7.6	3	35	
4* ⁶	46.3	7.1	15.4	1.0	0.1	8.1	2	19	
	42.8	3.9	9.1	1.2	0.1	11.6	3	30	
26* ⁶	50.7	5.8	11.4	1.2	0.1	10.5	2	26	
	40.9	7.0	17.1	1.3	0.2	13.1	3	27	

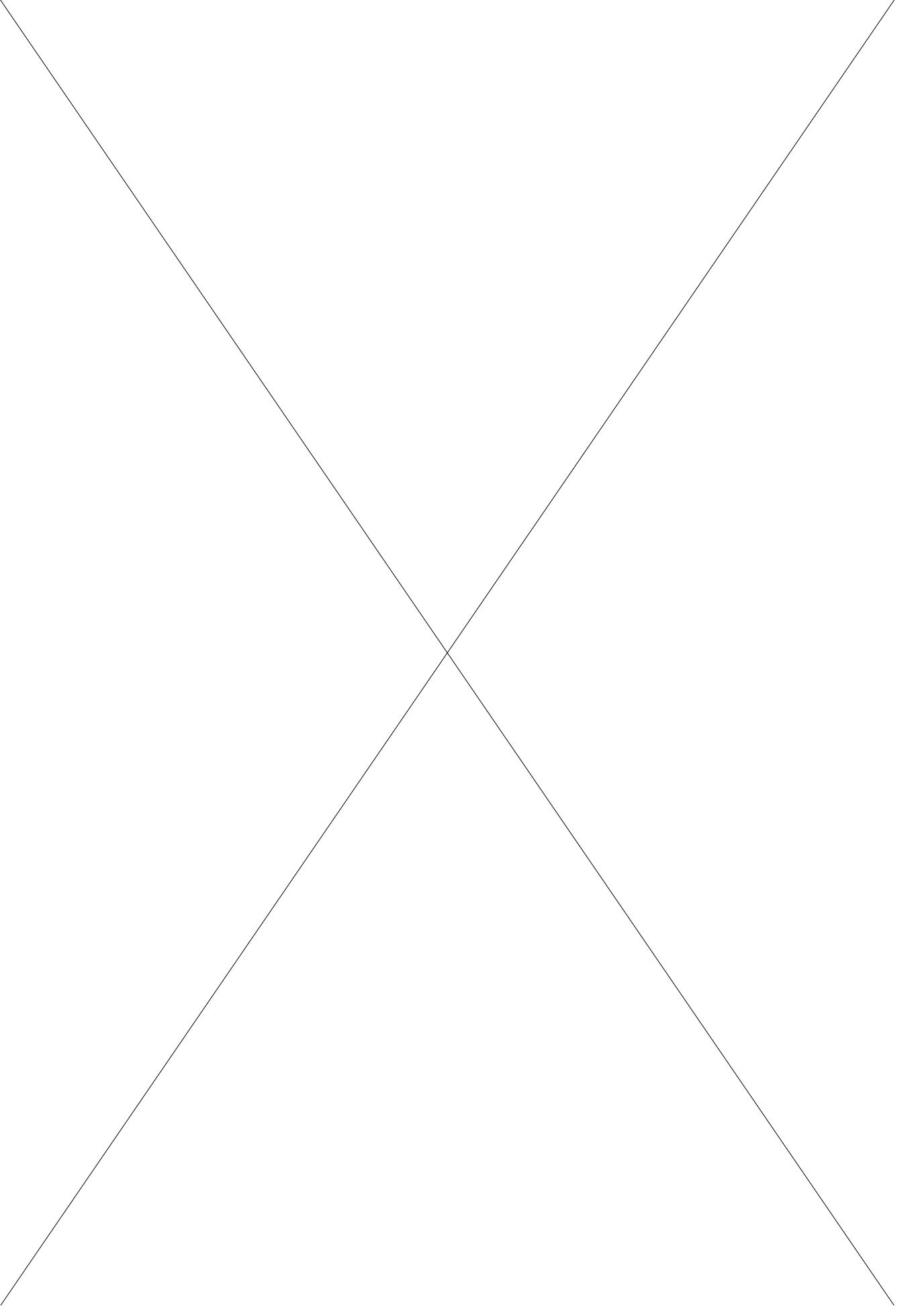
* 1 : 平均値 * 2 : 標準偏差 * 3 : 変動係数

* 4 : 蒙 ; 内蒙古自治区, 天 ; 天津市, 甘 ; 甘肃省, 吉 ; 吉林省, 大 ; 大連市, 竜 ; 黑竜江省, 青 ; 青海省, 陝 ; 陝西省, 河 ; 河北省, 遼 ; 遼寧省, 香 ; 香港

* 5 : カット生薬のため測定不能 * 6 : 2種の麻黄が混在し判別不能

判別できた麻黄は、草麻黄20, 中麻黄7, 木賊麻黄2検体で、試料番号2, 4および26は草麻黄と中麻黄の混在が認められ、両者を完全に分別できないため成分

定量等の分析ではそのまま1検体として鑑定可能であった29検体について、節間の関係を図1に示した。節間が長く茎径



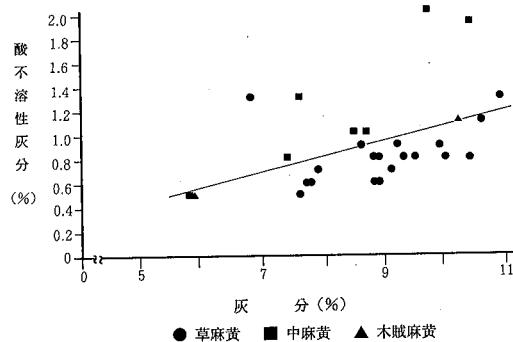


図2 灰分と酸不溶性灰分の関係

あった。これは、草麻黄が茎を揃えて束ねる斎麻黄が多いのに対し、中麻黄は根、根茎が混じる散麻黄が多いめではないかと思われた。

また、乾燥減量は最小値5.4%，最大値9.8%，平均値7.0%であった。エキス含量は最小値18.9%，最大値35.5%，平均値28.7%であった。草麻黄、中麻黄および木賊麻黄間でのエキス含量値の差は認められなかった。

3-3 E, PE, NE, ME含量

麻黄の主成分のEは、フェニルアラニンより生合成されるアルカロイドで^{9, 10)}、図3にE, PE, NE,

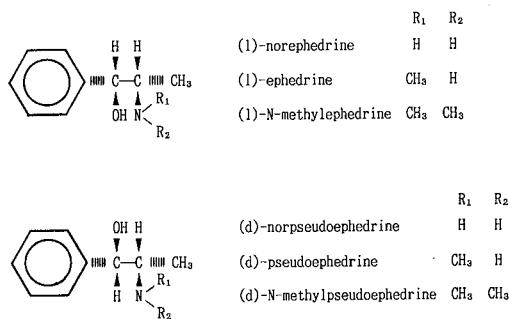


図3 麻黄中成分エフェドリン類の構造式

MEの4種アルカロイドの化学構造を示した。これらは、神経伝達物質のアドレナリンやドーパミンと類似した構造を有し、Eは交感神経興奮作用、中枢興奮作用、気管支拡張作用、PEは顕著な利尿作用と気管支拡張作用を示し、MEは、抗アセチルコリン作用、抗ヒスタミン作用、抗アドレナリン作用など抑制作用を示す。このように成分によって作用はそれぞれ異なるとされ¹¹⁾ている。

HPLC測定によるE, PE, NE, MEの4種アルカロイド含量、これらを合計した総アルカロイド量、さらに総アルカロイド量に対する4種アルカロイド含量比(%)を表5(次頁)に示した。基原植物ごとに4種アルカロイド含量平均値を比較すると図4の様になり、草麻黄と木賊麻黄は類似したパターンを示した

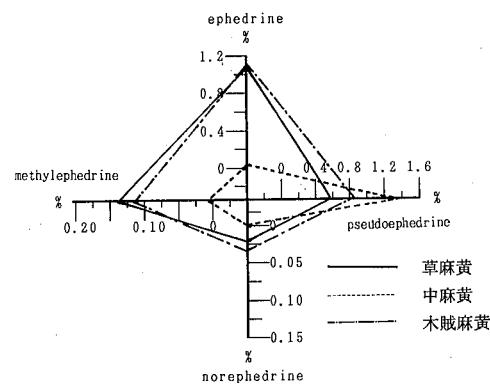
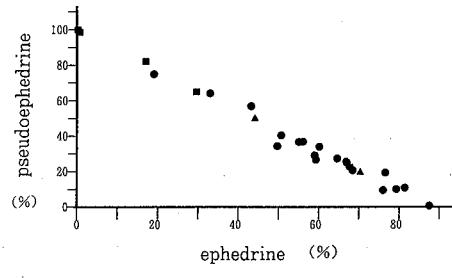


図4 4種アルカロイド含量による草麻黄、中麻黄、木賊麻黄のパターン

が、中麻黄はPE含量が高くこれらとは異なったパターンを示した。

総アルカロイドの最小値は0.69%，最大値2.58%，平均値1.69%であり、局方の定量法(滴定法)¹²⁾で測定したとき、麻黄中の総アルカロイド量は0.6%以上含むとされているが、HPLC測定による合計総アルカロイド量でも局方規格を下回るものはなかった。また、EとPEの関係調べるために総アルカロイド量に

図5 麻黄中のエフェドリンと
プサイドエフェドリン含量の関係

対する比率を合計すると、いずれの麻黄も84.3-100%の範囲であった。図5に示したように基原植物種別では、中麻黄はPE含量が高く、草麻黄はE含量が高い傾向が認められた。また、エキス含量と総アルカロイ

表5 麻黄中エフェドリン, プソイドエフェドリン, ノルエフェドリン,
メチルエフェドリン含量測定結果

試料番号	含 量 (%)					TotalE.に対する含量比 (%)				
	E (a)	PE (b)	NE (c)	ME (d)	TotalE. (T=a+b+c+d)	E (a/T)	PE (b/T)	NE (c/T)	ME (d/T)	E+PE (a/T+b/T)
1	0.87	0.11	0.03	0.14	1.15	75.7	9.6	2.6	12.1	85.3
3	1.71	0.23	0.03	0.20	2.17	78.9	10.6	1.4	9.1	89.5
5	0.76	0.34	0.10	0.09	1.29	59.2	26.5	7.3	7.0	85.7
6	0.42	1.64	0.09	0.05	2.20	19.1	74.6	4.0	2.3	93.7
7	0.88	0.58	N.D.	0.11	1.57	55.9	36.8	N.D.	7.3	92.7
8	1.03	0.66	N.D.	0.13	1.82	56.8	36.4	N.D.	7.2	93.2
9	1.37	N.D.	N.D.	0.20	1.57	87.1	N.D.	N.D.	12.9	87.1
10	1.93	0.26	N.D.	0.19	2.38	81.1	10.9	N.D.	8.0	92.0
11	0.95	1.27	N.D.	N.D.	2.22	42.8	57.2	N.D.	N.D.	100.0
12	1.44	0.37	N.D.	0.07	1.88	76.4	19.7	N.D.	3.9	96.1
13	1.11	0.63	N.D.	0.11	1.85	60.0	34.0	N.D.	6.0	94.2
16	0.91	0.33	N.D.	0.11	1.35	67.2	24.4	N.D.	8.4	91.6
18	1.08	0.87	N.D.	0.20	2.15	50.4	40.6	N.D.	9.0	91.0
19	0.60	0.42	0.03	0.17	1.22	49.6	34.7	2.5	14.2	84.3
22	1.03	0.44	N.D.	0.12	1.59	64.5	27.7	N.D.	7.8	92.2
23	1.49	0.46	0.05	0.18	2.18	68.4	21.1	2.2	8.3	89.5
25	1.08	0.42	N.D.	0.12	1.62	66.5	25.9	N.D.	7.4	92.4
29	1.15	0.58	0.04	0.19	1.96	58.7	29.6	2.0	9.7	88.3
30	1.32	0.39	0.04	0.14	1.89	70.1	20.5	2.1	7.3	90.6
31	1.01	0.68	0.03	0.12	1.84	55.0	37.0	1.5	6.5	92.0
32	0.78	1.51	0.02	0.05	2.36	33.1	63.9	0.8	2.2	97.0
最小値	0.42	N.D.	N.D.	N.D.	1.15	19.1	N.D.	N.D.	N.D.	84.3
最大値	1.93	1.64	0.10	0.20	2.38	87.1	74.6	7.3	14.2	100.0
平均値	1.10	0.58	0.02	0.13	1.82	60.4	31.8	1.1	7.1	92.2
14	N.D.	2.04	N.D.	N.D.	2.04	N.D.	100.0	N.D.	N.D.	100.0
15	N.D.	0.69	N.D.	N.D.	0.69	N.D.	100.0	N.D.	N.D.	100.0
17	0.12	0.60	N.D.	0.01	0.73	16.5	82.1	N.D.	1.4	98.6
20	0.25	0.56	N.D.	0.05	0.86	29.1	64.9	N.D.	6.0	94.0
21	N.D.	2.03	N.D.	0.01	2.04	N.D.	100.0	N.D.	0.4	100.0
24	N.D.	0.72	N.D.	N.D.	0.72	N.D.	100.0	N.D.	N.D.	100.0
29	N.D.	1.30	N.D.	N.D.	1.30	N.D.	100.0	N.D.	N.D.	100.0
最小値	N.D.	0.56	N.D.	N.D.	0.69	N.D.	64.9	N.D.	N.D.	94.0
最大値	0.25	2.04	N.D.	0.05	2.04	29.1	100.0	N.D.	6.0	100.0
平均値	0.05	1.14	N.D.	0.01	1.20	4.2	95.2	N.D.	0.8	99.4
28	1.15	0.84	0.04	0.12	1.65	69.7	20.6	2.4	7.3	90.3
33	1.12	1.31	0.03	0.12	2.58	43.4	50.8	1.2	4.6	94.2
平均値	1.13	0.82	0.03	0.12	2.11	56.5	35.7	1.8	6.0	92.2
2	0.62	0.66	0.09	0.10	1.47	41.9	44.6	6.1	6.8	86.5
4	0.61	0.99	0.05	0.20	1.85	32.9	53.4	2.7	10.8	86.3
26	0.71	0.86	N.D.	0.07	1.64	43.4	52.5	N.D.	4.3	95.9

E: エフェドリン PE: プソイドエフェドリン NE: ノルエフェドリン ME: メチルエフェドリン

TotalE.: 総エフェドリン N.D.: 0.01%以下

ド量の関係、灰分とEまたはPEとの相関性などについて検討を行なったが、顕著な結果は得られなかった。

4. まとめ

麻黄に関する実態調査を行なったところ、産地、品位等級、麻黄基原植物種に密接な関係を伺うことができた。産地別でみると、甘肃産は散麻黄が多く、麻黄種は中麻黄が主となっていた。中麻黄はPE含量と酸不溶性灰分が高かった。一方、茎が揃った斎麻黄は、内蒙古自治区産でE含量の高い草麻黄が主であることがわかった。EやPEに薬理作用の違いがあることから、麻黄の薬材鑑定を行い、目的に合った品種の麻黄を漢方薬に利用するのが望ましいと思われた。

参考文献

- 1) 永井吉澄：和漢生薬の流通と品質、薬業時報、平成3年6月10日
- 2) 原田正敏：210处方漢方薬物治療学、広川書店、1985
- 3) 日本公定書協会編：第11改正日本薬局方解説書、D906-D910、広川書店、1986
- 4) 衛生部薬品生物製品検定所編：中薬鑑別手帳、330-338、科学出版社、1978
- 5) 人見信之、清水袈裟光、山本恵一、三浦治、弓岡栄三朗：高速液体クロマトグラフィーによる漢方
製剤の品質管理、分析化学、35、202-206、1986
- 6) Sagara, K., Oshima, T. and Misaki, T.: A Simultaneous Determination of Norephedrine, Pseudoephedrine, Ephedrine and Methylephedrine in Ephedra Herba and Oriental Pharmaceutical Preparations by Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatography, Chem. Pharm. Bull., 31, 2359-2365, 1983
- 7) 日本公定書協会編：第11改正日本薬局方解説書、B167-B179、広川書店、1986
- 8) 江蘇新医学院編：中藥大辞典、2221-2225、上海科学技術出版社、1977
- 9) Shibata, S., Imaesaki, I. and Yamazaki, M.: Phytochemical Investigation on Cultivation of Medicinal Plants. XV. The Biogenesis of Ephedrine in Ephedra., Chem. Pharm. Bull., 7, 449-452, 1959
- 10) Yamazaki, K., Sankawa, U and Shibata, S.: Bio-synthesis of Ephedrine in Ephedra Participation of C6-C1 Unit, Tetrahedron Lett. 47, 4099-4102, 1969
- 11) 高木敬次郎、木村正康、原田正敏、大塚恭男：和漢薬物学、206-211、南山堂、1982

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

薬用歯磨中の総フッ素量とフッ素イオン濃度について

清水英徳*, 坂井至通*

Total Fluorine and Fluoride Ion Concentrations in Dentifrices

Hidenori SHIMIZU* and Yoshimichi SAKAI*

はじめに

飲料水中のフッ素イオン (F^-) 濃度と斑状歯の発生についての疫学的調査結果¹⁾²⁾³⁾から、 F^- が斑状歯の原因として知られるようになった。また同時に、高 F^- を含有する地域は他に比べ有意に虫歯発生が少ないことも明らかにされ、その後、米国⁴⁾、カナダ⁴⁾、京都府山科区⁵⁾、三重県朝日町⁶⁾、沖縄本島⁵⁾において、虫歯予防を目的に飲料水へのフッ素 (F) 添加が行われた。しかし、現在日本では、飲料水へのF添加は行われておらず、Fの利用としては、練り歯磨、含嗽剤、チューインガムなどへの添加が見られる。Fを人に応用する目的は、歯の虫歯予防あるいは骨多孔症の治療⁹⁾であるが、近年、F配合歯磨の長期使用によるとみられる年少児の斑状歯の増加報告⁷⁾⁸⁾や、歯科用F製剤の誤飲による中毒死亡例の報告⁸⁾が欧米で報告され、F配合製剤の適正使用について論議されている。Fを歯磨に利用する場合、日本では医薬部外品の薬用歯磨に、虫歯予防の目的でフッ化物の配合が認められ、その量はFとして1000ppm以下に規制されている⁹⁾。しかし、Fの化学形によっては虫歯予防効果が異なると報告されており¹⁰⁾、安全性と虫歯予防効果を考えて使用量の限界を示す必要がある。そこで、

市販薬用歯磨の販売状況について実態調査を行うと共に、F配合歯磨入手して総F量と F^- 量を測定し、有効性と安全性について若干の考察を加えたので報告する。

方 法

1. 市販薬用歯磨の実態調査

平成2年6月に岐阜市内の薬局10、量販店2の計12ヶ所で販売される薬用歯磨の種類と配合薬用成分を調査した。

2. 試料

F配合歯磨16製品（大人用5、小人用11）を実態調査した販売店より購入し、試料とした。表1に試料中の主な表示配合成分を示した。

3. 試薬

標準フッ化ナトリウム (NaF : 純度99.91%) は、橋本化成工業社製を、モノフルオロリン酸ナトリウム (Na_2PO_3F ; MFP) は、セントラル硝子社製を使用した。シクロヘキサンジアミン四酢酸 (CyDTA) は同仁化学社製、過塩素酸及び塩酸は精密分析用、水酸化アルミニウムは保栄薬品社製、軽質無水ケイ酸 (SiO_2) は富士化学工業社製の製剤用製品、他は試薬

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

表1 市販フッ素配合歯磨の配合成分

試料	対象	配合 フッ化物	研磨剤	湿潤剤	表示成分 結合剤	発泡剤	その他
A	大人	NaF ¹⁾	無水ケイ酸		ヒドロキシエチル セルロース	ラウリル硫酸 ナトリウム	乳酸アルミニウム
B	大人	NaF	無水ケイ酸	ソルビット液	ポリアクリル酸 ナトリウム	ラウリル硫酸 ナトリウム	無水ピロリン酸 ナトリウム
C	大人	MFP ²⁾	水酸化アルミニウム	ソルビット液, プロピレングリコール	カラギーナン	ラウリル硫酸 ナトリウム	
D	大人	MFP	酸化アルミニウム, リン酸水素カルシウム	ソルビット液, プロピレングリコール	CMC Na ³⁾	ラウリル硫酸 ナトリウム	
E	大人	MFP	無水ケイ酸, 炭酸カルシウム	ソルビット液, ポリエチレングリコール	CMC Na	ラウリル硫酸 ナトリウム	ケイ酸ナトリウム
F	小人	MFP	水酸化アルミニウム	ソルビット液, プロピレングリコール	カラギーナン	ラウリル硫酸 ナトリウム	
G	小人	MFP	二酸化ケイ素	ソルビット液,	CMC Na	ラウリル硫酸	
H				ポリエチレングリコール		ナトリウム	
I							
J	小人	MFP	水酸化アルミニウム	ソルビット液, プロピレングリコール	CMC Na	ラウリル硫酸 ナトリウム	
K							
L	小人	MFP	無水ケイ酸	ソルビット液, プロピレングリコール	ポリアクリル酸 ナトリウム	ラウリル硫酸 ナトリウム	
M							
N	小人	MFP	ジルコノシリケート	ソルビット液	CMC Na	ラウリル硫酸 ナトリウム	
O							
P							

1) NaF: フッ化ナトリウム

2) MFP: モノフルオロリン酸ナトリウム

3) CMC Na: カルボキシメチルセルロースナトリウム

特級品を使用した。

4. 試液

F⁻標準溶液: NaF標準試薬を500~550°Cで40~50分加熱後放冷し、NaF(M.W.=41.99)の約2.210gを精密に量り、精製水で1:1とした(F⁻濃度として約1000ppm)。この溶液を精製水で10倍希釈(F⁻濃度として約100ppm)し、更に10倍希釈(F⁻濃度として約10ppm)して各濃度に調製し、秤取量よりF⁻濃度のファクターを求めた。

MFP標準溶液: MFP(M.W.=143.95)約758mgを精密に量り、精製水で1:1とした(総F濃度として約100ppm)。MFP標準溶液中の総F濃度は、酸性下で分解蒸留後、F⁻濃度をフッ化物イオン電極により測定して求めた。

緩衝液: 5N水酸化ナトリウム溶液250mlと10M酢酸溶液250mlを混合し、CyDTA10.0gを加えて調製した(pH 5.2)。

5. 装置

F蒸留装置は名古屋三立製作所GT-2、超音波発生装置は多賀電気UW-25を使用した。また、F⁻濃度測定は、フッ化物イオン電極(電気化学計器7200型)と対照電極(電気化学計器4400型)を電位差計(電気

化学計器MODEL HG-3)に取り付け使用した。

6. 測定方法

1) 総F量: 試料約1gを精密に量り、精製水を加え超音波処理(45W, 38kHz)5分で均一にし100mlとした。この40mlを正確に取り300mlのケルダールフラスコに入れ、氷冷下でリン酸1ml、過塩素酸40ml、及び沸石を加えた後、直ちにF蒸留装置に接続し、140~150°Cで水蒸気蒸留した(留速5ml/min)。受器には精製水20mlを入れ、10%水酸化ナトリウム溶液を加え微アルカリ性とし、留液が200mlとなるまで蒸留した。この留液40mlを希塩酸で中和後、精製水で100mlとした。この液に緩衝液10mlを加え攪拌し、液温25±0.5°Cで安定した電位を記録した。あらかじめF⁻標準溶液で同様に測定し、作成した検量線から試料中のF⁻量を求めた。また試料約1gに、NaF又はMFPをFとして1mg相当量を添加し、添加回収率を求めた。

2) F⁻量¹¹⁾: 試料約10gを精密に量り、精製水30mlを加えた後ガラス棒でよくかき混ぜ、超音波処理で均一にし、精製水を加え全量を50mlにした。これを、13000rpmで、20°C、20分間遠心分離後、上清5mlを取り精製水を加え100mlとし、20倍希釈上清液

を得た。この溶液を、更に精製水で2倍希釈後、フッ化物イオン電極でF⁻量を測定した。また、20倍希釈上清液に、MFP配合歯磨においてF⁻50 μg、NaF配合歯磨においてF⁻100 μgを各々添加し、添加回収率を求めた。

3) 水可溶性総F量：2) で調製した20倍希釈上清液40mlを1) と同様に水蒸気蒸留後、フッ化物イオン電極でF⁻量を測定した。

7. 研磨剤等の配合成分による妨害検討

F配合歯磨に使用される主な研磨剤を用い総F量とF⁻量測定に対する影響を検討した。総F量測定では、Fとして1mg相当量を含むNaF及びMFPの標準溶液に、表2に示した研磨剤各0.5、1gを加え総F量を測定した。またF⁻量測定では、研磨剤各5、10gを量り各々6、2) と同様に20倍希釈上清液を調製し、その50mlにF⁻20 μg (NaFとして約44 μg) を添加しF⁻量を測定した。また、研磨剤の他に表1に示した配合成分についても、F⁻量測定の妨害を検討した。

結果及び考察

1. 市販F配合歯磨の実態調査

厚生省は、医薬部外品の薬用歯磨にフッ化物の配合を認め、その量はFとして1000ppm以下と基準を示している。しかし、これは総F量についての基準であり、NaFはF⁻として解離し、MFPはPO₃F²⁻となるためFの化学形によっては作用も異なると思われる。そこで、市販のF配合歯磨に配合されるF化合物の使用実態を調査するため、市場での販売調査を行った。その結果、薬用歯磨48製品のうちF配合歯磨は18製品(大人用6、小人用12)であり、NaFが2製品に、MFPが16製品に配合され、小人用製品には全てMFPが配合されていた。また、調査した薬用歯磨を大人用と小人用製品に分け、配合薬用成分を効能効果別に分類しその比率を検討した。その結果、図1に示す様に、小人用製品は大人用と異なり、虫歯予防を目的とする比率が高かった。

1989年の1年間の歯磨販売データ¹²⁾によると、上位20製品が全販売数量の78.9%を占め、その中にFを配合した歯磨は6製品あり、全販売数量の27.6%の販売率を示した。今回入手したF配合歯磨は、販売率の高い製品であった。

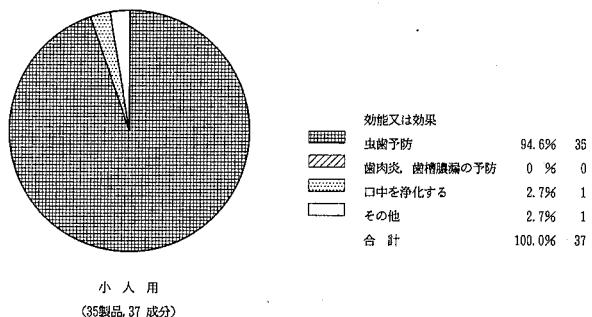
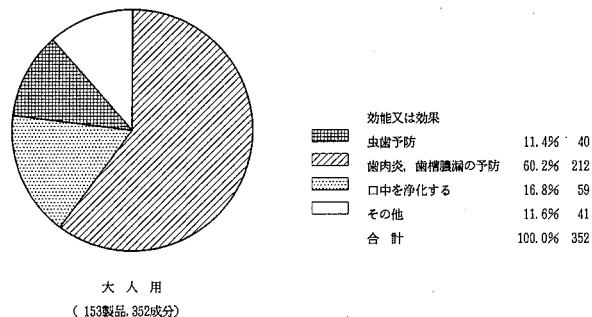


図1 配合薬用成分の効能・効果別比率

2. 研磨剤等の配合成分による測定妨害の検討

研磨剤は歯磨の35~40%を占める主要成分で、研磨剤の種類として、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、炭酸マグネシウム、水酸化アルミニウム、ベントナイトなどの無機物質が用いられている¹³⁾。アルミニウムイオンやカルシウムイオンは、F⁻の定量を妨害することが知られているため¹¹⁾、表2に示した研磨剤について、F測定妨害の有無の検討を行った。

表2 研磨剤による測定妨害の検討

研磨剤	総フッ素量回収率(%)			フッ素イオン量回収率(%)	
	F:研磨剤	NaF ¹⁾	MFP ²⁾	F:研磨剤	NaF
リン酸水素カルシウム	1:1000	102	101	1:25000	98.5
	1:500	99.2	99.4	1:12500	98.5
炭酸カルシウム	1:1000	94.4	97.0	1:25000	98.5
	1:500	96.8	95.2	1:12500	98.5
水酸化アルミニウム	1:1000	91.7	94.5	1:25000	98.5
	1:500	97.3	98.9	1:12500	98.5
軽質無水ケイ酸	1:1000	92.7	96.5	1:12500	97.5
	1:500	93.0	94.2		

1) NaF: フッ化ナトリウム

2) MFP: モノフルオロリン酸ナトリウム

その結果、総F量の回収率は、NaFの場合91.7~102%を示し、特に水酸化アルミニウムの1000倍比の添加で最も低い回収率を示した。しかし、歯磨中の研磨剤が50%（表2の配合比で1:500）の場合でも、回収率は93.0~99.2%と良好であったことから、研磨剤の配合量から考えて妨害はほとんどないものと思われた。またMFPの場合も、回収率94.2~101%を示し、測定妨害はほとんど見られなかった。他方、F⁻量測定の場合、F⁻の回収率は97.5~98.5%を示し、いずれの配合比でも測定妨害はほとんど見られなかった。

また、水可溶性総F量測定については、総F量測定とほぼ同様であるため、測定妨害の検討をしなかった。歯磨は、研磨剤の他、潤滑剤、結合剤、発泡剤及び香味剤から構成され、表1に示した研磨剤以外の配合成分についても同様に検討したが、F⁻量測定の妨害を示さなかった。以上のことから、いずれの配合成分によってもF測定の妨害はないと考えられた。

3. 試料中Fの測定と有効性、安全性の考察

試料中の総F量、F⁻量、水可溶性総F量測定の結果と添加回収率を表3に示した。

表3 試料中のフッ素量測定結果

試料	配合	総フッ素量		フッ素イオン量			水可溶性総フッ素量	
		フッ化物	含量(ppm)	添加回収率(%)	含量(ppm)	添加回収率(%)	比率(%)	含量(ppm)
A	NaF ¹⁾	867	97.8	618	96.2	71.3	662	76.4
B	NaF	875	98.6	931	94.7	106	866	99.0
C	MFP ²⁾	906	106	55.4	95.4	6.1	634	70.0
D	MFP	910	95.3	88.3	95.4	9.7	638	70.1
E	MFP	803	101	106	95.2	13.2	789	98.3
F	MFP	908	96.4	22.5	96.6	2.5	840	92.5
G	MFP	868	101	43.9	99.0	5.1	859	99.0
H	MFP	866	97.4	34.0	96.4	3.9	861	99.4
I	MFP	850	102	28.3	97.8	3.3	851	100
J	MFP	936	99.4	28.3	97.8	3.0	756	80.8
K	MFP	939	104	35.2	98.0	3.7	765	81.5
L	MFP	896	98.5	27.1	95.4	3.0	895	99.9
M	MFP	867	104	32.7	99.4	3.8	907	105
N	MFP	890	98.6	36.1	99.0	4.1	862	96.9
O	MFP	857	104	50.6	95.6	5.9	872	102
P	MFP	888	101	34.1	95.0	3.8	880	99.1

1) NaF: フッ化ナトリウム

2) MFP: モノフルオロリン酸ナトリウム

添加回収率は、総F量測定では95.3~106%，F⁻量測定では、94.7~99.4%と良好な値を示した。また、水可溶性総F量測定については、総F量測定とほぼ同様の方法であるため、添加回収試験の検討を行わなかった。

試料中の総F量は、803~939ppmと基準値の1000ppmを超える試料はなかった。F⁻量は、22.5~931ppmと幅広い値を得た。また、NaF配合歯磨は618,931ppmと高い値を示したのに対し、MFP配合歯磨は22.5~106ppmと低い値を示した。これは水可溶性総F量が、NaF配合、MFP配合を問わず、いずれも634~907ppmを示したことと異なった。そこで、配合フッ化物中のFが、水溶液中でどの様な化学形で存在するか明らかにするため、総F量に対するF⁻量および水可溶性総F量の比率を算出した。NaF配合歯磨の場合、総F量に対するF⁻量の比率と水可溶性総F量の比率はほぼ等しく、その値は70%以上であった。このため、NaF配合歯磨中のFは水溶液中でF⁻として存在することが示された。また、MFP配合歯磨の場合、総F量に対する水可溶性総F量の比率は70~105%を示したが、総F量に対するF⁻量の比率は、2.5~13.2%と低く、水溶液中にフッ化物は溶解しているが、F⁻として存在する割合は少ないことが認められた。この様に配合されるフッ化物の違いにより、水溶液中で存在するF⁻量の異なることが明らかとなつた。歯磨中でのFの化学形は、歯牙のF化と深く関連していると考えられるため¹⁰⁾、薬用歯磨中のF量を1000ppm以下とする基準の他に、水可溶性総F量とF⁻量の基準を示す方が望ましいと考えられた。

一方、Fの中毒量は約5~10mg/kg、最小致死量は16mg/kg(3才小児)と報告され⁹⁾、歯科用NaFの誤摂取例(小人)の報告⁸⁾では、恶心、嘔吐、下痢などの中毒症状の発症率が、NaF 4~8.4mg/kgの摂取で100%，3~4mg/kgで50%であることが示されている。しかし、MFPの急性毒性は、NaFより低いとされ、これは、加水分解によって発生したF⁻が毒性を示すためと考えられている¹¹⁾。今回測定した薬用歯磨中の総F量は全て基準値以下であり、適正に使用されれば問題ないと思われるが、仮に、標準体重14kgの3才児が大人用のNaF配合歯磨チューブ1本100gを誤食したとすると、体重1kg当たりNaF約16mgの摂取

となる。これは、中毒報告例⁸⁾と比較すると急性中毒を起こす可能性のある摂取量と考えられる。他方、MFP配合歯磨では、F⁻量がNaF配合歯磨より少なく、NaF配合歯磨に比べ、急性中毒の可能性は低いと思われた。

ま　と　め

薬用歯磨中のフッ化物について調査したところ、大人用にはNaFが、小人用にはMFPが多く利用されていた。総F量とF⁻量に分けての測定では、総F量、F⁻量測定も研磨剤等配合成分の測定妨害を認めず、いずれのF配合歯磨も基準値が守られていた。しかし、Fの有効性から考え、現在のFとして1000ppm以下の基準のみならず、F⁻量の規格設定も必要と思われた。また、安全性の点からみると、F⁻として遊離性の高いNaF配合歯磨を小児が誤って多量に誤食した場合、これまでの中毒報告例から急性中毒の可能性を否定することはできなかった。

謝　　辞

本研究を進めるに当たり、歯科医療でのF使用について御助言を頂いた河合歯科病院河合年朗先生、F中毒情報収集にあたり御協力頂いた大垣市民病院薬剤部早田道治部長ならび森博美先生、またMFPを提供して頂いた花王生活科学研究所に深謝いたします。

文　　献

- 1) Dean, H.T. :Distribution of mottled enamel in the United States, Pub.Health.Rep., 48, 703, 1933
- 2) Dean, H.T. :Classification of mottled enamel diagnosis, J.A.D.A., 21, 1421, 1934
- 3) Churchill, H.V. :Occurrence of fluorides in some waters of the United States, J.Ind. and Eng. Chem., 23, 996, 1931
- 4) 岡本清綱：新口腔衛生学／1　個人口腔衛生，第3版，医歯薬出版，1988
- 5) 高江洲義矩、田沢光正、飯塚喜一、中尾俊一、近藤武、山城正宏、上田喜一：沖縄本島における上水道フッ化物添加の経過について、口腔衛生会誌, 28, 335, 1978

- 6) 上田喜一：フッ素の毒性、安全性を考えるには、
歯界展望, 50, 1059-1061, 1977
- 7) British Dental Association :The Home
Use of Fluorides for Pre-School Children,
A Policy Statement, March, 1988, British
Association for the Study of Community
Dentistry
- 8) POISINDEX(R) Toxicologic Management
(1990)
- 9) 日本公定書協会編：医薬部外品・化粧品製造申請
ガイドブック, 第一版, 34, 薬事日報社, 1991
- 10) Ericsson, Y. :The mechanism of the mono-
fluorophosphate action on hydroxy apatite
and dental enamel, Acta Odont.Scand., 21,
341-358, 1963
- 11) F.N.Hattab :Analytical methods for the
determination of various forms of fluoride
in toothpastes, J.Dent., 17, 77-83, 1989
- 12) 国際商業, MAY, 120, 1990
- 13) 河合年朗：薬剤師のためのデンタルメモ, 144,
薬事日報社, 1987
- 14) Frank A.Smith, Harold C.Hodge :Toxicology of Monofluorophosphate, Caries Res.,
17 (Suppl.1), 36-45, 1983

岐衛研所報
Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県における神経芽細胞腫マススクリーニングの結果について

(昭和61年度～平成2年度)

今井 準三*, 伊藤 嘉浩*, 森 洋 隆*,
後藤 喜一*, 河合 信*

Results of Mass Screening for Infant Neuroblastoma in Gifu Prefecture, 1986-1990

Junzo IMAI, Yoshihiro ITO, Hirotaka MORI, Kiichi GOTOH and Makoto KAWAI

はじめに

神経芽細胞腫は小児癌の中では白血病に次ぐ頻度で発生する疾患で、早期に発見治療すれば、救命可能なことが知られている。この疾患のマススクリーニング(MS)は、沢田ら¹⁾がろ紙尿を用いてのバニルマンデル酸(VMA)の呈色反応をスクリーニング検査法として確立したことにより、1985年より全国的に実施されるようになった²⁾。その後、スクリーニング法は高速液体クロマトグラフ(HPLC)法と変遷を遂げているが、乳児期でのMSの効果は、発見例では良好な予後が得られていることにより確認されている³⁾。岐阜県では、昭和61年4月より(昭和60年10月以降出生児を対象とする) MSが開始され、平成2年10月よりは新システム(HPLC法)により実施されてきている。ここに、平成2年度までのMSの成績をまとめたので報告する。

方 法

1. 検査対象および採尿方法

対象者は県内在住の乳児(6～7ヶ月児)で、保護者が就寝前におむつの間にろ紙(東洋ろ紙No.63,

1.5×5cm)を2枚(再検査は5枚)はさみ、翌朝尿がしみたろ紙をそのままチャック付きポリエチレン袋に入れ、検査機関に郵送した。また、採尿バッグにより生尿を採り、搬入した(再精密検査)。

2. 検査システム、機関および方法

一次検査は、県立の3保健所(大垣、可茂、多治見)で、再検査、精密、再精密検査は衛生研究所で担当した。

一次検査は尿ろ紙についてDip法⁴⁾により実施した。再検査は、一次検査でVMAが5μg/ml以上であった被検者について、再度採尿(ろ紙5枚づつ、連続2日、2日分まとめて郵送)し、Dip法を行った。精密検査は、再検査でVMAが5μg/ml以上であった尿ろ紙の残りより尿を絞り出し、HPLC法⁵⁾によりVMA、HVAを定量し、クレアチニン(Cre)補正值を求めた。再精密検査は、精密検査でカットオフ値(VMA20μg/Cre, HVA35μg/mgCre)を超えた被検者について生尿を用い、VMA、HVAを定量した。その結果がカットオフ値を超えた場合は医療機関受診とした。

* 岐阜県衛生研究所：岐阜市野一色4丁目-6番-3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

結果および考察

1. MSの受検状況

各年度別の受検状況を表 1 に示した。

表 1 マススクリーニング受検状況

年度	対象	一次検査	再 検 査		精密検査	再精密 検査者 数	患者
		受検者数(%)	指示数(%)	受検者数(%)	受検者数(%)		
61	22,588	16,530(73.2)	1,433(8.67)	1,256(87.7)	410(32.6)	3	1
62	22,497	17,380(77.3)	1,694(9.75)	1,597(94.3)	523(32.7)	1	0
63	21,870	17,825(81.5)	1,582(8.88)	1,387(87.7)	521(37.6)	4	3
1	20,930	16,945(81.0)	1,651(9.74)	1,520(92.1)	484(31.8)	1	1
小計	87,885	68,680(78.1)	6,360(9.26)	5,760(90.6)	1,938(33.6)	9	5
2	20,649	9,112	928(10.2)	859(92.6)	337(39.2)	1	1
計	108,534	17,179(83.2)*	7,288(9.37)	6,619(90.8)	2,275(34.4)	10	6

* : 新システム（平成 2 年度途中に一次検査より HPLC に切り換えた）受検者を合わせた数値

一次検査受検率は、年々上昇する傾向が認められるものの、未だ 17% ほどの乳児が検査を受けていない。5 年間累計では 20,000 余人が未受検者となるので、受検率向上の努力がなお一層必要であろう。

Dip 検査の再検査率は平均 9.26% で、やや高い傾向があったが、これは Dip 法のカットオフ値を $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ と低くしたことと、3 保健所の検査担当者が注意深く、丁寧に判定された結果だと考えられる。実際に再検査を受けた乳児は、要再検査の指示をうけた乳児の 90.6% で 600 人が再検査を受けなかった。一次検査の Dip 値が特に高い例は個別に電話して提出してもらっているので、この中に陽性者のいる確率は低いものと考えている。この疾患は早期発見がポイントとされているだけに、受検率の上昇は重要な問題である。

再精密検査を行ったのは 11 人であったが、このうち再精密検査の結果で陰性と判定された乳児が 3 人で、医療機関受診を勧めた乳児が 8 人であった。この中で

患者と診断された乳児は 6 人であった。患者発見率は平成元年度までの 4 年間で 1/13,736 であり、Dip 法による全国平均値 1/24,463⁹⁾ とほぼ同レベルの値であった。現在までのところ、検査で陰性と判定した乳児の中からの発症は報告されていないのは誠に幸いである。

2. 採尿から到着までの経過日数

尿は採尿後日数を経過するにつれ腐敗する。ろ紙尿にみられる低 Cre の原因が細菌汚染であることを水田ら⁷⁾ が報告し、その後われわれも乳児尿の低 Cre の原因について検討を加え、細菌汚染であることを明らかにしてきた^{8,10)}。集尿方法が郵送より他にない状況では、どれほどの日数を要するのか確認することは採尿方法との関連で重要である。保護者には採尿後できるだけ早く投函するように指導、要請し、Dip 法のためには 4 日までは許容するということで実施してきた。平成元年度の実態を表 2 に示した。

表 2 採尿から到着までの経過日数（平成元年度）

日 数	0	1	2	3	4	5 ~	不明	計
検 体 数	34	1,037	296	26	5	18	19	1,435
比 率 (%)	2.4	72.3	20.6	1.8	0.3	1.3	1.3	100

4日以内が97.4%に達しており、5日以上が1.3%で、9日も経過したものがみられた。採尿日の記載もれの検体も1.3%みられた。岐阜県では、一次検査からHPLCでVMA, HVAを定量する新システムに変更するにあたり、採尿方法をろ紙から容器に変えた。容器はろ紙に比べ、汚染細菌の影響が発現し難いことが判明している¹¹⁾ので、4日までを許容すれば日数経過のために再採尿を要請する頻度も3%弱に留め得るものと考えられる。

3. 再採尿依頼件数およびその理由

正しい検査結果を得るために、被検者の身体の状況を正しく反映している尿について検査することが必要であるが、すべてを満足させる検体の取得は実際には非常に困難である。尿は、生体の内因的要素だけでなく、飲水、発汗、運動、食事により成分、濃度に影響を受けやすい。また、保護者が採尿することもあって、採尿時およびその後の検体の取り扱いも問題となる。

4年余の間に、再採尿を依頼した件数とその理由についてまとめた（表3）。

低Creのための検体が多いのは、尿をしました後、湿ったままのろ紙を郵送してもらったために、Cre分解菌の影響が現れ易かったためと考えられる。ろ紙を使用する場合は、保護者に乾燥してから投函するよう指導、要請することになっている¹²⁾。しかし、乾燥条件が一様にはならないこと、日光ではVMA, HVAが分解する¹³⁾こと、半乾きがかなりみられ、半乾きでは細菌作用が防げない¹²⁾こと、実際の乾燥はどんな条件で行われたのか判らないことなどの問題点が指摘されており、未だ十分な方法ではない。そのため岐阜県では湿ったままのろ紙で検査してきた。細菌汚染の影響抑制の手段として、われわれは薬剤を添加することを検討し、殺菌消毒剤の、塩化ベンザルコニウム、グルコン酸クロルヘキシジンを0.02%量添加すれば十分であり、容器にも添加した方がより安全であることを確認している^{11), 14)}。その成績に基づき容器製造段階で薬剤を添加する業者、検査機関がでてきている¹⁵⁾が、現在ではコストが若干高くなるのが問題である。利用施設が増加すればコストダウンが可能となり、低Creが理由の再検査が減少することが期待される。

表3 再採尿依頼件数およびその理由

年 度		61	62	63	1	2	計 (%)
依 頼 件 数	件 数	56	69	72	86	49	332 (100)
提 出 件 数	件 数	47	60	67	70	56	300 (90.4)
依 頼 理 由	低クレアチニン	40	40	53	60	34	227 (68.4)
	陽性の疑い	10		5	2	5	22 (6.6)
	尿がうすい	4	25	7	3	3	42 (12.7)
	尿が古い	1	3	7	20	5	36 (10.8)
	便がついている			1		1	2 (0.6)
	別のピーク	1			1	1	3 (0.9)

平成2年度の提出件数が依頼件数より多いのは、元年度分8名が提出されたためである。

毎年度検査件数の4~6%にあたる数を再採尿要請したが、その理由で最も多いのは、Creが低いために補正值が高くなるものであった。次に多いのは尿がうすいために正確な検査結果が得られないと思われたものであるが、この中には尿が十分しみていないものも含まれている。以下、尿が古い、陽性の疑い、便がついていて検査不能、別のピークがみられるであった。

4. 患者の経過

MSで発見された6名の患者の経過、予後について表4に示した。

いずれも、外科的に腫瘍切除術を受けているが、経過は順調である。特に患者Bは保健所での一次検査ではDip法でVMAが10μg/mlであったが、20日後には30μg/mlに達しており、定量結果でも非常に高い

表4 マススクリーニングで発見された患者の記録

患者 検査 及び処置	A 女	B 男	C 女	D 男	E 女	F 女
生年月日	S.60.12.20	S.63.1.26	S.63.7.9	S.63.8.3	H.1.3.25	H.1.10.16
HO検査年月日(Dip)	S.61.7.10	S.63.8.210	H.1.2.610	H.1.2.20(5)	H.1.9.2710	H.2.4.2300
再検査採尿年月日	S.61.7.21/22	S.63.8.22/23	H.1.2.20/21	H.1.3.6/7	H.1.10.30/31	H.2.5.7/8
再検査結果(Dip)	10,5-10	>30,30	10,20	5-10,5-10	5-10,5-10	5-10,5
精密検査 VMA	57.3,50.3	187,166	63.2,63.1	44.1,47.8	17.7,29.0	45.3,42.8
HVA	59.1,46.2	216,196	4.7,3.2	48.3,51.7	22.4,38.6	37.2,34.2
再精密検査年月日	S.61.8.4		H.1.3.14	H.1.3.16	H.1.12.15	H.2.5.15
VMA	46.5		46.3	47.1	32.6	54.5
HVA	56.4		32.0	49.6	36.0	40.3
医療機関受診年月日	S.61.8.13	S.63.9.1	H.1.3.	H.1.4.20	H.1.12.18	H.2.5.21
腫瘍発生部位	左副腎	左副腎,腹部交感神経節	胸部,腹部交感神経節	右後腹膜		両側副腎
処置	化学療法,手術	化学療法,手術	化学療法,手術	化学療法,手術	化学療法,手術	化学療法,手術
腫瘍の大きさ	5.5×5.3×3.5cm,54g	不明	4.5×?	3.5×4×6.5cm,41g	不明	4.0×4.0cm,30g
病期	I	III	III	III	II	II
経過	再発なく良好	再発なく良好	再発なく良好	退院,治療中止	再発なく良好	再発なく良好

Dip ; $\mu\text{g}/\text{ml}$, VMA, HVA ; $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン

VMA, HVA値を示していたため、再精密検査を実施することなく医療機関受診を勧めた例であるが、幸いにも経過は順調である。また、患者Eは、一次、再検査ともDip法の値はあまり高くなく、精密検査の結果もカットオフ値ぎりぎりであり、判断に迷う例であった。約2週間後に1回採尿したが、尿がうすく、VMA, HVAは全くの正常値であった。しかし、尿がうすいのでもう一度採尿したところカットオフ値をわずかに上回る値を示した。再精密検査(採尿バッグ使用)でもわずかに高めという程度であったが、医療機関受診を勧めた。うすい尿は正確な値を示さないので再採尿する申し合わせになっている¹⁶⁾が、その重要性を身にしみて感じるとともに、初期の患者で、尿が適切でない場合には見逃す危険性が増大することを感じさせられた例であった。

5. 別の疾患の同時スクリーニング

本MSはHPLCでVMA, HVAを測定する方法であるため、HPLCクロマトグラムに注意することにより別の疾患を発見することが期待できる。われわれは、Dip法で極めて強い陽性を示すのにVMA, HVAは正常値である3例に遭遇した。その原因物質を検

索し、高速液体クロマトグラフ/質量分析計により、キサンツレン酸、3-ヒドロキシキヌレンであることを明らかにした^{17,18)}。これはトリプトファン代謝物であり、この3例はトリプトファン代謝異常症と診断され、医療機関での管理下におかれているが、現在では生育は全く正常である。

本MSのHPLC法でこれらの疾患を同時にスクリーニングできることを明らかにし、その条件を設定した¹⁸⁾。他にもメルカプトン尿症を発見した報告がある¹⁹⁾。

まとめ

岐阜県における4年半の神経芽細胞腫マススクリーニングの総括を試みた。

県立の3保健所でスクリーニング(Dip法)し、以降衛生研究所でDip法、HPLCによりVMA, HVAを定性、定量する方式で78,000人の乳児の検査を行った。受検率は年々向上したが、4年半を通じては78%であった。未受検者が20,000余人あり、受検率の向上を図る努力が重要と思われた。発見できた患者は6人で、発見率は全国の値と同水準であった。患者6人の

経過はいずれも順調であった。衛生研究所での再採尿依頼件数は検査件数の4-6%に上ったが、最も多い理由は低クレアチニンであった。この原因は細菌汚染によることを明らかにし、細菌の影響はろ紙より容器では少ないことを明らかにして、新システム移管時に採尿方法をろ紙から容器に変更するよう指導した。また、3例の別の先天性代謝異常症（キサンツレン酸尿症／ヒドロキシキヌレニン尿症）を発見し、本マスクリーニングで別の疾患をスクリーニングできることを明らかにした。

本マスクリーニングは未だ多くの解決すべき問題点を抱えている。採尿容器については、薬剤添加がより安全であり、HPLCの方法についても正確性と操作性を追求する必要がある。今後とも全国の動向把握に努め、より良いシステムづくりをめざす必要がある。

マスクリーニング開始時期から終始ご指導を賜った名古屋市衛生研究所児玉京子技師に心より感謝いたします。また、一次検査を担当された大垣、可茂、多治見保健所の検査課他の担当者、衛生環境部保健予防課の担当者、患者の情報を提供していただいた岐阜大学医学部小児科山田幸治、国立長良病院外科水津博、名古屋市立大学医学部第二外科原 普二夫の各先生に感謝いたします。

当所における本業務の多くは岩田久子、大平恵美子、長島久美子の諸氏によってなされたことを記して感謝します。

文 献

- 1) 沢田 淳、戸沢睦彦、東道伸二郎、天野忠温、田井純子、高田 洋、今宿晋作、楠 智一：Functional Neural Tumor特に神経芽細胞腫（Neuroblastoma）の早期発見のためのMass Screeningについて—(III) 乳児期のマス・スクリーニング—、日本小児外科会誌, 14, 25-31, 1978
- 2) 厚生省児童家庭局長：神経芽細胞腫検査の実施について、児発第573号, 1984.7.10
- 3) 沢田 淳、：小児悪性腫瘍とマススクリーニング—神経芽細胞腫のスクリーニングの課題—、医学のあゆみ, 155, 63, 1990.10.6
- 4) 中田利一、石井譲治、児玉京子、三谷一憲、土平一義、山中克己、磯村修三、角岡秀彦、加藤敬純、長繩信幸、正岡 昭、加藤 浩：DIP法を利用した乳児期における神経芽細胞腫のVMA (Vanillyl mandelic acid) の検査、日本公衛誌, 30, 227-233, 1983
- 5) 今井準三、田中久子：神経芽細胞腫マススクリーニングの精度向上に関する検討（第2報）高速液体クロマトグラフ法による尿中VMA、HVA定量法の検討、岐阜衛研所報, 32, 30-33, 1987
- 6) 厚生省心身障害研究マススクリーニングに関する研究班、神経芽細胞腫検査における高速液体クロマトグラフィーの使用について、改訂版神経芽細胞腫マススクリーニング, p.182, 母子愛育会, (1989)
- 7) 水田満里、海佐裕幸：神経芽細胞腫のマス・スクリーニングについて、日本公衛誌, 35, 179-183, 1988
- 8) 今井準三、田中久子、後藤喜一、坂井至通、森下有輝、河合 信：神経芽細胞腫マススクリーニングにおけるろ紙尿のクレアチニン異常低下の解析、日本公衛誌, 35, 521-525, 1988
- 9) 後藤喜一、田中久子、今井準三、河合 信：神経芽細胞腫マススクリーニングにおけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究（第一報）クレアチニン分解菌の分離とその汚染状況について、日本公衛誌, 36, 645-651, 1989
- 10) 後藤喜一、長野 功、所 光男、今井準三、田中久子、河合 信：神経芽細胞腫マススクリーニングにおける濾紙尿の細菌汚染に関する研究（第二報）クレアチニン分解性Arthrobacterの血清型別の試み、臨床と微生物, 17, 83-88, 1990
- 11) 今井準三、岩田久子、長島久美子、後藤喜一、河合 信：神経芽細胞腫マススクリーニングにおけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究（第三報）細菌汚染防止対策としての塩化ベンザルコニウム添加の効果、岐阜衛研所報, 35, 23-29, 1990
- 12) 沢田 淳：HPLCによる神経芽腫マススクリーニング—VMA、HVA測定上の問題点について—、日本医事新報, No.3350, 29-31, 1988.7.9
- 13) 大平恵美子、岩田久子、今井準三、後藤喜一、河合 信：神経芽細胞腫マススクリーニングの精度向上に関する研究—VMA、HVA溶液の安定性—,

- 岐阜衛研所報, 34,27-30,1989
- 14) 今井準三, 後藤喜一, 岩田久子, 伊藤嘉浩, 森洋隆, 河合 信: 神経芽細胞腫マスクリーニングにおけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究(第六報)細菌汚染防止対策としてのグルコン酸クロルヘキシン添加効果と高速液体クロマトグラフィーへの影響の有無, 日本公衛誌投稿中
- 15) 沼田公介, 楠井晴雄, 平田史郎, 澤田 淳: 神経芽細胞腫検査—尿の汚染防止についての検討, 臨床検査, 35,401-404,1991
- 16) 昭和63年度神経芽細胞腫検査技術者研修会総合討議: 改訂版神経芽細胞腫マスクリーニング, p.160, 母子愛育会, (1989)
- 17) 今井準三, 岩田久子, 後藤喜一, 河合 信, 松川洋子, 山本隆雄, 松浦健二, 竹内千尋, 山口清次: 神経芽細胞腫マスクリーニングで経験したVMA反応偽陽性の原因物質 キサンツレン酸, 医学のあゆみ, 152,133-134,1990.1.13
- 18) 今井準三, 岩田久子, 長島久美子, 伊藤嘉浩, 後藤喜一, 河合 信, 山口清次, 折居忠夫: 神経芽細胞腫マスクリーニングでVMA偽陽性を示すキサンツレン酸尿症, 第18回日本マスクリーニング学会抄録集, 87,1990
- 19) 山口清次, 清水信雄, 折居忠夫, 今井準三, 河合 信, 佐倉伸夫, 浜川以行, 松浦健二: 質量分析を用いたVMAスクリーニング偽陽性物質(キサンツレン酸, ヒドロキシキヌレニン, ホモゲンチジン酸)の同定, 日本医用マススペクトル学会講演集, 16, 129-132,1991

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

薄層デンシトメトリーによるテトラミンの定量法

白木康一*, 小林香夫*, 棚橋宣康*,

Determination of Tetramine by Thin Layer Chromatography and Densitometry

Koichi SHIRAKI*, Yoshio KOBAYASHI* and Nobuyasu TANAHASHI*

はじめに

寒海に生息するエゾバイ科のヒメエゾボラ、エゾボラモドキなど肉食性巻貝の唾液腺には、テトラミン [$\text{tetramethyl ammonium } (\text{CH}_3)_4 \text{N}^+$] が局在することが知られている。これを可食部と共に食したために発生した食中毒^{1,2)}が報告されている。

岐阜県においても1989年にエゾボラモドキによるテトラミンを原因物質とする食中毒³⁾が発生し、これを測定する機会に恵まれた。

テトラミンは、一般的に薄層クロマトグラフィーで確認し、マウス致死試験法⁴⁾によって定量されている。

最近では、イオンクロマトグラフィー^{5,6)}、液体クロマトグラフィー⁷⁾による定量法も報告されている。

マウス致死試験法は、試料及びマウスを多く必要とし、一定体重のマウスを用いなければならない。またマウスの腹腔内注射といった多少の技術を必要とする。

今回著者らは、操作が比較的簡易な薄層デンシトメトリーによる定量分析法を検討し、良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1 試料

食中毒の原因となったエゾボラモドキから採取し

た唾液腺を用いた。

2 試薬

tetramethyl ammonium chloride (テトラミン) : キシダ化学(株)製、特級

その他は、試薬特級を使用した。

薄層板: HPTLCプレート(シリカゲル60、メルク)を120°C、1時間活性化後使用した。

テトラミン標準溶液: 100mlメスフラスコにテトラミン100mgを秤量し、水で100mlにしたものを作成標準液(10mg/ml)とした。これを希釈して100-3000μg/mlの標準列を調製し、マウス致死試験、及び薄層デンシトメトリー試験に使用した。

ドレーゲンドルフ試薬(D-試薬) : 次硝酸ビスマス1.7gを20%酢酸100mlに溶かし、その10mlに40%ヨウ化カリウム溶液10ml、酢酸40mlを加えて混合し、水で250mlとした。

3 装置

デンシトメーター: (株)島津製作所2波長クロマトスキャナーCS-910

4 テトラミンの抽出

エゾボラモドキから唾液腺を採取し、重量1gあたりメチルアルコール5mlを加え、3分間ホモジナイズ

* 岐阜県衛生研究所: 岐阜市野一色4丁目6番3号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3 Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

した。次いで丸底フラスコにこれを移し、還流冷却器をつけて、80°Cで30分間温浸還流抽出を行い、放冷後、減圧濾過した。残査を再度メチルアルコールにより還流抽出を行い減圧濾過し、濾液を合わせて濃縮した後、少量の水で分液ロートに移して1N-塩酸でpH5に調整した。これに2倍量のエチルエーテルを加えて脱脂を2回繰返し、水層を分取して濃縮後、水で1g/mlの試験溶液を調製し、希釈して以下の実験に供した。

5 マウス致死試験法

テトラミン200-1400μg/mlの標準溶液1mlを体重18-20gのマウスの腹腔に注射（1投与量に3匹を使用）し、致死時間を測定して標準用量-致死時間曲線による検量線を作成した。

同様に試料についても1検体3匹のマウスを使用して試験溶液1mlを腹腔内に注射し、致死時間を測定して検量線から試験溶液中のテトラミンを定量した。

6 薄層デンシトメトリーによる定量法

テトラミン200-2000μg/mlの標準溶液をそれぞれ2.5μl薄層板下端より1.52cmのところにスポットし、展開溶媒n-プロピルアルコール-水-酢酸-メチルアルコール(1.5:8:2:1)で展開した。風乾後、D-試薬を噴霧して発色させ、デンシトメーターにより波長550nmの吸光度を測定し、記録紙上の積分値を読みとり検量線を作成した。

試料についても試験溶液2.5μlを薄層板にスポットし、標準と同様の操作を行い検量線から試験溶液中のテトラミンを定量した。

デンシトメトリーの測定条件は、下記の条件で行った。

測定波長：550nm 対照波長：700nm

測定モード：反射ジグザグスキャニング

レンジ：Pro×1, Int×1

スリット：幅 0.6mm, 高さ 0.6mm

スキャンスピード：10mm/min

結果および考察

1 展開溶媒の検討

テトラミンの薄層クロマトグラフィーにおける展開溶媒系を検討した。

n-ブチルアルコール-酢酸-水、n-プロピルアルコール-水-酢酸-メチルアルコール混合溶媒系について

それぞれの系の中で溶媒の混合比率を変化させて、シリカゲル薄層板上でのテトラミンの挙動を比較した結果、Rf値0.51でスポットの形態のまとまりも良いn-プロピルアルコール-水-酢酸-メチルアルコール(1.5:8:2:1)を展開溶媒として用いた。

2 測定波長の検討

D-試薬により呈色させた薄層板上のスポットは、赤色に近い色を呈しているので、波長470-630nmまでの範囲で測定最適波長を検討した。その結果を図1に示した。

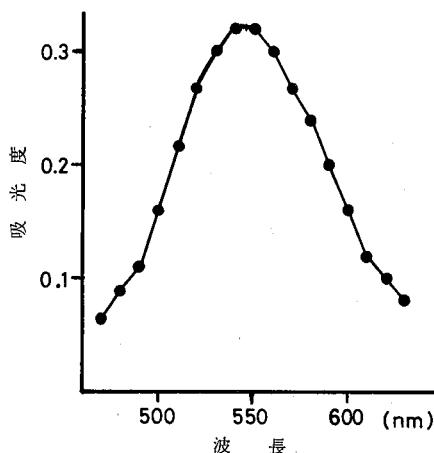


図1 D-試薬による発色後のテトラミン呈色スポットの吸収波長

波長540-550nmに最大吸収を認めた。そこで測定波長は、550nmとした。

3 薄層板上の呈色スポットの安定性

薄層板上におけるテトラミン呈色スポットの吸光度安定性を検討した。

テトラミン展開スポットをD-試薬で呈色した後、室温、遮光下で保存し、吸光度の経時変化を観察した。

その結果を図2に示した。

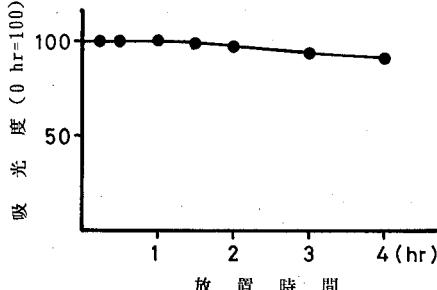


図2 呈色スポットの安定性

呈色スポットの吸光度は、最初の1時間は安定であるが、時間の経過と共に減少し、4時間後には、当初の90.8%になった。したがって測定は、1時間以内に行うこととした。

4 テトラミンの検量線

テトラミン100-3000 μg/ml濃度の標準溶液を2.5 μl薄層板にスポットし、以下、実験方法6に述べた方法に従って検量線を作成した。その結果を図3に示した。

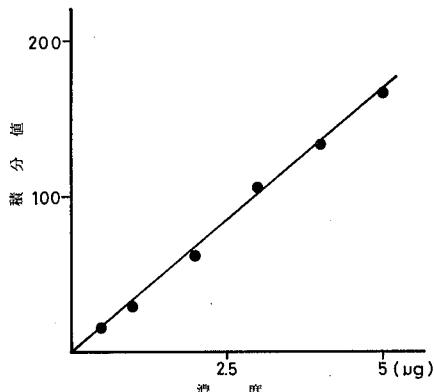


図3 テトラミンの検量線

検量線は、200-2000 μg/ml (0.5-5 μg) 濃度の範囲で良好な結果が得られた。

5 エゾボラモドキから抽出したテトラミンの確認
エゾボラモドキの唾液腺から抽出した毒素をマウス致死試験により確認した。次いで薄層クロマトグラフィーによりテトラミン標準品と比較した結果、スポットは、D-試薬による呈色でテトラミンと同じ色調を呈し、Rf値(0.51)も良く一致し、高井¹⁰らの報告と同様であった。

6 薄層デンシトメトリーによる定量法とマウス致死試験法との比較

試料から得た試験溶液について、薄層デンシトメトリー及びマウス致死試験法によりエゾボラモドキ唾液腺中テトラミンを定量し、両者の結果を比較検討した。その結果を表1に示した。

本法による値は、2.28-4.58 mg/gで、マウス致死試験による値は、1.82-4.32 mg/gであり、両者ともほぼ一致した値を示し、回帰直線式は、y=0.8155X+0.6935 ($r=0.9539$, n=6) といい相関関係を示した。

薄層デンシトメトリーによる定量法は、操作も比較

表1 薄層デンシトメトリー及びマウス致死試験法によるエゾボラモドキ唾液腺中テトラミンの測定値

試料 NO	薄層デンシトメトリー mg/g 唾液腺 (y)	マウス致死試験 mg/g 唾液腺 (x)
1	2.28	1.92
2	2.15	1.82
3	3.28	3.26
4	3.46	3.96
5	3.37	3.46
6	4.58	4.32

$$r = 0.9539$$

$$y = 0.8155X + 0.6935$$

的簡易で、少量の試料ですみ、比較的短時間で行える実用的なテトラミンの定量法と考えられる。

文 献

- 1) 高井 透, 川口 哲, 石月要平, 酒井 洋, 郷周一: エゾボラモドキおよび近縁種の食中毒原因物質について, 第41回日本公衆衛生学会講演要旨集, 353, 1982
- 2) 成田弘子: 卷貝による食中毒, 食衛誌, 26, 549, 1985
- 3) 小林香夫, 白木康一, 中屋謙一, 棚橋宣康: エゾボラモドキによるテトラミン中毒, 第34回岐阜県公衆衛生研修会発表要旨集, 13, 1989
- 4) 村上 一, 西垣 進: 動物性食品の衛生と品質評価, ニッスイライブラー, 7, 141-145, 1981
- 5) Saitoh, H., Oikawa, K., Takano, T., and Kamimura: Determination of tetramethylammonium ion in shellfish by ion chromatography, J. Chromatogr., 281, 397, 1983
- 6) 衛藤修一, 一色賢司, 桃園裕子, 矢野達明, 作間忠道, 宮崎昭夫: チョウセンボラ中のテトラミン含量の測定, 衛生化学, 35, 476-478, 1989
- 7) 橋爪清松, 戸田千登世, 安井照代, 永納秀雄: 高速液体クロマトグラフィーによるエゾボラモドキ中のテトラミンの定量, 衛生化学, 33, 179, 1987

<他誌掲載論文>

蛍光検出高速液体クロマトグラフィーによる
はちみつ中テトラサイクリン系抗生物質の定
量の検討

中屋謙一、小林香夫、
棚橋宣康（岐阜県衛生研究所）

食衛誌、32(1), 43~47, 1991

蜂蜜中のオキシテトラサイクリン(OTC), クロルテトラサイクリン(CTC)を蛍光化後, HPLCで定量する方法を検討した。試料を抽出後, Sep-Pak C₁₈及びイオン対抽出により濃縮, 精製した。OTCは, 酢酸マグネシウム-バルビタールナトリウムによる蛍光化後, 移動相には20mMヘプタンスルホン酸ナトリウム含有0.1Mグリシン緩衝液(pH10)-メタノール(20:1)混液を用い, 励起波長370nm, 蛍光波長505nmで測定した。CTCは0.05MKOHで蛍光化後, 移動相に0.01Mグリシン緩衝液(pH10)-メタノール(5:1)を用い, 励起波長340nm, 蛍光波長425nmで測定した。回収率はOTC68.5-73.2%, CTC51.3-68.1%, 試料あたりの検出限界は, OTC0.02ppm, CTC0.005ppmであった。

高速液体クロマトグラフィーによる養殖魚中
マラカイトグリーン及びメチレンブルーの同
時定量

春日洋二, 菊田美由紀, 棚橋宣康（岐阜県
衛生研究所）

食衛誌, 32(3), 137~141, 1991

養殖魚中に残留するマラカイトグリーン(MG)及びメチレンブルー(MB)のHPLCによる同時定量を検討した。試料にMcIlvaine緩衝液(pH3.0)を加

えてホモジナイズした後, アセトニトリルで抽出, n-ヘキサンで脱脂後, 20%塩化ナトリウム溶液-ジクロロメタン分配で精製して調製した検液を分析カラムにTSK gel ODS-80T_M, 移動相に0.1Mクエン酸塩緩衝液-アセトニトリル(1:1)を用いてHPLCにより分析した。本法による添加回収率はMGが68.7±1.8-74.0±2.0%, MBが44.7±4.0-69.7±5.6%であり, 検出限界はMGが0.005μg/g, MBが0.003μg/gであった。著者らがMGの残留試験(薬浴法)に用いたニジマスの筋肉及び肝臓中の残留MGの確認にフォトダイオードアレイ検出器を用いたところ, その有効性が示された。

アメーバ症の血清学的診断法に関する基礎的研究

1. 市販CF用抗原のELISAへの適用

長野功, 所光男, 野田伸司,
後藤喜一（岐阜県衛生研究所）
大友弘士（岐阜大学医学部寄生虫学教室）
増田剛太（都立駒込病院感染症科）

感染症誌, 64(6), 699~703, 1990

市販の complement fixation(CF)用アメーバ抗原を用いたenzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)を試み, その適用条件などについて基礎的検討を行った。

ELISA適用時の被検血清と抗原の至適希釈はそれぞれ100倍および400倍であった。cut off値は健常者血清200検体の吸光度の99%棄却限界である0.068とした。患者血清100倍希釈時の吸光度とELISA抗体価は強く相関し, 吸光度から抗体価を推定することも可能と思われた。患者血清63検体におけるCF抗体価とELISA抗体価の相関係数は0.55であったが, CF反応陰性は2検体, ELISA陰性は1検体のみで

あり、陽性および陰性の不一致例もCF反応陰性、ELISA陽性を示した1例だけであった。この例はELISA抗体価も低くCF反応の感度によると思われた。以上の成績から本研究に使用したCF用抗原はELISAにも適用することが可能で感度および特異性にも問題がないことが示唆された。

アメーバ症の血清学的診断法に関する基礎的研究

2. 市販 Complement fixation用抗原の向流免疫電気泳動(CIE)への適用と血清学的診断法の臨床的検討

長野 功(岐阜県衛生研究所)

大友弘士(岐阜大学医学部寄生虫学教室)

増田剛太(都立駒込病院感染症科)

感染症誌, 64(11), 1379~1384, 1990

市販のcomplement fixation(CF)用アメーバ抗原を向流免疫電気泳動法(CIE)に適用し、同抗原を用いたCF反応およびELISAとの比較を行った。また、各血清学的診断法の抗体価の変動と臨床像との関連についても検討を加えた。

CIEはCF反応およびELISAに比べるとかなり感度が低いが、陰性例はCFおよびELISA抗体価の低い検体に集中する傾向がみられた。しかし、高い抗体価の検体でも陰性となる例も若干みられた。一方、特異性は三法ともに十分高いものと思われた。

患者5例について、急性期と発症約半年後の治療による軽快時との抗体価を比較すると、全例に抗体価または吸光度の低下が認められた。しかし、なお陽性域内であった。ただ、CIEについては1例のみ陰性化が認められた。

病型別にみた場合は、ELISA吸光度、ELISA抗体価およびCF抗体価の各平均値すべてにおいて、腸アメーバ症は肝膿瘍ならびに両者の合併型に対して有意に低かった。

以上の成績から、ELISAおよびCF抗体価と臨床像との相関性はかなり高いことが示された。しかし、

CIEについては感度などの問題もあり、さらに検討を行うことが必要であることが示唆された。

アメーバ症の血清学的診断法に関する基礎的研究

3. 梅毒血清反応陽性者における赤痢アメーバ抗体保有について

長野 功、野田伸司(岐阜県衛生研究所)

大友弘士(岐阜大学医学部寄生虫学教室)

感染症誌, 65(1), 1~6, 1991

梅毒血清反応陽性者における赤痢アメーバ抗体保有状況を調査した.complement fixation(CF)反応の陽性率は12.0%, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)の陽性率は2.7%であった。梅毒ガラス板法陽性の検体は、Treponema pallidum hemagglutination(TPHA)の成績に関係なくアメーバCF反応陽性率は有意に高く、ガラス板法陰性の検体ではCF反応陽性検体は76例中1例に過ぎなかった。一方、アメーバELISA陽性率および平均吸光度はガラス板法またはTPHAの成績とは相関を示さなかった。また、ガラス板法の抗体価が高い検体ほどCF反応陽性率も高くなるが、ELISA陽性率にはそのような傾向は認められなかった。CF反応陽性検体において、CF抗体価とガラス板抗体価には弱い順相関が認められた。以上の成績から、CF反応が陽性を呈するのはガラス板法との交叉反応である可能性が示唆された。

また、ELISA陽性検体は10/375(2.7%)であったが、各検体の抗体価および吸光度はすべて低値であった。それらの検体についてindirect fluorescent antibody(IFAb) testを実施したところ、50倍以上を示したものが9検体あり、かつ、その抗体価はELISA吸光度およびELISA抗体価と相関が認められた。以上の結果から、ELISA陽性の成績は無症候性のシストキャリア、または過去の感染などにみられるような低値の抗体を検出した可能性も否定できないと考えられた。

赤痢菌の鑑別培地、CA培地について

所 光男、長野 功、後藤喜一

(岐阜県衛生研究所)

中村 章(岐阜県公衆衛生検査センター)

感染症誌, 64(7), 861~865, 1990

S S寒天平板上で赤痢菌が疑われた集落由来株を培養時間24時間で鑑別できる培地を改良するための基礎実験を赤痢菌23株、Escherichia coli 129株を用いて行った。その結果、合成培地に酢酸ナトリウム0.3%，ブドウ糖0.02%，クエン酸ナトリウム0.3%を加え改良したCA培地(Citrate-Acetate medium)は、從来我が国で常用されているクリステンゼンのクエン酸塩培地に比べ、赤痢菌とE.coliの鑑別に優れていることが確認された。

健康者検便のS S寒天平板上で赤痢が疑われた集落由来株130株を用い赤痢菌との鑑別をCA培地、クリステンゼンのクエン酸塩培地、酢酸ナトリウム寒天培地を用いて比較した結果、24時間の培養の時点では、CA培地はクリステンゼンのクエン酸塩培地、酢酸ナトリウム寒天培地より鑑別性が優れていることが確認された。

更に、使用した130株の同定を行い上記3培地の菌種による鑑別性を検討した結果、赤痢菌の鑑別培地としてCA培地はEscherichia sp.の鑑別ではクリステンゼンのクエン酸培地より優れており、Hafnia sp.の鑑別では酢酸ナトリウム培地より優れていることが確認された。

Inhibitory action of paeony root extract on the mutagenicity of benzo [a] pyrene

Yoshimichi Sakai^①, Hisamitsu Nagase^②, Youki Ose^③, Hideaki Kito^②, Takahiko Sato^②, Makoto Kawai^①, and Mizuo Mizuno^②

1)岐阜衛研 2)岐阜薬大 3)岐阜市女子短大
Mutation Res., 244, 129-134, 1990

(ベンゾ [a] ピレンの変異原性に対する芍薬エキスの阻害作用)

芍薬エキスのベンゾ [a] ピレン(B [a] P)の変異原性抑制効果をSalmonella typhimurium菌復帰変異試験により測定した。実験は4段階に分けて行った。即ち、(1) 芍薬エキスとB [a] P間の直接作用 (2) 芍薬エキスとB [a] Pの変異原活性代謝物との作用 (3) S9 mixによるB [a] Pの変異原活性代謝物生成における代謝阻害、および(4) 復帰変異菌に対する作用である。その結果、芍薬エキスはS9 mix中の酵素作用の阻害とB [a] Pの変異原活性代謝物の不活性により抗変異原活性を示した。bio-antimutagen作用はSalmonella typhimurium TA98およびTA100の復帰変異菌を用いて試験した。

Antimutagenic Activity by the Medicinal Plants in Traditional Chinese Medicines

Zheng-Mu Meng^①, Yoshimichi Sakai^②, Youki Ose^③, Takahiko Sato^④, Hisamitsu Nagase^④, Hideaki Kito^④, Motoyasu Sato^④, Mizuo Mizuno^④, Katsuhiko Ono^⑤, and Hideo Nakane^⑤

1)中国薬科大 2)岐阜衛研 3)岐阜市女子短大
4)岐阜薬大 5)愛知県ガンセンター

生薬学雑誌, 44(3), 225~229, 1990

(中国伝統医学中の生薬による抗変異原活性)

中国伝承医学で利用される中草薬の抗変異原活性の研究を行った。中草薬31種は中国伝承医学で扶正固本と呼ばれるものとホメオスタシス作用を持つものを選び、エーモス試験によりベンゾ [a] ピレンの変異原性に対する効果で試験した。その結果、8種の中草薬の水性エキス、例えば、芍薬、三加皮、仙鶴草、大鏡、金櫻子、青凡木、鵝血藤および野鴨椿がベンゾ [a] ピレンの変異原性を強く抑制した。これらのエキスは

さらに、酢酸エチル、n-ブタノールと水エキスに分画した。酢酸エチルエキスに活性を示したのは、芍薬、野鴨椿、青凡木で、n-ブタノールエキスは芍薬、野鴨椿、青凡木、三加皮、鶏血藤で、水エキスは芍薬であった。

Enhancement of the Mutagenicity of
Trp-p-1, Trp-p-2 and Benzo [a] pyrene
by Bupleuri Radix Extract

Miki Niikawa¹⁾, Yoshimichi Sakai²⁾, Youki Ose³⁾, Takahiko Sato¹⁾, Hisamitsu Nagase¹⁾, Hideaki Kito¹⁾, Motoyasu Sato¹⁾, and Mizuo Mizuno¹⁾

1)岐阜薬大 2)岐阜衛研 3)岐阜市女子短大

Chem. Pharm. Bull., 38(7), 2035-2039, 1990

(柴胡エキスによるTrp-p-1, Trp-p-2およびベンゾ [a] ピレンの変異原増強作用)

柴胡（韓国産, *Bupleurum falcatum* L.）の熱水抽出エキスはTrp-p-1, Trp-p-2およびBenzo [a] pyreneの変異原性を増強した。熱水抽出エキスは、エーテルとn-ブタノールで分画した。両分画ともTrp-p-1の変異原性を増強した。n-ブタノール分画はさらにシリカゲルクロマトグラフィーで7フラクションに分画し、クロロホルム溶出分画が強い変異原性増強を示した。クロロホルム溶出分画は、さらに薄層クロマトグラフィーにより5スポットに分かれ、2つのスポットがTrp-p-1の変異原性を増強した。柴胡の成分としてよく知られたsaikosaponinの増強作用は弱かった。

Benzo [a] pyreneに対するフェノールカルボン酸類の抗変異原性構造活性相関に関する研究

坂井至通¹⁾, 小瀬洋喜²⁾, 鬼頭英明³⁾,

佐藤孝彦³⁾, 長谷川浩一³⁾, 吉岡義正⁴⁾,
河合 信¹⁾, 水野瑞夫³⁾, 森口郁生⁵⁾

1)岐阜衛研 2)岐阜市女子短大 3)岐阜薬大
4)岐阜医療短大 5)北里大薬

衛生化学, 30(4), 304~313, 1990

フェノールカルボン酸の抗変異原活性について構造活性相関を検討した。 *Salmonella typhimurium* TA98, ベンゾ [a] ピレンおよびS9 mixを用いた Ames試験により、117化合物の抗変異原活性を試験した。7化合物は試験溶媒により難溶解性を示し、6化合物は殺菌作用を示したので、これらを除く104化合物の構造特性により、基本骨格、置換基、側鎖の3アイテムに分け、数量化理論 I 類により構造活性相関を検討した。しかし、カテゴリーウェイトの範囲と偏相関係数が整合しなかったため、10種フェノール化合物を除き、更に検討したところ、両者は整合し解析は良好であった。この解析結果から、抗変異原性を示す構造特性は、3,4,5トリヒドロキシ、3,4,5トリメトキシおよび2,4,6トリヒドロキシ構造で、変異原性増強を示す因子として、アルデヒド、カルボキシル基が認められた。抗変異原性の実測値と予測値との相関は、Y=0.62X+9.15の式で示された。

無菌性髄膜炎における病原ウイルスの多様性
について

—1984年の多治見市における流行例より—

三輪智恵子, 渡辺 豊（岐阜県衛生研究所）

感染症誌, 64(7) 794~801, 1990

1984年5月から9月にかけ、岐阜県多治見市を中心とする東濃地域で、無菌性髄膜炎（AM）の流行が認められた。そのうちの71症例について、ウイルス学的・血清学的検索を実施した。その結果は以下の様な成績であった。

1. ウィルス分離検査を実施した59症例の38症例（64.4%）より、コクサッキーウィルス（Cox.）B-1,

Cox.-B4,Cox.B-5とエコーウイルス(Echo)16の4種のエンテロウイルスが分離された。病原ウイルスと確定されたウイルス型は、Cox.B-1とCox.B-5であった。しかし、Cox.B-4とEcho-16もAM流行と関連性があったことが推定された。

2. 47症例の急性期と回復期のペア血清につき、4種の分離株に対する中和抗体価を測定した。その結果、各型分離株に対する有意抗体上昇率は、Cox.B-1では29.8%、Cox.B-4では12.8%、Cox.B-5では17.0%、Echo-16では34.0%であった。

3. ウィルス分離陽性で血清学的検査も実施した24症例の10例(41.7%)が、分離ウイルス型と、有意抗体上昇を示したウイルス型と一致していた。いずれのウイルス型に対しても有意抗体上昇を示さなかつた症例は6例(25.0%)であった。残り8例(33.3%)は、分離ウイルス型と、有意抗体上昇を示したウイルス型と一致しなかつた。

4. 患者血清検査で、有意抗体上昇が認められた35症例中、1つのウイルス型に有意抗体上昇が証明されたのは28例(80.0%)で、2つ以上のウイルス型に有意抗体上昇を示したのは7症例(20.0%)であった。

エコーウイルス16型感染症の流行について

—1984年岐阜県東濃地区での流行—

三輪智恵子、渡辺 豊(岐阜県衛生研究所)

感染症誌、64(7), 809~814, 1990

1984年5月から8月に、岐阜県東南部の東濃地区において、エコーウイルス16型による感染症の流行があつた。

このウイルス型による感染症は、臨床的には発疹症(24例)と無菌性髄膜炎(24例)と2つの病型を示した。ウイルス学的・血清学的方法により確認された症例は、48例であった。

岐阜県では1984年以前には、エコーウイルス16型は分離されなかつたが、血清学的検査により1984年以前にエコーウイルス16型が侵入していたことが明らかとなつた。

エコーウイルス18型による無菌性髄膜炎の流行について

三輪智恵子、渡辺 豊(岐阜県衛生研究所)

感染症誌、64(7), 815~821, 1990

1988年、岐阜県の無菌性髄膜炎(AM)患者137例と、急性熱性疾患及び発疹症等36症例について、ウイルス学的・血清学的に検討した結果、以下のことが判明した。

1. AM患者の年齢は、0歳から15歳に分布していたが、8歳以下が90.5%を占めていた。

2. AM患者137症例の58症例(42.3%)より、7種類のエンテロウイルスと同定困難株が分離されたが、46症例(79.3%)はエコーウイルス18型(Echo-18)であった。

3. Echo-18は、AM患者以外の急性熱性疾患・発疹症など36例のうち16症例(44.4%)からも分離された。

4. 1988年Echo-18分離株の抗原性は、標準株と抗原的に軽度の変異が確認された。

5. Echo-18に対する住民抗体保有率は、流行後に8歳以下の年齢層で著明に上昇したことが確認できた。

岐阜地域におけるA群ヒトロタウイルスの流行と血清型の変遷

田中 浩¹⁾, 小野博正¹⁾, 北村政和¹⁾,
久野保夫¹⁾, 三輪由香¹⁾, 川本尋義²⁾,
浦沢正三³⁾

1)県立岐阜病院 2)岐阜衛研 3)札幌医科大学

日本小児科学会誌、94(9), 2030~2034, 1990

A群ヒトロタウイルス(HRV)感染とその血清型の調査を目的として、1986年度から3年間にわたり、乳児下痢症および急性胃腸炎の診断で入院した患児348例より糞便を採取した。また急性期患児223例より急

性期血清を、うち71例からはペア血清として回復期血清を採取し、血清学的調査を行った。各年度の主流型は1986年度が3型63.4%，1987年度が4型42.9%，1988年度が1型64.0%と、年度毎の変遷を示した。血清型のうちで、4型、2型が発症からもっとも長い期間まで検出された。糞便に抗原が検出されたにも関わらず、ペア血清では58.3%に免疫応答が認められなかった。

Serotype Analysis of Group A Human Rotavirus Related to Acute Gastroenteritis in Winter in Gifu City

Hiroyoshi KAWAMOTO^①, Hiroshi TANAKA^②, Shozo URASAWA^③, Tomoko URASAWA^④, and Koki TANIGUCHI^⑤

1)岐阜衛研 2)県立岐阜病院 3)札幌医科大学

Microbiol. Immunol., 34(8)675-681, 1990

(岐阜市における冬季急性胃腸炎に関連したA群ヒトロウイルスの血清型解析)

A total of 348 fecal specimens collected from children with acute gastroenteritis in Gifu city over three consecutive winter seasons (from November 1986 to March 1989) were examined for group A human rotavirus (HRV) by either a commercial test kit or a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (sandwich ELISA). One hundred twelve of the 173 group A HRV-positive specimens were further subjected to serotype determination by ELISA with four serotype-specific monoclonal antibodies to VP7(ELISA-serotyping). Ninety-one specimens (81.3%) were successfully serotyped: 41(36.6%) were serotype 1, 13(11.6%) serotype 2, 27(24.1%) serotype 3, and 10(8.9%) serotype 4. The sero-

pes of the remaining 21(18.8%) could not be determined. The predominant serotype of HRV that prevailed in Gifu city changed every winter: serotype 3 (63.4%) was most prevalent in the 1st winter, serotype 4 (42.9%) in the 2nd winter, and serotype 1 (64%) in the 3rd winter.

岐阜県における恙虫病の研究

第4報 恵那および高山市の調査結果ならびに総合的考察

柏谷志郎^①, 古賀香理^①, 大友弘士^①, 長野 功^②, 野田伸司^②, 山下照夫^③, 日置敦巳^④, 岩佐光啓^⑤

1)岐大医学部 2)岐阜衛研 3)愛知衛研
4)高山保健所 5)帯広畜産大

感染症誌, 65(2), 151~156, 1991

1988年11月に恵那市、1989年5月に高山市(岐阜県)にて野鼠を捕獲して寄生するツツガムシ種、野鼠のリケッチャおよび抗体保有状況を調査した。恵那地方では未だ患者発生の報告がない。ここではフトゲツツガムシ (*Leptotrombidium pallidum*) が優占種(63.9%)であったが、タテツツガムシ (*L. scutellare*) は存在しなかった。野鼠からのリケッチャ分離率は11.1%，野鼠の抗体保有率は30.0%であった。高山地方は日本海側に位置し、岐阜県の太平洋側ではほとんどない春の患者発生がみられる地域である。ここでは、春にもフトゲツツガムシの発生(22.4%)が認められた。リケッチャの分離率37.5%，野鼠の抗体保有率50.0%であった。これらの調査結果から、岐阜県の太平洋側の初冬の患者発生の大部分はタテツツガムシに媒介されるとする仮説が支持された。また、春のフトゲツツガムシの発生が確認されたのは岐阜県では初めてで、日本海側では二峰性の発生と推察された。さらに、最近の恙虫病急増の原因に関する総合的な議論を行った。

学 会 報 告

・抗体産生能に対する牛乳投与の効果

渡辺 豊, 猿渡正子(岐阜衛研)

第36回東海公衆衛生学会 平成2年6月 四日市市

・岐阜県におけるインフルエンザについて

猿渡正子, 渡辺 豊(岐阜衛研)

第36回東海公衆衛生学会 平成2年6月 四日市市

・糸引き牛乳(苦情食品)の原因菌について

所 光男, 長野 功, 後藤喜一,

河合 信(岐阜衛研) 奥村直尊,

酒向俊雄(大野保健所)

第36回東海公衆衛生学会 平成2年6月 四日市市

・水道水中のジクロロエチレンの測定

寺尾 宏, 森 仁, 今井準三(岐阜衛研)

第36回東海公衆衛生学会 平成2年6月 四日市市

・ケイアルデヒドの β -シクロデキストリン抱接物の安定性

坂井至通, 今井準三(岐阜衛研)

第110回国日本薬学会 平成2年8月 札幌市

・岐阜県下呂温泉のフッ素イオンについて

清水英徳, 寺尾 宏(岐阜衛研)

第110回国日本薬学会 平成2年8月 札幌市

・高速液体クロマトグラフィーによる蜂蜜中テトラサイクリンの定量

中屋謙一, 小林香夫, 棚橋宣康(岐阜衛研)

日本食品衛生学会第60回学術講演会 平成2年9月
札幌市

・神経芽細胞腫マスクリーニングでVMA反応偽陽性を示すキサンツレン酸尿症

今井準三, 岩田久子, 長島久美子, 伊藤嘉浩,

後藤喜一, 河合 信(岐阜衛研)

山口清次, 折居忠夫(岐阜大医)

第18回日本マスクリーニング学会 平成2年10月

名古屋市

・神経芽細胞腫マスクリーニングにおける(ろ紙)

尿の細菌汚染に関する研究(第6報) HPLCによるVMA, VLA, HVA測定に対するグルコン酸クロルヘキシジンの影響

今井準三, 岩田久子, 長島久美子, 坂井至通,
後藤喜一, 河合 信(岐阜衛研)

第18回日本マスクリーニング学会 平成2年10月

名古屋市

・薄層デンシトメトリーによるテトラミンの定量法

白木康一, 小林香夫, 大塚公人, 棚橋宣康,
河合 信(岐阜衛研)

第27回全国衛生化学技術協議会年回 平成2年10月
大宮市

・漢方処方薬と中国“扶正固本”薬について

坂井至通, 清水英徳, 今井準三(岐阜衛研)
孟 正木(中国薬科大学)

第23回東海薬剤師学術大会平成2年10月 静岡市

・薬用ハミガキ中のフッ素について

清水英徳, 坂井至通, 今井準三(岐阜衛研)
第23回東海薬剤師学術大会平成2年10月 静岡市

・室内空気中の多環芳香族炭化水素化合物及び二酸化窒素(NO_2)濃度について

森 仁(岐阜衛研)

第31回大気汚染学会 平成2年11月 金沢市

・接触ばっさり法による大腸菌ファージの除去

南部敏博(岐阜衛研)

金子光美(摂南大工)

第49回日本公衆衛生学会 平成2年11月 徳島市

岐阜県衛生研究所投稿規定

1. 投稿者は当所職員であることを原則とする。
2. 投稿の区分は次の通りとする。

○研究(調査)報告	(原稿用紙20枚以内)
○資料	(約 15 ページ)
○研究速報(短報とする)	(約 10 ページ)
○他誌掲載論文抄録	(約 2 ページ)
3. 原稿は、定められた期日までに学術委員会に提出すること。
4. 原稿はB5版400字詰横書き原稿用紙を用いる。
5. 研究報告、表題、著者名、英文表題(前置詞、接続詞、冠詞、動詞以外、イニシャルを大文字、他は小文字、著者名は、本人が常用しているローマ字を用いて、名、苗字の順とし、Kōtarō TAKAMURAのようにする)、英文抄録、総括、序文、材料および方法、成績、考察、謝辞、文献の順とする。
所属、住所は和文、英文の順に欄外に入れる。英文は前置詞、接続詞、冠詞、動詞以外イニシャルを大文字、他は小文字とする。
6. 資料および研究速報、研究報告に準ずるが、英文抄録は特に必要としない。
7. 他誌掲載論文抄録、表題、著者名、掲載雑誌名(巻、頁、年号)および抄録とする。
8. 表題は簡潔にし、統報のものは必ず副題をつけ、その前にアラビア数字で1.2.などの番号をつける。
9. 外来語はカタカナ、外国人名は外国語(タイプ又はブロック体)とする。
10. 表は方眼紙または同型の白紙を用い、表の上には「表1. Table 3」などの番号と表題を明瞭に書く。図(写真を含む)は、他の方法で表わし難いものの

みとし、1報につき5図以内とする。1図1枚とし、そのまま製版できるように墨書(黒インキでもよい)する。図の下に「1. Fig. 1」などの番号と表題および図中の文字(数字を含む)を鉛筆で明瞭に書く。

英文抄録を付した報告については原則として表、図共に英文とし、標題は前置詞、接続詞、冠詞、動詞以外イニシャルを大文字にし、他は小文字とする。

11. 表、図および写真は、本文とは別にして本文中挿入すべき場所の欄外に赤色でその位置を明示する。
12. 文献は本文中引用個所右肩に小さく番号(1) (2)のように片括弧をつける)を付し、最後にまとめて次の方式に従って記載する。

○雑誌の場合

著者名:表題、雑誌名、巻(ゴジックにする)、頁、年号(西暦)(例:Stark, R. L. and Duncan, C. L.: Purification and Biochemical Properties of Clostridium perfringens Type A Enterotoxin, Infect. Immunity, 6, 662-673, 1972)

○単行本の場合

著者名:書名、版数、頁、発行所、年号(西暦)ただし、頁については、全内容を総括的に引用した場合は不要とする。(例:Conn, E. E. and Stumpf, P. K.: Outlines Biochemistry, 1st ed., 83-85, John Wiley & Sons, Inc., 1963)

13. 著者校正は初校のみとする。その際新たな追加あるいは変更をしないこと。
14. その他所報編集に関し、必要な事項は学術委員会において決定する。

<監修>

河合信

<編集委員>

今井準三，寺尾宏，渡辺豊
大塚公人，長野功

岐阜県衛生研究所報 No.36

平成3年12月

Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health No.36
1991

編集発行 岐阜県衛生研究所

岐阜市野一色4丁目6番3号 〒500
TEL <0582>46-1101

Editorial Gifu Prefectural Institute
Office of Public Health:
6-3, Noishiki 4 chome,
Gifu 500, Japan

印刷所 水野印刷紙工株式会社

岐阜市下川手413 ☎ <0582>71-6248
