

ISSN 0386-3476

1381e

昭和62年度

愛媛県立衛生研究所年報

第 49 号



愛媛県立衛生研究所

長崎県
衛生公害研究所

63.11.-7

受付

目 次

I 研究報告	
食品・糞便からのセレウス菌について	1
松山市におけるC群ロタウイルスによる下痢症の継続的調査	5
腸管アデノウイルスの浸淫状況について	11
愛媛県における先天性代謝異常マス・スクリーニング	15
D P様アロ抗血清の検討	19
川崎病 (MCLS) の疫学的研究 —HLAを指標とした疾病素因の解析—	23
愛媛の湧水	29
愛媛県内の水道水における無機成分の分布特性について —疾病との関連について—	33
愛媛県内主要河川の栄養塩からみた特性	39
河川の理化学的水質と生物学的水質評価の関係について —重信川水系を対象として—	43
ポリ塩化ビニル製品中のジブチルスズ化合物の分析	49
愛媛の地質構造帯別温鉱泉の特質	53
II 資 料	
昭和62年度伝染病予測調査	57
愛媛県特定流行性疾患調査成績	60
昭和62年度先天性代謝異常検査成績	63
昭和62年度神経芽細胞腫検査成績	63
A T L母子感染予防に関する調査研究	64
腎移植希望者のHLA検査	66
愛媛県産野菜・果実等の残留農薬分析調査成績 (県行政検査)	67
昭和62年度食品添加物使用実態調査 (県行政検査)	68
昭和62年度鉱泉分析成績	69
昭和62年度松くい虫防除薬剤空中散布に伴う調査について (県行政検査)	71
昭和62年度理化学試験精度管理実施結果	72
III 抄 録	
他誌発表論文	73
学会発表	75
IV 公衆衛生技術研究集会 (第2回)	79
V 機構および業務概要	85
VI 業務実績	
1 微生物病理部の概要	89
2 衛生試験部の概要	92
VII 技術研修指導, 研究発表の状況	95

食品・糞便からのセレウス菌について

矢野 玲子 鍋屋 孝司 斉藤 健 篠原 信之* 井上 博雄

はじめに

Bacillus cereus (以下 *B. cereus*) は自然界に広く分布していて、わが国では、食中毒起因菌の報告例はあまり見られなかった。しかし近年になり、食中毒および感染症の原因となることが明らかにされて¹⁻⁴⁾、注目されるようになった。そこで今回、食中毒予防の基礎資料を得るために、食品の汚染状況および糞便からの分離状況を検討したので報告する。

材料と方法

1. 検査材料

食品：製造業者や販売店の各種食品 155検体を調査対象とした。

糞便：集団給食従事者の便 214検体を調査対象とした。

2. 方法

食品：検体 10g に 90ml 滅菌生理食塩水を加え 10 倍乳剤とした。本乳剤 0.1 ml を NGKG 寒天培地に塗布し、30°C、48 時間培養した。また一部の食品は、3% NaCl 加ポリミキシン B ペプトン水で増菌後、NGKG 寒天培地に画線培養した。

糞便：グリセリン保存液に採取した便を NGKG 寒天培地に画線し、30°C、48 時間培養した。

3. 分離と同定

NGKG 寒天培地にレチナーゼ反応陽性で周縁不規則なコロニーを釣菌し、Wirtz 法で芽胞染色し、芽胞型を決定した。同定は運動性、VP 反応、クエン酸塩の利用性、ゼラチンの液化性、デンプン分解性、硝酸塩還元性、尿素分解性、インドール反応、7% NaCl 発育、カタラーゼ、溶血性、炭水化物 (ブドウ糖、マンニット、アラビノース、キシロース) の生化学的性状を調べた (図 1)。

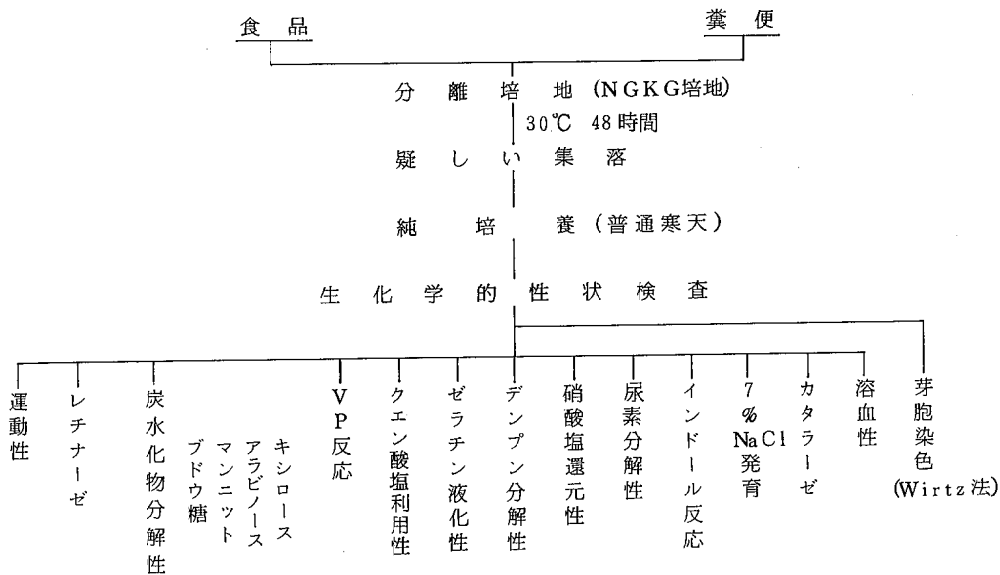


図 1 *B. cereus* の検査方法

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町 8 丁目 2 3 4

* 現 愛媛県立医療技術短期大学
伊予郡砥部町高尾田 5 4 3

4. 生物型別

神保らの方法⁵⁾により分類した。

5. 芽胞の熱抵抗性

食品由来 13 株, 糞便由来 10 株を供試菌として, ポテトデキストロース寒天培地で 30°C, 7 日間培養し芽胞が形成されていることを確認した。その培養菌を滅菌生理食塩水に浮遊させ, 芽胞数が 10⁷/ml となるように調整した。この浮遊液 1ml を 80°C で 15, 30, 60 分, 90°C で 15, 30, 60 分, 100°C (煮沸) で 15, 30 分, 加熱後, 2 倍濃度の普通ブイオンを等量加えて 30°C, 24~72 時間培養した。菌の発育を認められた場合は, NGKG 寒天培地に培養し, B. cereus の確認を行い, 耐熱性の有無を判定した。

結果

1. 検出状況

食品: 食品における検出状況は表 1 のとおり, 各種食品 155 検体中 51 検体 (32.9%) に本菌がみとめられた。食品の種類別では, 複合調理食品 45.8%, とうふ 44.4%, 穀類 36.4%, 牛乳 35.3%, 冷凍食品 22.2%, 魚介類 20.8%, 肉類 7.7%, その他 54.5% が陽性であった。

糞便: ヒトおよび動物の腸管系に本菌を保菌していることが知られている⁶⁾。今回, 保菌状況をみるために糞便 214 検体を調べた。その結果, 214 検体中 29 検体 (13.6%) に本菌がみとめられた。

2. 生物型別

NGKG 寒天培地のレチナーゼ陽性で周縁不規則なコロニーを数個鈞菌し, 神保らの生物型で分類してみた。食品 51 検体, 糞便 29 検体から 1 種類の生物型のみ分離されたものは食品 45 検体, 糞便 27 検体, 2 種類の生物型が分離されたものは食品 5 検体, 糞便 2 検体, 3 種類の生物型が分離されたものは食品 1 検体であった。神保らの生物型で分類した, 食品由来 58 株, 糞便由来 31 株を表 2 に示した。食品では 6 型 34 株 (58.6%) が最も多く, 次いで 2 型, 7 型であった。糞便では 7 型 21 株 (67.7%) が最も多く次いで 6 型, 2 型であった。

表 1 食品からの B. cereus の検出状況

食 品	検体数	陽性数	%
魚 介 類	24	5	20.8
肉 類	26	2	7.7
冷 凍 食 品	9	2	22.2
複 合 調 理 食 品	48	22	45.8
穀 類	11	4	36.4
と う ふ	9	4	44.4
牛 乳	17	6	35.3
そ の 他	11	6	54.5
計	155	51	32.9

表 2 食品および糞便由来株の生物型

神保らの生物型	生化学的性状			由 来												
	デンプン分解	硝酸還元	ウレアーゼ分解	食 品										糞 便		
				魚介類	肉類	冷凍食品	複合調理食品	穀類	とうふ	牛乳	その他	計				
1	+	+	+	1											1	
2	+	+	-		1	1	2	1	1	3	4	13	2			
3	+	-	+													
4	+	-	-			1	1					2	1			
5	-	+	+	1			1					2				
6	-	+	-	4	1	2	14	3	2	5	3	34	7			
7	-	-	-				4		1	1		6	21			
計				6	2	4	22	4	4	9	7	58	31			

3. 生物化学的性状

食品由来58株, 糞便由来31株について生化学的性状を表3に示した。菌体中央に長円形の芽胞を有し, 運動性, レチナーゼ反応, V P反応, ゼラチン液化性, 7% NaCl発育, カタラーゼ, 溶血性, ブドウ糖の発酵性はすべて陽性を示し, インドール反応, 炭水化物の分解性のマンニット, アラビノース, キシロースはすべて陰性であった。シモンズのクエン酸塩利用性は食品11株(19.0%), 糞便4株(12.9%)が陽性であった。デンプン分解性は食品15株(25.9%), 糞便3株

(9.7%)が陽性であった。

硝酸塩還元性は食品49株(84.5%), 糞便9株(29.0%)が陽性であった。尿素分解性は食品3株(5.2%)が陽性であった。糞便はすべて陰性であった。

4. 芽胞の熱抵抗性

食品由来13株と糞便由来10株を検討した結果を表4に示した。本菌の芽胞は一般的に高い熱抵抗性を示す^{7,8)}ことが知られているが, 糞便由来10株は100°C, 30分で100%の熱抵抗性を示した。また, 食品由来13株は90°C, 15分間で100%の熱抵抗性を示した。

表3 食品および糞便由来株の生化学的性状

性 状	食 品		糞 便	
	陽 性	陰 性	陽 性	陰 性
芽 胞	58	0	31	0
運 動 性	58	0	31	0
レ チ ナ ー ゼ	58	0	31	0
V P 反 応	58	0	31	0
シモンズのクエン酸塩利用性	11	47	4	27
ゼ ラ チ ン 液 化	58	0	31	0
デ ン プ ン 分 解 性	15	43	3	28
硝 酸 塩 還 元 性	49	9	9	22
尿 素 分 解 性	3	55	0	31
イ ン ド ー ル 反 応	0	58	0	31
7 % NaCl 発 育	58	0	31	0
カ タ ラ ー ゼ	58	0	31	0
溶 血 性	58	0	31	0
炭 水 化 物 分 解 性				
ブ ド ウ 糖	58	0	31	0
マ ン ニ ッ ト	0	58	0	31
ア ラ ビ ノ ー ス	0	58	0	31
キ シ ロ ー ス	0	58	0	31

表4 食品および糞便由来株の芽胞の熱抵抗性

由 来	供試株数	80°C			90°C			100°C	
		15分	30分	60分	15分	30分	60分	15分	30分
食 品	13 検体	13/13	13/13	13/13	13/13	12/13	12/13	11/13	7/13
糞 便	10 検体	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

考察

*B. cereus*は広範囲な食品から分離されることは、数多く報告されている^{9,10)}。今回の成績からも食品が本菌に多く汚染されていることが明らかになった。その中でも最も注目すべき食品としては牛乳であった。検出された牛乳は、すべて同じメーカーの低温殺菌牛乳で、分離菌数は $2 \times 10^2 \sim 10^3 / \text{ml}$ で 100°C , 30分の芽胞の熱抵抗性試験では耐性であった。低温殺菌牛乳の殺菌温度は 65°C , 30分であることから原料や製造工程、保存温度などに注意を払わなければならないと思われる。

神保ら⁸⁾は肉製品、魚肉ねり製品において2型が最も多く検出され、食中毒由来株は6型、7型であったと報告している。また、芽胞の熱抵抗性試験でも6型、7型の菌が他の生物型の菌よりも高い熱抵抗性を示したと報告している。今回の結果では、食品からは6型が34/58 (58.6%)、2型が13/58 (22.4%)検出された。また生物型による芽胞の熱抵抗性の差は認められなかった。

品川ら⁶⁾は食品従事者および学童の糞便からの*B. cereus* 検出率は15%であり、食中毒由来株はデンプン分解性であったと報告している。今回の結果では、集団給食従事者の糞便から13.6%検出されているため、ほぼ同率であった。また神保らの生物型別では圧倒的に7型が多く21/31 (67.7%)、次いで6型が7/31 (22.6%)であった。デンプン分解性において陰性を示した食品は43/58 (74.1%)、糞便は28/31 (90.3%)と高率に検出された。

今回は食品や集団給食従事者の糞便から分離した菌

であるため、即、食中毒には結びつかないが、今後、特定の生化学的性状や芽胞の熱抵抗性と毒素産生との関係を検討しなければならないと思われる。

その他、マウス致死試験および細胞障害試験も検討中である。

要約

食品の*B. cereus*汚染状況と糞便の*B. cereus* 保菌状況を調査し、次の知見を得た。

1. 食品から32.9%、糞便から13.6%分離された。
2. 生物型別では、食品は6型、糞便は7型が最も多く検出された。
3. 分離菌株89株の生化学的性状は菌株により異なり一定していない。
4. 23株について芽胞の熱抵抗性試験を行ない、糞便では 100°C , 30分で100%の熱抵抗性を示し、食品では 90°C , 15分で100%の熱抵抗性を示した。

文献

- 1) 田村利勝他: 日公衛誌, **12**, 945 (1965)
- 2) 品川邦汎他: 食衛誌, **20**, 186-191 (1979)
- 3) 伊藤武他: 東京衛研年報, **33**, 9-18 (1982)
- 4) 旅田一衛他: 大阪府立公衛研年報, **15**, 117-120 (1984)
- 5) 神保勝彦他: 東京衛研年報, **33**, 161-165 (1982)
- 6) 品川邦汎他: 食衛誌, **21**, 266-272 (1980)
- 7) 楠淳他: 東京衛研年報, **28**, 11-14 (1977)
- 8) 神保勝彦他: 東京衛研年報, **33**, 161-165 (1982)
- 9) 神保勝彦他: 東京衛研年報, **29**, 158-162 (1978)
- 10) 旅田一衛他: 大阪府立公衛研年報, **15**, 121-124 (1984)

松山市におけるC群ロタウイルスによる下痢症の継続的調査

大瀬戸光明 山下育孝 高木賢二 桑原広子*
井上博雄 石丸啓郎** 小林宣道***

はじめに

ロタウイルス下痢症は、世界各国に広く存在し、とくに、発展途上国においては、乳幼児の死亡の主要な原因の一つとなっている。また、日本や欧米諸国においても、なお高い罹患率を示す公衆衛生上重要な疾病である。そのため、現在、多くの研究所でロタウイルスワクチンの開発の研究が続けられている。

しかし、近年、世界各地で通常のA群ロタウイルスとの共通抗原を欠く非定型ロタウイルスが、動物やヒトから検出されている。なかでも、1983年から84年の中国におけるB群ロタウイルスによる下痢症の大流行は、成人を主とした大規模なもので、報告された地域の患者数は数万人と推定されている¹⁻⁴⁾。ヒトからのB群ロタウイルスの検出の報告は、中国以外ではほとんどなく、米国のBaltimoreでの検出例のみである⁵⁾。

C群ロタウイルスは、1980年はSaifら⁶⁾により、ブタから最初に検出され、その後世界各地でヒトからの検出が報告されている⁷⁻¹⁰⁾。しかし、C群ロタウイルスのヒトからの検出頻度は一般に非常に低率であった。これらのことから、非定型ロタウイルスとくにC群ロタウイルスの下痢症の病原としての意義は、A群に比べ小さいと考えられていた。

われわれは、1985年にわが国で初めてC群ロタウイルスと考えられる非定型ロタウイルスを検出し¹¹⁾、さらに血清疫学により、1971年以前からC群ロタウイルスが浸淫しており、その浸淫度も比較的高いことを報告してきた¹²⁾。その後も非定型ロタウイルスの動向を監視していたところ、1988年2月から5月に、世界に例をみない程の多くのC群ロタウイルスを検出した。このことは、ロタウイルス下痢症の診断やワクチン開発上重要な問題となるため、1985年からの継続調査によって得られたC群ロタウイルスの疫学像に関する知見を報告する。

材料と方法

糞便材料：松山市のI小児科医院外来の急性胃腸炎患者の糞便を採取し、使用時まで -20°C に保存した。糞便は、1984年11月から85年5月(第1期)の間に471例、85年11月から86年5月(第2期)に608例、86年11月から87年8月(第3期)に490例および87年11月から5月(第4期)に313例採取した。

ヒト血清：1988年6月にI小児科医院において採取した下痢症以外の患児の血清57例を供試した。

ウイルス：ヒトA群ロタウイルスWa, S2, YO, Hochi株は国立予防衛生研究所の松野博士より分与された。ウイルスの増殖は、アセチルトリプシンを最終濃度 $2-4\mu\text{g}/\text{ml}$ に添加したMA104細胞系を用い、回転培養で行った。

免疫血清：非定型ロタウイルス陽性糞便から、2回の塩化セシウム密度平衡遠心により精製したウイルス抗原を、Freundの完全アジュバントと等量混合し、モルモットの足蹠および腹腔に接種し、さらに1週後に腹腔に接種した。追加接種を4週後に行い、その1週後に全採血した。A群ロタウイルスの各血清型株の免疫血清は、MA104細胞で増殖させたウイルス抗原を同様の方法で精製、免疫して作成した。抗B群ロタウイルス抗血清(1aADRV; 抗ヒトB群ロタウイルスのウサギ免疫血清)と抗C群ロタウイルス抗血清(gpPaRV; 抗ブタC群ロタウイルスのモルモット免疫血清)はBaylor医科大学のEstes博士から分与されたもの¹³⁾を用いた。

電子顕微鏡法(EM)と免疫電子顕微鏡法(IEM)：EMはBishopらの方法¹⁴⁾を少し改変したわれわれが日常用いている方法¹⁵⁾で行い、2%リンタングステン酸(PTA)染色後直接倍率4万倍で観察した。IEMは4倍階段希釈した血清 $10\mu\text{l}$ と等量のウイルス浮遊液を混合し、 37°C 1時間さらに室温 $1\sim 2$ 時間反応させた後、PTA染色して観察した。ウイルス粒子の明らかな凝集像および抗体の付着を認める血清希釈倍数の逆数をIEM抗体価とした。

ウイルスRNAの電気泳動型の解析：EMでロタウイルス陽性の糞便材料から、Herringらの方法¹⁶⁾で

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234
* 現 松山中央保健所 松山市宮西町1丁目5-11
** 石丸小児科医院 松山市三番町6丁目5
*** 札幌医科大学衛生学教室
札幌市中央区南1条西16

ウイルスRNAを抽出し、Leammlerの方法¹⁷⁾によるSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE)を行った。10%濃度の1mm厚のゲルを用い、10 mA定電流で14時間泳動し、銀染色(和光純薬KK, Silver stain kit)してウイルスRNAの泳動型の判定を行った。

免疫粘着赤血球凝集テスト(IAHA): 抗原は前述の精製ウイルスを用い、井上の方法¹⁸⁾で行った。

結果

1. 非定型ロタウイルス検出状況

各調査期間のEMによるロタウイルス陽性例のうち、用い得た糞便材料からウイルスRNAを抽出し、PAGEにより非定型ロタウイルスの検出を試みた。結果は表1に示した。第1期には471例の糞便から、EMで139(29.5%)のロタウイルスを検出したそのうちの79例についてPAGEを行い、A群ロタウイルスのL型の泳動像を呈するものが39例、S型の泳動像を呈するものが10例検出された。非定型の泳動像を呈するものは5例であった。同様に、第2期にはL型株が58例、S型株が16例、非定型株が7株検出された。第3期には、L型株は54例、S型株は16例であったが、非定型株は全くみられなかった。第4期には、L型株が46例、S型株が23例に対し、非定型株が48例も検出された。

PAGEで泳動型の判定ができたもののうちの非定型株の割合は、第1期・第2期はともに約9%であったが、第4期は41%で非常に高率であった。このことは、第4期すなわち1988年に松山市とその周辺部で、非定型ロタウイルスの流行があったことを示している。

図1には、PAGEによる各泳動型の月別の分布を示した。非定型の泳動型を呈す株は第1期は2月から4月、第2期は3月から4月に検出された。第4期には、1987年12月に1例の非定型株が検出されたが、その他の非定型株はすべて2月中旬から5月に分布しており、検出のピークは3月であった。各期ともA群に比べ、非定型株の検出される時期が遅いことが示された。

次に、各泳動型株の年齢分布を図2に示した。各期ともに、A群ウイルスが3歳以下の小児に多く検出されたことに比べ、非定型株は4—6歳層をピークに高年齢小児に多く検出されることがわかった。15歳以上の症例を除いた非定型株陽性者の平均年齢は、第1、第2、第4期それぞれ9.0歳、3.8歳、6.2歳であり、A群の平均年齢に比べ明らかに高かった。

2. 各調査期の非定型株の泳動像の比較

検出された非定型株の泳動像は、すでに報告されているC群ロタウイルスのそれと非常に良く類似していた。すなわち、図3に示したように、A群ロタウイルス

表1 電子顕微鏡法によるロタウイルス検出数とウイルスRNAの泳動型の分析結果

調査期 (調査期間)	電子顕微鏡法		PAGE			
	検査数	ロタウイルス陽性数(%)	検査数	電気泳動型		
				L型	S型	非定型
I (1984年11月—1985年5月)	471	139 (29.5)	79	39	10	5
II (1985年11月—1986年6月)	608	167 (27.5)	110	58	13	7
III (1986年11月—1987年8月)	490	102 (20.8)	89	54	16	0
IV (1987年11月—1988年5月)	313	149 (47.6)	145	46	23	48
計	1882	557 (29.6)	423	197	62	60

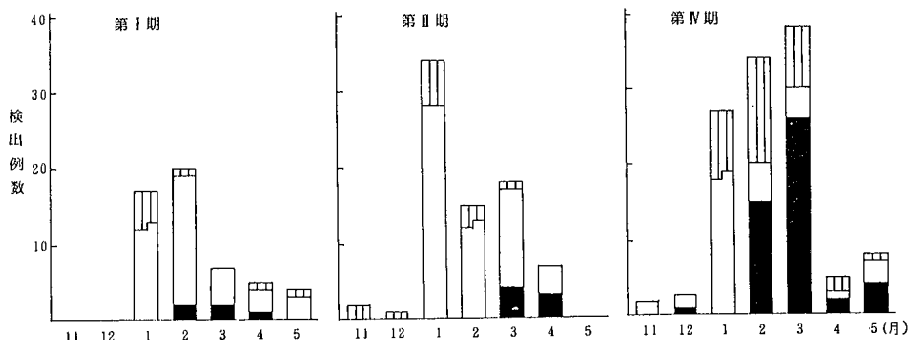


図1 電気泳動型別の月別ロタウイルス検出状況 (□ A群L型, ▨ A群S型, ■ C群)

スの泳動像に比べると、第7分節の移動度が小さく、第5、第6分節に近く位置しており、また、第10、第11分節の移動度が大きい特徴がみられた。また、図3には、第1期の非定型株85-410と第2期の86-454、86-542がほとんど同じ泳動像を呈し、第4期の88-343以降の3株とは泳動像にわずかではあるが明らかな差異が認められた。最も明らかな差異は第5、6、7分節のパターンで、第4期の株はほぼ等間隔に並んでいる。図には示していないが、第1期と第2期の非定型株12例は、Co-electrophoresisでやっと識別できる程度のわずかな泳動型の変異はあるが、並列して同時に泳動した場合はすべて同一の泳動像を示した。同様に第4期の非定型株も並列して泳動した場合は、すべての株が同一の泳動パターンを呈した。1986年以前の非定型株と87年以降の株の間の遺伝子型の変異は、ウイルスの生物学的性状の何らかの変化を伴っているかも知れない。第4期に非定型株が流行したことからあわせて考えると興味深い点である。

3 IEMによる非定型株の同定

抗A群、抗B群および抗C群ロタウイルスの抗血清を用いて、非定型株86-542を同定したIEMの結果を表2に示した。ホモ抗体価が1600倍またはそれ以上であるgpPaRV(抗C群ロタウイルス抗血清)に対し、86-542は400倍であった。anti-Wa(抗A群ロタウイルス抗血清)とlaADRV(抗B群ロタウイルス抗血清)に対しては、86-542は全く反応が認められなかった。これらのことから86-542はC群ロタウイルスであると同定された。

次に、このC群ロタウイルス86-542のモルモット免疫血清を用いて、その他の非定型株の同定試験を行い、結果を表3に示した。抗86-542抗血清#18、#19のホモ抗体価はそれぞれ3200倍、6400倍であった。この血清は、A群ロタウイルスWa、S2、YO、Hochiの各株に対してはすべて50倍未満で反応が認められなかった。検査に供したその非定型株8例はすべて、86-542とはほぼ同じIEM抗体価を示し、血清学的にもC群ロタウイルスであることが確認された。これらの結果から、われわれがPAGEで検出した非定型株はすべてC群ロタウイルスであると考えられた。

表2 IEMによる非定型ロタウイルス86-542の同定

ウイルス	抗血清		
	anti-Wa ^a	laADRV ^b	gpPaRV ^c
86-542	< 10	< 10	400
KU	≥ 1000		

a: 抗A群ロタウイルス抗血清

b: 抗B群ロタウイルスウサギ抗血清(ホモ抗体価≥1600倍)

c: 抗C群ロタウイルスモルモット抗血清(ホモ抗体価≥1000倍)

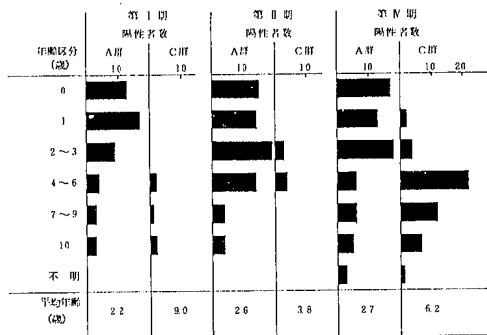


図2 A群とC群ロタウイルス陽性者の年齢分布

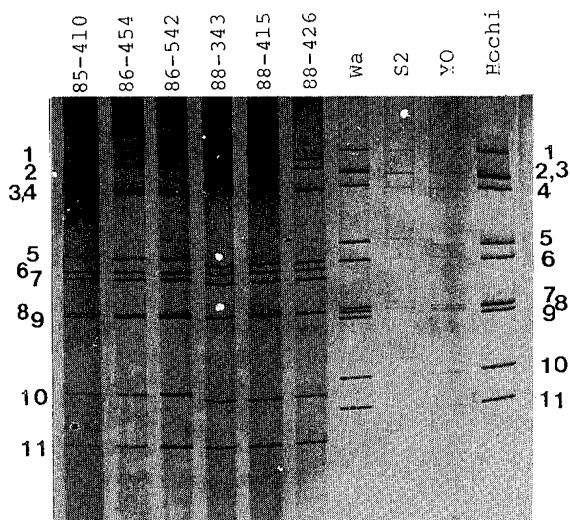


図3 非定型ロタウイルスとA群ロタウイルスのRNAの電気泳動像(Wa, S2, YO, HochiはA群ロタウイルスで血清型は順に1, 2, 3, 4型)

表3 抗86-542抗血清を用いたIEMによる非定型ロタウイルスの同定結果

ウイルス	抗A群抗血清		抗C群抗血清	
	抗YO株抗血清	抗86-542(#18)	抗86-542(#19)	
Wa	nd	< 50	< 50	
S2	12800	< 50	< 50	
YO	≥ 12800	< 50	< 50	
Hochi	nd	< 50	< 50	
85-352	< 50	3200	nd	
85-410	< 50	3200	nd	
86-542	< 50	3200	6400	
86-328	< 50	3200	nd	
88-164	< 50	3200	nd	
88-227	< 50	≥ 3200	nd	
88-426	< 50	3200	3200	
88-343	< 50	3200	3200	
88-373	< 50	800	3200	

表4 ロタウイルス流行後の年齢区分別 I A H A 抗体価の分布

抗原	年齢区分(歳)	<10	10	20	40	80	160	320	640 ≤	陽性数(%)
88-415 (C群ロタウイルス)	0-1	17			1					1 (5.5)
	2-3	15	1			1	2			4 (21.1)
	4-5	17				2	1			3 (15.0)
	計	49	1		1	3	3			8 (14.0)
YO (A群ロタウイルス)	0-1	6		1	2	5	3	1		12 (66.7)
	2-3	1		1	1	4	7	2	3	18 (94.7)
	4-5	2		1	2	5	4	4	2	18 (90.0)
	計	9		3	5	14	14	7	5	48 (84.2)

4. C群ロタウイルスの I A H A 抗体保有状況

1988年6月に採取した、低年齢小児の血清を用い、今回の流行後の I A H A 抗体保有状況を調査した結果を表4に示した。A群ロタウイルスYO株に対しては、0-1歳ですでに約70%が抗体を保有していた。一方、C群ロタウイルス88-415株に対しては、ほとんど抗体を獲得していなかった。2-3歳、4-5歳ではそれぞれ21%、15%の保有率であったが、さらに高い年齢層の抗体調査が必要である。これらの結果は、今回の流行が0-1歳の低年齢小児をほとんど侵襲しなかったことを示しており、図2に示したC群ロタウイルス陽性者の年齢分布とも一致している。

5. A群とC群ロタウイルスの臨床症状の比較

1988年のC群ロタウイルス陽性者45名とA群ロタウイルス陽性者29名の症状を比較し、表5に示した。下痢、嘔吐、38°C以上の発熱を伴う典型的なロタウイルス感染の症状を呈するものは、C群ロタウイルスでは21%であったが、A群では41%であった。この差はC群ロタウイルスでは熱発者が少ないことによっており、下痢、嘔吐の頻度はA群とC群ではほとんど差がみられなかった。このように、症状の比較により認められたC群の症状の軽い傾向は、熱発者の少ないためであり、臨床診断ではA群とC群の鑑別はできないものと考えられた。

考察

ヒトの非定型ロタウイルスはB群とC群が報告されている。中国におけるB群ロタウイルスの流行は、成人を主とした大規模なもので、流行後の血清疫学調査¹⁹⁾では、流行地の抗体陽性率は約40%であった。また、流行地以外の地域では16.7%、流行の確認されていない香港やオーストラリアの健康者でも約16%の抗体陽性率が報告されている。さらに、中国における家畜、家禽、ネズミ等の抗体保有率を調査し、ブタが36%、ラットが46%の陽性率を示し、B群ロタウイルスが人間の生活環境に密接な関係を持つ動物に広く浸淫していることを報告している。B群ロタウイルスは中国以外の国においても、動物^{20,21)}やヒト⁵⁾から検出されて

表5 A群とC群ロタウイルスの臨床症状の比較

症状別	症例数	
	A群(%)	C群(%)
D + V + F	12 (41)	10 (21)
D + F	1 (3)	3 (6)
D + V	12 (41)	29 (62)
D	4 (14)	5 (11)
計	29 (100)	47 (100)

D:下痢, V:嘔吐, F:38°C以上の発熱

いるが、わが国ではまだ検出された報告はない。われわれの4年間の継続調査においても、B群ロタウイルスは全く検出されなかった。

C群ロタウイルスは世界各地で報告されているが、検出例数は数株以下で検出率が極めて低い⁷⁻¹⁰⁾。また、小規模な血清疫学調査によっても、C群ロタウイルスの浸淫度は非常に低いものと考えられていた^{10,22)}。今回、われわれは、1988年2月から5月に松山市とその周辺部において、C群ロタウイルスの流行を把握したが、このような例はまだ報告がない。前報で当地域において1980年にすでに少数例のC群ロタウイルス様のRNA泳動像を呈する非定型株を検出し、さらに、血清疫学により1971年以前から当地域にC群ロタウイルスが浸淫していることを報告した。A群ロタウイルスに比べ感受性者が多いにもかかわらず、C群ロタウイルスが今まで大きな流行を起さなかったのは何故か。注目すべき点である。また逆に、今回、このような流行をしたのは何故であろうか。ウイルスRNAの泳動像では、1986年以前の非定型株と1988年の非定型株との間に、わずかではあるが明らかな差異が認められ、ウイルス遺伝子の何らかの変異が伺われた。この変異と今回の流行とを関連づけるには、遺伝子の機能に関する知識の集積が必要であろう。

C群ロタウイルス陽性者を数多く見出したため、C群ロタウイルスの疫学像に関する若干の知見が得られた。C群ロタウイルスは、2歳以上の小児を中心に侵襲しており、0-1歳の幼若小児にはほとんど感染していない。A群が0-1歳児に多いことと著しく異

っている。このことは、C群ロタウイルスの疫学を考
える上で重要であると思われる。ロタウイルスの感染
経路は一般に糞口感染が主と考えられている。行動範
囲が狭く、感染機会が少ない0歳や1歳の幼児小児の
感染は、年長児や成人により家庭内に持ち込まれたウ
イルスによる家族内感染によることが多いと思われる。
このような伝播様式は、われわれが調査した同一の社
会経済圏内では、A群もC群も同じであろうと考えら
れる。糞便中へのウイルスの排泄量は、EMでの観察
ではA群もC群も同程度で明らかな差は認められな
かった。それにもかかわらず、C群ロタウイルスが幼児
小児を侵襲していないのは、ヒトからヒトへの伝播の
間に暴露される種々の環境要因、即ち、気温や湿度あ
るいは下水や河川水のpH等に対する抵抗性がA群に
比べ弱いためにはなからうか。また、C群ロタウイル
スの流行時期は2月から5月であり、A群に比べ1—
2ヶ月遅れていた。このことも、C群ロタウイルスの
環境中での不安定性から、A群に比べ伝播効率が低下
しているために生じたと考えられる。

最近、ロタウイルス感染症における動物の役割が注
目されている。種々の動物が非定型ロタウイルスを含
めて、多くのロタウイルスを保有していることがわか
っており、また、ヒトロタウイルスと動物のロタウイル
スの間でreassortantができることが示されている。
今回のC群ロタウイルスの流行の感染源や伝播経路は
明らかでないが、今後、動物の非定型ロタウイルスの
検索が必要であろう。

C群ロタウイルスは、A群ロタウイルスとの共通抗
原を欠くため、現在広く使用されているロタウイルス
診断薬では全く検出されない。またA群ロタウイルス
のワクチン開発が進んでいるが、C群ロタウイルスに
対しては予防効果が期待できない。本年は、国内各地
でC群ロタウイルスの検出の報告がなされており^{23,24)}、
C群ロタウイルスが今後さらに流行する可能性がある
ため、監視をより強化する必要がある。

まとめ

- 1984年11月から、4期のロタウイルス流行期に、
EMとPAGEにより、非定型ロタウイルスの検索
を行い、1988年2月から5月に松山市とその周辺部で
C群ロタウイルスが流行したことを確認した。
- 第4調査期には、A群ロタウイルスが69例に対し、

C群ロタウイルスは48例検出された。

- C群ロタウイルスは、高年令小児を主に浸淫し、
ウイルス陽性者の平均年齢は、A群が2.7歳に対し
てC群は6.2歳であった。
- C群ロタウイルス感染者の臨床症状は、A群に比
べ多少軽い傾向が認められた。

本研究の一部は、愛媛県保健医療財団の研究助成金
によりなされたものである。

文献

- Hung, T. et al: Lancet i, 1139-1142 (1984)
- Wang, S. et al: Intervirology, 24, 140-146
(1985)
- Su, C. et al: J. Med. Virol., 19, 167-173 (1986)
- Chen, G. et al: Lancet ii, 1123-1124 (1985)
- Eiden, J. et al: Lancet ii, 8-11 (1985)
- Saif, L. J. et al: J. Clin. Microbiol., 12, 105-
111 (1982)
- Rodger, S. M. et al: ibid, 16, 724-726 (1982)
- Nicolas, J. C. et al: Virology, 124, 181-184
(1983)
- Dimitrov, D. H. et al: Infect. Immun., 41, 524-
526 (1983)
- Bridger, J. C. et al: J. Clin. Microbiol., 24,
760-763 (1986)
- 大瀬戸光明他: 医学のあゆみ, 136, 223-224 (1986)
- 大瀬戸光明他: 愛媛衛研年報, 47, 5-9 (1986)
- Nakata, S. et al: J. Infect. Dis., 154, 448-455
(1986)
- Bishop, R. F. et al: Lancet i, 149-151 (1974)
- 厚生省監修: 微生物検査必携ウイルス・クラミジア・
リケッチャ検査第3版第2分冊各論, 1, 176-179, 日
本公衆衛生協会 (1987)
- Herring, A. J. et al: J. Clin. Microbiol., 16,
473-477 (1982)
- Laemmli, U. K.: Nature, 227, 680-685 (1970)
- 井上栄: 臨床検査, 25, 959-965 (1981)
- Hung, T. et al: Chinese J. Virol., 1, 233-237 (1985)
- Bridger, J. C. et al: Infect. Immun., 35, 1058
-1062 (1982)
- Bohl, E. H., et al: J. Clin. Microbiol., 15, 312
-319 (1982)
- Espejo, R. T. et al: Infect. Immun., 44, 112-
116 (1984)
- 松本和男他: 病原微生物検出情報, 9, 147-148 (1988)
- 上羽修他: 同上, 9, 148 (1988)

腸管アデノウイルスの浸淫状況について

桑原 広子* 大瀬戸 光明 山下 育孝
高木 賢二 井上 博雄 石丸 啓郎**

はじめに

われわれは1980年から主として電子顕微鏡法による小児急性胃腸炎の病原検索を行い、ウイルスの浸淫状況を継続的に観測している。ロタウイルスの検出率が最も高く、毎年15~25%を示すが、次いで多く検出されるのがアデノウイルスで、毎年約5%の患者から検出されている。

アデノウイルスは、急性気道疾患や結膜炎など様々な疾患の病因であり、また、無症状者からも多く検出されるため、下痢症の病因としての役割が確立しにくいウイルスであった。1970年代に小児急性胃腸炎患者の糞便から電子顕微鏡でアデノウイルスが相次いで検出されて以来¹⁻⁴⁾、下痢症関連アデノウイルスの研究が進み、アデノウイルス40型と41型が下痢症の病原体として一般に認められるようになった⁵⁻⁷⁾。

しかし、腸管アデノウイルスと呼ばれるアデノウイルス40型と41型は、培養細胞における難培養性から、国内の疫学像を明らかにした報告は少なく、不明の部分が多く残されている。近年、アデノウイルスDNAの制限酵素分析により、アデノウイルスの型別および遺伝子型が同定できることが明らかになった^{8,9)}。特に、腸管アデノウイルスは、下痢症患者の糞便から直接アデノウイルスDNAを抽出し制限酵素マッピングが可能となったので、アデノウイルスによる下痢症の実態が明らかにされつつある。

今回は、特にこの腸管アデノウイルスに注目し、電子顕微鏡で検出されるアデノウイルスのうち占める腸管アデノウイルスの割合と、血清疫学により腸管アデノウイルスの浸淫状況を調査したので報告する。

材料と方法

1. DNA制限酵素マッピング

1986年から1987年の小児下痢症患者糞便のうち、電子顕微鏡(EM)でアデノウイルス(Ad)が確認された検体

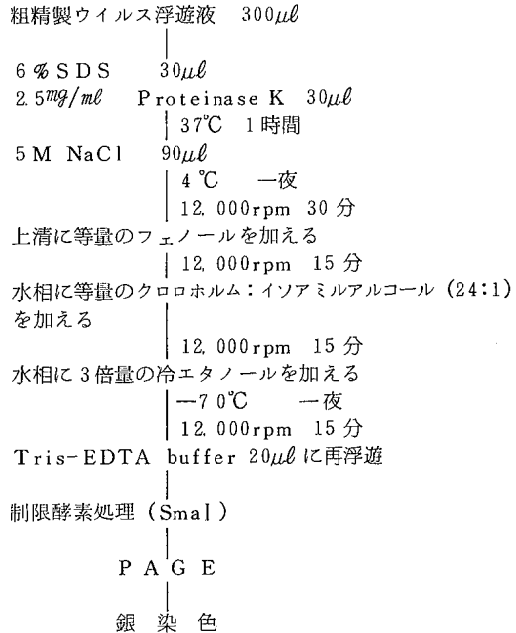


図1 DNA制限酵素分析法

35例を用い、Brownらの方法⁹⁾に準じて試験した。方法の概要は図1に示した。すなわち、糞便からウイルス粒子を粗精製し、フェノール・クロロホルムによりDNAを抽出後、制限酵素Sma Iで切断し、5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)により泳動型の型別を行った。

2. ウイルス分離

糞便材料から293細胞によるウイルス分離を行った。293細胞の増殖培地は10%牛胎児血清加イーグルのMEM培地を用い、維持培地は牛胎児血清を2%に減じたMEM培地を用いた。継代は3代まで行い、cpeの発現した検体はAd1, 2, 3, 4, 5, 6, 40, 41型の抗血清による中和試験で血清型別を行った。293細胞、Ad40, 41型ウイルス株は愛知衛研から、型別用抗血清は国立予研から分与された。

3. 中和抗体価測定

1986年の地域住民血清117例を用いた。被検血清

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

*現 松山中央保健所 松山市宮西町1丁目5-11

** 石丸小児科医院 松山市三番町6丁目5

は56℃, 30分非働化の後, 96穴マイクロプレートで2倍階段希釈した。30~50 TCID₅₀/0.025mlのウイルス浮遊液を加え, 37℃ 1時間さらに4℃一夜中和後, 293細胞浮遊液0.1mlを加え, 37℃で3—5日培養した。中和抗体価の判定は, cpeを指標とし, cpeの出現を阻止した血清の希釈倍数の逆数を中和抗体価とした。

結果

1986年から1987年における小児急性胃腸炎からのEMによる月別ウイルス検出数を表1に示した。Adは51例(4.1%)検出され, ロタウイルスに次いで多く検出された。ロタウイルスや小球形ウイルスが冬期に多い傾向があるのに比べ, Adの検出数の消長に季節性はみられなかった。

これらのAd陽性の糞便のうち, 材料が残っていた35例についてDNA制限酵素マッピングを行った。図2は制限酵素Sma Iで処理したウイルスDNA断片の泳動パターンで, 86-137と86-291はAd40型のパターンを示し, 86-165はAd41型のパターンを示した。今回の検索では, 制限酵素はSma Iのみを用いたため, 詳しい遺伝子型の解析は行えなかったが, Ad41型は少なくとも3種に類別できる遺伝子の変異型がみられた。Ad40型の泳動型を呈するものはすべて同一パターンであった。表2にSma I制限酵素分析により同定されたAdの検出状況を示した。PAGEを行った1986年の23例, 1987年の12例のうち, Ad40型が5例, Ad41型が13例同定された。また, 泳動型が腸管アデノウイルス(EAd)と明らかに異なり, 非EAdと考えられるものが3例検出された。

EAdと同定された例のうち1例はAd40型とAd41型の混合感染と考えられた。図3にその泳動像を示したが, 86-1841はAd40型とAd41型の相方に対応するバンドが認められた。

次に, 293細胞によるウイルス分離結果を表3に示した。EAdは難培養性で, 初代にcpeが出現しても, そ

の後の継代でcpeが消失することが多い。そのため今回は3代目にcpeが陽性のものをウイルス分離陽性と

し, 中和試験で同定した。しかし, 中和試験ではAd40型とAd41型は明瞭に型別できなかったため, EAd40/41型と表示した。EAd40/41型は3例のみ同定され, 他は通常のAdで, 2型(12例), 1型(4例), 3型(4例)および6型(2例)が分離された。この結果を前述の制限酵素分析によるウイルス型別の結果と比較すると, 培養細胞法で通常のAdが分離された例で, PAGEではAd40型またはAd41型と同定されたものが高率にみられた。この不一致は, 通常のAdとEAdの混合感染のためと考え, 培養細胞法で分離された通常のAdの型の抗血清により, 糞便分離材料を中和した後, 293細胞に接種し, 再分離を試みた。18例について再分離検査を行った結果表4に示したとおり8例のEAd40/41型が分離された。以上のように, EMでAd陽性の糞便中には, EAdと通常のAdの混合感染例が

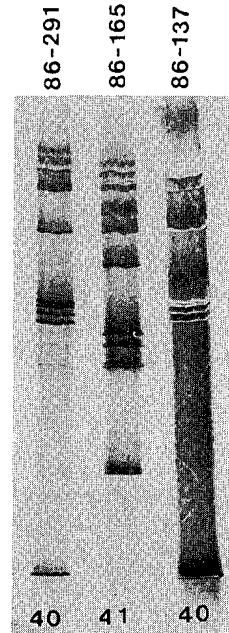


図2 EAdのDNA制限酵素分析像

表1 小児急性胃腸炎患者からの月別ウイルス検出数

ウイルス名	1986												1987												計	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
ロタウイルス	76	36	24	15	1							9	17	14	12	18	4	19	8		1			2	4	260
アデノウイルス	7	2	1	2	4	2	2	3	3			4	3	2	3		1	2	2		3		1	4	51	
30-35nm 粒子	5	3	4	3	1							1	11	4	2	1					1		1	5	3	45
カリシウイルス	1	2	2		1												1	2		3						12
アストロウイルス	1		1	2	5							1	3		7	1										20
ピコルナ/パルボ	1	1										1	4	1												8
計	91	44	32	22	12	2	2	3	3			15	35	21	17	26	6	22	10	5	2	3	1	8	11	396
検査数	149	94	95	60	69	49	46	39	36	13	44	89	71	75	79	14	40	41	15	19	14	23	47	23	1247	

比較的多いことが示された。なお、このような混合感染例の糞便の制限酵素分析では、PAGEパターンはAd40型とAd41型を示し、他のAdのDNA断片の混在は認められなかった。

本県中心部の住民117名のAd40型と41型の年齢区分別の中和抗体保有状況を図4に示した。対称のAd2型の抗体保有率は加齢とともに上昇し、4-5歳で70%以上が抗体保有していた。Ad41型抗体保有率は2-3歳から上昇し、6-7歳がピークで約60%であった。一方Ad40型抗体の保有率は全般的に低く、ピークの4-5歳でも20%にすぎなかった。

考察

EAdは293細胞やChang細胞により、ウイルス分離が可能になったこと^{10,11)}、ウイルス核酸の分子疫学的研究の成果により、世界各地でその疫学像が明らかにされつつある。

293細胞とChang細胞はともにAdによりトランスフォームした細胞で、Adの初期蛋白の遺伝子が組み込まれている。Takiffら¹²⁾は、EAdの難培養性は通常の培養系ではウイルス複製の初期の段階でブロックされるためと考えており、293細胞ではAdの初期蛋白が産生されているため、EAdの増殖が可能なのであろうと述べている。今回の成績では、EAdと通常のAdとの同時感染が比較的多いことが示された。EAdの増殖において他のAdがヘルパー的な働きをしている可能性も考えられる。また、EAdを分離する際には、同時感染が多いという事実は重要で、継代中に通常のAdが優勢になり、EAdを見逃すおそれがあるので注意が必要である。

われわれの検索結果では、EMでAd陽性例の過半数はEAdであり、小児の下痢症におけるEAdの役割は非常に重要であることが示唆された。

表2 アデノウイルスDNAの制限酵素分析によるEAd検出数

	検体数	Ad40	Ad41	非EAd	陰性
1986年	23	4*	10*	3	7
1987年	12	1	3	-	8
計	35	5	13	3	15

*混合感染例1例を含む

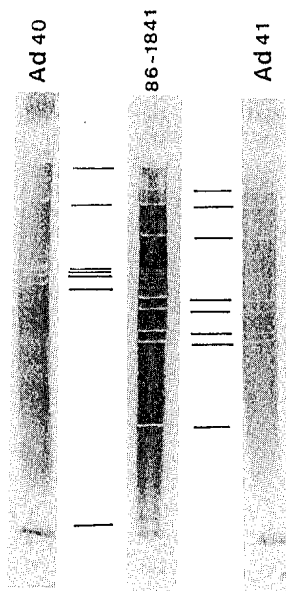


図3 Ad40とAd41の混合感染例

表3 アデノウイルス分離数

EM法	培養細胞法	中和後再分離
Ad陽性 (40)	EAd (3)	EAd (8)
	Ad1 (4)	
	Ad2 (12)	
	Ad3 (4)	
	Ad6 (2)	
	同定中(7)	
	陰性 (8)	

表4 Adウイルス混合感染例

Sample No.	細胞培養法	中和後再分離	PAGE
86-137	Ad-2	EAd	Ad-40
86-165	Ad-2	EAd	Ad-41
86-291	Ad-2	EAd	Ad-40
86-634	Ad-6	EAd	Ad-41
86-739	Ad-2	EAd	
86-822	Ad-2	EAd	Ad-41
86-1154	Ad-2	EAd	Ad-41
86-1741	Ad-2	EAd	Ad-41
86-1841	EAd		Ad-40, Ad-41

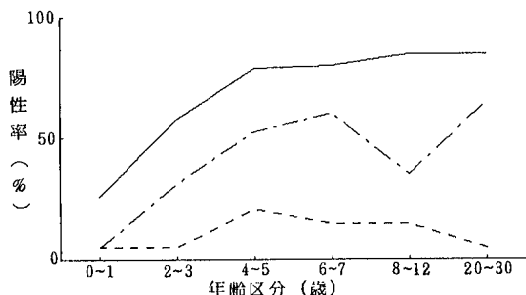


図4 アデノウイルス抗体保有率 (1986年血清117件)

(—Ad2型, ---Ad40型, ···Ad41型)

国内では、荒木らがDNA制限酵素分析や、血清疫学を行い¹³⁻¹⁵⁾、1982年から1985年にはAd40型を多く検出している。それ以後の検索においては、われわれと同様Ad41型を多く検出している。Ad40型とAd41型の分布は地域や年度により異っているものと考えられる。

また、EAdは中和試験ではAd40型とAd41型の共通抗体も測定し、型別の抗体は測定し難いとされているが¹⁶⁾、われわれの成績ではAd40型とAd41型の抗体保有率に明らかな差異が認められ、ウイルス検出の結果と同様、Ad41型の浸淫が大きいことが示された。しかし、特にAd40型は感染ウイルス量とcpeの出現との関係が不安定なため、中和試験における攻撃ウイルス量の多少の変動が中和抗体価には大きな変動として現れるため、さらに厳密な検査が必要である。

今回、われわれはウイルスDNAの制限酵素分析と293細胞による分離を行ったが、両検査法は検出感度において十分とはいえない。現在モノクローナル抗体を用い、糞便材料から直接EAdの検出と型別をする方法を開発中であり、今後より詳細な疫学的調査を実施したい。

まとめ

1. ウイルスDNA制限酵素分析と293細胞を用いた分離法により、EAdを検出した。
2. 小児の下痢症から検出されるAdの大部分はEAdであることが示された。
3. EAdと通常のAdとの混合感染が多いことが示された。
4. 住民の抗体保有状況からAd41型の浸淫がAd40型に比べ高率であった。

文献

- 1) Flewett, T. H. et al. : Lancet, 1, 4-5 (1975)
- 2) Schoub, B. D. et al. : Lancet, 1, 1093-1094 (1975)
- 3) Middleton, P. J. et al. : Amer. J. Dis. Child, 131, 733-737 (1977)
- 4) Madeley, C. R. et al. : J. Hyg., 78, 261-273 (1977)
- 5) de Jong, J. C., et al. : J. Med. Virol., 11, 215-231 (1983)
- 6) Uhnoo, I. et al. : Develop. Biol. Standard, 53, 311-318 (1983)
- 7) Uhnoo, I. et al. : J. Clin. Microbiol., 20, 365-372 (1984)
- 8) Wadell, G. et al. : Infect. Immun., 27, 292-296 (1980)
- 9) Brown, M., et al. : J. Virol. Method., 9, 87-98 (1984)
- 10) Takiff, H. et al. : Lancet, 2, 832-834 (1981)
- 11) Kidd, A. et al. : J. Clin. Pathol., 34, 213-216 (1981)
- 12) Takiff, H. et al. : J. Med. Virol., 9, 93-100 (1982)
- 13) 荒木和子: ウイルス, 36, 263-281 (1986)
- 14) 牛島廣治他: 臨床とウイルス, 14, 446-447 (1986)
- 15) 荒木和子他: 臨床とウイルス, 15, 87-89 (1987)
- 16) Kidd, A. H. et al. : J. Med. Virol., 11, 333-341 (1983)

愛媛県における先天性代謝異常マス・スクリーニング

高松 公子 齊藤 健 井上 博雄

はじめに

先天性代謝異常マス・スクリーニングは、生後5～7日の新生児を対象に、先天性代謝異常症5疾病について、昭和52年度より全国的に実施されている。

愛媛県においても、県内の医療機関で出生する新生児を対象に、昭和52年11月より開始され、10年が経過した。今回は、この10年間の実施状況および検査結果について検討した。さらに、検査結果をもとに、各疾病の遺伝子頻度を算出し、県内のヘテロ接合体健常保因者数の推定を行ったので報告する。

材料と方法

1. 検査材料：昭和52年11月より62年3月までに県内の医療機関で出生した生後5～7日の新生児を検査対象に、先天性代謝異常検査用紙に採血したもの。
2. 対象疾病：フェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、メープルシロップ尿症、ヒスチジン血症、ガラクトース血症の5疾病。（クレチン症は県立中央病院で検査を実施）
3. 検査方法および判定基準：アミノ酸代謝異常症であるフェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、メープルシロップ尿症、ヒスチジン血症の4疾病については、ガスリー法¹⁾で行った。表1に示した判定基準以上の検体については、同一検体を用いて、アルコール・アセトン（1：1）固定した上で、再検査を実施した。ガラクトース血症については、ポイトラー法²⁾とペイゲン法³⁾による検査を行っている。ポイトラー法ではガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ (Gal-1-P) の蛍光の有無を判定の指標としている。

また、ペイゲン法では、従来の方法は成長帯が無色で判定が困難な場合があったため、当県においても、昭和61年8月より、判定を容易にするため、成長帯が赤色となるテトラゾリウム塩 (TTC) をペイゲン法ガラクトース培地に添加する方法（ペイゲン-ファージー吉田法⁴⁾）に変更している。

結果および考察

1. 先天性代謝異常検査の実施状況

昭和52年11月より62年3月までの先天性代謝異常マス・スクリーニングの実施状況を表2に示した。この10年間、出生数は年々減少する傾向にあり、昭和53年度には2万1千人を超えていたものが、近年は1万8千人前後にまで減少している。検査実施数は、出生数の減少が響き、昭和59年度以降は2万人を下回る結果となっている。しかしながら、実施率においては、スクリーニング事業開始当初は85%程度であったものが昭和56年度には100%を超え、現在は110%程度でほぼ一定している。愛媛県の場合、県外からの里帰り出産が全体の1割程度あるため、県内で出生する新生児全員をほぼ把握しているものと考えられる。

昭和62年3月までに190,850名をスクリーニングし、疑陽性1,042名、判定不能461名の計1,503名について再採血を依頼した。再採血（再々採血も含む）の検体1,692件を再検査した結果、フェニールアラニン1名、メチオニン3名、ヒスチジン47名、ガラクトース19名のスクリーニング陽性者を見つけた。これら75名のスクリーニング陽性者のうち、3名が一過性高メチオニン血症、32名が高ヒスチジン血症、8名が高ガラクト

表1 疾病別検査方法と判定基準

疾 病	検 査 物 質	検 査 方 法	疑陽性判定基準
フェニールケトン尿症	フェニールアラニン	ガスリー法	2～4mg/dL以上
メープルシロップ尿症	ロイシン	ガスリー法	2～4mg/dL以上
ホモシスチン尿症	メチオニン	ガスリー法	1～2mg/dL以上
ヒスチジン血症	ヒスチジン	ガスリー法	4～6mg/dL以上
	ウロカニン酸	薄層クロマトグラフ法	検出せず
ガラクトース血症	ガラクトース	ペイゲン (吉田) 法	6～8mg/dL以上
	Gal-1-P	ポイトラー法	蛍光なし

ース血症と診断された。

2. 先天性代謝異常患者の発見率

昭和52年から62年3月までの先天性代謝異常症5疾病の全国および愛媛県の患者発見率は表3に示すとおりである。この5疾病のほかにもスクリーニングにより発見される先天性代謝異常症は数多くあり、県内で3名の患者が発見された高メチオニン血症もその一つである。

全国的にみて、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症の2疾病は最も患者が少なく、次いでフェニールケトン尿症となっている。愛媛県においては、まだこれら3疾病の患者は、まだ発見されていない。当県においては、ヒスチジン血症の患者発見率1/6,000、ガラクトース血症の患者発見率1/24,000であり、この2疾病については、全国平均を上回っている。このほか、当県では、高メチオニン血症患者が3名発見されており、この発見率は1/63,600となっている。

ルケトン尿症となっている。愛媛県においては、まだこれら3疾病の患者は、まだ発見されていない。当県においては、ヒスチジン血症の患者発見率1/6,000、ガラクトース血症の患者発見率1/24,000であり、この2疾病については、全国平均を上回っている。このほか、当県では、高メチオニン血症患者が3名発見されており、この発見率は1/63,600となっている。

3. 先天性代謝異常症の健常保因者数の推定

先天性代謝異常マス・スクリーニングで発見される5疾病(フェニールケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホ

表2 先天性代謝異常マス・スクリーニング実施状況

年 度		52*	53	54	55	56	57	58	59	60	61	計	
初 回 検 査	検 査 件 数**	7,849	21,636	21,295	20,332	21,056	20,746	20,520	19,893	18,991	18,532	190,850	
	正 常	7,830	21,602	21,260	20,298	20,834	20,497	20,355	19,634	18,736	18,289	189,335	
	疑 陽 性	18	29	31	34	158	219	144	134	145	130	1,042	
	陽 性 判 定 不 能	1	5	4	0	0	0	0	2	0	0	12	
再 検 査	検 査 件 数					76	216	247	313	321	277	242	1,692
	正 常					55	192	225	275	294	247	223	1,511
	疑 陽 性					12	10	10	26	11	9	4	82
	陽 性 判 定 不 能					9	10	8	11	5	7	2	52
項 目 別 陽 性 数	フェニールアラニン									1		1	
	ロ イ シ ン											0	
	メ チ オ ニ ン					2	2(1)	2	2(2)			8(3)	
	ヒ ス チ ジ ン	1(1)	5(5)	4(4)	9(9)	5(3)	5(3)	6(3)	2(1)	2(2)	1(1)	47(32)	
	ガ ラ ク ト ー ス				1	3	1(1)	3(1)	2(1)	5(5)	1	19(8)	

* 昭和52年11月～53年3月 () は陽性患者

** 昭和52～54年度分は再検査を含む。

表3 先天性代謝異常患者発見率

対 象 疾 病 名	全 国*		愛 媛 県**	
	患 者 数	発 見 率	患 者 数	発 見 率
フェニールケトン尿症	179	1/75,600	0	—
メープルシロップ尿症	32	1/420,000	0	—
ホモシスチン尿症	63	1/210,000	0	—
ヒスチジン血症	1,579	1/8,600	32	1/6,000
ガラクトース血症	222	1/61,000	8	1/24,000
計	2,075	1/6,500	40	1/4,800

* 昭和52～61年度 検査数13,541,228名(厚生省統計)

** 昭和52年11月～62年3月検査数 190,850名

モシスチン尿症, ヒステジン血症, ガラクトース血症)は, ほとんどが常染色体性劣性遺伝であると考えてよい。ため, Hardy-Weinberg の二項定理を用いて各疾病の遺伝子頻度, 保因者の頻度を求めることが可能である。

1) Hardy-Weinberg の二項定理

ある疾病に関する正常遺伝子Aの遺伝子頻度をpとすると, 異常遺伝子aの遺伝子頻度qは1-pとなる。

Hardy-Weinberg の二項定理より

$$(A + a)^2 = AA + 2Aa + aa$$

遺伝子型AAとなる確率は p^2 , 遺伝子型Aaとなる確率は $2p(1-p)$, 遺伝子型aaとなる確率は $(1-p)^2$ である。劣性遺伝の場合遺伝子型AAの人間は正常者, 遺伝子型Aaの人間は健常保因者, 遺伝子型aaの人間は患者となる。

2) 先天性代謝異常症の遺伝子頻度・健常保因者数

昭和52年11月から62年3月までに, 県内では新生児190,850名に対して, 先天性代謝異常マス・スクリーニングが行われ, ヒステジン血症32名, ガラクトース血症8名の患者が発見されている。全国的には, 昭和52年度から61年度に, 13,541,228名に対して実施されフェニールケトン尿症179名, メープルシロップ尿症32名, ホモシスチン尿症63名, ヒステジン血症1,579名, ガラクトース血症222名の患者が発見されている。これらの結果をもとに, Hardy-Weinberg

の二項定理を用いて, 各疾病の遺伝子頻度を算出すると表4に示すとおりになる。当県では, まだフェニールケトン尿症, メープルシロップ尿症, ホモシスチン尿症の患者が発見されておらず, これら3疾病については遺伝子頻度の算定はできないが, おそらく全国平均よりも低いものと考えられる。また, ヒステジン血症, ガラクトース血症の異常遺伝子頻度は, 全国平均よりも高い。

表5に疾病別の健常保因者の頻度と県内20~34歳の推定健常保因者数を示した。常染色体性劣性遺伝の疾病は, ヘテロ接合体(Aa)である健常保因者間の子供は4分の1の確率で劣性ホモ接合体(aa)である患者となる。父親, 母親となる年齢を男女とも20~34歳と考え, 県内の20~34歳の男性153,000人のうち, ヒステジン血症の健常保因者は3,910人, ガラクトース血症の健常保因者は1,970人いると推定される。同様に20~34歳の女性は167,000人のうち, ヒステジン血症の健常保因者は4,270人, ガラクトース血症の健常保因者は2,150人いると推定される。この健常保因者同士の子供は, 先天性代謝異常症の患児である可能性があり, 今後さらに, この先天性代謝異常マス・スクリーニングを充実させ, 患者の早期発見, 早期治療開始が可能となるように努力しなければならない。

表4 疾病別の異常遺伝子頻度

疾 病	全 国*		愛 媛 県**	
	患 者 数	異常遺伝子の頻度 p	患 者 数	異常遺伝子の頻度 p
フェニールケトン尿症	179	3.64×10^{-3}	0	—
メープルシロップ尿症	32	1.54×10^{-3}	0	—
ホモシスチン尿症	63	2.16×10^{-3}	0	—
ヒステジン血症	1,579	10.80×10^{-3}	32	12.95×10^{-3}
ガラクトース血症	222	4.05×10^{-3}	8	6.47×10^{-3}

* 検査数 13,541,228 名

** 検査数 190,850 名

表5 疾病別の健常保因者の頻度と推定保因者数

疾 病	健常保因者の頻度		県内20~34歳の保因者数	
	全 国	愛 媛 県	男	女
フェニールケトン尿症	7.25×10^{-3}	—	—	—
メープルシロップ尿症	3.07×10^{-3}	—	—	—
ホモシスチン尿症	4.30×10^{-3}	—	—	—
ヒステジン血症	21.36×10^{-3}	25.56×10^{-3}	3910	4270
ガラクトース血症	8.07×10^{-3}	12.86×10^{-3}	1970	2150

まとめ

1. 当県では、昭和52年11月から、先天性代謝異常マス・スクリーニングを実施しており、昭和62年3月までに190,850名を検査している。
2. 先天性代謝異常症患者43名(ヒスチジン血症32名、ガラクトース血症8名、高メチオニン血症3名)が発見された。
3. 当県では、ヒスチジン血症、ガラクトース血症の健常保因者が多いと推定される。

文献

- 1) Guthrie, R. et al: *Pediat.*, **32**, 338-343 (1963)
- 2) Beutler, E. et al: *J. Lab. Clin. Med.*, **68**, 137-141 (1966)
- 3) 石井澄和他: *臨床病理*, **24**, 1022-1024 (1976)
- 4) 吉田篤子他: *代謝異常スクリーニング研究会会報*, **4**, 121 (1979)

DP様アロ抗血清の検討

木下幸正 岡本信恵 高見俊才 井上博雄

はじめに

HLA抗原の同定は、HLA-ABC, DR, DQ抗原については、血清学的に細胞障害性試験にて行われている。D抗原は、混合リンパ球培養試験(MLC)にて同定され、DP抗原は、プライムドリンパ球タイピング(PLT)にて同定される¹⁾。D抗原は、関連抗原としてDR抗原が存在するため、DP抗原のみが血清学的に検索不可能となっている。そこで、DP抗原を血清学的に同定するため、まず特異的な抗血清を得ることが試みられている²⁾。また第3回アジア・オセアニアHLAワークショップにおいてもHLA-DP抗血清の検討がなされている³⁾。

今回、DP抗血清を得る目的で、妊婦血清および分娩血清からすべてのDR, DQ抗原には、低い相関しか示さない抗血清の中から、DP抗原について検討し、DP様アロ抗血清を得たので報告する。

実験材料および方法

妊産婦血清および分娩血清4300本を123人の末梢血リンパ球(T細胞およびB細胞)を用いてNIH microlymphocytotoxicity test法⁴⁾でスクリーニングを行いT細胞陰性B細胞陽性で、DR, DQ抗原に相関を示さない12本の抗血清を得、その中で2組の類似した反応を示す4本の抗血清について検討した。

抗血清の特異性を検討するため、HLA-ABC, DR, DQ, D, DP抗原既知のB細胞株を用いた細胞障害性試験、B細胞株を用いた抗血清の吸収試験、および抗血清とB細胞株を反応させた抗血清感作B細胞株を用いた抗血清、モノクローナル抗体の吸収試験を行った。

1. B細胞株を用いた細胞障害性試験

B細胞株は、HLA-ABC, DR, DQ, D, DP抗原既知B細胞株28株を用いた。細胞障害性試験は、B細胞株と抗血清の反応を4℃1時間とし、NIH microlymphocytotoxicity test法に準じて行った。

2. B細胞株を用いた抗血清の吸収試験

B細胞株は、抗血清に反応陽性を示したのも、およびこれらと類似したDR, DQ抗原をもつ反応陰性のもを用いた。B細胞株 2×10^6 個で抗血清 $20 \mu\text{l}$ を4℃

一夜吸収し、反応陽性を示したB細胞株を標的細胞として細胞障害性試験を行った。

3. 抗血清感作B細胞株を用いた抗血清、モノクローナル抗体の吸収試験

あらかじめ抗血清 $100 \mu\text{l}$ を用いてB細胞株 1×10^6 個と4℃一夜反応させ、抗血清感作B細胞としたのち、これらを用いて抗血清、またはモノクローナル抗体であるHU-4(抗DR), Leu-10(抗DQw, Becton Dickinson社製), DPw(抗DPw, Becton Dickinson社製)をそれぞれ $10 \mu\text{l}$ 4℃一夜吸収後、細胞障害性試験を行った。ただしモノクローナル抗体は、細胞障害性試験での力価が高いためPBSにて40倍希釈したものを使用し、またLeu-10, DPwは、単独では細胞障害性を示さないため2次抗体として抗マウスIgGウサギ抗血清(医学生物学研究所社製)をPBSにて5倍希釈したものを用いた。

結果

スクリーニング血清より得た4本の抗血清No.4447, No.4190, No.3435, No.3433の123人の末梢血リンパ球を用いた細胞障害性試験、インクルージョン(INC%), extra%, 相関係数(R)を表1に示した。

No.4447は、DR抗原において最も相関係数の高いDRw8でも0.15、DQ抗原では、DQw3の0.07でありすべてのDR, DQ抗原に低い相関を示した。またNo.4190, No.3435, No.3433も同様にDR, DQ抗原の中で最も相関の高いものでもそれぞれ、DQw1-0.18, DRw10-0.18, DRw10-0.23であり、すべてのDR, DQ抗原に相関を示さなかった。

次にこれら4本の抗血清間の相関係数を表2に示した。No.4190-No.4447間で0.56, No.3435-No.3433間で0.59と比較的高い相関を示した。また17家系のファミリースタディにおいては、4家系に反応陽性を示しそのうち2家系に表3のごとくセグレーションが認められた。

1. B細胞株を用いた細胞障害性試験

HLA抗原既知B細胞株28株の中で6株にNo.4190 No.4447が同時に反応陽性を示し、そのうち5株(MM-105, AL-10, HOR, Sa, MJ-4)がDPw4であり残り1株(CRK-77B)は、DPw blankであった。一方これらのB細胞株のDR, DQ抗原は異なるタイプ

表1 末梢血リンパ球を用いた細胞障害性試験

	抗血清No.4447			抗血清No.4190			抗血清No.3435			抗血清No.3433		
	Positive% 23.2%			Positive% 28.7%			Positive% 21.6%			Positive% 14.4%		
	SI	INC%	extra% R	SI	INC%	extra% R	SI	INC%	extra% R	SI	INC%	extra% R
DR1	37.5	79.3	0.13	43.8	80.0	0.13	25.0	85.2	0.03	18.8	83.4	0.05
DR2	23.3	75.9	0.01	20.7	82.9	0.10	20.0	77.8	0.02	30.5	72.0	0.12
DR4	20.4	62.1	0.06	26.5	60.0	0.04	20.4	59.3	0.03	15.4	55.6	0.02
DR5	11.1	96.6	0.08	11.2	97.2	0.11	0.0	100.0	0.15	0.0	100.0	0.15
DRw11	0.0	100.0	0.05	0.0	100.0	0.07	0.0	100.0	0.06	0.0	100.0	0.05
DRw6	12.5	96.6	0.07	12.5	97.2	0.09	14.3	96.3	0.06	0.0	100.0	0.11
DRw13	0.0	100.0	0.08	0.0	100.0	0.12	0.0	100.0	0.08	0.0	100.0	0.04
DRw14	0.0	100.0	0.05	0.0	100.0	0.07	0.0	100.0	0.05	0.0	100.0	0.04
DR7	0.0	100.0	0.05	0.0	100.0	0.07	0.0	100.0	0.05	0.0	100.0	0.04
DRw8	36.0	69.0	0.15	37.5	74.3	0.10	20.0	81.5	0.02	8.0	88.9	0.09
DRw9	21.4	69.0	0.03	31.7	62.9	0.05	28.6	55.6	0.12	12.5	72.3	0.04
DRw10	0.0	100.0	0.08	0.0	100.0	0.07	100.0	95.5	0.18	100.0	93.4	0.23
DRw52	24.6	44.9	0.04	29.9	42.9	0.03	18.9	51.9	0.09	11.6	55.6	0.11
DRw53	20.8	51.8	0.07	29.0	37.2	0.01	20.8	40.8	0.04	13.4	44.5	0.06
DQw1	20.9	41.4	0.06	21.3	60.0	0.18	19.4	51.9	0.07	13.5	47.4	0.04
DQw2	0.0	100.0	0.05	0.0	100.0	0.07	0.0	100.0	0.05	0.0	100.0	0.04
DQw3	20.9	41.4	0.07	30.4	31.5	0.05	23.5	29.7	0.04	16.5	27.8	0.07

表2 抗血清間における相関

	++	+-	-+	--	N	R
No.4447-No.4190	20	7	14	82	123	0.56
No.4447-No.3435	14	9	13	87	123	0.45
No.4190-No.3435	18	16	6	83	123	0.52
No.3435-No.3433	13	10	4	96	123	0.59

表3 Family Study

Family I		Haplotype			
		No.4447	No.4190	No.3435	No.3433
Father	a/b	2	2	1	1
Mother	c/d	8	4	1	1
child1	a/d	1	1	1	1
child2	a/c	8	6	1	1
child3	a/d	1	1	1	1
Haplotype					
a	A11 B13	Cw7	DR5	DRw52	DQw3
b	A24 Bw52	Cw11	DR2	DRw32	DQw1
c	Aw33 Bw46	Cw11	DR5	DRw32	DQw3
d	A24 Bw52	DR2			
Family II		Haplotype			
		No.4447	No.4190	No.3435	No.3433
Father	a/b	6	6	8	8
Mother	c/d	1	1	1	1
child1	b/c	4	4	1	1
child2	b/c	8	8	6	4
Haplotype					
a	A24 Bw44	DRw13	DRw52	DQw1	
b	A11 Bw55			DQw3	
c	A24 Bw62	Cw3	DR5	DRw52	DQw3
d	Bw55	Cw1	DR4	DRw53	

であり、DPw4が示唆された。

No.3435, No.3433もB細胞株3株に同時に反応陽性であり、そのうち2株(HOR, Sa)がDPw4, 1株(CRB-87B)がDPw4でなかった(表4)。

2 B細胞株を用いた抗血清の吸収試験

吸収試験の結果を表5に示した。No.4447抗血清を

表4 B細胞株を用いた細胞障害性試験

B cell line	DR	DRw	DQw	DPw	Dw	No.4447	No.4190	No.3435	No.3433
AL-10	4	53	3	4	10	6	6	1	1
MJ-4	4	53	3	4/-	4	6	6	1	1
MM-105	8	-	-	4	8	8	8	1	1
HOR	13	52	1	4	19	8	8	4	4
Sa	1	-	1	4	1	8	8	4	4
CRK-77B	7	53	NT	-/-	17	8	8	1	1
CRB-87B	1	-	1	-/-	1	1	1	4	4
KY-14B	4	53	3	4/-	14	1	1	1	1
Leo-10	4	53	3	4/-	5	1	1	1	1
L-KT11	13	52	1	2/4	19	1	1	1	1
KJ-2	2	-	1	4	2	1	1	1	1
HVB-5B	11	52	3	4/-	5	1	1	1	1
S-Gar	4	53	3	-	13	1	1	1	1
L-KT13new	4	53	3	2/5	KJ-2	1	1	1	1
PEA	4	53	3	1	13	1	1	1	1
LL-107	14	52	3	-	16	1	1	1	1
C-wong	9	53	3	2/-	DB-5	1	1	1	1
HAS-15	4	53	Wa	5/-	15	1	1	1	1
L-KT3	4	53	Wa	5/5	15	1	1	1	1
L-KT3b	4	53	Wa	5/-	15	1	1	1	1
DHO	2	1	-	-	12	1	1	1	1
0934ZuK	13	52	1	-	18	1	1	1	1
E1417	13	52	1	NT	18	1	1	1	1
GECL	6	52	1	-	9	1	1	1	1
BTB	8	52	1	-	8	1	1	1	1
JNYE	3	52	2	1/3	3	1	1	1	1
SRI-099	7	53	NT	-	17	1	1	1	1
SMY-129A	UK	-	-	-	-	1	1	1	1

B細胞株MM-105, AL-10, HORを用いて吸収すると反応陽性であったB細胞株(MM-105, AL-10, HOR, Sa, MJ-4, CRK-77B)すべてに対し反応陰性となった。一方これらのB細胞株3株とそれぞれ同じDR, DQ抗原をもち、No.4447に反応陰性のB細胞株(BTB, L-KT-3, Zuk)を用いて吸収した場合には、

反応陽性のB細胞株とも反応した。No.4190 抗血清においてもB細胞株 (MM-105, AL-10, BTB, L-KT-3) を用いた同様の結果を得た。

3. 抗血清感作B細胞株を用いた抗血清, モノクローナル抗体の吸収試験

B細胞株AL-10 (HLA型DR4, DRw53, DQw3, Dw10, DPw4) にNo.4190 を反応させたNo.4190感作AL-10を用いて抗DR4血清 (EPH460), 抗DRw53血清 (J2855), 抗DQw3血清の吸収を行うといずれも細胞障害性試験陰性となった。

逆に抗DR4血清 (EPH460), 抗DRw53血清 (J2855), 抗DQw3血清 (NS2321) をそれぞれあらかじめ反応させたAL-10 (抗DR4血清感作AL-10, 抗DRw53血清感作AL-10, 抗DQw3血清感作AL-10) を用いてNo.4190血清 (4倍希釈まで細胞障害性試験陽性を示した) を吸収すると, 抗DR4血清感作AL-10, 抗DRw53血清AL-10では, 細胞障害性試験陰性となり, 抗DQw3血清感作AL-10では1倍まで力価が低下した (表6)。

表5 B細胞株を用いた抗血清の吸収試験

抗血清: No.4447	吸収細胞	HLA型	吸収前 希釈	吸収後抗血清による細胞障害性試験							
				MM-105 1 2	AL-10 1 2	HOR 1 2	Sa 1 2	MJ-4 1 2	CRK-77B 1 2		
MM-105	DRw8	— — DPw4	8	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	
AL-10	DR4	DRw53 DQw3 DPw4	6	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	
HOR	DRw13	DRw52 DQw1 DPw4	8	1 1	1 1	1 1	1 1	NT	1 1		
BTB	DRw8	DRw52 DQw1 —	1	4 2	8 6	4 1	4 2	4 2	2 1		
L-KT-3	DR4	DRw53 DQw3 DPw5	1	6 6	4 4	6 4	6 4	4 4	4 4		
ZuK	DRw13	DRw52 DQw1 —	1	6 4	4 1	4 4	4 2	NT	4 1		
(抗血清のみ)				8 8	6 4	8 6	8 8	4 4	8 4		

抗血清: No.4190	吸収細胞	HLA型	吸収前 希釈	吸収後抗血清による細胞障害性試験					
				MM-105 1 2	AL-10 1 2	HOR 1 2	Sa 1 2	CRK-77B 1 2	
MM-105	DRw8	— — DPw4	8	1 1	NT	1 1	1 1	1 1	
AL-10	DR4	DRw53 DQw3 DPw4	6	4 1	1 1	1 1	1 1	NT	
BTB	DRw8	DRw52 DQw1 —	1	6 4	NT	4 4	4 2	4 2	
L-KT-3	DR4	DRw53 DQw3 DPw5	1	8 8	6 6	4 2	4 2	NT	
(抗血清のみ)				8 8	6 6	4 2	4 2	4 2	

吸収細胞 2×10^6 B Cell line, 20 μ l 抗血清, 吸収時間 4°C over night

表6 抗血清感作B細胞株を用いた抗血清の吸収試験

吸収細胞	被吸収抗血清												被吸収抗血清 No.4190 希釈				
	抗DR4 (EPH460)				抗DRw53 (J2855)				抗DQw3 (NS2321)					No.4190			
—	希釈	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
—		8	8	4	1	6	4	1	1	8	8	2	1	6	6	4	2
AL-10		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
No.4190 感作AL-10		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	4	2	1
—		8	8	8	4									8	8	8	4
AL-10		1	1	1	1									1	1	1	1
抗DR4血清感作AL-10		1	1	1	1									1	1	1	1
抗DRw53血清感作AL-10		1	1	1	1									1	1	1	1
抗DQw3血清感作AL-10		4	1	1	1									4	1	1	1

感作条件: 感作血清 100 μ l 感作細胞 1×10^6 B Cell line 4°C over night

吸収条件: 感作細胞 1×10^6 抗血清 10 μ l 4°C over night

表7 抗血清感作B細胞株を用いたモノクローナル抗体の吸収試験

吸収細胞	被吸収抗血清																													
	Hu-4 (抗DR) MCA								Leu-10 (抗DQw) MCA								DPw (抗DPw) MCA				No.4190									
	希釈	2	4	8	16	32	64	128	256	2	4	8	16	32	64	128	256	2	4	8	16	32	64	128	256	1	2	3	4	
—		8	8	8	8	8	8	1	1	6	6	6	6	4	1	1	1	1	8	8	8	8	8	4	1	1	6	4	2	1
Sa		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
No.4190 感作Sa		1	1	1	1	1	1	1	1	4	4	1	1	1	1	1	1	1	8	8	8	8	6	1	1	1	4	2	1	1

Leu-10(抗DQw), DPw (抗DPw) BECTON DICKINSON社製, MCA:モノクローナル抗体

次にNo.4190血清感作Sa(HLA型DR1, DQw1, Dw1, DPw4)を用いて,モノクローナル抗体(HU-4, Leu-10, DPw)を吸収すると, HU-4(抗DR)は吸収されて細胞障害性試験陰性となり, Leu-10(抗DQw)は, 32倍まで認められた力価が4倍まで低下した。一方, DPw(抗DPw)は, 吸収前64倍, 吸収後32倍とほとんど低下を示さなかった(表7)。

考察

No.4447, No.4190, No.3435, No.3433の4本の抗血清は, 末梢血リンパ球を用いた細胞障害性試験にて, DR, DQ抗原には相関が低く, DR, DQ抗原特異的抗血清ではないことが推測される。またNo.4447とNo.4190, No.3435, No.3433は類似した反応を示し, 同一の抗原を認識していると考えられた。これらの抗血清が反応する抗原は, HLA抗原既知B細胞株を用いた細胞障害性試験の結果よりDPw4が示唆された。

細胞障害性試験にて, No.4447とNo.4190血清に対しても反応陽性である末梢血リンパ球の抗原の遺伝子頻度を求めると0.087であり, 日本人のDPw4の遺伝子頻度0.09に近い頻度を示したことからこの血清がDPw4抗血清である可能性が示唆された。

また, No.3435とNo.3433がともに反応陽性であるもので抗原を決めると遺伝子頻度は0.062であった。

次に, HLA抗原既知B細胞株を用いた吸収試験にてNo.4447およびNo.4190抗血清を反応陽性のB細胞株で吸収すると, 反応陽性であったB細胞株6株すべて反応陰性となることより, No.4447, No.4190抗血清は,

反応陽性のB細胞株6株に共通の抗原と反応すると推定され, 吸収に用いたB細胞株は, DR, DQ抗原がそれぞれ異っていることからDPw4抗原で吸収されたと考えられる。

また, 抗血清感作B細胞株を用いた抗血清, モノクローナル抗体の吸収試験では, B細胞株を感作した抗血清と感作B細胞株で吸収した抗血清または, モノクローナル抗体が, 同じ抗原と反応するのであれば吸収されないと考えられる。そこでNo.4190血清感作Sa B細胞株でのモノクローナル抗体の吸収試験にて, HU-4(抗DR), Leu-10(抗DQw)は吸収され, DPwは吸収されないことより, No.4190抗血清は, DP抗原に対する抗血清であると推定された。

まとめ

妊産婦血清および分娩血清4300本の中より, DR, DQ抗原には相関が低く, DPw4の特異性を示すと考えられる抗血清を得た。また, HLA抗原既知B細胞株での抗血清の吸収試験, 抗血清感作B細胞株を用いた抗血清, モノクローナル抗体の吸収試験にて特異性を確認した。

文献

- 1) 井上博雄: 臨床免疫, 16(9), 751-758 (1984)
- 2) A.H. Johnson, et al.: Human Immunol (1986)
- 3) Miki Aizawa: Third Asia-Oceania histocompatibility work shop predata analysis book (1986)
- 4) Terasaki, P. L. et al.: Nature, 204, 978-1000 (1964)

川崎病(MCLS)の疫学的研究

—HLAを指標とした疾病素因の解析—

高見俊才 岡本信恵 木下幸正
井上博雄 石川純一* 貴田嘉一*

はじめに

川崎病(急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群, MCLS)が川崎富作により1967年報告されてから約20年を経過した。この間病因に関する多くの研究がなされ、溶連菌説, ダニ説, プロピオン酸菌説, Epstein-Barr (EB)ウイルス説, レトロウイルス説等細菌, ウイルス, ダニ等の他アレルギー説等々の報告¹⁻⁶⁾があるがいまだに病因が確定されていない。しかし疫学的研究で患者発生の地域集積性, 時間集積性が認められ, 流行の移動が認められること, さらに冠動脈病変に α グロブリンが有効であるという臨床データなどにより, 微生物が関与し飛沫感染による伝播が考えられる感染症である可能性が強く示唆されている⁷⁻¹⁴⁾。

また本症は本邦での患者発生率が諸外国に比較して非常に高く, 人種的要因が関与している可能性が考えられている。さらに患者のうち冠動脈異常を示す例とそうでない例がみられることから, 免疫遺伝的背景の存在が示唆されている¹⁵⁾。

愛媛県においても, 全国的な患者多発と同様1979年¹⁶⁾, 1982年¹⁷⁾, 1986年¹⁸⁾と3, 4年の周期で本症患者の多発が認められ, アンケート調査等による疫学調査の成績が報告されている。

今回はこれらの疫学的特性を基に患者のHLA型別を実施し, 疾病素因の解析を行ったので報告する。

対象と方法

患者発生状況の把握は既報^{16,17)}のとおり, 県内病院(小児科)へのアンケート調査および愛媛県感染症情報によった。

HLA型別には表1の診断基準に基づく本症既往患者のうち冠動脈所見の有, 無の群それぞれ48, 50例を採血し, NIH microlymphocytotoxicity test法によりtypingした。遺伝子頻度および2-locusハプロタイプ頻度の計算は既報¹⁹⁾の式によりNEC-9801を使用し, controlには本県出身者177名の健康者のHLA型を用いて実施した。

成績

1. 患者発生状況

愛媛県では1975年8月より, 特定疾患対策事業が実施され, 定点観測医療機関から疾患別患者発生状況の報告(以下感染症情報という)を得ている。川崎病もその対象疾病となっており, 1978年から1987年までの月別患者発生状況を図1に示した。患者多発は1979, 82, 86年の3度認められた。アンケート調査(県内のほぼ全例)では1979年202例, 1982年135例の患者が認められており, それぞれ感染症情報の1.8, 1.7倍の患者数であることから, 感染症情報で約半数の患者把握ができていたと考えられた。

表1 川崎病(MCLS, 小児急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群)診断の手引(改訂4版)
厚生省川崎病研究班作成(1984年9月改訂4版)

本症は, 主として4歳以下の乳幼児に好発する原因不明の疾患で, その症候は以下の主要症状と参考条項とに分けられる。

A 主要症状

1. 5日以上続く発熱
2. 四肢末端の変化: [急性期] 手足の硬性浮腫, 掌蹠ないしは指趾先端の紅斑, [回復期] 指先からの膜様落屑

3. 不定形発疹
 4. 両側眼球結膜の充血
 5. 口唇, 口腔所見: 口唇の紅潮, いちご舌, 口腔咽頭粘膜のびまん性発赤
 6. 急性期における非化膿性頸部リンパ節腫脹
- 6つの主要症状のうち5つ以上の症状を伴うものを本症とする。

ただし, 上記6主要症状のうち, 4つの症状しか認められなくても, 経過中に断層心エコー法もしくは, 心血管造影法で, 冠動脈瘤(いわゆる拡大を含む)が確認され, 他の疾患が除外されれば, 本症とする。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8-234

*愛媛大学医学部小児科 温泉郡重信町志津川

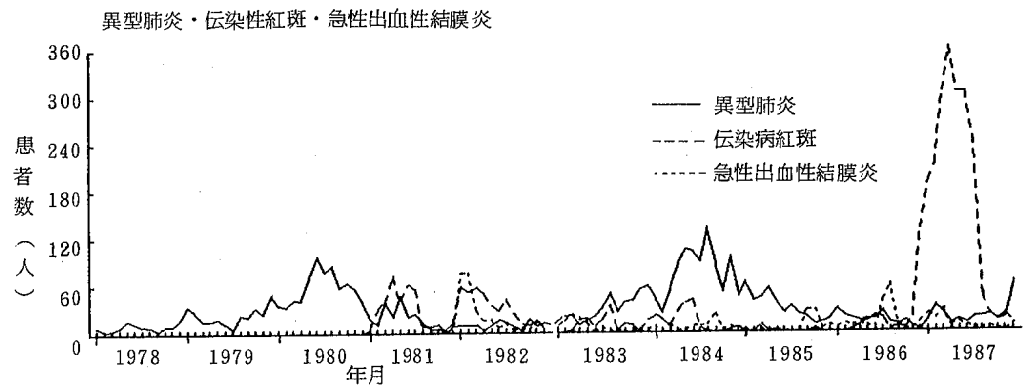
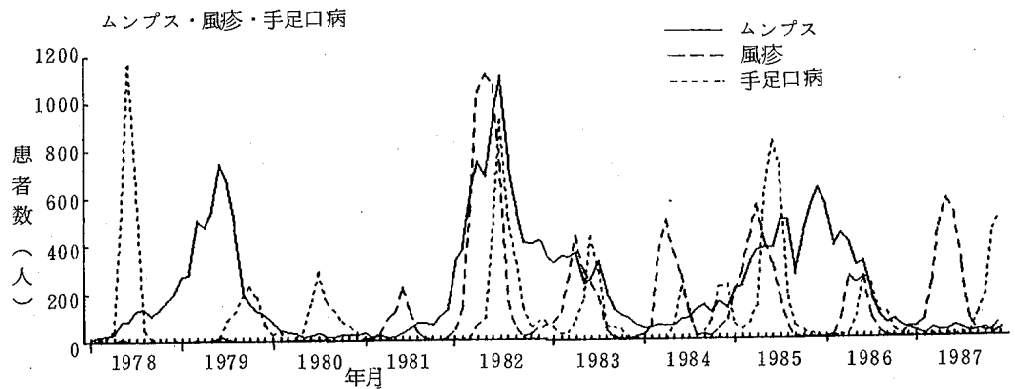
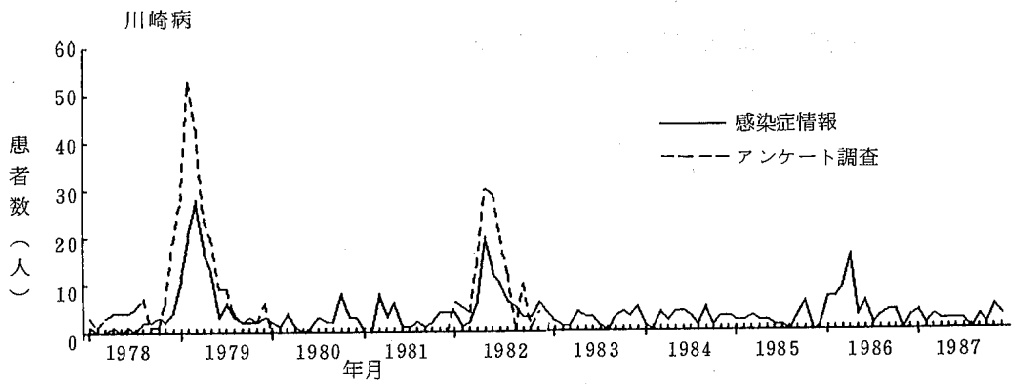


図1 月別患者発生状況 (愛媛県感染症情報)

県内の東予, 中予, 南予の地域別患者発生状況をみると, 1979年多発時には東予1978年12月, 中予1979年1月, 南予2月と約1ヶ月ずつ患者発生の急増時期にずれが認められたが, 1982年多発時には4月から各地域とも患者発生がみられ, 月別累積患者発生率は対数正規分布をしていた。

患者の年齢分布は1979, 82年両多発時の統計でみると, 0歳28.9%, 1歳27.9%, 2歳17.8%, 3歳10.7%で3歳以下が85.3%を占めていた。また移行抗体の存在すると思われる6ヶ月未満児が8.9%もみられた。両年ともに年齢分布の相異は認められなかった。

次に川崎病と他の小児感染症の発生状況の比較をするため, 感染症情報の調査対象疾病(24疾病)を流行周期で分類した。数年単位の周期性が認められる疾病は, 風疹, ムンプス, 異型肺炎, 伝染性紅斑, 急性出血性結膜炎, 手足口病(近年流行周期がみられなくなった)であり, 図1に示した。次に毎年同時期に流行する疾病として乳児嘔吐下痢症, インフルエンザ様疾患, ヘルパンギーナ, 咽頭結膜熱があり, 好発時期はあるものの毎年一定して患者発生の認められる疾病は麻疹, 水痘, 百日咳, 溶連菌感染症, 感染性下痢症, アフタ性口内炎, 不明発疹症である。その他散発的に患者発生の認められる肝炎, 腎炎紫斑病, 髄膜炎(時に流行)の4つの型に分類された。川崎病は3, 4年の周期で患者発生の多発が認められ, ムンプスの流行周期が最も類似していた。

2. 川崎病とHLA

HLA型別対象川崎病既往患者98例の診断の手引き(表1)の主要症状は, 6項目のうち全部の症状を伴うもの64例(冠動脈所見有35例, 無29例)であった。各症状別にはA1-94例, A2-94例, A3-91例, A4-93例, A5-93例で, A6は73例認められた。

検査対象者の発症年齢, 性別, ABO血液型, 冠動脈所見の有無別を表2に示した。98例全例の発症年齢分布はアンケート調査の分布と同様であったが, 性別は3:1で男性が多かった。ABO血液型は一般住民の比率と比較して, B, AB型がやや少なく, A型がやや多かった。冠動脈所見の有無別にみると, 有のグループでは無のグループに比較して0歳発症児の率が高く(RR2.733 χ^2 4.665), B型が高率(RR3.419 χ^2 4.204)であった。このことからB型は川崎病に罹患する率は低いが罹患すると重症になる可能性が示唆された。

こうした背景を有する患者のHLA抗原頻度を健常者と比較した(表3)。患者群に高頻度にみられる抗原を感受性, 低頻度のものを抵抗性と仮定すると, 有意差のみられたものは, Bw46が感受性抗原で相対危険率(RR)が2.11であった。一方抵抗性抗原はDR2(RR:0.57)であった。またBw62はRR:0.557で

表2 HLA型別川崎病患者情報

	川崎病 全例	冠動脈所見			
		有		無	
		男	女	男	女
検査数	98	36	12	36	14
血液型					
A	46	13	8	18	7
B	15	9	2	4	0
O	30	10	2	13	5
AB	7	4	0	1	2
発症年齢					
0	27	18		9	
1	28	12		16	
2	15	8		7	
3	7	3		4	
4	9	3		6	
5	6	2		4	
6	4	1		3	
7	1	0		1	
9	1	1		0	

表3 川崎病患者のHLA抗原頻度

HLA	川崎病 (N=98)		Control (N=177)		R. R
	n	AF(%)	n	AF(%)	
A1	1	1.0	0	0.0	5.462
A2	43	43.9	61	34.5	1.487
A11	19	19.4	34	19.2	1.012
A24	66	67.3	106	59.9	1.381
A26	17	17.3	41	23.2	0.696
A31	14	14.3	24	13.6	1.063
Aw33	5	5.1	12	6.8	0.739
B7	13	13.3	22	12.4	1.078
B13	3	3.1	9	5.1	0.589
B17	0	0.0	1	0.6	0.597
B35	12	12.2	27	15.3	0.775
B39	4	4.1	8	4.5	0.899
B44	6	6.1	13	7.3	0.823
Bw46	17	17.3	16	9.0	2.112*
Bw48	1	1.0	6	3.4	0.294
Bw51	18	18.4	40	22.6	0.771
Bw52	16	16.3	39	22.0	0.690
Bw54	22	22.4	26	14.7	1.681
Bw55	10	10.2	1	2.8	3.977
Bw56	2	2.0	6	3.4	0.594
Bw59	2	2.0	1	0.6	3.667
Bw60	9	9.2	15	8.5	1.092
Bw61	16	16.3	42	23.7	0.627
Bw62	10	10.2	30	16.9	0.557
Bw67	1	1.0	1	0.6	1.814
Cw1	27	27.6	22	24.2	1.193
Cw2	0	0.0	0	0.0	-
Cw3	50	51.0	37	40.7	1.520
Cw4	7	7.1	10	11.0	0.623
Cw7	14	14.3	17	18.7	0.725
Cx46	14	14.3	6	6.6	2.361
DR1	12	12.2	18	10.2	1.233
DR2	24	24.5	64	36.2	0.573*
DR4	38	38.8	69	39.0	0.991
DR5	4	4.1	8	4.5	0.899
DR6	1	1.0	2	5.6	0.175
DR7	1	1.0	3	1.7	0.598
DRw8	41	41.8	68	38.4	1.153
DRw9	24	24.5	54	30.5	0.739
DQw1	68	69.4	107	62.6	1.356
DRw52	59	60.2	82	50.3	1.494
DRw53	55	56.1	110	67.5	0.616

*P<0.05

あったが冠動脈所見有のグループでは8例(16.7%), 無のグループでは2例(4.0%)でありRR:4.8, χ^2 : 4.288で有意に冠動脈所見有のグループに高率であった。

次に患者のHLA抗原の連鎖の強さ(2 locus association)をControlとの差の大きいものを選び、連鎖が強くなっているものを表4に、弱くなっているものを表5に示した。患者において連鎖が強くなっているものが17種あり、日本人で負の連鎖が示される(第9回日本HLAワークショップ)A24B51, A24Bw61, A24Bw62, A24Cw3, A24DRw8, Bw52DRw8, Cw3DR2, Cw4DRw8が患者では正の連鎖不平衡がみられた。一方日本人で正の連鎖不平衡のみられるA2Bw61, A2Cw3, A2DRw8, B35DR4等が患者では負の連鎖が認められた。患者とControlの比較で著しい差がなく、患者群で $\chi^2 > 10$ の2 locus associationの認められるHLA抗原の連鎖は表6に示したとおりであった。

これらの結果より、川崎病患者と健常者のHLA抗原の相異は抗原頻度の差より、HLA抗原の連鎖不平衡の差異が大きいことが窺われた。

考察

川崎病は全国的な感染症サーベイランスでは1987年1月から対象疾病となったが、本県では1975年8月から対象疾病に含め、患者発生報告を得ている。

本症は冠動脈瘤を形成し、突然死が起る例がみられることから総合病院で受診する患者が多く、サーベイランスではその実態把握ができない懸念があったが、1979, 82年の両多発時のアンケート調査と比較して約半数の患者は把握できていることが示された。

本症は疫学調査から微生物による感染症である可能性が最も高いことが示されているので、感染症サーベイランス対象疾病と流行周期の面から類似性を調べると、ムンプスが最も近い流行パターンを示していた。ムンプスウイルスは髄膜炎を比較的高率に起すウイルスであり、リンパ腺の腫脹もあり、心筋炎を起す例もみられていることからムンプスウイルスの変異株が川崎病に関連している可能性も考えられる。しかし臨床症状としてはいちご舌、頸部リンパ腺腫脹、眼球結膜充血、回復期の四肢末端皮膚剝離等溶連菌感染症と同様であるといわれている。また患者年齢分布は3歳以下が大部分であるが6ヶ月未満が10%近く存在することから移行抗体による感染防禦力は低いことが考えられ、流行周期と考え合わせるとムンプスウイルスはTriggerとなっていることも考えられる。

疾病素因の調査でB型(特に女性において)が少なかった。無作意抽出とはいえ全数調査でないため、バイアスを考慮しなければならぬが抵抗因子の一つ

表4 川崎病患者HLAハプロタイプ頻度
(2 locus association)
HLA抗原の連鎖の強さ:川崎病>健常者

HLA抗原	HF	Δ	χ^2
A2Bw52	212	-1	
A2DR2	208	-120	
A11DR4	551	329	5.90
A24B51	783	370	7.28
A24Bw61	387	22	
A24Bw62	342	118	
A24Cw3	1690	404	
A24DR4	864	-67	
A24DRw8	1177	160	
Bw46DRw8	705	490	24.90
Bw52Cw3	163	-92	
Bw52DR4	171	-14	
Bw52DRw8	225	22	
Bw54Cw1	950	773	781.3
Cw1DR4	735	411	6.59
Cw3DR2	456	63	
Cw4DRw8	91	5	

表5 川崎病患者HLAハプロタイプ頻度
(2 locus association)
HLA抗原の連鎖の強さ:川崎病<健常者

HLA抗原	HF	Δ	χ^2
A2Bw61	0	-228	4.29
A2Cw3	561	-191	
A2DR4	398	-147	
A2DRw8	415	-180	
A24Bw46	39	-350	3.85
A24DR2	1036	474	9.77
B35DR4	22	-115	
B51Cw3	27	-261	
Bw52DR2	554	442	37.04
Cw1DRw8	89	-263	
Cw3DR4	522	-130	
Cw3DRw8	526	-186	

表6 川崎病患者HLAハプロタイプ頻度
(2 locus association)
HLA抗原の連鎖の強さ:川崎病 $\chi^2 > 10$

HLA抗原	HF	Δ	χ^2
A11Bw59	103	92	11.69
A24Bw52	853	487	15.14
A31B13	99	88	11.12
Aw33Bw44	206	198	79.90
B7Cw7	350	299	19.16
B7DR1	522	479	104.37
B13DR5	50	46	12.09
B13DR7	51	50	36.38
B35Cw3	632	442	22.35
B39Cw7	151	136	20.64
Bw46Cx46	742	674	141.77
Bw46DR2	0	-273	10.16
Bw56DR6	51	51	49.66
Bw60DR5	153	143	35.38
Bw61DRw9	493	381	14.94
Bw67Cw4	51	49	16.47
Cw7DR1	352	306	38.96
Cx46DRw8	538	362	15.78

の可能性も示唆される一方、罹患したB型患者は冠動脈症状を起す率が高いことが考えられた。

また冠動脈所見の有無のグループ間で比較して、無のグループにおいて0歳発症児が低率で、年長児が多くみられたことから、年長児は冠動脈症状に対し防禦能が高いことが示唆された。

HLA抗原頻度の比較では加藤らの報告²⁰⁻²²⁾のようにBw54が有意とはならなかった。しかし患者のBw54抗原頻度は加藤らの報告と大差なく、1979年本県では全国に先がけて患者多発がみられたこと等から本県住民に感受性者が多いことを示しているのかもしれない。

また外国で有意差のみられた²³⁻²⁵⁾B5,DR5の増加は認められなかった。

患者のBw62抗原頻度はControlより低頻度であったが冠動脈所見有のグループで無のグループに比較して有意に高率であったことから冠動脈症状との関連が注目される。

免疫能に関連の深いDR抗原については有意差は認められなかったが、DRw8, DRw52の増加, DR2, DRw53の減少が認められた。またハプロタイプ頻度の比較でも連鎖の強さが健常者と相異なるものにDRw8関連ハプロタイプが多く、DRw8抗原保有者のうち特定の人が感受性が高い可能性が示唆された。

川崎病の発症に免疫遺伝的要因が関与する可能性が示唆されており、HLA抗原が発症素因に関連していることも考えられるが、流行期には素因のbarrierを超えて発症する可能性もあるので、今後発症時期別の解析も含めて検討したい。

謝辞

感染症情報および疫学調査に御協力頂いた愛媛県小児科学会の諸先生はじめ関係各位に深謝致します。

文献

- 1) 日本心臓財団川崎病原因究明委員会編：川崎病一疫学データのすべて—ソフトサイエンス社（1986）
- 2) 小児内科 **13**, 31-52 (1981)
- 3) 菊田英明他：医学のあゆみ **134**, 1092-1094 (1985)
- 4) 吉川翠他：日本公衛誌 **31**, 135-140 (1984)
- 5) 沼崎義夫他：医学のあゆみ **130**, 15-16 (1984)
- 6) 高橋理明：臨床とウイルス **16**, 37-41 (1988)
- 7) 重松逸造, 柳川洋：日本公衛誌 **22**, 306-312 (1975)
- 8) 柳川洋他：同上 **32**, 3-7 (1985)
- 9) 横山英明他：同上 **28**, 257-263 (1981)
- 10) 中村好一：日児誌 **91**, 896-910 (1987)
- 11) 近藤孝明他：医学のあゆみ **126**, 35-36 (1983)
- 12) 柳瀬義男：日本医事新報No.3118, 13-16 (1984)
- 13) 松岡芳子, 矢田純一：小児内科 **13**, 387-391 (1981)
- 14) 川崎富作他：小児科診療 **45**, 1315-1388 (1982)
- 15) 川崎富作他：川崎病の素因についての研究 96-102
- 16) 吉田泉：日本公衛誌 **31**, 97-110 (1984)
- 17) 高見俊才他：愛媛医学 **3**, 35-45 (1984)
- 18) 木村慶：昭和62年度保健医療財団報告書 42-48 (1988)
- 19) 高見俊才他：愛媛衛研年報 **46**, 17-19 (1985)
- 20) 加藤俊一：日児誌 **83**, 536-541 (1979)
- 21) S. Kato et al: Pediatrics **61**, 252-255 (1978)
- 22) 加藤俊一他：結合組織 **44-46** (1983)
- 23) Keren G. et al: Tissue Antigen **20**, 144-146 (1982)
- 24) Krensky A.M. et al: Pediatrics **67**, 741-743 (1981)
- 25) Lapointe N. et al: J Pediatr **69**, 376-379 (1985)

愛媛の湧水

出口修一 大瀧 勝* 篠崎由紀 石丸尚志 中島庄一

はじめに

水が、人間の生活と産業活動にとって不可欠であり、その水を、人々は長年に渡り飲料水として継続的に摂取することにより、地質環境と密接な関連性があるミネラル成分が、人の健康に与える影響は無視できない。それは、脳卒中など成人病死亡率との関係についていくつかの報告でみられるように、人の健康との関連について興味ある問題の一つである。

そこで、我々は県下各地で飲料を目的としている湧水について調査し、健康に良い水及び味の観点からその成分比等を検討することにより水質評価を行なった。

調査方法

1. 調査対象

試料は、図1のとおり、県下各地の湧水40検体を、昭和63年2月から3月にかけて採取した。



図1 愛媛県下湧水採水地点図

表1 愛媛県下湧水分析成分表

No.	pH	T-Hard	Na	K	Ca	Mg	Cl	CO ₃	SO ₄	NO ₃ -N	SiO ₂	c-KMnO ₄
1	7.96	76.9	2.50	.40	27.84	1.77	4.54	44.58	2.59	.12	10.03	.4
2	8.07	125.8	1.70	.50	48.04	1.39	10.78	60.30	5.86	2.27	6.87	1.1
3	7.88	56.2	3.65	.60	17.96	2.75	4.96	31.44	1.44	.42	11.35	1.4
4	7.60	48.1	2.80	.41	17.07	1.12	3.55	27.84	.96	.13	14.10	.7
5	7.85	54.8	7.80	.70	10.36	7.02	4.25	38.52	1.63	.12	26.53	.6
6	7.33	22.7	4.90	.40	5.33	3.14	3.83	18.18	1.54	.01	20.77	.8
7	7.20	19.7	4.00	2.16	5.69	1.56	5.67	9.90	.01	2.33	35.11	.3
8	6.60	49.9	8.80	4.10	14.32	3.43	11.91	22.03	12.39	2.22	13.82	1.0
9	6.44	76.2	8.30	1.70	22.80	4.67	9.93	28.98	21.42	3.22	12.48	.7
10	7.03	47.0	5.60	1.10	13.88	2.99	6.10	20.40	13.45	1.36	8.13	.8
11	6.83	37.7	3.20	.60	11.76	2.02	5.25	13.38	10.76	1.05	3.63	.9
12	7.07	36.3	3.80	.50	11.68	1.73	5.67	14.82	11.53	.28	3.48	.7
13	6.33	42.7	5.00	1.00	11.64	3.31	5.25	13.20	17.10	2.13	11.13	.5
14	6.66	63.9	11.40	2.20	17.12	5.13	11.77	26.70	23.15	1.61	6.63	4.4
15	7.88	24.1	10.00	1.40	4.72	2.99	3.26	17.58	12.78	.49	7.58	.6
16	6.97	65.0	5.40	1.10	17.80	4.98	4.96	28.92	17.58	1.28	15.16	.6
17	7.70	41.9	2.60	.50	13.28	2.11	3.12	19.38	9.32	.57	7.42	.6
18	7.57	35.6	3.40	1.40	6.12	4.93	3.12	16.80	9.22	.50	11.53	.5
19	7.87	26.5	8.20	1.00	7.04	2.16	3.69	18.00	9.51	.50	8.53	.5
20	7.16	37.6	3.00	.60	11.24	2.31	3.97	16.50	10.18	.61	7.90	.8
21	7.10	117.3	20.50	.65	36.95	7.12	18.15	62.10	22.03	1.05	21.14	.8
22	8.00	130.9	46.20	2.89	36.87	11.06	49.63	72.00	36.98	.96	14.81	.9
23	6.90	114.6	36.50	1.50	28.54	12.35	35.17	52.68	44.09	2.92	25.53	1.0
24	6.20	86.4	32.00	1.19	24.37	7.27	27.23	22.56	67.43	3.16	32.02	4.3
25	8.10	98.6	10.40	2.14	33.51	4.28	13.38	37.92	36.98	2.46	12.32	1.5
26	8.00	83.8	15.00	2.99	26.37	5.10	15.88	36.36	27.86	1.94	10.92	1.9
27	7.50	47.4	6.00	.49	15.95	2.14	7.37	25.32	6.24	.47	13.65	1.1
28	7.00	38.2	4.83	.46	10.50	2.92	3.12	18.12	11.14	.63	11.00	.3
29	7.60	100.0	3.90	.53	32.46	4.62	6.10	53.40	10.85	.60	12.80	.8
30	7.00	46.3	12.75	.26	8.02	6.39	26.23	10.08	16.33	.40	17.80	5.4
31	7.50	15.6	8.34	1.80	4.45	1.00	4.82	7.20	15.75	.29	11.20	1.1
32	6.00	14.4	12.24	1.30	2.24	.68	7.80	6.12	13.93	.30	8.50	1.6
33	8.20	85.4	13.10	1.86	26.85	4.47	12.76	40.08	25.74	2.77	18.60	.4
34	7.60	101.0	6.56	.94	23.65	10.31	9.36	52.20	15.66	.58	14.10	.6
35	5.84	39.2	23.40	1.31	10.70	3.28	29.07	24.00	3.07	2.43	58.97	1.6
36	8.10	39.6	5.06	1.01	14.11	1.07	4.25	20.16	9.61	.90	8.49	2.3
37	6.45	62.7	7.67	3.47	17.43	4.40	9.93	20.40	18.54	3.63	16.52	.4
38	6.29	61.5	7.07	3.88	18.88	3.50	11.49	14.46	22.29	5.40	15.96	.9
39	7.90	124.0	6.82	.92	37.92	7.05	9.90	48.60	31.22	3.50	14.61	.6
40	8.60	20.0	1.52	.14	6.76	.75	.99	9.96	5.76	.01	6.87	.8

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234, *八幡浜地方局大洲保健所

単位 mg/l

2. 検査項目及び方法

検査項目は、pH, Na, K, Ca, Mg, Cl, CO₃, SO₄, NO₃-N, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd, As, 総硬度, 過マンガン酸カリウム消費量, 溶解性ケイ酸の計19項目とした。

主として上水試験法¹⁾により実施した。

結果および考察

各項目の測定結果を表1に示した。

橋本²⁾によれば、昭和30年頃までの日本では、食物からの栄養(無機の必須ミネラルやビタミン, 良質蛋白質等)が乏しかったので、当時と現在の死亡率はまったく一変しているが、当時では、脳卒中死亡率がきわめて高く、脳卒中は日本人の寿命を大きく左右してきた。したがって、過去の脳卒中死亡率の最低値を示す地域の飲料水は、地質要因からのミネラル成分を、人間の健康に良いバランスで含まれているとみなされ、また、地質はほとんど変化しないとみられるので、過

去に脳卒中死亡率最低値を示した地域の飲料水のミネラルバランスは、現在も健康に良いミネラルバランスで含まれていると考えられる。

また、南³⁾によると脳卒中死亡率と各地域の河川水の成分及び成分比より表2に示している脳卒中死亡率最低値を示す水が提案されている。

表2. 脳卒中死亡率最低値を示す水

項目	pH	Na	K	Ca	Mg	Na/K	Mg/Ca
濃度	7.1	6.87	1.17	11.22	2.19	—	—
ミリ当量	—	0.30	0.03	0.56	0.18	10.0	0.32

単位: 濃度mg/l ミリ当量meq/l

WHOの報告⁴⁾によると、水の硬度と心臓血管疾患死亡率との間には、逆相関があると言い、野瀬⁵⁾は、心臓血管疾患を脳硬塞(動脈硬化性及び変成性心疾患)と脳出血(心臓疾患を伴う高血圧性疾患)の2つに分けて、両者の死亡率と飲料水のミネラル成分の関係を明らかにしている。すなわちNa, K, Mgに対して

表3. 愛媛県下湧水のミネラル成分量及び成分比

No.	SiO ₂	Ca-Na	Mg/Ca	Ca/K	Na/K	Bx.B	Na/Bx.B	Ca+K+SiO ₂	Mg+SO ₄	O-I
1	.167	1.280	.105	135.803	10.630	1.472	.074	1.566	.200	7.849
2	.114	2.323	.048	187.471	5.783	2.172	.034	2.524	.236	10.679
3	.189	.740	.252	58.406	10.205	1.125	.139	1.100	.256	4.294
4	.235	.728	.108	81.236	11.823	.958	.129	1.097	.112	9.781
5	.442	.178	1.117	28.878	18.952	1.298	.261	.976	.612	1.596
6	.346	.053	.971	26.000	20.835	.608	.351	.622	.290	2.141
7	.584	.110	.452	5.140	3.150	.481	.361	.923	.129	7.182
8	.230	.332	.395	6.815	3.651	.891	.430	1.049	.540	1.943
9	.208	.777	.338	26.169	8.304	1.200	.301	1.389	.830	1.673
10	.135	.449	.355	24.621	8.659	.758	.321	.856	.526	1.627
11	.060	.448	.283	38.243	9.071	.535	.260	.663	.390	1.698
12	.058	.418	.244	45.580	12.926	.503	.328	.654	.382	1.709
13	.185	.363	.469	22.712	8.504	.592	.367	.792	.628	1.260
14	.110	.358	.494	15.184	8.813	1.015	.489	1.021	.904	1.129
15	.126	-.199	1.045	6.578	12.149	.594	.732	.397	.512	.776
16	.252	.653	.461	31.574	8.350	1.055	.223	1.169	.776	1.506
17	.123	.550	.262	51.824	8.844	.630	.166	.799	.368	2.173
18	.192	.157	1.328	8.530	4.131	.615	.241	.533	.598	.892
19	.142	-.005	.506	13.736	13.947	.609	.585	.519	.376	1.381
20	.131	.430	.339	36.552	8.504	.573	.228	.708	.402	1.760
21	.352	.952	.318	110.918	53.642	2.367	.377	2.212	1.045	2.118
22	.246	-.170	.495	24.893	27.190	2.664	.754	2.160	1.680	1.286
23	.425	-.164	.714	37.125	41.387	2.156	.736	1.887	1.934	.976
24	.533	-.176	.492	39.959	45.737	1.065	1.307	1.779	2.002	.889
25	.205	1.220	.211	30.554	8.266	1.384	.327	1.932	1.122	1.722
26	.182	.663	.319	17.208	8.533	1.437	.454	1.574	1.000	1.575
27	.227	.535	.221	63.513	20.827	.908	.288	1.036	.306	3.384
28	.183	.314	.459	44.538	17.859	.666	.315	.719	.472	1.522
29	.213	1.450	.235	119.502	12.516	1.785	.095	1.846	.606	3.046
30	.296	-.154	1.314	60.187	83.407	.407	1.361	.703	.866	.812
31	.186	-.141	.371	4.824	7.881	.249	1.455	.454	.410	1.108
32	.141	-.421	.501	3.362	16.014	.223	2.384	.286	.346	.828
33	.310	.770	.275	28.166	11.979	1.429	.399	1.697	.904	1.878
34	.235	.895	.719	49.091	11.870	1.748	.163	1.439	1.174	1.225
35	.981	-.484	.506	15.937	30.381	.971	1.048	1.549	.334	4.640
36	.141	.484	.125	27.259	8.521	.718	.306	.871	.288	3.024
37	.275	.536	.416	9.801	3.759	.988	.338	1.233	.748	1.649
38	.266	.635	.306	9.494	3.099	.849	.362	1.307	.752	1.738
39	.243	1.596	.307	80.423	12.608	1.863	.159	2.159	1.230	1.755
40	.083	.271	.183	94.215	18.466	.321	.206	.424	.182	2.335

Bx.B = (Ca+Mg+Na+K) / (Cl+SO₄) O-I = (Ca+K+SiO₂) / (Mg+SO₄) 単位: SiO₂, Ca-Na mg/l

Caが多く、Ca-Na、Ca/Kの値が大きい地域では、脳出血死亡率が低く、脳硬塞死亡率が高い。Na、K、Mgに対してCaが特に少なくNaが多く、Ca-Naが小さく、Ca/Kが特に大きい地域では脳出血死亡率が高く、脳硬塞死亡率が低い。

上野⁶⁾の研究によれば、脳卒中死亡率は水のミネラルバランスに関係しNa、K、Mgに対してCaが相対的に少ない地域で高くなり、Ca、Na、K、Mgなどのミネラルがバランスのとれている地域では低くなり、Na、K、Mgに対してCaがとくに大きい地域で脳出血が少なく、脳硬塞が多い。つまり脳硬塞死亡率が高く、脳出血死亡率が低い。Na、K、Mgに対してCaがあまり大きくない地域では脳出血が多く、脳硬塞が少ない。つまり脳硬塞死亡率が低く、脳出血死亡率が高いと言っている。

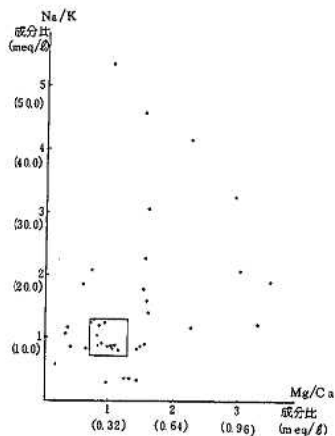


図2 成分比による健康に良い水の種類

以上のように多くの研究者により種々の報告がされているが、我々は、表2に示した値を、健康に良いミネラルバランスの水として、各成分をミリグラム当量比であらわすとNa/K=10.0、Mg/Ca=0.32になる。これを、岡本⁷⁾らの方法と同様に各比の前後30%の幅をもたせたNa/K=7.00~13.0、Mg/Ca=0.22~0.42を健康ゾーンとして設定し評価を行なった。

表3には、湧水のミネラル成分量およびその成分のミリグラム当量比を表示し、Na/KとMg/Caの関係について図2に示した。

その結果、40湧水のうち12件が健康ゾーンを満足し特に県東部に位置している新居浜・西条地区の湧水群からは6件であった。このことは、脳卒中死亡率から

みても県平均SMR値93.2に対し、西条市78.3、新居浜市90.4と低く、同様であった。

また、橋本⁸⁾の報告にみられるCa-Na値0.26(ミリグラム当量)とCa/K値18.7(ミリグラム当量比)についても30%の許容範囲を考慮すると表3からCa-Na値で26件、Ca/K値で30件が満足し、両者を満たす湧水が半数を上まわっていた。

以上述べた、健康ゾーン、Ca-Na値、Ca/K値の条件を満たすものは、8件であり全体の20%であった。

一方、味について考えると橋本⁹⁾により、味を良くする要因としてCa、K、SiO₂悪くする要因、Mg、SO₄より提案された指標(Ca+K+SiO₂)/(Mg+SO₄) \geq 2.0から検討すると35%が適合した。

まとめ

健康に良い水とおいしい水の観点から県下の湧水の水質評価を行なったところ以下の結果を得た。

1. 脳卒中死亡率の最低値を示す地域の水とミネラルバランスが類似した健康に良い水は、全体の30%あり、特に県東部、新居浜・西条地区の湧水群に多くみられた。その地域は脳卒中死亡率も県下の平均値より低い値であった。

2. ミネラル成分をほどよくバランスし、有害成分を含んでいない湧水は健康に良いものと言えるが、濃度の希薄な湧水はミネラル成分が少ないため、当量比のみの比較では評価出来なかった。

3. おいしい水の要件適合度は、35%であり、山間部より湧出するものがほとんどであった。

4. 健康に良い水とおいしい水の要件は、必ずしも一致せず、健康に良い水8件のうち、おいしさの要件をみたすものは、2件のみであった。

参考文献

- 1) 上水試験法、日本水道協会(昭和60年版)
- 2) 橋本 奨: 用水と廃水 29(3), 3-16 (1987)
- 3) 南 純一: 山口産業医学年報 22, 44-81 (1957)
- 4) 鈴木武夫: 人間環境と健康障害 日本公衆衛生協会(1975)
- 5) 野瀬善勝: 山口産業医学年報 17, 18-52 (1972)
- 6) 上野碩夫: 山口医大医学雑誌 6, 122-141 (1957)
- 7) 岡本茂胤: 滋賀環境センター所報 21, 138-144 (1986)
- 8) 橋本 奨: 水処理技研 26(8), 551-554 (1985)
- 9) 橋本 奨: 化学と生物 26(1), 65-68 (1988)

愛媛県内の水道水における無機成分の分布特性について —疾病との関連について—

篠崎 由紀 出口 修一 大瀧 勝*
石丸 尚志 中島 庄一

はじめに

水道は“清浄(安全)にして豊富低廉な水を供給し、もって公衆衛生の向上と生活環境の改善とに寄与すること”を目的に発展してきたが、近年の生活資質の向上とともに、“おいしい水”“健康に良い水”が求められるようになってきた。飲料水中あるいは河川水の無機成分と人の健康に関しては、従来より種々の疫学調査がなされており、脳卒中、心臓疾患、成人病等、またそれら死亡率との間に関係があることが指摘されてきている¹⁻³⁾。

昨年度の報告書⁴⁾において、県内68市町村の299の上水道及び簡易水道の水道水中の無機成分の調査結果を、主に水道法に基づいてとりまとめた。今回はこの調査項目の中から、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 CO_3^{2-} 、 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 NO_3^- -Nの主要無機成分8項目に関して、主成分分析を用いて分布状況を明確にし、虚血性心疾患、脳血管疾患(脳卒中)、脳硬塞、脳出血の4疾病の訂正死亡率(SMR)との関係をみたので報告する。

調査・方法の概要

水質試験の方法・結果等は既に報告した⁴⁾ので省略する。

1. 県内水道水の主要無機成分による分類

各市町村単位で疾病との考察を行うため、各市町村の水質代表値は、給水人口が市町村人口の50%以上を満たすよう水道施設を選定し、給水人口と分析値との加重平均値とした。詳細は昭和60年度⁵⁾にフローチャートで示している。その代表値について主成分分析とクラスター分析を用いて県内水道水を4グループに分類した。

2. 疾病との関連

愛媛県における疾病死因の中で、毎年上位を占める脳血管疾患ら4疾病のSMRと水道水中の無機成分の関係を検討した。

各市町のSMR値は、昭和58年6月発行の“全国市町村別主要疾患死亡数値表”を使用した。

結果と考察

1. 県内水道水の主要無機成分による分類

今回の検討項目は、栄養バランスの面からも関心が高く²⁾、また心臓血管病や脳卒中等に保護的に働く³⁾といわれている Ca^{2+} 、 Mg^{2+} に、主要無機成分 Na^+ 、 K^+ 、 CO_3^{2-} 、 SO_4^{2-} 、 Cl^- に NO_3^- -Nを加えた8項目で解析を行った。

水質の特性を表現する方法として、従来よりキーダイアグラム、ヘキサダイアグラム等が用いられて来ているが、今回は8項目の無機成分のもつ情報を、少数個の総合特性値に要約して表現する方法として、主成分分析を用いた⁶⁾。なお、前報告においてこれら8項目の分析値は、対数正規分布することが分かっているため対数変換を行い、相関行列から出発して、主成分分析を実施した。得られた固有値、固有ベクトル、因子負荷量及び累積寄与率を表1に示す。第一主成分 Z_1 と第二主成分 Z_2 の因子負荷量図を図1に、第二主成分 Z_2 と第三主成分 Z_3 の因子負荷量図を図2に示す。

1-1 主成分分析結果

固有値は Z_1 が4.97、 Z_2 が1.45、 Z_3 が0.58で全体の分散に対する寄与率は、 Z_1 が62.2%、 Z_2 が18%、 Z_3 が7.3%で、 Z_3 までの累積寄与率が87.5%を占め、8項目の持つ情報のほとんどはこの3つの主成分で説明できる。

第一主成分 Z_1 の因子負荷量は、8項目すべてが正で大きな値を示しており、 Z_1 は大ききつまりイオン量を表わす因子といえる。 Z_1 のスコアが大ききことは、8項目の総イオン量が大きくなることを意味している。

第二主成分 Z_2 の因子負荷量は Na^+ と Cl^- が正の大きな値を示し、 Ca^{2+} 、 CO_3^{2-} 及び NO_3^- -Nが負の値を示している。 Z_2 のスコアが大ききことは、海水あるいは送風塩の影響を示唆し、 Z_2 のスコアの小さいことは、 Ca^{2+} 、 CO_3^{2-} が大きくなり、地質由来を示しており、 Z_2 は地形、地質を基にした水の型を表わす因子といえる。

第三主成分 Z_3 の因子負荷量は、 K^+ 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- -Nが負の値を示し、 Z_3 は人為的な汚染の影響を示唆する因子であると考えられる。 Z_3 が小さければ、人為的汚染

表1 主成分分析結果

	第一主成分			第二主成分			第三主成分		
	固有ベクトル	因子負荷量	寄与率(%)	固有ベクトル	因子負荷量	寄与率(%)	固有ベクトル	因子負荷量	寄与率(%)
Na ⁺	0.310	0.692	0.479	0.525	0.631	0.399	0.183	0.139	0.019
K ⁺	0.356	0.795	0.632	0.182	0.219	0.048	-0.588	-0.448	0.201
Ca ²⁺	0.401	0.895	0.800	-0.289	-0.348	0.102	0.212	0.161	0.026
Mg ²⁺	0.372	0.830	0.689	-0.101	-0.121	0.015	0.389	0.296	0.088
Cl ⁻	0.288	0.643	0.414	0.571	0.686	0.472	0.197	0.150	0.023
CO ₃ ²⁻	0.349	0.779	0.607	-0.377	-0.453	0.206	0.356	0.270	0.073
SO ₄ ²⁻	0.395	0.882	0.779	0.031	0.038	0.001	-0.313	-0.238	0.057
NO ₃ ⁻ -N	0.338	0.753	0.568	-0.356	-0.428	0.184	-0.397	-0.302	0.091
固有値	4.97			1.45			0.58		
累積寄与率(%)	62.2			80.2			87.5		

の影響が考えられるが、今回の解析データによる寄与は7.3%と全体から見ると小さい情報量であった。しかし、同様な解析を重ねて行くことで、汚染の影響を把握することができるものと思われる。

1-2 主成分スコアによる市町村のグループ分け

各市町村のZ₁, Z₂のスコアを求め、クラスター分析を用いて市町村を4グループに分類したものを図3, 4に示した。また各グループにおける無機成分の代表値の平均値と成分割合を表2に示す。

Iのグループには17市町村が属し、Z₁から総イオン量が小さく、Z₂からCa-CO₃型を示す。これらの市町村は図4から大部分が上浮穴郡地域等山間部を占め、もしくは水源を山間部に持ち、人為的な汚染影響の少ない水質を持つ市町村である。

IIのグループには13市町村が属し、総イオン量が4グループの中では一番大きく、Z₂からNa-Cl型を示

し、またSO₄²⁻, NO₃⁻-Nの負荷が大きくなってきている。このグループの市町村は図4から島しょ部及び海岸線沿いに位置している。

IIIのグループには16市町村が属し、総イオン量はIのグループとはほぼ同程度で小さいが、Z₂からNa-Cl型を示し、南予地域を主体に11市町村、東予の2市及び島しょ部の3町村が含まれている。

IVのグループには22市町村が属し、総イオン量はIとIIのグループの中間程度にあり、Z₂からCa-CO₃型を示す。また、NO₃⁻-N, SO₄²⁻の負荷が大きくなっている。図4をみると、このグループの市町村は、中予地域を中心に、比較的平地の多い農耕の盛んな地域であり、施肥等人為的な汚染が考えられる⁷⁾。

このように県下68市町村を、水質特性の異った4グループに分類することができた。

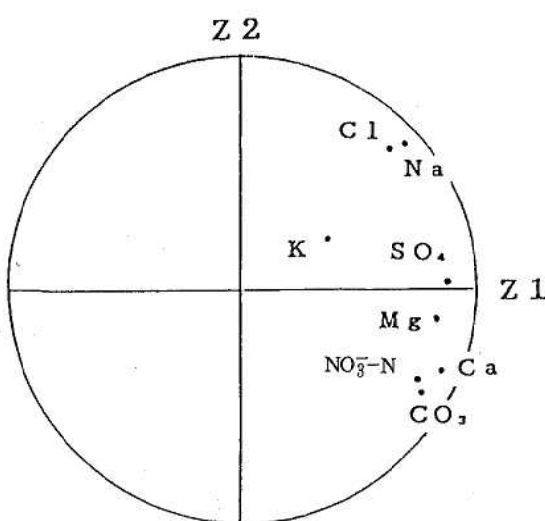


図1 因子負荷量図

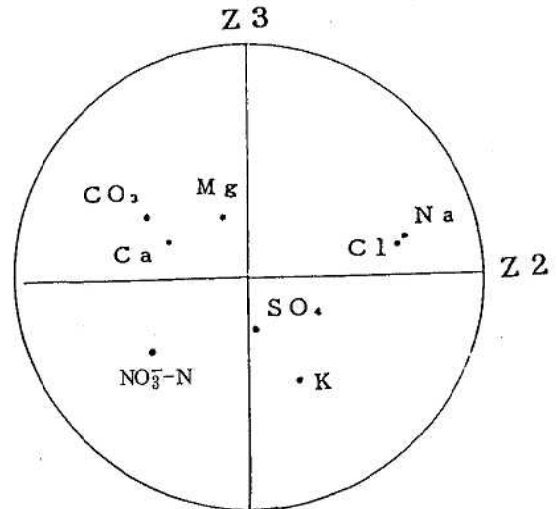


図2 因子負荷量図

2. 疾病との関連

人の健康を左右する要因は、遺伝、加齢、生活環境嗜好等の宿主因子、病原因子、自然的環境、社会的環境等の環境因子等があり、即、飲料水と関連づけることは困難である。しかし生体の約70%は水からなり、1日当たり2ℓ程度は、直接、摂取して体内の恒常性を維持しており、飲料水から人の健康への影響は無視することはできないものと思われる。そこで次に水道水中の8項目の無機成分より分類した4グループと疾病との関連をみている。

2-1 県内市町村のSMRの分布状況

愛媛県において毎年疾病死亡率の上位を占めている、虚血性心疾患、脳血管疾患、脳硬塞、脳出血の4疾病のSMRの市町村分布を男女別にみたのが図5である。またこれらのSMRとCa²⁺、Na⁺、Mg²⁺の摂取量には関連があることが指摘されている²⁻³⁾。

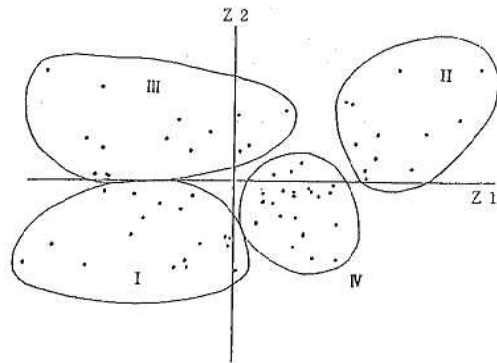


図3 スコア散布図

表2 グループ別による無機成分

項目	Iグループ			IIグループ			IIIグループ			IVグループ		
	ppm	meq	meq%	ppm	meq	meq%	ppm	meq	meq%	ppm	meq	meq%
Na ⁺	4.61	0.200	18.94	25.16	1.094	33.41	11.1	0.483	46.11	8.74	0.380	20.74
K ⁺	0.57	0.015	1.38	2.03	0.052	1.59	1.04	0.027	2.54	1.55	0.040	2.16
Ca ²⁺	12.30	0.614	58.00	31.09	1.551	47.38	8.10	0.404	38.62	20.27	1.011	55.20
Mg ²⁺	2.79	0.229	21.68	7.02	0.577	17.63	1.62	0.133	12.73	4.88	0.401	1.90
Cl ⁻	5.06	0.143	13.54	37.06	1.044	32.00	10.91	0.307	31.20	11.18	0.315	27.32
CO ₃ ²⁻	19.56	0.652	61.96	36.53	1.218	37.32	14.57	0.486	49.30	28.12	0.937	11.57
SO ₄ ²⁻	9.87	0.206	19.54	39.58	0.825	25.27	7.68	0.160	16.24	20.56	0.428	53.56
NO ₃ ⁻ -N	0.73	0.052	4.96	2.47	0.176	5.41	0.45	0.032	3.25	1.92	0.137	27.55

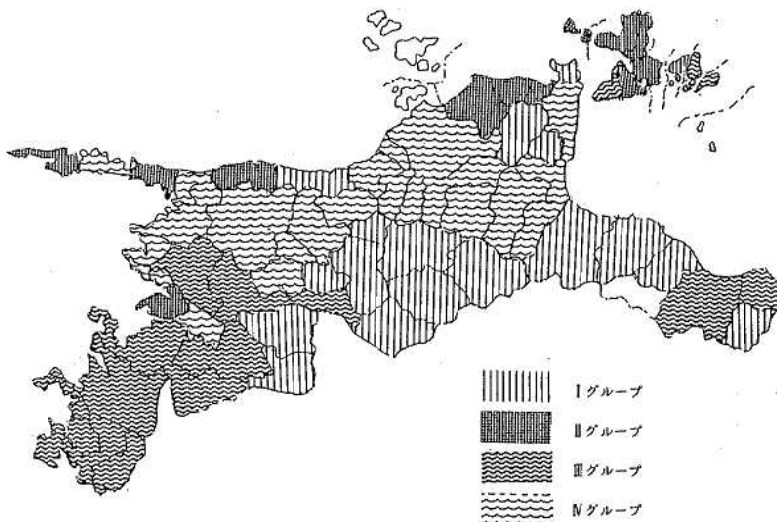


図4 水道水中の無機成分の分布

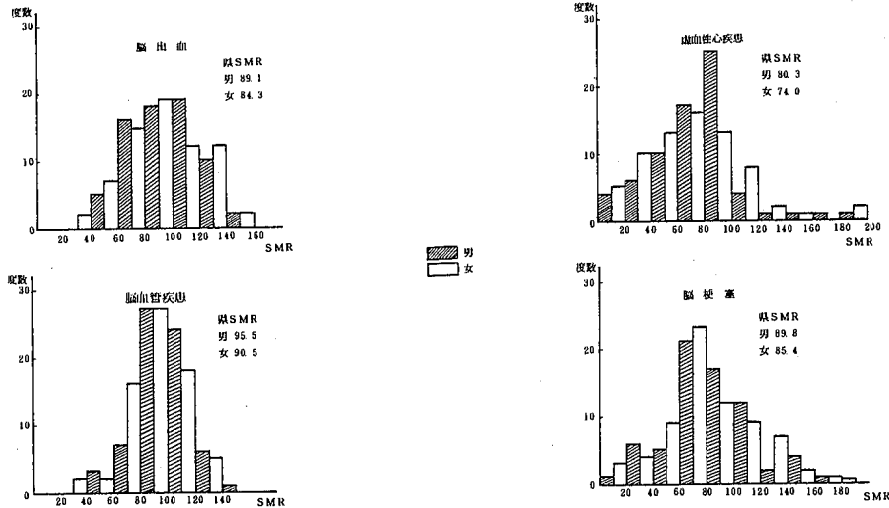


図5 市町における各疾病のSMR分布

脳血管疾患が男 95.5, 女 90.5 と 4 疾病の中では一番高い値を示すが、全国的には 4 疾病とも 100 以下であり、低い SMR を示していることが分る。また 4 疾患とも女は男より低い。またこの図より脳梗塞と虚血性疾患は脳血管疾患や脳出血に比べ分布の幅が広く、市町村による差が大きいかを示している。

2-2 SMRと水道水中の無機成分との関連

4 疾病の SMR と水道水中の無機成分 11 項目との相関係数を求めた。PH と硬度については、疾病との関連が深いことが言われており^{1,8)}、 SiO_2 も主要無機成分であるため加えて検討した。結果は表 3 に示した。

男の脳出血と NO_3^- で負の相関が、女の脳梗塞と PH に相関が、いずれも危険率 5% で認められたのみである。

2-3 疾病と 4 グループの関連

次に 1-2 において各市町村を水質特性の異った 4 グループに分類した。この分類ごとに各疾病の SMR

をみたのが表 4 である。

一般に硬度の低い地域は心臓血管病及び脳卒中死亡率が低い^{3,9)} ことが言われている。今回は表 4 より脳血管疾患にはその傾向はみられなかった。しかし山間部に広がり総イオン量の小さい I グループの脳出血の SMR に、男女共に 100 を越える値を示し、その傾向が見られた。

また II の最もイオン量の大きい海岸線を占めるグループは虚血性心疾患の SMR が男 59.4, 女 47.5 といずれも他のグループに比べ低い値を示していることにもその傾向がみられる。

このグループの分類は水道水中の 8 項目の無機成分の組成から成り立っているが、地形地質の自然環境及び産業構造が、その水質に影響を与えていると同時に、そのことが生活環境、食環境等に類似していることも推測される。

表 3 愛媛県における無機成分と死亡率の単相関係数

	虚血性心疾患		脳血管疾患		脳梗塞		脳出血	
	男	女	男	女	男	女	男	女
pH 値	0.057	0.047	0.145	0.123	-0.039	0.374**	0.156	0.112
硬 度	0.145	0.183	0.054	-0.115	-0.167	0.278*	0.007	0.093
SiO_2	0.125	-0.066	-0.015	-0.183	-0.037	-0.137	-0.260*	-0.145
Na^+	0.117	0.194	0.001	-0.197	-0.200	0.168	-0.011	0.112
K^+	0.093	0.081	-0.000	-0.181	-0.107	-0.068	-0.028	-0.032
Ca^{2+}	0.149	0.188	0.007	-0.160	-0.224	0.262*	-0.015	0.100
Mg^{2+}	0.102	0.128	0.184	0.046	0.043	0.264*	0.069	0.060
Cl^-	0.105	0.284*	0.006	-0.042	-0.160	0.254*	0.053	0.102
CO_3^{2-}	0.010	0.054	0.074	-0.081	-0.075	0.332*	0.073	0.079
SO_4^{2-}	0.227	0.140	-0.001	-0.185	-0.200	0.111	-0.106	0.100
NO_3^- -N	0.288*	0.059	0.123	-0.143	-0.001	-0.094	-0.329**	-0.105

n = 68 * : 危険率 0.05 以下で有意 ** : 危険率 0.01 以下で有意

表4 タイプ別SMR値

タイプ 疾病		I	II	III	IV
虚血性 心疾患	男	71.6	59.4	69.3	71.0
	女	72.9	47.5	66.1	65.6
脳疾 血管患	男	94.9	87.1	99.5	94.4
	女	98.3	79.9	95.5	89.9
脳 梗塞	男	68.7	78.6	85.8	83.2
	女	68.5	59.6	82.8	85.6
脳 出血	男	104.1	87.7	86.7	88.6
	女	107.9	86.6	87.8	82.3

まとめ

県下68市町村の水道水について主要無機成分8項目の特性を分類し、虚血性心疾患等4疾病との関連性について検討した。

1. 主要無機成分8項目について主成分分析を行い、第一主成分にイオン量の大きさを表わす因子、第二主成分に地形地質を基にした水の型を表わす因子、第三主成分に人為的汚染を表わす因子が得られた。

2. 主成分分析結果に基づいて県下68市町村を異なった水質特性からなる次の4グループに分類した。

I 総イオン量が小さく、Ca-CO₃型を示し、山間部に多く位置する。

II 総イオン量が大きく、Na-Cl型を示し、SO₄²⁻が増え、海岸線に多く位置する。

III 総イオン量が小さく、Na-Cl型を示し、南予地域に多く位置する。

IV 総イオン量は中程度で、Ca-CO₃型を示し、NO₃-Nが増え、平野部に多く位置する。

3. 無機成分と4疾病のSMRには、危険率5%で、男の脳出血とNO₃-Nに、女の脳梗塞とPHに相関が見られた。

4. 主成分分析で無機成分を分類したグループごとにSMRを見た場合、Iの総イオン量の小さいグループで脳出血のSMRが高く、IIの総イオン量の大きいグループで虚血性心疾患のSMRが低い傾向が見られた。人が飲料水から摂取する無機成分の寄与率は食品からの摂取量に比較し、かなり低いといわれている⁴⁾。しかしフッ素と斑状歯、硝酸性窒素とメトヘモグロビン、筋萎縮性側索硬化症とCa、Mgとの関連¹⁰⁾などの例もあり、一生に渡って人が関わっていく飲料水中の無機成分と健康との関連を無視することはできないと思われる。

今後、水の無機成分全体の型を把握し評価できるこの方法を用いて、健康との関係を探ることは有効な手段であると考えられ、種々の疫学的な調査、あるいは局地的な調査を追加することにより明確な解析が得られるものと思われる。

文献

- 1) 小林純：水の健康診断，岩波書店（1973）
- 2) 川畑愛義：水を飲む健康法 講談社（1984）
- 3) 地方衛生研究所全国議会：健康と飲料水の無機成分に関する研究 昭和57年3月
- 4) 篠崎由 他：61年度愛媛県衛研年報，48，27-31（1987）
- 5) 芝信明他：60年度愛媛県衛研年報，47，19-22（1986）
- 6) 奥野忠一：主成分分析，多変量解析法，日科技連，P159-245（1983）
- 7) 武智拓郎他：51年度愛媛県衛研年報，38，37-42（1978）
- 8) 松本良：山口産業医学年報17，132-143（1970）
- 9) 日本化学会訳編：環境と疾病，丸善株式会社，（1974）
- 10) 木村溜：医学のあゆみ146(2)，115-119，1988. 7. 9

愛媛県内主要河川の栄養塩からみた特性

石丸尚志 出口修一 大瀧 勝* 篠崎由紀 中島庄一

はじめに

愛媛県は瀬戸内海式気候帯に属し、降雨量が少ないうえに、県の中央やや南側を走る四国山脈を分水嶺とするため、河川は短く急流で水量的には安定していない。しかし、水資源の乏しさから、河川水が水道水源として、大きな役割を果たしている。

昭和53年に、当所では、愛媛県下の自然的環境における河川水質を測定し、地質構造との関係について明らかにした¹⁾。また宇和川水系での水質について化学的考察を加えてきた²⁾。

その当時と比べると、各河川とも、水資源開発が進み、今や県内主要河川すべてに、ダムが設置されている。そのダムは、工業用・農業用・飲用水源及び洪水調節・発電と目的は種々であるが、ダムの下流でも、河川維持用水の放流や、支流の合流のため、河川の連続性は保たれている。今回、県下5河川(6水系)について、定期的に水質調査を行い、栄養塩からみた河川の特性について考察を加えたので、報告する。

採取地点および時期・分析項目

図1に、県内河川とダムの状況を示す。採取地点を番号で示し、そのポイントの所在地と特徴を表1に示す。主要な支川についても、採水を行った。

表1 河川水採取地点とその特徴

番号	河川(支川)	所在地	特徴
①	竊山川(上流)	別子山村南向流	ここより上流には人家数軒
②	"(中流)	伊予三島市朝瀬	朝瀬ダムの放流水を受け新宮ダムに流入
③	"(中流)	新宮村大塚	新宮村中心地の下流
④	加茂川(上流)	西条市土郷	高滝沢下、上流人家なし
⑤	"(西の川)	西条市下谷	石船登山口下
⑥	"(谷川上流)	西条市中之池	寒風山トンネル手前
⑦	"(中流)	西条市名之山	黒船ダム下、田園地帯
⑧	"(下流)	西条市中西	西条市市街地手前
⑨	重徳川(本上流)	亀谷町木地	上流には人家なし
⑩	"(表川上流)	川内町大塚敷	黒森峠下で上流は田畑のみ
⑪	"(中流)	富岡町下林	川内町重徳町の生活排水流入
⑫	"(砥部川上流)	砥部町千里口	砥部焼の原料土産地近く
⑬	"(石手川上流)	松山市米野々	国道317号横行止り手前
⑭	"(下流)	松山市出合	各支流の負荷を集中した地点
⑮	中山川・小田川(中山川上流)	中山町笠谷	田畑の中の流れ
⑯	"(中山川中流)	中山町中山	中山町中心部のやや下流
⑰	"(小田川下流)	五十崎町新川町	小田川と合流直後
⑱	"(小田川中流)	内子町河川	小田川を出たところ
⑲	"(小田川上流)	小田町中峰	上流には人家わずか
⑳	比川(平野川上流)	宇和町徳里	比川の源流(水源地)上流
㉑	"(宇和川上流)	宇和町芝	田園地帯の真中
㉒	"(宇和川中流)	宇和町下字和	宇和町の排水を集めた地点
㉓	"(宇和川下流)	野村町道野々	野村町中心部下流
㉔	"(黒瀬川下流)	松川町杉の瀬	松川町中心部下流
㉕	"(舟戸川下流)	野村町横山	大野ヶ原の下流
㉖	"(中流)	大洲市島宮	鹿野川ダム下流、小田川と合流後
㉗	"(中下流)	大洲市船木	臥龍湖手前、大洲市街地直前
㉘	"(矢落川下流)	大洲市喜多山	水田の負荷を集めた地点
㉙	"(下流)	大洲市峠	感徳城直流の下流部
㉚	岩松川(中之川上流)	津島町神田	田園地帯の真中
㉛	"(本流上流)	津島町後吹	後吹沢谷の中
㉜	"(御代川上流)	津島町御代川	山形ダム上流部、人家わずか
㉝	"(中流)	津島町富部	本・支流合流後の水田地帯
㉞	"(下流)	津島町三島	感徳城直前、岩松町の手前



図1 県内河川・ダム及び採水地点

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

* 現大洲保健所 大洲市田口字ツツイ甲425-1

採取時期は、昭和62年4月、7月、10月、63年1月の季節別に年4回行った。

調査項目は、次の項目の水質分析と、採取時現場において水温、気温、浮子により定間隔で測定した流速水深および流れ巾の測定を行った。水質分析は、JISK 0102、上水試験方法に従った。

pH値、EC、 PO_4 -P、T-P、 NO_3 -N、T-N、K、Cl、 SiO_2 、Fe

他に、主要成分として

Na、Ca、Mg、 CO_3 、 SO_4 、F、Mn、Zn、Cuを測定した。

今回は、上記の栄養塩類についての考察を行い、各河川の特徴を明らかにした。表2に採取地点ごとの水質測定値を示す。

水質測定値からみた各河川の概要

銅山川水系

おおむね水質の良好な河川であるが、宇摩地方の利水のために、3つのダムが10kmの距離を隔てて設置されているため水量・水質に与える影響は大きい。ECの増加から考えられるように、溶存物質量は流下につれて増加している。また栄養塩類、汚濁物質の指標となる塩素イオンも流下につれて増加しているが、流域に大きな人為的負荷源を持たないため、自然負荷によるものであることが推測され流下による溶存物質の増加もわずかである。

加茂川水系

中流部で2つの支流に別れ、黒瀬ダムの上では、さらに2つの支流に分かれている。中流から下流にかけては伏流水となり、下流でも水質は良好である。④の地点は上流に人為負荷源がないが、⑤の地点は上流に、石鎚登山口があり、観光レクリエーションによる負荷があるため、この水系の他の地点と比べて溶存成分も多くなっている。⑦の地点は、ダムからの放流水と、周囲の農地からの影響が考えられ、やや濃度が高くなっているが、⑦を過ぎてから伏流となり、西条市の打ち抜き函養源となっているため、⑧の点では、流下に伴う栄養塩の濃度上昇がみられない。

重信川水系

都市河川としての特徴を示す中下流部では、生活排水に起因すると思われる汚濁が顕著であるが、松山市及び周辺町の中心部を通過する前の各支流の源流は非常に清澄である。⑪のポイント、重信町・川内町の生活排水を受け、⑭は石手川・小野川水系の影響により水系内の他の点には見られない栄養塩濃度を示している。本流は⑮通過後、⑭地点の手前まで伏流しているため、⑭の負荷源は主として石手川・小野川水系と考えられる。他の源流部では、自然負荷のみであり、目につく負荷源はない。

中山川・小田川水系

脛川の支流小田川の支流が中山川であるが、⑯の地

点で脛川と合流する迄、独立した水系を構成している。⑮は中山川の源流であるが、水田地帯の中にあるため、肥料由来の成分が多い。⑰は小田川の源流であり、負荷はほとんど受けていない。中山町・小田町中心部を通過後が⑱、⑲の地点であるが、共に生活排水由来の負荷を受け、溶存成分・栄養塩濃度の増加がみられる。⑰は中山川・小田川合流後で水量が多く、栄養塩濃度の低い小田川により、中山川の河川水が希釈されていることが推測される。

脛川水系

県内最長の河川であり、今回調査した中では、採取地点も10地点と最多である。他の河川と異なり、上流部に負荷源があるため、全体的に栄養塩濃度の高い河川である。

源流では、周囲の状況から考えても自然負荷のみであるが、源流から少し流下した地点からは水田が広がり、⑳の地点以下は人為的負荷を受けている。㉑は水田地帯の中央にあり、栄養塩の供給は水田からと推測される。㉑は宇和町の負荷を受けて、水系の中で最も栄養塩濃度の高い地点である。その水が野村ダムへ流入するが、流入河川は、ほぼ同程度の水量負荷を持つ支流を合流するため、希釈効果によりダム内では、濃度が低下している。野村ダムからの放流水と野村町内の生活排水を集め、更に支流を合流した点が㉒であり、ダム内での沈降等による負荷の減少過程を経ている。

㉒通過後、舟戸川・黒瀬川を合流して鹿野川ダムへ入る。黒瀬川は、城川町の負荷を集めて、㉓の地点では負荷の大部分が集中している。㉓は舟戸川の中流で大野ヶ原の牧畜による負荷を受けるが、顕著にはあらわれていない。

その後、鹿野川ダムでの沈降過程を経て、ダムの放流水と、小田川の水を合流した地点が、㉔の地点である。さらに5km流下した点が、㉕でありその間に大きな支流の合流や負荷源が目立たないため、水質的に非常によく類似している。その後、大洲市内の排水を集め、矢落川を合流して、最下流点㉖へ流下するが栄養塩の増加が見られる。㉖は農耕地からの負荷が大きい。

岩松川水系

独立した小流域を持つ典型的な河川であり、採取地点は、本流及び2つの支流の上流、合流点及び最下流であるが、各々の距離は5km以内である。㉗は本流とほぼ同量の流量を持つが、共に上流の集水面積が狭小なため、流量は小さい。栄養塩濃度は、農耕地が存在するにもかかわらず、他の水系上流と比べ高くない。

しかし上流が森林地域である㉘と比べると若干高濃度である。㉘は、この水系で最大の集水域を持つ鬼ヶ城山系の水を集めているため流量は多いが、栄養塩濃度は極めて低い。㉙は、前記三支流の合流直後であり、

採取時期は、昭和32年4月、7月、10月、33年1月の季節別に年4回行った。

調査項目は、次の項目の水質分析と、採取時現場において水温、気温、浮子により定間隔で測定した流速水深および流れ巾の測定を行った。水質分析は、JISK 0102、上水試験方法に従った。

pH値、EC、 PO_4 -P、T-P、 NO_3 -N、T-N、K、Cl、 SiO_2 、Fe

他に、主要成分として

Na、Ca、Mg、 CO_3 、 SO_4 、F、Mn、Zn、Cuを測定した。

今回は、上記の栄養塩類についての考察を行い、各河川の特性を明らかにした。表2に採取地点ごとの水質測定値を示す。

水質測定値からみた各河川の概要

銅山川水系

おおむね水質の良好な河川であるが、宇摩地方の利水のために、3つのダムが10kmの距離を隔てて設置されているため水量・水質に与える影響は大きい。ECの増加から考えられるように、溶存物質量は流下につれて増加している。また栄養塩類、汚濁物質の指標となる塩素イオンも流下につれて増加しているが、流域に大きな人為的負荷源を持たないため、自然負荷によるものであることが推測され流下による溶存物質の増加もわずかである。

加茂川水系

中流部で2つの支流に別れ、黒瀬ダムの上では、さらに2つの支流に分かれている。中流から下流にかけては伏流水となり、下流でも水質は良好である。④の地点は上流に人為負荷源がないが、⑥の地点は上流に、石鎚登山口があり、観光レクリエーションによる負荷があるため、この水系の他の地点と比べて溶存成分も多くなっている。⑦の地点は、ダムからの放流水と、周囲の農地からの影響が考えられ、やや濃度が高くなっているが、⑦を過ぎてから伏流となり、西条市の打ち抜き函養源となっているため、⑧の点では、流下に伴う栄養塩の濃度上昇がみられない。

重信川水系

都市河川としての特徴を示す中下流部では、生活排水に起因すると思われる汚濁が顕著であるが、松山市及び周辺町の中心部を通過する前の各支流の源流は非常に清澄である。⑪のポイント、重信町・川内町の生活排水を受け、⑭は石手川・小野川水系の影響により水系内の他の点には見られない栄養塩濃度を示している。本流は⑪通過後、⑭地点の手前まで伏流しているため、⑭の負荷源は主として石手川・小野川水系と考えられる。他の源流部では、自然負荷のみであり、目につく負荷源はない。

中山川・小田川水系

肱川の支流小田川の支流が中山川であるが、⑮の地

点で肱川と合流する迄、独立した水系を構成している。⑮は中山川の源流であるが、水田地帯の中にあるため、肥料由来の成分が多い。⑰は小田川の源流であり、負荷はほとんど受けていない。中山町・小田町中心部を通過後が⑱、⑲の地点であるが、共に生活排水由来の負荷を受け、溶存成分・栄養塩濃度の増加がみられる。⑰は中山川・小田川合流後で水量が多く、栄養塩濃度の低い小田川により、中山川の河川水が希釈されることが推測される。

肱川水系

県内最長の河川であり、今回調査した中では、採取地点も10地点と最多である。他の河川と異なり、上流部に負荷源があるため、全体的に栄養塩濃度の高い河川である。

源流では、周囲の状況から考えても自然負荷のみであるが、源流から少し流下した地点からは水田が広がり、⑳の地点以下は人為的負荷を受けている。㉑は水田地帯の中央にあり、栄養塩の供給は水田からと推測される。㉒は宇和町の負荷を受けて、水系の中で最も栄養塩濃度の高い地点である。その水が野村ダムへ流入するが、流入河川は、ほぼ同程度の水量負荷を持つ支流を合流するため、希釈効果によりダム内では、濃度が低下している。野村ダムからの放流水と野村町内の生活排水を集め、更に支流を合流した点が㉓であり、ダム内での沈降等による負荷の減少過程を経ている。

㉓通過後、舟戸川・黒瀬川を合流して鹿野川ダムへ入る。黒瀬川は、城川町の負荷を集めて、㉔の地点では負荷の大部分が集中している。㉕は舟戸川の中流で大野ヶ原の牧畜による負荷を受けるが、顕著にはあらわれていない。

その後、鹿野川ダムでの沈降過程を経て、ダムの放流水と、小田川の水を合流した地点が、㉖の地点である。さらに5km流下した点が、㉗でありその間に大きな支流の合流や負荷源が目立たないため、水質的に非常によく類似している。その後、大洲市内の排水を集め、矢落川を合流して、最下流点㉘へ流下するが栄養塩の増加が見られる。㉘は農耕地からの負荷が大きい。

岩松川水系

独立した小流域を持つ典型的な河川であり、採取地点は、本流及び2つの支流の上流、合流点及び最下流であるが、各々の距離は5km以内である。㉙は本流とほぼ同量の流量を持つが、共に上流の集水面積が狭小なため、流量は小さい。栄養塩濃度は、農耕地が存在するにもかかわらず、他の水系上流と比べ高くない。

しかし上流が森林地域である㉚と比べると若干高濃度である。㉛は、この水系で最大の集水域を持つ鬼ヶ城山系の水を集めているため流量は多いが、栄養塩濃度は極めて低い。㉜は、前記三支流の合流直後であり、

田園地帯の中央にあるため、窒素分濃度は高い、⑭は⑳から下流でやや大きい支流を合流するが、田園地帯の負荷（農耕由来）を集めてこの流域で最も濃度が高くなっている。

栄養塩負荷量について

各河川の各採水地点における、N及びPの負荷量、N/P比は表3の通りである。

地点①と②の間には、柳瀬ダム、②と③の間には新宮ダム、④⑤と⑦の間には黒瀬ダム、⑬と⑭の間には石手ダム、⑳と㉑の間には野村ダム、㉒⑳㉓と㉔の間には鹿野川ダム、㉕と㉖の間には山財ダムがある。通常、湖沼水については、N/P比をもって制限栄養塩を推定するが、河川では貯水池の栄養塩の流入負荷源として考える。表4に、県下貯水池のN/P比について当所で調査したものと、県内他機関での調査値を示す。多くの支流を合流している重信川水系では、ダムの前後での評価は難しいが、銅山川水系では、ダムに流入する前後でのN/P比の変化は、ダムの中でのPの沈降に主として起因するものと思われる。またダムを出た後の変化は、新たな負荷の流入によるものと思われる。また加茂川水系では、N/P比の高い西の川の水質が主として黒瀬ダム湖に影響を与えていることが推測される。脛川水系では、他の水系に比べ、宇和川でNに比べPが高く、黒瀬川・舟戸川では逆にNが高くなっているのがわかる。これは、負荷の種類の違い

によるものと思われる。すなわち、宇和川では、主として人間活動の中でも生活排水が負荷源と考えられ、黒瀬川・舟戸川では、畜産産業に起因する負荷源が考えられる。

一般に、N/P比の高いところは、人口の少ないところで、農牧畜の影響が考えられ、人口の多いところでは、N/P比が低くなっている。また、貯水池流入河川のN/P比と、貯水池中のN/P比とは、ほとんど近い値となっており、流入水の影響を受けていることを示している。

主成分分析からみた県内河川の特徴について

表5に主成分分析の結果を、図2に主成分分析により求めた因子負荷量図を示す。

表5、図2の因子負荷量から考えて、第1主成分はpH値、SiO₂を除き、各項目とも因子負荷量は大きく、ClとN・P・Kの肥料の3要素及び、人糞由来の指標ともに大きく、人間活動由来の指標と考えられる。第2主成分は、特徴が乏しく意味不明な指標である。第3主成分は、pH値に特徴を持つ指標で、DOの項目を追加すれば明らかとなろうが、藻類の活動量などと関係づけられるものと思われる。

N/P比の考察から明らかとなったNとPの違いはZ₁とZ₂の因子負荷量図から明らかな差が生じてくるが、PとK、ClとNの違いだけからは、Z₂軸の意味を説明できなかった。

表3 N・P負荷量及びN/P比

地点	N負荷	P負荷	N/P比	地点	N負荷	P負荷	N/P比
①	1890	116	16.3	⑱	127000	2600	48.8
②	60800	686	88.6	⑲	1320	35	37.5
③	29300	439	66.7	⑳	1100	63	17.5
④	12400	165	75.0	㉑	2640	135	19.5
⑤	4940	18	280	㉒	79000	3250	24.3
⑥	17400	193	90	㉓	62100	2090	29.7
⑦	72100	1920	37.5	㉔	31500	1270	24.8
⑧	41700	571	72.9	㉕	15200	505	30.0
⑨	13500	140	96.7	㉖	490000	8420	58.2
⑩	3380	64	52.5	㉗	496000	11000	45.5
⑪	48100	1620	29.8	㉘	35800	1230	29.2
⑫	6360	161	39.4	㉙	587000	19200	30.6
⑬	53400	753	70.9	⑳	8750	330	26.4
⑭	396000	27200	14.5	㉑	6240	99	62.9
⑮	4110	64	63.8	㉒	10100	245	41.3
⑯	157000	1750	89.6	㉓	68900	1170	58.9
⑰	196000	3920	50.0	⑳	37600	1350	27.8

(単位は負荷についてはkg/年)

表4 県内貯水池のN/P比

貯水池	N/P比	貯水池	N/P比
柳瀬ダム④	47.5	野村ダム	13.8
新宮ダム③	70.0	鹿野川湖③	23.0
黒瀬ダム③	68.8	山財ダム③	24.3
石手川ダム⑤	84.3	(参考)埴池③	15.3

表5 主成分分析結果

項目	第1主成分		第2主成分		第3主成分	
	固有ベクトル	因子負荷量	固有ベクトル	因子負荷量	固有ベクトル	因子負荷量
pH値	0.0224	0.0545	0.2179	0.2451	0.7663	0.8002
EC	0.3522	0.8563	-0.0581	-0.0654	-0.0415	-0.0433
TP	0.3727	0.9060	0.2551	0.2870	0.0821	0.0858
TN	0.3894	0.9467	-0.1421	-0.1599	0.0007	0.0008
K	0.3715	0.9033	0.2069	0.2328	-0.0148	-0.0155
SiO ₂	0.1391	0.3382	0.0353	0.0397	-0.1547	-0.1615
Cl	0.3738	0.9087	-0.0535	-0.0601	0.1115	0.1164
固有値	5.9097		1.2656		1.0906	
寄与率(%)	53.72		11.51		9.91	

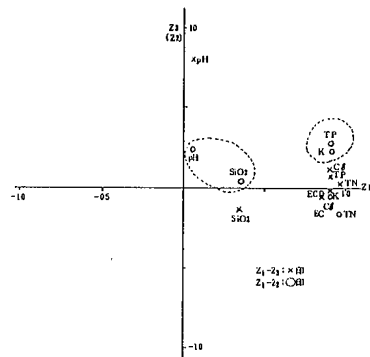


図2 主成分分析により求めた因子負荷量

クラスター分析による各河川の類型化

水系別に各水質分析地点の特徴を前述したが、栄養塩の存在状態からみた類似性に着目して各河川の各地点の類似度を計算し、図3に示すデンドログラムを得た。

図に示すように、当然ながら各水系の類似点は、近い距離にあるが、各河川の上流タイプ、中流タイプ、人口集中地区通過後タイプと栄養塩の存在状態の類似性から容易に推測できる結果となった。

また貯水池通過後直下の地点は、図で近くに集まり(33, 4, 7, 3), 支流を合流しないで同一地域を流れる点(26, 27)も互いに距離が近くなった。

一方重信川出合橋地点(14)のような特異点は、他とかけ離れた点と位置づけられた。また加茂川の5の地点中山川の16の地点と比較的近いことから、人間生活に由来する負荷を受ける地点と分類できる。

飲用水資源としての評価

図3において、図の上部に位置づけられた地点は、現在水資源としての利用が進んでおり、今後とも利用の続く地点である。また、現在は飲用水源として利用されていない地点では、今後の水資源としての利用が期待される点である。

一方、図3の下部では、飲用水源としては、適さな

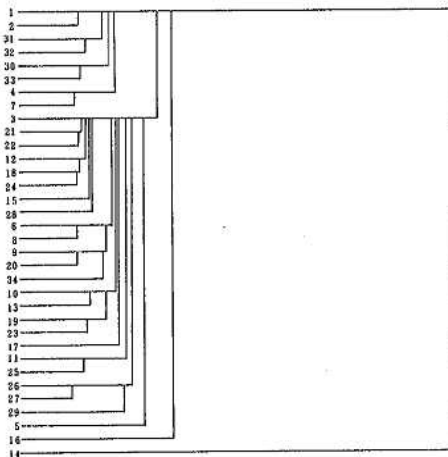


図3 各採水地点のデンドログラム

い所が多いことが考えられ、現在この中で飲用水源として利用されているのは、13の石手ダム上流のみである。但し13の点は、石手川ダム流入水源としての寄与は流量から考えてわずかであり、他の支流の評価を行うことなしに、水資源としての評価はできない。

また、黒瀬ダム上流の5の地点の水質も、飲用水資源としては適していないことが示唆され、現在は飲用水源でない黒瀬ダムを飲用水源として利用する際には十分な水質観測が必要となることが示唆される。

まとめ

県内主要河川の栄養塩の存在状態から、河川の水質評価を行ったところ、県内主要河川は、ほとんどの地点で良好な水質であった。他の主要成分についても、調査を実施したが、この報告の他には、地質との関連性が考察された。

負荷量については、原単位法によって計算したものは過去に見られたが^{6,7)}、各地点での実測値をもとに計算したものと比較を行ったところ、計算値より実測値が下回る結果となる。これは、貯水池中での堆積量や、河川中での生物作用による分解等が、評価されていないためである。貯水池における定期的水質観測の必要性が示唆される。

栄養塩の負荷源としては、家庭排水由来系と、農耕由来系とがあることが推測され、人口密集地を通過後の栄養塩の存在様式は、各河川とも同様であることが推測された。また、良好な飲用水源となり得る地点が、水質的に指摘され、今後の水道行政上の有益な資料となるものと考えられる。

文献

- 1) 武智拓郎他：愛媛衛研年報 40, 41~48 (1979)
- 2) 渡部三男他： " 38, 25~28 (1977)
- 3) 中村洋佑：公害技術センター所報 8, 23~32 (1987)
- 4) 銅山川上水道企業団：水質試験年報 昭和61年度 9~31 (1987)
- 5) 松山市公営企業局：水質試験年報 昭和60年度 17~32 (1987)
- 6) 肱川をきれいにする協議会：実績報告書4~7 (1985)
- 7) 重信川をきれいにする会： " 5~8 (1987)

河川の理化学的水質と生物学的水質評価の関係について —重信川水系を対象として—

大瀧 勝* 篠崎由紀 石丸尚志 出口修一 中島庄一

はじめに

従来、河川水の水質汚濁は、BOD等理化学的分析による評価が行われている。近年は、各々の理化学的水質データを個々に評価するだけでなく、主成分分析など統計的解析により、総合的に評価することが試みられている¹⁻⁴⁾。一方、付着藻類や底生動物などを指標に生物学的水質評価も行われている^{5,6)}。しかし、これらと理化学的水質項目との関係については、個々に論じられているが^{7,8)}、総合的な水質指標との比較はあまりなされていない。

そこで本研究では、重信川水系について、水質の総合指標化を試みるとともに、底生動物を用いた生物学的水質評価との関係を検討したので報告する。

重信川水系の概略

今回、調査対象とした愛媛県の重信川水系は、東三方ヶ森 (1233 m) に源を発し、道後平野を貫流した後、伊予灘に注ぐ総延長 263 km の一級河川である。流域面積は 445 km² であり、そのうち山林・水田が 80% を占めている。幹川流路延長は 32 km にすぎず河川勾配は急である。また河床高は堤内地盤高より多少高くなっていることから、河川水は透水性の高い堤内の旧路に伏流しており中上流部の河道に河川水のない区間もみられる。このため、汚濁の負荷は松山市街地を流れる石手川や、近年宅地化がすすんだ地域を流れる砥部川などの支川の生活排水等が大部分を占める。

調査および方法

1 理化学的水質調査

昭和62年8月から12月まで原則的に月1回、計5回採水した。採水地点は図1に示すとおり、重信川水系の11ヶ所である。採水にあたっては、降雨の影響のない天候の安定した時期を選んだ。分析項目は、水温、PH、EC、BOD、COD、C_d、NH₄-N、T-N、PO₄-P、T-Pの11項目で、分析方法はJIS K 0102、上水試験法によった。

2 生物調査

昭和62年8月および12月の2回、図1に示す11ヶ所で実施した。採取は底面積 30×30 cm でちりとり型金網を用い、水深 20~40 cm の石礫底の瀬で行った。生物学的水質評価については、次の方法に^{9,10)}よった。

1) Biotic Index (BI)

Beck-Tsuda 法

$$BI = 2A + B \quad A: \text{非汚濁耐性種の種数}$$

B: 汚濁耐性種の種数

2) Pollution Index (PI)

Pautle u. Buck 法

$$PI = \frac{\sum (s \cdot h)}{\sum h} \quad s: \text{汚濁階級指数}$$

h: 種別個体数

3) Diversity Index (DI)

Shannon-Weaver の指数

$$DI = -\sum_{i=1}^s (ni/N) \log_2 (ni/N)$$

s: 種数

ni: i 番目の種の個体数

N: 総個体数

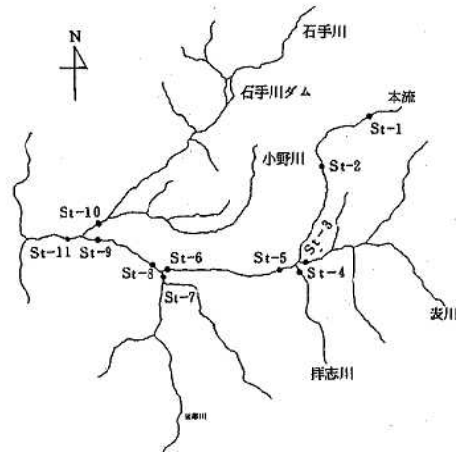


図1 重信川水系における調査地点

st 1 木地	st 2 御所橋	st 3 表川
st 4 拝志川	st 5 拝志大橋	st 6 重信橋
st 7 砥部川	st 8 重光	st 9 中川原
st 10 石手川	st 11 出合	

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

*現 大洲保健所 大洲市田口字ツツイ甲425-1

結果および考察

1. 理化学的水質評価

今回の調査結果を表1に示す。各地点とも5回のデータであるが、その平均をみるとCOD、Cℓ等は下流ほど高値となり、汚濁の進行情況がわかる。各項目間の単相関を表2に示す。人為的汚濁の指標と考えられるBOD、COD、Cℓ、NH₄-N、T-N、PO₄-P、T-Pは互いに正の相関がみられた。DOについてはPHと正の相関がみられたが、T-Pをのぞく他の項目とは相関がみられなかった。DOとPHの相関については、河川の付着藻類の光合性作用の影響が考えられた。

1) 主成分分析

水質を総合的に評価するため、これらの項目について、主成分分析を行った。解析にあたっては、BOD、COD、Cℓ、NH₄-N、T-N、PO₄-P、T-Pは対数変換後のデータを使用した。表3にその結果を示す。第1主成分の寄与率は58%で、表3主成分までの累積

寄与率は84%となり、3主成分で調査項目のもつ情報は充分説明されると思われる。

第1主成分の因子負荷量は、PH、DOが負の符号であった。その他の項目は正の符号で、水温をのぞくといずれも0.7以上となった。BOD、COD等は人為的汚濁と考えられる項目であることから、第1主成分の因子は、人為的汚濁を表わしているものと考えられる。第2主成分の因子負荷量は、水温とPHが正の符号で0.8、0.7と突出しており自然因子と考えられる。第3主成分の因子負荷量は、DOが負の符号で0.9と高く解釈は困難であるが、この水系は、水深も浅く流速もあることから、河川の特徴を表わしているものと考えられる。

2) WQI (Water Quality Index) の作成

主成分分析より水質の評価する場合、人為的汚濁の項目を抽出し評価するほうがより適確に評価できる。今回、項目の抽出にあたっては、固有ベクトルの2乗値を参考に、BOD、COD、Cℓ、T-N、T-Pの5項

表2 単相関表

	W.T	EC	PH	DO	BOD	COD	Cℓ	NH ₄ -N	T-N	PO ₄ -P	T-P
W. T		0.226	0.402*	-0.290	-0.134	0.263*	0.361*	-0.201	0.218	0.099	0.277
E. C			-0.159	-0.037	0.443*	0.664*	0.786*	0.560*	0.797*	0.717*	0.392*
PH				0.363*	-0.290	-0.159	-0.152	-0.300	-0.277	-0.141	-0.196
DO					-0.281	-0.339	-0.245	-0.300	-0.197	-0.275	-0.516*
BOD						0.776*	0.556*	0.618*	0.664*	0.622*	0.794*
COD							0.833*	0.614*	0.861*	0.809*	0.872*
Cℓ								0.539*	0.879*	0.704*	0.677*
NH ₄ -N									0.638*	0.847*	0.422*
T-N										0.780*	0.683*
PO ₄ -P											0.551*
T-P											

n = 55 *危険率1%

表3 主成分分析結果

主成分 項目	第1主成分		第2主成分		第3主成分	
	固有ベクトル	因子負荷量	固有ベクトル	因子負荷量	固有ベクトル	因子負荷量
WT	0.095	0.238	0.674	0.875	0.321	0.355
EC	0.335	0.844	0.075	0.097	-0.214	-0.237
PH	-0.102	-0.257	0.565	0.733	-0.315	-0.349
DO	-0.129	-0.325	0.076	0.098	-0.823	-0.909
BOD	0.279	0.703	-0.282	-0.366	-0.215	-0.237
COD	0.372	0.936	0.103	0.133	-0.059	-0.065
Cℓ	0.365	0.920	0.165	0.214	-0.033	-0.036
NH ₄ -N	0.321	0.808	-0.296	-0.385	0.042	0.047
T-N	0.353	0.888	0.072	0.093	-0.098	-0.109
PO ₄ -P	0.368	0.926	0.007	0.009	-0.052	-0.057
T-P	0.372	0.937	0.068	0.087	0.099	0.110
固有値	6.3		1.7		1.2	
累積寄与率	57.6 (%)		72.3 (%)		84.0 (%)	

目を抽出した。これらの5項目について、吉見¹⁾らの方法に準じて再度主成分分析から5項目の重みづけをし、WQIは次の式から算出した。

$$WQI = 0.36 \times \frac{\ln(BOD+1) - 1.12}{0.46} + 0.48 \times \frac{\ln(COD+1) - 1.02}{0.58} \\ + 0.47 \times \frac{\ln(C\ell+5) - 2.70}{0.37} + 0.45 \times \frac{\ln(T-N+0.4) - 0.62}{0.57} \\ + 0.47 \times \frac{\ln(T-P+0.1) + 1.64}{0.68}$$

この式において各項にかかる定数は

$$\text{固有ベクトル} \times \frac{\ln(\text{測定値} + \text{定量限界値} \times 10) - \text{平均値}}{\text{偏差}}$$

を表わす。

3) WQIとBODの関係

WQIを階級に分けるため、BOD以外の4項目をBODで回帰し、河川の環境基準であるBODの値から各項目の値を推定し、WQIを算出した。その結果を表4に示す。またWQIとBODの地点間(支川の採水地点を除く)の変化を図2、図3に示す。WQIの変化は伏流の影響と思われるst6でやや低下するが、その他の地点では下流にいくにしたがって値が高くなり、汚濁の状況がわかる。一方、BODについては各地点での変動も大きく、地点間の差もあまりみられない。このように、個々の項目で水質を評価するより、WQIによる総合的な評価のほうが、適確な評価が可能であることがしめされた。

2. 生物学的水質評価

2回の調査で出現した種類と個体数を表5、表6に示す。出現した種類数は、蜻蛉目、毛翅目、襖翅目、双翅目、鞘翅目等49種であった。同定が困難なユスリカ等については一種としてとりあつた。前述の方法での生物による水質評価の結果を、図4～6に示す。8月と12月の調査では、季節変化もみられ、また各評価方法での地点間のばらつきもみられたが、上流から下流への各指数の変化が汚濁の状況をあらわしている。

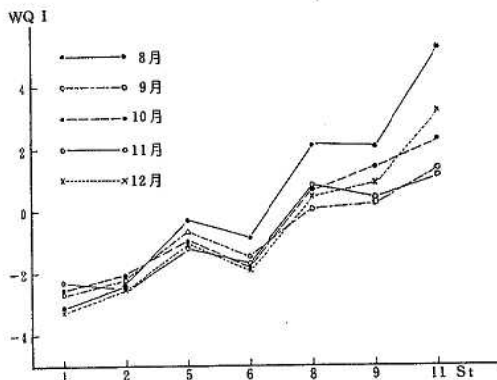


図2 各採水地点におけるWQIの変化

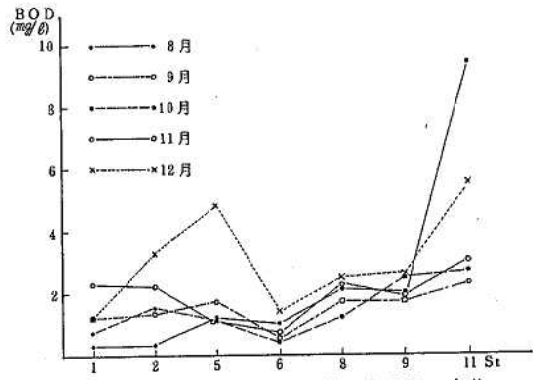


図3 各採水地点におけるBODの変化

3. WQIと生物学的指数

各データのある20組について、WQIとBI, PI, DIの相関を表7に示す。WQIと各指数についていずれも有意な相関がみられ、特にBI, PIと高い相関がみられた。このことは、WQIの指数が、生物指数による水質の汚濁階級との相関を意味し、WQIが高くなる

と強腐水性(ps)であると考えられる。このWQIと汚濁階級—貧腐水性(os), β—中腐水性(β-m), α—中腐水性(α-m), 強腐水性(ps)—の関係を比較したものが表8である。WQIと汚濁階級の明確な直線的関係はみられないが、WQIが低値であるとos, 高値であるとαm, psと対応する傾向がみられた。

まとめ

1. 重信川水系の水質解析に主成分分析を適用し、水質の総合指標化(WQI)を行った。その結果、個々の水質項目での評価より安定性があり、水質の評価に有効であることがわかった。
2. 生物学的指数は、BI, PI, DIとも高い相関がみられ、生物による水質評価も有効である。
3. WQIと生物学的指数は相関が高く、WQIの高低が汚濁階級のps, osに対応する傾向がみられた。

表4 WQIと環境基準値の関係

項目	区分			
	A	B	C	D
BOD(mg/l)	2	3	5	8
COD(mg/l)	1.92	2.82	4.61	7.30
Cℓ(mg/l)	10.17	12.06	15.84	21.51
T-N(mg/l)	1.58	1.98	2.80	4.01
T-P(mg/l)	0.11	0.25	0.54	0.98
WQI	0.158	1.235	3.986	4.288

表5 出現した種類と個体数 8月

種名	採取場所								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
エルモンヒラタカゲロウ	3	7	7			29			
ナミヒラタカゲロウ	4		6						
ミヤマタニガワカゲロウ	2	1							
ヒメヒラタカゲロウ	3								
シロタニガワカゲロウ			39	23		7		2	
クロタニガワカゲロウ					1				
フタバコカゲロウ	11	5							
シロハラコカゲロウ	2								
サホコカゲロウ		4							
コカゲロウ属	16	5		8		4	3		
ミジカオフタバコカゲロウ	1								
ヨシノマダラカゲロウ	8	1							
クシゲマダラカゲロウ	5	10							
アカマダラカゲロウ	4								
クロマダラカゲロウ		5	1						
ヒメトビイロカゲロウ			3		4				
ヒメカゲロウ属		1		2					
モンカゲロウ		4							
チャバネヒゲナガカワトビケラ	14	12							
ナガレトビケラ科	3								
ウルマーシマトビケラ	47	12							
ギフシマトビケラ	4								
ヤマトビケラ属	22	5							
カワトビケラ	2								
ヒゲナガカワトビケラ	3			1					
コガタシマトビケラ					1				
カクスイトビケラ	1								
カクヒメトビケラ属						1			
オオヤマカワゲラ	5								
ミドリカワゲラ科	1								
ガガンボ	2		1						
ヘビトンボ			1						
ヒラタドROMシ		21		3					
マスダチビヒラタドROMシ		6	1						
クシゲマルヒラタドROMシ		5							
ミズムシ		5	1	61		49	62	13	
ヒル類				2		1	1		
イトミミズ									
ユスリカ科	4	22	6		28	6	146	323	186
腹足類		2	28	27	2				2

表6 出現した種類と個体数

種名	採取場所										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
エルモンヒラタカゲロウ			3	2	15	3	1	2			
ナミヒラタカゲロウ	13	4	11	18	13	2		1			
ミヤマタニガワカゲロウ	2	13									
シロタニガワカゲロウ			13	21	35	1	1				
フタバコカゲロウ	1		2	8							
シロハラコカゲロウ	1	16	13	8		3	1	1			
サホコカゲロウ		1	1	1							
コカゲロウ属	1										
チラカゲロウ属	7										
オオマダラカゲロウ			14	3	2						
クロマダラカゲロウ	14	16		9	3						
チャバネヒゲナガカワトビケラ	2	1									
ヒゲナガカワトビケラ	4	2									
ウルマーシマトビケラ	14	15	19	2	4	1		1		1	8
ヤマトビケラ属	10	30	1	1							
コガタシロトビケラ	2	27	1	6	1	20	11		1	1	
カワトビケラ属	3										
ギフシマトビケラ			4	3							
オオヤマカワゲラ	7										
ヒメオオヤマカワゲラ	6										
ミドリカワゲラ科	25	14									
カミムラカワゲラ	3										
クロカワゲラ科			2								
ミドリカワゲラモドキ属			6	1	2						
ガガンボ	2	1	3	4	7	1	1				
ヘビトンボ			1								
ヒラタドROMシ		5	3		1						
ゲンゴロウ科			1								
ゲンジボタル							1				
ミズムシ			1	3	28	20		30	33		
ヒル類					4			1	6		
イトミミズ			1	8	2	16	116	142	66	638	
ユスリカ科	149	12	37	217	336	268	214	514	234	112	289
腹足類		1		4	2						

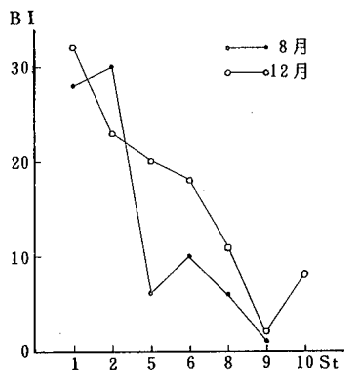


図4 BIの変化

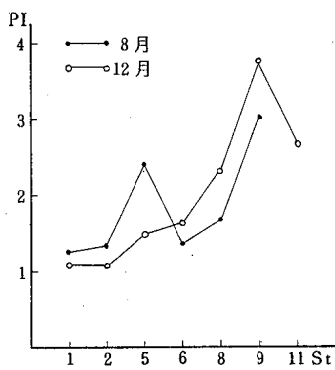


図5 PIの変化

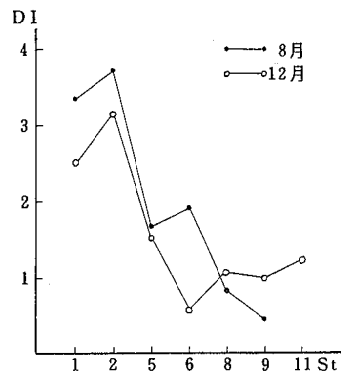


図6 DIの変化

表7 WQIと各指数との相関

	WQI	BI	PI	DI
WQI		-0.811*	0.780*	-0.620*
BI			-0.768*	-0.693*
PI				-0.606*
DI				

n = 20 *危険率1%

表8 WQIと汚濁階級の比較

階級	OS	β_m	α_m	PS
WQI				
A				
B				
C				
D				

文献

- 1) 吉見洋他：水質汚濁研究, 5(4), 193-200 (1982)
- 2) 岡敬一他：水質汚濁研究, 6(6), 407-413 (1983)
- 3) 中島重旗他：水質汚濁研究, 10(2), 105-114 (1987)
- 4) 高橋陽子他：公害と対策, 24(2), 147-155 (1988)
- 5) 石崎修造他：陸水誌, 41(1), 19-23 (1980)

- 6) 原田三郎他：用水と廃水, 25(6), 575-582 (1983)
- 7) 小田泰史他：用水と廃水, 23(9), 1036-1043
- 8) 小田泰史他：水質汚濁研究, 2(2), 116-120 (1979)
- 9) 森下郁子：生物モニタリングの考え方, 山海堂(1985)
- 10) 津田松苗他：生物による水質調査法, 山海堂(1979)

ポリ塩化ビニル製品中のジブチルスズ化合物の分析

西原伸江 武智拓郎 関谷安正
松浦榮美 森 喜一* 中島庄一

はじめに

ジブチルスズ化合物は、ポリ塩化ビニル製食品容器包装に安定剤として使用され、食品衛生法により材質規格が定められている。その試験法については、ろ紙クロマトグラフィーが採用されているが、近年、正確で高感度を得るためにガスクロマトグラフィーによる定量法^{1,2)}が種々検討されている。

また、生物試料中の有機スズ化合物の分析法については、前処理にカートリッジカラムを用い、精製及び水素化を行い、ガスクロマトグラフィーによって定量する方法³⁾等が報告されている。

今回、我々はポリ塩化ビニル製品中のジブチルスズ化合物の分析法の簡略化を図るため、電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー (GC-ECD) による定量法において、市販のクリーンアップ用カートリッジカラム (Sep-pak C₁₈) により前処理を行う方法について検討し、良好な結果を得たので報告する。

方法及び装置

1. 試薬

ジブチルスズジクロライド (DBTC) 標準原液：DBTC (東京化成工業株式会社) 100 mg をエタノールに溶かし 100 ml とした。

水素化ホウ素ナトリウム (NaBH₄): 化学試験用 (和光純薬工業株式会社)

エタノール, n-ヘキサン (ヘキサン), ジエチルエーテル (エーテル) : 残留農薬試験用

その他の試薬はすべて特級試薬を用いた。

2. 器具

カートリッジカラム: Sep-pak C₁₈ (Waters Associates) 使用前にエタノール 10 ml で湿潤洗浄処理した。

ガラス製シリンジ (10 ml)

3. 装置

ガスクロマトグラフ: 株式会社島津製作所製

GC-8A
ECD (⁶³Ni)

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町 8 丁目 2 3 4

* 現 愛媛県保健環境部薬務課 松山市一丁目 4 丁目 2

4. 分析操作

4.1 試料からの抽出

図1に示すとおり、細切した試料 1.0 g をナス型フラスコに秤取し、四塩化炭素-メタノール (2:1) 混液 30 ml を加え、水浴中で 4 時間還流した。冷後抽出液をろ過し、得られたろ液について溶媒を留去後、エーテル 30 ml を用いて溶解し、分液ロートに移した。そこへ 1 N 塩酸 30 ml を加えて 5 分間激しく振り混ぜ、アルキルスズ化合物を塩素化物にした。

エーテル層を脱水後留去し、ヘキサン 20 ml に溶解した。再度ろ過し、ろ液の溶媒留去後、エタノール 5 ml に溶解して試料溶液とした。

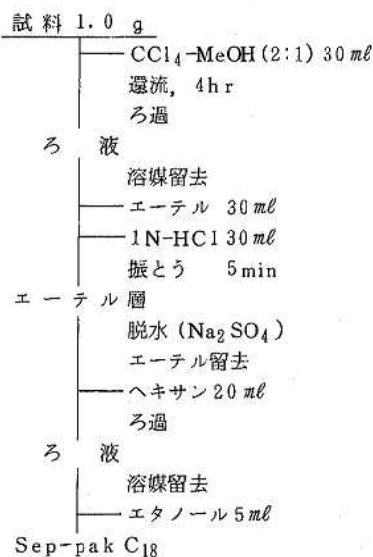


図1 抽出操作

4.2 カートリッジカラム処理

図2に示すとおり、Sep-pak C₁₈ を用いて試料溶液の精製及び水素化を行った。

試料溶液を Sep-pak C₁₈ に吸着させ、ヘキサン 10 ml、ヘキサン-エーテル (1:1) 混液 10 ml の順に洗浄した後、カラム内に吸着されている DBTC を 1.0

1% NaBH₄-エタノール溶液 5ml で水素化した (DBTH). さらにヘキサン-エタノール(1:1) 混液 10ml で DBTH をカラムから完全に溶出させた.

溶出液に水 15ml を加え, 5分間振とうした後静置し, ヘキサン層を 5ml 定容とし, GC-ECD 用試験溶液とした.

4.3 GC-ECD 測定条件

カラム管: φ 3mm × 2m, ガラスカラム

充てん剤: 3% OV-17

カラム温度: 80℃

注入口温度: 280℃

検出器温度: 280℃

キャリアーガス流量: 窒素 40 ml/min

結果及び考察

1. カートリッジカラム処理条件

DBTC 標準液を Sep-pak C₁₈ に注入し, DBTC を吸着させた後, 各種溶媒を用いて精製及び水素化を行ったときのカラムからの溶出状況を図 3 に示す.

1.1 吸着

DBTC は, Sep-pak C₁₈ への試料注入速度に注意すれば, カラム内に 100% 吸着させることが可能であり, 一度吸着した DBTC はエタノール 5ml 4 回流してもカラムから溶出されなかった.

1.2 精製

試料を注入した Sep-pak C₁₈ にヘキサン 5ml 2 回, ヘキサン-エーテル (1:1) 混液 5ml 2 回流したとき

の溶出液 (第 1 画分, 第 2 画分) に, DBTC は認められなかった. そこでこれらの溶媒を用いて可塑剤等の妨害物質を除き精製することにした.

1.3 水素化

ガスクロマトグラフィーによる定量法の場合, DBTC はカラム担体に吸着されやすいため, ピークのテーリングを生じ, 分析精度の低下を招く. 吸着を防ぐため試料注入の際, 塩酸-アセトン溶液を同時注入する方法や, DBTC を水素化物 (DBTH) として定量する方法が報告されている. 今回は Sep-pak C₁₈ 内に吸着された DBTC に NaBH₄-エタノール溶液を反応させ, DBTH とする方法について検討した.

収率よく DBTC を水素化する試薬量を決定するために, 0.5~4.0% の濃度範囲の NaBH₄-エタノール溶液 5ml を用いて, 50μg DBTC からの DBTH の生成率について検討した. その結果, NaBH₄-エタノール溶液の濃度が 1.0~4.0% の範囲では, DBTH の生成率に変化が認められなかったので, 1.0% NaBH₄-エタノール溶液 5ml を水素化試薬として使用することにした.

DBTC は Sep-pak C₁₈ に吸着された状態で, 1.0% NaBH₄-エタノール溶液 5ml によって容易に水素化され, 生成した DBTH はカラムから溶出された.

水素化の後, ヘキサン-エタノール (1:1) 混液 5ml 2 回, さらにヘキサン 5ml 4 回流したが, DBTH は, ヘキサン-エタノール (1:1) 混液 5ml で 90% 以上溶出させることができた.

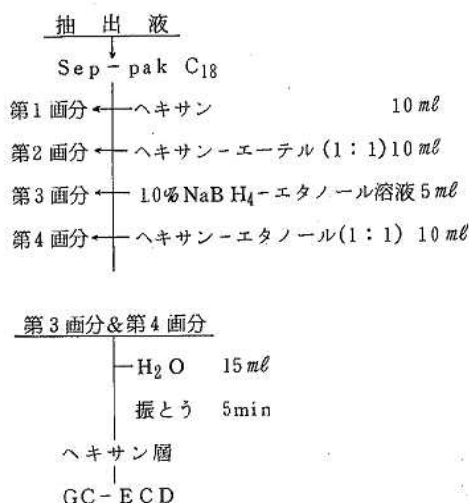


図 2 カートリッジカラム処理操作

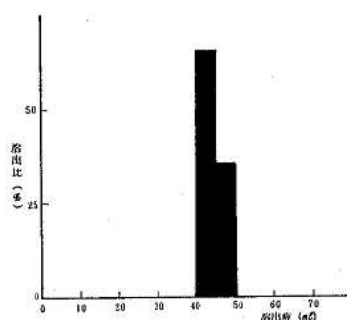


図 3 Sep-pak C₁₈ カートリッジからの DBTH の溶出状況

溶出溶媒:

0-20ml	エタノール
第1画分 20-30ml	ヘキサン
第2画分 30-40ml	ヘキサン-エーテル (1:1)
第3画分 40-45ml	1.0% NaBH ₄ -エタノール溶液
第4画分 45-55ml	ヘキサン-エタノール (1:1)
55-75ml	ヘキサン

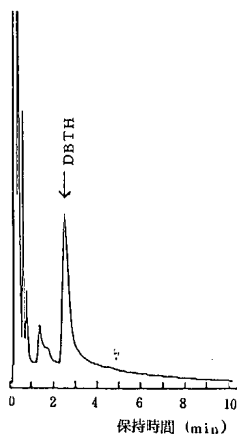


図4 DBTCの水素化物のガスクロマトグラム

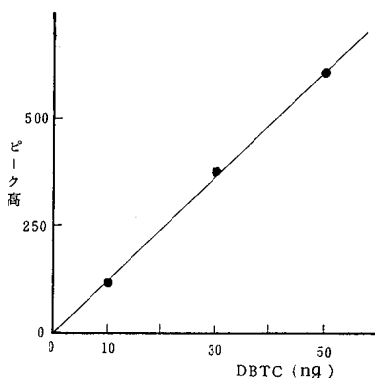


図5 DBTCの検量線

表1 食品用ポリ塩化ビニル製品中のジブチルスズ化合物分析結果

試料No.	ジブチルスズ化合物
1	ND
2	ND
3	ND
4	ND
5	ND
6	ND

ND:DBTCとして
2 ppm以下



図6 試料(食品用ポリ塩化ビニル製品)のガスクロマトグラム

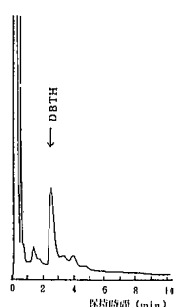


図7 試料(食品用ポリ塩化ビニル製品)添加回収実験ガスクロマトグラム

表2 食品用ポリ塩化ビニル製品におけるDBTC添加回収実験結果

試料No.	試料量(g)	DBTC添加量(μg)	DBTC検出量(μg)	回収率(%)
1	1.0	50.0	42.6	85.2
2	1.0	50.0	42.7	85.4
3	1.0	50.0	44.2	88.4
4	1.0	50.0	43.1	86.2
5	1.0	50.0	43.1	86.2
6	1.0	50.0	43.8	87.6

M±S.D. 86.5±1.15 C.V.(%) 1.3

DBTHは1.0%NaBH₄-エタノール溶液5ml,ヘキサン-エタノール(1:1)混液10ml流したときの溶出液(第3画分,第4画分)に認められたので,両画分を合わせてヘキサンで抽出することにした。

2. DBTC標準液のカートリッジカラム処理

DBTC標準液を図2に示す方法でカートリッジカラム処理して得られたガスクロマトグラムを図4に示す。

また本法を用いた場合,DBTCとして10~50ngの範囲で直線性を示す検量線が得られた。(図5)

3. 添加回収実験

本法を食品用ポリ塩化ビニル製品中のジブチルスズ化合物の分析に適用し,得られた結果を表1に示す。試料No.1~6すべてからジブチルスズ化合物は検出されなかった。またこれら6検体に対して50ppmのDBTCを添加したときの平均回収率は,86.5%,変動係数は1.3%であり,良好な結果が得られた。(表2)

図6は食品用ポリ塩化ビニル製品を分析したとき得られたガスクロマトグラムであり,同一製品にDBTCを添加して得られたガスクロマトグラムを図7に示す。ガスクロマトグラム上でDBTHのピークに対する妨害物質のピークは認められなかった。

まとめ

ジブチルスズ化合物の塩素化物は, Sep-pak C₁₈ に吸着され,水素化すると容易に溶出された。このとき水素化物としての回収率は良好であった。

また,得られた水素化物のGC-ECDによる測定において,目的物に対する妨害ピークは認められなかった。

以上の結果から, Sep-pak C₁₈ を使い,試料からの抽出液の精製と水素化を続けて行う本定量法は,ジブチルスズ化合物を迅速,簡便に測定する方法として有効であると考えられる。

本報告の要旨は,第26回日本薬学会中国四国支部大会(高松市)において発表した。

文献

- 1) 竹内正博他:東京衛研年報,28-1,69-73(1977)
- 2) 山崎壮他:衛生試験,102,129-133(1984)
- 3) 環境庁:昭和59年度化学物質分析法開発調査報告書,169-176

愛媛の地質構造帯別温鉱泉の特質

井上 智 中井佳子 中島庄一

はじめに

愛媛県は、地質的にみると、日本列島を大きく2つに区分するフォッサマグナより西側の西南日本に属している。また、西南日本は、飛騨外縁構造線、末武川構造線、中央構造線、みかぶ構造線、仏像構造線の5構造線により、それぞれの地質構造帯に区分されているが、愛媛県は、このうち、中央構造線、みかぶ構造線、仏像構造線の3構造線により、北から、領家地質構造帯、三波川地質構造帯、秩父地質構造帯、四万十地質構造帯の4地質構造帯に区分されている。

このように、愛媛県の地質は変化に富んでおり、そこから湧出する温鉱泉は、様々な特徴を有している。そこで、愛媛県下134源泉¹⁾のうち、昭和55年11月から昭和63年3月までに実施した鉱泉分析結果について、温泉源の保護と適正利用のうえでの資料とするために、温鉱泉に含まれる化学成分と地質構造帯の関係について検討した。愛媛県の地質を図1に示した。

愛媛県の地質の概要

領家地質構造帯には、領家変成岩と領家花崗岩が分布しており、領家変成岩は、約1億年前の造山運動のときの広域変成作用と領家花崗岩の貫入によりできたと考えられている。領家花崗岩の年代は、約9000万年前であることが測定されている²⁾。

三波川地質構造帯には、三波川変成岩と呼ばれ、古生代の地角斜の堆積物が約1億年前の造山運動により、深さ30kmの地下に押し込まれ変成作用を受けた結晶片岩が分布している²⁾。

秩父地質構造帯には、主に古生層が分布しており、ほかに、中生代の三疊紀層、ジュラ紀層、前紀白亜紀層もわずかながら分布している。

四万十地質構造帯には、中生層(四万十層群、宇和高層群)の砂岩、頁岩と第三紀の花崗岩が分布している。

調査方法

昭和55年11月から昭和63年3月までに鉱泉分析を実施した84源泉を地質構造帯別に分類し、表1に示す項目のうち、愛媛県下の温鉱泉が鉱泉の定義に該当する

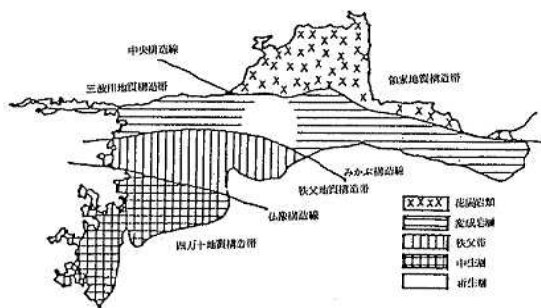


図1 愛媛県の地質

表1 分析方法と鉱泉の定義

項目	分析方法	鉱泉の定義
泉温	標準温度計法	摂氏25度以上
pH	ガラス電極法	H ⁺ として含有量 1mg/kg以上
蒸発残留物	重量法	—
Rn	泉効計法	含有量 5.5M・E/kg以上
Na	炎光光度法	NaHCO ₃ として含有量 340mg/kg以上
K	炎光光度法	—
Ca	EDTA法	—
Mg	EDTA法	—
Sr	原子吸光光度法	含有量 10mg/kg以上
F	アリザリンコンプレクソン法	含有量 2mg/kg以上
Cl	モール法	—
HCO ₃	中和滴定法	NaHCO ₃ として含有量 340mg/kg以上
CO ₃	中和滴定法	NaHCO ₃ として含有量 340mg/kg以上
SO ₄	EDTA法	—
H ₂ SiO ₃	モリブデン青法	含有量 50mg/kg以上
HBO ₂	クルクミン法	含有量 5mg/kg以上
H ₂ S	混合ジアミン法	総硫黄として含有量 1mg/kg以上
Li	炎光光度法	含有量 1mg/kg以上
Fe	原子吸光光度法	含有量 10mg/kg以上

項目について、地質構造帯別該当項目数、地質構造帯別該当項目の特徴について検討した。また、愛媛県下の温鉱泉に含まれる化学成分についても、地質構造帯別に検討した。

結果および考察

1. 温鉱泉の地質構造帯別分布状況

愛媛県下の温鉱泉の地質構造帯別分布状況は、表2に示すように、領家地質構造帯 55 (65.5%)、四万十地質構造帯 11 (13.1%)、三波川地質構造帯 10 (11.9%)、秩父地質構造帯 8 (9.5%)であった。これは、領家地質構造帯には、古風土記に発見の起源が残されているわが国最古の歴史をもつ道後温泉群を初めとし、古くから温鉱泉が存在し、開発が盛んであったためと考えられる。

2. 温鉱泉の地質構造帯別該当項目数

愛媛県下の温鉱泉の地質構造帯別1源泉当りの該当項目数は図2に示すように、2極化の傾向にある。つまり、該当項目数が1~2項目の秩父地質構造帯、四万十地質構造帯と該当項目数が多い領家地質構造帯とに大きく2つに分けられる。そして、三波川地質構造帯はこの中間で、該当項目数の分布状況は、ほぼ均一である。

3. 温鉱泉の地質構造帯別該当項目

温鉱泉の地質構造帯別該当項目を表3に示した。

泉温が該当する温鉱泉は、領家地質構造帯 (55温鉱泉中29温鉱泉, 52.7%)にのみ分布している。これらの温鉱泉の熱源は、マグマ起源か領家花崗岩の貫入時の熱と考えられている³⁾。

Rnが該当する温鉱泉も領家地質構造帯 (55温鉱泉中22温鉱泉, 40.0%)にのみ分布している。これは、領家地質構造帯に広く花崗岩が分布していることから、温鉱泉の湧出過程で、花崗岩中のRnが溶け込んだもの

表2 温鉱泉の地質構造帯別分布状況

地質区分	領家帯	三波川帯	秩父帯	四万十帯
温鉱泉数	55	10	8	11
率 (%)	65.5	11.9	9.5	13.1

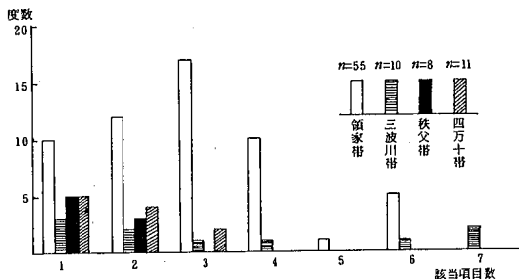


図2 温鉱泉の地質構造帯別該当項目数

のと考えられている³⁾。

Liが該当する温鉱泉は、領家地質構造帯 (55温鉱泉中4温鉱泉, 7.3%)、三波川地質構造帯 (10温鉱泉中4温鉱泉, 40.0%)に分布しており、これらの温鉱泉の蒸発残留物が高いことから、起源は地質より化石塩水と考えられる。

Feが該当する温鉱泉は、三波川地質構造帯 (10温鉱泉中2温鉱泉, 20.0%)に分布しているが、管理上の問題もあり数が非常に少ない。

Fが該当する温鉱泉は、主に領家地質構造帯 (55温鉱泉中47温鉱泉, 85.5%)、四万十地質構造帯 (11温鉱泉中7温鉱泉, 63.6%)に分布しており、両地質構造帯に花崗岩が分布していることから、温鉱泉の湧出過程で、花崗岩中のFが溶け込んだものと考えられる⁴⁾。

H₂SiO₃が該当する温鉱泉は、領家地質構造帯 (55温鉱泉中23温鉱泉, 41.8%)、三波川地質構造帯 (10温鉱泉中3温鉱泉, 30.0%)、秩父地質構造帯 (8温鉱泉中3温鉱泉, 37.5%)に分布している。SiO₂は岩石中の主要成分であり、温鉱泉中のH₂SiO₃の起源は、湧出過程で岩石から溶け込んだものと考えられる。しかし、四万十地質構造帯ではH₂SiO₃が温泉に該当している温鉱泉は存在しない。

表3 地質構造帯別温泉該当項目

地質区分 項目	地質構造帯別温泉該当項目				
	領家帯 n=55	三波川帯 n=10	秩父帯 n=8	四万十帯 n=11	県下全域 n=84
泉温	29 (52.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	29 (34.5)
Rn	22 (40.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	22 (26.2)
Li	4 (7.3)	4 (40.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (9.5)
Fe	0 (0.0)	2 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.4)
F	47 (85.5)	1 (10.0)	2 (25.0)	7 (63.6)	57 (67.9)
H ₂ SiO ₃	23 (41.8)	3 (30.0)	3 (37.5)	0 (0.0)	29 (34.5)
HBO ₂	22 (40.0)	8 (80.0)	6 (75.0)	3 (27.3)	39 (46.4)
H ₂ S	4 (7.3)	1 (10.0)	0 (0.0)	5 (45.5)	10 (11.9)
NaHCO ₃	4 (7.3)	6 (60.0)	0 (0.0)	4 (36.4)	14 (16.7)
CO ₂	0 (0.0)	3 (30.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (3.6)
溶存物質	5 (9.1)	6 (60.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (13.1)

() : 度数 / n × 100

HBO₂が該当する温鉱泉は、全ての地質構造帯に広く分布しており(84温鉱泉中39温鉱泉, 46.4%), 三波川地質構造帯(10温鉱泉中8温鉱泉, 80.0%), 秩父地質構造帯(8温鉱泉中6温鉱泉, 75.0%)では温鉱泉に

含有される割合が高い。

H₂Sが該当する温鉱泉は、主に領家地質構造帯(55温鉱泉中4温鉱泉, 7.3%), 四万十地質構造帯(11温鉱泉中5温鉱泉, 45.5%)に分布している。

表4 地質構造帯別成分濃度および標準偏差

項目	領家帯 n=55	三波川帯 n=10	秩父帯 n=8	四万十帯 n=11	県下全域 n=84
泉温(°C)	30.0±1.8	15.3±2.1	16.2±1.4	16.3±3.0	25.1±1.7
pH	8.6±0.7	7.8±0.1	9.1±1.0	8.5±0.7	8.6±0.9
蒸発残留物(mg/kg)	0.7045±1.4167	1.8211±1.8188	0.2446±0.0967	0.2675±0.1302	0.7364±1.3797
Rn (M·E/kg)	6.7±10.8	0.8±0.6	0.3±0.5	1.2±1.5	4.7±9.2
Na (mg/kg)	202.9±424.7	55.05±59.01	70.2±31.4	83.4±48.3	216.0±421.6
K (mg/kg)	2.6±5.3	29.6±40.9	1.9±1.7	2.6±3.1	5.8±17.2
Ca (mg/kg)	31.3±114.3	88.6±84.7	7.2±7.8	8.7±6.8	32.9±100.0
Mg (mg/kg)	9.5±35.9	19.3±26.4	1.9±2.2	1.5±0.9	8.9±30.9
Sr (mg/kg)	0.4±0.9	2.1±1.9	0.7±1.1	0.3±0.3	0.6±1.2
F (mg/kg)	8.9±5.6	0.9±0.9	1.3±1.0	2.7±1.5	6.4±5.7
Cl (mg/kg)	273.9±735.1	722.2±809.1	33.9±56.4	40.6±37.5	273.9±684.7
HCO ₃ (mg/kg)	148.9±198.9	436.7±432.1	115.3±72.5	169.9±132.0	182.7±244.5
CO ₃ (mg/kg)	6.9±16.3	6.8±11.2	1.56±1.46	4.7±6.4	7.4±14.9
SO ₄ (mg/kg)	16.5±38.0	14.6±21.5	2.3±3.8	1.9±2.7	13.0±32.2
H ₂ SiO ₃ (mg/kg)	45.3±14.3	45.8±32.1	51.0±27.0	27.5±7.4	43.6±19.4
HBO ₂ (mg/kg)	6.6±10.0	11.0±9.8	7.9±3.2	6.1±8.1	7.2±9.5
H ₂ S (mg/kg)	0.3±0.7	0.3±0.4	0.3±0.3	0.9±0.8	0.3±0.6

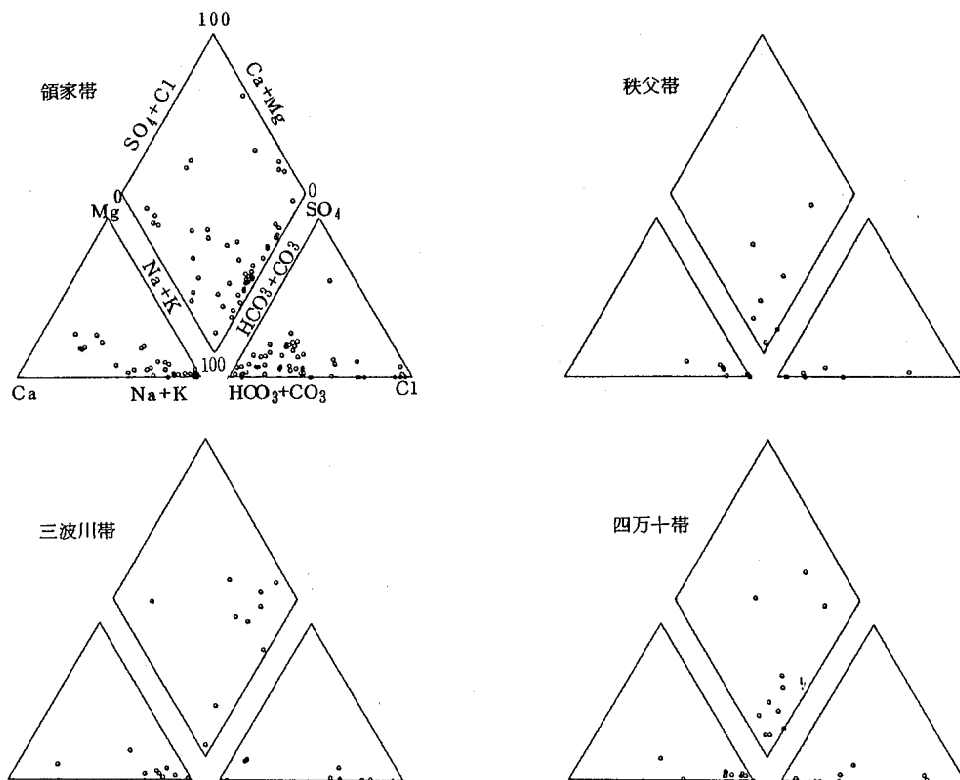


図3 地質構造帯別の主要成分三角座標図及び鍵座標図

NaHCO₃が該当する温鉱泉は、領家地質構造帯(55温鉱泉中4温鉱泉, 7.3%), 三波川地質構造帯(10温鉱泉中6温鉱泉, 60.0%), 四万十地質構造帯(11温鉱泉中4温鉱泉, 36.4%)に分布している。

CO₂が該当する温鉱泉は、三波川地質構造帯(10温鉱泉中3温鉱泉, 30.0%)にのみ分布しており、数は非常に少ない。

溶存物質が該当する温鉱泉は、領家地質構造帯(55温鉱泉中5温鉱泉, 9.1%), 三波川地質構造帯(10温鉱泉中6温鉱泉, 60.0%)に分布しており、いずれも塩類泉である。

4. 地質構造帯別成分濃度

地質構造帯別成分濃度およびその標準偏差を表4に示した。

領家地質構造帯の温鉱泉は、泉温が高く、アルカリ性のRn, Fを含有する温鉱泉である。また、他の地質構造帯に比べ、SO₄の濃度が高い。

三波川地質構造帯の温鉱泉は、弱アルカリ性で溶存物質、HBO₂を含む塩類泉である。

秩父地質構造帯の温鉱泉は、アルカリ性でH₂SiO₃を含む温鉱泉である。

四万十地質構造帯の温鉱泉は、アルカリ性でH₂Sを含む温鉱泉である。

5. 地質構造帯別化学成分の關係

図3は地質構造帯別に、温鉱泉の主要成分(陽イオンについては、Na+K, Ca, Mg, 陰イオンについては、Cl, SO₄, HCO₃+CO₃)のミリバール%を用いて三角座標図に表わしたものである。また、陽イオンと陰イオンの關係は鍵座標図に表わしたものである。

領家地質構造帯の温鉱泉は、陽イオンでは、Na+Kが主成分となる温鉱泉がほとんどで、Caが主成分となる温鉱泉がわずかにある。一般に、地下水が地下に長時間滞留していると、土壤のイオン交換現象により、Ca, Mgは吸着され、それに換わりNaが溶出されると言われている⁴⁾。このことから、領家地質構造帯に分布する温鉱泉は、地下に長時間滞留していた温鉱泉がほとんどであった。陰イオンはHCO₃+CO₃が主成分となる温鉱泉がほとんどで、Clが主成分となる温鉱泉がわずかにある。このように、領家地質構造帯には多くのタイプの温鉱泉があるので、今後湧出地の母岩と化学成分の検討が必要であると考えられる。

三波川地質構造帯の温鉱泉は、陽イオンでは、Na+Kが主成分となる温鉱泉がほとんどであり、陰イオンでは、Clが主成分となる温鉱泉がほとんどである。

鍵座標図の分布状況では、ほとんどの温鉱泉が海水の影響を受けていることがわかる⁵⁾。三波川地質構造帯は、古生代の堆積物が約1億年前の造山運動のときに地下に押し込まれて変成作用を受けていること、蒸発残留物の濃度が高いことから、三波川地質構造帯の温鉱泉は、ほとんどが海水起源と考えられる。

秩父地質構造帯の温鉱泉は、陽イオンでは、Na+Kが主成分となる温鉱泉がほとんどであり、陰イオンでは、HCO₃+CO₃が主成分となる温鉱泉がほとんどである。また、鍵座標図の分布状況から、秩父地質構造帯の温鉱泉の起源は、深層地下水と考えられる⁵⁾。

四万十地質構造帯の温鉱泉は、陽イオンでは、Na+Kが主成分となっており、陰イオンでは、ほとんどがHCO₃+CO₃が主成分で、わずかではあるがClが主成分となっている温鉱泉もある。また、鍵座標図の分布状況から、四万十地質構造帯の温鉱泉は、ほとんどが深層地下水であり、わずかではあるが海水が侵入する海岸地域の地下水を起源とする温鉱泉がある⁵⁾。

まとめ

1. 領家地質構造帯の温鉱泉は数が最大であり、温鉱泉に該当している項目も多く、アルカリ性でRn, Fを含有していた。また、主成分からみると、Na+K, HCO₃+CO₃であった。

2. 三波川地質構造帯の温鉱泉は弱アルカリ性で、特徴として溶存物質、HBO₂を含んでいた。また、主成分からみると、Na+K, Clであり、海水起源であった。

3. 秩父地質構造帯の温鉱泉はアルカリ性で、特徴として、H₂SiO₃を含んでいた。また、主成分からみると、Na+K, HCO₃+CO₃であり、深層地下水起源であった。

4. 四万十地質構造帯の温鉱泉はアルカリ性で、特徴として、H₂Sを含んでいた。また、主成分からみると、Na+K, HCO₃+CO₃であり、深層地下水起源であった。

文献

- 1) 愛媛県: 愛媛の温泉改訂版 (1987)
- 2) 永井浩三: 愛媛県 地学のガイド, 1-11, コロナ社 (1987)
- 3) 湯原浩三他: 温泉学, 地人書館 (1972)
- 4) 真木強他: 48年度愛媛衛研年報, 35, 49-56 (1973)
- 5) 真木強他: 日本温泉科学会, 29, 45-47 (1978)