

(1) 報 文

- 1) ヒト脂肪組織中のダイオキシン類濃度について21
- 2) 大分地方におけるノーウォークウイルス(Norwalk Virus ;NV)の侵淫状況()28
- 3) 累積相対度数を用いた感染症流行判断基準値の作成について31

ヒト脂肪組織中のダイオキシン類濃度について

局 伸男、小野文生、上田精一郎、城井 堅

PCDDs, PCDFs and Co-PCBs Levels in Human Adipose Tissue In Oita Prefecture

Nobuo Tsubone, Fumio Ono, Seiichiro Ueda, Katashi Kii

要旨

大分県におけるヒトのダイオキシン類暴露状況を把握するため、腹部皮下脂肪組織中のダイオキシン類濃度を調査した。調査協力者26名の脂肪重量当たりのダイオキシン類濃度は、毒性等量で2.5 ~ 150pg-TEQ/g-fat(中央値37pg-TEQ/g-fat)であり、環境省が1998年度に実施した関東地域の調査結果とほぼ同じレベルであった。毒性等量に寄与している主な異性体は、PCDD及びPCDFでは12378-PeCDD、23478-PeCDFであり、Co-PCBでは、33'44'5-PeCB、233'44'5-HxCBであった。また、脂肪中のダイオキシン類の毒性等量は加齢とともに増加の傾向がみられた。

はじめに

ダイオキシン類のヒトや生態系への影響が社会的な関心事となる中でダイオキシン類対策特別措置法が制定され、発生源対策を中心に環境汚染対策が講じられてきている。ダイオキシン類のヒトへの影響評価について厚生省は、ヒトの耐容一日摂取量(TDI: ヒトが一生涯にわたり摂取しても健康に対する有害な影響が現れないと判断される体重1kg当たりの一日当たり摂取量)を10pg-TEQ/kg/日と設定したが、その後のWHO 専門家会合における見直しを受け、4pg-TEQ/kg/日に改めた¹⁾。これは、化学物質による毒性発現が一日当たりの暴露量よりも体内に存在する量(体内負荷量)に依存するという考え方にに基づき、動物試験の最小毒性量データから、毒性が発現する最も低い体内負荷量を概ね86ng/kgと設定し、この値に対応する一日摂取量を不確実係数10で除した値を根拠としたものである。このTDI設定の根拠に基づけば、ダイオキシン類の一日当たり摂取量が4pg-TEQ/kg/日以下であれば、毒性が発現する最も低い体内負荷量の1/10までしか到達しないことになるが、ダイオキシン類の場合、過去に現状レベルより高濃度の暴露を受けていることが報告されており、現状の体内蓄

積量がどのようなレベルにあるかに関心が持たれる。ダイオキシン類の生体内濃度については、血液や母乳に関しては数多くの調査データが報告されているが、脂肪組織については、試料採取の困難さもあって国内での調査結果はあまり多くない²⁻⁴⁾。今回、県内医療施設の協力を得て県内居住者の腹部皮下脂肪組織中のダイオキシン類濃度を調査する機会を得たので、その結果を報告する。

調査方法

1 試料

大分市内の病院の協力により、居住歴が大分県内であることが明らかなヒトの腹部脂肪組織26検体及び大網脂肪組織2検体の提供を受け、これを試料とした。なお、これらの試料は、2000年10月から平成2001年5月の間に産や臓器疾患等により腹部外科手術を受ける患者の同意を得て採取されたものである。試料の内訳を表1に示す。

2 分析方法

2.1 脂肪抽出

福岡県保健環境研究所の手法²⁾を参考にして試料から脂肪を抽出した。即ち、脂肪組織約1gを精秤

表1 被験者及び調査試料の内訳

種類	腹部皮下脂肪組織						大網脂肪組織		
	年代	20	30	40	50	60	70	40	70
男					1	1		1	
女	6	4	7	2	3	2	1		
計	6	4	7	2	4	3	1	1	

した後、内部標準物質として¹³C同位体で標識したポリクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン(以下、PCDDs)7種、ポリクロロジベンゾフラン(以下、PCDFs)10種、コプラナーPCB(以下、Co-PCBs)12種を添加し、アセトン・ヘキサン(2:1)混液中でホモジナイズする。抽出液を精製水で洗浄後、n-ヘキサン層を分取し、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、減圧下でn-ヘキサンを留去して粗脂肪を得た。

2.2 精製操作

得られた粗脂肪をn-ヘキサンに溶解した後、「血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル」⁵⁾に準じ硫酸処理を行い、多層シリカゲルカラムで精製した後、活性炭分散シリカゲルカラムでmono-ortho Co-PCBsを含む画分とPCDDs、PCDFs及びnon-ortho Co-PCBsを含む画分に分け、高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)用の試験溶液とした。

2.3 HRGC/HRMS 測定

ダイオキシン類の測定は、Agilent Technologies製HP-6890ガスクロマトグラフ/日本電子(株)製JMS-700D質量分析装置を用いてGC/MS/SIM法で測定した。PCDDs及びPCDFsのうち、4~6塩素化体についてはSPELCO社製SP-2331カラムで、7~8塩素化体についてはJ&W社製DB-17カラムで測定を行った。Co-PCBsはJ&W社製DB-5msカラムを用いた。測定データの解析には、日本電子(株)製ダイオキシン専用解析ソフト「DIOK Ver.2」を用いた。毒性等量は、WHO-TEF1998の毒性等価係数を用いて算出し、PCDDs、PCDFs、Co-PCBs及びこれらの総量を求めた。なお、ダイオキシン類の異性体毎の定量下限値は、「血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル」に基づき、4~5塩素化体は1pg/g-fat、6~7塩素化体は2pg/g-fat、8塩素化体は4pg/g-fat、Co-PCBsは10pg/g-fatとし、定量下限値未満の数値は0「ゼロ」として計算した。

結果及び考察

1 腹部皮下脂肪組織中のPCDDs、PCDFs及びCo-PCBs濃度

1.1 PCDDs及びPCDFs

被験者26名の腹部皮下脂肪組織中のダイオキシン類測定結果を表2に示す。PCDDs及びPCDFsの合計値は、平均値が18pg-TEQ/g-fat、中央値18pg-TEQ/g-fat、範囲1.2~37pg-TEQ/g-fatであった。また、PCDDs及びPCDFsの合計値(以下、PCDDs+PCDFs)が、これにCo-PCBsの値を合わせた毒性等量に占める割合は、23~67%であった。なお、女性24名のデータで見ると平均値が17pg-TEQ/g-fat、中央値15pg-TEQ/g-fat、範囲1.2~37pg-TEQ/g-fatであった。

1.2 Co-PCBs

表2に示すように被験者26名の腹部皮下脂肪組織中のCo-PCBsについては、平均値が25pg-TEQ/g-fat、中央値19pg-TEQ/g-fat、範囲1.3~110pg-TEQ/g-fatであり、1例で比較的高い値がみられたが、中央値ではPCDDs+PCDFsとほぼ同レベルであった。また、女性24名のデータで見ると平均値が20pg-TEQ/g-fat、中央値18pg-TEQ/g-fat、範囲1.3~59pg-TEQ/g-fatであった。

1.3 PCDDs、PCDFs及びCo-PCBsの合計量

被験者26名の腹部皮下脂肪組織中のPCDDs、PCDFs及びCo-PCBsの合計量(以下、ダイオキシン類濃度)は、平均値で43pg-TEQ/g-fat、中央値37pg-TEQ/g-fat、範囲2.5~150pg-TEQ/g-fatであった(表2)。なお、女性24名のデータで見ると平均値が37pg-TEQ/g-fat、中央値33pg-TEQ/g-fat、範囲2.5~83pg-TEQ/g-fatであった。

ダイオキシン類のヒトへの暴露については、特に母乳を通じての乳幼児への暴露が目され、妊産婦の血液や母乳中の濃度測定が行われている。参考のため、被験者のうち帝王切開手術を受けた8名の結果をまとめると、年齢が23~40才、平均値及び中央値が17pg-TEQ/g-fat、範囲2.5~42pg-TEQ/g-fatであった。

1.4 年齢とダイオキシン濃度との関係

図1に示すように、腹部皮下脂肪組織中のダイオキシン類濃度と年齢との間には、加齢による増加傾向が認められた。この傾向はPCDDs+PCDFsよりもCo-PCBsで顕著であり、これがダイオキシン類

濃度と年齢との関係に反映されているものと考えられる。

1.5 PCDDs+PCDFs と Co-PCBs との関係

PCDDs+PCDFs と Co-PCBs との関係を見ると、Co-PCBs は PCDDs+PCDFs の 1/2 ~ 3 倍程度の比であった。ダイオキシン類濃度が高いもので Co-PCBs の占める割合が高い傾向がうかがえたものの

全体としては明確な関係はみられなかった。しかしながら、図2に示すように被験者を40才で年齢区分してみると、PCDDs+PCDFs と Co-PCBs との関係に大きな相違が現れ、40才以下では両者間に高い相関がみられた。こうした相違が生じる原因については、ダイオキシン類の過去の汚染レベルの推移や各ダイオキシン類異性体の半減期の違いなど多

表2 腹部皮下脂肪組織中のダイオキシン類濃度

No.	性別	年齢	サンプル量 (g)	脂肪含量 (%)	毒性等量(pg-TEQ/g-fat)			
					PCDDs+PCDFs	Coplanar PCBs	Total	Total(参考値)
1	女	33	1.04	85.7	7.4	4.2	12	13
2	女	47	0.99	88.1	19	24	43	43
3	女	29	0.99	77.4	23	19	42	42
4	女	46	1.00	80.9	13	16	30	31
5	女	47	1.02	83.7	18	20	38	38
6	女	56	1.00	87.0	7.9	22	29	31
7	女	34	1.02	84.8	10	9.7	20	21
8	女	61	1.00	79.1	37	37	74	74
9	男	76	1.00	89.2	19	38	58	58
10	女	79	1.00	89.2	24	59	83	83
11	女	23	1.00	74.7	4.1	3.9	8.0	9.2
12	女	40	1.00	79.9	10	11	21	22
13	男	67	1.01	68.0	35	110	150	150
14	女	37	1.03	81.5	32	21	53	54
15	女	40	1.00	85.6	17	17	35	35
16	女	50	0.99	80.9	26	33	59	59
17	女	73	1.00	87.5	36	46	81	81
18	女	41	1.00	76.3	12	19	31	32
19	女	23	0.99	85.3	8.1	6.5	15	16
20	女	61	1.01	87.3	26	37	63	63
21	女	49	1.04	80.8	26	13	39	39
22	女	29	1.00	75.5	9.0	8.0	17	18
23	女	67	0.53	72.2	21	49	70	70
24	女	32	1.02	68.9	9.0	6.6	16	16
25	女	29	1.01	76.1	8.2	8.4	17	18
26	女	26	1.00	62.4	1.2	1.3	2.5	4.7
	平均値	46	0.99	80	18	25	43	43
	中央値	44	1.00	81	18	19	37	37
	最小値	23	0.53	62.4	1.2	1.3	2.5	4.7
	最大値	79	1.04	89.2	37	110	150	150

(注1)定量下限値未満の異性体の毒性等量は0(ゼロ)として算出した。

(注2)Total は、「PCDDs + PCDFs」と「Coplanar PCBs」の総和を表すが、数値処理の関係で両者の合計値と異なる場合がある。

(注3)Total (参考値)は、定量下限値未満の異性体について、その定量下限値の1/2に毒性等価係数を乗じたものを毒性等量として算出したものである。

(注4)毒性等価係数は、WHO 1998-TEFを用いた。

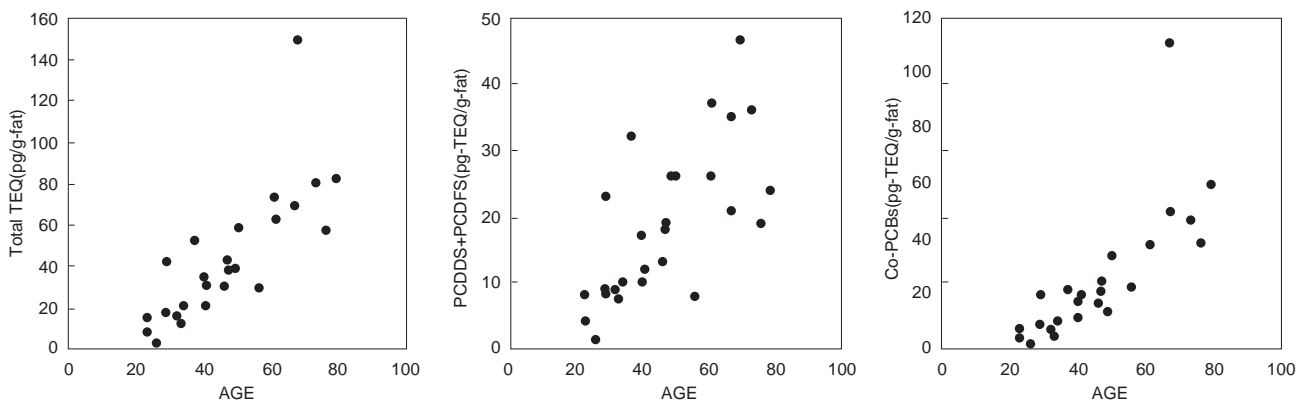


図1 ダイオキシン類濃度と年齢との関係

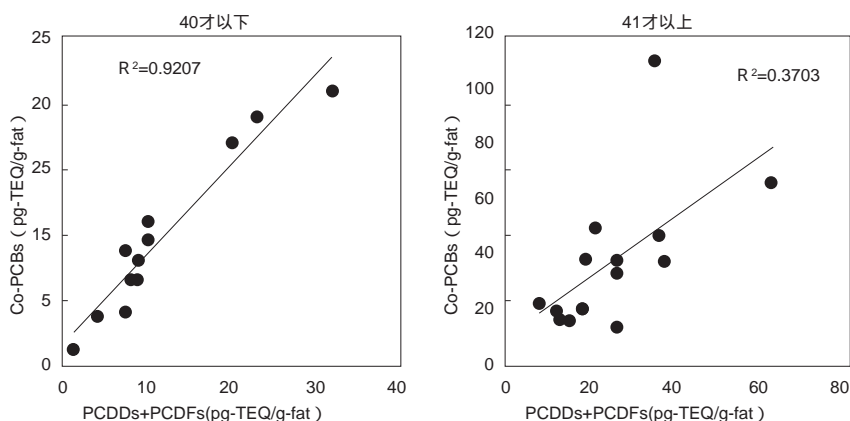


図2 年齢区分で見たPCDDs+PCDFsとCo-PCBsの関係

様な要素が関係するものと思われる。

1.6 他の調査結果との比較

ヒト脂肪組織中のダイオキシン類濃度については、我国においても幾つかの調査が行われており、地域差が認められるとの報告もあるが³⁾、今回の我々の調査は、いわゆる健康者だけを対象としたものではないことなど調査対象や調査時期、分析手法、毒性等量算出法の差異などにより直ちに比較しがたい面がある。

環境省が1998年度に実施した「人のダイオキシン類蓄積状況等調査結果書」によると、関東地域におけるヒトの脂肪組織(腹部皮下脂肪・21検体)中のダイオキシン類濃度は、平均値で46pg-TEQ/g-fat、中央値44pg-TEQ/g-fat、範囲17~87pg-TEQ/g-fatとなっている。今回の我々の調査は、この報告書とほぼ同様の分析手法を用いていることから調査結果の比較が可能と思われた。その結果、表3に示すように、脂肪組織中のダイオキシン類濃度

について両者の調査結果に顕著な差異は認められなかった。ところで、ヒトの臓器中のダイオキシン類濃度は加齢により増加傾向を示すことが知られており^{4,6)}、今回の調査においても同様の傾向がうかがわれたことから、調査対象者の年齢構成の相違を考慮する必要がある。この点では、我々の調査の方が高齢者を含むものの平均年齢や中央値は、ほぼ同様であった。また、我々の調査の場合、対象者26名中24名が女性であるが、ヒト血液中のダイオキシン類調査結果において脂肪中濃度に性差が認められない⁴⁾とされており、比較の上で特に問題はないものと思われる。

2 大網脂肪組織中のPCDDs、PCDFs及びCo-PCBs濃度

被験者2名について、腹部皮下脂肪組織とともに大網脂肪組織中のダイオキシン類を測定し、両組織間の毒性等量及び異性体組成の比較を行ったが、表

表3 環境省調査結果とのTEQ比較

	環境省(21名)				大分県(26名)				
	最小値	最大値	平均値	中央値	最小値	最大値	平均値	中央値	
Age	22	57	45	45	23	79	46	44	
PCDD+PCDF	TEQ(0)	9.6	52	23	19	1.2	37	18	18
	TEQ(1/2)	9.6	52	23	19	2.9	37	18	18
Co-PCB	TEQ(0)	6.5	57	23	18	1.3	110	25	19
	TEQ(1/2)	6.5	57	23	18	1.8	110	25	19
PCDD+PCDF+	TEQ(0)	17	87	46	44	2.5	150	43	37
Co-PCB	TEQ(1/2)	17	87	46	44	4.7	150	43	37

(注) TEQ(0)は、定量下限値未満を0(ゼロ)として算出したもの。また、TEQ(1/2)は、定量下限値未満を下限値の1/2として算出したもの(単位: pg-TEQ/g-fat)。

4に示すようにPCDDs、PCDFs、Co-PCBsいずれについてもほぼ一致していた。ダイオキシン類の組織内分布については、血液あるいは臓器によって脂肪中濃度に差があることが報告されている。今回の調査では、例数は2例と少ないが同一人の腹部皮下脂肪と大網脂肪組織のダイオキシン類の毒性等量や異性体組成に大きな差が認められなかったことから、脂肪組織におけるダイオキシン類の分布はほぼ同様であることが予想された。

3 腹部皮下脂肪組織中のダイオキシン類異性体組成

3.1 PCDDs及びPCDFs

ダイオキシン類の毒性等量に寄与している異性体をみると、PCDDs及びPCDFsでは12378-PeCDD、123678-HxCDD及び23478-PeCDFであった。これらで、PCDDs+PCDFsの毒性等量の73~98%を占めていた。また、異性体別の

PCDDs及びPCDFs濃度では、Matsuedaら⁷⁾の調査事例と同様にOCDDの濃度が極めて高く、PCDDs+PCDFsの9割以上を占めている例もあった。図3に同族体パターンの一例を示す。

3.2 Co-PCBs

Co-PCBsでは、33'44'5-PeCB(#126)、23'44'5-PeCB(#118)、233'44'5-HxCB(#156)が毒性等量への寄与が高く、これらの合計はCo-PCBs全体の毒性等量の64~91%を占めていた。異性体別のCo-PCBs濃度をみると、23'44'5-PeCB、233'44'5-HxCBの濃度が高く、この2異性体でCo-PCBs総量の7割程度を占めていた。図4にCo-PCBsの異性体パターンの一例を示す。なお、23'44'5-PeCB(#118)については、事例は少ないが妊婦8名の脂肪中ダイオキシン類濃度との間に強い相関が認められ、脂肪中濃度も高いことから、母乳中のダイオキシン類濃度の指標異性体となる可能

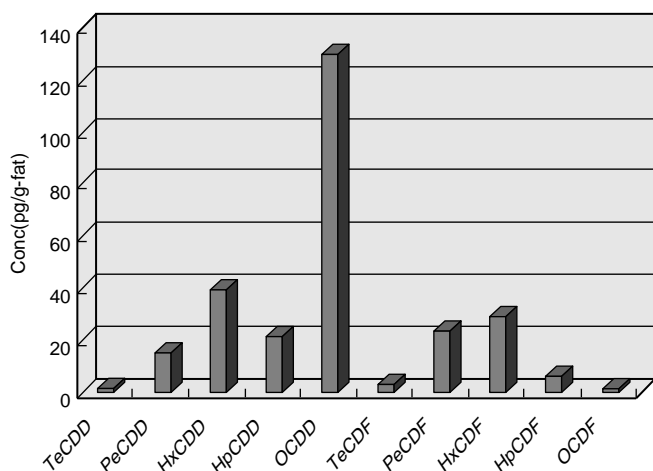


図3 腹部皮下脂肪組織中のPCDDs及びPCDFsの同族体組成

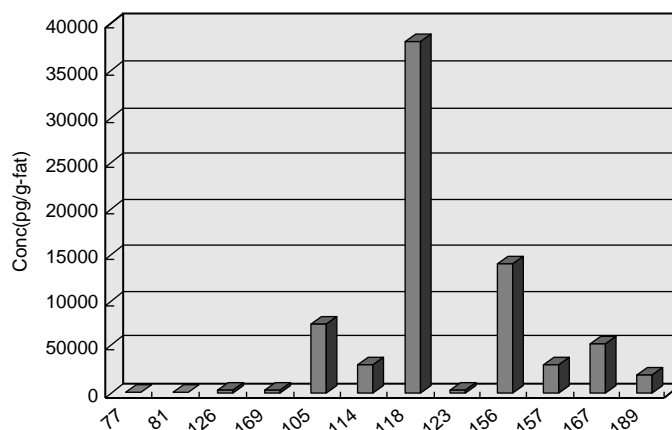


図4 腹部皮下脂肪組織中のCo-PCBsの異性体組成

表4 腹部皮下脂肪組織と大網組織の異性体比較

	No.9			No.15		
	皮下脂肪組織(A)	大網組織(B)	B/A	皮下脂肪組織(A)	大網組織(B)	B/A
2,3,7,8-TeCDD	1.6	1.6	1.00	0.91	0.45	0.49
1,2,3,7,8-PeCDD	6.4	8.7	1.36	7	9	1.29
1,2,3,4,7,8-HxCDD	3.4	3.7	1.09	2.1	1.8	0.86
1,2,3,6,7,8-HxCDD	19	20	1.05	29	26	0.90
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.5	1.2	0.48	6.4	5.5	0.86
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	12	14	1.17	25	25	1.00
OCDD	320	280	0.88	330	280	0.85
Total PCDDs	370	330	0.89	410	350	0.85
2,3,7,8-TeCDF	1.5	1.6	1.07	1.2	1.3	1.08
1,2,3,7,8-PeCDF	0.79	1.4	1.77	<0.17	<0.29	
2,3,4,7,8-PeCDF	15	17	1.13	10	13	1.30
1,2,3,4,7,8-HxCDF	3.2	4.4	1.38	4.8	4	0.83
1,2,3,6,7,8-HxCDF	5	4.4	0.88	3.4	2.6	0.76
1,2,3,7,8,9-HxCDF	<0.94	0.63		<0.82	<0.61	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	3.1	3.2	1.03	2.1	1.1	0.52
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.1	1.1	0.52	2.1	1.1	0.52
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.57	0.77	1.35	0.47	<0.39	
OCDF	1.7	<1.8		1.6	1.1	0.69
Total PCDFs	39	40	1.03	27	24	0.89
PCDDs+PCDFs	410	370	0.90	430	380	0.88
33'44'-TeCB	21	25	1.19	8.9	8.4	0.94
344'5 -TeCB	7.8	10	1.28	4.6	4.1	0.89
33'44'5-PeCB	230	230	1.00	110	110	1.00
33'44'55'-HxCB	150	160	1.07	72	63	0.88
Non-ortho PCBs	410	430	1.05	200	190	0.95
233'44'-PeCB	7000	7700	1.10	4400	4100	0.93
2344'5 -PeCB	1600	2000	1.25	650	610	0.94
23'44'5-PeCB	29000	33000	1.14	19000	19000	1.00
2'344'5-PeCB	400	550	1.38	250	260	1.04
233'44'5 -HxCB	15000	13000	0.87	5000	5000	1.00
233'44'5' -HxCB	3600	3500	0.97	870	790	0.91
23'44'55'-HxCB	5900	8600	1.46	1400	1300	0.93
233'44'55'-HpCB	1800	1900	1.06	660	620	0.94
Mono-ortho PCBs	64000	70000	1.09	32000	32000	1.00
Total Coplanar PCBs	38	38	1.00	17	17	1.00
Total TEQ(0)	58	61	1.05	35	37	1.06
Total TEQ(1/2)	58	61	1.05	35	38	1.09

Total TEQ(0)は、定量下限値未満を0(ゼロ)として算出したもの。また、Total TEQ(1/2)は、定量下限値未満を下限値の1/2として算出したもの(単位: pg-TEQ/g-fat)。各異性体濃度は、pg/g-fatで表している。

性があり、結果として試験法の簡略化が期待できるものと思われる。

4 ダイオキシン類蓄積量(体内負荷量)の評価

前述のTDIの見直しに係る報告書においては、

ヒトの脂肪中のダイオキシン類蓄積レベルを10 ~ 30pgTEQ/g-fatと推定しているが、腹部皮下脂肪組織を対象とした今回の調査結果及び環境省の調査結果では平均値レベルで、これをやや上回っている。TDI算定の根拠となった体内負荷量(86ng-TEQ/kg

体重)を脂肪1g当りに換算すると、成人の体脂肪率を20%とした場合、430pg-TEQ/g-fatに相当する。この値を不確実係数10で除した43pg-TEQ/g-fatを評価の目安とすると今回の被験者の中には、これを上回る者が含まれていることになるが、ダイオキシン類の暴露評価に係る報告例^{8,9)}によれば、現状の蓄積レベルが直ちに健康影響を及ぼすものではないものと思われる。また、近年ではヒトのダイオキシン類暴露の主要な経路である食品からのダイオキシン類摂取量は減少しており¹⁰⁾、体内蓄積量の低下が見込まれる。しかしながら、ダイオキシン類の健康影響や体内動態に未解明の部分も多いことから、引き続き注目していく必要があるものと考えられる。

謝 辞

本調査を実施するに当たり、ダイオキシン類の分析手法等について懇切な指導助言を頂いた福岡県保健環境研究所保健科学部の飯田部長及び衛生化学課の皆様に深く感謝申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 「ダイオキシンの耐容一日摂取量(TDI)について」環境庁中央環境審議会、厚生省生活環境審議会環境保健部会及び食品衛生調査会報告書(平成11年6月)
- 2) Iida, H., Hirakawa, T., Matsueda, J., Nagayama, T., Nagata, T., *Chemosphere*, 38(12), 2767-2774(1999)
- 3) T. Kashimoto, K. Takayama, M. Miura, Y. Murakami, H. Matsumoto, *Chemosphere*, 19, 921-926(1989)
- 4) 環境省：ダイオキシン類の人体、血液、野生生物及び食事中の蓄積状況について(平成11年12月)
- 5) 厚生省：「血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル(平成12年12月)」
- 6) H. Hirakawa, T. Matsueda, T. Iida, M. Nakamura, T. Nagata, J. Nagayama, *Organohalogen Compounds*, 21, 419 - 421(1994)
- 7) T. Matsueda, T. Iida, H. Hirakawa, J. Nagayama, *Organohalogen Compounds*, 44, 185 - 188(1999)
- 8) 堀伸二郎：食品衛生学雑誌, 42(5), J - 278 - J281(2001)
- 9) 労働省：豊能郡美化センターダイオキシン問題に係る調査研究報告書(平成11年3月)
- 10) M. Toyoda, H. Uchibe, T. Yanagi, Y. Kono, T. Hori, T. Iida, *J. Food Hyg. So. Japan*, 40, 494 - 499(1999)

大分地方におけるノーウォークウイルス (Norwalk Virus; NV) の侵淫状況 ()

小野 哲郎、塚本 伸哉、小河 正雄、吉用 省三

Epidemiological Study of Prevalence of Norwalk Virus in Oita Prefecture ()

Tetsuro Ono, Shinya Tsukamoto, Masao Ogawa, Shozo Yoshimochi

要旨

非細菌性の急性胃腸炎の原因として注目されている小型球形ウイルス(Norwalk Virus ; NV)は、平成9年5月食品衛生法施行規則の改正により、食中毒の原因物質として新たに指定され、主に生カキ等二枚貝の喫食が起因しているとされている。しかし、大分県内でのNV関連食中毒および有症苦情事例等においては貝類の喫食に拠らないものが多数を占めている。これまでの我々の調査により、大分地方にはNVが高率に侵淫しており、健常者の約5%がNVに感染しており、下痢症患者の約17%がNVに起因している事、さらには通年に亘りNVがヒト・ヒト間で伝播・保持している事等を明らかにしてきた。今回はより詳細な侵淫状況と汚染の実態を明らかにするために、大分市の終末処理場最終沈殿地の越流水および小児下痢症患者を対象に調査を行った。その結果、越流水および小児下痢症患者からNVは年間を通じて検出され、大分地方においては、NVは高率に侵淫しており、年間を通じて存在している事が再確認された。

はじめに

1995年の食品媒介のウイルス性胃腸炎集団発生実態調査¹⁾により、非細菌性下痢症の病因物質の殆どは小型球形(SRSV)と称されているノーウォークウイルス(NV)であり、その推定原因食品として生カキなどの二枚貝が多くの比率を占めていることが明らかにされた。大分県においてもNVを病因とする食中毒や有症苦情事例が多発しているが、生カキ等二枚貝の喫食に関係しない事例が多数存在していることが明らかになった²⁻⁵⁾。しかし、生カキ等二枚貝が関連しない食中毒や有症苦情事例の感染源や感染経路は未だに不明な点が多く、その実態を把握することが急務となっている。そこで、地域の汚染実態及び侵淫状況を反映していることが考えられる終末処理場最終沈殿地越流水と下痢症細菌が否定された小児下痢症患者便を対象にNV遺伝子の検索を行ったので報告する。

材料及び方法

終末処理場最終沈殿地越流水は2001年4月から2002年3月の間に、各月平均2回採取した。採取した越流水約1Lをポリエチレングリコール6000にて約100倍に濃縮精製し、Isogen LSを用いてRNAを抽出し、RT-PCR法によりNV遺伝子の検索を行った。RT-PCR法には山崎ら⁶⁾のP1/P3とY1/Y2および山上ら⁷⁾のキャプシドコード領域を増幅するG1R1/F1とG2R1/F1プライマーペアを併用し、何れかのプライマーペアで検出されたものを陽性とした。また、2001年4月から2002年3月の間に下痢症および食中毒原因細菌が否定された小児下痢症患者便88検体についても同様のプライマーをもちいてNVの検索を行った。

結 果

大分地方におけるNVの汚染実態を知るために、大分市の終末処理場最終沈殿地の越流水を対象に2001年4月から2002年3月までの間に、月平均

2 回合計 23 回採取し、NV 遺伝子の検索を行った。NV 遺伝子は各月の上旬と下旬に区分すると検出されない時もあったが、ほぼ毎月検出された (Table. 1)。なお、越流水が流出する直下に自生しているカキからの検出も試みたが、潮位変化の関係で径的に採取できず、自生カキにおける汚染状況は把握できなかった。

大分地方における NV の侵淫状況を知るために、下痢症および食中毒起因細菌が否定された小児の下痢症患者 88 名を対象に、2001 年 4 月から 2002 年 3 月まで昨年同様に NV の検索を行った。その結果、NV が 88 名中 18 名 (20.5%) より 10 月、11 月を除く各月に年間を通じて検出された (Fig. 1)。その検出状況は昨年度 (17.4%) とほぼ同様で、大分地方には NV が濃密に侵淫している事が再確認された。以上の事より、大分地方は NV に高率に汚染されており、ヒト・ヒト間にも高率に侵淫していることが明らかになった。また感染者も年中存在し、下痢症の約 20% は NV に拠ることも明らかとなった。

Table.1 Monthly distribution of Norwalk virus identified in the final effluent of the Sewage works (2001.4 ~ 2002.3)

採取年月		NV 遺伝子検出結果
2001年4月	上旬	+
	下旬	-
2001年5月	上旬	+
	下旬	-
2001年6月	上旬	+
	下旬	+
2001年7月	上旬	+
	中旬	-
2001年7月	下旬	+
	上旬	-
2001年8月	下旬	+
	中旬	-
2001年9月	中旬	-
2001年10月	下旬	+
2001年11月	上旬	-
	中旬	+
	下旬	+
2001年12月	上旬	+
	中旬	-
	下旬	+
2002年1月	中旬	+
2002年2月	上旬	+
	下旬	+
2002年3月	中旬	+

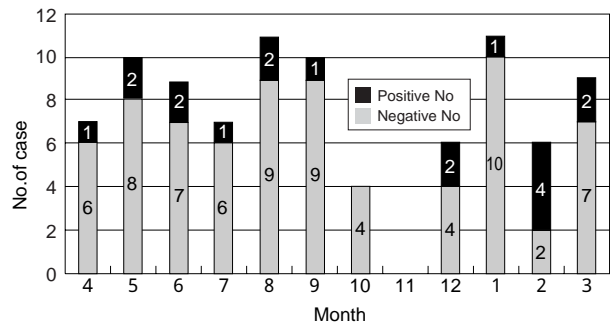


Fig. 1 Monthly distribution of Norwalk virus identified in the stools of children with acute gastroenteritis (2001.4 ~ 2002.3)

考 察

非細菌性の急性胃腸炎の原因として注目されている NV は、平成 9 年 5 月に食中毒の原因物質の一つとして新たに追加されたが、その汚染実態や侵淫状況は不明な点が多く、その実態を把握することが食中毒の防止並びに下痢症の感染予防を行う上で急務となっている。

NV を含めたヒトの腸管系ウイルスは、ヒトの腸管で増殖し、糞便と共に排泄されるが、今回の調査において、NV が終末処理場最終沈殿地の越流水から高率にしかも年間を通じて検出された。このことは、終末処理場の流域においてヒトへの NV の感染が継続している事を示唆している。検出された NV がヒト由来のものなのか動物由来のものなのか現在調査・解析を進めているが、いずれにしろ、年間を通じて NV の感染と汚染が日常的に起きており、しかも高率に保持・伝播されている事を示している^{8,9)}。また、下痢症および食中毒起因細菌が否定された小児下痢症患者から年間を通じて NV が 20.5% 検出されたが、この事も上記汚染実態並びに高率な NV の侵淫状況を裏付けている³⁻⁵⁾。同時に、NV が小児の急性胃腸炎に高率に係わっており、重要な病原体であることを示している^{4,5,10-13)}。

NV を病因とする食中毒並びに小児の急性胃腸炎は冬季に多発することが明らかにされているが、今年度までの我々の調査結果²⁻⁵⁾より、NV は冬季に限らず夏季にも高率にしかも年間を通じて保持・伝播されていることが確認された。小児の急性胃腸炎や食中毒事例が発生した場合には、季節に関係なく NV を病因の一つとして対応する必要がある。

参 考 文 献

- 1) 井上栄, 川本尋義 編: 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班, 最近5年間の食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査報告書(1995)
- 2) 小野哲郎, 塚本伸哉, 小河正雄: 小型球形ウイルス(SRSV)による食中毒事例について, 大分県衛生環境研究センター年報, 25, 68 - 70 (1997)
- 3) 小野哲郎, 塚本伸哉, 小河正雄: ノーウォーク様ウイルス(NLVs)による食中毒事例について, 大分県衛生環境研究センター年報, 26, 69 - 71 (1998)
- 4) 小野哲郎, 塚本伸哉, 小河正雄: 大分県におけるノーウォーク様ウイルス(Norwalk-like viruses; NLVs)の侵淫状況, 大分県衛生環境研究センター年報, 27, 21 - 25 (1999)
- 5) 小野哲郎, 小河正雄, 塚本伸哉: 大分地方におけるノーウォークウイルス(Norwalk Virus; NV)の侵淫状況(), 大分県衛生環境研究センター年報, 28, 21 - 23 (2000)
- 6) 山崎謙次, 大山徹, 宇田川悦子, 川本尋義: 1989年～1998年に日本国内で検出されたNorwalk-like viruses (NLVs) の遺伝的特徴及び統一プライマーの検討, 感染症学雑誌, 74, 470 - 475 (2000)
- 7) 山上隆也, 小澤茂, 井上利男: RT - PCR法で検出されたノーウォーク様ウイルス遺伝子のプローブ型とプライマーペア別検出成績, 感染症学雑誌, 74, 567 - 572 (2000)
- 8) 神山恵理奈, 林菜穂子, 葛口剛: 下水におけるNLVの検出とその遺伝子解析, 第48回日本ウイルス学会抄録集, 325 (2000)
- 9) 川本歩, 加藤由美子, 西尾治: ヒトと環境水およびカキから検出したNorwalk virusの遺伝子解析, 第49回日本ウイルス学会抄録集, 83 (2001)
- 10) 篠崎邦子, 岡田峰幸, 海保郁男: 小児急性胃腸炎における下痢症ウイルスの検討, 第49回日本ウイルス学会抄録集, 87 (2001)
- 11) 手島力男, 岡田正次郎, 関根整治: 電子顕微鏡によるウイルス性胃腸炎の発生状況調査報告, 予防接種の効果的実施と副反応に関する総合的研究報告書, 154 (平成10年3月)
- 12) 秋原志穂, 金保洙, 兼次邦男: 1995年から1997年におけるSRSVの分子疫学および遺伝子解析, 臨床とウイルス, 26 (1998)
- 13) 北原吉映, 中野守, 足立修: 散在性に発生した急性小児胃腸炎患者まらの原因ウイルスの検討, 28 (2000)

累積相対度数を用いた感染症流行判断基準値の作成について

小河正雄、吉用省三、小野哲郎

Preparation of the Standard value Evaluate the Epidemic scale of Infections Diseases with the Accumulated relative frequency

Masao Ogawa, Shozo Yoshimochi, Tetsuro Ono

要旨

感染症の流行規模は、患者数の時系列グラフを参考にしたり、同時期の患者数の平均値や標準偏差をもとに判断したりしているが、適切な基準値がないために解析者の経験に頼るところが大きい。我々は累積相対度数を用いて感染症の流行規模を判断する基準値を作成する方法を考案した。この基準値を用いれば感染症の流行の開始や、最盛期、終息などの判断が容易となる。

はじめに

感染症発生動向調査事業により各感染症の患者数が定点医療機関から毎週報告されている。これらの情報を解析し、地域に還元することは地方感染症情報センターの重要な仕事である。しかしながら、報告された患者数のデータだけで感染症の流行規模を判断するのは困難である。感染症により平均患者数が異なるため、ある感染症では患者数が多くても流行が小さい時期にあたり、患者数が少なくても大きい流行だと判断される場合がある。そこで、過去に蓄積したデータを使用し、時系列グラフを作成して流行規模を判断したり、過去の近い週のデータと比較して標準偏差を求めその流行規模を判断している。しかしながら、どの時点である感染症の流行が開始したのか、終息したのかの判断は解析者の経験や勘に頼っている。国立感染症研究所感染症情報センターでは2000年12月末より全国データをもとにした警報・注意報発生システムの運用を開始しているが¹⁾、各都道府県のデータをもとにした基準値を作成することにより、よりきめ細かで適切な解析が可能となる。

我々は、累積相対度数を用いて、疾病の発生確率をもとにした基準値の作成方法を考案したので報告する。

材料と方法

患者情報は、感染症発生動向調査による1997年から2001年の過去5年、261週の週報の患者データを使用した。感染症新法により新たに週報に加えられた疾病については1999年第3週以降の144週のデータを使用した。ソフトウェアは、エクセル2000（マイクロソフト社）に分析ツールアドイン（マイクロソフト社）を組み込んで使用した。エクセルのワークシートの列方向に過去5年の週別定点当たりの患者数261個を入力する（図1）。度数分布表を作成するには階級分けが必要なので、境界値を記入したセルを作成する必要がある。エクセルのデータメニューから「並び換え」を選択し、データ範囲を指定して最大値と最小値を求める。階級数を100程度にするため、最大値と最小値の差を100で割った値を求め、階級幅とする。例えば、流行性耳下腺炎では最大値が7.59、最小値が0.06であるので、階級幅は $(7.59-0.06) \div 100 = 0.075$ となる。境界値を記入する列の最上行のセルにデータの最小値を入れる。次に行のセルに、前のセルの値に階級幅を足した計算式を記入する。このセルを下のカラムに次々とコピーし、最大値を超えるまで約100個コピーする（図2）。ツールメニューから分析ツールを選択し、さらにヒストグラムを選択する。

入力範囲に定点当たりの患者数を記入したセル範囲を入力し、データ区間に境界値を記入したセル範囲を入力する。出力オプションとして、新規又は次のワークシート、累積度数分布の表示、グラフ作成をチェックし、実行する(図3)。すると、表頭にデータ区間、頻度、累積%が記入された表とヒストグラムが新しいシートに出力される(図4)。累積相対度数が70%、80%、90%に近いデータ区間の値を感染症流行判定基準値とした。また、出現確率1%の国の警報基準値と比較するため累積相対度数99%を示す定点当たりの患者数を求めた。

結 果

患者数の多いインフルエンザ、咽頭結膜熱、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎、水痘、手足口病、伝染性紅斑、突発性発疹、百日咳、風疹、ヘルパンギーナ、麻疹、流行性耳下腺炎、流行性角結膜炎、マイコプラズマ肺炎は各段階とも基準値を設定できた一方、5年間の定点当たりの患者数合計が6人以下の、急性出血性結膜炎、急性脳炎、細菌性髄膜炎、無菌性髄膜炎、クラミジア肺炎、成人麻疹の6疾病については、報告数の70%以上を0が占め、一部しか基準値が作成できなかった(表1)。国の警報基準値と県の警報基準値を比較したところ、手足口病、インフルエンザ、咽頭結膜熱などは県の基準値が国の基準値の2倍以上高く、国の基準値のほうが警報が出やすい傾向にあることが分かった。A群溶血性レンサ球菌感染症、水痘、ヘルパンギーナ、流行性耳下腺炎などは国と県の基準値が近

く、風疹、百日咳、急性出血性結膜炎は県の基準値のほうが国の基準値の2分の1以下と低かった。

インフルエンザは患者数が多く、その流行状況は住民の関心の高いところである。そこで、1997年から2002年までの時系列グラフに、基準値を描いてみると、70%基準値は流行初期、及び終息期、80%基準値は流行期、90%基準値は流行極期を示すのに適当と思われた(図5)。

考 察

累積度数とは、ある階級以下の度数を合計したもので、累積相対度数とは累積度数を総数で割ったものである。一定期間の定点当たりの感染症患者数について累積相対度数を求めると、ある階級(定点当たりの患者数)の累積相対度数とは、一定期間内にその定点当たりの患者数以下で発生した疾病の出現頻度総数の割合となる。そして、100%から累積相対度数%を引いたものが、一定期間内にその定点当たりの患者数が出現する確率と考えられる。

累積相対度数分布表を作成するには統計ソフトウェアを使うのが便利である。統計ソフトウェアであるSPSS(SPSS社)を使用すると容易に累積相対度数を計算できるので、SPSSを保有している場合はそちらの使用すると良い。今回は、広く普及しているマイクロソフト社製エクセルを使用する方法を考案した。

累積相対度数を用いて基準値を設定することにより、客観的に基準値を設定できる。また、地域や年度による基準値の変更・更新が自由にできる。今回

	A	B	C
1	年	週	流行性耳下腺炎
2	1997	1	0.56
3	1997	2	0.78
4	1997	3	0.67
5	1997	4	0.93
6	1997	5	0.7
7	1997	6	1.04
8	1997	7	0.63
9	1997	8	1.74
10	1997	9	0.74
11	1997	10	1.44
12	1997	11	1.56
13	1997	12	1

図1 定点当たりの患者数の入力

E3					=	E2+0.075
	A	B	C	D	E	
1	年	週	流行性耳下腺炎			データ区間
2	1998	12	7.59			0.06
3	1998	13	6.81			0.135
4	1998	10	6.63			0.21
5	1998	1	6.19			0.285
6	1998	25	5.52			0.36
7	1998	15	5.33			0.435
8	1998	7	5.22			0.51
9	1998	4	5.15			0.585
10	1998	14	5.07			0.66
11	1998	17	4.96			0.735
12	1998	11	4.7			0.81

図2 データ区間の設定

は、基準値を累積相対度数70%、80%、90%の3段階に設定したが、60%や95%などを加えてより細かな警報や注意報の段階の設定が可能である。

現在、累積相対度数70%の基準値以上80%の基準値未満のものを「やや多い」、80%の基準値以上90%の基準値未満のものを「多い」、90%の基準値以上のものを「かなり多い」と表現し、それぞれ、
、
と星印の数で表現して大分県の感染症情報のホームページで公開している。エクセルの表に条件判断の関数の計算式を入れて自動的に星印を表示するように設定しており、このファイルHTMLファイルとして保存している(図6)。注目すべき感染症がすぐに分かるので便利である。

厚生労働省では感染症発生動向調査警報・注意報発生システムを2000年から稼働させている。この

中で、警報は過去5年の流行状況の中でその1連の警報発生の起きる確率が1%程度になるように設定している。今回、大分県のデータをもとに算出した警報基準値と厚生労働省の警報基準値を比較したが、0.1倍から4.3倍までの開きがあり、疾病により異なっていた。算出する元となるデータが全国のものとも都道府県のものとも異なるので当然である。インフルエンザの警報などは厚生労働省の基準により迅速に広報されるので、都道府県と厚生労働省の警報基準値が異なっているのは行政上混乱を生じる。警報基準値は当面厚生労働省のものを使用すべきであろう。将来的には、厚生労働省が各自治体別の警報・注意報基準値を設定するのが望ましい。なお、厚生労働省の注意報の基準の設定は複雑なので今回は比較しなかった。

基準値作成に使用する適切なデータ期間は5年がいいのか、10年がいいのか。流行判断基準値の設定が累積相対度数70%、80%、90%でいいのか。今後も、これらの点を検討し、より適切な基準値の設定を行いたい。

参 考 文 献

- 1) 永井正規 ほか：「定点サーベイランスの評価に関するグループ」研究報告書、感染症発生動向調査に基づく流行の警報・注意報および全国年間罹患数の推計 - その2 -, 2002



図3 ヒストグラム作成メニューの入力

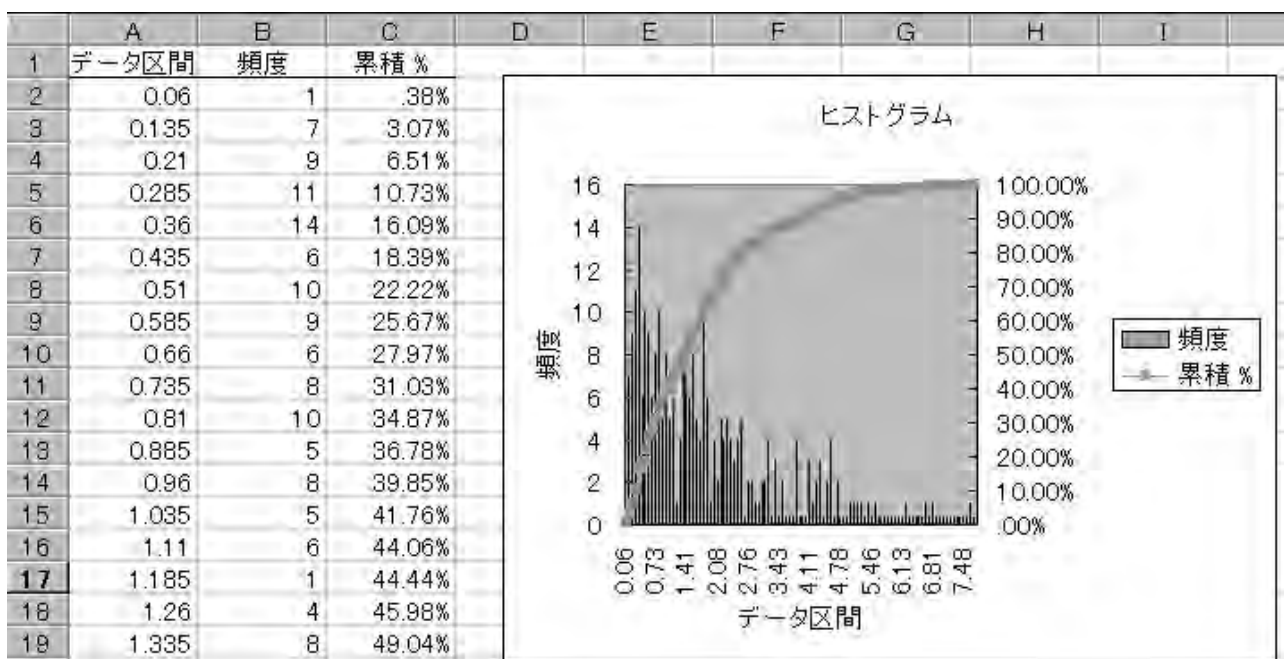


図4 累積相対度数表とヒストグラム

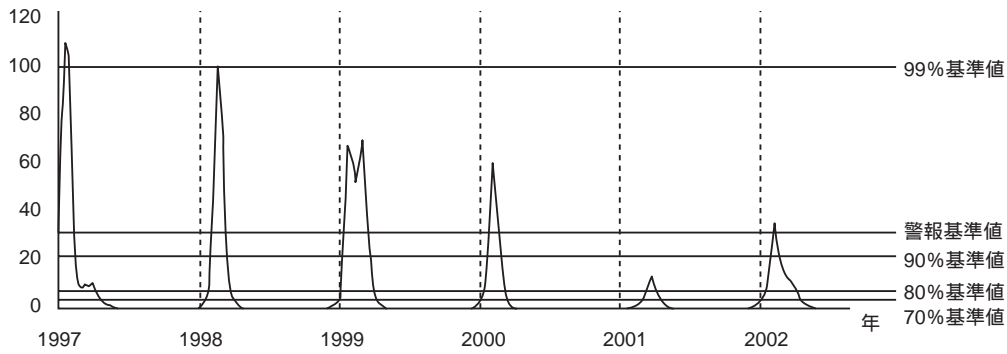


図5 インフルエンザの流行状況と流行判断基準値

大分県感染症発生動向調査
(国指定定点医療機関/県民5数)

2000年8月29日

週	30	31	32	33	流行率
71 流行性髄膜炎	4.28	4.42	4.21	3.94	
72 流行性耳下腺炎	3.39	2.86	2.64	2.36	
73 ヘルパンギーナ	3.08	2.60	2.72	2.31	★★
74 水痘	1.54	1.75	1.08	1.30	
75 感染性胃腸炎	1.11	1.08	1.28	1.00	
76 流行性角結膜炎	0.00	0.40	0.40	0.60	
77 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	0.81	1.00	0.69	0.72	
78 手足口病	0.14	0.11	0.22	0.14	
79 インフルエンザ	0.07	0.00	0.02	0.09	
70 流行性結膜炎	0.00	0.18	0.00	0.08	
71 マイコプラズマ肺炎	0.00	0.00	0.00	0.09	
72 伝染性紅斑	0.00	0.11	0.00	0.06	

図6 大分県感染症情報のホームページ

表1 疾病別感染症流行判断基準値

対象疾病	累積相対度数				警報基準値 (B)	A ÷ B
	70%	80%	90%	99% (A)		
インフルエンザ	1.00	4.00	22.00	99.00	30.0	3.3
咽頭結膜熱	0.21	0.31	0.72	2.25	1.0	2.3
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	1.50	1.78	2.16	4.19	4.0	1.0
感染性胃腸炎	8.90	10.80	15.10	28.40	20.0	1.4
水痘	3.10	3.44	4.30	5.79	7.0	0.8
手足口病	1.41	2.00	3.20	21.60	5.0	4.3
伝染性紅斑	0.52	0.63	0.83	1.26	2.0	0.6
突発性発疹	1.53	1.67	1.78	2.07	4.0	0.5
百日咳	0.04	0.06	0.11	0.17	1.0	0.2
風疹	0.03	0.06	0.07	0.21	3.0	0.1
ヘルパンギーナ	1.38	2.28	3.65	7.00	6.0	1.2
麻疹	0.19	0.34	0.79	2.85	1.5	1.9
流行性耳下腺炎	2.11	2.58	4.05	6.63	5.0	1.3
急性出血性結膜炎				0.40	1.0	0.4
流行性角結膜炎	1.20	1.50	2.00	3.60	8.0	0.5
急性脳炎				0.25		
細菌性髄膜炎				0.11		
無菌性髄膜炎		0.10	0.11	0.25		
マイコプラズマ肺炎	0.20	0.30	0.33	0.70		
クラミジア肺炎				0.10		
成人麻疹		0.10	0.11	0.44		