

2 学会発表

山形市における花粉抗原陽性率の検討

鈴木祐輔，太田伸男，櫻井真一，青柳優，深瀬滋，高橋裕一

第 19 回日本アレルギー学会春期臨床大会，2007 年 6 月，横浜市

シラカバ，ヒメスイバ，ヤナギ，コナラ，クルミ花粉について抗原陽性率を調査した。対象は男性 64 例，女性 44 例計 108 例（年齢 9 歳から 75 歳，平均年齢 31.2 歳）である。シラカバ，ヒメスイバ，ヤナギ，コナラ，クルミ花粉陽性率はそれぞれ 10%，7%，11%，8%，11%であった。シラカバ，ヤナギ陽性者はスギ，カモガヤ，カナムグラ花粉で陽性率が，また，ヒメスイバ陽性者はカモガヤ，カナムグラ花粉で陽性率が高かった。

山形県の花粉情報の提供状況－花粉飛散情報と空中花粉アレルギー濃度情報

會田健，高橋裕一，安部悦子，山田敏弘，逸見眞子，伊藤真由美，青山正明

第 56 回東北公衆衛生学会，2007 年 7 月，仙台市

当研究所では花粉測定法として，ダーラム法と ESR ラジカルイムノアッセイ法，ラテックス凝集反応法を行っている。その内容を紹介した。スギ花粉シーズンは花粉数の情報，花粉アレルギー濃度に関する情報を衛研の HP と Fax で提供している。スギ花粉シーズンの後はイネ科植物を中心に開花状況とアレルギー情報を衛研の HP で提供している。また，その情報は県の医師会にも提供している。日本では花粉アレルギー濃度の情報は山形県のみが提供している。環境省が全国で展開している自動花粉測定器を用いた情報（“はなこさん”）との関係についても述べた。

精英樹のアレルゲン(Cry j 1)含量と花粉症対策の効果

渡部公一，小野瀬浩司，安部悦子，會田健，高橋裕一

東北森林科学会第 12 回大会，2007 年 8 月，鶴岡市

スギ花粉中のアレルゲン(Cry j 1)含量と雄花着生量によって花粉症に有効な精英樹クローンを選び，こ

これらの精英樹で採種園の改良を行った場合の低減効果を検討した。2003～2006年度に山形県の採種園を構成している精英樹91クローンから延べ584本のスギ花粉を採取しアレルゲン(Cry j 1)量を測定した。次に花粉を採取した採種園の採種木について雄花の着生量調査を行い雄花着生指数を求めアレルゲン(Cry j 1)量×雄花着生指数をアレルゲン指数とした。これらから、採種園から生産されるアレルゲン量は評価の高い上位25クローンで造成した場合61.9%、上位9クローンで造成した場合40.9%と試算される。

温泉浴槽壁木板からの *Legionella* 属菌の分離及び増殖経過

金子紀子 青木敏也 大谷勝実

第61回日本細菌学会東北支部総会, 2007年8月, 仙台市

【目的】温泉浴槽水の *Legionella* 属菌 (L 菌) 汚染は *Legionella* 症の感染源として注目されている。種々の対応にもかかわらず温泉浴槽水中の L 菌消失が困難だった施設において、浴槽壁の張替えを実施した。剥離した浴槽壁木板から L 菌の増殖経過を経時的に調べた。

【方法】剥離した浴槽壁の木板 (15×15×0.7cm) 2枚 (A, B) を蒸留水 500ml に浸漬, 37°Cの恒温室で穏やかに振盪し, 経時的に蒸留水を採取した。採取した蒸留水の L 菌数及びアメーバ数を測定した。L 菌数は試料を酸処理後 WY0α 培地 (栄研) に塗布, 37°C湿潤環境下で7日間培養後発育したコロニーを計数した。アメーバ数はアメーバ培地に試料を載せ, 37°C湿潤環境下で培養し, 出現したプラークを計数した。

【結果及び考察】木板A,Bとも3時間後にはL菌が検出された。3時間後のL菌数は750cfu/ml及び60cfu/mlで, その後急速に増殖するのが認められた。木板Aの方が増殖は早かったが, 4日後にはA, Bどちらの木板も10⁵CFU/mlまで達し, 7日後でもほぼ同じ菌数であった。アメーバもL菌と同様な増殖経過を示した。

L菌が早い時期から検出されたが, これは木板に付着したバイオフィーム中のアメーバシスト内に寄生したL菌が遊離してくるためと考えられた。清掃によりバイオフィームを除去しない場合, 同様の現象が浴槽中で起きていることが推察された。

スギ花粉アレルゲン情報のための高感度 Cry j 1 測定法の検討—ESR 法, 蛍光 ELISA 法および im Tag PCR 法の比較

安部悦子, 金子紀子, 高橋裕一, 大谷勝実, 青山正明

第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2007年11月, 横浜市

飛散開始日以前からのスギ花粉アレルゲン情報提供のため2007年2月14日から3月2日の大気試料に

ついて Cry j 1 濃度を蛍光 ELISA 法で測定し、ESR ラジカルイムノアッセイ法 (ESR 法) による結果と比較したところ正の相関がみられた ($r=0.925$, $p<0.001$). 蛍光 ELISA 法は ESR 法に比べ感度は良くなかった (1/10 の感度). しかし、今回の試料で $1\text{pg}/\text{m}^3$ の濃度まで測定可能なことがわかったので、飛散開始前の情報化に使える道が開けた.

イムノブロット法による空中真菌アレルゲン測定法の開発 —空中クラドスポリウムアレルゲンの測定と季節変動—

鈴木道子 高橋裕一 安枝 浩 齋藤明美

第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2007 年 11 月, 横浜市

【目的】我々は山形県内陸部における空中真菌の調査を行っている. 今回は *Cladosporium* 抗原 (*Cl Ag*) を免疫化学的 (Aeroallergen immunoblotting method) に測定する方法を確立した. あわせて *Cl Ag* の空中濃度の季節変動を調べた.

【方法】空中真菌は英国製バーカード捕集器で捕集した. 得られた試料を 1 日ごとに切断し, ニトロセルローズ膜に転写し, 抗 *Cl* 抗体 (ウサギ血清) 処理, 酵素 (ALP) 標識二次抗体処理後に酵素反応を行い紫色のスポットを得た.

【結果】顕微鏡で形態識別が困難な *Cladosporium* を immunoblotting 法でスポットとして測定することができた. 2006 年では春 (5 月~6 月) と秋 (9 月), 冬 (1 月) にピークが認められた. ピークは春が最も大きく, 次に秋が大きかった. スポット数は日ごとに大きく変化し, 春 (5 月) に著しく多くのスポットがみられた日があった. 時間ごとでは昼と夜半に多く飛散した. 最もスポット数が多かった日の気象条件をみると薄曇後晴れ, 最高気温が 26.6°C で平均気温も前後の日に比較すると高く, 南南東の風の強い日であった.

空中スギ及びイネ科花粉アレルゲン (Cry j 1, Dac g) 濃度の インターネットによる情報提供と今後の課題

會田健, 高橋裕一, 安部悦子, 青山正明

第 34 回山形県公衆衛生学会 2007 年 3 月, 山形市

スギ花粉アレルゲン (Cry j 1) およびイネ科カモガヤ花粉アレルゲン (Dac g) の空中濃度をインターネットで提供している. 昨年 (2007 年) の花粉シーズンに行った情報について報告した.

ESR ラジカルイムノアッセイ法による室内環境中ダニアレルゲン (Der p 1, Der f 2)の測定

安部悦子, 會田健, 鈴木道子, 高橋裕一, 青山正明, 押切剛伸

第 34 回山形県公衆衛生学会, 2007 年 3 月, 山形市

サイクロンサンプラーを用いた大気試料中のダニアレルゲンを ESR ラジカルイムノアッセイ法により測定した。アレルゲンは, Derp1 および Derf2 について測定し, 1 家屋においては, 寝具の上げ下げ後, Derp1 は 15 分程度で通常濃度に戻ったが, Derf2 は 30 分後に戻ったという結果が得られた。

トリカブト属植物およびツキヨタケによる食中毒について

笠原義正

全国自然毒中毒研修会, 2008 年 1 月, 横浜市

トリカブトには毒性の強い成分として 4 種類のアコニチン系アルカロイドが含まれており, これらが中毒の直接の原因である。山形県ではトリカブトの誤食による食中毒が多いことから, 原因究明のために, 有毒成分 4 種の迅速かつ正確な定性, 定量を HPLC-UV, GC/MS および LC/MS/MS で検討してきた。その結果 LC/MS/MS による方法が最も優れていることが分かった。さらに, これを用いた定量結果とマウス毒性評価を行い, 中毒症状と定量結果が良い一致を示すことが分かった。以上のことはマウス毒性試験から, ある程度のアコニチン類の量を推定することが可能であることを示唆している。

また, ツキヨタケの毒成分であるイルージン S の HPLC-UV による分析については, 定性や相対的な量を見ることは可能であるが, 食中毒原因食品や他のキノコが共存する場合は判別や定量が難しくなるので, 分子量を指標とした LC/MS を用いて検討した。その結果, 中毒原因特定のための定性は高感度で可能であったが, 定量等についてはさらに検討を要す。

山形県におけるトリカブト及びツキヨタケによる食中毒

笠原義正

東北食中毒研究会, 2007 年 8 月, 仙台市

平成14年から18年の5年間で都道府県別の植物性自然毒中毒の発生件数は山形が最も多かった。そこで、トリカブトの有毒成分アコニチン系アルカロイド4種とツキヨタケの有毒成分イルージンSの分析についてLC/MS/MSを用いて検討した。その結果、4種のアコニチン系アルカロイドが20分以内に良好なピークとして分離した。検量線は絶対検量線法で5-100ppbの範囲で直線性が得られた。回収率は各アコニチン系アルカロイドで90%以上と良好であった。また、HPLC-UV法では夾雑物の影響で分析できなかったトリカブトの葉および患者の胃洗浄液からも検出可能であった。

ツキヨタケの有毒成分イルージンSを大量に分離した。分離したイルージンSを用いてツキヨタケ中毒の特定ができるようになった。HPLC-UV法では夾雑物の影響で分析できなかったものもLC/MS/MS法で検出可能であった。

食用菊のピロリ菌発育阻止作用及びその活性物質の分離

沼澤聡明, 伊藤健, 笠原義正

第34回山形県公衆衛生学会, 2008年3月, 山形市

県産食材を中心とした多数の食材について、さまざまな機能性を明らかにするため種々の検討を行ってきた。今回は食用菊の抗ピロリ菌作用の確認と関連する活性物質の特定を研究目的とした。食用菊（モッテノホカ）のメタノールエキスを抗ピロリ菌活性を指標にして分画し、種々の活性画分を得た。これらの画分についてGC/MSによる分析を行った結果、スチグマステロール、 β -シトステロール等の植物性ステロールが含まれていることが分かった。これらの標準品を用いて抗ピロリ菌活性を測定したところ、活性が確認された。さらに他の画分にも活性の強い物質の存在が示唆された。また、モッテノホカ、寿、岩風のポリフェノール画分にも抗ピロリ菌活性があることを明らかにした。

山形県におけるマイコプラズマ感染症の分子疫学的検討

青木敏也, 金子紀子, 大谷勝実

第34回山形県公衆衛生学会, 2008年3月, 山形市

【はじめに】当所で分離した *Mycoplasma pneumoniae* (*M.p*) の遺伝子型別を行い、山形県の *M.p* 感染症の流行状況を分子疫学的に検討した。

【対象と方法】2003年10月から2007年3月までの5年間に、県内の医療機関で採取された患者由来咽頭スワブ419検体から分離した *M.p*63株を対象とした。*M.p* の P1 細胞附着蛋白質遺伝子 (P1 遺伝子)

をターゲットに PCR-RFLP により遺伝子型別とそのサブタイピングを行った。

【結果と考察】 *M.p63* 株の P1 遺伝子型は I 型 57 株 (90%)、II 型 6 株 (10%) で II 型は全て II 型亜型 (II' 型) であり全国の状況と一致した。P1 遺伝子型サブタイプは I 型が 1a, 1b, 1c の 3 つ、II' 型が 2a, 2b, 2c, 2d, 2e の 5 つ、合計 8 つのサブタイプが確認された。検出頻度が高かったのは 1a 31 株 (49%)、1c 25 株 (40%) であり、この 2 つが本県の主要サブタイプと考えられた。この 5 年間の年次別 P1 遺伝子型およびサブタイプ検出状況は、毎年 I 型が多く検出され、サブタイプ別では 1a あるいは 1c が多かった。1a と 1c に注目すると 2 年から 3 年周期で優勢なサブタイプの入れ替わりが観察された。II' 型では優勢なサブタイプは認められなかった。この 5 年間の P1 サブタイプの年次別地理的分布をみると村山地域では 1a が 30 株、1c が 17 株、2a,2b,2c が各 1 株で、2 年周期で優勢なサブタイプの入れ替わりが観察された。一方、置賜地域では 1c が 7 株、1b,2d が各 1 株で、本県で最も検出数が多い 1a は検出されなかった。庄内地域では 1a, 1c が各 1 株検出された。

山形県内で分離された *Salmonella* Poona の PFGE 解析

金子紀子, 青木敏也, 大谷勝実, 山田敏弘, 吉田眞智子

第 34 回山形県公衆衛生学会, 2008 年 3 月, 山形市

【目的】平成 17 年にこれまで山形県内で分離された記録のない *Salmonella* O13(*S. Poona*)が初めて医療機関で分離され、19 年までに 13 株分離された(ミシシippアカミミガメの飼育水由来株 1 株を含む)。稀な血清型である *Salmonella* O13(*S. Poona*)の分離数が増加したことから、その感染経路等を検討するために山形県で分離された株について PFGE 解析をおこなった。さらに他県から分与された *Salmonella* O13(*S. Poona*)についても比較検討した。

【結果および考察】

PFGE の解析結果を表 2 に示した。制限酵素 Bln I では、4 つのクラスターに分類され、また、制限酵素 Xba I では、5 つのクラスターに分類された。Xba I は、Bln I で B に分類された菌株を b と e にさらに分類することができた。サルモネラ菌は、通常 Bln I で解析を行っているが、本血清型においては、Xba I の方が分類能が高く、5 つのクラスターに分類することができた。

パターン(A-a)に分類された No.2~6 の菌株は、疫学調査で関連性は認められなかったが、県内の 1 保健所管内の医療機関で分離された株であり、共通の感染源の存在が示唆された。パターン(B-b)に分類された No.1 は、県内の散発下痢症由来株で、自宅でカメ(種類不明)を飼育していた。また、No.11~15 は、ミシシippアカミミガメを感染源とした家族内感染事例由来株であり、No.18~22 はミシシippアカミミガメ由来株だった。B-b に分類された株は、カメに関連しており、汚染カメの国内流通が示唆された。今後、カメの流通や衛生的な取り扱い等に留意していく必要がある。パターン(B-e)に分類された No.17, 24 は、県内の散発下痢症由来株であり、No.17 の患者はカメ等のペットの飼育歴はなく、No.24 の患者について

は不明である。また、No.23 は、神奈川県で散発下痢症由来株で、自宅でカメ(種類不明)を飼育していた。これに類似しているパターン(B'-e)に分類された No.25 は、宮城県の散発下痢症由来株で、ペットの飼育歴等は不明である。パターン(C-c)に分類された No.7~10 は、新潟県で発生したケヅメリクガメが感染源として疑われた家族内感染事例由来株だった。

山形県で分離されたムンプスウイルスの遺伝子型別

須藤亜寿佳, 青木洋子, 水田克巳

第 34 回山形県公衆衛生学, 2008 年 3 月, 山形市

2004 年から 2006 年に山形県で分離されたムンプスウイルス (MuV) の遺伝子型別を実施した。遺伝子型別は MuV の SH 遺伝子領域を RT-PCR 法で増幅後、シーケンスにより決定した塩基配列をもとにした。MuV は、2004 年に 9 株、2005 年に 38 株、2006 年に 14 株分離されていた。遺伝子型は G 型が 57 株、H 型が 3 株、B 型が 3 株であった。検体の種類や臨床診断名による遺伝子型の差は認められなかった。以上の結果から、現在山形県で流行している MuV の主流は G 型であることが明らかとなった。