

# I 調 査 研 究 報 告



## 資料

## 山形県における 2015 年の手足口病の流行

田中静佳, 的場洋平, 青木洋子, 矢作一枝, 水田克巳

## Epidemic of Hand, Foot and Mouth Disease in Yamagata Prefecture (2015)

By Shizuka TANAKA, Yohei MATOBA, Yoko AOKI,  
Kazue YAHAGI and Katsumi MIZUTA

2015 年 1 月から 12 月の 1 年間に山形県内の医療機関で手足口病と診断された患者の咽頭拭い液および鼻汁 55 検体について、山形県感染症動向調査に基づきウイルス分離・検出を行った。55 検体中 44 検体からウイルスが分離・検出され、ウイルス別では Coxsackievirus (Cox) A6 が 21 件 (38.2 %)、CoxA16 が 20 件 (36.4 %)、CoxA10、CoxA14、Parechovirus1 型が各 1 件 (各 1.8 %) であった。CoxA16 は 1 月から 7 月の期間に、CoxA6 は 5 月から 12 月の期間に分離・検出された。2015 年の山形県における手足口病の流行は CoxA16 と CoxA6 の 2 つのウイルスの混合流行によるものと考えられた。

**Key Words** : 手足口病 (Hand, Foot and Mouth Disease), CoxA6, CoxA16

## I はじめに

手足口病は口腔粘膜および手や足などに現れる水疱性の発疹を主症状とした急性ウイルス感染症で、幼児を中心として夏季に流行する疾患である。原因ウイルスは主に Coxsackievirus (Cox) A16, Enterovirus (EV) 71 であり、その他 CoxA6 や CoxA10 などによっても発症し、流行するウイルスや流行の程度は年ごとに異なる。

2015 年は手足口病が全国的に流行し<sup>1)</sup>、山形県においても定点医療機関からの年間累計患者報告数が過去 10 年間で最多となった。今回、本年の流行実態を把握することを目的に、感染症発生動向調査事業で得られた手足口病患者検体からウイルス分離・検出を行った。

## II 材料及び方法

## 1. 調査対象

2015 年 1 月から 12 月までに県内医療機関を受診し、手足口病と診断された患者から採取された鼻咽頭ぬぐい液および鼻汁 55 検体を対象とした。

## 2. ウイルスの分離・同定

細胞培養は HEF, HEp-2, VeroE6, MDCK, RD-18S, GMK の 6 種類の細胞、および一部の検体について RD-A 細胞を用いたマイクロプレート法<sup>2)</sup>により実施した。細胞変性効果 (CPE) が確認されたものをウイルス分離陽性とし、分離株について中和用単抗血清を用いた中和試験による同定を行った。

## 3. RT-PCR 法によるエンテロウイルス遺伝子検出

CPE が確認されなかったウイルス分離陰性の検体について、CODEHOP-<sub>sn</sub>PCR<sup>3)</sup>によるエンテロウイルス

VP1 領域の遺伝子検出を行った。目的とする増幅産物が確認されたものについてダイレクトシーケンスで塩基配列を決定し、BLAST 検索により型別を行った。

### III 結果

検体 55 件中 44 件からウイルスが分離・検出された。ウイルス別では、CoxA6 が 21 件 (38.2 %)、CoxA16 が 19 件 (36.4 %)、CoxA16 と Adenovirus (AD) 3 型の重複感染、CoxA10、CoxA14、および Parechovirus 1 型がそれぞれ 1 件 (各 1.8 %) と、分離・検出の大半を CoxA16 と CoxA6 が占めていた。CoxA16 は重複感染例を合わせた 20 件すべてが、HEF, VeroE6, RD-18S, GMK 細胞など、複数の細胞における初代培養で分離陽性であったが、CoxA6 の 21 件はこれらの細胞では分離されず、後に追加で行った RD-A 細胞による 3 代~4 代の継代培養で 9 件が分離陽性となり、他 12 件は遺伝子検出のみであった (表 1)。

表 1. ウイルス分離・検出状況

	分離+	分離- 遺伝子検出+
CA16	19	0
CA16、AD3	1	0
CA6	9	12
CA10	0	1
CA14	0	1
Parecho1	1	0
合計	30	14

CoxA16 および CoxA6 の検体採取月別検出状況を図 1 に示す。CoxA16 は 1 月から 7 月に採取された検体から分離された。分離のピークは 6 月から 7 月で、8 月以降は 1 件も分離されなかった。CoxA6 は 5 月~12 月に採取された検体から分離・検出された。CoxA6

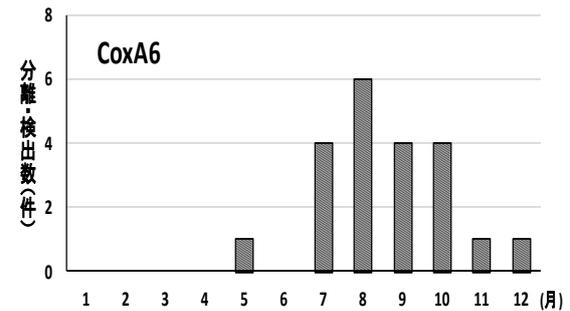
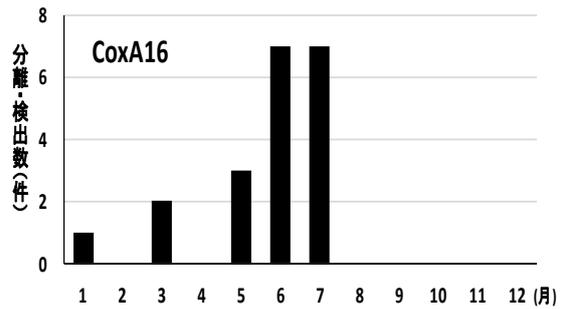


図 1. 月別ウイルス別分離・検出数

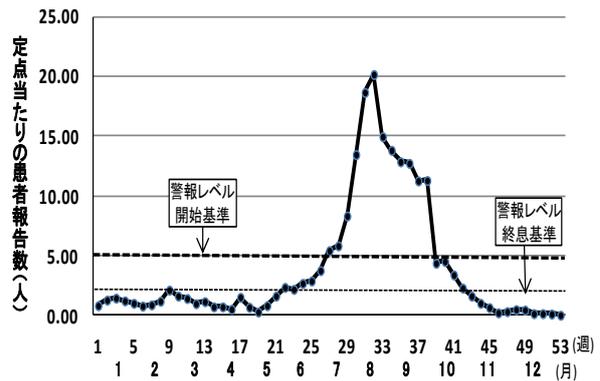


図 2. 定点当たりの患者報告数 (山形県:2015 年)

の分離・検出数は CoxA16 のピークであった 7 月から増加を始め、8 月にピークを迎えた後も 12 月まで継続して確認された。

### IV 考察

ウイルスの分離・検出状況から、山形県における 2015 年の手足口病の流行は CoxA16 と CoxA6 により引き起こされたと考えられた。

山形県内の定点医療機関から報告された 2015 年の年間患者数は、6,108 人で、過去 10 年で最も報告

数が多かった 2011 年の 4,348 人を大きく上回った。

定点当たり報告数は、8 月上旬～9 月中旬（第 32 週～38 週）に全国平均の約 2 倍で推移し、6 月下旬から、10 月中旬（第 27 週～42 週）にかけて警報レベルの基準値を上回った（図 2）。

月別ウイルス別分離検出数（図 1）と定点あたりの患者報告数の推移（図 2）を比較すると、CoxA16 と CoxA6 の流行が重なった 7 月下旬は、定点あたりの患者報告が急激に増加していた。また、CoxA16 の流行のピークから CoxA6 の流行が漸減し始めるまでの 6 月下旬から 10 月中旬の期間は、定点あたりの患者報告数が警報レベルの基準値を上回った期間と一致した。

これらのことから、2015 年の手足口病の流行が過去 10 年の年間患者数を大きく上回る流行に至ったのは、CoxA16 の流行のピークに CoxA6 の流行開始が重なり、患者が急激に増加したことに加え、CoxA16 の流行が終息した後も CoxA6 による流行が警報レベルの基準を上回る水準のまま長期にわたって続いたことが要因と推測された。

手足口病は原因となるウイルスが複数存在し、流行するウイルスは年ごとに異なる。基本的には予後良好の疾患であるが、急性髄膜炎の合併が時に見られ、稀であるが急性脳炎を生ずることもある<sup>4)</sup>。流行するウイルスによっては中枢神経系合併症の発生率が他のウイルスより高いものもあり<sup>5)</sup>、病原体サーベイランスによる流行状況の把握が重要である。今後も継続してサーベイランスを行い、迅速に情報提供することで感染拡大・蔓延防止につなげていきたい。

## V 文献

- 1) IASR, 手足口病由来ウイルス週別 2015&2016, <http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/iasr/Byogentai/Pdf/data115j.pdf>, (参照 2016/06/16)
- 2) Mizuta K. et al. : Analysis of monthly isolation of respiratory viruses from children by cell culture using a microplate method a two-year study from 2004 to 2005 in Yamagata Japan, *Jpn. J. Infect. Dis* 61, 196-201, 2008
- 3) Nix W.A. et al. : Sensitive seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens, *J. Clin. Microbiol* 44(8), 2698-704, 2006
- 4) Fujimoto T. et al. : Outbreak of central nervous system disease associated with hand, foot, and mouth disease in Japan during the summer of 2000: detection and molecular epidemiology of enterovirus 71. *Microbiol Immunol* 46(9), 621-7, 2002
- 5) 多屋馨子 他 : 本邦におけるエンテロウイルス感染症の疫学、重症化例の発生動向調査, *IASR* (25), 226-227, 2004

## 資料

## 自然毒による食中毒事例（2015年）

長岡 由香, 笠原 義正

## Food Poisoning by Natural Toxins in Yamagata Prefecture in 2015

By Yuka NAGAOKA and Yoshimasa KASAHARA

2015年に山形県内で発生した自然毒による食中毒事例は7件であった。これらは、すべて植物性自然毒であり、原因としては、イヌサフランによる食中毒1件、ツキヨタケによる食中毒3件、クサウラベニタケによる食中毒2件、ドクササコによる食中毒1件であった。

そのうち当研究所に検査依頼のあった事例は2件であった。1件は、生の花（地上部）を喫食し、死亡した事例であり、もう1件は、キノコの調理品を喫食し、吐き気、嘔吐等の症状を呈した事例である。残品について、高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計(LC-MS/MS)により分析した結果、前者はイヌサフランの喫食による食中毒、後者はツキヨタケの誤食による食中毒と判明した。

その他の5件については、残品の形態的特徴等で判定可能であったため、検査依頼がなかった。

Key Word : 食中毒, イヌサフラン, ツキヨタケ, コルヒチン, illudin S

## I はじめに

自然毒による食中毒事例において、理化学的検査が必要な場合は、食品安全衛生課又は管轄保健所長から依頼を受け、当所で原因物質の調査を行っている。

2015年、自然毒による食中毒は7件発生しており(Table 1)、そのうち、植物性自然毒のイヌサフラン及びツキヨタケによる食中毒2件について検査依頼があり実施した。それらの検査概要について報告する。

事例の概要は、保健所及び食品安全衛生課による調査報告からまとめた。当所で調査を行った分析条件や結果については、当所の検査報告書からまとめた。

## II 事例

### 1. イヌサフランによる食中毒

#### 1) 事例の概要

9月24日、医療機関から保健所に、イヌサフランを食べた後、食中毒症状を呈し医療機関で治療していたが、23日死亡した旨の連絡があった。保健所の調査によると、9月22日午後4時頃に自宅の庭に生えていたイヌサフランを食べた後、吐き気、嘔吐、下痢等の症状を呈し、23日午前0時頃、医療機関を受診、入院して治療を行ったが23日午後4時30分頃に死亡した。喫食者及び発症者は1人であった。

#### 2) 試料

検体1：患者吐瀉物で、異物により均質化が困難であったため、採取場所を変えて3か所から検体を採取して試料とした。

検体2：患者宅で採取したイヌサフラン1本について、花、茎、外皮（茎を覆っている部分）、鱗茎（球根）の4部位に分け、それぞれを均質化し試料とした。

### 3) 標準品

コルヒチンは、和光純薬工業㈱の標準品を用いた。コルヒチンを秤量し、メタノールに溶解したものを適宜希釈して標準溶液とした。

### 4) 抽出

試料 5.0 g を量り、メタノール 20 mL を加えてホモジナイズした。これをろ過した後、適宜希釈して試料溶液とした。試料量が 5 g に満たない場合には全量を用いて抽出を行った。

### 5) 分析条件

装置は、高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計(LC-MS/MS) (高速液体クロマトグラフ: Agilent 社製 Agilent 1100 シリーズ, 質量分析計: AB Sciex 社製 API 2000) を用いた。

LC-MS/MS の測定条件は次のとおりである。分析カラムは Scherzo SM-C18 (2.0 mm i. d. × 150 mm, 3 μm) を用い、カラム温度は 40 °C, 移動相は, A 液を 10 mM 酢酸アンモニウム水溶液, B 液をメタノール: アセトニトリル (98:2) とし, グラジエントを行った。移動相流速は 0.2 mL/min とした。イオン化法は ESI(Positive), ターボガス温度は 400 °C, 試料注入量は 5 μL とした。定量用モニタリングイオンは ( $m/z$ ): 400→152, 確認用モニタリングイオンは ( $m/z$ ): 400→282 とした。

### 6) 結果及び考察

検体 1 からは、コルヒチンが検出された(平均 0.0152 mg/g)。検体 2 は、すべての部位からコルヒチンが検出された(花: 0.739 mg/g, 茎: 0.376 mg/g, 外皮: 1.75 mg/g, 鱗茎: 0.391 mg/g)。

検体 1 および検体 2 よりコルヒチンが検出されたことから、事例 1 はイヌサフラン喫食による食中毒と判定した。

検体 2 の定量値をもとに、部位別のコルヒチン量を算出した(花: 2.13 mg, 茎: 1.19 mg, 外皮: 1.60 mg, 鱗茎: 5.75 mg)。中毒患者が喫食したのは地上部であったことから、検体 2 の地上部(花, 茎, 外皮)のコルヒチン含有量を算出すると 4.92

mg となる。コルヒチンの最小致死量は、体重 50 kg の場合 4.3 mg 程度であり<sup>1)</sup>、検体 2 の定量結果より、地上部 1 本の摂食で死亡する可能性があることが示唆された。

イヌサフランは、ユリ目イヌサフラン科に分類され、日本には明治時代に渡来し、園芸植物として広く植えられている<sup>1)</sup>。全国で、イヌサフランやスイセン等の園芸植物による中毒事例が多くみられることから、有毒植物としてあまり知られていない身近な植物の持つ自然毒についての情報発信を行い、これから起こりうる中毒を未然に防ぐことが必要である。

## 2. ツキヨタケの油炒めによる食中毒

### 1) 事例の概要

11 月 9 日、医療機関から保健所に、キノコによる食中毒を疑う患者 1 人が受診した旨の連絡があった。保健所の調査によると、11 月 2 日に山林で採取したキノコを、知人を通じて譲り受け、11 月 9 日午後 0 時 30 分頃自宅で油炒めにして食べた後、喫食者 5 人中 1 人が午後 1 時 45 分頃から吐き気、嘔吐の症状を呈し、医療機関を受診した。採取者及び知人 3 人も当該キノコを食べていたが発症しなかった。喫食者 5 人、発症者 1 人で、入院患者はなかった。

### 2) 試料

患者宅の調理済み残品(キノコの炒め物)及び採取同行者の残品(キノコの塩漬け)をそれぞれ均質化して試料とした。

### 3) 標準品

ツキヨタケからメタノールエキスを作成し、これを各種クロマトグラフィーで分離精製し、illudin S を単離した<sup>2)</sup>。

Illudin S を秤量し、メタノールに溶解したものを適宜希釈して標準溶液とした。

### 4) 抽出及び精製

試料 5.0 g を量り、メタノール 50 mL を加えてホモジナイズした。これをろ過後減圧濃縮して、

10%メタノール 20 mL に溶解し、メタノール 5 mL、水 5 mL でコンディショニングを行った Oasis HLB に負荷した。20%メタノール 5 mL で洗浄後、メタノール 5 mL で溶出した。これを減圧濃縮し、メタノール 1 mL に溶解して試料溶液とした。

#### 5) 分析条件

装置は、高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) (高速液体クロマトグラフ: Agilent 社製 Agilent 1100 シリーズ, 質量分析計: AB Sciex 社製 API 2000) を用いた。

既報<sup>3)</sup>に従い LC-MS/MS を次の条件で測定した。分析カラムは Inertsil ODS-3 (2.1 mm i. d. × 150 mm, 5 μm) を用い、カラム温度は 40 °C, 移動相は 5 mM ギ酸アンモニウム: メタノール (7: 3), 移動相流速は 0.2 mL/min とした。イオン化法は ESI (Positive), ターボガス温度は 450 °C, 試料注入量は 5 μL とした。定量用モニタリングイオンは ( $m/z$ ): 265→217, 確認用モニタリングイオンは ( $m/z$ ): 265→201 とした。

#### 6) 結果及び考察

検査依頼は illudin S が検出されるかどうかの定性試験であり、定量限界を超えた検体について、検出と判定した。本法における illudin S の定量限界は 0.28 μg/g である<sup>2)</sup>。

調理済み残品 (炒め物) 及び採取同行者の残品 (塩漬け) のどちらからも illudin S が検出された (炒め物: 13.2 μg/g, 塩漬け: 37.6 μg/g)。

ツキヨタケに関しては、中毒症状とそれを引き起こす illudin S の量の正確な知見は無いが、illudin S として 1 mg 以上の摂食により中毒が起こると推定されている<sup>2)</sup>。

調理品の場合、illudin S は煮汁にも移行している<sup>2)</sup>。塩漬けの検体について、漬け汁 (塩水) 中からも同程度の量の illudin S が検出された (塩水: 31.4 μg/g)。

炒め物の検体は、ツキヨタケの特徴の一つである黒褐色や暗褐色のしみのある柄の部分が除去され

ていた。そのため、検体の形態からは判別不能であったが、理化学的検査により中毒原因を確定することができた。喫食者 5 人中 4 人が発症しなかった原因としては、感受性及び喫食量の違いや、食用のキノコにツキヨタケが混在していた可能性等が考えられる。

### III. まとめ

2015 年は、イヌサフランによる死亡事例が 1 件発生し、理化学的検査を実施して原因を特定した。ツキヨタケによる食中毒は 3 件発生したが、そのうちの 2 件は残品の形態鑑定により判定された。1 件は残品の形態鑑定で判別不能であったため、理化学的検査を実施して原因を特定した。他にクサウラベニタケによるものが 2 件、ドクササコによるものが 1 件発生したが、いずれも残品の形態鑑定により判定を行った。

自然毒食中毒は、事例 2 のように採取者から譲り受けて喫食した事例も多く報告されている。国や県では、食用と確実に判断できない場合は、「採らない、食べない、売らない、人にあげない」との注意喚起を行っている。

自然毒食中毒が発生した場合は、被害を最小限にするためにも、迅速な原因物質の究明を行うことが必要である。一方で、自然毒食中毒を未然に防ぐための詳細な情報発信を行うことが必要と考える。

### IV 文献

- 1) 厚生労働省ホームページ: 自然毒のリスクプロファイル植物性自然毒,  
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000058791.html> (2016 年 3 月確認)
- 2) 笠原義正ら: LC/MS/MS によるツキヨタケおよび食中毒原因食品中の illudin S の分析, 食品衛生学雑誌, 50, 167-172, (2009)
- 3) 和田章伸, 笠原義正: ツキヨタケの中毒成分 illudin S の LC/MS/MS による分析, 山形県衛生研究所報, 43, 1-5, (2010)

Table 1 2015年に発生した自然毒による食中毒事例の概要

発生	発症時間	発症者数	喫食者数	死亡者数	原因食品	症状	原因物質	
9月	30分後	1	1	0	クサウラベニタケのすまし汁	吐き気, 嘔吐	クサウラベニタケ	
9月	1時間後	1	1	0	クサウラベニタケの煮物	吐き気, 嘔吐, 下痢	クサウラベニタケ	
9月		1	1	1	生のイヌサフラン(推定)	吐き気, 嘔吐, 下痢	イヌサフラン	※
9月	1時間後	4	4	0	ツキヨタケの汁物	吐き気, 嘔吐	ツキヨタケ	
10月	2時間後	2	2	0	ツキヨタケの味噌汁	吐き気, 嘔吐	ツキヨタケ	
10月	6日後	1	2	0	ドクササコの調理品(推定)	四肢の腫脹, 疼痛	ドクササコ	
11月	1時間後	1	5	0	ツキヨタケの油炒め	吐き気, 嘔吐	ツキヨタケ	※

※: 検査依頼のあった事例(依頼のなかった事例は残品の形態鑑定で判定した)

## 資料

## 自然毒一斉分析法の開発と食中毒検査への適用事例

笠原翔悟, 大滝麻井子, 笠原義正

## Development of Simultaneous Analysis Method for Natural Toxins and its Application for Food Poisoning

By Shogo KASAHARA, Maiko OTAKI and Yoshimasa KASAHARA

自然毒による食中毒が起きた際に迅速に原因を究明するための方法として、有毒植物 5 種 14 成分を対象とした LC-MS/MS による多成分一斉分析法を開発した。これにより 5 種の植物を同時に特定することが可能となった。また、2015 年に山形市で発生したイヌサフランによる中毒では、本分析法を用いてコルヒチンの分析を行い原因の特定を行った。さらに、イヌサフランの部位ごとにコルヒチンを定量し、含有量を調査した。また、この調査により 1 本当たり最大で 22 mg のコルヒチンを含むことが明らかとなった。

Key Word: 自然毒 Natural Toxins, 一斉分析法 Simultaneous Analysis Method, 高速液体クロマトグラフ タンデム質量分析計 LC-MS/MS, イヌサフラン Colchicum, コルヒチン Colchicine

## I はじめに

厚生労働省が公表している 2000 年から 2015 年までの食中毒統計によると、山形県は全国で 2 番目に自然毒（植物、キノコ）による食中毒が多い県である。2015 年には 7 件の中毒が発生しており、キノコ 6 件、植物 1 件であった。今年度は、山形県では初めてとなるイヌサフランによる中毒も発生した。

これまで当研究所では、自然毒による中毒が起きた際の原因究明や事前防止を目的として、中毒原因として多いツキヨタケ、トリカブトを中心に分析法の開発や毒成分に関する調査研究を行ってきた。近年では複数の成分を同時に分析可能な自然毒一斉分析法の開発を行っている。しかしながら、山形県では発生していない、もしくは発生数が少ない自然毒に関しての検討はあまり進んでいない。イヌサフランなどの園芸植物の誤食による中毒が近年全国的に増加していることもあり<sup>1)</sup>、これまで対象としてこ

なかつた植物、キノコについても対応する必要が生じている。

自然毒による食中毒の原因究明のための多成分一斉分析法については、昨年標準品を用いた検討結果を報告しているが<sup>2)</sup>、今回新たに、実際の植物を用いて 5 種の植物の同時測定を行ったので報告する。

また、山形市で発生したイヌサフランによる食中毒において、本分析法を用いて毒成分の分析を行った事例について報告する。さらにイヌサフラン中のコルヒチンを部位別に定量し、個体ごとの含有量の比較と最小致死量の推定を行った。

## II 実験

### 試料

分析法検討用試料として、山形市内で栽培および採取したトリカブト、コバイケイソウ、ヒガンバナ、ジャガイモ、イヌサフラン、南陽市内で栽培したチョウセンアサガオを用いた。

## 試薬

標準品：アコニチン，ヒパコニチン，メサコニチン，ジェサコニチンは三和生薬（株），アトロピン，スコポラミン，ジェルビン，ソラニン，ガランタミン，コルヒチンは和光純薬工業（株），ベラトラミン，プロトベラトリンA，チャコニン，リコリンはフナコシ（株），ベラトリンはSigma - Aldrich社のものを用いた。

その他の試薬：ギ酸，ギ酸アンモニウムは和光純薬工業（株）製，メタノールは関東化学（株）製の高速液体クロマトグラフィー用，アセトニトリルはSigma - Aldrich社製の高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

## 装置

高速液体クロマトグラフはAgilent社製1100シリーズ，質量分析装置はAB Sciex社製API2000を用いた。装置の詳細および測定条件をTable 1に示す。

Table 1 測定装置および測定条件

LC装置	Agilent社製 1100シリーズ
カラム	Imtakt社製 ScherzoSM-C18 (2.0 mm i.d. ×150 mm, 3μm)
移動相	A液: 10 mMギ酸アンモニウム水溶液 B液: メタノール: アセトニトリル (98:2)
流速	0.2 mL/min
注入量	5 μL
カラム温度	40 °C
MS/MS装置	AB Sciex社製 API2000
イオン化	ESI

## 自然毒一斉分析法の検討

トリカブトの根，コバイケイソウの葉，チョウセンアサガオの根，ヒガンバナの球根，ジャガイモの芽および緑化させた皮を用いて5種の植物について同時分析を行った。試料の前処理はメタノールで抽出したのちろ過し，希釈した。詳細をFig. 1に示す。

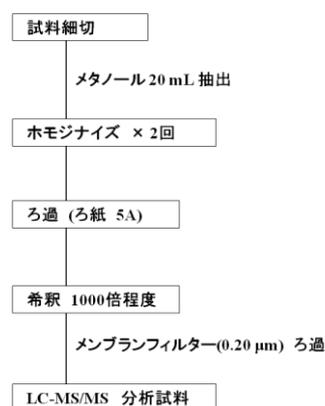


Fig. 1 試料調製方法

## イヌサフラン中のコルヒチン分析 (定性)

2015年に発生したイヌサフランによる中毒において，当所では保健所から提供を受けたイヌサフランの地上部についてコルヒチンの分析を行った。分析方法は今回開発した自然毒一斉分析法に準じた。モニタリングイオンは，プリカーサーイオンとして  $m/z$  400，プロダクトイオンとして定量用に 151，確認用に 282 を用いた。

## イヌサフランの部位別定量

山形市内で採取したイヌサフランを用いて部位別定量を行った。採取したイヌサフランを，花，茎，外皮（茎を覆っている部分）および鱗茎に分け，それぞれの部位について一斉分析法を用いて分析を行った。

## III 結果及び考察

### 一斉分析法の検討

5種の植物の一斉分析クロマトグラムをFig. 2に示す。本実験では，対象とした14成分のうち11成分が検出されており，全ての植物から1種類以上の毒成分が検出された。これにより本方法によって対象植物の一斉同時分析が可能であることが示された。検出されなかったものはバイケイソウ毒のベラトリン，プロトベラトリンAおよびトリカブト毒のヒパコニチンであった。検出されなかった成分のうち，ベラトリン，プロトベラトリンAについては前報<sup>2)</sup>で検討したとおり，試料中に対象成分が含まれていなかった可能性が考えられる。また，本分析法は迅

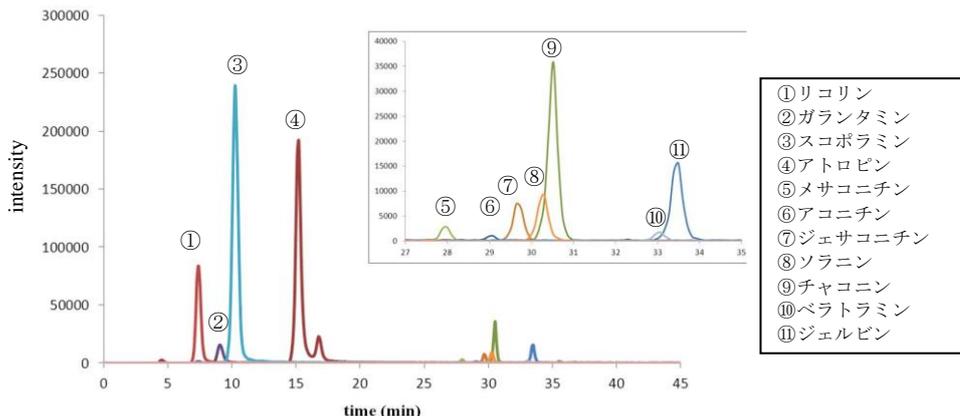


Fig. 2 植物5種一斉分析 LC-MS/MS クロマトグラム

速かつ簡便であることを目的としているため、固相カラムなどによる精製を行わず、希釈によって夾雑成分からの妨害を低減している。このため含有量が低い成分は検出されない可能性がある。今回検討に用いたトリカブトと同地域で採取されたトリカブト中のヒパコニチン含有量が他のアコニチン系アルカロイドに比べ低いことが示されていることから<sup>3)</sup>、本分析法においては検出されなかったものと考えられる。

**イヌサフラン中のコルヒチン分析**

イヌサフランはヨーロッパ中南部～北アフリカ原産の球根植物であり、園芸植物として広く植えられている。有毒成分はコルヒチンであり、全草に含まれている。誤って摂取した場合、嘔吐、下痢、皮膚の知覚減退などを引き起こし重症の場合は死亡することもある<sup>4)</sup>。ヒトの最小致死量は0.086 mg/kgとされる<sup>4)</sup>。

2015年9月24日、医療機関から保健所に、イヌサフランを食べ嘔吐、下痢などの食中毒症状を呈し、医療機関を受診したがその後死亡した旨の連絡があった。

当所で行ったイヌサフランの分析結果として、Fig. 3 にイヌサフランおよびコルヒチン標準品の LC-MS/MS クロマトグラムを示す。モニタリングイオンおよびリテンションタイムが標準品とよく一致しており、コルヒチンであることが確認された。このことから、イヌサフランによる中毒であると判定した。

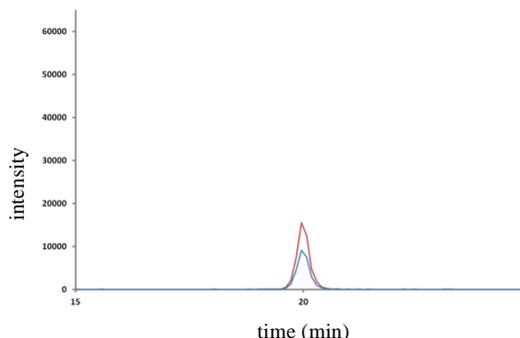
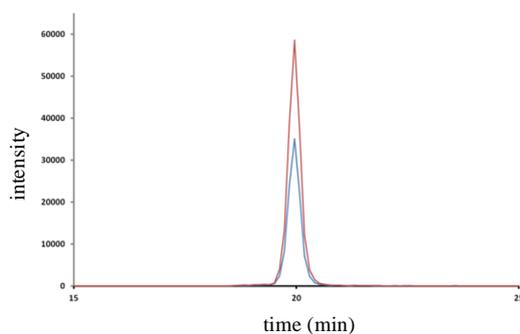


Fig. 3 コルヒチン標準品(上)、イヌサフラン(下)の LC-MS/MS クロマトグラム

**イヌサフランの部位別定量**

イヌサフラン中のコルヒチン含有量と報告されている最小致死量との関係を調べるため、イヌサフランの部位別定量を行った。

4本のイヌサフランについて部位別にイヌサフラン含有量を定量したところ Table 2 に示す結果となった。1本あたりの含有量は2.0 mg/g～4.8 mg/gであり、部位別では、いずれの個体でも外皮部分が最も高濃度であった。また、部位ごとの含有量の差は

外皮>花>鱗茎≧茎となり、全ての個体で同じ傾向であった。コルヒチン総量としては1本あたり8.8～22 mgであり、重量の大きい鱗茎部がもっとも多い結果であった。ヒトの最小致死量が0.086 mg/kgであり、体重60 kgで5.16 mgであることから、1本で最小致死量を超えるコルヒチンが含有されている個体があることが明らかとなった。1本当たりの含有量が最も多い個体では、地下の鱗茎部を除いた含有量が8.6 mgあり、地上部のみでも最小致死量を超えるコルヒチンが含まれる結果となった。

Table 2 イヌサフラン部位別定量結果

	1	2	3	4
花 (mg/g)	0.52	0.74	1.1	0.86
茎 (mg/g)	0.24	0.38	0.64	0.49
外皮 (mg/g)	1.1	1.8	2.4	1.7
鱗茎 (mg/g)	0.17	0.39	0.64	0.54
合計 (mg/g)	2.0	3.3	4.8	3.6
総量 (mg)	8.8	11	22	12

#### IV 文献

- 1) 登田美桜, 畝山智香子, 春日文子: 過去50年間のわが国の高等植物による食中毒事例の傾向, 食品衛生学雑誌, **55**, 55-63 (2014)
- 2) 笠原翔悟, 笠原義正: 中毒原因となる有毒植物の多成分一斉分析法の開発, 山形県衛生研究所報, **48** (2015)
- 3) 笠原義正, 伊藤健: トリカブトおよび食中毒原因食品中のアコニチン系アルカロイドの一斉分析, 食品衛生学雑誌, **42**, 76-81 (2008)
- 4) 厚生労働省ホームページ: 自然毒のリスクプロファイル  
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000058791.html>  
 (2016年4月閲覧)

## 資料

## 2015年の山形市等における蚊の発生状況調査

新藤道人, 小川直美, 酒井真紀子, 太田康介, 安孫子正敏, 伊藤真由美

## Studies of the Distribution and the Seasonal Occurrence of Mosquitoes around Yamagata city in 2015

By Michito SHINDO, Naomi OGAWA, Makiko SAKAI, Kosuke OTA,  
Masatoshi ABIKO and Mayumi ITO

山形市等の市街地において、6月から10月までトラップ法と人囿法の二つの方法で蚊の成虫の調査を行った。7種の蚊の生息が確認され、優占種はヒトスジシマカとアカイエカ群であった。7月から9月まで多くの蚊が確認され、蚊の生息密度は草丈の長い雑草がある地点で高かった。捕集方法については、蚊の種構成や生息密度を調査するにはトラップ法が適しており、日中に活動する蚊を迅速に数多く捕獲するためには人囿法が適していることが分かった。

Key Word : 感染症媒介蚊, 種構成, 季節的消長, ヒトスジシマカ, アカイエカ群

### I はじめに

デング熱, チクングニア熱, ウエストナイル熱等の蚊媒介感染症が熱帯, 亜熱帯地域を中心とする各国で流行している。日本国内でも蚊媒介感染症の国外感染が報告されており, 2014年には70年ぶりにデング熱の国内感染症例が報告された<sup>1)</sup>。また, 2015年以降, 中南米地域ではジカ熱が流行している。ブラジルでは多くの小頭症の新生児が報告されており, 2016年4月に米国CDCは妊婦のジカウイルス感染が小頭症等の先天異常の原因になると結論付けた<sup>2)</sup>。

これらの蚊媒介感染症は, 感染者から吸血した蚊によって感染が拡大する。媒介蚊はヒトスジシマカなど, 山形県内にも普通に生息する蚊であり, 蚊媒介感染症侵入時の迅速な対策のために, 平時からの蚊の生息状況のモニタリングが重要である。しかし, 山形県における蚊の種構成や季節的消長について調べたものはほとんどない。

そこで, 山形県における蚊の現状を知るため, 山

形市等における蚊の発生状況調査を行った。

### II 調査方法

#### 1 調査地点

山形市とその周辺市の3施設(山形県保健福祉センター, 学校, 公園)とした。

#### 2 調査期間

2015年6月から10月に毎週1回行った。

#### 3 調査方法

各調査地点において, トラップ法と人囿法の2つの方法で捕集を行った。トラップ法は, CDC型トラップ法に準拠した電池式ライトトラップ(猪口鉄工所製)の吸引口付近に1kgのドライアイス吊るし, 地上約1mの高さに設置し, 午前10~12時頃から翌日まで約24時間捕集を行った。人囿法は, 調査地点1地点につき4カ所の捕集ポイントを決め, 捕集ポイントに人が立ち8分間捕虫網を振って蚊を捕集した。

#### 4 種の同定

捕獲した蚊は、 $-25^{\circ}\text{C}$ で24時間殺処理し、実体顕微鏡下で形態学的に種の同定を行った。蚊の分類体系と種名は津田<sup>3)</sup>に従った。なお、アカイエカおよびチカイエカは形態的に酷似しているため、アカイエカ群とした。

#### 5 統計学的処理

2つの捕集方法による種構成と雌雄の内訳の違いについて、カイ二乗検定を用いて有意差を調べた。種構成については、ヒトスジシマカ、アカイエカ群、シナハマダラカ以外の種をその他としてまとめて処理し、合計4グループの構成について検定を行った。雌雄の内訳については、雌雄の判別ができなかった蚊を除いて検定を行った。

### III 結果および考察

全地点を合計した蚊の種別の捕獲数を表1に示した。合計の捕獲数は人囀法の方が多く、トラップ法の約2.3倍であった。種構成は、トラップ法ではアカイエカ群が51%、ヒトスジシマカが36%など、人囀法ではヒトスジシマカが87%などであった。二つの捕集方法によって捕集された蚊の種構成を、カイ二乗検定を用いて検定したところ、有意差が認められた(カイ二乗値=109.63,  $p < 0.001$ )。トラップ法では約24時間捕集するため、ヒトスジシマカなどの昼行性の蚊とアカイエカなどの夜行性の蚊の両方が捕獲されたのに対し、人囀法では捕集を行った時間帯が午前9時から11時頃であったため、昼行性の蚊のみが捕獲されたと考えられる。

捕集方法別の雌雄の内訳を図1に示した。メスの割合はトラップ法が90%だったのに対し、人囀法では60%であった。雌雄の内訳についても、種構成と同様にカイ二乗検定を用いて検定したところ、有意差が認められた(カイ二乗値=27.22,  $p < 0.001$ )。人囀法ではトラップ法に比べオスの蚊が多く捕獲されたことから、吸血行動をしていない蚊も含めて捕獲されたと考えられる。

表1 種別の捕獲数(全地点の合計)

種名	捕獲数(頭)	
	トラップ法	人囀法
ヒトスジシマカ	32	175
アカイエカ群	45	8
シナハマダラカ	0	12
キンイロヤブカ	0	3
ハマダライエカ	4	0
フタクロホシチビカ	2	0
ヤマトヤブカ	3	0
分類不能	2	4
合計	88	202

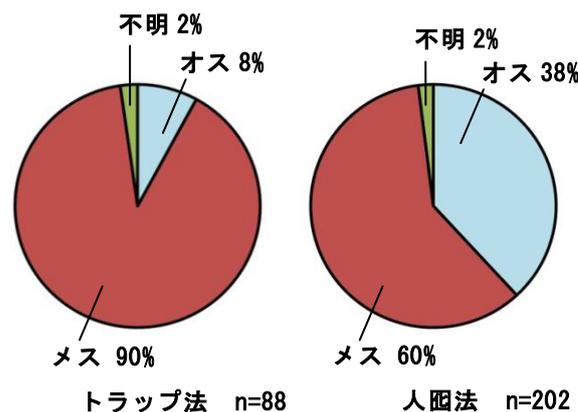


図1 雌雄の内訳

調査地点別の捕獲数を表2に示した。最も多く蚊が捕獲された山形県保健福祉センターは、丈の長い雑草が多く、周囲に高い建物が多いため風通りが悪い状況であることから、蚊が捕獲されやすい環境であったと考えられる。2番目に多く捕獲された学校は蚊の発生源となる墓地に隣接しているポイントがあり、草丈はあまり長くないものの、雑草が生えている時期もあった。最も捕獲数が少なかった公園は、常に手入れが行き届いており、雑草はほとんどみられなかった。また、調査ポイントの近くに池はあったものの、夏場は水がなく幼虫の発生源にはなっていなかった。

表 2 調査地点別の捕獲数

調査地点	捕獲数(頭)
山形県保健福祉センター	162
学校	92
公園	36

トラップ法の月別の捕獲数を図 2 に、人囮法の月別の捕獲数を図 3 に示した。トラップ法では 7 月、人囮法では 9 月に捕獲数が最も多かった。特に人囮法では 9 月の捕獲数が極端に多く、そのほとんどがヒトスジシマカであった。調査日の気温を比較すると、7 月は最高気温・最低気温ともに最も高く、1 日を通して蚊の活動至適温度の時間帯が最も長かったため、トラップ法での捕獲数がピークとなり、9 月は日中の気温が蚊の活動至適温度であったため、人囮法での捕獲数がピークとなったと推測される。

IV 文献

- 1) 三浦邦治 他：病原微生物検出情報, Vol. 36, No. 3 (No. 421), 35-37, 2015
- 2) CDC : CDC Concludes Zika Causes Microcephaly and Other Birth Defects, CDC Newsroom, 13 April 2016
- 3) 津田良夫:蚊の観察と生態調査, SCIENCE WATCH, 北隆館, 東京(2013), 口絵 I ~ X X

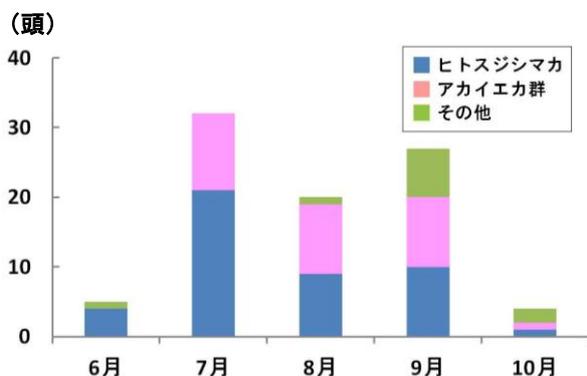


図 2 トラップ法の月別捕獲数

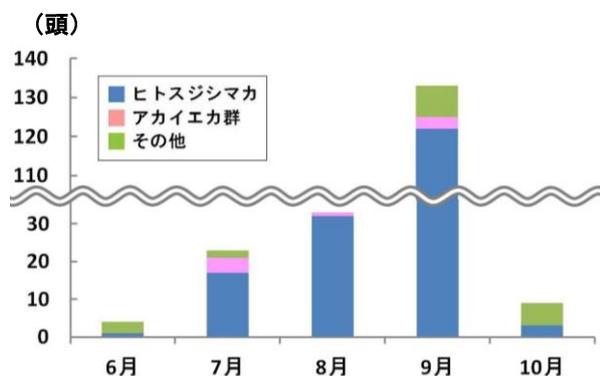


図 3 人囮法の月別捕獲数