

研究成果報告書（1）

研究課題名	食品中のノロウイルス検出法に関する研究
担 当	保健科学部 上席専門研究員 佐藤直人
<p>1 目的</p> <p>ノロウイルス（NoV）は、国内における食中毒の主な原因ウイルスである。平成27（2015）年は事件数、患者数ともに第1位を占めた。NoV 食中毒事例における原因食品の特定は、感染経路の究明や再発防止策を図る上で極めて重要である。しかし、食品中に含まれる NoV 量は極めて微量であるため、通常実施している方法では NoV が検出されない事例が多い。このため、食品中の NoV をより高感度に検出する方法の開発が望まれている。そこで本研究では NoV 検出感度の向上を目的として、環境水中のウイルス検出に用いられている陰電荷膜吸着誘出法（以下、陰電荷法）に着目し、平成27年度から検討を行ってきた。本年度は一般食品について本法の有用性を検討したのでその結果を報告する。</p> <p>2 方法</p> <p>[添加用 NoV] 2015年に県内で発生した感染性胃腸炎集団事例において、NoV GII.4 Sydney_2012 が検出された糞便を選定した。糞便は滅菌 PBS(-)で10%乳剤とし、12000 rpm で20分間遠心した後その上清を滅菌 PBS(-)で適宜希釈し添加用 NoV とした。</p> <p>[試験用試料] パン、米飯、マグロ刺身、鮭の刺身、卵焼き各10gをストマッカー袋にいれ添加用 NoV 及び50 ml の滅菌 PBS(-)を加え、ストマッカー袋の上から手でよく揉みほぐした後フィルターろ液を以下の試験に供した。</p> <p>[陰電荷法] ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル（国立感染症研究所監修）中の「環境水（下水、河川）からのポリオウイルス検出法」に示される方法を一部改変して実施した。試験用試料に2.5M MgCl₂を最終濃度0.05Mになるよう加えた後陰電荷フィルターで吸引ろ過し、フィルター細切後3%Beef extract に誘出した。誘出液は High Pure Viral RNA Kit (Roche)により RNA を抽出し、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied biosystems)による逆転写反応を行い cDNA を作成した。作成した cDNA は厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知「ノロウイルスの検出法について」（平成19年5月14日食安監発第0514004号）に準じてリアルタイム PCR 法により定量試験を行い、得られた定量値から回収率を算出した。</p> <p>3 結果</p> <p>回収率はパンが0.11%で、その他米飯、マグロ刺身、鮭の刺身、卵焼きはいずれも0.1%を下回る極めて低い値となった。回収率が低い要因を調べるため、パンを用いてストマッカーフィルターろ液および陰電荷フィルターろ液の回収率を算出したところ、ストマッカーフィルターろ液が86.5%、陰電荷フィルターろ液が14.4%であったことから、回収率低下の要因は陰電荷フィルターに捕捉されたウイルスを十分に溶出できていないことが推察された。そこで陰電荷フィルターからの溶出方法として、Hata ら（2011）の報告に従い陰電荷フィルター濾過後の酸洗浄-アルカリ溶出を試みたが、回収率の向上にはつながらなかった。</p> <p>4 今後の研究方向等</p> <p>今回、食品中のノロウイルス検出における陰電荷法の有用性を検証した結果、陰電荷法は通知法の回収率を下回る結果となった。陰電荷フィルターを通過したろ液中の NoV 量は10%程度であることから、NoV はフィルターに捕捉されたままの可能性が推察された。今後フィルターからの回収方法についてさらに検討を加え、検出率の向上を目指していく。</p>	

研究成果報告書（２）

研究課題名	食品中の放射性物質測定に関する研究
担 当	衛生科学部 主任専門研究員 佐々木陽

1 緒言

本研究ではゲルマニウム半導体検出装置とシンチレーション式放射能測定器で得られる測定結果を比較し、二つの測定方法とその値との関係について検討を加えてきた。昨年度は福島市内の土壌及び玄米を模擬の放射性物質試料とし、1L、0.5L のマリネリを使った場合と U8 容器を使った場合における放射性セシウムからでるセシウム 134、137 の量を計測した。その結果、測定場所の温湿度の影響は少なく、できるだけ長時間バックグラウンドと計測時間を取ることで、ゲルマニウム半導体検出装置により近い値が得られることを確認した。また、ゲルマニウム半導体検出装置で得られる値よりもシンチレーション式放射能測定器で得られる値の方が高くでる傾向があることもわかった。しかしながら後者の方法では、同一条件で連続測定しても値は刻々と変わっていく。また、U8 容器を使つての測定ではさらにその条件は厳しいことがわかったので、本年度は県南地域の河川土壌を下流から上流に向かって採取し、U8 容器を用いてゲルマニウム半導体検出装置とシンチレーション式放射能測定器による放射能を計測し、その結果から二つの測定方法の関係性についてさらに検証を行ったので報告する。

2 方法

2-1 実験試料

実験に用いる放射性物資を含んだと思われる土壌は、白鳥川、衣川から採取した。試料は河川域の水のない場所から採取し、下流から上流にむかって数か所選定した。その取り方については規則を設けていない。採取した試料はビニール袋に入れ、十分に乾燥した後測定に供した。

2-2 実験装置

測定に用いたゲルマニウム半導体検出器は ORTEC 社製 GEM30-70-XLB-C（ハイブリットタイプ）、シンチレーション式放射能測定器は CAPINTEC 社製の CAPTUS-3000B 型である。

2-3 測定方法

- 1) 乾燥した試料は U8 容器に充填しゲルマニウム半導体検出器で放射線量を測定した。その後同一の U8 容器のサンプルをシンチレーション式放射能測定器を用いて測定を行った。
- 2) 測定時間はゲルマニウム半導体検出器では 3600 秒、シンチレーション式放射能測定器では 3600 秒のバックグラウンド、900 秒から 10800 秒まで条件を変えて計測を行った。

3 結果

3-1 U8 マリネリを使用した結果

白鳥川で試料を採取した六ヶ所の位置を図1に、ゲルマニウム半導体検出器で放射線量を測定した結果を表1に示した。測定時間はいずれも3600秒である。またCs134とCs137、T-Csの関係を図2に示した。

上流に向かうにしたがってT-Cs値が高くなる傾向が見られ、Cs134と137は直線関係にあり対応していることが良くわかった。

図1 白鳥川河川土壌の採取場所



表1 白鳥川河川土壌のRI (ゲルマで測定)

※

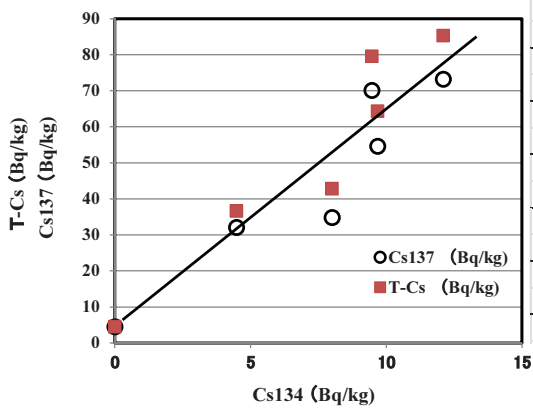


図2 白鳥川河川土壌のRI関係性1 (ゲルマで測定)

No	DAY	Time	M Time (sec)	Cs134 (Bq/kg)	Cs137 (Bq/kg)	T-Cs (Bq/kg)	K40 (Bq/kg)
①	2016.10.6	10:15	3600	9.68	54.6	64.3	323
②		10:40	3600	8	34.8	42.8	191
③		11:00	3600	4.48	32.1	36.6	222
④		11:15	3600	0	4.5	4.5	275
⑤		11:35	3600	12.1	73.2	85.3	190
⑥		11:50	3600	9.47	70.1	79.6	258

※ T-Cs=Cs134+Cs137

表2 白鳥川河川土壌のRI (NaIで測定)

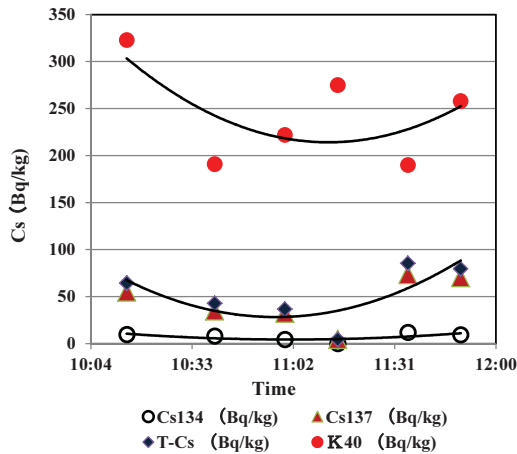


図3 白鳥川河川土壌のRI関係性2 (ゲルマで測定)

白鳥川河川土壌のRI測定結果 (NaI) 1							
No	測定日	Time	M Time (sec)	Cs134 (Bq/kg)	Cs137 (Bq/kg)	T-Cs (Bq/kg)	K40 (Bq/kg)
1	201812.1		3600	0	58	58.0	
	2018.10.12			0	66	66.0	
2	201812.1		5400	19	60	79.0	
	2018.10.12			0	59	59.0	
ゲルマの値				9.68	54.6	64.3	323

白鳥川河川土壌のRI測定結果 (NaI) 2							
No	測定日	Time	M Time (sec)	Cs134 (Bq/kg)	Cs137 (Bq/kg)	T-Cs (Bq/kg)	K40 (Bq/kg)
1	201812.1		3600	0	37	37.0	
	2018.10.14			0	41	41.0	
2	201812.1		5400	0	41	41.0	
	2018.10.14			8.1	42	50.1	
ゲルマの値				8	34.8	42.8	191

白鳥川河川土壌のRI測定結果 (NaI) 3							
No	DAY	Time	M Time (sec)	Cs134 (Bq/kg)	Cs137 (Bq/kg)	T-Cs (Bq/kg)	K40 (Bq/kg)
1	201812.1		3600	0	47	47.0	
	2018.10.17			0	45	45.0	
2	201812.1		5400	15	44	59.0	
	2018.10.17			0	40	40.0	
ゲルマの値				4.48	32.1	36.6	222

図3に示すようにK40とCsの値が測定場所において似た傾向をとっていることから、植物体が多く存在する場所ではCsの量が多いことがわかった。

表2には同じ試料をシンチレーション式放射能測定器で計測した時の検出データーを示してある。また図4には採取した場所と測定方法の違いによる値の関係について示してある。いずれもシンチレーション式放射能測定器で測定した値の方が高くなる傾向が見られた。

採取場所	T-Cs (Bq/kg)	
	ゲルマ	NaI
①	64.3	62.8
②	42.8	48.0
③	36.6	42.0
④	4.5	0.0
⑤	85.3	98.0
⑥	79.6	109.0

図4 白鳥川河川土壌のRI関係性2

4 まとめ

土壌中の放射性セシウムの計測を同一河川の河口から上流に向かって行った結果、シンチレーション式放射能測定器でも十分にモニタリングできることがわかった。また、ここで得られた結果は、食品中の放射性物質測定に関する実験結果とも一致している。

研究成果報告書（3）

研究課題名	医療機関との連携による薬剤耐性菌の解析
担 当	保健科学部 上席専門研究員 岩淵香織
<p>1 目的</p> <p>薬剤耐性菌のひとつである ESBL (extended-spectrum β-lactamase) 産生菌 (以降 ESBL) の岩手県内の発生状況の把握のため、前回 (平成 26-27 年度) の研究に引き続き、県内の医療機関と協力し検出された ESBL の解析を行った。これまでは県内陸部の医療機関で検出された ESBL の解析を行ったが、今回は県南部の医療機関に協力を得て地域を広げて調査を行った。また、遺伝型の変化を監視するため、1つの医療機関で平成 23 年 10 月から平成 27 年 4 月に検出された ESBL と、平成 27 年 5 月から平成 28 年 4 月までに検出された ESBL の遺伝子型の比較を行った。</p> <p>なお、MRSA (Methicilin Resistant Staphylococcus aureus) による院内感染の疑い事例及び、CRE (Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae) による院内感染疑い事例について、アウトブレイク (流行) の予防及び耐性菌の拡散予防のため、分離された耐性菌の検査を実施した。</p> <p>2 方法</p> <p><u>ESBL 解析</u> :</p> <p>(1) 材料</p> <p>県内 3 カ所の医療機関で、平成 27 年 5 月から平成 28 年 12 月にかけて検出され、当センターに提供された 93 菌株の ESBL 産生菌株を対象とした。菌種は、<i>Escherichia coli</i> が 81 株 (87.1%)、<i>Klebsiella pneumoniae</i> が 4 株 (4.3%)、<i>Proteus mirabilis</i> が 8 株 (8.6%) で、これらを検出した材料は、尿検体 50 検体 (53.8%)、呼吸器検体 22 検体 (23.6%)、静脈血 6 検体 (6.5%)、動脈血 4 検体 (4.3%)、その他 10 検体 (11.8%) であった。</p> <p>(2) 血清型別</p> <p>大腸菌の血清型別は、市販抗血清 (デンカ生研) を用い、O 血清群別はスライド凝集反応法で行った。また、H 血清群別は、クレーギー管を通し運動性を増強した菌について、試験管法で行った。</p> <p>(3) ESBL 遺伝子の検出</p> <p>TEM 型、SHV 型および CTX-M-1 group、CTX-M-2 group、CTX-M-9 group の ESBL 遺伝子について、PCR 法による検出を行った^{1) 2)}。</p> <p><u>院内感染疑い事例</u> :</p> <p>(1) MRSA 事例</p> <p>患者から分離された MRSA 6 株と環境ふき取り株 1 株について、PFGE 法及び POT 法による分子疫学解析を実施した。PFGE 法は Lysostaphin で消化、<i>Sma</i> I による制限酵素処理後、CHEF III で 5.31~34.9sec、19 時間泳動した³⁾。POT 法は Cica Geneus Staph POT kit (関東化学) を用いた。</p> <p>(2) CRE 事例</p> <p>同時期に院内で患者から分離された 3 株の CRE (<i>Enterobacter cloacae</i> 2、<i>Enterobacter aerogenes</i> 1) について、カルバペネマーゼ遺伝子 (NDM、KCP、IMP-1、IMP-2、VIM-2、OXA-48) の PCR 法による検出を実施した⁴⁾。</p> <p>3 結果</p> <p><u>ESBL 解析</u> :</p> <p>(1) 血清型別</p> <p>大腸菌 81 株の O 群型別は、O25 が 48 株、O164 が 2 株、O1 が 1 株、OUT (型別不能) が 30 株であった。</p> <p>(2) ESBL 遺伝子の検出</p>	

提供された 91 株から、CTX-M-1 group が 20 株、CTX-M-2 group が 8 株、CTX-M-9 group が 64 株、SHV が 4 株、TEM が 21 株検出された（複数遺伝子保有株あり）。

(3) 同一医療機関における ESBL の保有遺伝子型の比較

平成 23 年 10 月から平成 27 年 4 月まで検出された ESBL 62 株（前回）と、平成 27 年 5 月から平成 28 年 4 月までに検出された ESBL 60 株（今回）について遺伝子型を比較した結果、今回も前回と同様に CTX-M-9 group が多かった。また、前回に比べ、耐性遺伝子を複数保有する株が増加した（図 1）。

院内感染疑い事例：

(1) MRSA 事例：一致する PFGE パターンは 2 種類あった。患者 2 名が一致したものと、患者 1 名とふき取り株が一致したものである。POT 法でも同様の結果であった（図 2）。この結果について速やかに医療機関に情報提供したところ、原因を突き止め予防対策に活用された。

(2) CRE 事例:3 株ともカルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。

4 今後の研究方向等

岩手県における ESBL は、菌種は *E. coli* が多く、検出された遺伝子は CTX-M-9 group が 91 株中 64 株（70.3%）と最も多かった。なお、耐性遺伝子を複数保有する株が多くなっており、今後も引き続き、県内における ESBL の解析を行い、県内動向を監視する必要がある。

なお、世界的に増加が問題となっている、CTX-M-1 group に属する CTX-M-15 産生の O25:H4 ST131 が疑われる *E. coli* が 10 件検出された。MLST (Multilocus sequence typing) が ST131 である特定クローンが拡散しているといわれており⁵⁾、県内動向の解明のため MLST 解析する必要がある。

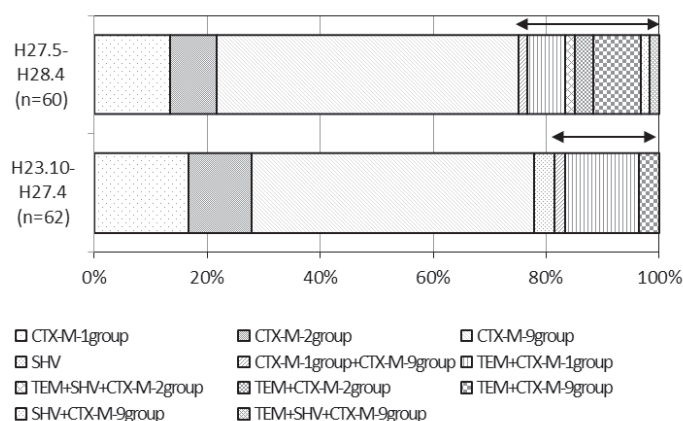


図 1 同一医療機関における保有遺伝子型の比較

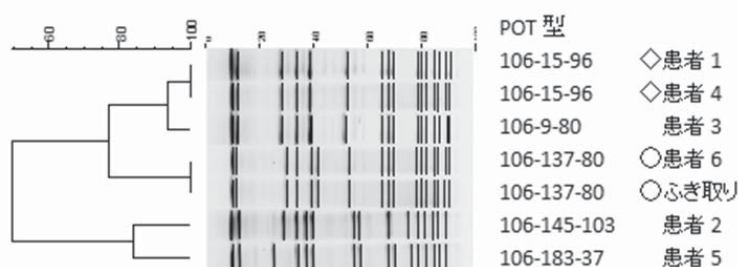


図 2 MRSA の分子疫学解析結果

また、CRE については、早期に探知して、拡散を防ぐ必要がある。CRE は遺伝子検査による解析が必要であることから、今後も医療機関と連携して検査をしていく必要がある。

文献

- 1) Shibata, N., et al. :Antimicrob. Agents Chemother. , 50 (2), 791-795, 2006
- 2) Yagi, T., et al. :FEMS Microb. Lett. , 184, 53-56, 2000.
- 3) 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究平成 16 年度総括・分担研究報告 P125-129
- 4) 薬剤耐性菌研修会資料(2006 年 1 月修正 Ver.2. 2_国立感染症研究所細菌第二部第一室)
- 5) Pitout J D, Launland K B:Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*:an emerging public-health concern.Lancet Infect Dis 2008;8:159-66

研究成果報告書（４）

研究課題名	岩手県における小児呼吸器ウイルスの疫学に関する研究
担 当	保健科学部 上席専門研究員 高橋雅輝
<p>1 目的 小児の呼吸器疾患起因ウイルスの検出を行うとともに、患者の疫学的背景との関連を解明することにより、充実した感染症発生動向調査事業の推進と、感染症発生時の行政検査に活用する。</p> <p>2 材料及び方法 (1)平成 28 年 1 月から平成 28 年 12 月までの間に、もりおかこども病院を受診した上気道炎及び下気道炎患者の咽頭ぬぐい液 133 検体について、呼吸器ウイルスの検出並びに血清型別/遺伝子型別を行った。 (2) 2013 年から 2015 年に検出されたパラインフルエンザウイルス 3 型 (HPIV3) 34 株の hemagglutinin-neuraminidase (HN) 遺伝子について、Bayesian Markov chain Monte Carlo (Bayesian MCMC) 法による時系列進化系統樹解析及び Bayesian Skyline Plot (BSP) 法によるウイルスポピュレーション変動予測解析を行った。 (3) 平成 28 年 9 月～10 月に奥州保健所管内で発生した RS ウイルス感染症の流行の原因となった RS ウイルスの分子系統解析を行った。小児の咽頭ぬぐい液 8 検体を採取し、PCR により M 遺伝子サブタイピングの後、G 遺伝子配列に基づく分子系統解析を行った。</p> <p>3 結果及び考察 (1) 133 検体中 88 検体 (66.2%、2 種類以上のウイルスが検出された 14 例含む) から呼吸器疾患関連ウイルスが検出された。検出されたウイルスの内訳は、ライノウイルス (HRV) が 36 例 (39.8%)、パラインフルエンザウイルス (HPIV) が 18 例 (20.5%)、RS ウイルス (RSV) 及びヒトメタニューモウイルス (HMPV) がそれぞれ 14 例 (15.9%) であり、陽性検体の 92.0% を占めた。既報のとおり平成 28 年もこれらの代表的な呼吸器ウイルスの流行が示唆された。そのほか、エコーウイルスが 4 例 (4.5%)、アデノウイルスが 12 例 (13.6%)、C 型インフルエンザウイルスが 2 例 (2.3%)、A 型インフルエンザウイルス H3 亜型が 1 例 (1.1%)、ヒトパレコウイルスが 1 例 (1.1%) 検出された。本県初の検出例となった C 型インフルエンザウイルスは 2 株ともサンパウロ系統であった。 (2) 参照株 26 株を加えた 60 株の HPIV3 の HN 遺伝子系統樹は Lineage 1～3 に大別され、岩手県検出株は 31 株が Lineage 1 に、3 株が Lineage 2 に分類された (図 1 上)。BSP 解析では Lineage 1 (参照株を含む 40 株) が 2000 年以降増加を示した (図 1 下)。一方で、Lineage 2 (参照株を含む 13 株) は減少傾向を示しており、2005 年～2010 年に Lineage 1 及び 2 で起こった変異は、ウイルスポピュレーションの変動に大きな影響を与えたものと推察された。以上から、2013 年～2015 年に盛岡市近郊で流行した HPIV3 の多くは Lineage 1 に属しており、2015 年以降もこの系統に属する株が流行の中心になると考えられた。 (3) 奥州保健所が探知した RS ウイルス感染症流行の原因となった RS ウイルスのサブタイピングを行ったところ、サブタイプ A (RSV-A) が 3 株、サブタイプ B (RSV-B) が 5 株であった。G 遺伝子型別では、RSV-A は ON1 に、RSV-B は BA9 に分類された (図 2)。ON1、BA9 ともに 2015 年～2016 年に国内で流行した遺伝子型であった。RS ウイルスの血清型は単一でありながら、ヒトの免疫応答が不確実なため生涯に何度も再感染するとされ、ワクチンの早期開発が望まれている。また、WHO による世界的 RS ウイルス感染症サーベイランスが予定されている (2016 年 12 月リリース) ことから、今後も県内の RS ウイルス感染症サーベイランス及びウイルスの詳細解析の重要性が増していると思われる。</p> <p>4 今後の研究方向等</p> <ul style="list-style-type: none"> ・平成 29 年度においても下気道炎等検体からのウイルス検出を継続し、ウイルスの詳細解析を行う。 ・HPIV3 について Bayesian MCMC 法、BSP 解析のほか、HN 蛋白の構造解析を行う。 ・RSV の変異を監視するため、系統解析を進展させる。 	

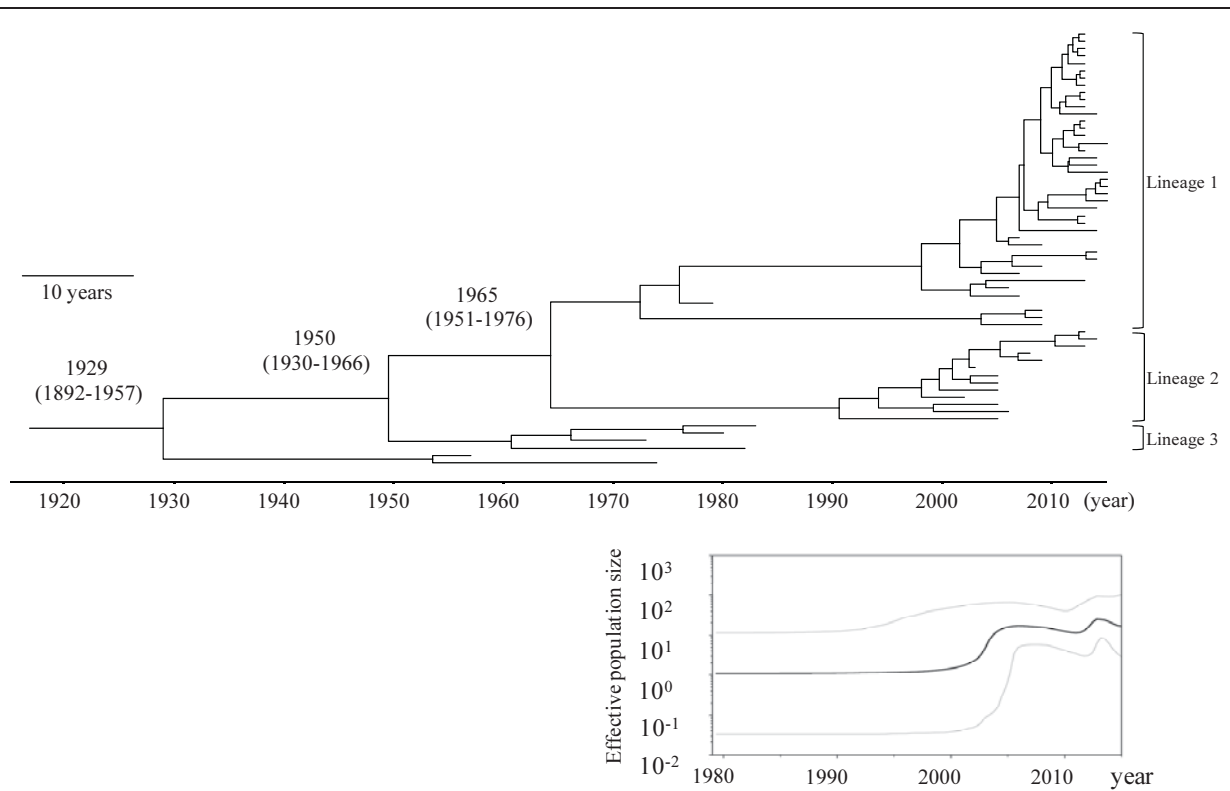


図1 (上) Bayesian MCMC 系統樹：系統樹の数値は分岐年、カッコ内は信頼区間を示す。(下) 1980年以降の BSP による Lineage 1 のポピュレーション変動推定：実線は平均値、グレー線は信頼区間を示す。

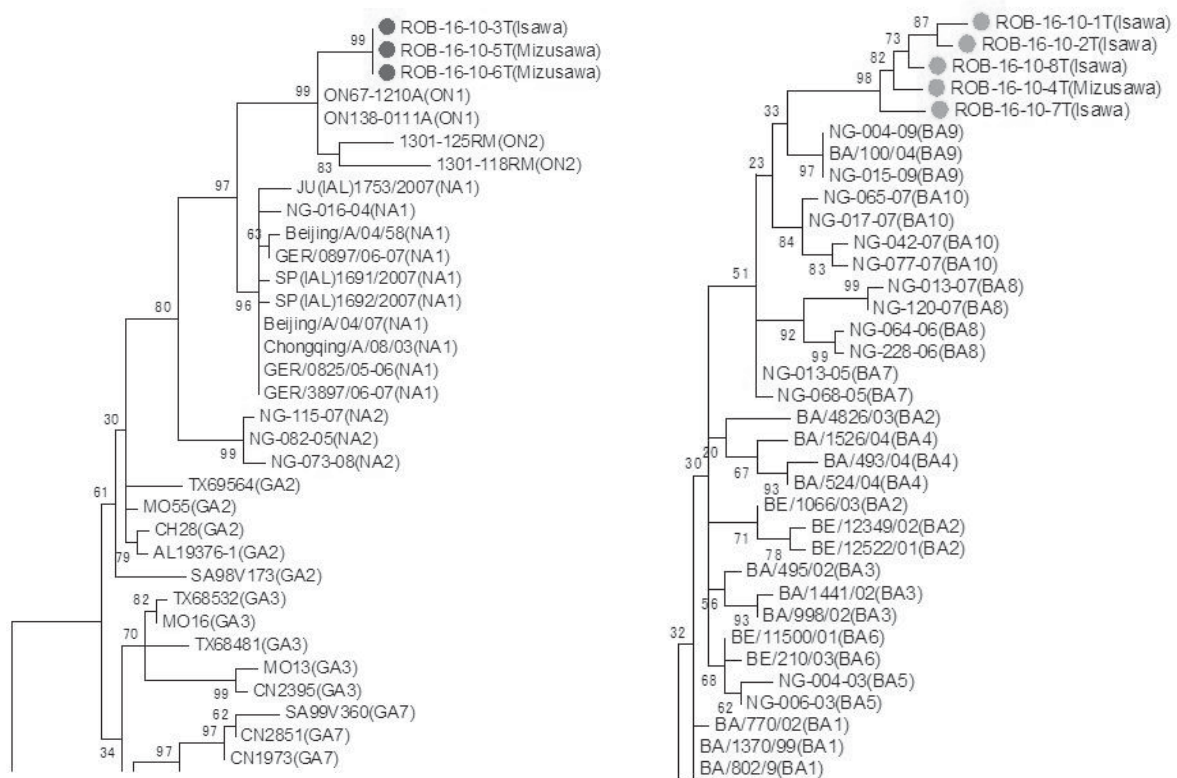


図2 RS ウイルス G 遺伝子型に基づく系統樹：(左) RSV-A、(右) RSV-B

研究成果報告書（5）

研究課題名	岩手県新人保健師研修の評価に関する研究																
担 当	保健科学部 主査専門研究員 三浦紀恵																
1 目的	<p>地域保健を取り巻く環境が複雑・多様化する中で、保健師に求められる役割も変化し業務も増大する一方、保健師の基礎教育の変化による新任期の実践能力の低下への指摘や分散配置等による専門知識・技術の継承機会の減少等により、現任教育の体制整備が課題となっている。また、岩手県内の自治体では、平成23年3月の東日本大震災津波以降、保健師の積極的な採用がみられ、採用時から東日本大震災被災者への健康支援活動が円滑に行われることが求められている。そこで平成24年度から毎年実施している「岩手県新人保健師研修会」の研修評価に取り組むことで成果と課題を明らかにし、より効果的な研修を目指すことを目的とする。</p>																
2 方法	<p>【新人保健師への調査】</p> <p>(1) 平成27年度第1回新人保健師研修会を受講した同年度採用新人保健師24名を対象に、研修内容が業務に活かされているか1年後の変化について質問紙調査を実施。カークパトリックの研修効果測定の4段階評価を参考にし、レベル3（受講者の行動変容）とレベル4（行動変容による組織への影響）の研修評価を行った（表1）。</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">区 分</th> <th style="text-align: center;">測 定 内 容</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">レベル1</td> <td style="text-align: center;">反応</td> <td style="text-align: center;">受講者の満足度</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">レベル2</td> <td style="text-align: center;">学習</td> <td style="text-align: center;">受講者の理解度</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">レベル3</td> <td style="text-align: center;">実行</td> <td style="text-align: center;">受講者の行動変容</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">レベル4</td> <td style="text-align: center;">成果</td> <td style="text-align: center;">行動変容による組織への影響</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">表1 カークパトリックの研修効果測定4段階評価</p> <p>(2) (1)のうち、調査協力の得られた4名を対象に、できるようになったこと、研修受講1年後の変化についてインタビュー調査を実施した。</p> <p>(3) 研修では、「記録の書き方」と「面接技法」について講義と演習を実施し、講義直前に質問紙調査を実施している。</p> <p>【現任教育担当保健師への調査】</p> <p>(1) 平成27年度第1回新人保健師研修会を受講した同年度採用の新人保健師24名が所属する15か所の現任教育担当者に、職場で実施している現任教育の内容、組織での育成について質問紙調査を実施。</p> <p>(2) (1)のうち、調査協力の得られた3名を対象に、研修受講1年後の職場での新人保健師の変化、職場内研修の現状及び課題についてインタビュー調査を実施した。</p>		区 分		測 定 内 容	レベル1	反応	受講者の満足度	レベル2	学習	受講者の理解度	レベル3	実行	受講者の行動変容	レベル4	成果	行動変容による組織への影響
区 分		測 定 内 容															
レベル1	反応	受講者の満足度															
レベル2	学習	受講者の理解度															
レベル3	実行	受講者の行動変容															
レベル4	成果	行動変容による組織への影響															
3 結果	<p>【新人保健師への調査】</p> <p>(1) 24名中18名（回収率75.0%）の回答。</p> <p>(2) レベル3の評価。受講直前と受講1年後をウィルコクソンの順位和検定により解析をしたところ、記録の書き方は6項目中5項目（「記録を書く目的」「記録の書くべき項目」「事実と判断を区別」「書くポイント」「改ざんを防ぐ方法」）、面接技法ではすべての項目（「面接の意味」「面接の環境」「面接時の態度・姿勢・話し方」「面接の基本」「面接の方法」「面接の技法」）において有意な差が認められ、実践の定着が伺われた。自由記載からは、記録を書くポイントを意識しながら記載していること、目的を持って家庭訪問に行くようになった、相談者が話をするようになったと感じる等が挙げられていた。</p>																

レベル4の評価。新人ができるようになることで職場等に影響を与えたと回答した割合は、記録の書き方では27.8%、面接技法では38.9%であった。自由記載からは、研修で記録の書き方を学ぶことで他の保健師への周知や同僚保健師が自分の記録を見直すきっかけとなっていること、面接技法では相談者のニーズを把握することでアドバイスができるようになり、必要な支援や関係機関との連携が図れるようになったことが挙げられていた。

(3) インタビュー対象者は、市町村保健師3名、保健所保健師1名で、職歴は3名が看護職の経験者であった。

1年後に自分自身ができるようになったことは、「面接をすることに負担感がなくなった」「面接相手との関わり方や情報収集の仕方がわかった」「記録をする上で気をつける点がわかった」等が挙げられていた。研修後に職場にもたらした変化として「成長を認められるようになった」「職場全体の意識の変化につながった」がある一方で「住民の反応が変わったかどうかはわからない」「職場内で変わったことはない」が挙げられていた。

【現任教育担当保健師への調査】

(1) 15か所中13か所（回収率86.7%）の回答。

(2) スタッフ（新人保健師）へのマネジメントでは、「スタッフの活動記録への内容の確認や助言」「スタッフへの問題解決に向けての助言」他2項目において「している」「少ししている」の肯定的回答は100%であった。一方で肯定的回答が最も低い項目は「スタッフとの個人面談の実施」であった。職場での現任教育の実践では、「職場の現任教育計画を作成」「職場内での学習機会の設定」は53.9%と低く現任教育計画がない中で人材育成が行われていた。職場環境では、「教育担当者の配置や明確化」「現任教育に関する職場内での話し合い」が66.7%であったが、「職場内での現任教育の目標の明文化」が38.5%と低く、目標が明文化されていない環境で教育担当者の配置や現任教育に関する話し合いが行われている状況が伺われた。

(3) インタビュー調査対象者は、全員市町村保健師であり、各職場では現任教育計画を策定し統括保健師が配属されていた。1年後の職場での新人保健師の変化として「面接・電話対応が向上した」「記録を残すことを意識して簡潔明瞭に書いている」等と成長が認められていた。一方で看護師経験があり、「もともとできている」「わからない」と変化がない状況も挙げられた。研修後に職場にもたらした変化は「職場での記録の改善の必要性を感じた」「大事な点を再認識できた」であり、対象者等への影響として「関わった対象者、関係機関から連絡が入るようになった」様子も挙げられ成果がでている状況もあった。新人保健師との関わり方の工夫は「日ごろから声をかけ、体調や業務をきにかけてみるようにしている」「面談時は一緒に考えて、今後につなげるようにしている」「できたことを認める」と教育担当者として関わりをもっていた。また、新人保健師の業務を進める上での工夫として「業務のチェックリストの活用」「業務担当の協力を得て経験を増やす」「窓口対応の面接練習をしてから窓口に出る」「主・副担当で相談する」といった丁寧な関わりが挙げられていた。職場、組織の課題として「新人教育の評価が難しい」「新人の評価表の目標が職場で共有がされていない」等が挙げられていた。

4 今後の研究方向等

今回の調査から、現在実施している研修内容は概ね効果があることが伺われたが、「PLAN、DO、SEEを意識して記録している」の項目について有意な差が認められず実践の定着が伺われないことから、研修方法の改善を図る必要がある。

職場内現任教育については、現任教育目標が明文化されることで人材育成に向けた体制整備が進み、新人保健師のみならずスタッフ全員の成長を促し満足度の高い活動が可能になることから、今後推進を図っていく必要がある。

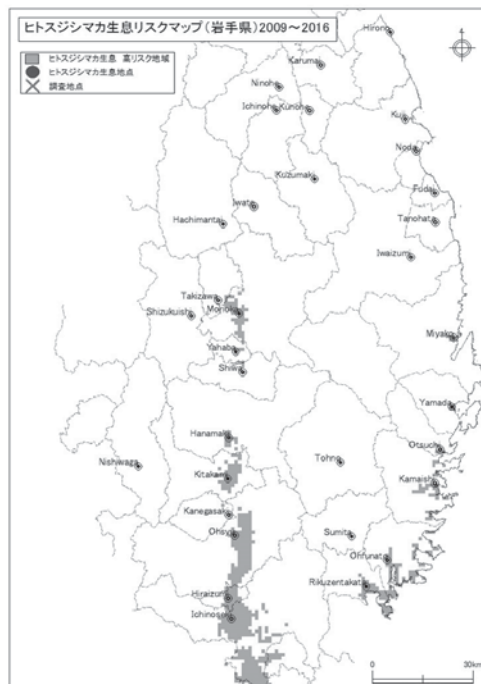
研究成果報告書（6）

研究課題名	ウイルス媒介性節足動物（ヒトスジシマカ）の生息に関する研究
担 当	地球科学部 首席専門研究員兼地球科学部長 佐藤 卓
<p>1 目的</p> <p>ヒトスジシマカは、ジカ熱やデング熱等のウイルス疾患を媒介する感染症対策上重要な節足動物である。近年、その生息北限が北上しており、気温の上昇が影響しているといわれている。岩手県内における同蚊の生息分布状況を明らかにするとともに、生息北限地域における生息条件を検討することにより地球温暖化適応策や感染症予防対策に資することを目的とする。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 蚊類の生息状況調査</p> <p>蚊類の生息状況調査は平成 28 年 6～9 月、岩手県盛岡市、花巻市、釜石市、遠野市、紫波町、大槌町の 4 市 2 町の延べ 36 地点で行った。</p> <p>調査対象は主に寺院の花生けや手水鉢、屋外に放置された古タイヤなどの人工容器の貯留水とし、生息している蚊の幼虫及び蛹を太口ピペットで採取した。1 調査地点につき 1～6 人工容器を調査した。採取した蚊の幼虫を室温で飼育し、羽化させた成虫を、実体顕微鏡下で形態学的に同定した。</p> <p>(2) ヒトスジシマカの生息条件の解析</p> <p>昨年までに、2009 年から実施しているヒトスジシマカ生息分布調査結果と 1km メッシュ気温情報等を基に、統計モデリング手法を用いてヒトスジシマカ生息ポテンシャルマップ（岩手県）を作成した。ヒトスジシマカのほぼ生息北限である本県では、越冬卵による繁殖が成立している地域と、越冬はしないが成虫の移入によってシーズン限定で繁殖している地域があると考えられることから、今回、シーズン初期からの経過日数を新たにパラメータとして加え、ヒトスジシマカの生息条件を検討した。パラメータ選択は AIC 及び AUC を評価基準とした。GIS アプリケーションは Gisway light ver. 2. 2. 4、統計計算アプリケーションは R ver. 3. 1. 2 パッケージ glmmML を用いた。</p> <p>3 結果</p> <p>(1) 蚊類の生息状況調査</p> <p>成虫の羽化が確認された 36 地点 96 人工容器について、計 467 頭を同定した。今回採集された蚊の種類はヤマトヤブカ、ヒトスジシマカ、ヤマダシマカ、オオクロヤブカ、キンパラナガハシカ、トラフカクイカ、イエカ類及びヤマトクシヒゲカであった。このうちヤブカ類では、ヤマトヤブカは捕集数が最も多く、調査地域全域において優先種であった。ヒトスジシマカは、生息北限地域である盛岡市では、仙北町、下ノ橋付近、前九年町など、前年においても生息が確認された 6 地点で採集され、盛岡市内におけるヒトスジシマカの定着が確認された。</p> <p>(2) ヒトスジシマカの生息条件の解析</p> <p>一般化線形混合モデルによる解析の結果、メッシュごとのヒトスジシマカの検出割合は、「1 月平均気温」、「10. 8℃を閾値とする有効積算温度」、「人口密度」及び「調査年における 4/1 から調査日までの経過日数」が有意なパラメータとして選択された。ROC 解析では、AUC=0. 75 と本モデルのあてはまりは良好であった。</p> <p>本モデルでは、q_i をメッシュごとのヒトスジシマカ生息確率としたとき以下の式で算出される。</p> $\text{logit}(q_i) = -17.12 + [1 \text{ 月平均気温}]_i \times 0.525 + [10.8^\circ\text{Cを閾値とする有効積算温度}]_i \times 0.00693 \\ + [\text{人口密度}]_i \times 0.000596 + [4/1 \text{ からの経過日数}]_i \times 0.0212$ <p>本モデルにより、岩手県内の任意の 3 次メッシュ及び任意の日について、生息確率を算出することができ、ま</p>	

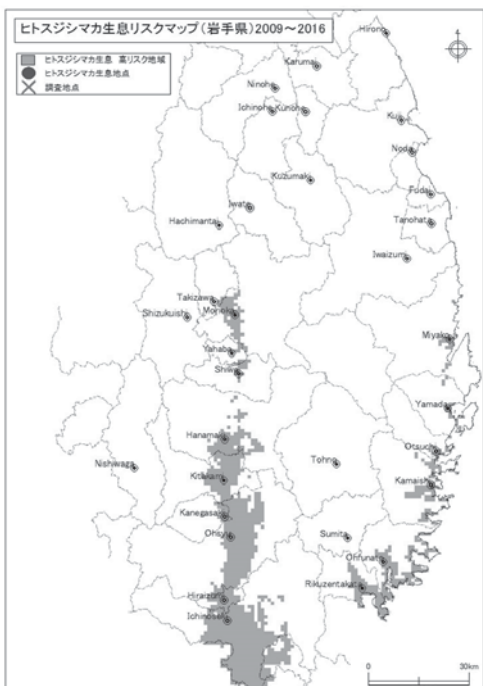
た、カットオフ値を True Positive Rate=0.92、False Positive Rate=0.50 とすると、任意の日におけるヒトスジシマカ生息リスクマップを作成することができる。



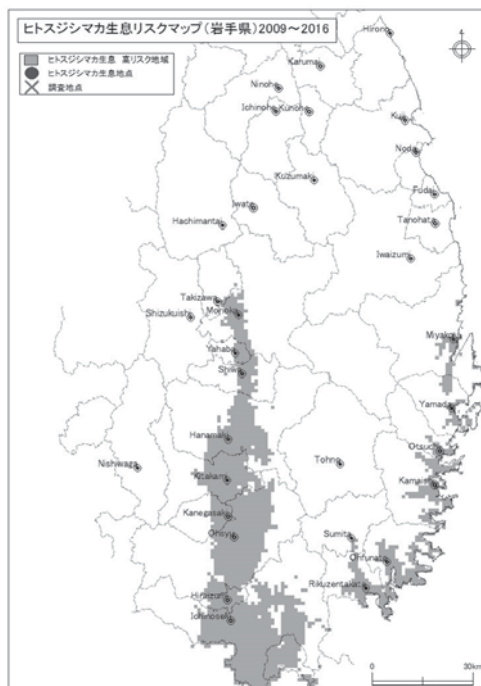
ヒトスジシマカ生息リスクマップ (2016/06/30 現在)



ヒトスジシマカ生息リスクマップ (2016/07/31 現在)



ヒトスジシマカ生息リスクマップ (2016/08/31 現在)



ヒトスジシマカ生息リスクマップ (2016/09/30 現在)

4 今後の研究方向等

ヒトスジシマカの生息調査及び生息条件の解析は、生息北限地域におけるヒトスジシマカの分布の変化や、生息条件を明らかにするうえで重要である。また、地球温暖化に伴う適応策を検討し、感染症予防に関する知見を得るため、今後とも調査を継続することが必要である。

研究成果報告書（7）

研究課題名	WE T手法を用いた水環境調査のケーススタディ
担 当	環境科学部 上席専門研究員 懸田 節
<p>1 目的</p> <p>環境中には多種多様な化学物質が存在し、ヒトや野生生物は常に複数の化学物質に曝露されている実態を踏まえ、近年、複数の化学物質による影響を総合的に評価する手法としてバイオアッセイが用いられるようになってきている。特に事業所排水の管理を目的としたWE T（生物応答を利用した排水管理）手法については、我国においても導入が検討されている。</p> <p>本研究は、国立環境研究所Ⅱ型共同研究であり、国立環境研究所及び地方環境研究所 15 機関が共同で行う。本共同研究により、国立環境研究所と地方環境研究所との技術の共有を図るとともに、WE T手法及びTR E/T I E（毒性削減評価／毒性同定評価）手法について知見の集積を目指す。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 環境水を採取し、複数の研究機関においてWE T手法を用いた生態影響試験（①胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験法、②ニセネコゼミジンコを用いる繁殖試験法、③淡水藻類を用いる生長阻害試験法の3種）を実施する。</p> <p>(2) 影響が確認された地点について、必要に応じ水質化学分析を追加実施するなど、重点的に検討を行う。</p> <p>(3) (1)及び(2)により得られた結果についてワークショップによる検討を行う。</p> <p>(4) 得られた情報を、県内の環境保全関係行政機関へ提供する。</p> <p>3 結果</p> <p>(1) 第1回ワークショップにおいて、共同研究機関による平成28年度の研究方法について協議し、試料採取と、当該試料のWE T試験を分担して実施した。当センターから一関市内河川水（吸川水門）を提供した。</p> <p>(2) 第2回ワークショップにおいて、(1)の試験結果の報告及び検討を行った。</p> <p>① 試験を実施した河川水4件について、生物への影響が見られた地点・項目があった。吸川水門の分析結果については、1分析機関で藻類に影響が見られたが、他の分析機関・項目では影響が見られなかった。</p> <p>② 結果の考察には、生物試験と併せて詳細な化学分析も実施し、検証することが必要であるとの意見が出された。</p> <p>③ 溶存酸素が過飽和になることがある、ブランクに比べて試料水でよりミジンコの増殖が見られる場合があったなどの事例、試験水のpH調整についてどう考えるべきかなどの疑問点が出され、継続して検討することとなった。</p> <p>④ 次年度は、別の地点の環境水について、課題として出された内容を整理し、試験を継続することとした。</p> <p>(3) 平成28年度衛生・環境業務研究発表会において「WE T手法を用いた水質管理」と題し、県内環境保全担当者に情報提供を行った。</p> <p>4 今後の研究方向等</p> <p>Ⅱ型共同研究では、平成29年度は、平成28年度に課題となった内容を整理したうえで改めて試験を実施し、得られた結果や課題は報告書として取りまとめる方針である。</p> <p>当センターでも引き続き参加し、WE T手法に関する技術および知見の共有化・WE T手法を用いた調査事例の集積に努める。</p>	

研究成果報告書（8）

研究課題名	微小粒子状物質の発生源解明に関する研究
担 当	地球科学部 小野寺甲仁、小泉英誉、鳴海史、多田敬子、佐藤卓
1 目的	<p>微小粒子状物質(PM_{2.5})は、大気中に浮遊する2.5μm以下の微小粒子であり、粒径が小さく人の健康に影響を及ぼす恐れがあるとされている。PM_{2.5}の削減対策を検討するには、県内の実態把握に加え発生源の種類や地域の把握が必要となる。</p> <p>本研究では、平成25年度から27年度まで実施した成分分析結果をもとに、構成成分、季節変動及び地域変動の特徴について検討を加えた。</p>
2 方法	<p>調査地点は、宮古市横町局（一般局）、一関市三反田局（自排局）の2地点である。試料採取はPM_{2.5}用ローボリウムサンプラー（Thermo FRM2025）を用いて、四半期ごとにそれぞれ14日間連続して実施した。捕集フィルターは、PTFE製円形フィルター及び石英製円形フィルターを使用し、採取済みのフィルターについては1週間毎に回収し、分析までデシケーターで保管した。成分分析（分析項目：元素状炭素(EC)、有機炭素(OC)、イオン8成分、無機12成分）は「大気中微小粒子状物質成分測定マニュアル（環境省）」に基づいて実施した。</p>
3 結果・考察	<p>(1) PM_{2.5}の構成成分</p> <p>両地点とも、主要な構成成分は元素状炭素、有機炭素、硝酸イオン、硫酸イオン、アンモニウムイオンであり、これらの主要成分のみで、PM_{2.5}全体の70%以上を占めていた（図1）。また、全国平均のデータと比較すると、概ね同様の構成成分を示していた。</p> <p>(2) 季節変動</p> <p>PM_{2.5}の構成成分は、両地点において、硫酸イオンが春と夏に高値を示した（図2）。これは暖かい季節の場合、光化学反応が盛んであるため、SO₂の酸化促進によりSO₄²⁻が生成され、濃度が増加したためと考えられる。また、反対に硝酸イオンは秋と冬に高い傾向を示した。これは揮発性を有する硝酸アンモニウム粒子は、気温が高いと硝酸ガスとアンモニアガスに解離するが、気温が低下する季節の場合、粒子化の促進によって濃度が増加したためと考えられる。^{※1}</p> <p>(3) 地域変動</p> <p>両地点のPM_{2.5}の構成成分変動を比較すると、一関市の方が全期間を通して元素状炭素が高い傾向にあった（図3）。また、秋から冬にかけての硝酸イオンの増加率も高い結果となった。これは自排局である一関市において、自動車排ガスが成分組成に影響を及ぼしたことが原因であると考えられる。</p>
4 今後の研究方向等	<p>平成28年度より地点を滝沢市菓子局と奥州市水沢局に移し、PM_{2.5}の採取を実施している。今後はデータの蓄積及び解析によって、構成成分を明らかにするとともに、発生源種類別の寄与割合を推定し、PM_{2.5}の削減施策へ繋がる研究を進めていく。</p>
【参考文献】	※1 熊谷 貴美代. 安全工学, 2013, 6, 403

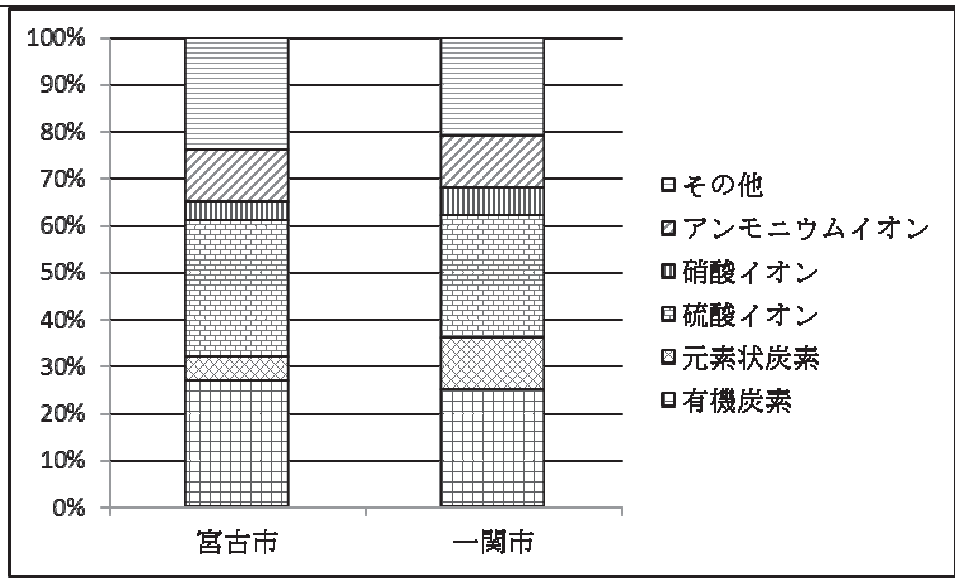


図1 構成成分 (3年平均)

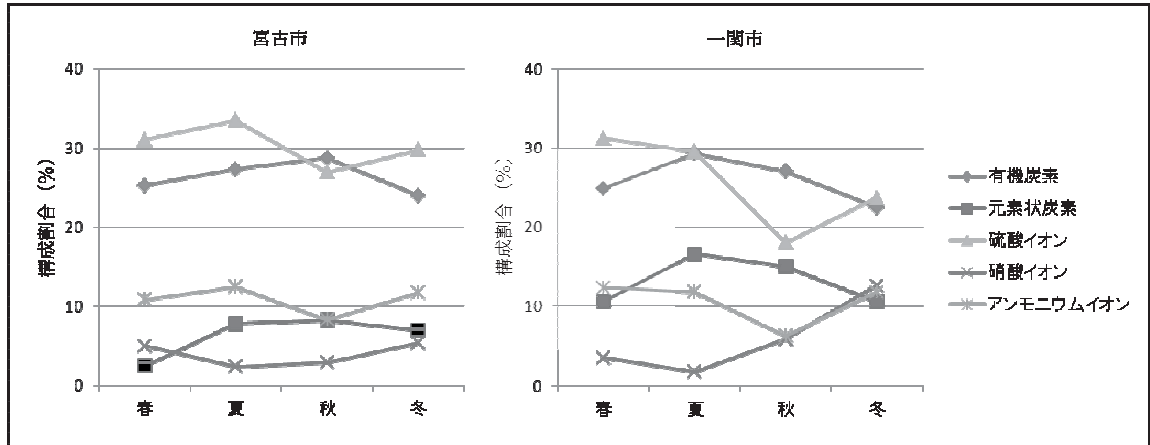


図2 主要成分の季節変動 (3年平均)

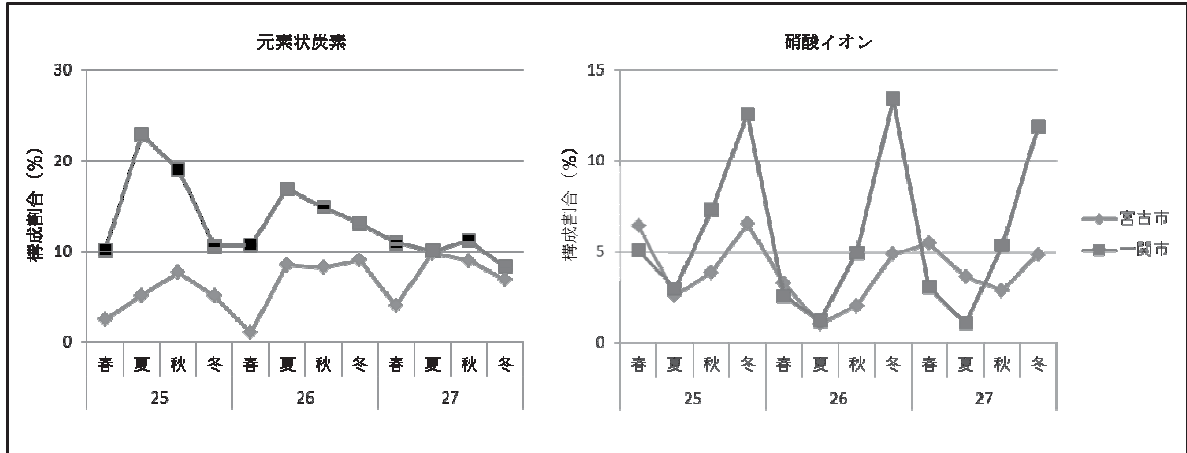


図3 地点別成分変動の比較

研究成果報告書（9）

研究課題名	酸性雨による環境影響の総合的評価（広域連携事業）
担 当	地球科学部 技師 小野寺甲仁、上席専門研究員 多田敬子

1 目的

酸性雨に影響をおよぼす乾性沈着物調査(ガス状酸性化成分)を行い、既存の酸性雨や酸性雪データと併せて解析を行うことにより、本県の降水の酸性化現象による環境影響の総合的評価に資することを目的とする。

また、全国環境研協議会によって実施する第6次酸性雨全国調査及び全国環境研北海道・東北支部酸性雨専門部会による調査・研究に参加することにより、本県のみならず、北海道・東北ブロックさらに全国的観点からも酸性雨を取り巻く評価を行うことを目的とする。

2 方法

盛岡市（岩手県環境保健研究センター屋上）で、パッシブ法による乾性沈着成分（ガス及び粒子状物質）濃度の把握を行った。毎月1回の頻度で、NO₂及びNO_xは比色分析法にて、NH₃及びO₃はイオンクロマト分析法にて分析を行った。

3 結果

平成28年度における濃度の季節変動（図1）及び長期的な濃度変動（図2）を示す。

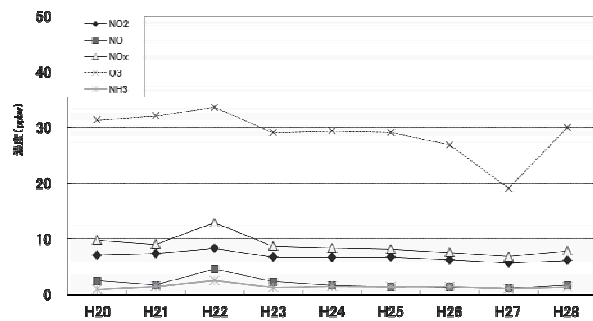
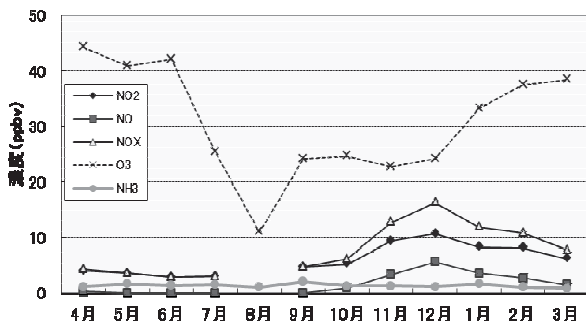
分析項目別にみると、O₃は全体的に春季に最大となり、夏季には低い傾向がみられた。また、平成27年度は、2月から3月にかけて低濃度で推移していたが、平成28年度は冬季から上昇する傾向を示した。O₃以外の分析項目は、全体的に秋季から冬季にかけて上昇する傾向にあった。

また、経年濃度変化をみると、O₃は昨年度よりも上昇傾向を示したが、過去8年間の変動範囲（19.0～33.6ppbv）内であった。その他の分析項目についても同様の傾向を示した。

4 今後の研究方向等

大気汚染状況の長期的な推移をみるため、乾性沈着成分のモニターは今後も継続する必要があるとあり、全国環境研協議会が主催する酸性雨全国調査に引き続き参加する。

今後は、パッシブ法による乾性沈着評価を継続ベースとするが、フィルターパック法にて、新たにインパクト使用による粒径別粒子成分の捕集による沈着量評価を追加していることから、本県においてもフィルターパック法の試行を開始する。



研究成果報告書（10）

研究課題名	新指標による岩手県内光化学オキシダント濃度の長期的評価
担 当	地球科学部 上席専門研究員 多田 敬子

1 目的

光化学オキシダントに係る環境基準は、短期的評価（急性の健康被害の原因となる高濃度の光化学オキシダントの評価基準）である1時間値について定められているが、光化学オキシダント濃度は、気象要因による年々変動が大きく、長期的な環境改善効果を把握することが難しい状況にある。このため、環境省は光化学オキシダントの環境改善効果を適切に示すための指標として、年々変動の軽減を図り、また、高濃度の出現の抑制効果を明確に示すことを重点とした長期的評価である新指標を示した。本研究は、本県の光化学オキシダントの状況を新指標により評価するとともに、現在、光化学オキシダント自動測定機を設置していない県北地域の状況を把握することを目的とする。

2 方法

(1) 新指標による光化学オキシダント濃度の評価

昭和59年度から行っている光化学オキシダントの常時監視データを利用し、新指標である「光化学オキシダント濃度8時間値の日最高値の年間99パーセンタイル値の3年平均値」を算出し、長期的推移を検討した。

(2) 県北地域における光化学オキシダント濃度の把握

二戸市荷渡局に光化学オキシダント自動測定機を設置し、常時監視と同様に光化学オキシダント濃度の1時間値を連続的に取得し、津志田局等のデータと比較検討した。

ア 環境基準等（短期的評価）の評価

超過時間数及び超過日数の割合について、月毎に比較評価する。(χ²-test)

環境基準超過イベントのタイミングを比較する。

イ 1時間値を基にした測定値に関する評価

1) 日平均値及び日最高値の比較

測定値の日平均値及び日最高値について、月毎に比較評価する。(T-test)

2) 両局測定値（1時間値）の差

両局の1時間値の差が津志田局測定値に占める割合を月毎に比較評価する。(割合が15%を超えた場合、両局の測定値に差があると評価する)

3) 両局測定値の時間当たり変量の差

両局の時間当たり変量の差が津志田局測定値に占める割合を月毎に比較評価する。(割合が15%を超えた場合、両局の測定値に差があると評価する)

3 結果

(1) 新指標による光化学オキシダント濃度の評価

本県における光化学オキシダント濃度（1時間値の年平均値の全測定局平均値）は、測定を開始した昭和59年度から増加傾向にあるが、これは大気中NO₂濃度減少に伴ったNO-タイトレーション効果の減少によるものと考えられ、同効果の影響を補正し算出したポテンシャルオゾン濃度は、ほぼ横ばいで推移している（図1）。

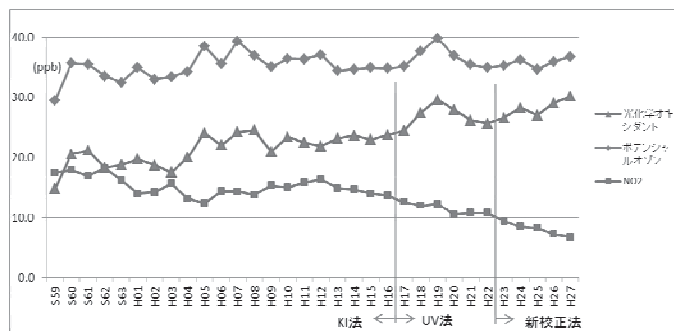


図1 光化学オキシダント、ポテンシャルオゾン、NO₂（1時間値の年平均値の全測定局平均 年次推移）

一方、新指標値で算出した長期的評価の年次推移をみると、中期的な増減がありながら、若干の増加傾向にあ

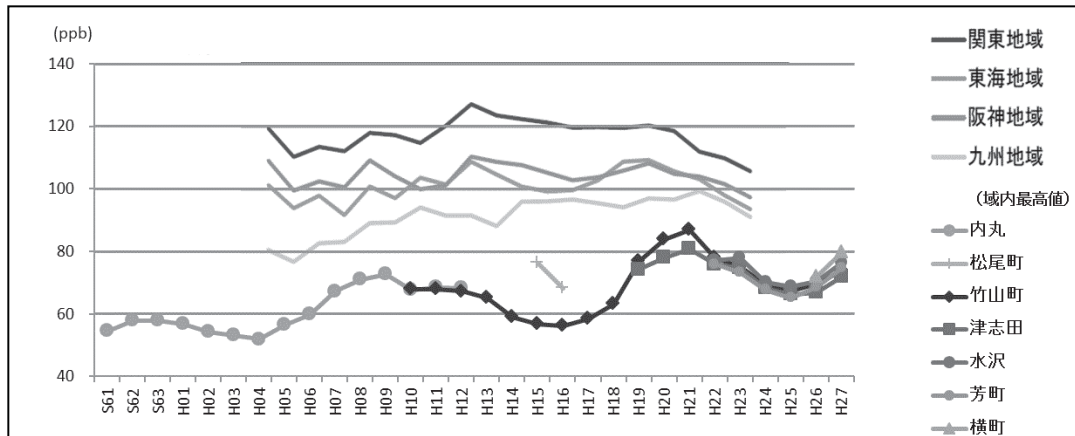


図2 光化学オキシダント（新指標値）
（日最高8時間値の99パーセンタイル値の3年移動平均値 年次推移）

ると考えられる。しかし、新指標値が最高値を表していることに注目して全国データと比較すると、本県のデータは他圏域より低レベルの濃度で推移している（図2）。また、本県においては過去に「注意報発令」の経験がないこと等を勘案すると、短期的評価である環境基準は未達成であるものの、高濃度の光化学オキシダントによる影響は少ないと考えられる。

（2）県北地域における光化学オキシダント濃度の把握

ア 環境基準等（短期評価）の比較

環境基準を超えた月は、荷渡局、津志田局とも4、5、6月のみであった。環境基準を超えた時間数について、4月及び6月において両局に有意に差が認められた。また、同期間における1時間値の推移、特に超過時間数で有意差が認められなかった5月をみると、両局のうちどちらかの局のみが環境基準を超過した時間数は、延べ43時間であり、両局あわせた超過時間数の延べ84時間のうち、約半数で環境基準超過イベントのタイミングにずれが認められた。

イ 1時間値を基にした測定値に関する評価

1) 日平均値及び日最高値の比較

日平均値の月平均値を比較した結果、6、7、8、9、1月で両局の測定値に有意な差が認められた。また、日最大値の月平均値を比較した結果、7、8、9、1月で両局の測定値に有意な差が認められた。

2) 両局測定値（1時間値）の差

両局の1時間値の差は、全期間において津志田局測定値に対して15%を超えた。

3) 両局測定値の時間当たり変量の差

時間あたりの変量の差については、11月及び12月において15%を超えた。

4 今後の研究方向等

新指標による光化学オキシダントの長期的評価については、環境省において、いまだ評価基準が示されていないことから、常時監視を継続しながら継時変化の動向を把握していく。また、県北地域における光化学オキシダント濃度の把握については、荷渡局と津志田局とのデータに差異があることが示唆されたことから、引き続き同地域の状況を調査し、必要に応じて常時監視の必要性を提案していく。

研究成果報告書（11）

研究課題名	麻痺性貝毒に関する機器分析法の研究
担 当	衛生科学部 技師 沼野 聡、主任専門研究員 佐々木 和明
<p>1 目的</p> <p>麻痺性貝毒は、二枚貝を摂取したヒトに神経性の症状を引き起こすものである。当県の主力産業であるホタテガイの養殖においても、1年に数回毒化することが知られており、高毒化している場合は出荷自主規制が行われている。現在、我が国における麻痺性貝毒の試験法は、マウス試験法(MBA)が採用されているが、測定精度が低く、ばらつきが大きいことが問題となっている。国際的動向として、HPLC や LC-MS/MS を用いた機器分析法の報告例が増えてきており、わが国でも検討段階を迎えている。しかし、毒成分の1つであるサキシトキシンが、国際条約の中で化学兵器に指定されており、精製や入手が厳しいことに加え、他の構成成分が pH 条件による変換が起きやすく、分析が難しいことが課題となり、国内での分析報告例は非常に少ない。</p> <p>そこで、本研究では、毒組成の9割以上を占めるCトキシン1&2、ゴニオトキシン1~4及びデカルバモイル サキシトキシンの計7成分に焦点を当て、定性・定量が迅速かつ正確に行えるように、LC-MS/MSを用いた機器分析法の開発を行った。また、開発した分析法の有効性を確認するため、当県水産技術センターから、毒化したホタテガイを入手し、毒成分の蓄積部位である中腸腺を、試行的に定性分析を行ったので報告する。</p> <p>2 方法</p> <p>2-1 実験試料</p> <p>1) 標準品：Cトキシン1&2 (C1:1.25 μM、C2:0.33 μM)、ゴニオトキシン1-4 (GTX1:3.27 μM、GTX2:1.06 μM、GTX3:0.38 μM、GTX4:1.35 μM) は、国立研究開発法人 水産研究・教育機構 中央水産研究所提供品を、デカルバモイル サキシトキシン(dcSTX:65.0 μM)は、カナダNRC社製を使用した。</p> <p>2) 実サンプル試料：ホタテガイをナイフで開殻後、むき身から中腸腺を切り出し、小型ミキサーで均質化したものを試料とした。</p> <p>2-2 実験装置</p> <p>測定に用いたLC-MS/MSは、LC部がAgilent社製1100series、MS部がABSciex社製API4000、カラムは東ソー社製TSKgel-Amide80(2.0 μm\times150mm)を使用した。</p> <p>2-3 測定条件</p> <p>測定に用いたMRMトランジションを図1に示す。</p> <p>2-4 標準品調製方法</p> <p>Cトキシン1&2、ゴニオトキシン1-4はメタノールで5倍希釈した。デカルバモイル サキシトキシンは予備試験の段階で感度が良好であることが確認出来た為、メタノールで500倍希釈した。</p> <p>2-5 実サンプル試料 前処理方法</p> <p>今までに麻痺性貝毒の機器分析法として報告された方法は、公定法であるマウス試験法で処理した試験原液を、ミニ固相カラムに通し、限外ろ過したものを分析機器で測定するものである。将来的にマウス試験法と機器分析法との相関を確認することを考え、当センターでも同様の方法にすることとした。測定に際し、限外ろ過後の試験液をメタノールで10倍希釈した。前処理方法を図2に示す。</p> <p>3 結果</p> <p>3-1 標準品 測定結果</p> <p>Cトキシン1&2、ゴニオトキシン1-4およびデカルバモイル サキシトキシンのピーク検出に成功し、ピーク分離も良好であった。結果を図3に示す。</p>	

3-2 実サンプル試料 測定結果

生体試料のため、疑似ピークが多数検出された。そこで、設定したMRMトランジションによって検出したピークを標準品のリテンションタイムで同定を行った。対象とした7成分のうち、Cトキシシン1&2、ゴニオトキシシン3と4、デカルバモイル サキシトキシシンが検出された。一方で、ゴニオトキシシン1と2は、ピークが非常に小さく、同定には至らなかった。結果を図4に示す。

成分	Q1	Q3
C1	396	316.1
C2	396	316.1
GTX1-1	412	332.1
GTX1-2	412	314.1
GTX2-1	396	316.1
GTX2-2	396	298.1
GTX3-1	396	316.1
GTX3-2	396	298.1
GTX4-1	412	332.1
GTX4-2	412	314.1
dcSTX-1	257.1	239.1
dcSTX-2	257.1	222.3

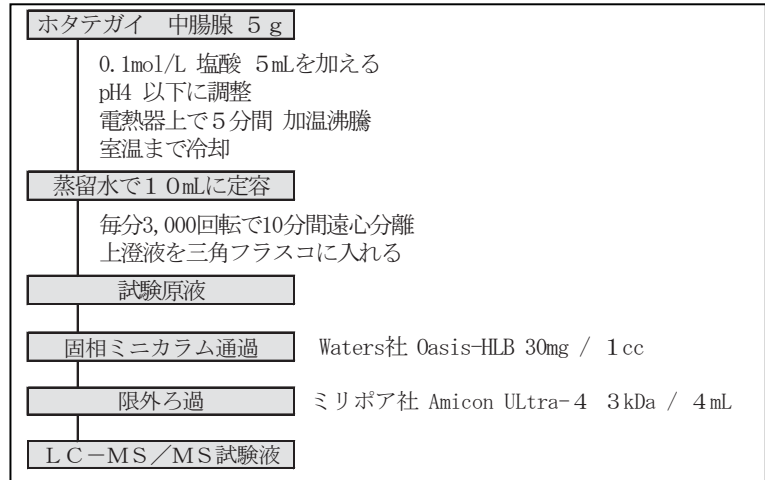


図1 測定条件(MRM トランジション)

図2 実サンプル試料 前処理方法

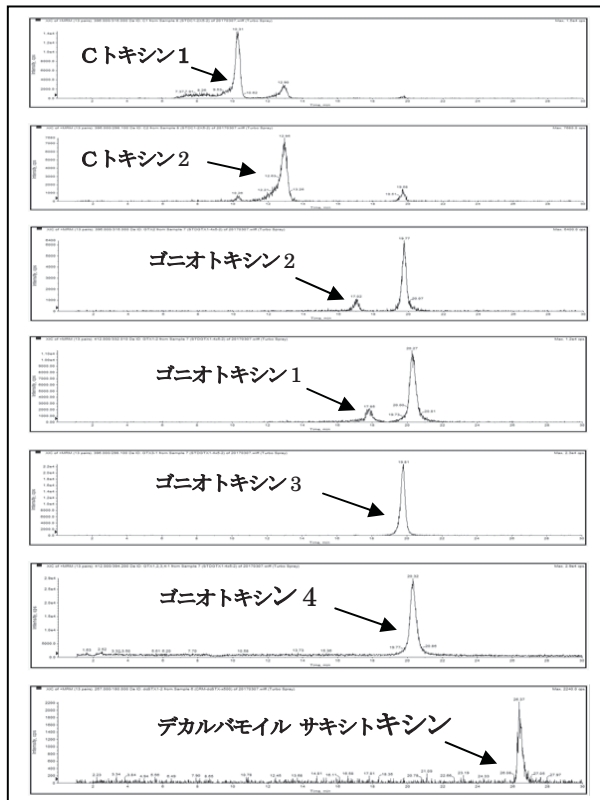


図3 標準品 測定結果

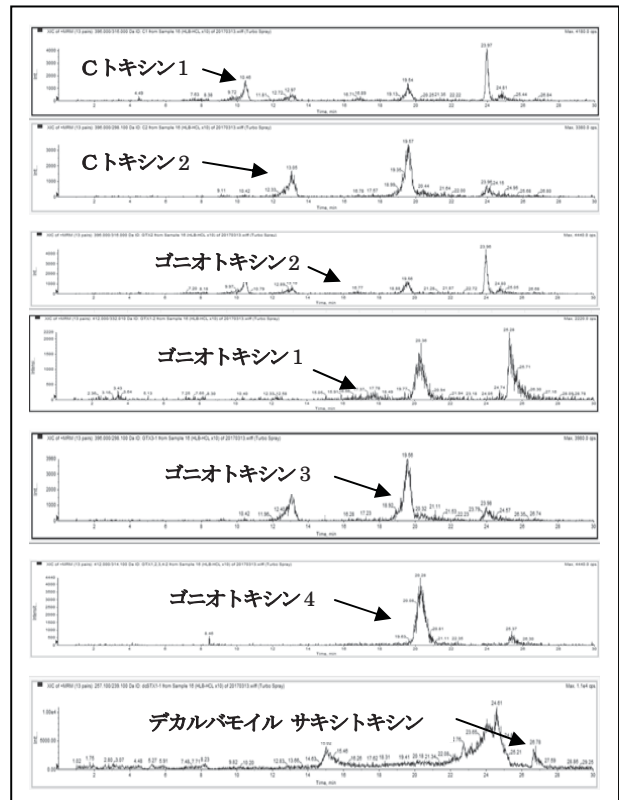


図4 ホタテガイ実サンプル 測定結果

4 今後の研究方向

今回の結果を基にし、毒化したホタテガイを継続的にモニタリングすることで、出荷規制や規制解除の時期を事前に予測するための研究へと繋げていく。

研究成果報告書（12）

研究課題名	下痢性貝毒に関する超臨界抽出法の妥当性に関する研究
担 当	衛生科学部 主任専門研究員 昆野 智恵子
1 目的	<p>貝毒の一種である下痢性貝毒は、平成 27 年 3 月の厚労省通知¹⁾によって公定法が、マウス試験法から機器分析法へ移行した。当センターにおいても、機器分析法の移行に対応するため、平成 26 年度に下痢性貝毒成分等の機器分析法について検討を開始したが²⁾、夾雑物質の除去が十分に行われない事から、分析機器への負担が非常に大きく継続して検討をしているところである。</p> <p>効率的に機能性成分だけを抽出する方法として、超臨界抽出法を食品加工分野等で活用しているが、機器分析において目的物だけを効率的に抽出する前処理方法としての活用は始まったばかりである。現在一番多く使用されている超臨界二酸化炭素の溶解度はヘキサン程度といわれることから、脂溶性貝毒である下痢性貝毒成分の抽出にも適用できる可能性がある。</p> <p>そこで本研究では、下痢性貝毒成分等の超臨界二酸化炭素による基礎的な抽出法について検討したので報告する。</p>
2 方法	<p>(1) 標準品：OA 群 (OA, DTX1)、PTX 群 (PTX1, PTX2, PTX6) 及び YTX の 6 成分は、水産庁貝毒安全対策事業配布標準品を用いた。実験には、各標準品をアセトニトリルで 25mL に定容した 1~5ppm の原液から、最終的にメタノールで 100ppb の混合標準液を作り用いた。</p> <p>(2) 抽出方法：超臨界抽出法による下痢性貝毒成分等の抽出を確認するために、脱水剤として用いられている珪藻土 (ISCO 社製 Wetsupport) に混合標準溶液を添加した回収率試験を行った。粉碎 (36 メッシュ程度) した珪藻土 3g を超臨界抽出用カートリッジに入れ、100ppb 混合標準液 0.2mL を添加し 20 分間室温にて静置した後、その上部に、粉碎する前の粒状の珪藻土 (1-2mm) を 1.5g 入れ、補助溶媒 (エントレーナ) を添加して超臨界抽出を行った。</p> <p>(3) 超臨界抽出条件：実験に用いた超臨界抽出装置 (ISCO 社製 SFX1220) の抽出条件は当センターが残留農薬分析の前処理のために用いた条件と同様とした (表 1)。</p> <p>(4) 補助溶媒：予備試験では、下痢性貝毒成分等は超臨界二酸化炭素にはほとんど溶出せず、圧力を 2 倍の 4000psi に変えても大きな差はなかった。そこで、抽出圧力は 2000psi とし、補助溶媒を添加して超臨界流体の極性を変化させることにした。その方法は、2 の抽出方法に示したとおりである。検討する補助溶媒は、公定法においても OA 群の抽出に用いられているメタノールの他に、極性の異なるアセトン、アセトニトリル、下痢性貝毒の抽出に用いる 80%メタノールとした。</p> <p>(5) 抽出液の測定：超臨界流体抽出で得られた捕集溶媒液は、40℃で減圧濃縮し、乾固後、メタノール 2mL に溶解し (10ppb 相当)、メンブレンフィルターでろ過したものを測定溶液とした。測定は、LC-MS/MS (LC 部は Agilent 社製 1100series、MS 部は ABSciex 社製 API4000) で行い、その測定条件は表 2 に示す。</p>
3 結果	<p>下痢性貝毒成分等を超臨界二酸化炭素を用いて抽出した回収率の結果を表 3 に示した。メタノールを補助溶媒として加えた OA 群の回収率は、加えない場合と比較して高い値が得られた。しかしながら PTX 群はメタノール 1.5, 2.0mL を添加した時の回収率はゼロであった。一方メタノールよりも極性の低いアセトン、アセトニトリルでの PTX 群の回収率は相対的に高い値となったが、OA 群は逆に回収率が低下した。</p>

以上の結果から、各成分の極性と補助溶媒の極性が回収率に大きく影響をしていることが分かった。すなわち、添加したメタノールがCO₂の分極に寄与し、極性を有するOA群の抽出量を多くしていると考えられる。よって極性の低いPTX群は極性溶媒の存在下では回収率が低く、メタノールより極性の低い溶媒の添加で回収率が得られたものと思われる。しかしながら、厳密にいうと混合標準溶液には先にアセトニトリルが使われていることから、本実験で表示しているメタノールの補助溶媒にはわずかではあるが、アセトニトリルが混合溶媒の形で存在している。このことは、数種類の極性溶媒を用いることで超臨界下でのCO₂への溶解度が高まることが示唆されて興味深いところである。ちなみに補助溶媒としてメタノール 0.8mL、アセトニトリル 0.1mLを添加する条件で回収率試験を行った結果、OA98.3%、DTX180.2%の回収率を得た。

4 今後の研究方向等

今後は補助溶媒の混合系を中心に、実試料を用いた抽出を検討していく予定である。

[参考文献]

- 1) 平成27年3月6日食安発0306第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知
- 2) 梶田弘子ら, 第51回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p148-149

表1 超臨界抽出装置の測定条件

圧力 2000psi、抽出温度 40°C、静的抽出時間 15分、 動的抽出時間 20分
--

表2 LC-MS/MS 測定条件

カラム	Waters XTerra MS C8 (2.1mm × 150mm, 3.5µm)	
移動相	A: 0.1% 酢酸 + 10mM 酢酸アンモニウム水溶液 B: アセトニトリル	
注入量	5µL	
イオン化	ESI	
測定モード	Multiple Reaction Monitoring (MRM)	
IS温度	(+) 600°C (-) 500°C	
IS電圧	(+) 5kv (-) -4kv	
MRM(m/z)	(+)	Quantitation Confirmation
	PTX1	892.6 → 839.6 892.6 → 821.6
PTX2	876.6 → 823.5 876.6 → 841.6	
PTX6	906.5 → 853.3 906.5 → 835.5	
	(-)	Quantitation Confirmation
	OA	803.6 → 255.3 803.6 → 113.0
DTX1	817.5 → 255.3 817.5 → 113.0	
YTX	1141.6 → 1061.7 1141.6 → 855.4	


表3 補助溶媒による回収率の違い

抽出圧力(psi)	補助溶媒	OA	DTX1	YTX	PTX1	PTX2	PTX6	(%)
4000	—	7.10	7.44	0.00	18.5	37.0	0.00	
2000	—	7.23	7.98	0.00	6.50	26.9	0.00	
	メタノール0.5mL	106	102	0.00	5.11	12.1	0.00	
	メタノール1.0mL	132	145	2.36	0.15	2.10	0.00	
	メタノール1.5mL	97.1	99.1	33.7	0.00	0.00	0.00	
	メタノール2.0mL	92.3	97.8	75.6	0.00	0.00	0.00	
	80%メタノール0.5mL	31.9	42.9	0.00	35.3	98.9	0.00	
	アセトン0.5mL	3.99	5.94	0.00	14.8	46.8	0.00	
	アセトン1.0mL	4.24	23.6	0.00	42.2	67.4	0.00	
	アセトニトリル0.5mL	26.8	32.8	0.00	52.7	74.3	0.00	
アセトニトリル1.0mL	28.7	29.3	0.00	40.4	45.8	0.00		

研究成果報告書（13）

研究課題名	糞便からの腸管出血性大腸菌 (EHEC) 検出法の検討													
担 当	検査部 山中拓哉、太田美香子、熊谷学、五日市恵里													
<p>1 目的</p> <p>腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症は重篤な合併症を起し致命的になることがあるため、検査には迅速性が要求される。当所では保健所の依頼を受け、医療機関で検査した血清型及び毒素タイプの情報をもとに、患者家族および接触者の検便を年間約 500 件実施している。また、EHEC による感染症・食中毒発生時には、一度に大量の検体が搬入される可能性があることから、検査における効率化が望まれる。</p> <p>これを踏まえ、本研究では県内で発生し、当所に検査依頼があった EHEC 感染症検査の便検体のうち検査で陽性となったものを対象として、種々の培地で培養しデータを集積し、これをもとに、鑑別に最適な培地を見出だす。将来的には、当所における腸管出血性大腸菌の検査マニュアルの構築の一助とすることを目的とする。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 平成 28 年度に当所に持ち込まれた EHEC 感染症検査の便検体のうち陽性であったものを対象に、選択分離培地での所見ならびに生化学的性状を解析し、鑑別において有効な検査方法を検討した。</p> <p>(2) 昨年度までの研究 (菌株の解析) で得られた EHEC 各菌株の性状に関する知見 (有効であることが示唆されている選択分離培地) が、糞便検体においても有効かどうかの検証もおこなった。</p> <p>3 結果</p> <p>(1) 平成 28 年度に当所に持ち込まれた EHEC 感染症検査の便検体のうち検査で陽性であった糞便 19 検体についてデータを記録した。</p> <p>(2) 0103、0111、0145 の陽性検体については前年度までの研究で得られた EHEC 菌株の性状についての知見 (表) との整合性が取れていることを確認した。</p> <p>表 EHEC 0103、0111、0145 において有効であることが示唆されている選択分離培地*</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>血清型</th> <th>培地名</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">0111</td> <td>CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)</td> </tr> <tr> <td>クロモアガーSTEC 培地</td> </tr> <tr> <td>クロモアガー0157TAM 培地</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">0103</td> <td>CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)</td> </tr> <tr> <td>クロモアガーSTEC 培地</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">0145</td> <td>CT-ラフィーノース・マッコンキー培地 (CT-RFMAC)</td> </tr> <tr> <td>CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)</td> </tr> <tr> <td>クロモアガーSTEC 培地</td> </tr> </tbody> </table> <p>* 当部による平成 25～27 年度基礎研究「腸管出血性大腸菌 (EHEC) の検査法に関する研究」より</p> <p>4 今後の研究方向等</p> <p>平成 28 年度は EHEC 陽性検体数が少なかったため研究対象となる陽性検体も少なかった。このため、来年度以降も継続してデータを集積するとともに、過去の研究で得られた知見で、未だ糞便検体での有効性が確認されていない血清型の検証を行う。</p>		血清型	培地名	0111	CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)	クロモアガーSTEC 培地	クロモアガー0157TAM 培地	0103	CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)	クロモアガーSTEC 培地	0145	CT-ラフィーノース・マッコンキー培地 (CT-RFMAC)	CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)	クロモアガーSTEC 培地
血清型	培地名													
0111	CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)													
	クロモアガーSTEC 培地													
	クロモアガー0157TAM 培地													
0103	CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)													
	クロモアガーSTEC 培地													
0145	CT-ラフィーノース・マッコンキー培地 (CT-RFMAC)													
	CT-ソルボース・マッコンキー培地 (CT-SBMAC)													
	クロモアガーSTEC 培地													

研究成果報告書（14）

研究課題名	有機フッ素化合物に係る日中韓汚染状況比較及び生体影響解明等に関する研究
担 当	環境科学部 主査専門研究員 岩淵 勝己、環境科学部長 千崎 則正
1 目的	<p>有機フッ素化合物（PFCs）は、生物への濃縮性が大きく環境試料に比べて数千倍も濃縮される汚染物質であることから、水生生物の中で上位に位置し、日韓で捕獲できる同種の生物であるメダカ等を対象に、昨年度に引き続き PFCs による環境汚染実態と PFCs のメダカ体内への蓄積特性を明らかにすることを目的とした。</p>
2 方法	<p>(1) サンプル</p> <p>今年度調査対象としたのは、岩手、茨城、石川、兵庫、福岡の計 5 ヶ所で、環境水と底質及び土壌（各地点 1 検体）、メダカ（各地点 20～30 検体）を採取した（Fig.1）。メダカは 1 検体ずつ分析、底質・土壌は 1 検体あたり 3 回の繰返し分析を行った。</p> <p>(2) PFCs 測定</p> <p>分析対象 PFCs を PFCAs の C5 ～ C14、PFSA の C4、C6、C7、C8、C10 とした。前処理は、既報¹⁾の方法に従った。</p>
3 結果・考察	<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>Fig.1 サンプル採取地点(2016)</p> </div> </div> <p>[環境水]</p> <p>検出された PFCs は、例年どおり C5A～C9A が多く、C12A より長鎖の化合物はほとんど検出されなかった。全 PFC の濃度は、最も高濃度で 76 ng/L、最も低濃度で 1.7 ng/L であった。PFSA 系では、全地点で C8S が最も高濃度で検出された。</p> <p>[底質]</p> <p>底質では、最も高濃度で 2.7 ng/g-dry、最も低濃度で 0.64 ng/g-dry であった。全地点から検出されたのは、カルボン酸系は C8A～C12A、スルホン酸系では C8S であり、全 PFC の濃度の傾向は、2015 年までと同様であった。</p> <p>[土壌]</p> <p>土壌は、最も高濃度で 6.4 ng/g-dry、最も低濃度で 1.3 ng/g-dry であった。底質と比較すると、全 PFC の濃度は地点間で約 2～3 倍の差があったが、その濃度の傾向は同様であった。底質では C5A～C7A の検出はあまり多くなかったが、土壌では全ての地点から検出された。これは水溶性が関係しているものと考えられ、C5A～C7A は、底質では蓄積するよりも水に溶解する割合のほうが多いためと考えられた。</p> <p>[メダカ]</p> <p>メダカは、最も高濃度で 115 ng/g、最も低濃度で 5.3 ng/g であった。検出される PFCs の種類はこれまでと同様で、カルボン酸系では比較的長鎖の化合物が、スルホン酸系では C8S が検出された。</p> <p>[環境水・メダカの相関]</p> <p>環境水とメダカの PFC 濃度の関係を、環境水・メダカ共に検出率の高い C9A～C12A と C8S について 2014 年～2016 年に採取したサンプルで比較した。Fig. 2 のとおり弱い正の相関が見られ、環境水中濃度が高い地点ほどメダカへの蓄積は多くなる傾向は認められた。しかし、メダカからの検出量は各地点においてばらつきが大きく、湿重量 1g あたりで補正してはいるものの、それとは別にばらつきの原因があると考えられた。今後は、これまで集めたデータをさらに解析し、環境水中濃度と蓄積量の関係を検討していく必要がある。</p> <p>[底質・土壌の相関]</p>

底質と土壌の強熱減量あたりの C8A～C12A と C8S について、各地点のサンプルで構成割合を比較(C8A～C12A と C8S の合計量を分母として割合を計算)したところ、岩手を除いたほかの 4 地点では、底質と土壌に含まれている PFC の構成割合が非常に似ていることが明らかとなった (Fig. 3)。このことから、それぞれの地点の底質と土壌で吸着の傾向が非常に似ているか、または、それぞれの地点で曝露された PFCs の由来が同じであることが示唆された。岩手では構成割合に違いが見られたが、採取地点付近に PFCs 排出源となるような施設はないことから、今回の結果からは構成割合に差が出た原因は特定できなかった。今後もこれらの傾向を確認していく必要がある。

【まとめ】

環境水・底質・メダカから検出される PFCs は、これまでの研究結果と同様に、ほぼ一定の傾向があることが 2016 年の結果からも認められた。底質の強熱減量あたりの濃度と環境水中の濃度の間では、C9A、C11A と C8S で相関があることがこれまでの研究により明らかとなっていたが、今回新たに強熱減量あたりの底質と土壌の PFC 濃度に相関があることが明らかとなった。もし、特定の排出源から排出された、例えば工場排水などに底質だけが曝露されていれば、底質と土壌では濃度及び構成割合に差が出るはずだが、岩手を除きそのような違いは見られなかった。つまり、それぞれの地点において、曝露された PFCs の由来が同じであることが示唆された。

4 今後の研究方向等

環境中には多種の PFCs が未だに存在している実態があることは明らかであり、今後も継続して研究を行っていくことが重要である。また、メダカによるモニタリングをより確実なものにしていくためにも、これまで集めたデータをさらに解析し、環境水中濃度と底質、土壌やメダカへの蓄積の関係を明らかにしていくことが非常に重要である。

【参考文献】

1) Iwabuchi *et al.*, *Fundam. Toxicol. Sci.* **2**, 201-205, 2015

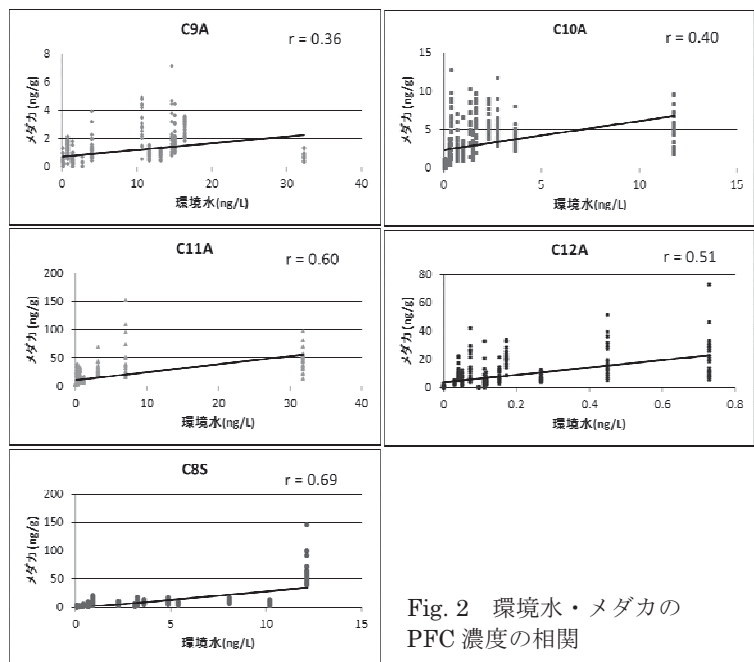


Fig. 2 環境水・メダカの PFC 濃度の相関

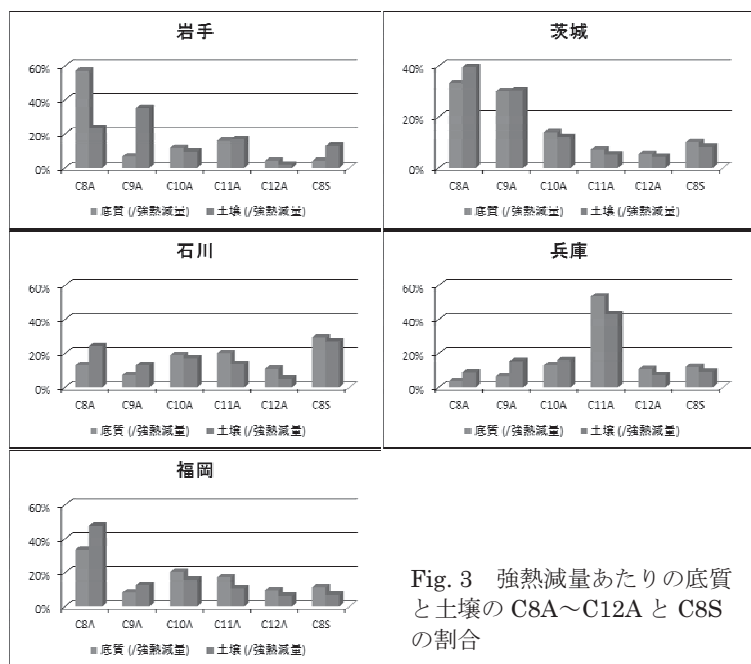


Fig. 3 強熱減量あたりの底質と土壌の C8A～C12A と C8S の割合

研究成果報告書（15）

研究課題名	PPCPs (Pharmaceutical and Personal Care Products) 等の未規制化学物質及び化審法等による規制化学物質に着目した環境実態調査
担当	環境科学部 主査専門研究員 葉澤やよい、環境科学部長 千崎則正

1 目的

トリエタノールアミン (TEA) は、化審法において優先評価化学物質に指定されており、log Pow が-2.3と親水性の高い塩基性物質である。また、用途は農薬原料やポリウレタン発泡剤等工業用から化粧品等の日用品に至るまで幅広く使用されている。本物質については昨年度に新たに分析法を確立し、県内環境水の実態調査を実施したところだが、今年度も継続してより詳細な調査を行ったので報告する。

2 方法

(1) 分析法の概要

河川水 50mL または海水 10mL にサロゲート内標準物質を添加後、C18 固相カートリッジに通水しメタノールで溶出する。溶出液を濃縮後、LC/MS/MS で測定した水質試料 50ml (海水試料は 10ml) にサロゲート物質を添加した後、固相抽出カラムに通水し、メタノールで溶出する。溶出液を濃縮後、LC/MS/MS で測定した。

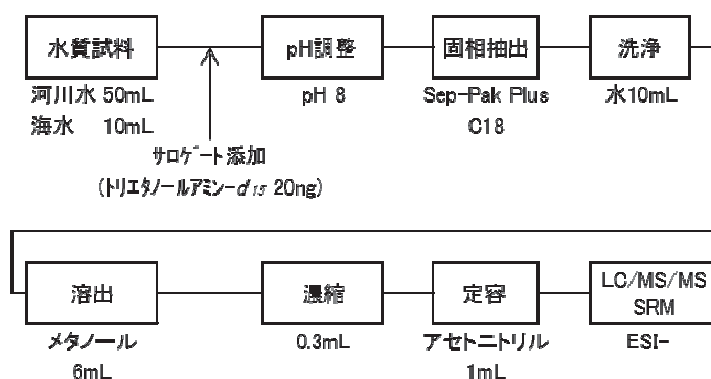


Fig.1 TEA の分析フローチャート

(2) 調査対象

岩手県内の環境水 (河川水、海水) 61 地点、85 検体について、2015～2016 年度にかけて調査を実施した。調査対象を Table 1 に示す。また 2016 年度には、2015 年度調査で海水濃度が最大であった久慈湾及び流入河川 12 地点の詳細調査もあわせて実施した。調査地点を Fig.2 に示す。

Table 1 調査対象環境水

調査年度	2015	2016
河川水	14 地点 (16 検体)	41 地点 (50 検体)
海水	6 地点 (7 検体)	12 地点 (12 検体)

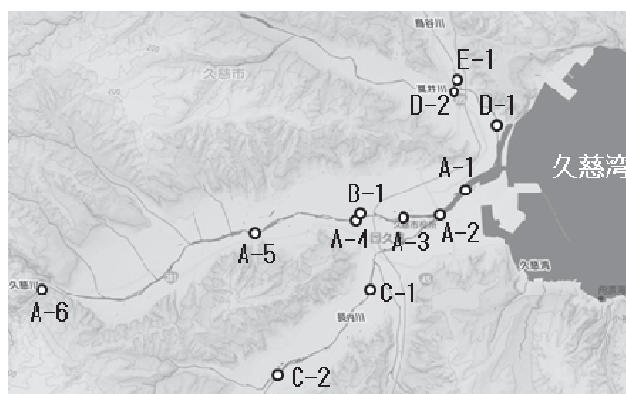


Fig.2 久慈湾及び流入河川の調査地点

3 結果及び考察

(1) 岩手県内全域の TEA の検出結果

調査結果を Table 2 に示す。河川水で ND~1.5 $\mu\text{g/L}$ 、海水で ND~1.4 $\mu\text{g/L}$ の TEA が県内ほぼ全域で検出された。河川水で最も高濃度の TEA が検出された地点は、内陸部の流域人口の多い地域で、都市下水路や生活排水の流入量が多いと推測される河川であり、その他内陸部で濃度が高かった地点についても同様の傾向がみられた。また、海水では久慈湾で最も濃度が高かった。

Table 2 岩手県内全域の TEA 検出結果

	河川水		海水	
	2015	2016	2015	2016
調査年度	2015	2016	2015	2016
調査地点数	14	41	6	12
検出地点数	12	37	5	12
検出濃度($\mu\text{g/L}$)	ND~0.21	ND~1.5	ND~1.4	0.025~0.052
検出下限値($\mu\text{g/L}$)	0.0041		0.011	

(2) 久慈湾及び流入河川の TEA 検出結果

調査結果を Table 3 に示す。上流に比べて下流域で TEA の濃度が高くなる傾向が見られた。また、他地点に比較して濃度が高かった 2 地点 (B-1 及び E-1) 周辺の現地調査を行ったが、排出源となる事業場等は確認されなかった。2 地点とも水量は少なく、B-1 は市内の住宅地を流れる小河川の下流地点であった。

Table 3 久慈湾及び流入河川の TEA 検出結果

調査地点	久慈湾	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-6	B-1	C-1	C-2	D-1	D-2	E-1
検体数	5	3	1	1	1	1	2	2	2	1	4	3	1
検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	2015	0.64~ 1.4	0.12	-	-	-	-	-	-	-	0.12	0.032	-
	2016	0.040~ 0.044	0.13 ~ 0.26	0.25	0.24	0.28	0.052	~ 0.14	0.27 0.86	0.048 0.22	0.15 0.20	0.043 0.050	0.42

4 今後の研究方向等

実態調査の結果より、環境水中において PPCPs であるトリエタノールアミンが広く検出されることが判明した。また、生活排水等の汚染源がトリエタノールアミン濃度に関連している可能性が示唆された。今後、生活排水等による汚染源の解明には、流域人口当たりの汚濁負荷量を考慮したモニタリング調査等を実施する必要があると考える。

研究成果報告書（16）

研究課題名	化審法関連物質の排出源及び動態の解明
担 当	環境科学部 主査専門研究員 岩淵 勝己、環境科学部長 千崎 則正

1 目的

環境汚染を引き起こしている様々な化学物質のうち、環境中や生物へ蓄積するなどして生態系に影響を及ぼすことが懸念されている物質について、環境分析技術（主にパッシブサンプラーによるサンプリング技術）を確立し、スポットのサンプリングでは解明できない、一定期間にわたる環境水中の平均濃度を明らかにすることを目的とした。

2 方法

【ターゲット物質】パッシブサンプラーによるサンプリングがこれまで世界的にもほとんど確立されていない有機フッ素化合物 (PFC) を選定し、その代表的物質である PFOA と PFOS について検討した。

【サンプラー】パッシブサンプラーにはさまざまな種類があるが、水質に適用している事例のある Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) を使用することとした。

【試験方法】

(1) サンプラーからのバックグラウンド（コンタミ）の除去の検討

ターゲットが PFC であることから、試験に使用する器具類からの溶出が懸念されたため、POCIS に使用するメンブランフィルター (MF)、固相（吸着剤 solid phase ; SP）に含まれているコンタミを除去する方法を検討した。同時に使用する MF 及び SP の種類を検討した。

(2) PFC への適用性の確認

MF 及び SP は(1)で検討したものを使用した。PFOA・PFOS ともに環境中の濃度レベルに近い 100 ng/L の水溶液を 1L ビーカー5 個に調製し、ブランク用に 1 個のビーカーに超純水を入れ、POCIS を浸漬した。10°C の恒温槽で一定時間（1、3、6、9、14 日間）放置後に、SP に吸着した PFOA・PFOS 量及び水溶液濃度を測定した (Fig.1)。

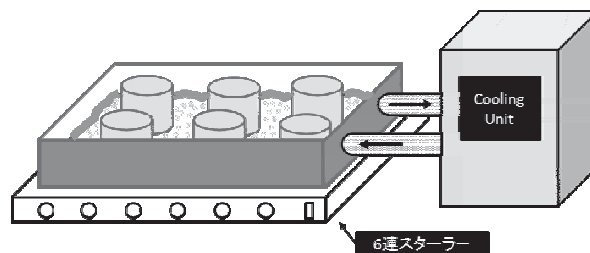


Fig. 1 実験装置

3 結果と考察

(1)-1 MF の選定

3 種の MF について、コンタミの量及び洗浄耐性、POCIS への装着性について

Table 1. MF の選定条件と検討結果

MF	MeOH 洗浄耐性	コンタミの量	コンタミ除去が可能か	POCIS への装着性
PALL 社製(PES)	○	△	○	○
ADVANTEC 社製 (a)(CELLULOSE ACETATE)	×	—	—	—
ADVANTEC 社製 (b)(CELLULOSE ESTER)	○	○	○	△

検討した (Table 1)。ADVANTEC 社製(a) は、MeOH による洗浄で一部溶解したため、POCIS には使用不可であった。ADVANTEC 社製 (b) は、コンタミが少なく分析への影響は小さいものと考えられたが、MeOH で洗浄することで皺が寄るなど、装着性に問題があった。この結果から、POCIS への適用は PALL 社製のものとした。

(1)-2 SP の選定

POCIS ですでに使用実績のある OASIS HLB と、普段 PFC 分析に使用する OASIS WAX について検討した。両 SP とも SP 由来のコンタミの除去及び POCIS への適用性（取り扱い性）に問題はなかった。今後の環境サンプルへの適用性を考慮すると、現在 PFC 分析に使用している OASIS WAX の方が適当と考えられるため、POCIS に適用する SP は、OASIS WAX とした。

(2)POCIS への PFC の吸着量及び水溶液濃度の経時変化

初期濃度 100 ng/L の PFOA・PFOS 溶液に POCIS を浸漬し、そこに吸着した PFC 量と浸漬していた水溶液の PFC 濃度の経時変化を Fig.2 及び 3 に示す。

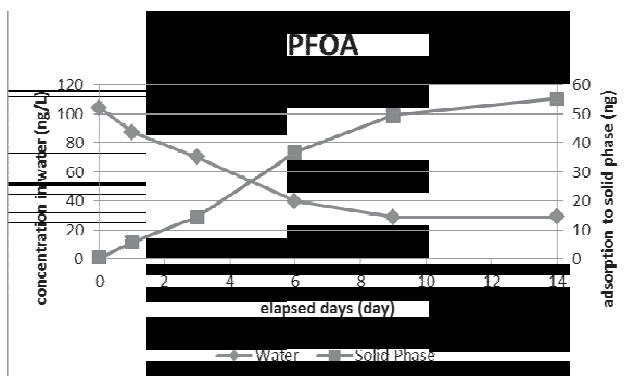


Fig. 2 PFOA の吸着量と水溶液濃度の経時変化

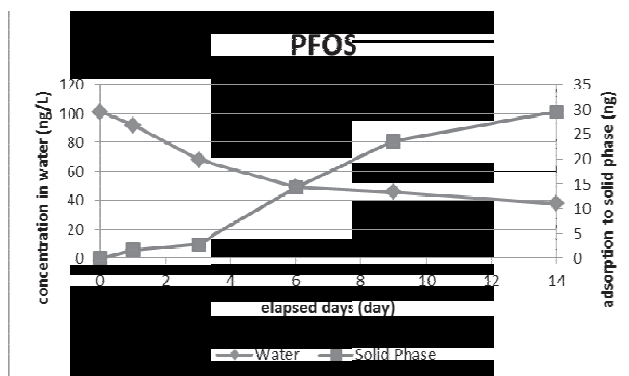


Fig. 3 PFOS の吸着量と水溶液濃度の経時変化

今回の試験では、POCIS にセットした SP の量は 200mg とした。14 日間の浸漬で、PFOA・PFOS とともに良好な吸着量増加が確認された。また、14 日間経過しても吸着量は増加を続けていることから、SP への吸着は飽和していないことも確認された。一方、水溶液は、SP への吸着量が増加するのに従って濃度が減少した。なお、14 日間超純水 (PFOA・PFOS 濃度が 0 ng/L) に浸漬した SP からの PFOA・PFOS 検出量は、両 PFC とも定量下限値未満 (<0.1 ng/L) であり、器具類、MF の MeOH 洗浄が十分であることが示唆された。

(3) サンプルングレートの算出

POCIS によるサンプルングでは、一般に以下の関係が成立する。

$$C_w = \frac{M_s}{R_s \cdot t} \quad (C_w: \text{water concentration (ng/L)}, M_s: \text{mass of adsorption (ng)}, R_s: \text{sampling rate (L/day)}, t: \text{time (day)})$$

$M_s/C_w = CF_t$ とおくと、 $CF_t = R_s \cdot t$ となり、 CF_t は t の関数となる。 M_s/C_w と t の散布図から得られた回帰直線の傾きが R_s となることから、両 PFC について散布図を作成し、 R_s を算出した (Fig. 4, 5)。

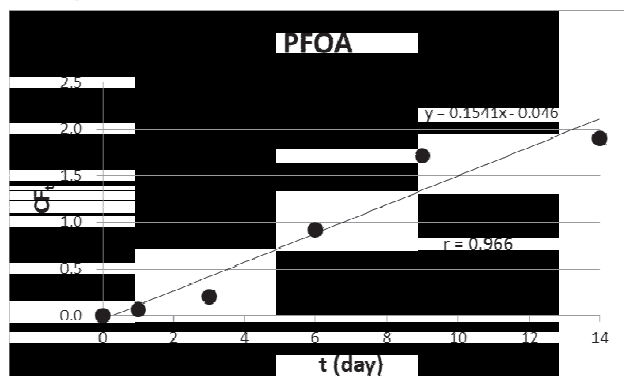


Fig. 4 PFOA の CF_t と t の相関

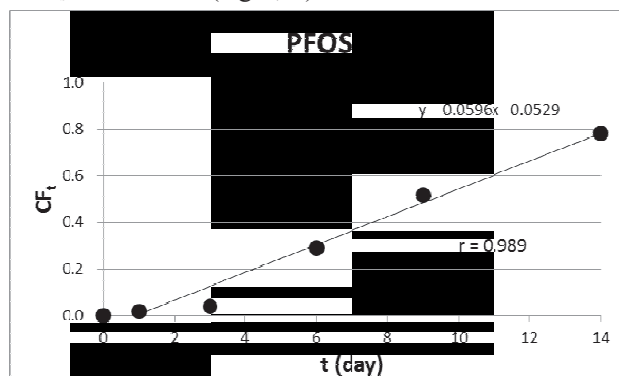


Fig. 5 PFOS の CF_t と t の相関

今回の条件では、PFOA・PFOS のサンプルングレートは、それぞれ 0.154、0.060 (L/day) と算出された。

4 今後の研究方向等

有機フッ素化合物を POCIS でサンプルングし、濃度を算出することは可能であり、環境水レベルの濃度に適用できることが確認できた。また、低濃度域でのサンプルングはコンタミのコントロールが非常に重要であり、MF に由来するコンタミを十分に除去する必要性も確認できた。 R_s は、水温、水中の夾雑物量、SP 量などによっても変化することが考えられるため、今後は、実験室内で水温等の違いによる R_s の変化を確認し、フィールドに展開させられるよう、基礎データを蓄積していくこととする。

研究成果報告書（17）

研究課題名	希少植物の種の保存および地域資源としての活用に関する研究
担 当	地球科学部 上席専門研究員 小山田智彰
1 目的	<p>岩手県において絶滅の危険性が高まっている植物を対象に「種の保存」を進める増殖技術の開発を検討する。特に本県の歴史や、文化・産業に深いかかわりを持つ植物を対象にする。本研究で開発した技術は、国内の絶滅危惧植物の種の保存および本県の環境保全政策に役立てるのはもちろん、地域の産業振興や農業振興などの高度な要求に応えられるように取り組む。</p> <p>【研究分類1】試験対象種の調査と保護に関する研究 【研究分類2】増殖に関する研究 【研究分類3】地域資源の活用に関する研究</p>
2 方法	<p>【研究分類1】：自生地の調査を行い、保全方法の技術開発を行う。 【研究分類2】：絶滅の危険度が高い種については種の維持を進めるための科学的な手法開発を進める。 【研究分類3】：地域資源の活用として新品種作出や地域の要望に応える技術の開発を進める。</p>
3 成果	<p>①山林開発に伴う希少植物の保護について技術指導を行い、国内初となるアツモリソウ野生株の移植を行った。この成果を環境省に報告し、第17回自然環境復元学会全国大会で発表した。【研究分類1（表1・2）】</p> <p>②東日本大震災後から継続してきた沿岸部の希少植物調査を継続実施した。国や県および市町村の復興工事に伴う問い合わせに対して適切な助言指導を行った。【研究分類1（表1）】</p> <p>③東日本大震災の津波やその後に発生した台風によって自生地が破壊されたエゾオグルマの緊急移植を行った。今年度は、移植全個体の生存と初開花を確認するとともに、胚培養による苗生産法の開発に成功して生息域内保全に取り組んだ。【研究分類1, 2（表1）】</p> <p>④開発したコマクサの大量増殖法が原著論文として掲載された。【研究分類2（表1）】</p> <p>⑤国の依頼を受けて、国内1箇所自生するアツモリソウ属植物の増殖試験に取り組んだ。環境省の種子バンクセンターに長期保存された種子は多くの種子について胚が死滅していたが、開発した培養液に浸水させて活性化を図った結果、種子290粒中6個が発芽した。【研究分類2】</p> <p>⑥花巻市の依頼を受け、資源活用に関する講演を行った。また、大迫地域に自生する絶滅危惧植物2種から花酵母を採取する相談に対応して予備試験を行い、増殖した酵母をサンプルとして提出した。【研究分類3（表1）】</p> <p>⑦国際登録種を交配親に活用し、新品種5種の発芽と栽培試験を行った。【研究分類3（図1）】</p>
4 今後の研究方向等	<p>①希少植物の絶滅回避に有効な技術開発。 ②「種の保存法」指定植物の生息域外保全に有効な技術開発。 ③地域資源の活用に関する要望等に対応するための技術開発。</p>

表1 主な発表業績(H28)

No.	学会・主催団体	掲載書誌名刊号頁	発表・掲載年月日	カテゴリ	タイトル名	発表者名
1	長野県富士見町	富士見町アツモリソウ再生会議10周年記念活動報告会	2016.5.21	パネリスト (100名)	富士見町アツモリソウ再生会議の評価と課題	小山田智彰・横山潤・宮原登・ 中山洋・渡部一夫
2	薬用植物栽培研究会	薬用植物研究	2016.6.28	原著論文	熱帯気候植物コマクサの組織培養による大量増殖	小山田智彰・山内貴義・鞍懸重和・ 川且智之
3	園芸植物育種研究所	誠文堂新光社「蔬菜の新品種 第19巻」	2016.7.15	専門書執筆	南部一郎 (ナンブイチロウ)	小山田智彰
4	東京山草会	やまくさ67	2016.9.27投稿	報文	津波後の希少植物調査と保護の取り組み (第2報)	小山田智彰・鞍懸重和・佐藤卓・ 千葉文也
5	自然環境復元学会	第17回自然環境復元学会研究発表会要旨	2017.2.6	口頭発表	山林開発に伴うアツモリソウの保護 -生息域内保全と野生株移植-	小山田智彰・鞍懸重和・高柳茂輔・ 菅原淳史・吉田 馨・西中 薫
6	大迫地域中心市街地づくり委員会	大迫地域中心市街地づくり委員会依頼講演	2017.2.22	講演 (25名)	「希少植物を護り特産品開発に活かす」 ～真の豊かさを求めて～	小山田智彰

表2 山林開発地内で確認した希少植物および保全措置一覧
(第17回自然環境復元学会全国大会 発表要旨より)

分類群	科名	種名	種の 保存法	環境省		岩手 RDB	移植実施	播種実施		
				RDB	種					
シダ植物	イワヒバ	イワヒバ				B				
		クラボン	ヒメノキノブ			C				
			イワオモミダ			B				
	種子植物	イブイ	イブイ				D			
				イブイ			D			
		クマゲソ	クマゲソ				(H)RDB:(B)		○	
			クマゲソ				B			
			クマゲソ				C			
		ナデシコ	ナデシコ	タチハコベ				VII	C	○
				ナデシコ				VII	C	○
				ナデシコ				VII	C	○
		キンギョソウ	キンギョソウ	キンギョソウ				VII	C	○
				キンギョソウ				VII	C	○
				キンギョソウ				VII	C	○
		合弁花類	ボタン	ボタン				NT	B	
	ボタン					NT	A	○		
	ボタン					NT	A	○		
ハナ	ハナ		ハナ				(H)RDB:(C)		○	
			ハナ				(H)RDB:(C)		○	
			ハナ				(H)RDB:(C)		○	
トウダイクサ	トウダイクサ		トウダイクサ				NT	B	○	
			トウダイクサ				B	○		
			トウダイクサ				B	○		
	イネ科		イネ科	イネ科				VII	C	○
				イネ科				VII	C	○
				イネ科				VII	C	○
	アザミ科		アザミ科	アザミ科				FN	A	○
				アザミ科				FN	A	○
				アザミ科				FN	A	○
		シソ	シソ	シソ				VII	B	○
				シソ				VII	B	○
				シソ				VII	B	○
オウゴン		オウゴン	オウゴン				(H)RDB:(C)		○	
			オウゴン				(H)RDB:(C)		○	
			オウゴン				(H)RDB:(C)		○	
キク		キク	キク				C		○	
			キク				C		○	
			キク				C		○	
種子葉植物	イワナギ	イワナギ				VII	B	○		
			イワナギ			VII	B	○		
			イワナギ			VII	B	○		
	ユズ	ユズ	ユズ				(H)RDB:(B)		○	
			ユズ				(H)RDB:(B)		○	
			ユズ				(H)RDB:(B)		○	
	サトウ	サトウ	サトウ				(H)RDB:(C)		○	
			サトウ				(H)RDB:(C)		○	
			サトウ				(H)RDB:(C)		○	
	アザミ	アザミ	アザミ				C		○	
			アザミ				C		○	
			アザミ				C		○	
アツモリソウ	アツモリソウ	アツモリソウ	園内			VII	A	○		
		アツモリソウ				A	○			
		アツモリソウ				A	○			
ヒメミドリ	ヒメミドリ	ヒメミドリ				C		○		
		ヒメミドリ				C		○		
		ヒメミドリ				C		○		
5類				30科	52種	1種	18種	52種	29種	7種

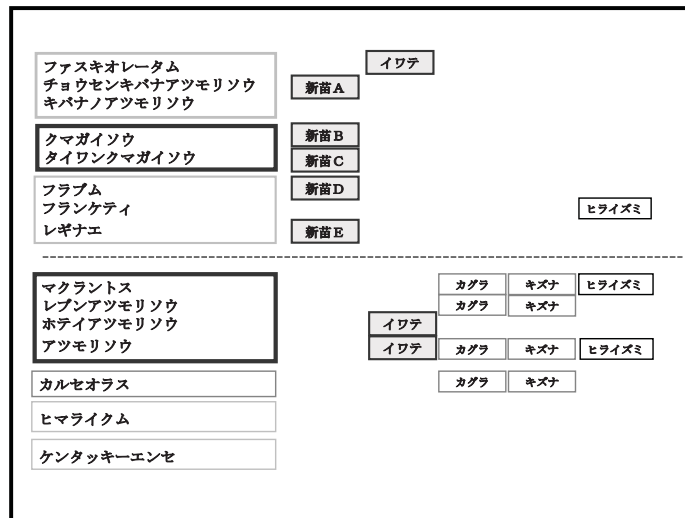


図1 交配親”イワテ”と新開発5種の遺伝的な関係図

研究成果報告書（18）

研究課題名	イヌワシの生息数維持に向けた保全生態学的研究
担 当	地球科学部 上席専門研究員 前田 琢
<p>1 目的</p> <p>岩手県内に生息するイヌワシは、現在までに 34 つがいが確認されているが、2000 年以降は消失するつがいも目立ち始めている。その背景には長年に及ぶ繁殖成功率の低迷があると考えられる。今後もイヌワシの生息数を維持していくためには、繁殖率の向上を促す保全方法を明らかにすることが重要である。</p> <p>これまでの研究により、岩手県内のイヌワシの生息状況や生態的特性について解明が進められてきたが、個体の移動分散、遺伝的構造、営巣地不明つがいの存在など、今後の生息数の動向を予測するうえで必要となる事項には、未解明な部分が少なくない。また、つがいごとに異なる繁殖成績や営巣場所の選択についても、地理・地形的条件や植生、気象要因、個体の年齢、隣接つがいの有無等を考慮して、多角的に分析を進める必要がある。本研究では、こうした課題に取り組むことを通じて、岩手県のイヌワシを維持、存続させるために必要な保全手法を明らかにし、提言を行なうことを目的とする。</p> <p>28 年度に調査研究を行なった項目は以下のとおりである： ①県内に生息するつがいの動向および繁殖状況の調査、②ビデオを用いた繁殖行動調査、③個体識別による移動分散調査、④羽根等を利用した遺伝子解析（京都大学野生動物研究センターとの共同研究）。</p> <p>2 方法</p> <p>① 県内で確認されている全つがいを対象に、繁殖期全般にわたる行動、巣の状態、ひなの生育状況等を調査し、繁殖経過を明らかにした。また、これまでに生息が確認されていない地域で、新たなつがいや営巣地を発見するための探索調査を実施した。調査したつがいは可能な限り個体識別を行ない、個体の入れ替わり等も明らかにした。</p> <p>② 巣に設置されたビデオカメラによって、イヌワシの繁殖行動を長期的に撮影し、その映像に基づいて親鳥の出入り頻度、抱卵・抱雛時間、雛の成長、給餌頻度、食餌率、餌内容などを分析した。28 年度は特に、親鳥の出入り頻度に着目した解析を 3 つがい 6 事例について行ない、効率的な観察を行なうための目安となる遭遇確率を明らかにした。</p> <p>③ 県内外で観察されたイヌワシを撮影するとともに、各地の観察者が撮影した個体の映像も収集し、特徴の比較を行なった。そして、同一個体を判別することにより、個体の移動分散の状況を明らかにした。</p> <p>④ イヌワシの巣や採餌場から、羽根、ペレット、卵殻、糞といった非侵襲的試料を採取するとともに、標本や飼育個体からも同様の試料を収集した。得られた試料から DNA を抽出し、核 DNA のマイクロサテライトおよびミトコンドリア DNA のコントロール領域（CR）や擬似コントロール領域（ΨCR）等について、多様性やハプロタイプの解析を行なった。マイクロサテライトの分析にあたっては、既存のマーカに加え、独自に開発したイヌワシ専用のマーカも用いた。</p> <p>3 結果</p> <p>① 2016 年には 28 つがいの生息が確認され、うち 10 つがいで抱卵、8 つがいで育雛、4 つがいでひなの巣立ちが観察された。繁殖成功率は 14.3%であり、個体数維持のための目標値（約 30%）の半分程度であった。新たなつがいの発見はなかったが、2013 年から 1 つがいが占有していた 2 つの営巣地にそれぞれ若鳥 1 羽が定着し、2 つがいに戻ったことが確認された。その一方、2 つの営巣地が同じ 1 つがいによって利用されている事例も新たに</p>	

見つかった。岩泉町では新たな巣が発見され、6キロ離れたつがいのものと確認された。

② 繁殖成功した3つがい6事例のビデオ映像を元に、繁殖期を通じた個体の出入り時刻を記録し、一定の条件で観察を行なった時の個体の遭遇確率を求めて検討した。その結果、造巣期前半や育雛期の後半は遭遇確率が低く十分な観察時間が必要であること、産卵前までは午前中の観察が遭遇しやすく、育雛期には昼や午後からの観察が効率的であることなどが明らかになった。

③ 映像から同一個体であると確認できた事例が新たに5例得られ、成鳥では営巣地からそれぞれ約8、13、17キロ離れた餌場への移動が、幼鳥では出生地から約35キロ離れた場所への移動が明らかになった。さらに若鳥では、これまでの最長記録となる約202キロの移動も明らかになった。

④ 野生個体について、羽根、筋肉、ペレット等16点の遺伝子試料を新たに収集した。これまでの試料と合わせて39個体についてDNA抽出と解析を実施し、対立遺伝子数、ヘテロ接合度、近交係数などを明らかにした。その結果、岩手県の野生個体は、過去に著しい個体数の減少があった英国のイヌワシと同程度の遺伝的多様性であることが明らかになった。

4 今後の研究方向等

(1) 各営巣地において繁殖状況の把握、失敗原因の解明を進めるとともに、未確認つがいがいる可能性の高い地域について、引き続き情報収集や探索調査を行なう。

(2) 営巣地の分布や、つがい間にみられる繁殖成績の違いについて、採餌場所の配置・面積・標高、隣接つがいの距離などの条件を含めて分析し、関連性を検討する。

(3) 岩手県外も含めより多くの個体の映像収集を進め、同一個体の移動事例を増やすことによって、従来の行動圏を再評価する。

(4) 広い地域から個体のDNAサンプルを収集して、広域的な遺伝構造を検討するとともに、個体識別や近親度の解明を可能にする。

研究成果報告書（19）

研究課題名	ヘア・トラップ法によるツキノワグマの生息動向と個体数推定法の開発
担 当	地球科学部 主査専門研究員 山内 貴義
<p>1 目的</p> <p>ヘア・トラップ調査のモデル地域を設定し、個体群のトレンドを把握する。そして継続したヘア・トラップ調査の結果を組み入れる統計シミュレーションモデルを試行し、岩手版の生息動向と個体数推定法を確立することを本研究課題の目的とした。本年度はヘア・トラップ調査を実施し、これまでの調査結果の比較を行うこととした。</p> <p>2 方法</p> <p>北奥羽地域(岩手大学御明神演習林)に17基のヘア・トラップを5月下旬に設置した。トラップは有刺鉄線を2本張る構造にした(図1)。また急峻な地形のためヘア・トラップが設置出来ない1カ所についてはヘア・トラッパーを設置した(図2)。トラップ設置後2~3週間ごとに5回の体毛回収を行った。体毛は野外で茶封筒に回収した。研究室で直ぐに30℃の恒温機で乾燥させ、分析まで-20℃で保存した。体毛は実態顕微鏡を用いて毛根の有無を確認し、毛根部分のみを1サンプルあたり30本までマイクロチューブに回収した。1トラップのサンプルで30本に満たない場合は、直ぐそばの有刺鉄線の棘から採取されたサンプルを混合して1サンプルとした。抽出はDNA ExtractorFM kitを用いた。抽出したDNAは分光光度計で濃度を測定した後、マイクロサテライト部位を増幅するMultiplex PCRと、アメロゲニン部位を増幅するPCRをそれぞれ行った。マーカーセットはG10C・G10L・G10Bと、MUUT2・UarMU23・UarMU05を用い、それぞれMultiplex PCRを実践した。フラグメント解析はABI社製Genetic Analyzer 3130xlを用い、対立遺伝子の判定はGeneScan 600 LIZ SizeStandardに基づいてGeneMapper v4.0によって行った。ミスマッチの照合や再分析の方法はUno et al. 2012の方法に準じた。</p> <p>3 結果</p> <p>遺伝子解析に用いたセッションごとのサンプル数と各セッションの確認頭数を表に記した。遺伝子解析成功率はどのセッションにおいても高い値を維持した。最終的な演習林での確認頭数は31頭であった。演習林では過去10年間のヘア・トラップ調査が実施されているが、その結果と比較すると高い値になった。空間明示型標識再捕獲モデルによって個体数密度を推定した結果、0.55頭/km²であった。2013年度が0.29頭/km²、2014年度が0.33頭/km²、2015年度が0.35頭/km²であり、密度が上昇してきている。2015年はブナが大豊作であったため(図3)、出生率が上昇して子グマが増加した可能性も考えられる。</p> <p>4 今後の研究方向等</p> <p>次年度から新たな重点研究がスタートする。今回の結果を踏まえて新たなharvest-based modelを構築し、2016年はブナなどの堅果類によって個体群密度が上昇したのかを証明する必要がある。また将来予測方法を確立して新たな捕獲上限数の算定方法を検討する必要がある。</p>	

表1 各セッションのサンプル数と遺伝子解析成功率, 遺伝子解析による個体識別後の確認頭数

セッション	サンプル数	確認頭数
第1セッション	32	11
第2セッション	23	10
第3セッション	54	15
第4セッション	21	7
第5セッション	24	11

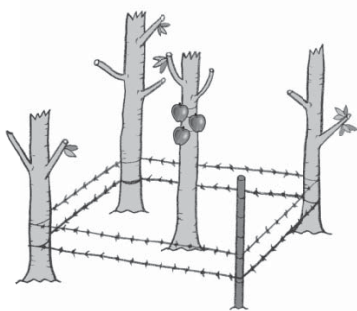


図1 ヘア・トラップ装置の模式図

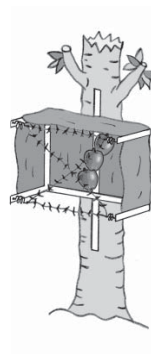


図2 ヘア・トラッパー装置の模式図

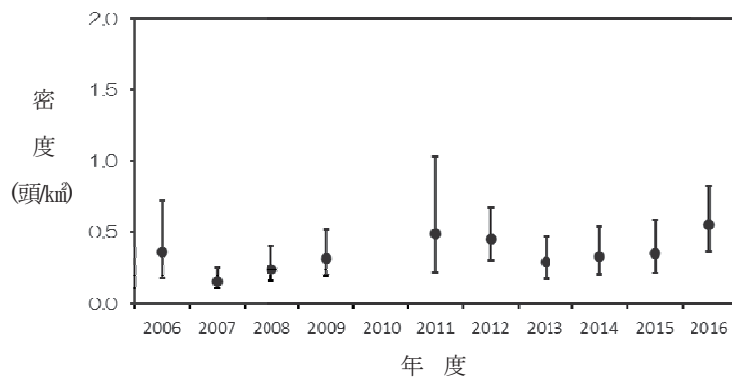


図3 御明神演習林で実施されたヘア・トラップ法によるツキノワグマの推定生息密度推移(中央値±95%信用区間)

研究成果報告書（20）

研究課題名	ニホンジカの個体数推定と将来予測に関する基礎的研究
担 当	地球科学部 主査専門研究員 山内 貴義

1 目的

岩手県では様々なモニタリング調査を実施して保護管理計画を運用してきた。しかし急激な分布の拡大，里周辺に生息する個体の増加など，従来までの個体数推定法では正確な生息状況ならびに将来予測が不可能になっている。そこで本研究では個々の事業で蓄積されたデータを用いて，ヘリコプター調査に代わる五葉山地域の個体数推定法を確立することとした。今年度は捕獲個体調査のうち腎脂肪による栄養状態の把握と歯を用いた年齢査定の結果を解析し，年齢や地域による違いが見られるかを検証した。

2 方法

2016年1～3月中に捕獲個体調査のために有害・狩猟捕獲で回収されたニホンジカの下顎と腎臓を用いて年齢査定と栄養状態調査(RKFI 値)を実施した。下顎を煮沸して第一切歯を抜き取り，クリーニングして0歳，1歳，2歳以上の区分に分けた。

3 結果・考察

オス全体の平均RKFI 値が59.5%、メス全体の平均RKFI 値が80.6%であり，岩手県内におけるシカの栄養状態は雌雄ともに良好であった。メスでは0歳個体が77.1±2.5%，1歳個体が87.8±3.8%，2歳以上個体が77.0±1.9%であり，1歳個体の栄養状態が非常に良好であり，有意差が見られた(Tukey-Kramer, P<0.05) (図1)。五葉山地域の平均妊娠率は81.5%であり，五葉山地域以外の平均妊娠率は83.7%であった(t 検定，有意差なし)。年齢との比較では，1歳個体の平均妊娠率は74.0%であり，2歳以上個体の平均妊娠率は89.5%であり，有意差が見られた(t 検定，P<0.05)。2013年からシカの捕獲が急増したが，生息密度が減少したために個体の栄養状態が良好な状態に向かっている可能性が考えられた。

4 今後の研究方向等

これまでの結果から五葉山地域もそれ以外の地域でも妊娠率の上昇が見られ，特に1歳の上昇が顕著である。また栄養状態も1歳個体で急増している。上記の調査を来年度も継続して実行し，自然増加率の推定が直接可能かどうかを検討していく。また harvest-based model による個体群動態シミュレーションが可能であるかを検証する。

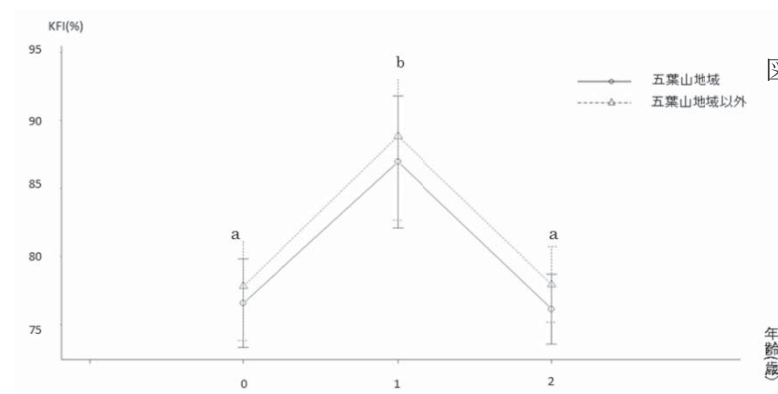


図1 五葉山地域と五葉山地域以外のメス個体の年齢(0歳、1歳、2歳以上)ごとのRKFI 値(平均±標準誤差)異なるアルファベットは有意差(p<0.05)が見られたものを示す。