

### III 論文投稿・对外発表



### III 論文投稿・学会発表

#### ■ 論文 1

*Journal of Cancer*, **9**, 2543-2548 (2018), doi: 10.7150/jca.24431. eCollection, Jun 22,2018.

### **Nomograms and risk scores for predicting the risk of oral cancer in different sexes: a large-scale case-control study**

Chen F<sup>1,2</sup>, Lin L<sup>3</sup>, Yan L<sup>1,2</sup>, Liu F<sup>1,2</sup>, Qiu Y<sup>3</sup>, Wang J<sup>4</sup>, Hu Z<sup>1,2</sup>, Wu J<sup>1,2</sup>, Bao X<sup>1,2</sup>, Lin L<sup>1,2</sup>, Wang R<sup>1,2</sup>, Cai G<sup>5</sup>, Aoyagi K<sup>6</sup>, Cai L<sup>1</sup>, He B<sup>1,2</sup>

*1 Department of Epidemiology and Health Statistics, Fujian Provincial Key Laboratory of Environment Factors and Cancer, School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou, China.*

*2 Key Laboratory of Ministry of Education for Gastrointestinal Cancer, Fujian Medical University, Fuzhou, China.*

*3 Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, China.*

*4 Laboratory Center, School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou, China.*

*5 Nagasaki Prefectural Institute of Environmental Research and Public Health; Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan.*

*6 Department of Public Health, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan.*

*Background:* Although previous studies have explored the associations of modifiable lifestyle factors with oral cancer risk, few studies integrated these factors and established predictive tools for oral cancer risk in different sexes. *Methods:* Using a case-control study design, a total of 978 oral cancer cases and 2646 healthy controls were recruited in this study. Nomograms were constructed according to significant factors in multivariable logistic regression. Risk scores were calculated based on the nomograms and quantified the risk of oral cancer using restricted cubic spline. *Results:* Multivariate analyses demonstrated that smoking, alcohol drinking, tea, intake of fish, seafood, vegetables, fruits, teeth loss, regular dental visits and repetitive dental ulcer were independent factors for male oral cancer. Passive smoking, age at first intercourse, cooking oil fumes exposure, tea, intake of beans, vegetables, fruits, teeth loss, regular dental visits and repetitive dental ulcer were associated with female oral cancer. Then, two nomograms were developed for predicting the probability of oral cancer in men and women with the C-index of 0.768 (95% CI: 0.723-0.813) and 0.700 (95% CI: 0.635-0.765), respectively. Restricted cubic splines graphically revealed the risk of oral cancer in individuals with different risk scores. Moreover, the risk escalated continuously with the increasing number of the risk scores among both sexes. *Conclusions:* Combining nomograms with risk scores developed in this study could precisely predict oral cancer occurrence and provide an accurate risk assessment.

■ 論文 2

*Geriatrics & Gerontology International*, **18**, 1093-1099 (2018), doi: 10.1111/ggi.13317. Epub 2018 Mar 30.

**Social participation and the onset of hypertension among the middle-aged and older population: Evidence from the China Health and Retirement Longitudinal Study**

Tu R<sup>1,2</sup>, Inoue Y<sup>3</sup>, Yazawa A<sup>4</sup>, Hao X<sup>5</sup>, Cai G<sup>1,6</sup>, Li Y<sup>7</sup>, Lin X<sup>8</sup>, He F<sup>9</sup>, Yamamoto T<sup>1</sup>

*1 Department of International Health, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Nagasaki, Japan.*

*2 Leading Program, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki, Japan.*

*3 Carolina Population Center, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, USA.*

*4 Research Center for Child Mental Development, University of Fukui, Fukui, Japan.*

*5 China National Health and Development Research Center, Beijing, China.*

*6 Nagasaki Prefectural Institute of Environment and Public Health, Nagasaki, Japan.*

*7 Department of Health Management, School of Public Health, Fujian Medical University, Fujian, China.*

*8 Department for Chronic and Non-communicable Disease Control and Prevention, Fujian Provincial Center for Disease Control and Prevention, Fujian, China.*

*9 Department of Epidemiology, School of Public Health, Fujian Medical University, Fujian, China.*

**AIM:**

While previous studies have examined the association between health-related behaviors and hypertension, comparatively little attention has been paid to the role of social participation (i.e. participating in community organizations). The aim of the present study was to investigate the longitudinal association between social participation and hypertension among the middle-aged and older population (aged  $\geq 45$  years) in China where the prevalence of hypertension has been increasing rapidly in the past few decades.

**METHODS:**

Data came from the China Health and Retirement Longitudinal Study waves 2011 and 2013. Information was obtained from 5483 participants on blood pressure, social participation and covariates. A sex-stratified Poisson regression model with a robust variance estimator was used to examine the associations.

**RESULTS:**

During the period between 2011 and 2013, 20.6% of men and 17.2% of women developed hypertension. A Poisson regression model showed that participating in community organizations once a week or more frequently was inversely associated with the onset of hypertension in women (incidence rate ratio 0.80, 95% confidence interval 0.67-0.95,  $P = 0.012$ ). Among men, no such association was found.

**CONCLUSION:**

The present study suggests that promoting social participation might help mitigate the disease burden associated with hypertension in China, particularly among women. *Geriatr Gerontol Int* 2018; 18: 1093-1099.

■ 論文 3

*American Journal of Human Biology*, **30**, e23135(2018), doi: 10.1002/ajhb.23135. Epub 2018 May 11.

## **Epstein-Barr virus antibody titer as a stress biomarker and its association with social capital in rural Fujian communities, China**

Yazawa A<sup>1</sup>, Inoue Y<sup>1,2</sup>, Cai G<sup>3,4</sup>, Tu R<sup>4</sup>, Huang M<sup>5</sup>, He F<sup>6</sup>, Chen J<sup>6</sup>, Yamamoto T<sup>4</sup>, Watanabe C<sup>1</sup>

*1 Department of Human Ecology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0033, Japan.*

*2 Carolina Population Center, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina 27516.*

*3 Nagasaki Prefectural Institute of Environment and Public Health, Omura-shi, Nagasaki, 856-0026, Japan.*

*4 Department of International Health, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki-shi, Nagasaki University, Nagasaki, 852-8523, Japan.*

*5 Fujian Provincial Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou, Fujian, 350001, China.*

*6 Department of Epidemiology, School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian, 350108, China.*

### **OBJECTIVES:**

There has been little research on the association between social capital and psychological stress measured by a biomarker, particularly in developing countries. Our objective was to investigate the association between Epstein-Barr virus (EBV) antibody titer, an indicator of cellular immune function previously shown to be associated with psychological stress, and social capital among rural community dwellers in Fujian Province, China.

### **METHODS:**

We conducted a cross-sectional survey in seven rural communities in Fujian in 2015. We used questionnaire data and dried blood spot samples for the measurement of biomarkers collected from 734 local residents for the analysis. We conducted a mixed effects regression analysis to investigate the association between EBV antibody titer and four social capital variables, which included cognitive and structural social capital assessed both at individual and community levels.

### **RESULTS:**

Community-level structural social capital was inversely associated with psychological stress (coefficient = -0.96, 95% confidence interval [CI] = -1.91, -0.01) while individual-level structural social capital was positively associated with it (coefficient = 0.21, 95% CI = 0.07, 0.36). Neither individual- nor community-level cognitive social capital was associated with psychological stress status.

### **CONCLUSIONS:**

In rural Fujian, China, social capital seemed to be an important determinant of psychological health. While living in a community with active social interaction may benefit the residents psychologically, social interaction in the form of strongly bonded relationships may be a source of psychological stress at the individual level due to the potential demands and obligations that may be associated with such connections.

## ■ 論文 4

ペトロテック, 41(8), 638 ~ 641(2018).

### バイオメタノールを活用したバイオディーゼル燃料製造技術の検討

古賀康裕、富永勇太

バイオディーゼル燃料を製造する際に使用するメタノールは、一般的に化石燃料由来のものであるため、木くずを原料とするバイオメタノールを用いた、より二酸化炭素排出量の少ない製造方法の検討結果を紹介する。

## ■ 論文 5

全国環境研究会誌, 43(3), 48 ~ 52(2018).

### 大村湾におけるアサリ生息場適性評価モデルの構築

粕谷智之

大村湾の潮間帯におけるアサリを対象として、アサリの生息密度と環境要素との関係から、生息環境の棲みやすさを点数化するSI(Suitability Index: 適合指数)モデルを作成するとともに、SIモデルを統合した大村湾に適用したHSI(Habitat Suitability Index: 生息域適性指標)モデルを構築した。環境要素には中央粒径、強熱減量、そして含水率を採用し、3つの環境要素のSIの積からHSIを算出した。得られたHSIモデルを大村湾の覆砂場に適用した結果、アサリ生息密度の減少には底質以外の要因、例えば、アカエイなどによる捕食が関わっていることが示唆された。

## 論文 6

日本周産期・新生児医学会雑誌 第54巻第3号 2018(平成30)年9月

### 著明な血小板減少を来した新生児コクサッキーウイルス B4 感染例の1例

木下 麻莉子<sup>1)</sup>、木下 史子<sup>1)</sup>、西口 亮<sup>1)</sup>、林 麻奈美<sup>1)</sup>、石川 香織<sup>1)</sup>、小杉 勉<sup>1)</sup>、松本 文昭<sup>2)</sup>、森内 浩幸<sup>1)</sup>

1) 長崎大学病院小児科

2) 長崎県環境保健研究センター 保健衛生研究部 保健科

#### 概要

症例は36週1日に免疫性血小板減少性紫斑病(以下ITP)疑い妊婦から二絨毛膜二羊膜双胎の一児として出生した。分娩前日に母親は発熱し、破水のために緊急帝王切開となった。日齢

0 の血小板数は正常だったが、日齢 5 に発熱、活気不良、血小板減少を認め GCU に入院した。抗菌薬、免疫グロブリン 1 g/kg 投与後も血小板数は 8,000/  $\square$ L まで減少したため免疫グロブリン追加投与と血小板輸血を行った。出血斑以外の出血症状は見られず、日齢 12 から血小板数は改善した。患児と無症候性の双胎同胞の全血、尿、咽頭ぬぐい液からコクサッキーウイルス B4 が同定され、母親はペア血清で同ウイルス中和抗体価の有意上昇を認めた。

新生児期のエンテロウイルス感染症は重症化の怖れがあるが、迅速診断法がなく対症療法に限られる。本症例では ITP 母体児疑いとして早期投与した免疫グロブリンが抗ウイルス効果を発揮した可能性がある。

## ■ 論文 7

日本食品微生物学会雑誌 第 35 巻第 3 号 134-142 (2018)

### 16S-23S rRNA 遺伝子 ITS 領域の制限酵素断片長多型に基づく長崎県沿岸由来および臨床由来 *Vibrio vulnificus* 株のクラスタリング

右田 雄二<sup>1,2</sup>、山崎 省吾<sup>1</sup>、西山 雅也<sup>3</sup>、和田 実<sup>3</sup>

- 1 長崎県環境保健研究センター
- 2 長崎大学大学院生産科学研究科
- 3 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

#### 要約

*V. vulnificus* は汽水域に広く存在し、魚介類の生食や海水暴露を介し、希に肝臓疾患などを有するヒトに致死的な感染をひき起こす。有明海沿岸は国内でも *V. vulnificus* 感染症の重症患者の報告が多い。本研究では、16S-23S rRNA オペロン遺伝子間スペーサー(ITS)領域の制限断片長多型(RFLP)に基づく *V. vulnificus* の高感度検出法について報告する。有明海を含む長崎県沿岸域と九州北部の患者に由来する *V. vulnificus* 158 株を調査した。7 クラスタ (I~VII) のうち、クラスタ III には臨床由来株の 57% (16/28) が属し、さらにそこに含まれた 49 株のうち 96% の株が臨床型の病原性関連遺伝子 (*vcg*) を保有していた。また有明海由来株は全 7 クラスタに分布し、その 64% の株が臨床型 *vcg* 遺伝子を有し、さらにその 53% がクラスタ III に属した。このことは、長崎県の有明海以外の沿岸地域で分離された株の特徴とは対照的であった。これらの結果は、(1) rITS-RFLP 法は感染リスクの高い *V. vulnificus* 株を検出するのに十分感度が高く、(2) 有明海沿岸域は長崎県のそれ以外の沿岸域に比べて *V. vulnificus* の多様性が高いことを示している。

## ■ 論文 8

全国環境研会誌, 43(4), 43~47 (2018) .

### 二枚貝を利用した諫早湾干拓調整池の水質改善の検討 - 淡水性二枚貝 3 種の浄化能力について -

## 桑岡莉帆、粕谷智之

淡水性二枚貝類 3 種(イケチョウガイ、ニセマツカサガイ、マシジミ)の摂餌実験を行い、浄化能力を検討した。水温 28°Cにおける単位湿重量当たりの濾水速度(FR)および化学的酸素要求量(COD)除去量は、2.1~66 L/kgWW/h および 4.2~28 mg/kgWW/h の範囲であり、マシジミで最も高く、イケチョウガイで低かった。水温 28°Cにおける COD 除去量と、水温に対する FR の応答を用いて、二枚貝 3 種の年間の COD 除去量を算出した。試算された COD 除去量は、1 日当たり 0.02~580 kg であり、これは下水処理場の 0.00002~0.66 ヶ所分、貨幣価値にして 130 万~360 億円に相当する。イケチョウガイは 1 年以上飼育すれば、貨幣価値が個体の購入費用を上回る。ニセマツカサガイとマシジミは周辺水路に自然繁殖している個体を利用すればイケチョウガイのような個体の購入費用がかからないことから、費用対効果は高いと考えられる。

## ■ 論文 9

*The Japanese Journal of Veterinary Dermatology*, **25**, 7-11 (2018), doi: <https://doi.org/10.2736/jjvd.25.7>

## Determination of antimicrobial activity of plant-derived polyphenols against *Malassezia pachydermatis* and *Staphylococcus intermedius*

Ichiro TAKAJO<sup>1,2</sup>, Hirotaka Matsumoto<sup>1</sup>, Toshitsugu Taguri<sup>2</sup>, Takahiro Teshima<sup>1</sup>, Hidekazu Koyama<sup>1</sup>

*1 Laboratory of Veterinary Internal Medicine, School of Veterinary Medicine, Nippon Veterinary and Life Science University*

*2 Section of Microbiology, Nagasaki Prefectural Institute of Environment and Public Health*

The emergence of antimicrobial-resistant pathogens has significantly affected treatment outcomes for malasseziosis and pyoderma in dogs. Here, we determined the antimicrobial activity of plant-derived polyphenols against *Malassezia pachydermatis* and *S. intermedius*, the causative agents of malasseziosis and SIG infection, respectively. The polyphenols tested were castalagin, (+)catechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin-3-O-gallate, myricitrin, prodelphinidin, procyanidin, resveratrol, rutin, theaflavin, and thearubigin. Minimum inhibitory concentration (MIC) values of these polyphenols against two yeast species, *M. pachydermatis* and *Candida albicans*, and two bacterial species, *S. intermedius* and *Achromobacter xylosoxidans*, were determined using an agar plate assay. Castalagin had the lowest MIC values against *M. pachydermatis* (100 µg/ml) and *S. intermedius* (50 µg/ml), suggesting its therapeutic potential for skin diseases caused by these microbes in dogs.

## 対外発表 1

The 5th meeting for ESCMID Study Group for Legionella Infections, Lyon, France, August 28-30, 2018

### On-site inspection method for *Legionella pneumophila* in bath water

Toshitsugu Taguri, Guoxi Cai, Hiroko Ebisu-Ojima, Fumiaki Kura<sup>1</sup>, and Junko Amemura-Maekawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.

**Background** Legionella is repeatedly occurring in artificial warm water, avoiding bactericidal effect of chlorine, mainly by hiding in biofilms. Mature biofilms are costly to remove, requiring intensive and iterant sanitation management in bathing facilities. A rapid detection method (RDM) using flow cytometry has been developed to make facility managers recognize the risk of Legionella, but it has not yet been conducted as an on-site inspection, because of the unwieldy machine and the non-specificity of bacteria detected by the method. In this study, we examined and improved the RDM by applying a portable flow cytometer together with nucleic acid staining and Legionella-specific antibody staining.

**Materials/Methods** The flow cytometer was a device with a 532 nm green laser and weighed 6.5 kg. After confirming the efficiency of the machine as the RDM, first, we examined the specific and quantitative potency of the method on spike testing in comparison with a culture method. Antibodies specific for *Legionella pneumophila* SG2~SG15 or *L. pneumophila* SG1 were used. Second, we evaluated the two methods using 30 water samples collected from 3 different hot tubs with water originating from 2 wells or a hot spring, at a bathing facility, before and after hyperchlorination under strict disinfection condition for 5 weeks. After concentrating the samples about 1000 times, the disinfection effect was examined by counting Legionella cells using RDM.

**Results** The RDM showed a high correlation ( $y = 409.26 \times 0.8689$ ,  $R^2 = 0.95113$ ) with the culture method in the range of about 102 to 105 CFU/mL in *L. pneumophila* SG1 spike testing, and *L. pneumophila* SG1, SG3, SG4, SG5, SG6, SG9, SG10 and untypable strains could be detected. The detection limit and the quantification limit of this test method were determined to be 5 cells/100 mL and 229 cells/mL, respectively, corresponding to 32 CFU/100 mL and 235 CFU/mL in culture. In the field study, three *Legionella* positive samples averaging 10 CFU/100 mL were found to be equivalent to an average of 17 cells/100 mL of *L. pneumophila* SG1 by the RDM in about an hour.

**Conclusions** The RDM would be available as a monitoring tool for the risk of *Legionella* on-site, especially that of *L. pneumophila*, while discriminating between SG1 or non-SG1. The practical utility in various facilities remains to be clarified.

**Acknowledgement** This work was supported by Health and Labour Sciences Research Grant (2016 Kenki-006 to J.M.).

## 対外発表 2

平成 30 年度九州衛生環境協議会 2018 年 10 月 11 日 鹿児島市

### 長崎県におけるレジオネラ症の発生状況(2006～2017年)

蔡 国喜<sup>1</sup>、田栗 利紹<sup>1</sup>

## 1 長崎県環境保健研究センター

〔目的〕レジオネラ症はレジオネラ属菌が原因で起こる感染症で、その病型には、劇症の「肺炎型」と一過性の「ポンティアック熱型」がある。レジオネラ属菌は、水や土壌などの自然環境中いたるところに存在するが、レジオネラ症の集団感染は、通常、循環風呂や冷却塔などの人口環境におけるレジオネラ汚染水と関連することが知られている。1999年4月の感染症法の改正によってレジオネラ症は全数把握疾患となり、四類感染症として全ての医師等に管轄の保健所への届出が義務づけられている(感染症法第12条)。2006年には報告内容の変更が行われ、患者属性等がより詳細となった。近年、高齢化の進む日本では日和見感染である本疾患の今後の動向が注目されている。本まとめでは、長崎県の2006年から2017年までのレジオネラ発生届出を集計し、その記述統計情報をまとめて報告する。

〔材料と方法〕感染症発生動向調査事業(NESID)は、国内の感染症に関する情報の収集及び公表、発生状況及び動向の把握を、医師・獣医師の届出に基づいて行うものである。現在、1999(平成11)年4月に施行された感染症法に基づいて実施されている。長崎県環境保健研究センターは地方感染症情報センターとして、県内10地区の保健所から届けられた感染症発生届出を確認した上でNESIDシステムに登録する作業を行う。今回我々は同事業により収集された2006年から2017年までのレジオネラ発生届の情報をを用いて整理・集計・分析した。

〔結果と考察〕2006年1月～2017年12月に97例が診断され、平均年罹患率は0.58/10万人で、同期間日本全国平均の0.82/10万人より少し下回っていた。その一方で、97件届出の内2件が死亡例で病死率は2.1%であり、全国同期間の病死率1.9%より上回ることが分かった。レジオネラ症発生の季節変動について、全国データでは7月を中心に増加し、翌3～5月にかけて減少する傾向に対して、長崎県では7月と11月に二つのピークが認められた。夏季で空調用冷却塔等の稼働が増加すると共に生活環境水の温度も高めになることが考えられる要因の一つであるが、11月における報告数増加の原因となるリスクファクタの究明にはさらなる疫学調査が必要である。長崎県のレジオネラ症患者(以下長崎患者)を性別に分けてみると、男性84名(86.6%)、女性13名(13.4%)であった。全国のレジオネラ症患者(以下全国患者)もほぼ同じ傾向で男性が約8割を占めており、長崎県と全国とのデータ間に有意差は認められなかった( $P=0.191$ 、全国データ男性:81.4%、女性18.6%)。長崎患者の平均年齢は報告時点で69.3歳(標準偏差SD=13.4歳)であり、全国患者平均の67.8歳(男性66.3歳、女性74.6歳)と同じ傾向で( $P=0.275$ )、各年代の割合は高年齢層に偏っていた。長崎患者の女性の平均年齢(78.1歳、SD=13.14歳、以下同様)は男性(67.9、13.0)より高いことが明らかになった( $P=0.01$ )。推定された感染地域について、外国旅行の期間内で感染されたと思われるケースは3件あった。3名のうち、中華人民共和国2名(男性1名、80代無職;女性1名、60代民宿業)。もう1名は男性で、10月17-19日の間にアラブアラブ首長国連邦ドバイ滞在中に噴水を見物していた経験があると臨床医からの聞き取り調査で分かった。2016年10月から2017年にかけて、多数の外国人観光客がドバイでレジオネラ症に感染したと報告されたことから、本ケースとの関連性に関する探索が必要と考えられる。加えて、今後諸外国と人的な交流が多くなることが予測される日本では、レジオネラ症など旅行感染症のコントロール対策を講じるとともに、積極的に諸外国の感染症情報の入手や情報交換を実施することが望ましい。

## 対外発表 3

第59回 日本熱帯医学会大会 2018年11月10日 長崎大学 坂本キャンパス ポンペ会館

## 2017/2018 シーズンの長崎県におけるエンテロウイルス流行株の解析

松本文昭<sup>1)</sup>、三浦佳奈<sup>1)</sup>、山下綾香<sup>1)</sup>、田栗利紹<sup>1)</sup>

1) 長崎県環境保健研究センター 保健科

【はじめに】

エンテロウイルス(EVs)感染症は、主に小児の間で夏季に流行し、そのウイルス型により多彩な臨床像を示すが、その診断は臨床症状によるものが大半で実験室内検索は十分に行われていない。現在、長崎県では実験室内診断に基づく県内のEVs流行状況を明らかにするために調査研究を実施している。今回、2017/2018 シーズンに行った流行状況調査及び検出株の分子疫学的解析結果を報告する。

【材料と方法】

2017年4月から2018年3月までに県内10地点の協力医療機関において、EVs感染症と臨床診断された139検体を解析に供した。市販キットを用いたRNA抽出後、CODEHOP PCRによるEVsの遺伝子検索を行い、シーケンス法により塩基配列を決定し、ウイルスを型別した。遺伝子陽性検体は培養検査を試みウイルスが分離された場合には前述のとおり型別に供した。得られた分離株の一部はそのVP1領域全長の塩基配列を決定し、近隣結合法による分子系統樹解析を実施した。

【結果】

調査した139検体のうち127検体からEVsの遺伝子が、64検体からウイルスが分離され、臨床検体の9割以上がEVs由来であることが確認された。ウイルス型別の結果、Coxsackievirus A6 (CV-A6)が58検体、Enterovirus A71 (EV-A71)が31検体、Coxsackievirus A16 (CV-A16)が14検体から検出され、検出株全体の8割以上を占めた。月別の検体数を見ると、2017年は夏季の流行に加え、小規模ながら10月から12月にかけて手足口病の流行が見られ緩やかな二峰性ピークを示した。上位3ウイルス型の検出数は4月のみCV-A16が優勢であったが5月から8月にかけてCV-A6が流行の主流となり、9月以降はEV-A71が主流株となった。EV-A71分離株16株の分子系統樹解析の結果、県内流行株はsubgenogroup B5とC1に分類された。

【考察】

2017/2018シーズンの長崎県では、夏季に加えて秋季から冬季にかけてEVsの流行が見られたが、これは2013年以降長崎県では検出事例のなかったEV-A71の流行によるものであった。検出されたEV-A71株は2つのsubgenogroupに分類され、そのうちB5は既報告株との相関性が高かったが、C1は既報告株とは配列が異なり、2015年にドイツで報告されたC1 variantと同じクラスターに分類された。これらのことから長崎県では異なるsubgenogroupのEV-A71が9月以降の流行に関与していたと考えられた。EV-A71は重篤な合併症を引き起こし致命的な経過をたどる場合もあることから、EVs流行の早期探知と型別決定のために年間を通じた実験室内病原体調査が必要であると感じられた。

## 対外発表 4

第59回 日本熱帯医学会大会 2018年11月10日 長崎大学 坂本キャンパス ポンペ会館

## 対馬における日本脳炎患者発生に伴う疫学調査

山下綾香<sup>1)</sup>、吉川亮<sup>2)</sup>、三浦佳奈<sup>1)</sup>、松本文昭<sup>1)</sup>、田栗利紹<sup>1)</sup>、砂原俊彦<sup>3)</sup>、二見恭子<sup>3)</sup>、比嘉由紀子<sup>3)4)</sup>

1) 長崎県環境保健研究センター保健衛生研究部保健科

- 2) 長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野
- 3) 長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野
- 4) 国立感染症研究所昆虫医科学部

【はじめに】日本脳炎は日本脳炎ウイルス(JEV)により起きる急性脳炎であり、国内ではウイルス増幅動物である豚から主にコガタアカイエカを介してヒトに伝播される。2016年に、豚の飼養がない離島の対馬市で、死亡例1名を含む4名の日本脳炎患者が立て続けに発生したことから、当地に生息する媒介蚊およびイノシシを対象とする疫学調査を行ったのでその結果を報告する。

【方法】調査は2016年10月と2017年4月～9月にかけて実施し、調査対象はUVライトトラップおよびドライアイスCDCトラップにて捕集された蚊とした。捕集された蚊は実体顕微鏡下で、触肢、吻、翅およびその斑紋などの特徴を基に分類・同定し、媒介蚊ごとに捕集数を集計して発生活消長を調査した。分類・同定後、捕集された蚊は最大20匹を1プールとして調査日、調査場所、蚊の種類、雌雄および吸血の有無ごとにプール作製を行って、遺伝子検索およびウイルス分離を実施した。種同定後のコガタアカイエカの一部は分子生物学的手法により、日本鹿児島県本土以北特有の遺伝子型をもつ日本型とそれ以外の国と琉球列島に分布する大陸型の判別を行った。また、2016年10月～11月に捕獲されたイノシシ19頭の血清を用い、遺伝子検索、ウイルス分離および抗JEV抗体価(IgM、IgG)測定を行った。

【結果】コガタアカイエカは2016年の調査では4,155匹中152匹(3.7%)しか捕集されなかったが、2017年の調査では14,274匹中6,192匹(43.4%)のコガタアカイエカが捕集された。このとき、捕集地点によって差はあったが、6月末が最も多く捕集された。両調査で得られた全ての乳剤(2016年246プールおよび2017年920プール)およびイノシシ血清からJEV遺伝子は検出されず、ウイルスも分離されなかった。捕集したコガタアカイエカの一部に大陸型が含まれることを確認した。また、イノシシ血清から抗JEV-IgM抗体陽性の個体は確認できなかったが、抗JEV-IgG抗体陽性の個体は19頭中6頭(31.6%)であった。

【考察】今回の調査結果から、対馬市では6月末にコガタアカイエカ発生のピークがあり、2016年の調査は発生ピークを過ぎたものであった。8月以降はキンイロヤブカが優勢になると考えられた。本調査では、ウイルスに関する情報は得られず、今回の事例の原因究明はできなかったが、対馬で日本脳炎患者が続発した事実は確かであり、抗JEV-IgG抗体陽性のイノシシが確認されたことは、ブタのいない対馬市におけるJEVの分布を明確に示すものと考えられる。また、大陸型のコガタアカイエカが対馬島内で経時的に確認されたことから、大陸からの蚊の飛来による日本脳炎ウイルスの侵入の可能性も示唆される。今後も当地における調査を続けることが重要である。

## 対外発表5

日本防菌防黴学会 第45回年次大会 平成30年11月13日～14日 タワーホール船堀

## 遊離塩素消毒下の入浴施設におけるレジオネラニューモフィラの生死スクリーニングを伴ったオンサイト半定量解析

田栗 利紹、蔡 国喜、下田 貴宗<sup>1</sup>、倉 文明<sup>2</sup>、前川 純子<sup>3</sup>

1 シモダアメニティ株式会社

2 国立感染症研究所 バイオ管理部

3 国立感染症研究所 細菌第一部

〔目的〕*Legionella pneumophila*(LP)はレジオネラ症の主要な起因菌種であり、我国では特に入浴施設において大きな社会的影響を及ぼしている。LPを含むレジオネラ属菌によるアウトブレイクが全国各地で発生して以降、浴槽水では塩素消毒による水質管理が普及してきたが、循環ろ過器式入浴施設に代表されるとおり、衛生管理に関わる諸問題のためにレジオネラ属菌汚染が再発を繰り返して深刻な事態を引起している事例が少なくない。

我々は、これまでに浴槽水中レジオネラリスクの現地迅速評価法(RDM)<sup>1)</sup>を開発してきた。また、本方法により「清浄」と判定される大多数のサンプルでは、レジオネラ属菌が陰性であることを確認してきた<sup>2)</sup>。今回、本方法とLPの特異検出法とを組み合わせることにより、当該菌の生死スクリーニングを伴うオンサイト半定量解析法を開発し、その有効性が認められたので報告する。

〔方法〕本研究で、菌株は、LP 血清群(sg)1、sg3、sg4、sg5、sg6、sg9、sg10、および型別不能株、LP以外のレジオネラ属菌 12 株、並びに *Escherichia coli* を用い、装置は、532 nm 半導体レーザーを備えた 6.5 kg のフローサイトメーターを使用した。LP sg1 と LP non-sg1 の特異抗体を測定機器のレーザー波長に適合する蛍光色素で標識して特異染色試薬とし、特異性を評価した。本検査系の検出限界は非濃縮検体と濃縮検体を用いた添加回収実験により、定量限界は蛍光抗体に特異性のある 12 株を用いて作成した検量線により平板培養法との値を比較して決定した。現地調査で、オゾンによる発泡洗浄後の消毒効果を判定した。

〔結果〕RDM 法は約  $10^2 \sim 10^5$  CFU/mL の範囲で培養法と高い相関( $y = 409.26x - 0.8689$ ,  $R^2 = 0.95113$ )を示し、供試した全ての LP 株を特異的に検出することができた。本検査法の検出限界と定量限界はそれぞれ約 1,300 counts/100 mL および約  $4 \times 10^4$  counts/mL と決定され、生菌数として 32 CFU/100 mL および 235 CFU/mL に相当していた。現地調査の 3 浴槽水において、RDM 法で「清浄」と判定された浴槽水からはレジオネラ属菌は検出されず、「細菌汚染」と判定され、続く LP 特異検出により LP SG1 4,619 counts/100mL と LP nonSG1 3,619 counts/100mL とが計測された浴槽水からは、平板法によりそれぞれ LP SG1 10 CFU/100mL と LP SG5 10 CFU/100mL が検出された。オゾン発泡洗浄処理後の浴槽水からはレジオネラ属菌は検出されなかった。

〔結論〕LP 特異試薬を用いた RDM 法は LP に特異的で定量的にも平板法と相関する評価が可能であることが確認された。さらに、例数が少ないとはいえ、RDM 法は、遊離塩素消毒下において、レジオネラ属菌の生死スクリーニングに応用できるとともに、sg 1 型別判定を含めた LP の現場での半定量評価を実証できたことから、入浴施設現場におけるレジオネラリスク監視の有用なツールとして利用可能であるといえる。本研究は、厚生労働研究費補助金(2016 Kenki-006 to J.M.)の助成により実施された。

〔文献〕<sup>1)</sup> Taguri, T. et al., J. Microbiol. Method, (2011)

2) Taguri, T. et al., The 9th International Conference on *Legionella*, (2017)

## 対外発表 6

大気環境学会九州支部第 19 回研究発表会 2019 年 3 月 1 日 アクロス福岡

## 長崎県における PM<sub>2.5</sub> 成分組成の地域特性について

前田卓磨、田中雄規、土肥正敬<sup>1</sup>

1 長崎県県北振興局保健部

2017 年度秋季より、県内の PM<sub>2.5</sub> 濃度における地域発生源の影響を調査するため、近傍する測定

局で比較的高濃度の地点(大塔)と比較的低濃度の地点(吉井)において、連日サンプリングを実施し、その成分データについて、Positive Matrix Factorization(PMF 解析)を用いて発生源種類と寄与割合を推定した。

PMF 解析の結果、発生源は 7 種類と推定された。両地点で最も寄与が大きいのは硫酸系二次生成粒子であったが、大塔では秋季において自動車・バイオマス燃焼、冬季において硝酸系二次生成の影響が比較的大きかった。また、秋季の有機酸分析の結果、レボグルコサン濃度の上昇と地点間の濃度差がみられたことにより、近隣田畑地帯のバイオマス燃焼の影響を受けていることが示唆されたため、これらの要因により地点間の濃度差生じていたことが考えられる。

一方で、2017 年までと比較して 2018 年以降は地点間の濃度差が減少していることから、これらの発生源による影響が減少していることが示唆された。

## 対外発表 7

第 55 回長崎県総合公衆衛生研究会 2019 年 3 月 1 日 長崎大学医学部坂本キャンパス

## 長崎県内における結核菌の遺伝型別解析(VNTR 法)について

右田雄二、蔡国喜、田栗利紹

### 1. はじめに

東アジア地域には北京型系統群が定着し、中国など大陸部では「新興型(1 群)」が多いが、日本国内では北京型株の 7~8 割は「祖先型(4 群)」で占められ、独自の進化を辿っている。そのため国内結核菌の識別には、JATA12-VNTR(Variable Number of Tandem Repeats)法が適しており、国内標準法となっている。長崎県は全国でも結核罹患率が高い地域であり、感染症法第 15 条の積極的疫学調査の一環として、結核菌の伝播経路の推定や集団感染の探知のために追加領域(JATA15(3) + 超可変領域(3))を加えた計 18 領域で遺伝型別の解析を行っている。本研究会では、2011 年以降、県内の結核病床を有する医療機関から分与された結核菌株の解析結果を取りまとめたので報告する。

### 2. 対象と方法

#### 2-1. 鋳型結核菌 DNA の作製

2011 年 12 月から 2019 年 1 月までの結核発生届に基づき県内の結核病床を有する医療機関から分離された熱処理後の結核菌株 452 株を解析対象とした。鋳型 DNA はフェノールクロロホルム処理後、エタノール沈殿法により作製した。

#### 2-2. VNTR 領域の PCR 法および遺伝系統の推定

VNTR 領域ごとの反復回数の測定方法は「結核菌 VNTR ハンドブック」<sup>1)</sup>に準拠し、各 VNTR 領域の PCR 増幅産物を電気泳動により分子量サイズを測定し反復回数に換算した。本研究では、反復回数が 18 領域(長崎市は 15 領域)中 1 領域違いまでを同一の遺伝型(クラスター)と判定した。さらに最大事後確率(maximum a posteriori:MAP)推定法<sup>2)</sup>を用いて VNTR 型から県内結核菌株の遺伝系統の推定を行なった。

### 3. 結果及び考察

#### 地域間におけるクラスター形成性

県内(長崎市のぞく)333 株の解析結果では、32 クラスター(2 株間:21 クラスター、3 株間:7 クラスター、4 株間:2 クラスター、5 株間:1 クラスター、11 株間:1 クラスター)が認められ、クラスター形成率は 26%であった。保健所管轄ごとでは県南(23%)、県央(12%)、県北・佐世保(26%)、長崎市(29%)といずれの地域も低かった。県内では県南保健所管轄が最も罹患率の高い地域(平成 28 年:29.8)となっているが、高い罹患率に反してクラスター形成率が低く、多様な遺伝型が存在しており、本地域内に特定菌株の流行、拡散

がなかったことが確認された。県南地域における高罹患率は高齢者の再燃によるものと推察される。

#### 結核菌の遺伝系統

MAP 推定法により得られた県内結核菌株の遺伝型別は、北京型株に属する祖先型(G1/2: 15 株, G3: 45 株, G4: 72 株, G5/6: 123 株)および新興型(Modern: 70 株)が72% (352/452 株)を占め、国内データ 75% (935/1,245 株)<sup>2)</sup>と大差なかった。県内患者の遺伝型別を年齢別にみると、40 歳未満では北京型株 62% (16/26 株)に対し、非北京型の割合が 38% (10/26 株)と高い傾向がみられた。非北京型 10 株中 4 株はフィリピン系統 EAI(East African Indian)株で、いずれの患者も外国人であった。国外で感染し日本で発病したものと推察される。

今後も結核菌の伝播経路の解明や集団感染の探知のために遺伝型別による分子疫学調査を継続しながら海外流行株の動向にも注視する必要があると思われた。

## 【環境保健研究センター案内図】



〒856-0026 長崎県大村市池田2丁目1306番地11

TEL 0957-48-7560 FAX 0957-48-7570

E-Mail: s09070@pref.nagasaki.lg.jp

URL: <http://www.pref.nagasaki.jp/section/kankyo-c>

### 業務時間

9:00～17:45 休業日/土・日・祝日 年末年始(12月29日～1月3日)

### アクセス

長崎自動車道「大村IC」より車で3分

JR大村線大村駅からバスで約20分(1日朝夕2便) タクシーで約10分

長崎空港からタクシーで約15分

## 編集委員

委員長 森 淳子 (企画環境研究部)

委員 本多 隆 (保健衛生研究部) 委員 荒木 昌彦 (企画・環境科)

委員 田栗 利紹 (保健科) 委員 本村 秀章 (生活化学科)

委員 大黒 敏生 (総務課)

長崎県環境保健研究センター所報(平成30年度業務概要・業績集)

令和元年 9月 発行

編集・発行 長崎県環境保健研究センター