

ISSN 0836-3476

e 381e

平成 6 年度

# 愛媛県立衛生研究所年報

第 56 号



Annual Report

of

Ehime Prefectural Institute of Public Health

愛媛県立衛生研究所

# 目 次

## I 研究報告

多剤耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌における mecA 遺伝子と薬剤感受性について	1
家畜における C 群ロタウイルスの血清疫学	7
愛媛県における 3 年間のクレチン症マス・スクリーニング成績	11
DP 抗原と 1 次 MLR	15
蛍光法を用いた迅速で簡便な血清学的 HLA タイピング法	19
水質試験項目の試験頻度に関する一考察	23
愛媛県内に深層掘削された源泉の泉質特性について	27

## II 資 料

平成 6 年度法定伝染病事例報告	33
平成 6 年度食中毒事例報告	35
平成 6 年度伝染病流行予測調査	36
愛媛県感染症サーベイランス事業調査成績	39
平成 6 年度先天性代謝異常検査成績	43
平成 6 年度神経芽細胞腫検査成績	44
平成 6 年度微生物検査精度管理実施結果	45
平成 6 年度し尿処理場放流水基準試験結果について	47
平成 6 年度松食い虫防除薬剤空中散布に伴う調査について	51
平成 6 年度愛媛県産野菜・果実等の残留農薬分析調査成績	52
平成 6 年度食品添加物使用実態調査	54
平成 6 年度医薬品の品質調査	55
平成 6 年度有害物質を含有する家庭用品の調査	56
平成 6 年度温泉分析成績	57
平成 6 年度理化学試験精度管理実施結果	59

## III 抄 録

他誌発表論文	61
学会発表	62

## IV 第 9 回公衆衛生技術研究会（抄録）

## V 業務実績

1 組織及び業務概要	71
2 微生物病理室の概要	76
3 衛生試験室の概要	78

## VI 技術研修指導、研究発表の状況

81

# 多剤耐性コアグララーゼ陰性ブドウ球菌における mecA 遺伝子と薬剤感受性について

菅 成器 安田和司<sup>1</sup> 吉田紀美 森 正俊 井上博雄

Detection of mecA Gene for Polymerase Chain Reaction Method and Drug Resistance  
in Methicillin-resistant Coagulase-negative Staphylococci

Naruki KAN, Kazushi YASUDA, Kimi YOSHIDA, Masatoshi MORI, Hiroo INOUE

Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCNS) are detected from many kinds of medical samples as well as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. We tested the biochemical characters, the existence of mecA gene by polymerase chain reaction method (PCR), and drug resistance of 67 strains of MRCNS.

Most strains resisted to methicillin (DMPPC) and/or oxacillin (MPIP) showed also resistant to many other drugs, and an average of resistant drugs were 9.4 drugs. 49 of 54 MRCNS strains (90.7%) had mecA gene, and their strains resisted to DMPPC and/or MPIP at high rate.

Keywords : MRCNS, mecA gene, PCR, drug resistance

## はじめに

近年、院内感染やコンプロマイズド宿主において MRSA が問題となっているが、MRSA と同様に、各種臨床材料から多剤耐性のコアグララーゼ陰性ブドウ球菌（以下、MRCNS）もしばしば分離されている。従来、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌（以下、CNS）は非病原性であるとされていたが、近年の治療行為の変化に伴い、それに付随して起こる日和見感染症の病原体として注目されている。

今回我々は、メチシリン（以下、DMPPC）またはオキサシリン（以下、MPIP）に耐性を示した臨床分離株を用いて、その性状について解析を行った。

## 材料および方法

### 1 材料

松山市内 N 病院において、各種臨床材料から分離された種々の MRCNS 67 株を被検材料とした。

## 2 方法

- 1) MRSA スクリーン培地における発育試験  
BBL 社製の MRSA スクリーン培地を用いて、発育試験を行った。
- 2) DNase テスト  
栄研化学製の DNA 培地を用いて、DNase 産生能の有無を確認した。
- 3) コアグララーゼテスト  
栄研化学製のウサギプラズマおよび PS ラテックスを用いて、常法に従いコアグララーゼ産生能の有無を確認した。
- 4) スライムテスト  
上杉<sup>1)</sup>らの方法に準じて行い、1 菌株について用いる試験管を 3 本とした。判定は 3 本すべての内壁に明顯な白い沈着物認められた場合を陽性とした。
- 5) mecA 遺伝子の検出  
小林<sup>2)</sup>らの方法に準じて行い、菌株からの DNA の抽出と PCR 法の詳細は図 1 および 2 に示した。
- 6) MRCNS の同定および薬剤感受性検査  
同定および薬剤感受性検査には BBL 社製のセプターシステムを使用し、同定については一部日水製薬製の SP-18 を併用した。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町 8 丁目 234 番地  
※1 NTT 松山病院臨床検査科

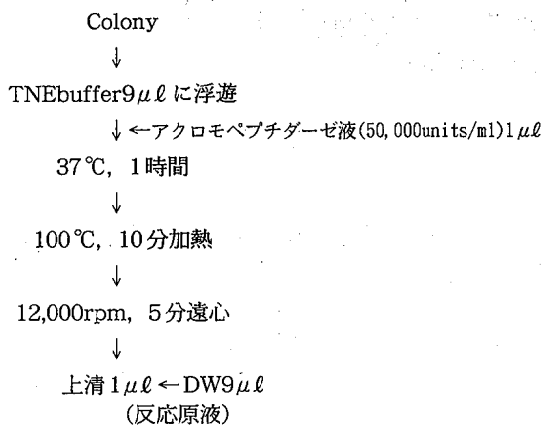


図1 CNSからのDNA抽出

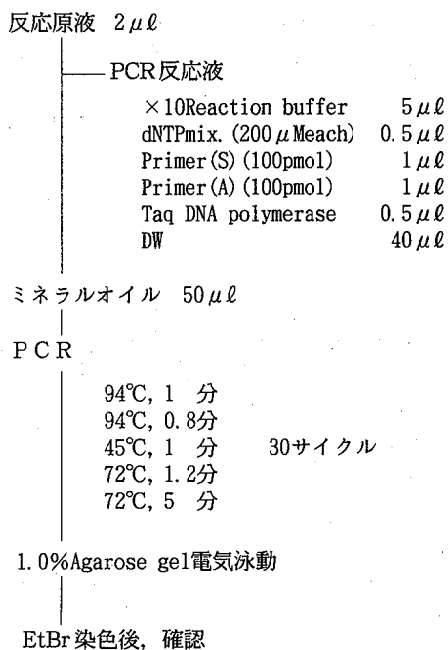


図2 PCR法を用いたmecA遺伝子の検出法

表1 被検菌株の菌種とその性状

No	菌種名	スクリーン培地	スライムテスト	DNaseテスト	コアグラーゼテスト	mecA
1	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
2	<i>S. xylosum</i>	+		-	-	
3	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
4	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
5	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
6	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
7	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
8	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
9	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
10	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
11	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
12	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
13	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
14	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
15	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
16	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
17	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
18	<i>S. varneri</i>	+		-	-	+
19	<i>S. epidermidis</i>	+		-	-	
20	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
21	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	-
22	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	-
23	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
24	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
25	<i>S. sciuri</i>	+	-	-	-	+
26	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
27	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
28	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
29	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
30	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	-
31	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	-
32	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
33	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
34	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
35	<i>S. haemolyticus</i>	+	-	-	-	-
36	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
37	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
38	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
39	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
40	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
41	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
42	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
43	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
44	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
45	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
46	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
47	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
48	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
49	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	-
50	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
51	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	-
52	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
53	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
54	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
55	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
56	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
57	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
58	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
59	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+
60	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
61	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
62	<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	+
63	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	-
64	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
65	<i>S. haemolyticus</i>	+	-	-	-	+
66	<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	+
67	<i>S. epidermidis</i>	+	2+	-	-	+

(空欄は実施せず)

結果

表1に被検菌株67株の菌種, MRSA スクリーン培地への発育試験, DNase テスト, コアグラーゼテスト, スライムテスト, および mecA 遺伝子の検出結果について示した。

被検菌株67株はすべてMRSA スクリーン培地に発育し, DNase テスト陰性, コアグラーゼテスト陰性であった。また, スライムテストは55株中31株(56.4%)が陽性を示したが, mecA 遺伝子保有状況との相関は見られなかった。

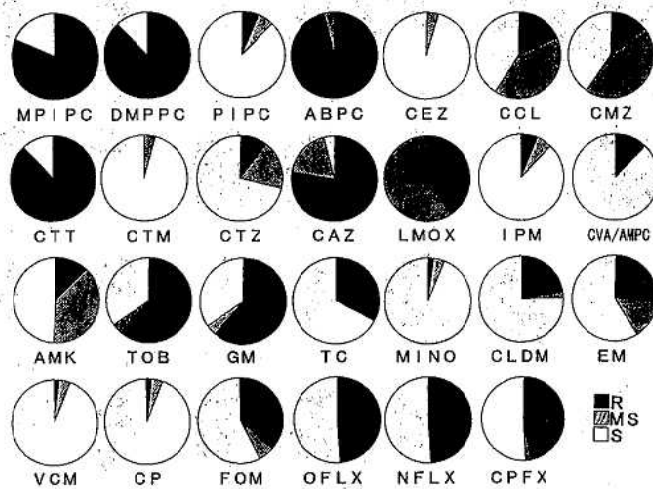


図3 MRCNSにおける薬剤感受性 N = 67

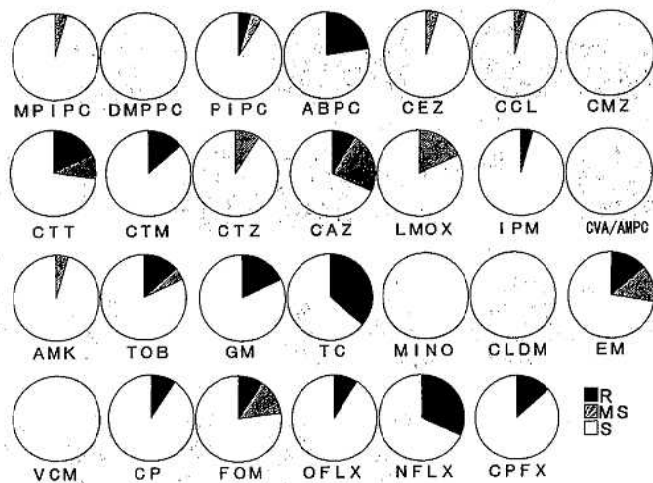


図4 MRCNSにおける薬剤感受性 N = 22

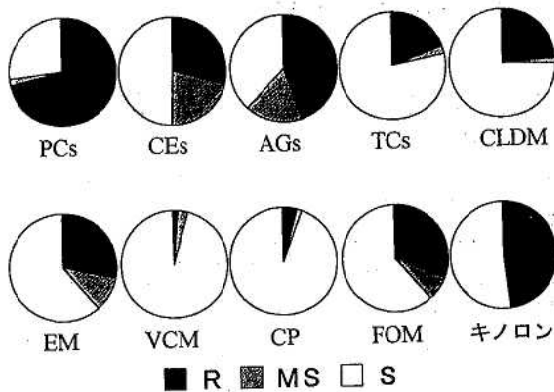


図5 系統別薬剤感受性 N = 67

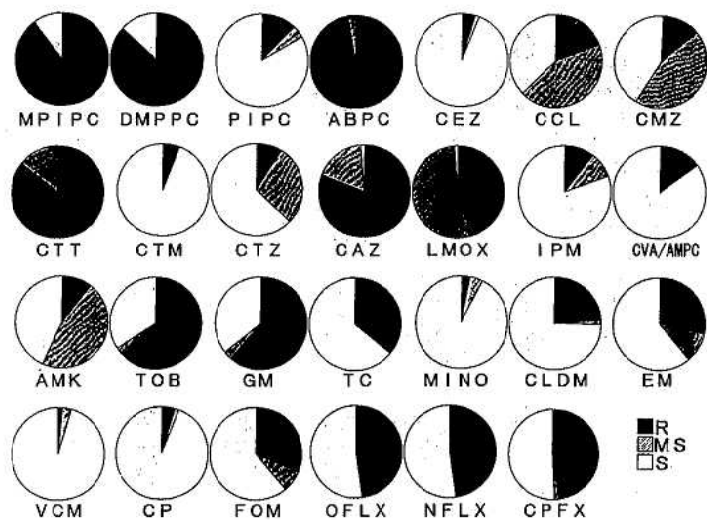


図6 mecA陽性株の感受性成績 N = 49

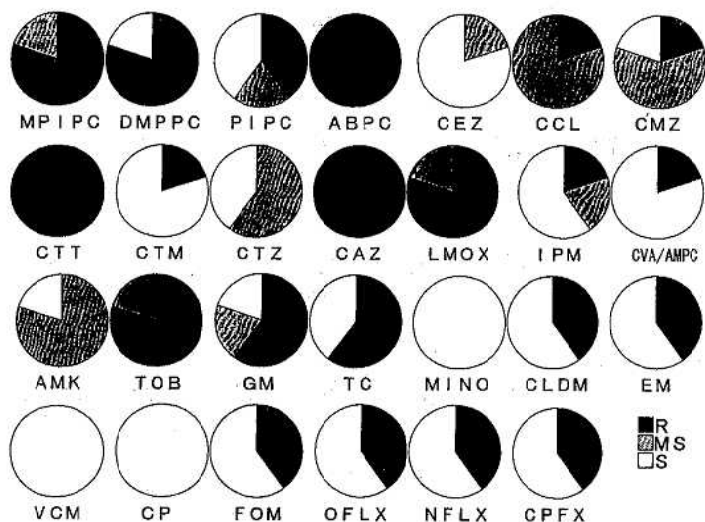


図7 mecA陰性株の感受性 N = 5

表2 スライムテストとmecA N = 50

	mecA (+)	mecA (-)
スライムテスト (+)	25(50%)	3(6%)
スライムテスト (-)	20(40%)	2(4%)

表3 オキシサシリンとmecA N = 54

	mecA (+)	mecA (-)
MPIPC R	41(75.9%)	5(9.3%)
MPIPC S	8(14.8%)	0(0%)

表4 メチシリンとmecA N = 54

	mecA (+)	mecA (-)
DMPPC R	44(81.5%)	4(7.4%)
DMPPC S	5(9.2%)	1(1.9%)

表5 オキシサシリン・メチシリンとmecA N = 54

	mecA (+)	mecA (-)
両剤とも耐性	36(66.7%)	4(7.4%)
いずれかが耐性	13(24.1%)	1(1.9%)



薬剤感受性検査は11系統27薬剤について集計を行い、薬剤別のMRCNSにおける薬剤感受性成績を図3に、MSCNSにおける成績を図4に、さらにMRCNSにおける系統別薬剤感受性成績を図5に示した。

MRCNSについては、株によって2薬剤耐性株から16薬剤耐性株まで様々なパターンを示した。その67株における耐性薬剤数の平均は、9.6薬剤であった。

また、MRCNSはMSCNSに比べて、ペニシリン系ではペントシリン以外は耐性を示し、セフェム系ではセフトetan、セフトジウム、ラタモキシセフ以外は耐性を示した。なお、MRSAの指標であるMPIPCとDMPPCに注目してみると、MPIPCだけに耐性を示した株での平均耐性薬剤数は9.7剤、DMPPCのそれは4.9剤、両剤に耐性を示した株のそれは10.2剤であった。

次に、mecA遺伝子と薬剤感受性について検討を行った。図6にmecA遺伝子陽性株の薬剤感受性成績を、図7にmecA遺伝子陰性株の薬剤感受性成績を示した。また、DMPPCおよびMPIPCに対する感受性とmecA遺伝子の保有状況について検討した結果を表3から5までに示した。

mecA遺伝子は54株中49株(90.7%)に検出された。またMPIPC耐性株のうち75.9%がmecA遺伝子を保有し、一方DMPPC耐性株における保有率は81.5%であった。なお、両剤に耐性を示した株のそれは66.7%であった。

## 考 察

今回の検討では、MPIPC、DMPPCに耐性を示した株は一部の薬剤を除いたペニシリン系、セフェム系、およびゲンタマイシン、トロピキサシン、オフロキサシン、ノルフロキサシン等に耐性を示す多剤耐性傾向が認められた。また、これらの株は高率にmecA遺伝子を保有していることが明らかになった。この薬剤耐性率、mecA遺伝子保有率、および平均薬剤耐性数から推察すれば、多剤耐性の指標としてはMRSA同様MPIPCまたはDMPPCが適当と考えられた。

臨床から分離されるMRCNSは、そのほとんどが常在菌または一過性のものであるが、日和見感染や監視培養の観点からは無視されるべきものではないと思われる。MRCNSであることを念頭に置いて、その後の治療方針を立てるべきであると考えられた。

また、今後の課題として、コアグララーゼ弱産生株との鑑別におけるfemA遺伝子の検出が重要であると考えられた。

本研究の要旨は、第6回日本臨床微生物学会総会(1995. 1)において発表した。

## 文 献

- 1) 上杉文子ら：医学検査，42，780(1993)
- 2) 小林一寛，吉永哲夫：臨床と微生物，19，655～657(1992)

# 愛媛県内の家畜におけるC群ロタウイルスの血清疫学

服部昌志\*<sup>1</sup> 大瀬戸光明 山下育孝\*<sup>2</sup> 森 正俊 井上博雄 菊地正健\*<sup>3</sup>

## Sero-epidemiological Study of Group C Rotavirus in Domestic Animals in Ehime Prefecture

Masashi HATTORI, Mitsuaki OSETO, Yasutaka YAMASHITA,  
Masatoshi MORI, Hiroo INOUE, Masataka KIKUCHI

An establishment of propagation of group C human rotavirus (C-HRV) in tissue culture made it possible to keep sufficient C-HRV antigen for some experiments. In this study, we examined the prevalence of group C rotavirus (C-RV) in domestic animals by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using the propagated antigen.

As the results, a prevalence of antibodies to C-RV showed 95.0-100.0% in pigs and 1.7-15.0% in cattle in Ehime prefecture (in 1988, 1994). On the other hand, antibody was not detected at all from domestic fowl.

Keywords : group C rotavirus, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), animal, sero-epidemiological study

### はじめに

ロタウイルスは、ヒトをはじめ各種哺乳動物および鳥類の糞便から検出されており、いずれも、幼齢期の急性下痢症起因ウイルスとして知られている。血清学的にロタウイルスはAからGまでの7群に分類されている。このなかのC群ロタウイルスによるヒトの下痢症は近年、国内各地で児童、成人の散発および集団発症例が報告されており<sup>1-3)</sup>、発生頻度はA群に比べ少ないものの、公衆衛生上の重要性を増している。また、C群ロタウイルスは現在までにヒトのほか、ブタ、ウシからの検出が報告されているものの、その侵淫状況については明らかではない。今回、愛媛県内の家畜におけるC群ロタウイルス侵淫状況を把握する目的で抗体保有状況を調査した。

### 材料および方法

#### (1) 被検血清

#### ア 各種家畜の血清

1988年、1994年に愛媛県内各地で採取されたブタ(繁殖豚)、ウシ(乳牛、肉牛)およびニワトリ(採卵鶏)の血清340検体(表1、2)

表1 1988年各種家畜の血清

検査採取地区	ブタ	ウシ	採卵鶏
東	予 48(17)	19(9)	15(8)
中	予 29(7)	9(4)	6(3)
南	予 55(14)	32(15)	7(5)
計	132(38)	60(28)	28(16)

表2 1994年各種家畜の血清

検査採取地区	ブタ	ウシ	採卵鶏
東	予 24(6)	12(3)	0(0)
中	予 4(1)	12(3)	10(1)
南	予 12(3)	16(4)	30(3)
計	40(10)	40(10)	40(4)

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

\*1 現伊予保健所

\*2 現八幡浜中央保健所

\*3 八幡浜家畜保健衛生所



イ 肥育豚血清

1982年から1993年までのおよそ7カ月齢の肥育豚の血清104検体(表3)

表3 肥育豚血清

1982年	1985年	1987年	1988年	1993年
20(5)	20(8)	20(5)	20(8)	24(8)

( ) : 飼養施設数

(2) ブロッキングELISA

ア 抗原: CaCo-2細胞を用いてヒト糞便より分離培養, 増殖させ精製して得たC群ヒトロタウイルス(E93株)

イ ビオチン化抗C群ヒトロタウイルスモノクローナル抗体: E93株をマウスに免疫して作製したモノクローナル抗体を常法によりビオチン化した。

ウ 試薬: ①炭酸緩衝液: 0.05M, pH9.6 ②ブロッキング液: 5%ウシ胎児血清, 2.5% skim milk加PBS ③洗浄液: 0.05% Tween20加PBS (PBS/T) ④被検血清等の希釈液: 2.5% skim milk加PBS/T ⑤ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン (TAGO製) ⑥基質溶液: o-フェニレンジアミン, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>加クエン酸緩衝液

エ 術式

ブロッキングELISA法を用いることにより各種動物血清に対する二次抗体を必要とせず, 同様の操作による抗体検出を可能とした。(図1)

ビオチン化抗体の反応を吸光度50%阻止する被検血清の希釈倍数を, ELISA抗体価とし, 10倍未満のものを陰性とした。

結 果

1 各種家畜におけるC群ロタウイルス抗体保有状況(図2)

ブタの抗体保有率は1988年が94.7%, 1994年は52.5%であった。また, ウシでは, 1988年が1.7%, 1994年は15%であった。採卵鶏は両年とも全例陰性であった。

2 飼養農家別ブタC群ロタウイルス抗体価(図3)

1988年のブタのELISA抗体価を県内の地区別および農家別に表した, 地区別の抗体価をみると, 抗体価10倍未満を示した個体は東予地区の2施設5頭および南予地区の2施設2頭であった。地区別の抗体価は大きな違いがなかったが, 飼養施設により抗体価の違いを示す傾向がみられた。

3 ブタの月齢別C群ロタウイルス抗体価(図4)

1988年と1994年のブタの抗体価をそれぞれ生後月齢別にみたところ, 抗体陰性例は12カ月齢以下の個体のみ見られた。1994年の検体は6カ月以下の個体から

採取した割合が多かったことが, 図2における1994年のブタの抗体保有率の低下を示した原因と考えられる。

ブタでは, 生後一年以内にはほぼすべての個体がC群ロタウイルスに感染していることが分かった。

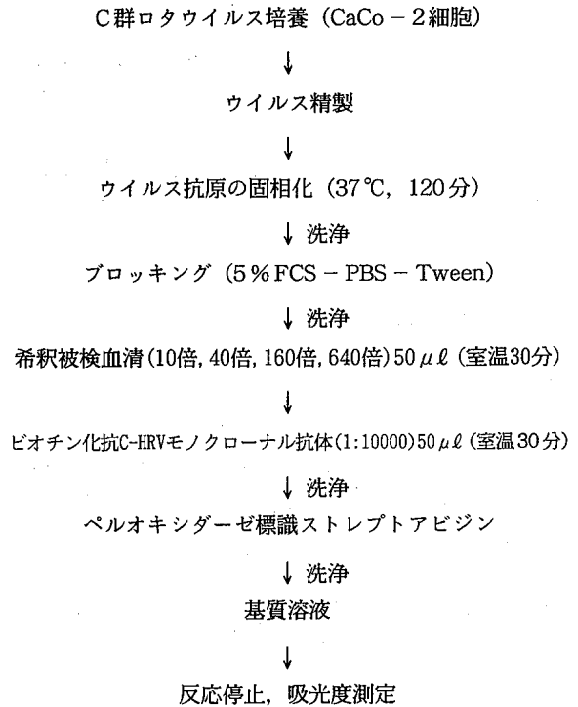


図1 C群ロタウイルス抗体検出(ELISA)

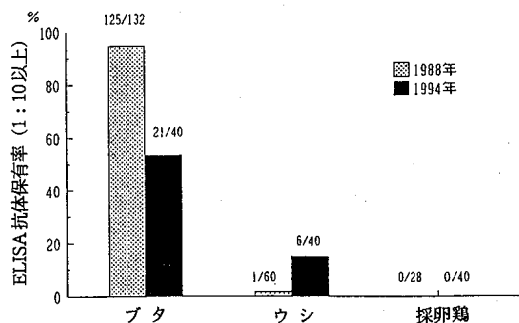


図2 各種家畜におけるC群ロタウイルス抗体保有率(1988年, 1994年)

4 肥育豚の年次別C群ロタウイルス抗体保有率 (図5)

およそ7カ月齢の肥育豚の抗体保有率は1982年以降それぞれ、100%、95%、95%、100%、100%であった。いずれの年も95%以上の高い抗体保有率を示しており、愛媛県では1982年以前からC群ロタウイルスが県内全域の養豚施設に侵淫しており、その後も今まで濃厚な侵淫状態が持続しているものと考えられた。

5 ウシにおけるC群ロタウイルス抗体検出施設分布 (図6)

ウシでは、1988年、1994年の計38施設中5施設(7頭)からC群ロタウイルス抗体が検出された。その施設分布をみると5施設中4施設が県内東部地区にあり、地域的な侵淫状況の違いが示唆された。

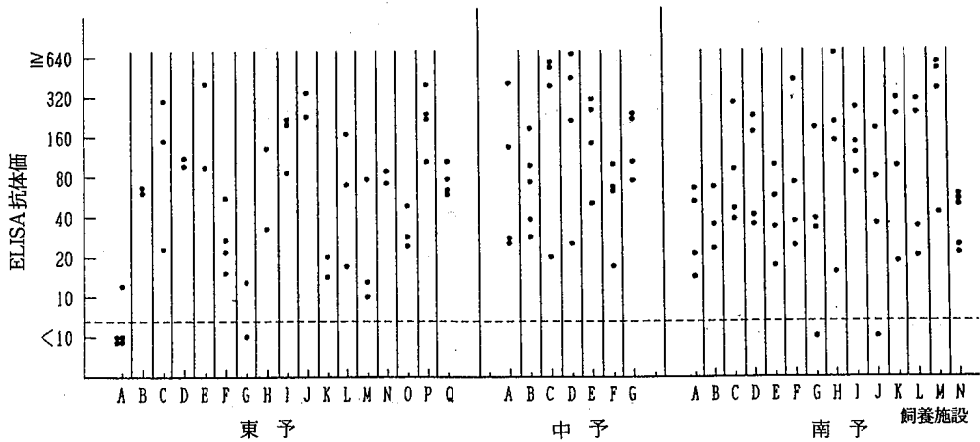


図3 飼養農家別ブタC群ロタウイルス抗体価

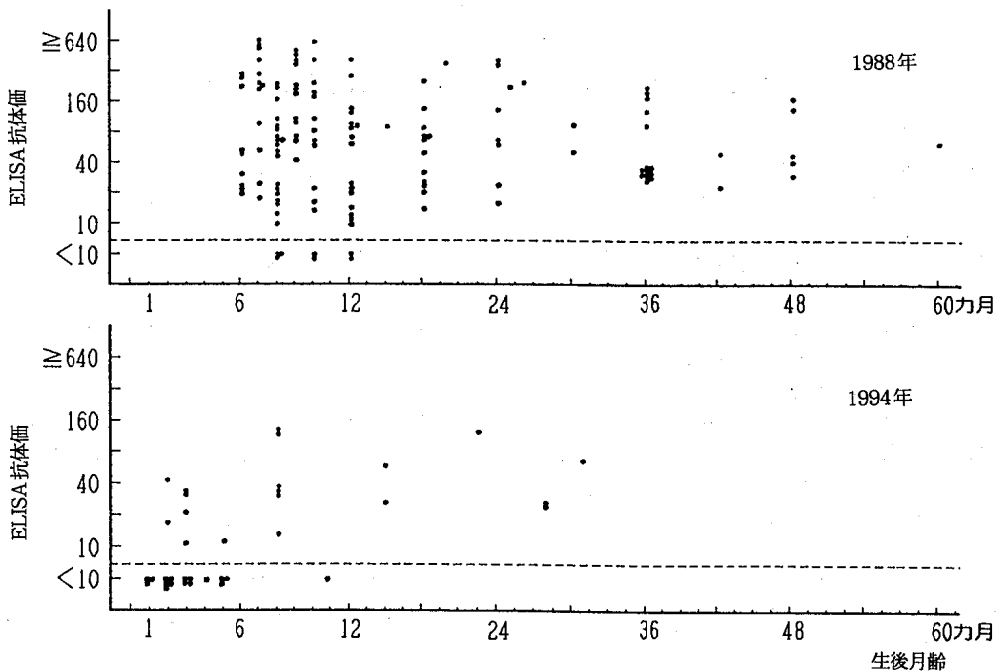


図4 ブタ月齢別C群ロタウイルス抗体価

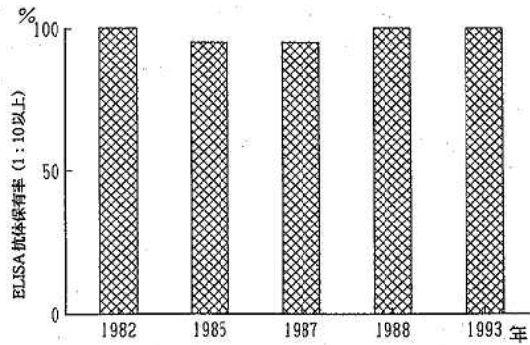


図5 肥育豚の年次別C群ロタウイルス抗体保有率

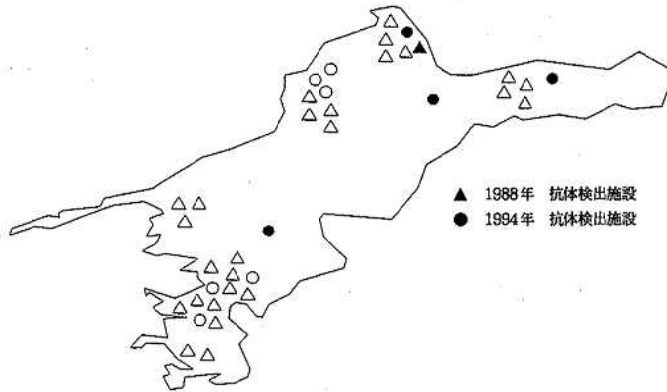


図6 ウシにおけるC群ロタウイルス抗体検出施設分布

## 考 察

今回の調査で、C群ロタウイルスに対する抗体は1982年以降95%以上に認められ、それ以前から県内各地の養豚施設にC群ロタウイルスは侵淫していたものと考えられる。また、その抗体価は飼養施設により違いが見られる傾向にあったが、これは、施設ごとの飼養形態・規模ひいては家畜衛生管理状態の相違に起因するものと考えられる。また、ブタは生後一年以内にほぼすべての個体がC群ロタウイルスに感染していた。一方、ウシでは抗体保有率がかなり低く、また、採卵鶏においては一例も抗体を確認できなかった。最近の報告<sup>4)</sup>では、北海道のウシでC群ロタウイルス抗体保有率が50%を超えており、今回の愛媛での結果と大きく異なっていた。このことは、愛媛と北海道のウシのC群ロタウイルスの侵淫状況の違いそのものを反映した結果であるのか、あるいは試験に用いた抗原の相違に基づく結果であるのか、今後、検討を要する。

ヒトでは1988年に松山市を中心とした小児間のC群ロタウイルス流行が確認されている。しかし、その前後における動物の抗体保有率の変化は、今回の調査では見

られなかった。

愛媛県内の家畜におけるC群ロタウイルス侵淫状況が明らかとなったが、ヒトのC群ロタウイルス流行との関連については未だ不明である。また、今回のロタウイルスは新生ブタに下痢を起こすとされている。極めて濃厚に侵淫しているC群ロタウイルスがブタの飼養にいかなる影響を与えているのか、A群ロタウイルスと併せて、今後興味を持たれる。

稿を終えるにあたり、家畜血清のご提供をいただきました大洲保健所衛生課、ならびに家畜保健衛生所の皆様へ深謝いたします。

## 文 献

- 1) 大瀬戸光明：感染症学雑誌，64,1264-1274 (1990)
- 2) 関根整治他：感染症学雑誌，67,110-115 (1993)
- 3) Hiroshi Ushijima et al：J. Med. Virol., 27, 299-303 (1989)
- 4) Hiroshi Tsunemitsu et al：J. Clin. Microbiol., 30, 2129-2134 (1992)

# 愛媛県における3年間のクレチン症マス・スクリーニング成績

浅野由紀子 齊藤 健 永井雅子 今西利花 森 正俊 井上博雄

## Results of a Three-year Experience with the Mass Screening for Congenital Hypothyroidism in Ehime Prefecture

Yukiko ASANO, Tsuyoshi SAITO, Masako NAGAI,  
Rika IMANISHI, Masatoshi MORI, Hiroo INOUE

We have started mass screening for congenital hypothyroidism (Cretinism), and have been measuring the blood thyroid stimulating hormone (TSH) and free-thyroxine (F-T<sub>4</sub>) with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) since April 1992.

46638 infants, born in Ehime prefecture, were screened for this 3 years. As the result, 11 cases of cretinism, 4 cases of hyperthyrotrophinaemia, 11 cases of transient hyperthyrotrophinaemia, 3 cases of transient hypothyroidism were detected. 6 cases of cretinism showed abnormal high level TSH, and 8 cases of cretinism showed abnormal low level F-T<sub>4</sub>.

Keywords : Mass Screening, Cretinism, TSH, F-T<sub>4</sub>, ELISA

### はじめに

先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)は、甲状腺が欠損あるいは形成不全等を起こし、甲状腺ホルモン(サイロキシン; T<sub>4</sub>, トリヨードサイロニン; T<sub>3</sub>)が欠乏することによって、発育不全や非可逆的知能障害をおこす疾患である<sup>1)</sup>。しかし、新生児期から治療を開始すれば予後良好となるため、甲状腺刺激ホルモン(TSH)測定によるマス・スクリーニングが昭和54年度から全国的に実施されている。

今回は、当所において実施してきた平成4~6年度の3年間のクレチン症マス・スクリーニング実施状況を報告する。

### スクリーニング方法

#### 1 対象者および検査検体

愛媛県下の産科医療機関で出生した全新生児を対象者とし、生後4~6日目の血液を新生児スクリーニング用濾紙に採取、風乾したものを検体とした。

### 2 検査方法

ELISA法によりTSHおよび遊離型サイロキシン(F-T<sub>4</sub>)の測定を行っている(図1, 2)。

判定基準は図3に示す。当所に送付されてきた検体は、一次検査でTSH値を測定する。ここで9 $\mu$ U/ml以上または上位3%以上の測定値を示した検体は確認検査を行い、その結果、TSH9~30 $\mu$ U/mlとなった新生児については疑陽性と判定し、産科医療機関へ検体の再採取依頼を行う。再採取検体検査においても、TSH9 $\mu$ U/ml以上を示す新生児は、スクリーニング陽性と判定し、F-T<sub>4</sub>測定による二次検査を実施した後、専門医療機関での精密検査受診を依頼する。なお、一次検査の時点でTSH値30 $\mu$ U/ml以上の異常高値を示す新生児については直ちにF-T<sub>4</sub>値測定後、精密検査受診を依頼している。

### スクリーニング結果および考察

愛媛県では、昭和55年度からクレチン症マス・スクリーニングが開始された。開始当初は、他施設でRIA(radio-immuno-assay)法によって実施されていたが、平成4年度から当所においてELISA法によるスクリーニングを実施している<sup>2)</sup>。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

スクリーニングの実施状況は表1に示す。

3年間で新生児46,638名についてスクリーニングを実施した。当県では、里帰り出産が多いため、平均受検率は109.0%となった。

疑陽性率の変動については、図4に示す。疑陽性率は、開始年度から1.60%、1.13%、0.81%と年々低下してきている。これは、産科医療機関へのヨード含有消毒剤使用によるTSH上昇の関連性についての情報提供と、検査者の経験による検査技術の向上によるものと考えられる。また、初年度の1.60%でも全国平均(1.62%)と比較しても高率となっていない。

スクリーニング陽性となったのは42名(0.09%)で、精密検査の結果、クレチン症11例、高TSH血症4例、一過性高TSH血症11例、一過性甲状腺機能低下症3例、正常13例と診断された。

新生児一過性高TSH血症は、放置していても臨床的には問題ないとされていたが、その後の経過観察で再びTSH値が高値となったり、軽度ながら甲状腺機能が低下する症例も報告されてきている<sup>3)</sup>。精密検査後の長期における追跡調査が必要であると思われるが、受診医療機関あるいは担当医が変わることによって追跡不能となる場合があり、今後、フォローアップシステムの確立が必要である。

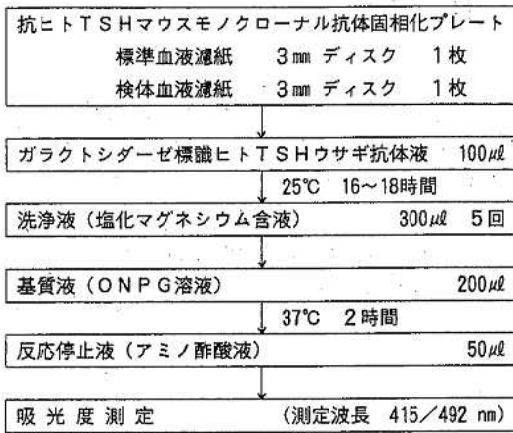


図1 TSH測定方法

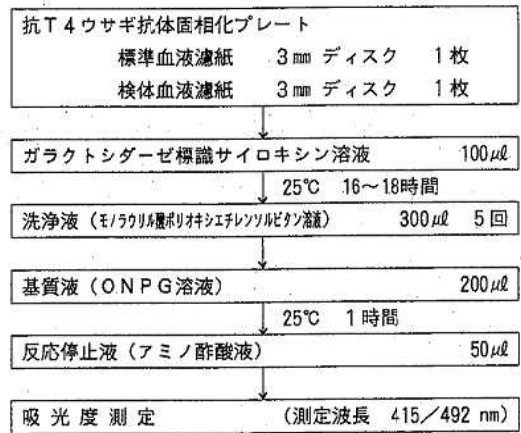


図2 F-T4測定方法

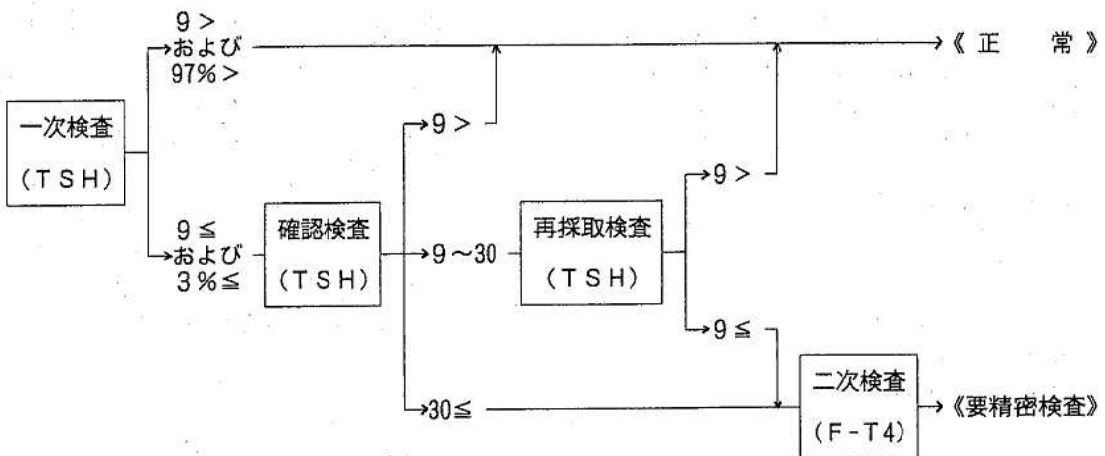


図3 クレチン症マス・スクリーニング判定基準(TSH: μU/ml)

クレチン症、高TSH血症患者のスクリーニング結果は表2に示す。クレチン症11例のうち一次検査の時点でTSH $30\mu\text{U}/\text{m}\ell$ 以上の異常高値を示したのは6例(54.5%)であった。また、F-T4が $0.8\text{ng}/\text{d}\ell$ 以下の低値を示したのは8例(71.8%)であった。

症例5と8は、一次検査ではTSH値は正常であったが、出生体重 $2000\text{g}$ 以下の未熟児であったため、検体の再採取を依頼した。再採取検体検査ではTSH異常高値を示し、スクリーニング陽性となった。

症例9は、一次検査の際、TSH・F-T4同時測定を実施したところ、TSH値は正常であったが、F-T4値が $0.28\text{ng}/\text{d}\ell$ と異常低値を示したので確認のため再採取を依頼した。再採取検体検査の結果、F-T4低値は変わらずTSH値が $10.05\mu\text{U}/\text{m}\ell$ と軽度高値を示したため、精密検査受診を依頼し、その結果、クレチン症と診断さ

れた。

現在は、TSH単独測定によるスクリーニングを実施しており、二次検査でF-T4測定が行われている。これによって、甲状腺自体の異常に起因する原発性クレチン症の大部分は発見可能であるが、TSH上昇が遅れる遅延型クレチン症や、TSH高値を示さない中枢性クレチン症の場合、TSH単独測定では見逃すことになる。これらの疾患は、TSH・F-T4の同時測定によって発見可能であるが、発生頻度(15万人に1人)が非常に低く<sup>4)</sup>、コストベネフィットの問題がある。しかし、実際に患者が見逃されること、また原発性クレチン症でも直ちに医療機関で精密検査その他の処置を行うことが可能なため、今後、TSH・F-T4の同時測定によるスクリーニング実施が必要であると考えられる。

表1 愛媛県におけるクレチン症マス・スクリーニング実施状況

実施年度	出生数	受検者数	受検率 (%)	疑陽性数	陽性数	精密検査結果		
						クレチン症	高TSH血症	他の疾患*
4	14,383	15,705	109.2	262	17	4	2	1
5	14,112	15,290	108.3	180	11	5	0	4
6	14,285	15,643	109.5	132	14	2	2	9
合計	42,780	46,638	109.0	574	42	11	4	14

\* 一過性高TSH血症 11名 一過性甲状腺機能低下症 3名

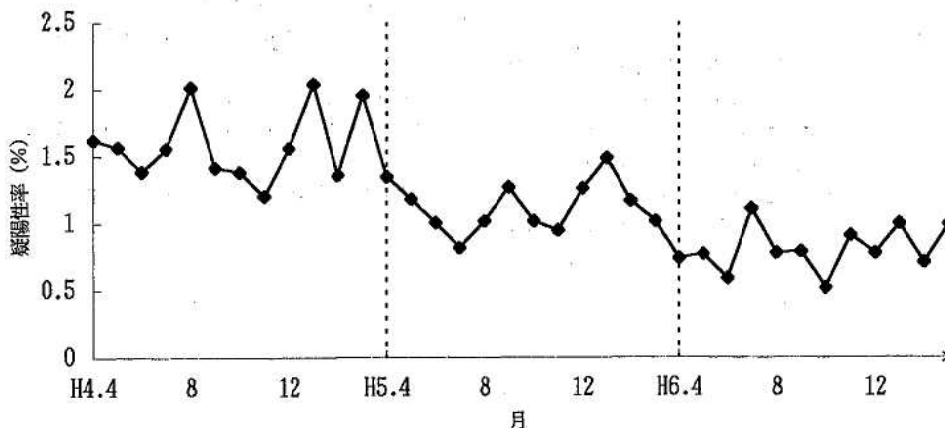


図4 疑陽性率変動



表2 患児のスクリーニング検査結果

症例	性別	在胎週数	出生体重(g)	初回検体検査		再採取検体検査		診断名
				TSH ( $\mu\text{U}/\text{ml}$ )	F-T4 (ng/dl)	TSH ( $\mu\text{U}/\text{ml}$ )	F-T4 (ng/dl)	
1	女	36	2,570	70.83	1.20			クレチン症
2	男	42	4,072	96.85	0.56			
3	男	38	3,130	154.82	0.45			
4	女	40	4,028	113.17	0.64			
5	男	26	780	<1.10		51.34	0.72	
6	女	38	2,175	152.60	0.36			
7	女	38	2,840	20.91		26.78	0.89	
8	男	25	810	1.58		200<	0.42	
9	女	39	3,180	2.41	0.28	10.05	0.48	
10	男	38	2,380	18.01	1.74	16.87	1.48	
11	女	40	2,776	200<	0.40			
12	女	33	2,220	105.80	0.51	121.20		高TSH血症
13	女	39	2,630	24.52	3.34	15.65		
14	男	40	3,500	9.75	1.28	25.01	0.82	
15	女	39	2,940	28.77	1.19	23.33	1.19	

クレチン症マス・スクリーニングは、全国的にみると昭和54年度から平成5年度までに新生児約1900万人について検査を実施し、3400名以上のクレチン症患者が早期発見され、予後についても良好で確実に成果を得てきている。しかし、ヨード含有消毒剤使用による疑陽性率の上昇やF-T4同時測定の必要性、あるいは精密検査後のフォローアップシステムの確立など解決しなければならない問題<sup>5)</sup>も多く、今後、行政・医療・検査機関の相互の協力が必要であると思われる。

#### まとめ

- 1 平成4~6年度までに新生児46,638名がクレチン症マス・スクリーニングを受検し、42名をスクリーニング陽性と判定した。専門医療機関での精密検査の結果は、クレチン症11例、高TSH血症4例、一過性高TSH血症11例、一過性甲状腺機能低下症3例、正常13例であった。
- 2 クレチン症11例のうち、TSH異常高値を示したのは

6例(54.5%)、またF-T4低値を示したのは8例(71.8%)であった。

3 今後、ヨード含有消毒剤使用やF-T4同時測定、あるいは精密検査後のスクリーニング陽性者のフォローアップシステムの確立などの問題に対して、行政・医療・検査機関の協力が必要である。

#### 文献

- 1) 成瀬浩：新生児マス・スクリーニングハンドブック, 100~110 (1989)
- 2) 土居重敏：愛媛県立衛生研究所年報, 54, 11~15 (1993)
- 3) 長瀬重信他：甲状腺疾患, 248~249 (1989)
- 4) 水嶋好清他：札幌市衛生研究所年報, 16, 51~58 (1989)
- 5) 宮井潔：産婦人科治療, 64(5), 505~511 (1993)

# DP 抗原と 1 次 MLR

奥山正明 坂本尚穂 烏谷竜哉 井上博雄

## Primary Mixed Lymphocyte Culture Reactions to HLA-DP

Masaaki OKUYAMA, Hisaho SAKAMOTO, Tatsuya KARASUDANI, Hiroo INOUE

The influence of HLA-DP mismatch on primary mixed lymphocyte culture reaction (MLR) has not yet been clearly established. We have therefore examined the influence of HLA-DP in MLR.

Forty-four combinations from eighteen families of HLA-A, -B, -Cw, -DR and -DQ serologically identical siblings were tested in MLR. Additional typing for HLA-DRB1, -DQB1 and -DPB1 by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method made it possible to evaluate the influence of these genes' product on MLR. Combinations that were matched for HLA-DRB1 allele significantly lower responses than those that were mismatched.

Of eighteen families, four were genetically DP-mismatched. In MLR, there was considerable overlap in these results with range in the HLA-DP-matched combinations relative response index (RRI) of 0-2%, and 0-10% in the mismatched combinations. In cases with no DP mismatch, no proliferative response was observed. All of the HLA-DP-matched combinations had a RRI  $\leq$  2%, while two out of eight (25%) of the HLA-DP-mismatched had a RRI  $>$  5%.

From these results we conclude, firstly, that HLA-DP has a weakly influence on the MLR. Secondly, it is clear that a negative MLR is not sufficient to eliminate HLA-DP disparity.

The DNA typing for HLA class II antigens is considered to be valuable for determining HLA-D region compatibility between patient and marrow donor.

keywords : MLR, HLA-DP, HLA-DNA typing, PCR, RFLP, RRI, cpm

### はじめに

骨髄移植においては、患者とドナー間の組織適合性抗原の適合性が重要な鍵を握っている<sup>1, 2)</sup>。血清学的タイピングにより適合した同胞及び非血縁者は MLR (mixed lymphocyte culture reaction) 検査を実施し、T細胞の HLA アロ抗原に対する反応の強弱を確認していた<sup>3, 4)</sup>。骨髄バンクが発達しバンク仲介の移植が数多く行われるようになると、MLR検査は、検査に要する時間、検査の再現性、検査結果の解釈、再検査の必要性等の問題が指摘されるようになり、クラス II 抗原の DNA

タイピングが導入されるようになった<sup>5)</sup>。MLRは主に HLA-DR, DQ, DP等のクラス II 抗原の総合的な相違を反映すると考えられているが、DP抗原について一定の解釈はなされていない<sup>6-9)</sup>。

我々は、血清学的に、A, B, Cw, DR, DQ抗原が一致した骨髄移植希望者患者とその同胞間において、DP抗原の DNA タイピングを行い、DP抗原が MLR に及ぼす影響について検討を加えた。

### 対象と方法

#### 1 対象

昭和 61 年度から平成 6 年度に骨髄移植を目的として HLA タイピングを行った患者およびその同胞を対象と

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町 8 丁目 234 番地

した。MLR検査は、HLA-A, B, Cw, DR, DQが血清学的に一致した症例について行った。2人以上同胞がいる場合、HLAが一致していない同胞についても同意を得てMLR検査を同時に行った。

## 2 血清学的HLAタイピング

自家製のタイピングトレイを用い、NIH micro-lympho cytotoxicity test 法に従ってHLAタイピングを行った。

## 3 DNAタイピング

PCR-RFLP法<sup>10-12)</sup>により行った。すなわち末梢血有核細胞よりDNAを抽出し、グループ特異的プライマーを用いてDRB1, DQB1, DPB1遺伝子の第2エクソン部分を増幅し、5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動で増幅DNAの確認をした。続いて、増幅DNAを各種制限酵素で切断し、10%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイド染色し、得られたバンドパターンを解析してDNAアレルを決定した<sup>13)</sup>。

## 4 MLC検査<sup>14)</sup>

リンパ球をフィコールコンレイ比重法で分離後、 $1 \times 10^6$ 個/mlの反応細胞 $50 \mu\text{l}$ と $5 \times 10^5$ 個/mlの刺激細胞 $100 \mu\text{l}$ を96穴U底マイクロプレートにて培養した。刺激細胞は3,000radのX線照射を行った。培養は6日間行い、5日目に $0.5 \mu\text{Ci}$ の $^3\text{H}$ -チミジンを加え、さらに16時間培養し、細胞内への取り込みをシンチレーションカウンターで計測した。

反応の強弱は、Relative Response Index (RRI) で表し、次式によった。

$$\text{RRI} = \frac{\text{Test cpm} - \text{Autologous cpm}}{\text{Control cpm} - \text{Autologous cpm}} \times 100$$

## 結 果

骨髄移植希望者130人の疾患別患者数を表1に示した。急性骨髄性白血病は小児に多く、急性リンパ性白血病は成人に多かった。

年齢不明の4人を除く、126人の年齢分布を図1に示した。9歳以下は20.6%、10~19歳は31.0%、20~29歳は22.2%、30~39歳は12.7%、40歳以上は13.5%であった。

MLC検査を行った123組の組合せの内、血清学的にDRが一致したものが74組、一致していないものが49組あり、それぞれのRRI分布を図2に示した。DR一致の組合せのRRIは、1例を除き全て9%以下であった。一方、DR不一致の組合せのRRIは、0%から100%以上といろいろな反応を示し、100%以上の反応が49組中11組(22.4%)と最も多かった。DR不一致の組合せの内、5組(10.2%)はRRIが9%以下であった。

血清学的にDRが不一致した組合せの内、44組については、DRB1, DQB1, DPB1のDNAタイピングを行った。DRB1, DQB1アレルは44組の全てが一致していたが、DPB1アレルは8組が異なっていた。それぞれのRRI分布を図3に示した。DPB1一致の組合せのRRIは、全て2%以下の反応であった。DPB1不一致の組合せのRRIは、0%が5例、1%が1例、5%が1例、10%が1例といろいろな反応を示した。

## 考 察

HLA抗原は、外来ペプチドと複合体を形成し、T細胞に外来抗原を識別させる主要な機能がある。

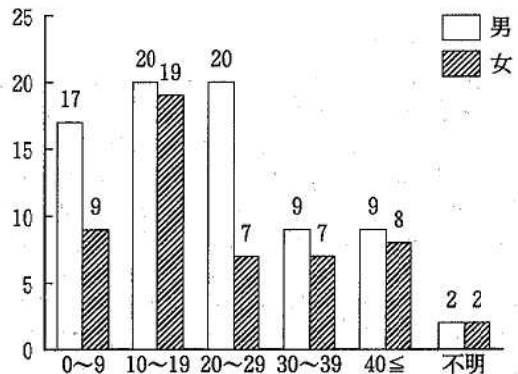


図1 骨髄移植希望者の年齢分布

表1 骨髄移植希望者患者疾患別検査数

疾 患 名	症 例 数
急性骨髄性白血病	35
急性リンパ性白血病	30
再生不良性貧血	24
慢性骨髄性白血病	19
非ホジキンリンパ腫	4
骨髄異形成症候群	4
悪性リンパ腫	2
急性前骨髄性白血病	2
バーキットリンパ腫	1
ゴ ー シ ョ 病	1
リンパ芽球性貧血	1
赤芽球性貧血	1
Chediak-東症候群	1
副腎腫瘍骨移転	1
慢性活動性EBV感染症	1
急性巨核球性白血病	1
Mixed lineage leukemia	1
サラセミア	1

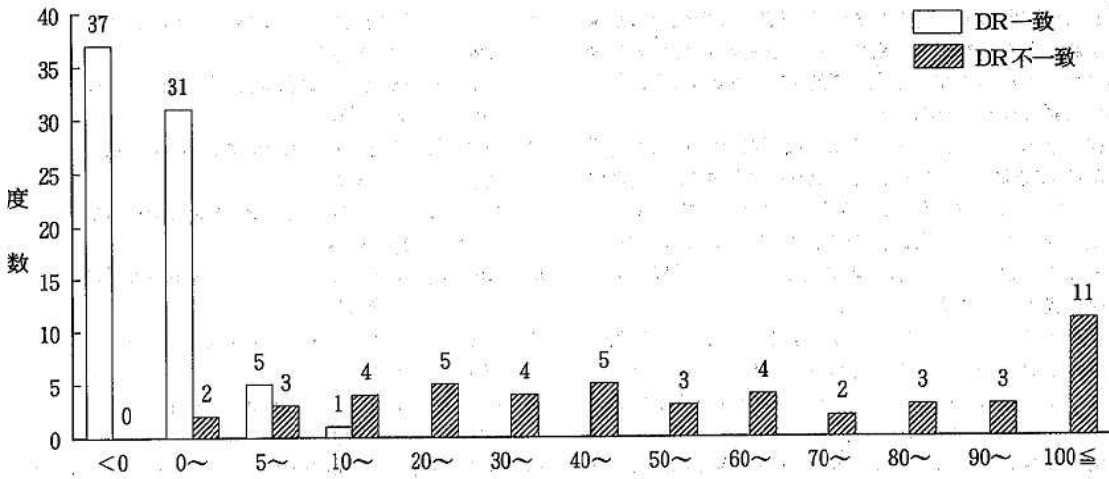


図2 同胞間のMLRから得られたRRI (%)

MLRは、非自己分子であるアロ抗原によるT細胞への刺激によっておこり、HLA-DR、DQ、DPなどのクラスII抗原の相違を総合的に反映している。一次MLRはDR、DQ抗原の影響がもっとも大きいとされている。DP抗原は、感作されたリンパ球を用いた二次MLRにより発見された抗原であり<sup>15)</sup>、非血縁者間のMLR陰性の組合せの65%しかDP抗原の一致がみられずDP不一致を十分に除外出来ないこと<sup>6)</sup>、非血縁者間のMLR陰性の組合せの71%にDPB1遺伝子の不一致がみられDPB1の相違はMLRに重要でないこと<sup>7)</sup>、抗DPモノクローナル抗体でMLRが阻止されること<sup>8)</sup>、RRI値の大きさはDP

抗原の不一致の数に影響されること<sup>9)</sup>などの様々な報告があり、DP抗原とMLRに関しては一定の結論に達していない。

また、ドナーとレシピエント間のHLA不一致はGVHD (graft versus host disease: 移植片対宿主病)を発症させる原因の一つ<sup>1,16)</sup>であるから、DP抗原の相違もGVHDに関与する一つと仮定できる。しかし、これについてもDP不一致が急性GVHD発症に関連があるとした報告<sup>17-19)</sup>や重要ではないとした報告<sup>20-22)</sup>があり、明らかな結論はでていない。

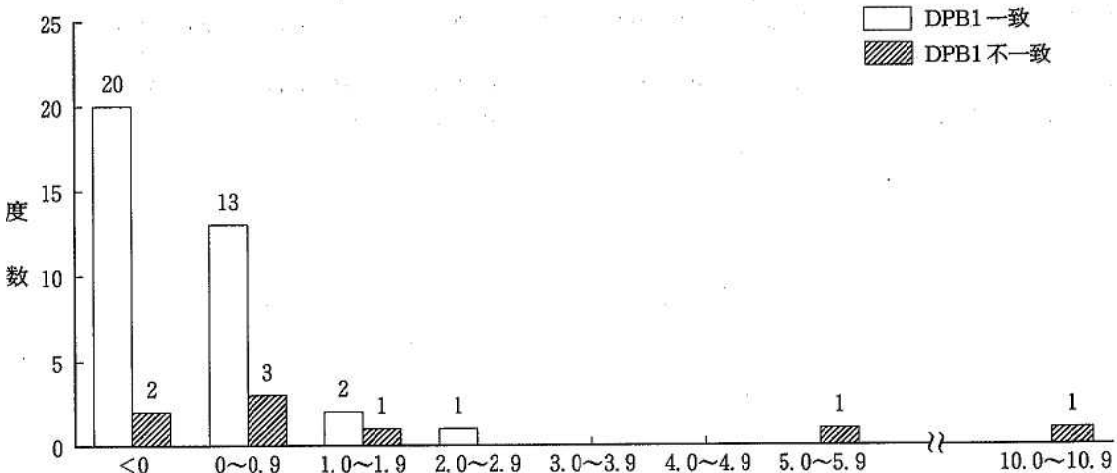


図3 DRB1一致同胞間のMLRから得られたRRI (%)

我々は、血清学的に、A, B, Cw, DR, DQ抗原が一致した同胞間MLC反応において、MLCが陰性でない場合はDPB1アリルが不一致であることを示した<sup>13)</sup>が、今回はさらに例数を多くして、DPB1アリルがMLRにおよぼす影響について解析した。

血清学的にA, B, Cw, DR, DQ抗原が一致した患者とその同胞についてretrospectiveにクラスII抗原のDNAタイピングを行った。DPB1, DQB1アリルは18家族全てが一致していたが、DPB1の1アリルの不一致は4家族にみられた。これは、他の報告<sup>18,19)</sup>と同様に遺伝子組み換えによるものである。

DRB1, DQB1, DPB1アリルの全てが一致した36組のMLCは、RRI値が2%以下であるのに対し、DPB1の1アリルが不一致の8組は、明らかに高いRRI値を示す組合せが2組あった。MLRが陰性でもDPB1アリルの不一致は8組中6組あり、MLRは、DP抗原の同胞間不一致の組合せを検出できないことが示された。このことは、MLRは非血縁者間のD領域の一致を決めるのに充分でないこと<sup>23)</sup> DNAタイピングは非血縁者間のMLRを予測すること<sup>5)</sup>などと考え合わせると、同胞間においてもDNAタイピングは移植検査として重要であることを示唆する。また、MLRはGVHDを予測するものではない<sup>24)</sup>ので、DNAタイピングによるクラスII領域の解析は、ドナーとレシピエント間のDPB1アリルの相違など有用な情報を提供してくれ、臨床的に有意義な検査と思われる。

## 文 献

- 1) Beatty P. G. et al : N. Engl. J. Med., 313, 765 - 774 (1985)
- 2) Anasetti C. et al : N. Engl. J. Med., 320, 197 - 204 (1989)
- 3) Thomas E. D. et al : N. Engl. J. Med., 292, 895 - 902 (1975)
- 4) Hansen J. A. et al : N. Engl. J. Med., 303, 565 - 567 (1980)
- 5) Termijtellen A. et al : Hum. Immunol., 31, 241 - 245 (1991)
- 6) Ferrell C. et al ; J. Immunogenet., 15, 243 - 250 (1988)
- 7) Salazar M. et al ; Tissue Antigens, 39, 203 - 208 (1992)
- 8) Seli T. W. et al : Hum. Immunol., 29, 23 - 30 (1990)
- 9) Olerup O. et al : Tissue Antigens, 36, 194 - 202 (1990)
- 10) Nonura N, et al : Tissue Antigens, 38, 53 - 59 (1991)
- 11) Ota M. et al : Tissue Antigens, 38, 60 - 71 (1991)
- 12) Ota M. et al : Tissue Antigens, 39, 187 - 202 (1992)
- 13) 奥山正明他 : 愛媛衛研年報, 54, 21 - 25 (1993)
- 14) 井上博雄 : 臨床免疫, 16 (9), 751 - 758 (1984)
- 15) Shaw S. et al : J. Exp. Med., 152, 565 - 580 (1980)
- 16) Ferrara J. L. M. et al : N. Engl. J. Med., 324, 667 - 674 (1991)
- 17) Kato Y. et al : Transplantation, 52, 374 - 376 (1991)
- 18) Nonura N. et al : Hum. Immunol., 32, 261 - 268 (1991)
- 19) Amar A. et al : J. Immunol., 138, 1974 - 1953 (1987)
- 20) Petersdorf P. J. et al : Blood, 81, 1923 - 1932 (1993)
- 21) Theobald M. et al : Blood, 82, 298 - 306 (1993)
- 22) Al-Dacck R. et al : Transplantation, 50, 960 - 964 (1990)
- 23) Mickelson E. M. et al : Tissue Antigens, 42, 465 - 472 (1993)
- 24) Mickelson E. M. et al : Tissue Antigens, 44, 83 - 92 (1994)

# 蛍光法を用いた迅速で簡便な血清学的HLAタイピング法

坂本尚穂 烏谷竜哉 奥山正明 井上博雄

## A Simple and Rapid Serological HLA Typing by Fluorescent Micro Lymphocytotoxicity Test

Hisaho SAKAMOTO, Tatsuya KARASUDANI, Masaaki OKUYAMA, Hiroo INOUE

We have developed fluorescent micro lymphocytotoxicity test which performed by using complement-ethidium bromide mixture. T cells and B cells were isolated from peripheral blood treated with T,B Lympho Kwik. The typing trays were photographed by UV illumination after incubation. Positive and negative reactions were readily discernible for the fluorescent patterns. The results of HLA class I, II typing determined by the standard NIH method were compared with those determined by the fluorescent method. A comparison of class I typing by the standard NIH method and the fluorescent method showed a >96% concordance in the 16 samples. The fluorescent method has simplified HLA class I and class II typing.

Keywords : HLA typing, fluorescent micro lymphocytotoxicity test, NIH method, complement-ethidium bromide mixture

### はじめに

当所における組織適合性検査は、血清学的タイピング法（リンパ球細胞障害試験）を中心に実施している。通常、時間的制約がない限り、結果判定は翌日検鏡により行っている。しかし、死体腎提供者発生時や骨髄提供者検索（おじ、おば、いとこ）の場合は、正確性のみならず迅速なタイピング（所要時間の短縮）が要求される。

そこで、今回それらに対処するために補体に蛍光色素（エチジウムブロマイド）を加え、反応終了後タイピングトレイの発色をUV照射装置上で写真撮影する蛍光法を試み、従来のNIH法<sup>1)</sup>と比較・検討を行ったので報告する。

### 対象と方法

#### 1 対象

検査の対象は健常者とし、末梢血リンパ球から得られたT・B細胞を用いた。

HLAクラスIタイピング16例、HLAクラスIIタイピング5例について検討を行った。

#### 2 NIH法によるHLAタイピング（図1）

自家製タイピングトレイ（EPH94-1.2.3 EPH93DR-1.2 各60ウェル）を用い、リンパ球細胞障害試験にてHLAタイピングを行った。

#### 3 蛍光法によるHLAタイピング（図1）

①T・B細胞の分離は、純度を上げる目的で、ワンラムダ社のT、Bリンフォクイック試薬を使用し、その後タイピングに用いた。

②5%FCS加RPMI1640培養液で、T・B細胞各々の細胞数を $4\sim 5 \times 10^6/ml$ に調整した。

③各細胞をタイピングトレイに $1\mu l$ ずつ分注し、クラスIは室温30分間、クラスIIは $37^\circ C$ 60分間反応させた。

④エチジウムブロマイド加ウサギ補体を $5\mu l$ 加え、クラスIは45分間、クラスIIは1時間45分間室温で遮光し反応させた。

⑤タイピングトレイのウェル内の上清をタオルペーパーで吸収除去した。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地



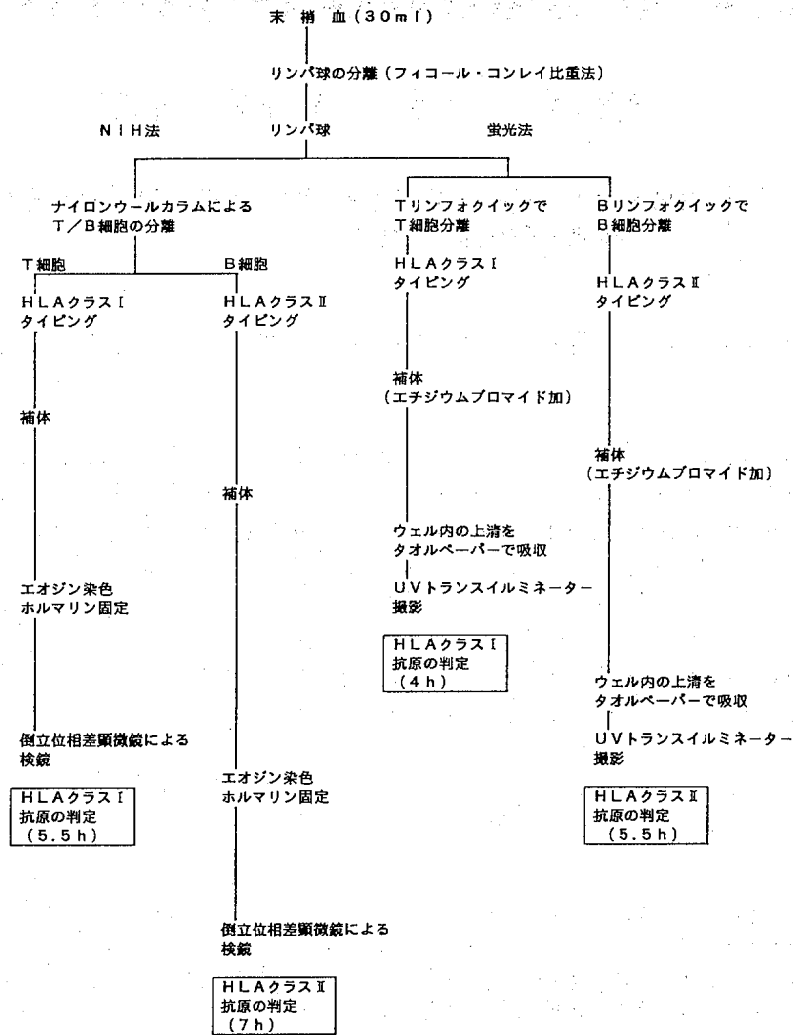


図1 血清学的タイピング法 (NIH法, 蛍光法)

⑥UV照射装置上にタイピングトレイをのせ写真撮影を行った。

⑦発色パターンにより結果を判定した。

### 結果

1 蛍光法によるHLAクラスIタイピング  
sample No.1のタイピング結果の写真とその発色パターンを図2に示す。タイピングシートと照らし合わせた結果、A24-, B52 13, Cw10- とタイプされた。

2 蛍光法とNIH法のHLAクラスI, IIタイピング結果の比較

HLAクラスIタイピング結果の比較では、HLA-A,

C抗原はすべて一致した。HLA-B抗原についてはS-6が蛍光法ではB60に対しNIH法ではB48, S-16ではB48がNIH法ではB60と不一致が認められた (表1)。HLAクラスIIタイピング結果では、HLA-DR52・53抗原, DQ抗原はすべて一致した。HLA-DR抗原は、S-2が蛍光法でDR11に対しNIH法ではDR1403, S-3は蛍光法でDR4がNIH法でDR4.2であり、S-5は蛍光法でDR12がNIH法でDR8.1であった (表2)。

### 考察

現在、本邦において一般的に行われているHLAタイピングは、ナイロンウールカラム法<sup>2)</sup>により分離した

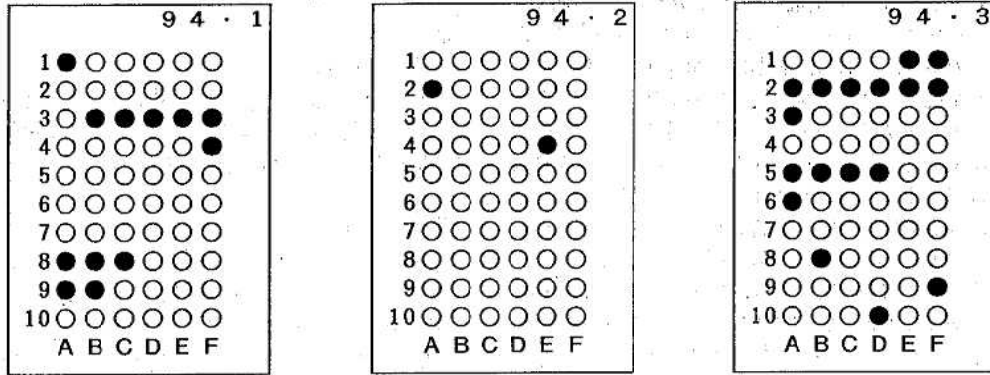
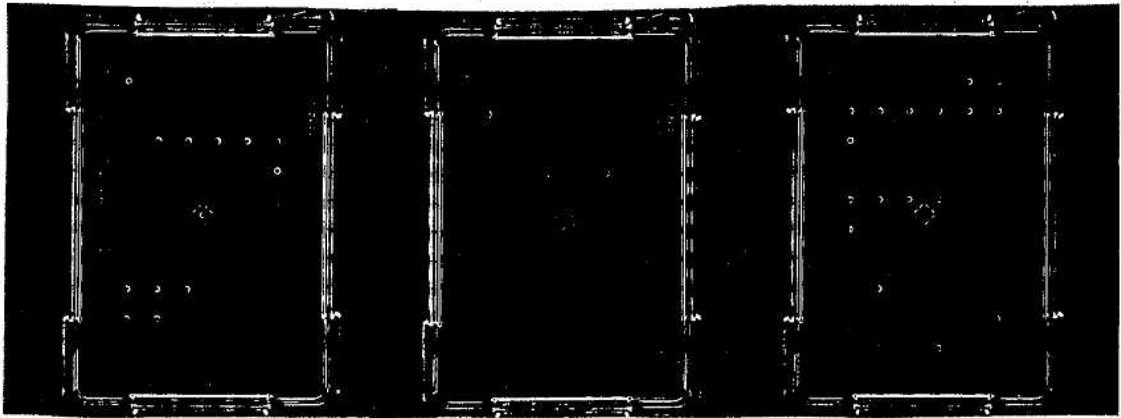


図2 蛍光法によるHLAクラスIタイピングの発色パターン

表1 HLAクラスIタイピング結果の比較

method sample	蛍光法						NIH法					
	A		B		Cw		A		B		Cw	
S-1	24	-	52	13	10	-	24	-	52	13	10	-
2	24	31	51	54	1	-	24	31	51	54	1	-
3	11.1	33	44	62	4	-	11.1	33	44	62	4	-
4	24	11.1	52	35	1	-	24	11.1	52	35	1	-
5	2	31	35	60	3	-	2	31	35	60	3	-
6	2	-	51	60	-	-	2	-	51	60	-	-
7	24	-	7	62	7	9	24	-	7	62	7	9
8	2	24	61	-	10	8	2	24	61	-	10	8
9	2	24	46	61	1	10	2	24	46	61	1	10
10	24	-	51	54	1	-	24	-	51	54	1	-
11	2	24	55	60	9	4	2	24	55	60	9	4
12	24	33	44	54	1	-	24	33	44	54	1	-
13	24	-	54	61	1	8	24	-	54	61	1	8
14	2	24	46	61	1	9	2	24	46	61	1	9
15	2	24	62	60	3	-	2	24	62	60	3	-
16	2	24	60	60	10	-	2	24	60	60	10	-

表2 HLAクラスIIタイピング結果の比較

method	蛍光法						NIH法					
	DR		DR		DQ		DR		DR		DQ	
sample	type		52	53			52	53				
S-1	15	14	52		1	-	15	14	52		1	-
2	4.1	9	52	53	7	4	4.1	9		53	7	4
3	9			53	3	-	9			53	3	-
4	15	9		53	1	3	15	9		53	1	3
5	9			53	1	3	9			53	1	3

T・B細胞を用いた micro lymphocytotoxicity test<sup>1)</sup>にて行われている。この方法は特に、カラムによるT・B細胞の分離と検鏡による生細胞と死細胞の判定に技術と経験が要求される。今回検討した蛍光法は、T・B細胞の分離にTリンフォクイック、Bリンフォクイック<sup>3)</sup>(目的細胞以外の単球、赤血球、血小板、顆粒球に対するモノクローナル抗体のカクテルに補体を加えたもの)を使用し、タイピング結果の判定は、写真の発色パターンを見ることにより行った。これらにより、熟練を要する細胞分離や検鏡とそれにかかる時間を省くことができた。その結果、判定までに要する時間がクラスI、クラスIIともNIH法に比べ90分間の短縮が可能であった。

蛍光法による自動測定装置は、血液センターなど多検体を扱う施設では既に導入されているが、本法は特別な装置を必要とせず、小規模な検査室では応用可能であると考えられる。

今回、蛍光法とNIH法の比較・検討を行ったところ、HLAクラスIタイピングではB40(B60, B61, B48)の交差反応グループで一部、不一致が認められた。HLAクラスIIタイピングについては、例数が少ないこともあ

り検討が必要と思われる。

今後は例数を増やし、透析患者、死体腎提供者、その他移植希望患者についても応用可能か検討を加えたい。

#### まとめ

蛍光法によるHLAタイピングはクラスI-4時間、クラスII-5時間30分で終了し、緊急時に有用な方法であると思われる。また、発色パターンによる結果判定は熟練を要せず、容易な判定法と思われた。

#### 文献

- 1) Terasaki P. I. et al: Microdroplet testing for HLA-A, B, C and D antigens, Amer. J. Clin. Pathol. 69, 103-120 (1978)
- 2) Danilovas J. A. et al: B lymphocyte isolation by thrombin-nylon wool. Histocompatibility testing, 287-288 (1980)
- 3) 丸屋悦子他:迅速、簡便なB細胞分離法。Bクイック変法, 血液事業 10 (1), 99-100 (1987)

# 水質試験項目の試験頻度に関する一考察

石丸尚志 武智拓郎 大倉敏裕 森 喜一 盛岡 通\*<sup>1</sup>

## A Study on the Frequency of Water Quality Test Observed by Risk Factor

Takashi ISHIMARU, Takuro TAKECHI, Toshihiro OHKURA,  
Yoshikazu MORI and Tohru MORIOKA

Last year Japanese water quality standard for drinking was improved, that is, the number of total item was increased from 26 to 85 and the standard values were made severer. The process used to make new standard was not announced officially. But the standard was applied to all water supply facilities and obligated to test more than once a month. For the economic reason and the purity of raw water, in compliance with the detection level, water quality test is able to omit several times a year, but the frequency of water quality test is not established by the principle based on risk factors of item. We investigated the relationship between risk factors of item and the detection level in the water area for public by means of calculating ratio of them. Then frequency of water quality test is decided by the relative risk, and using the data of IARC-carcinogenicity and the degree of interest in the water quality item which specialists in water problem have, relative risk of chemicals are discussed. As the result, conceptional idea of chemicals' risk is as much as the risk calculated by detection level and toxicity.

Keywords : water quality, test frequency, detection level, risk factor, degree of interest.

### はじめに

1993年12月に改正された、水道水質基準においては、総項目数が26から85に増加する一方、基準値の厳しくなった項目もあり、水道水の安全性はより一層高められた。

しかし、水供給サイドに立てば、水質検査における経済的負担増、労働力の必要性等、安全な水を供給するために水道水の単価を上げざるを得ない場合も生じてきている。特に、県内の山間部の給水人口の小さい簡易水道などにおいては、負担もかなりのものとなってきている。水源が清澄であるために、浄水処理にも費用がかか

らず、過去の調査でも化学物質は検出されていない水道施設においては、特例的に試験頻度を少なくすることも認められているが、一般的には過去5年間の試験結果を基に、試験頻度は決められている。

水質基準策定の経緯については、その物質の毒性等をもとに、基準値を設定しており、その基準値の1/10を超えるか否かで、月1回の検査が年1回又は、季節毎(年4回)と省略可能となる。しかし、その頻度設定に関する経緯、根拠については明らかにされておらず、先述のような小さい簡易水道管理担当者からの素朴な疑問には、明らかな解答が出せない状況である。

そこで、著者等は基準策定において用いられたと思われる、検出状況と毒性の相互関係をポピュレーションリスクをパーソナルリスクに読み替える手法<sup>1)</sup>を用い、試

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地  
\*1 大阪大学工学部

験頻度を算定した。

次に、毒性の指標を変えて、発ガン性を基準に用いた場合の検討を行った。さらに視点を変えて、毒性と検出率をともに反映する指標として、水問題の専門家による水質試験各項目に関する関心度を定義し、その関心度と、検出状況、毒性等との関係を探った。

### 水道水質基準項目の検出状況

厚生省が、水質基準を設定する際に全国の水道原水、浄水、公共用水域において当該化学物質のモニタリングを行っている。その結果は、上水試験方法（1993年版）解説編<sup>2)</sup>に示されている。一般に、公共用水域、原水、浄水の順に検出率は高く、浄水にまで残存している例は、一部の有機リン系農薬が、形態を変えて残存する<sup>2)</sup>以外には浄水中に検出される場合は少ない。

公共用水域での検出状況は、各水質項目の源泉となる化学物質の使用状況、環境中での消長の指標となるため、検出状況の代表とすることが望ましい。一方水道原水については、それが直接人間の健康に影響するため、毒性との関係を検討すべきとの考え方もあるが、本来水道原水は、汚染の最も少ない場所にあるため、検出状況を将来の動向として捉える上では、公共用水域における値を採用の方が望ましいと考えられる。

検出状況を表す方法として、検出された数字を積分していった、その平均をとる方法、検出数値の平均値を用いる方法あるいは、検出された最大値を用いる方法等があるが、公表されている数字として、検出状況は、検出された最大値と検出率との積を用いた。（数値が小さいため表中では1000倍した値を表示）

検出率についても、検出限界の数字によって年々検出率が上昇すること等問題があるが、用いた検出率は水道水質基準改定のため、全国一斉に実施した試験検査の結果のため、同じレベルに標準化されているため同一の評価が可能である。

### 基準項目のリスクファクター

公共用水域、水道原水等から検出されるレベルでは、急性毒性の論議される必要のあるものは、ほとんどない。過去の水源汚染事故例<sup>3)</sup>を見ても、油様物質による臭気の問題がほとんどで、急性毒性が論議されたことはほとんどなく、長期飲用による慢性毒性の方が問題とされる。

そこで、慢性毒性の指標としてADI（1日許容摂取量）及びHA値（健康に関する勧告）<sup>4)</sup>の設定されている項目を選定し、検出状況との比から検討する一方、発ガン性が疑わしいためにADI等の設定がなされていない項目については、IARC（国際ガン研究機関）またはEPA（アメリカ環境保護庁）による発ガン分類との関係を検討した。

HA値は、動物実験の結果から最大無作用量を算定し、安全係数をかけて、最大許容量を決定し、飲料水適用基準をその化学物質への暴露経路による寄与率をかけて決定するという、ADIの決められかたとほとんど同じ手順を踏んで行われる。

ADI等が設定されており、なおかつ発ガン分類がなされている項目については、両面からの評価が可能である。

表1 水道法試験項目の検出状況と試験頻度

物質名	基準	毒性等	検出状況	DL/ADI	試験頻度
①イソキサチオン	0.008	A:0.003	0.0096	3.2	C
②ダイアジノン	0.005	A:0.002 H:0.0006	0.133	66.5	B
③フェニトロチオン	0.003	A:0.01	0.081	8.1	C
④ジクロロボス	0.003	A:0.004	0.025	6.3	C
⑤フェノブカルブ	0.002	A:0.006	0.227	37.8	B
⑥イソプロチオラン	0.04	A:0.016	0.866	54.1	B
⑦クロロタロニル	0.04	A:0.015 DW:0.525	0.077	5.1	C
⑧イプロベンホス	0.008	A:0.003	0.254	84.6	B
⑨チウラム	0.006	A:0.023	0.042	18.3	B
⑩シマジン	0.003	H:0.004	1.81	1130	A
⑪クロロニトロフェン	0.005	A:0.002	0.12	60	B
⑫チオベンカルブ	0.02	A:0.009	2.4	267	A
⑬四塩化炭素	0.002	DW:0.025	0.099	19.8	B
⑭1,2ジクロロエタン	0.004	MCL: 0.005	2.44	2440	A
⑮1,1ジクロロエチレン	0.02	H:0.007	0.0081	5.8	C
⑯ジクロロメタン	0.02	DW:1.75	2.23	6.4	C
⑰cis-1,2ジクロロエチレン	0.04	H:0.070	0.33	23.6	B
⑱テトラクロロエチレ	0.01	H:0.010	0.004	2.0	C
⑲1,1,2トリクロロエタン	0.006	H:0.003	1.13	1883	A
⑳トリクロロエチレン	0.03	DW:0.265	0.0027	0.05	C
㉑トルエン	0.6	H:2.4	0.861	1.8	C
㉒trans-1,2ジクロロエチレン	0.04	H:0.070	17.71	1265	A
㉓1,1,1-トリクロロエタン	0.3	H:0.2	0.589	14.7	B

(A: ADI (mg/kg/day), H: HA (mg/l), DW: 飲料水適用基準(mg/l), MCL:最大許容量(mg/l))

### 検出状況とリスクファクターから 試験頻度の検討

表1に示すように、ADIの設定されている項目及び、ADIは設定されていないがHA値の設定されている項目を選定し、検出状況(DL×1000)とADI又は、HA値との比(DL/ADI)から検討した。その値が概ね1桁の差をもって、試験頻度においては、差が生じるべきものと考え、表の右欄には、ABCの試験頻度の判定を施した。Aは検出状況とリスクファクターとを勘案すれば最も試験頻度を大きくすべき項目と考えられ、水質試験基準項目にある項目が主である。Cは、現状では試験頻度を大きくする必要のない項目と考えられ、ほとんどが監視項目にある。ただし、検出状況が、表流水からものを用いているので、一部の低沸点物質については、実際に問題となるのが地下水汚染であることを考えると、地下水からの検出状況を用いれば、この値は大きくなり評価Aとなる。

図1に水質試験項目の検出状況とADI(HA等の場合にはADIに換算)の関係を図示する。図の中で、右下がりの直線で区分した領域は、試験頻度の評価A~Cに相当する。

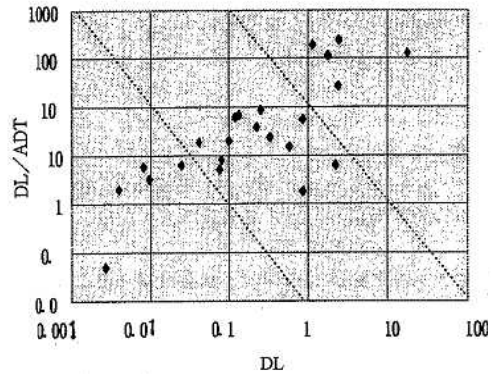


図1 水質試験項目の検出状況と試験頻度

### 検出状況とIARC発ガン分類による 試験頻度の検討

今までの水質基準では、発ガン性を有する項目については、基準値を設定されずにいた。その理由は、発ガン性を有する物質は例え少量でも、いき値を持たないため発ガンの危険性を有するためであった。発ガン性を有しない物質については、ADIを用いた評価が可能であった。ADI等が設定されている項目のうち発ガン分類のなされている項目について、検出状況と分類を図の上にプロットし、図2に示した。

発ガン分類を横軸にとった場合にも、ADIで示した図とほとんど同じ様なプロットがなされ、2本の右下がりの直線で領域が3区分され、先の試験頻度A~Cと対応する関係が得られた。

図中、1, 2A領域の番号なし○印はそれぞれベンゼン、ホルムアルデヒドに対応する。

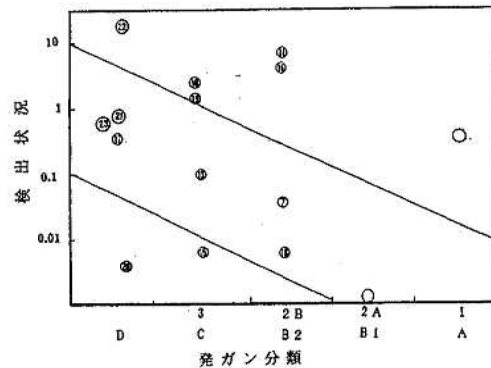


図2 発ガン分類と検出状況からの試験頻度の検討

### 水問題専門家の各項目への関心度

日本では、日本水環境学会に発表している研究者を水問題の専門家と考える。一方世界的には、当該化学物質のChemical Abstractへの登載者をもって専門家とする。

日本では、1989年から1994年年会講演集<sup>5)~10)</sup>から、当該化学物質の出現回数を調査し、分析法に関するもの、実態報告に関するもの、動態関係、処理方法等に区分し、調査した。その結果、各項目とも、まず分析法に関する発表が続く、その後、実態報告あるいは動態に関する発表があり、引き続き処理に関する発表が続くという一連の流れの傾向が認められる。各項目の分類別発表について、図3に示す。

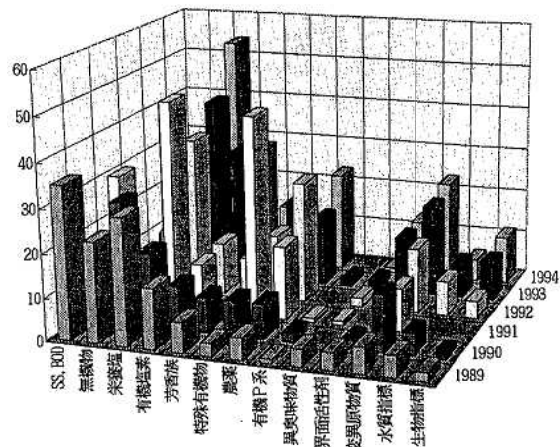


図3 各項目の年度別発表分類



### リスク認識度と検出状況からの試験頻度の検討

水質専門家のその項目への関心の度合を、各年度の発表件数の総数と各物質の出現の増加率との積で表し、専門家のその項目にたいするリスク認識度と定義する。増加率は、初めの2年間の総数と後の2年間の総数の比をもって表した。

リスク認識度は、当該物質の毒性指標と、検出状況を反映する指標と位置付けられ、表1に示したDL/ADIと同様な位置付けが得られる。

従って、リスク認識度単独で、100以上のもの、10~100迄の項目10以下の項目とそれぞれのランク分けが可能であり、その結果、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン等低沸点有機塩素化合物がリスク認識度100以上となり、先に地下水の検出状況から考えればこのようになると示唆したと同じ結果となった。農業では、イソプロチオランが高い値を示し、各地の公共用水域で頻繁に検出されたことの裏付けとも思われる。

一方、チウラム、シマジン等の農業は、総数は多いが、増加率が小さい、即ち1980年代後半には既に関心が高かったことを反映している。従って、リスク認識度単独での評価よりは、検出率とリスク認識度との評価が望まれる。図4にリスク認識度と検出率との関係を示す。

リスク認識度と検出率との関係は、毒性指標と検出率との関係のように必ずしもうまく説明がつかない項目もあるが、今後の水質基準の監視体制の動向を示すものと考えられる。

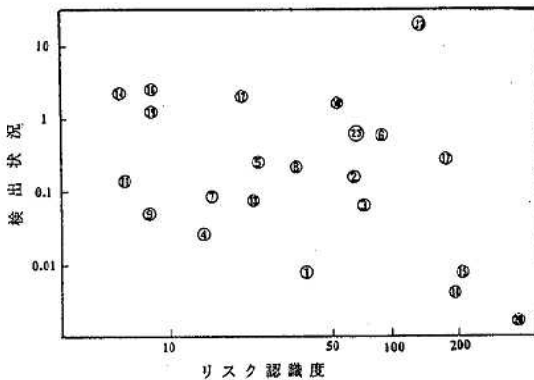


図4 リスク認識度と検出状況

### まとめ

水道法水質項目別の、検出状況とその毒性等から、試験項目の試験実施間隔を検討したところ、基準項目は概、試験検査頻度を高くする必要が示唆され、監視項目にある化学物質とは明らかに異なった結果となった。

専門家のリスク認識度もその順に高くなっており、リスク認識度を指標として試験頻度を検討した結果も、ほぼ同様であった。

発ガン指標の定性値を数量化して検出状況との関係をプロットした結果も同様な傾向を示し、検出状況と各種毒性指標との関係から試験頻度を検討することの有用性が示された。

今後は、専門家のリスク認識度を日本ばかりでなく、世界に広げ各種物質についての検討をするとともに、未規制物質についてのモニタリングを継続することにより、新しい水質基準の評価が行われるものと考えられる。

また、水質担当者の水質試験にたいする支払い容認価格を調査することにより、水質試験担当者のリスク認識度が示され、その金額の多寡により、水質試験項目の試験頻度が推測されるものと考えられる。

本研究の一部は、第29回日本水環境学会で発表した。

### 文献

- 1) Curtis C.Travis et al : Cancer risk management, Environ.Sci.Technol. 21 (5), 415 - 420 (1987)
- 2) 日本水道協会編：上水試験方法解説編 (1993)
- 3) 山村亮他：第42回水道研究発表会講演集 623 - 625 (1991)
- 4) 米国環境保護庁編 水質問題研究会訳：「飲料水中の各種化学物質の健康影響評価 (I),(II),(III) -健康に関する勧告集-」日本水道協会 (1988),(1993),(1994)
- 5) 第23回水質汚濁学会年会講演集 (1989)
- 6) 第24回水質汚濁学会年会講演集 (1990)
- 7) 第25回日本水環境学会年会講演集 (1991)
- 8) 第26回日本水環境学会年会講演集 (1992)
- 9) 第27回日本水環境学会年会講演集 (1993)
- 10) 第28回日本水環境学会年会講演集 (1994)

# 愛媛県内に深層掘削された源泉の泉質特性について

大野智也佳 田頭和恵 森 喜一 井上博雄

## Studies on the Characteristics of Hot Spring Water bored more deeply than 1000m in Ehime Prefecture

Chiayaka OHNO, Kazue TAGASHIRA, Yoshikazu MORI, Hiroo INOUYE

There are 18 hot spring waters bored more deeply than 1000m in Ehime prefecture.

They are located in Ryoike zone, Izumi group and Shimanto belt. To utilize them fairly we studied the characteristics of them with analytical results since 1974.

The temperature of 16 hot spring waters were higher than 25°C, including 4 hot spring waters in Shimanto belt became above 25°C for the first time. It may be influenced by geothermal gradient.

Some of hot spring water in Ryoike zone and Izumi group were simple hot springs and were rich in  $F^-$ . Some of hot spring water in Shimanto belt were rich in  $HBO_2$ . It showed the same tendency of ordinary hot spring water around.

Most of them consisted mainly of the cation  $Na^+$  and the anion  $HCO_3^-$ , indicating that base-exchange reaction and dissolution reaction in the surrounding rocks were advanced with flowing or stagnancy.

Most of them consist of much more  $F^-$  or  $HBO_2$  than others bored shallowly. It is necessary to prescribe standard for drinking every hot spring water.

Keywords : hot spring water, boring more deeply 1000m, the characteristics of hot spring water

### はじめに

愛媛県内には約140の源泉が湧出し、その多くが県民の保養休養に利用されている。

従来の源泉は自然湧出あるいは100m程度掘削された源泉が主であったが、ふるさと創生事業の導入以降、1000m以上掘削された源泉が開発されるようになった。

これらの源泉については浴用のみならず様々な利用形態が予想され、また、今後も掘削数が増加すると考えられるが、温泉水を適正利用するためにはその泉質特性を把握する必要がある。

そこで、温泉の適正利用を図る目的で、深層掘削された源泉の泉質特性について検討し、若干の知見を得たの

で報告する。

### 調査方法

1974年1月から1995年2月までの間に当所で鉱泉分析法指針に基づき分析した122源泉（このうち掘削深度1000m以上が18源泉）の分析結果について検討した。

### 結果及び考察

#### 1 源泉の掘削深度

県内の主要源泉122源泉の掘削深度を図1に示した。100m未満が36源泉で全体の約30%を占めている。ついで100m~200mが18源泉（15%）、400m~500mが14源泉（11%）であり、全体の86%が500m未満の源泉である。1000m以上は18源泉で全体の約15%を占めている。

2 深層掘削された源泉の分布状況

掘削深度1000m以上である18源泉の分布を図2に示した。上浦町、菊間町、北条市、松山市、川内町及びその周辺部、宇和島市及び北宇和郡に分布している。

愛媛県内では1973年にはじめて1000m以上掘削した温泉が松山市内に開発され、その後数か所で開発されたが1990年からその数は急激に増加した。ふるさと創生事業をはじめとする地域の活性化事業に温泉開発が増加したことや、湧出量及び泉温の確保を目的とした掘削が増加したこと等が原因と考えられる。

地質帯別では領家帯(花こう岩類, 和泉層群), 四万十帯に分布しているが, 三波川帯, 秩父累帯には掘削されていない<sup>1)</sup>。

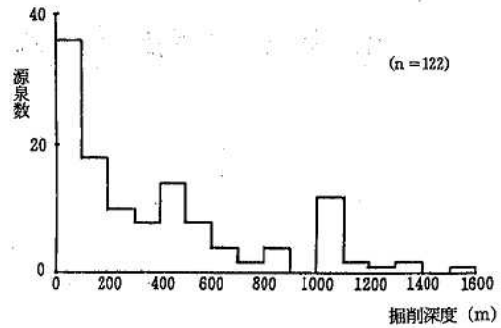


図1 主要源泉の掘削深度

表1 1000m以上掘削した源泉の概要

No.	地質帯	泉温 (°C)	深度 (m)	湧出量 (ℓ/min)	pH	ラドン (M・E/kg)	蒸発残留物 (g/kg)	泉質
1	R	22.2	1000	16.9	8.2	12.79	1.212	含放射線Ca・Na-Cl冷鉱泉
2	R	33.3	1000	292.4	10.0	4.32	0.1534	アルカリ性単純温泉
3	R	31.8	1000	300.0	7.5	1.18	18.08	Ca・Na-Cl温泉
4	R	30.5	1000	84.3	9.9	1.54	0.1578	アルカリ性単純温泉
5	R	29.4	1000	229.0	9.5	5.89	0.1185	アルカリ性単純温泉
6	R	24.8	1105	-	9.2	0.4	0.318	(低張性アルカリ性冷鉱泉)
7	I	37.4	1000	102.0	7.3	5.5	3.177	Na-Cl温泉
8	I	32.6	1150	186.6	8.6	15.3	0.5517	アルカリ性単純温泉
9	R	54.2	1000	175.0	9.2	15.6	0.248	アルカリ性単純弱放射能温泉
10	I	39.8	1000	351.9	8.9	1.71	0.4298	アルカリ性単純温泉
11	I	29.4	1010	40.0	8.5	こん跡	5.707	Na-Cl・HCO <sub>3</sub> 温泉
12	I	38.3	1000	401.6	8.1	1.32	0.7756	Na-HCO <sub>3</sub> 温泉
13	I	31.2	1000	74.1	8.4	0.99	1.644	Na-HCO <sub>3</sub> 温泉
14	I	29.7	1000	88.2	8.8	2.23	0.6603	アルカリ性単純温泉
15	S	32.7	1200	161.5	9.0	0.50	0.4410	アルカリ性単純温泉
16	S	37.8	1300	34.6	8.0	検出せず	3.408	Na-Cl・HCO <sub>3</sub> 温泉
17	S	29.8	1300	41.2	8.7	0.81	0.3946	アルカリ性単純温泉
18	S	40.6	1500	93.5	8.0	0.17	2.140	Na-Cl・HCO <sub>3</sub> 温泉

( ) は分類名

表2 1000m以上掘削した源泉の主要化学成分

単位: mg/kg

No.	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	F <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	H <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	HBO <sub>2</sub>
1	182.3	1.9	1.3	224.1	3.4	604.4	32.6	90.0	1.1	28.2	<0.1
2	57.3	0.3	<0.1	2.0	14.2	3.3	<0.1	29.5	22.3	54.4	1.1
3	3186	19.0	55.5	3385	0.5	10370	908.0	27.8	<0.1	18.8	1.4
4	57.8	0.4	<0.1	1.9	15.3	8.5	3.3	34.4	18.4	37.8	4.0
5	35.5	0.3	<0.1	5.8	8.1	7.8	4.3	40.1	8.8	32.9	1.1
6	117.5	1.4	0.2	2.4	21.4	22.7	13.4	167.1	9.8	49.1	7.7
7	951.2	14.2	50.9	144.0	6.0	1773	<0.1	209.0	0.3	42.4	31.4
8	201.9	2.3	3.0	8.8	17.9	178.1	<0.1	203.1	6.7	30.1	14.9
9	85.0	1.3	0.6	1.8	17.2	42.8	<0.1	73.0	9.7	59.4	6.1
10	157.4	0.9	0.6	1.4	11.5	116.9	1.5	166.7	11.0	33.6	12.9
11	2217	26.2	8.8	16.2	4.0	2495	<0.1	1457	122.4	39.0	52.0
12	313.1	2.1	2.3	5.2	0.6	75.2	<0.1	708.2	6.0	27.6	7.7
13	645.3	7.6	0.2	2.9	7.5	14.5	6.2	1700	30.2	24.9	28.8
14	272.5	1.1	0.4	1.4	1.2	10.7	<0.1	642.3	29.3	16.9	6.7
15	175.4	2.5	<0.1	0.9	0.5	7.8	<0.1	395.6	32.1	26.0	4.3
16	1320	16.7	4.6	11.3	3.3	1534	<0.1	973.6	7.4	24.2	45.9
17	91.2	1.0	1.2	43.8	3.8	172.7	<0.1	65.6	2.2	35.6	6.3
18	860.0	12.3	1.1	2.5	7.1	145.6	3.3	2053	15.9	32.3	66.9

### 3 源泉の泉質特性

掘削深度1000m以上の18源泉について、その概要を表1及び表2に示した。

#### (1) 泉温

1000 m 以上深層掘削された18源泉のうち、16源泉 (88.9%) で泉温25℃以上を有し、このうち6源泉 (33.3%) で34℃以上の泉温を有する源泉であった。

四万十帯では1000 m 以上の深層掘削により同地質帯ではじめて泉温25℃以上を有する源泉が開発された。

愛媛県では25℃以上の泉温を有する源泉は、1992年までは松山市の道後地区を中心とする領家帯の花こう岩類及び和泉層群の地域のみであった。県内の主要源泉122源泉の泉温は表3に示すとおりで、78 源泉 (63.9%) が冷鉱泉で、泉温25℃以上の源泉は42源泉 (36.1%) にすぎない。

通常、地中温度は恒温層よりも深くなると上昇する。地下増温率は30~35m/℃とされており<sup>2)</sup>深層掘削によって、地温の上昇に伴う熱量の増加が泉温の上昇に寄与していると考えられる。

四万十帯では1000 m 以上の深層掘削した源泉ではじめて泉温25℃以上の温泉水を確保したことから、現在四万十帯で湧出している18源泉について掘削深度と泉温との関係を見ると、 $[Y= 15.9 + 0.013X, r=0.8555]$  (n=18) となり、深層掘削により地温の上昇に伴う熱量の増加が泉温の上昇に寄与していることが推測される (図3)。

また、県内の100 m 以上掘削した源泉について掘削深度と泉温の関係を見ると  $[Y= 19.3 + 0.012X, r=0.5415]$  (n=38) となり、四万十帯と同様に地温の上昇に伴う熱量の増加が泉温の上昇に寄与していることが推測される。

#### (2) 湧出量

18源泉いずれも動力装置による揚湯であり、平均湧出量は157 l/min (17源泉平均) で、1994年3月末現在の動力装置による湧出量131 l/min (n=91)<sup>3)</sup>を上回っている。しかし、各源泉により湧出量は異なるので源泉ごとに適正採取量を検討する必要がある。

#### (3) 成分

F<sup>-</sup>は温泉法上の該当成分のうち、もっとも多く源泉で該当した。14源泉で限界値以上含有し、18源泉平均  $8.0 \pm 6.5 \text{ mg/kg}$  であった。領家帯 (花こう岩類、和泉層群) では深層掘削された源泉 (n=14) 平均が  $9.2 \pm 6.8 \text{ mg/kg}$ 、とくに領家帯花こう岩類からの源泉 (n=7) 平均が  $11.4 \pm 7.1 \text{ mg/kg}$  と高濃度に含有していた。領家帯花こう岩類から湧出するNo. 6は県下の源泉中最高値 ( $21.4 \text{ mg/kg}$ ) を示した。F<sup>-</sup>は領家帯や和泉層群に分布する源泉に高濃度に含有される ( $8.9 \pm 5.6 \text{ mg/kg}$ , n=55)<sup>4)</sup>が、同様の傾向であった。F<sup>-</sup>の起源の一つとして領家花こう岩の

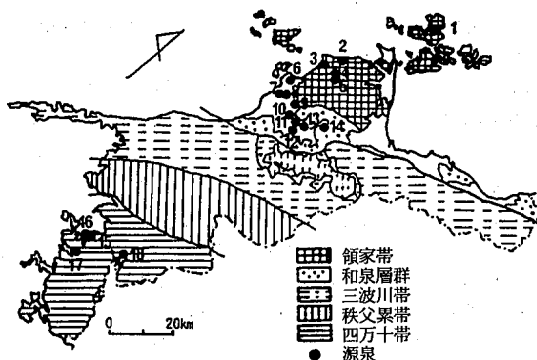


図2 愛媛県の地質及び掘削深度1000m以上の源泉

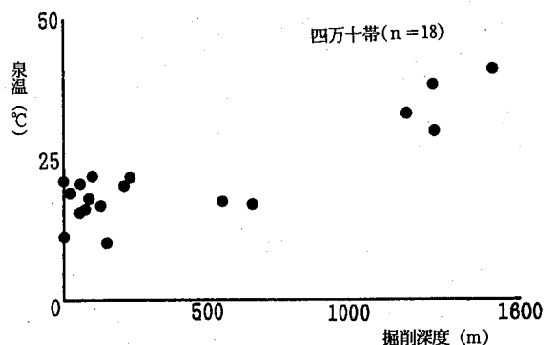


図3 掘削深度と泉温

表3 主要源泉の掘削深度と泉温

掘削深度 (m)	源泉数	泉温平均 (°C)
<100	36	16.7
100 ≤ <500	50	25.9
500 ≤ <1000	18	29.3
1000 ≤	18	33.6
計	122	24.9

主要岩石である花こうせん緑岩中の黒雲母からの溶出が考えられており<sup>5)</sup>深層の温泉水(地下水)と花こう岩が長時間接触することによってF<sup>-</sup>が溶出してくると考えられる。

HBO<sub>2</sub>(メタホウ酸)は12源泉で限界値以上含有し18源泉の平均は17.6±19.6mg/kgであった。地質帯別にみると領家帯(花こう岩類, 和泉層群)(n=14)が平均13.5±14.5mg/kgで既報の6.6±10.0mg/kg(n=55)<sup>4)</sup>と同様高濃度に含有していた。とくに和泉層群地域(n=7)で平均22.1±15.1mg/kgと高濃度に含有していた。

四万十帯(n=4)では平均30.9±26.6mg/kgと高濃度に含有し、既報の6.1±8.1mg/kg(n=11)<sup>4)</sup>に比べ高濃度であった。また、同地質帯の源泉は温泉に該当する項目が少ないが<sup>4)</sup>、深層掘削された源泉についてはHBO<sub>2</sub>のみで温泉に該当する源泉はなかった。

ラドン(Rn)は5源泉で限界値以上含有し、そのうち3源泉で療養泉の基準以上含有し放射能泉に分類された。しかし領家帯(花こう岩類, 和泉層群)に深層掘削された源泉は5.29±5.37M·E/kgで同地質帯の6.7±10.8M·E/kg(n=55)<sup>4)</sup>に比べて低濃度であった。深層掘削された源泉はすべて動力装置(主に水中モーターポンプ式)による揚湯であるがラドンが気体成分であるため、揚湯途中で減少すると考えられる<sup>6)</sup>。

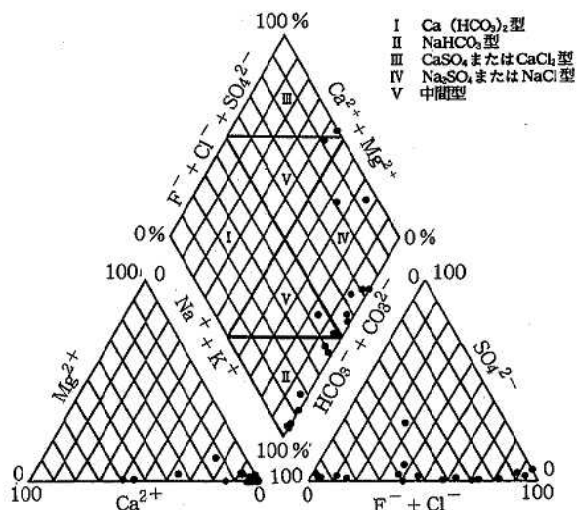


図5 主要化学成分のハイパーダイアグラム

表4 1000m以上掘削した源泉の微量元素量

単位: mg/kg

No.	T-As	Cu <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	T-Hg
1	<0.005	0.025	<0.001	<0.0005
2	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
3	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
4	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
5	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
6	<0.005	0.008	<0.001	<0.0005
7	<0.005	0.013	0.008	<0.0005
8	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
9	0.007	<0.002	<0.001	<0.0005
10	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
11	-	-	-	-
12	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
13	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
14	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
15	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
16	<0.005	0.006	<0.001	<0.0005
17	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
18	<0.005	<0.002	<0.001	<0.0005
温泉飲用基準 (mg/day)	0.3	2.0	0.2	0.002
水道基準 (mg/2ℓ/day)	0.02	2.0	0.1	0.001

#### (4) 泉質

18源泉のうち17源泉が療養泉であった。

9源泉がアルカリ性単純温泉で、このうち2源泉がラドンを療養泉の基準以上含有するアルカリ性単純弱放射能温泉に分類された。9源泉の蒸発残留物量は0.3506±0.1840g/kgであり、地質帯別では、領家花こう岩類の源泉(n=4)で0.1694±0.0479g/kg、和泉層群(n=3)で0.5473±0.0942g/kg、四万十帯(n=2)で0.4178±0.0232g/kgで領家花こう岩類からの単純温泉は溶存物質が少ない。また、同地域の7源泉のうち単純温泉4源泉を含む5源泉のpH値が9以上で、領家帯源泉の8.6±0.7(n=55)<sup>4)</sup>よりも高値を示した。浴用、飲用利用時の人体への影響に留意する必要があると思われる。

一方、溶存物質を1g/kg以上含有する温泉は塩類泉に分類されるが、18源泉のうち8源泉が塩類泉に分類された。地質帯別の分布は領家帯に1源泉、和泉層群に5源泉、四万十帯に2源泉であった。

泉質タイプをみると、Na-HCO<sub>3</sub>泉が3源泉、Ca·Na-Cl泉が2源泉、Na-Cl·HCO<sub>3</sub>泉が2源泉、Na-Cl泉が1源泉であった。地質に由来する泉質タイプの偏りは認められなかった。

次に18源泉の主要化学成分の割合を、図4のレーダーチャートに示した。

陽イオンについてはNa<sup>+</sup>を主要成分とする源泉が16源泉、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>を主要成分とする源泉が2源泉であった。

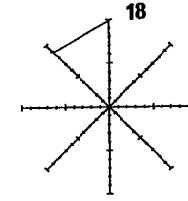
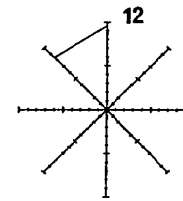
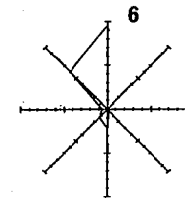
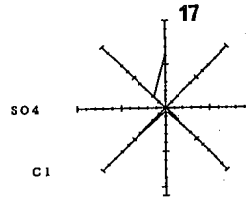
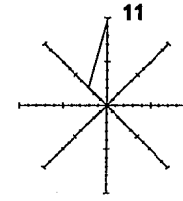
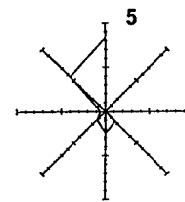
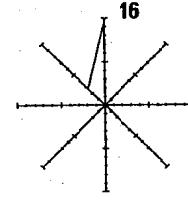
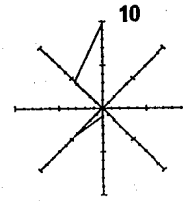
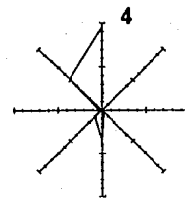
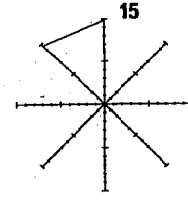
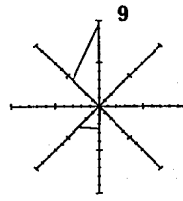
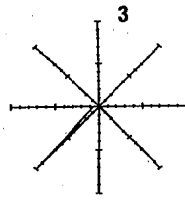
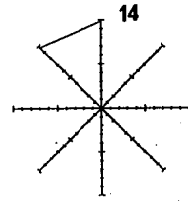
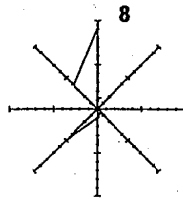
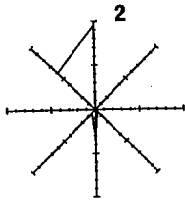
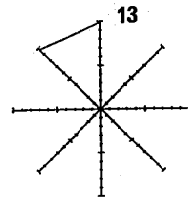
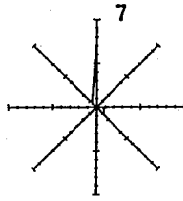
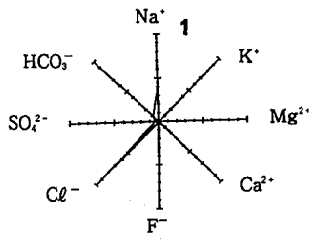


図4 主要化学成分のレーダーチャート

0 100  
(mval%)



地中で地層成分と地下水（温泉水）間の塩基交換反応が進行し、 $\text{Ca}^{2+}$ や $\text{Mg}^{2+}$ が $\text{Na}^+$ に交換された<sup>7)</sup>と考えられる。

陰イオンについては $\text{HCO}_3^-$ が大部分の源泉で主要成分を占めている。これは地下水（温泉水）の流動または停滞に伴って $\text{HCO}_3^-$ や $\text{CO}_3^{2-}$ が増加し溶出反応が進行した<sup>7)</sup>と推測される。 $\text{Cl}^-$ を主要成分とする源泉が2源泉（No. 1, No. 3）あるが、いずれの源泉も $\text{Br}^-$ を含有し、 $\text{Br}^-/\text{Cl}^-$ 重量比はそれぞれ0.0030と0.0031で海水の0.0034<sup>8)</sup>に近い値を示すことから海水の影響を受けていると考えられる。また領家帯（花こう岩類、和泉層群）に分布する単純温泉は $\text{F}^-$ の占める割合が高い源泉がみられる。

主要成分をハイパーダイアグラム<sup>8)</sup>に表して組成分類したのが図5である。停滞地下水型から海水または海水混入型の源泉が多い。

#### (5) 飲用利用基準の検討

温泉水の利用形態のひとつとして飲用利用が考えられる。温泉水を飲用する際、各成分の摂取量について留意する必要がある。そこで飲用利用基準のうち金属4成分について検討した。その結果を表4に示した。すべての源泉で2ℓ飲用しても飲用利用基準を超える源泉はなかった。さらに平成4年12月に改正された水道法の水質基準をもとに算出した量を超える源泉もなかった。

飲用利用基準には $\text{F}^-$ の一日最大摂取量1.6mgが示されており、18源泉のうち16源泉で2ℓ摂取した場合飲用基準値を超えることになり、また、 $\text{HBO}_2$ については平成4年12月に改正された水道法の水質基準のうち新たに監視項目に0.2mgB/l以下という基準が定められ、18源泉のうち17源泉で2ℓ摂取した場合この基準値を超えることになるので源泉ごとに最大摂取量を規定して飲用する必要がある。

#### ま と め

1000m以上深層掘削された18源泉は領家帯花こう岩類地域、和泉層群及び四万十帯に分布している。その泉質特性は以下のとおりであった。

1 18源泉のうち16源泉が泉温 $25^\circ\text{C}$ 以上を有する源泉であった。四万十帯の4源泉は同地質帯ではじめて泉温 $25^\circ\text{C}$ 以上を有する源泉であり、深層掘削により高い泉温を確保していると考えられる。

2 領家帯花こう岩類地域に湧出する源泉は $\text{F}^-$ を高濃度に含有し溶存物質量が少ない単純温泉が多く、四万十帯に湧出する源泉は $\text{HBO}_2$ を高濃度に含有しており、いずれも既存の源泉と同様な傾向であった。

3 主要化学成分は $\text{Na}^+$ と $\text{HCO}_3^-$ であり、温泉水（地下水）の流動または停滞に伴い、塩基交換反応や溶出反応が進行したためと考えられる。

4 飲用利用については、既存の源泉に比較して $\text{F}^-$ や $\text{HBO}_2$ を高濃度に含有する源泉が多いため、源泉ごとに摂取量を検討する必要がある。

#### 文 献

- 1) 桃井齋他：愛媛県地質図，トモエヤ商事(1991)
- 2) 湯原浩三他：温泉学，97，地人書館(1972)
- 3) 中野安則：温泉科学，44，112～116(1994)
- 4) 井上智他：愛媛衛研年報，49，53～56(1988)
- 5) 武智拓郎他：愛媛衛研年報，42，27～30(1981)
- 6) 真木強他：愛媛衛研年報，35，49～56(1973)
- 7) 酒井軍次郎：地下水学，354～362，朝倉書店(1974)
- 8) 山本荘毅：新版地下水調査法，368～381，古今書院(1983)