

張した装置と考えてよい。生理活性成分、医薬品、環境汚染物質等複雑なマトリックス中に微量に存在する目的化合物を、妨害成分（ケミカルノイズ）を除去し選択的に検出しその構造解析や定量を行うことが出来る。タンパク質・ペプチド等のアミノ酸配列決定にも大きな役割を果たすことができ、pmol レベルの試料量で解析可能である。LC/MS/MS 法であれば酵素消化した混合ペプチドであってもそのまま構造解析を行うことが可能となる。

#### 実習

千葉大学大学院医学研究院には研修用に活用できる LC が無かったので、当所の LC システムをテロ対策室に設置し LC と MS/MS について希望者による技術研修を実施した。

しかし、研究スタッフの業績評価は専門誌掲載論文で行われることから、大学の研究課題に適合させた TOF/MS の機器システム構成が優先されることとなった。TOF/MS は、質量分解能では磁場型に劣るが、原理的に測定質量範囲に上限がなく、分子量数万～十数万のタンパク質のような高分子を測定することができる。一般的に装置がコンパクトで、操作や保守も簡単であり測定時間も短く多数の試料を容易に処理することが可能である。発生したイオンのほとんどが検出器に到達するため感度も高く微量分析に適している。また、ゲルパーミエーションクロマトグラフなど高分子の分子量を測定する他の方法と比べて質量精度が格段に高い。用途は、高分子の質量を高感度で精度良く測定できるため、タンパク質など生体高分子の測定に多用されている。また、ポリマーの分子量および分子量分布の測定にも用いられる。分析に供される試料分子は、イオン化されてそのままの質量でイオンとなるのみならず、イオン化の際の余剰のエネルギーによって分子内の結合が切れて開裂する。開裂によって生成するイオンは、開裂の位置を示唆し、分子構造に関する情報を与える。また天然に存在する同位体元素の存在比もそのイオン強度の比としてあらわれる。これら分子のイオン、開裂イオン、同位体イオンの作るスペクトルのパターンは、試料によって異なり、定性分析の重要なデータとなるとともに、その構造に関する多くの情報を含んでいる。コンピュータの利用技術の進歩は、質量分析装置においても、その膨大なデータの迅速な処理を可能にした。このデータ処理は、既測定データベースから試料スペクトルと類似のスペクトルを選択して同定を行うデータ検索等を可能とした。

難点は、市販のマススペクトルのライブラリーが未整備で、自所で構築することが前提となり、膨大な作業時間が必要となる。

技術的な相互連携は立ち上げられたが、当初の

高精度化学物質分析に変えて毒素やリシンなどのタンパク質を主体とする生体構成成分の定性・定量分析が採択され、検出解析用に TOF/MS 専用ソフトウェアが搭載された。更にテロ対策として、強毒性農薬などの高沸点化学物質の微量分析に対応可能なシステム整備を急ぐこととなった。

この連携（別図）の中で、平成 15 年度には、大学病院に入院した被災者の発症原因の解明に、できるだけ多くの機関連携体制を構築し相互支援を重ね、また、定期的な危機事例対応シミュレーションの実施、合同企画によるテロ専門家やサリン事件究明経験者らの専門研修を行うことが方針決定されている。

#### ケース 2 杏林大学救命救急部（救命救急センター）との連携

平成 6 年に千葉市保健所実習に参加した医学生が千葉市環境保健研究所の講義と実務見学の臨場実習に来所したことがあった。その後、平成 13 年 4 月にその臨場実習参加者の一人 A 医師から当所に電話が入った。A 医師は杏林大学の救命救急センターに配属されていた。

その当時、杏林大学が東京都地域健康危機緊急対応施設に指定され、緊急用の高精度分析機器が設置されていた。当初は分析研修・緊急事態対応の度に法医学講座スタッフの支援を受けていたが、円滑な対応が困難であった。そこで、是非、技術研修と今後の連携を願いたいとの A 医師の強い希望に基づく救命救急センター長からの依頼となった。当所では文書による依頼を受けて、分析技術については平成 13 年 10 月から月 2 回の来所研修を開始し、平成 14 年 7 月に講義と緊急分析実習は終了した。その後、当初の職員 3 名を救命救急センターへ派遣し GCMS、LCMS、ICP などの高精度分析機器のセットアップを行い、現場での緊急対応を 3 回実施し、実用化を図った。

現在は技術的相互支援体制の経常的運営を具体化するための制度化について双方で継続して検討を行っている。

#### ケース 3 千葉県警察本部刑事部科学捜査研究所との連携

ニューヨークの白い粉に始まった炭疽菌騒動は国内でも模倣犯が多数出現し、全国で 1000 を越える検体が所轄の警察鑑識や科学捜査研究所（科捜研）から地方衛生研究所に検査依頼された。科捜研には微生物部門が無いことから、警察庁か

ら厚生労働省に緊急依頼があり、所管部門を通じて文書通知がなされるほどの緊急かつ必然の成り行きであった。

当所も17事例・23検体の検査依頼を千葉県警から受けた。全例が陰性であった。この検査依頼は、当初、刑事部所管部門からの、捜査上の部外秘を根拠にした高圧的な言動による電話連絡で一方的に始まった。その依頼のやり方はとても行政管轄の異なる部門間の事務連絡では無く、一方的、強圧的であったことで、多くの研究機関で物議を醸していた。しかし、国の主管部門間で調整がなされたことや、当所の検査依頼の3回目ほどから担当者が会話を交わすなど親交が増し相互信頼が持たれるようになって、実質的・円滑な結果報告が行政事務システムを介してなされるようになっていった。

現在では相互連携の先鞭として管理職による相互研修も開始され、犯行に使われる毒物の分析についてと題した専門職技術研修を開催した。この連携の中で大変参考になることが修得できた。警察業務では、出先現場での随時の意思決定と、迅速な復唱連絡が行われており、本件依頼側の事務処理を性格・円滑にしていることが判明した。当所では、緊急事例の事実確認と記録・報告・協議、経過の把握、事務処理など、ワンステップ確認と報告を試行し、緊急業務に活用している。

#### ケース4 行政・近隣公立研究所等との連携

千葉県衛生研究所、東京都立衛生研究所、同環境科学研究所、横浜市環境科学研究所、埼玉県衛生研究所など、移動に数時間以内の近隣の機関と試験検査分析の技術的支援連携を強化し、職員の相互派遣研修、発生した危機事例対応の研究結果報告の相互提供を実施した。また、緊急時の支援体制として試験検査分析の共同・分担実施の検討を行い、更に後方支援体制についても協議を開始した。

公立研究機関等の連携において解決すべき課題は、自所事務分掌記載事項以外の業務の決裁方法と協議規定の作成、実施マネジメントの標準化、導入による円滑化、結果の報告と集積、発信周知方法の開発導入であった。所管以外の緊急事業に本庁が決裁できるような実施方法の取り決めは、どの地研にも必須でありながら未規定である。予算の執行についても依頼文書の標準化と受入決裁方法の規定が求められており、依頼文書の標準化案を作成し導入した。

一例では、土壤汚染重金属分析・大規模浴場販売食品の細菌検査・施設内集団感染ウイルス検査・動物管理施設内複数突然死事例の微生物検査・浴場水細菌検査など、行政部門や他地研から

の緊急依頼に迅速対応し、原因解析に迅速にも貢献した。(炭疽菌等依頼文書呈示)

#### ケース5 臨床検査所との連携

健康危機発生時に増大する大量の検体を迅速・円滑に検査分析するためには、受入主体となる地研と即時連携可能な民間検査所のネットワーク化が必要で有ることが、堺市保健所所管の大規模0157集団発生事例で堺市衛生研究所が対応した時から指摘されていた。当時は17万件余の検体が継続的に到来したため、その大半を臨床検査所に依頼し検査を実施し対応し、担当職員は検査以外の業務でも多忙を極めていた。

そこで、本年度は、危機発生時の緊急対応として、小規模発生100名・中規模300名・大規模1000名以上に区分して、当所と近接5民間検査所との連携体制を詳細に検討し、検査ネットワークを構築した。この連携では、日常の検査業務を行う中で、検査項目、医薬材料の在庫、検査方法の情報交換、職員の相互派遣研修、文書規定の整備・標準化など、連携の円滑化、迅速対応・事務処理要領を試作し、危機発生時の所内総合マネージメントに活用することを検討している。

#### ケース6 健康危機管理広域連携の模索

平成6年6月27日の深夜、長野県松本市で原因不明の健康被害多発事件が発生した。7月4日に原因物質がサリンであることが判明したが、7名の死亡を含む593名が発症した大惨事となった。

このときに信州大学医学部衛生学講座の助教授で在職し、疫学的な調査を企画、実施、報告した那須民江先生(現：名古屋大学大学院教授)に当時の詳細な状況と疫学調査報告を専門研修会で解説していただいた。

事件発生現場において警察、消防、保健所、県公害研究所などのそれぞれの所管業務で交錯し、加えて、原因の特定に時間を要したため世情の不安の解消が遅延した。地方都市で発生した未曾有の猛毒化学物質散布事件は、地域の健康危機管理に強い警鐘を鳴らし、地域内連携のみならず諸分野での広域連携の必要性をも強く求めていた。地方衛生研究所が分担する化学分析や医学的検索にも近隣機関と日常連携が必要であるとの示唆も提示されていた。

科学と宗教が関係したこの事件はかなり特殊な事例として、むしろほとんど発生しない事例として処理されようとしていたが、那須先生は疫学的な調査とそのまとめを強く提言し、松本市社会部長、市民健康課長、保健所長、信州大学医学部

長，付属病院長，県医師会長ら参画する健康調査委員会や病院・医院連絡検討会が設置され，行政主導の5年間の健康調査と被災者のアンケート調査が行われた。これらの総合的なまとめとして那須先生の主導で松本サリン事件報告書が上程された。

その後，東京で科学者による松本サリン事件の詳細な報告会が関係者限定で開催された。その席に科学捜査研究所の職員が参加しており，警察科学捜査部門にその情報がもたらされていた。その翌年3月20日には東京地下鉄サリン事件が発生し5000人余が被災した。このとき，先の会議での情報入手が科学捜査部門には有効に寄与したと思慮されると，那須先生は報告した。

地研が地域の科学的・技術的中核として機能する一端である地域内連携はこのサリン事件で具体化が著しく進展したが，警察，消防，医療機関，研究機関相互の日常の連携が礎（いしずえ）であることの重要性が改めて提起され，本研究の基本的課題であることも銘記されねばならない。

## ケース6 連携機関相互支援ネットワーク

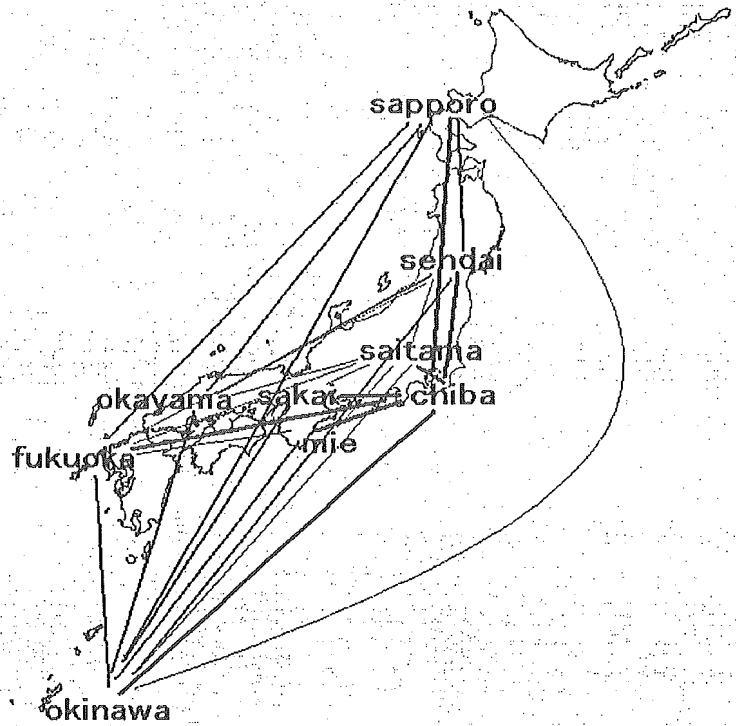
健康危機が広域発生した場合の連携強化策として，近隣地研、国の研究機関、医療機関、臨床検査所などを網羅する総合支援ネットワーク構築の検討を行い、実用化に向けた課題の抽出と解決方法の創出を開始した。具体的な検討課題は、迅速検査・分析の機器整備で、躍進する機能の高度化に役割分担をわきまえた対応が強く求められている。また、迅速・円滑な危機対応の実施には、法規定、事務分掌などの見直し、再編、融合化による地域内連携の制度化についても早急に結論を出す必要がある。

# 健康危機対応地域連携の構築

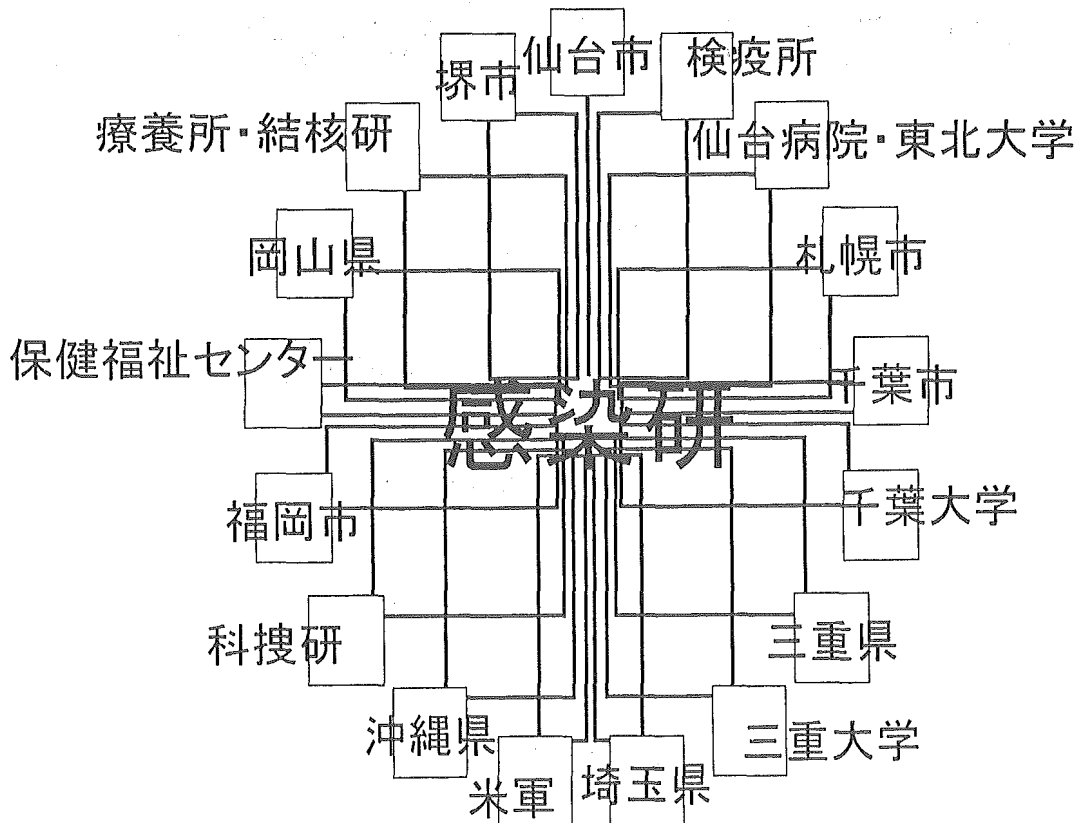
国土地理院承認 平13経研 第357号

[ 相互連携体制 ]

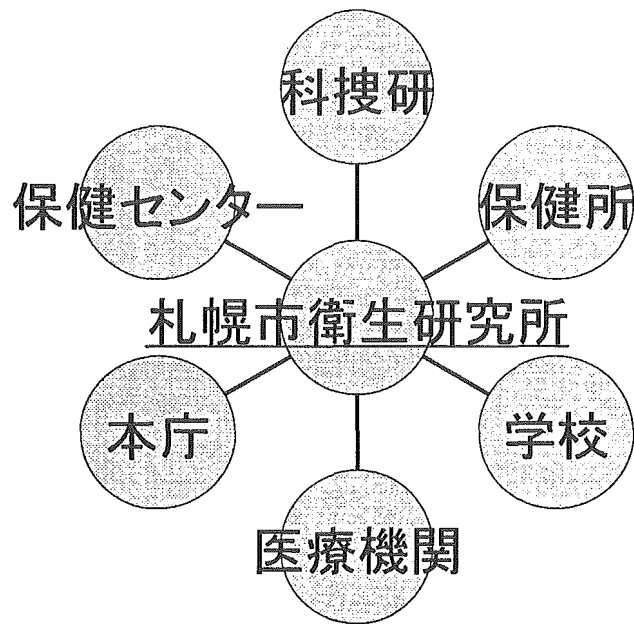
- 札幌市衛生研究所
- 仙台市衛生研究所
- 埼玉県衛生研究所
- 千葉市環境保健研究所
- 三重県科学技術振興センター
- 保健環境研究部
- 堺市衛生研究所
- 岡山県環境保健センター
- 福岡市保健環境研究所
- 沖縄県衛生環境研究所



## 連携モデル案 感染症

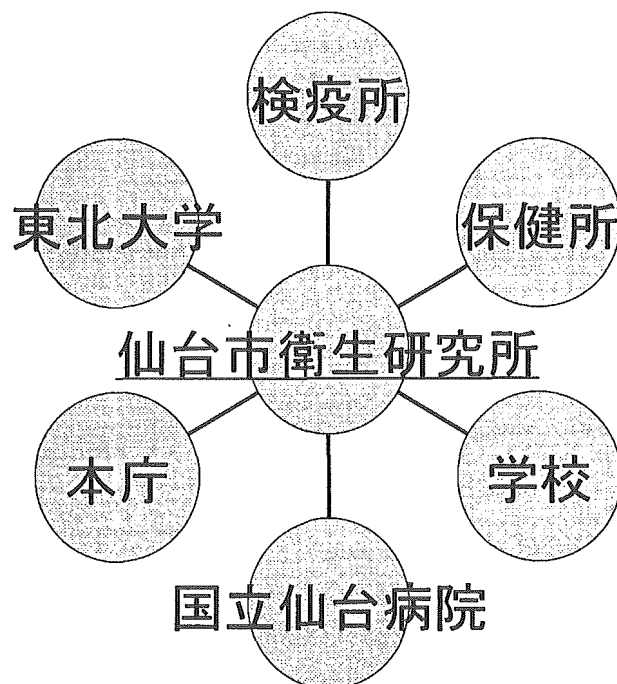


# 健康危機対応地域連携の構築 札幌市

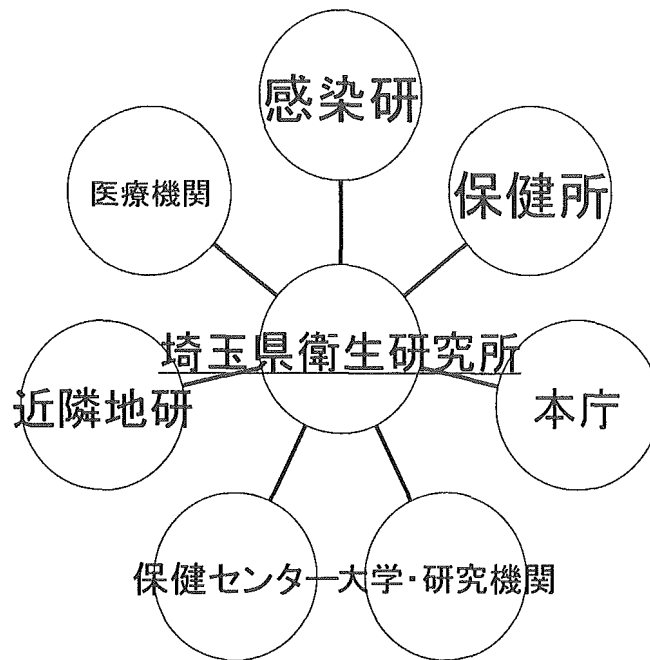


1

# 健康危機対応地域連携の構築 仙台市

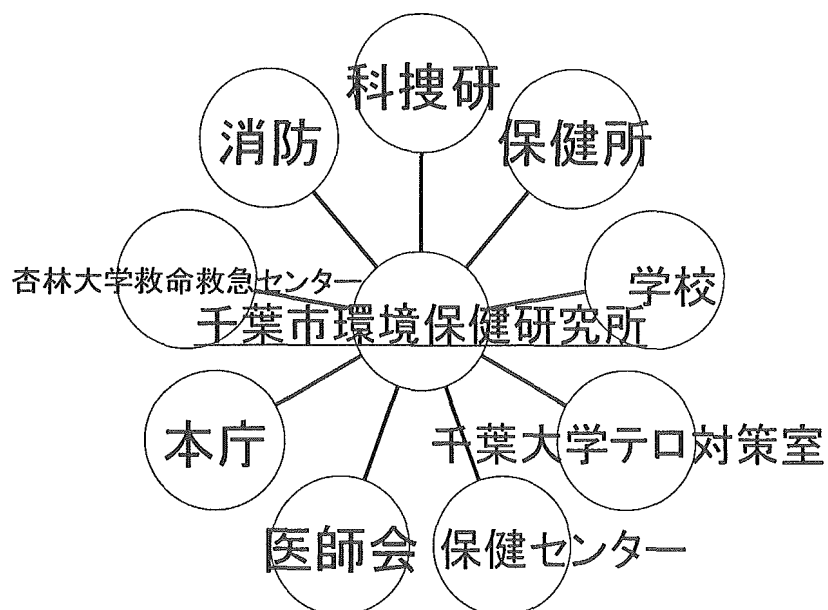


# 健康危機対応地域連携の構築 埼玉県



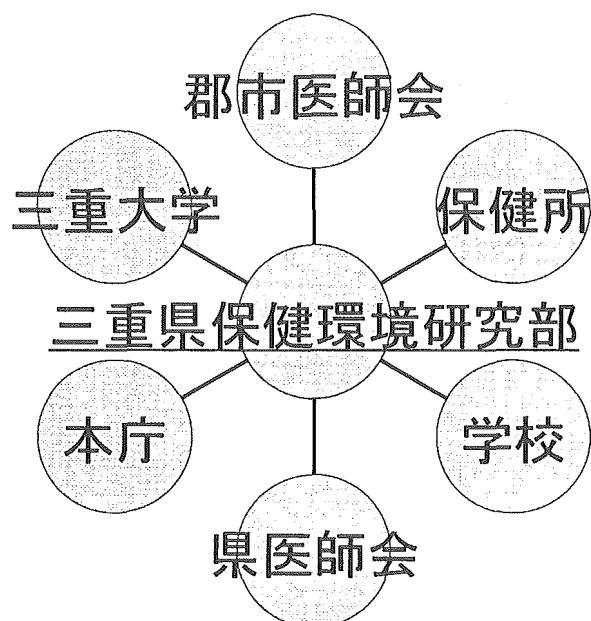
3

# 健康危機対応地域連携の構築 千葉市



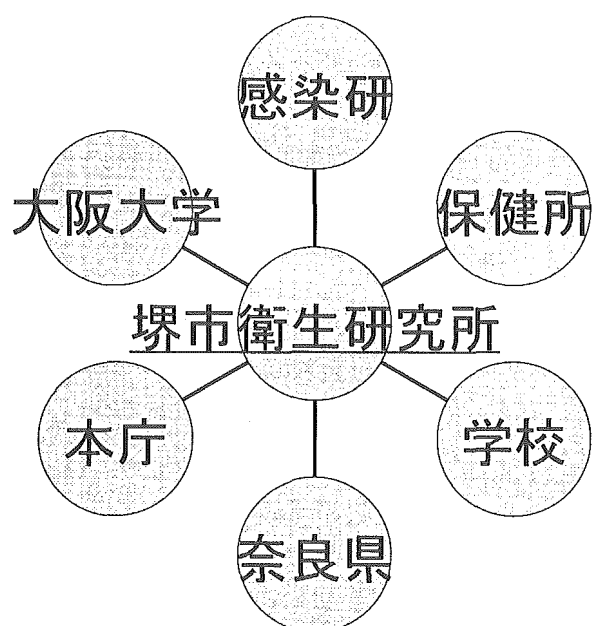
4

## 健康危機対応地域連携の構築 三重県



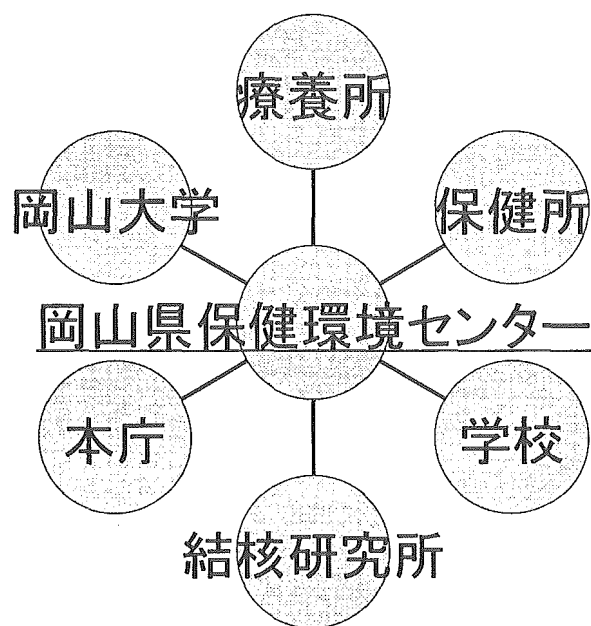
5

## 健康危機対応地域連携の構築 堺市

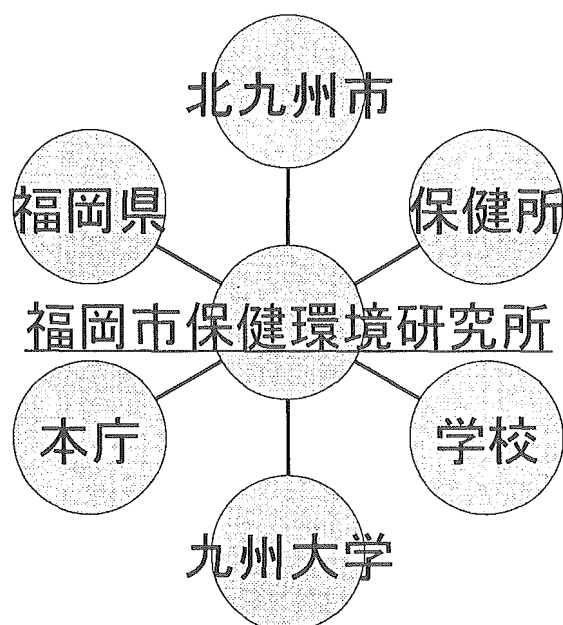


6

## 健康危機対応地域連携の構築 岡山県



## 健康危機対応地域連携の構築 福岡市





## 課題 13

健康危機管理のための地域での連携体制の構築に関する研究

# レジオネラ属菌による健康危機発生事例の解析

分担研究者 大道 正義（千葉市環境保健研究所）

研究協力者 石川 允朗（千葉市環境保健研究所）

秋元 徹（千葉市環境保健研究所）

研究要旨 浴場等のレジオネラ属菌汚染による発症者や死者が全国各地で報告され社会問題となっており、全国の浴場、温泉等の衛生管理の改善が強く求められている。

本研究では、

- I レジオネラ属菌を原因とする健康危機発生時の現場管理対策について、事案発生地での聞き取りによる実態把握と地域における健康危機対応連携体制の構築についての検討及び課題の抽出
- II 直近で探知された小規模浴場のレジオネラ属菌汚染について、地域内連携の構築と汚染予防対策

について検討した。

## I レジオネラ属菌感染症大規模発生事例

### A 研究目的

平成14年、宮崎県日向市の温泉施設(以下A施設)においてレジオネラ属菌を原因とする大規模健康被害が発生した。この健康危機発生対応事例について時系列的に検証・解析を行う。

また、保健所、県本庁、警察署等の関係機関と地域における連携体制の在り方についても検討する。

### B 研究方法

発生地の宮崎県衛生環境研究所と日向市の主管部局を訪ね、聞き取り調査を行い、実態把握に努めた。

平成14年6月20日に竣工式、仮オープンとなったA施設について、時系列的に利用者数、

患者数(死者数含む)、保健所と衛生研究所との検査連携、行政対応等内容を調査した。検査担当部門の宮崎県衛生環境研究所と行政所管部門の日向市商業観光課から、A施設の施設概要、発生概要、汚染原因等調査、衛生指導と患者等の行政対応、再発防止対策と施設管理マニュアル等について聞き取り調査を行った。

### C 結果

#### 1 A施設の概要

- (1)構造 鉄筋コンクリート3階建
- (2)延床面積 1,980.15㎡
- (3)浴場数 循環式浴槽 12ヶ所  
(大浴場2ヶ所を含む)
- (4)工期 平成13年1月15日～  
平成14年3月29日
- (5)総工事費 1,320,000千円

## 2 保健所と衛生環境研究所の連携

最初の探知は、7月18日、医療機関からA施設の利用者がレジオネラ感染症の疑いで日向保健所へ4類感染症として届出があった。届け出以降の対応では、保健所は直ちに対策会議を設置、19日には施設の立ち入り検査、検体採取を実施し、衛生環境研究所が採取された浴槽水の微生物検査を開始した。この時点で、衛生環境研究所に十分な培地が無く、検査担当職員が不足するので、培地の調達、職員の応援を他保健所から求めた。

25日には、患者喀痰及び浴槽水から、レジオネラ *Legionera pneumophila* 血清群 SG1 を検出し、分離培養された菌について、パルスフィールド電気泳動法による遺伝子多型解析を実施して両者が同一菌株であることを確認した。これ結果より、宮崎県は事件内容、施設名の公表、医療機関への通知、利用者等への周知を図った。

保健所の対応では、県内各保健所に相談窓口を設置して利用者等の対応を組織化し、入院患者からの調査も実施した。

衛生環境研究所は、レジオネラ属菌の検出及び原因の特定を分担し、特に迅速な遺伝子解析を行い、検査結果を保健所へ報告した。

29日には遺伝子パターン的一致が確認したことにより、日向保健所は7月30日付けでA施設に対して60日間の営業停止処分を行った。

## 3 施設の利用状況と行政対応について

A施設は6月20日から体験入浴を開始し、7月1日から営業を開始した。平日は平均900人が利用し、土・日曜日には約1,500人~2,000人の利用があり、約1ヶ月間(営業日数22日間)に2万人の施設利用者があった。

7月15日に施設の利用者に1人目の死者が出ていた。しかし、18日に医療機関から「感染症

新法」による患者の届出があるまで、保健所、A施設共に、この間の全てのレジオネラ感染情報を把握していなかった。また、保健所は指導等も実施していない。急遽、保健所は19日にA施設へ最初の立ち入り検査を実施し、施設監視、検体採取をおこなった。

その後、26日に宮崎県は福祉保健部長を本部長とする対策本部を設置した。27日に日向市は市長を本部長、助役を副本部長、補償対応を配慮して収入役を含む対策本部を設置した。30日に保健所は60日間の営業停止処分をおこなった(7月30日~9月27日)。同日、日向警察署はA施設を業務上過失傷害の疑いで立ち入り規制し捜査を開始、A施設と日向市役所の家宅捜査を行った。9月2日から日向市は対策本部を対応窓口として患者、死者等への補償の申請受付を開始した。26日には保健所が営業停止の期間延長の措置(7月30日~11月26日)、11月25日に営業停止の期間再延長の措置を行った(平成15年1月25日)。更に、平成15年1月22日に保健所は営業停止の期間再々延長の措置を行う(平成15年3月26日)。6月20日の体験入浴から、7月24日の営業中止までの期間(営業日数22日間)における利用者数は19,773人となり、患者は295人(死者含む)、死者は7人であった。また、A施設利用者のうち補償対象者は1,319人であった。平成15年1月31日に日向市長は日向保健所長に対しA施設の改善計画書を提出した。

## 4 対策本部

宮崎県、日向市は7月26日、27日に各対策本部を設置し、施設の利用者、患者、死者等の相談、補償等の対応、マスコミへの情報公開、再発防止策等を公表した。8月12日から、宮崎県は衛生管理課課長補佐を委員長とするレジオネラ属菌汚染原因究明対策委員会を設置した。

また、日向市は、市助役、前岐阜大学医学部教授、つくば総合研究所副所長等で構成される原因究明委員会を設置した。

#### 5 検査結果

(1) 7月19日に採水した7検体の全てからレジオネラ属菌（菌数は980cfu/100ml～1,500,000 cfu/100ml）を検出した。特に、露天大浴場と露天多目的槽からは1,500,000 cfu/100mlが検出された。(2) 露天大浴場と露天多目的浴槽のろ過槽から大量のアメーバーを検出した。このことから、このろ過槽で多くのレジオネラ属菌の増殖があったと推定された。

#### 6 施設管理状況

(1) 施設の衛生管理マニュアルは作成されておらず、専任管理者の配置もされていなかった。

(2) 7月19日に採水し検査した温泉スタンド温水から菌が検出されたことは、源泉を貯留するタンクは既に菌が増殖していたと推定される。

#### (3) 浴槽・浴室

ア 3浴槽にはエアロゾルが発生するジャグジー等が設置されていた。

イ 浴槽の清掃は適宜実施されていたが、消毒は実施していなかった。

#### (4) 循環濾過装置等

ア ろ過装置はセラミック濾材を使用する方式であり保有水量を十分処理できる設計であるが、逆洗浄の設定時間が短く、濾過装置の汚れを十分排出できていなかった。

イ 各ヘアーキャッチャーの清掃が十分されていなかった。

(5) 塩素注入装置 循環濾過装置毎に定量ポンプは設置され稼動していたが、残留塩素濃度測定の実施は確認されていない。また、消毒に必要な塩素濃度は維持されていなかった。

#### 7

・事件と行政対応等について時系列的に記載。

#### 別紙1

・日向市A施設におけるレジオネラ症集団感染事件の対応フロー。別紙2

#### D 考察

感染症蔓延措置に勝るとされる事前対応型行政が感染症新法の柱とされるが、その積極的疫学調査の実施機関として保健所の位置付けは重要である。保健所は今回の事例からも検査の中心的機関である地方衛生研究所と迅速な連携体制を図り調査を実施するだけでなく、平常時から連携強化と情報収集に努め、他行政機関と連携を取ることも必要である。本事件の原因は上記5、6の他に、日向市の第三セクターであるA施設の職員が衛生管理知識を十分に持っていなかったことにもある。また保健所は設立時から営業開始に至る間、市及びA施設への継続的指導が不十分であった。このことが本件発生の原因のひとつではないかと思慮された。本件の再発防止対策としては多々対策が図られているが、指導・監督する立場の保健所職員は、高度な専門知識と指導技術を保持し、平常時から検査機関を含めた迅速な対応が可能とする連携体制による対応策を講じなければならない。また、本庁主管課は健康危機発生時において情報収集、連絡調整、マスコミ対応等の中枢となることから、これらに適切に対応するシステムを構築し、事件防止、被害の拡大防止だけでなく、それに伴うリスクを最小限に抑制することの重要性が強く示唆された。

#### II レジオネラ属菌による健康危機発生予防事例の解析

市内の公共団体が運営する3浴場施設の浴場水の内、通常検査でその1施設の検体からレジオネラ属菌が中濃度で検出された。その施設は

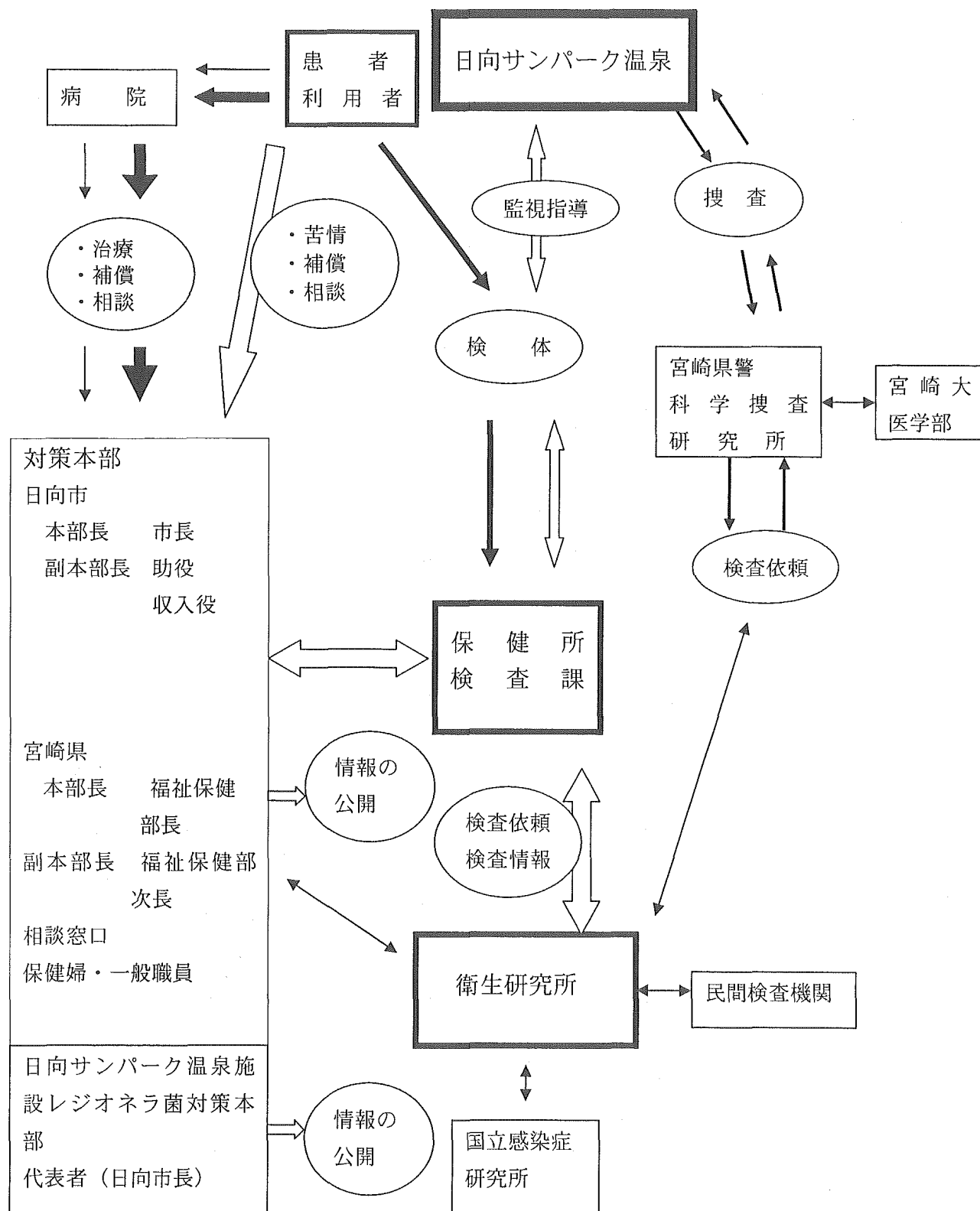
1年前にレジオネラ属菌が陽性となり、所轄の保健所から塩素付加、清掃など管理の強化が指導されていた。しかし、施設利用者である多数の高齢者の要望を受けて塩素付加が抑制されていた。その結果、今回の中程度のレジオネラ属菌汚染へと進展していたことがうかがえた。

施設の統括管理者は所轄の保健所に相談したが、設備機器のクリーンアップと適切な塩素付加の再度の指導を受けただけで、原因究明の相談には無回答であった。幸いにも感染者が発生せず、経過観察の検査でもレジオネラ属菌は陰性となったが、他施設の統括責任者ともども3名の管理者に対する医学面での専門的な解説や管理の重要性などの解説は、当所に相談来所されての対応となった。

事案の発生の予防には、施設周囲の公園、緑地、砂地などの土壌の菌汚染の実態調査による原因究明や、強風時の土砂飛散に対する浴場の窓の閉鎖など、菌が混入しないための管理上の方策の呈示、汚染経験のある浴場の検査回数の増強、日常の点検や管理強化について、施設側でも保健所や地研との連携強化を図ることの必要性が指摘された。

月	日	曜日	日向サンパーク 温泉	患者 累計	死者 累計	保健所	衛生研究所	行政対応	その他
6	12	水	循環試運転後バルブ開け						
	13	木	ず貯水タンクに残る						
	19	水	浴槽に貯留水と源泉水の 混合水を注入						
	20	木	竣工式, 体験入浴						
	21	金	体験入浴, タンク内に源泉水滞留						
	22	土	タンク内に源泉水滞留						
	23	日	タンク内に源泉水滞留						
	24	月	タンク内に源泉水滞留	*3					後日判明
	25	火	タンク内に源泉水滞留	3					
26	水	タンク内に源泉水滞留	3						
27	木	タンク内に源泉水滞留	3						
28	金	タンク内に源泉水滞留	3						
7	1	月	営業開始	3					
	6	土	利用者 1,449人	3					
	7	日	利用者 1,986人	3					
	13	土	利用者 1,206人	3					
	14	日	利用者 1,750人	3					
	15	月		3	*1				後日判明
	18	木		3	1	病院から情報提供			
	19	金		3	1	調査・検体採取・指導	検体搬入・検		
	20	土	利用者 1,142人	3	1				
	21	日	利用者 1,186人	3	1				
	22	月	休館日	3	1				
	23	火		3	1	営業自粛を指導			
	24	水	営業中止	3	1				
	25	木		3	1	文書で自粛を指導	し菌高値で検	マスコミ発表	
	26	金		48	1			県, 対策本部設置	
27	土		59	1	立入・採水		市, 対策本部設置		
28	日		72	1	循環ろ過機封鎖		市, 観光課, 相談業務開始		
29	月		98	2		し菌値公表 パルス判定	温泉スタンドの使用中止		
30	火		114	2	営業停止命令 (7/30~9/27)		市議会全員協議会開催・マスコミ公表		
31	水		141	2			日向署, 業務上過失傷害の疑いで捜査開始		
8	1	木		160	2				
	5	月		205	2			市, 商業観光課内対策室設置	
	11	日		241	3				
	12	月	殺菌強化, 循環停止	244	4			市, 議会特別委員会設置	
	13	火		246	5				
	16	金		267	6			市長→市職員, 報告・協力依頼	
	22	木	県, 究明委立ち入り	290	6			県, 究明委員会, 初の立ち入り	
	23	金		290	6			市議会特別委員会	
	26	月		264	6			入院者分医療費委託払い開始	
27	火		293	6			市職員による し菌補償交渉事務説明会		
28	水		293	6			同上		
9	2	月		294	6			市, 補償交渉開始	
	3	火		294	6			県, 開業前検査義務化へ	
	4	水		294	6			日向市議会も石岡市視察	
	5	木		294	6			県, し菌防止講習会開催	
	14	土		295	6			県, 菌未検出施設も検査	
	15	日		295	7				
	26	木		295	7	営業停止期間変更 (7/30~11/26)			
	29	日		295	7				
10	30	月		295	7			市議会, し感染対策特別委	
	9	水		295	7			市議会, 特別委員会	
	21	月		295	7			市, し菌原因究明委発足	
11	25	水	営業停止期間再延長通知 (15.1.25まで)	295	7				
	28	月	施設封鎖解除	295	7				
15 1	22	水	営業停止期間再々延長の 通知(15.3.26まで)	295	7				
	合計		利用者 19,773 人, 営業日数 22 日	295	7				補償対象者 1,319人

日向市A施設におけるレジオネラ症集団感染事件の対応フロー



課題 14

尿中結合型エタノールとアセトアルデヒドについての基礎的研究

分担研究者 大道 正義 千葉市環境保健研究所長

研究要旨：健康日本21の課題の一つである常用飲酒に着目し、尿中結合型エタノールとアセトアルデヒド濃度の測定法を開発し、両者が長期飲酒の評価バイオマーカーになりうるかを、飲酒量と人とラットの尿中濃度の関連について検討した。その結果、長期飲酒のスクリーニング指標として尿中結合型エタノール濃度と結合型アセトアルデヒド濃度は、直接的評価マーカーとして有用であることが確認された。

研究協力者

東邦大学医学部衛生学 今井 常彦  
千葉市環境保健研究所 飯田 省三  
千葉市環境保健研究所 竹田 敏晴  
順天堂大学医学部衛生学 千葉 百子  
新潟薬科大学応用生命科学部 及川 紀久雄

となることは、飲酒量や飲酒頻度などの飲酒習慣を直接的かつ客観的に反映したバイオマーカーを得ることである。

従来から、飲酒に関連したバイオマーカーとしては血清中 $\gamma$ -GTP、GOT、GPTなどが知られている。しかし、これらの指標は飲酒以外の要因により変動することや多量飲酒でも変動しない

A. 研究目的

飲酒の健康影響の予防は、我が国の健康政策上の重要な課題となっている。厚労省が2000年にまとめた「21世紀における国民健康づくり・健康日本21」においてもアルコールと健康障害の関連が取り上げられている。

アルコールの健康影響は①急性中毒による致酔性 ②慢性影響による臓器障害 ③長期多量飲酒による依存性 ④未成年者や妊婦を通しての若年者や胎児への影響等があげられている。

長期飲酒の健康影響を観察する上で最も基本

ことも報告されていることなど、飲酒の適切な指標であることは確認されていない。

われわれは、飲酒の直接マーカーであるエタノールや代謝物アセトアルデヒドの測定を試みた。しかしエタノールやアセトアルデヒドは経時的に代謝が進み排出濃度が変化し個人差も大きいことから、飲酒量や飲酒頻度を含めた長期にわたる飲酒歴の把握は困難であった。そこで体内で安定した科学形態を示すエタノールおよびアセトアルデヒドの付加体に着目し、それらの定量法の開発を検討した。その結果、尿試料を加水分解す

ることにより、体内にあるエタノールやアセトアルデヒドを結合型アルコールとアセトアルデヒドとして測定することが可能となった。

尿試料を用いることの利点は、試料の採取が個体への侵襲を加えないため痛みが無く、排尿による採取であるため容易なこと。アセトアルデヒドを酸化するアルデヒド脱水素酵素を有する肝臓細胞や赤血球の含有がほとんどないこと。尿中の結合型エタノールやアセトアルデヒド濃度が血液の遊離型同濃度に比較して高濃度であることなどがあげられる。

## B. 研究方法

### 1. 開発した結合型エタノールおよびアセトアルデヒド濃度の同時測定方法

前処理：採取した尿はすぐに凍結か氷冷下で保存し、以後の分析操作は全て氷冷下で行う。尿2mlを $-80^{\circ}\text{C}$ の超低温保存2時間後、一昼夜凍結乾燥、この乾燥試料に10%硫酸水溶液2ml添加ただちに $60^{\circ}\text{C}$ ・60分間恒温槽にて加水分解する。加水分解後ただちに氷冷、PCA試薬2mlを添加し除たんぱく後、3000rpmで15分間遠心分離し、上清1mlをバイアル瓶に分取、内部標準物質として0.003%のiso-butanolを0.1ml添加密栓後、ヘッドスペースガスクロマトグラフィーによる質量分析により測定した。

### 2. 観察方法

#### 1) ヒト観察と含有濃度測定

アンケート調査：アルコール依存症の確定診断を受け入院治療し退院後、精神神経科へデイケア

通院中の断酒1年以上の男子6名、飲酒歴15年以上の健常男子19名に研究参画の了承を文書により確認し、TAST（東大式ALDH2表現型スクリーニングテスト）13項目を含む記名自記式アンケート用紙を配布、回収した。（表-1）

2) 採尿時刻は午前10から11時の間に約5mlをガラス瓶に採尿、試料を密封し測定時まで凍結保存した。試料30～50本を前記の分析法により測定した。

（倫理面への配慮）

書面に記名捺印により研究協力の了解を得た。倫理審査は東邦大学の審査委員会による審査を受けた。

#### 2) 動物実験

実験動物は生後4週齢および6ヶ月齢のフィッシャー系雄ラットを用いた。エタノール投与条件は、エタノールの16%エタノール水溶液である市販の同一銘柄の日本酒をガラス給水器に充填し自由摂取で与えた。粉末市販飼料（CE-7・日本ケア）も自由摂取としたが摂取量は全て記録した。観察期間は生後4週齢群では投与開始後3ヶ月、12ヶ月、18ヶ月、24ヶ月。生後6ヶ月齢群では投与開始後1ヶ月、9ヶ月、15ヶ月、24ヶ月とした。採尿は断酒48時間後に採尿器を用いた。

対照群はそれぞれの投与開始時からpair feed動物（水道水自由摂取、エタノール群の摂餌量と同量の粉末飼料および摂取エタノール量と等カロリーのグラニュー糖溶液摂取）として飼育した。



## C. 結果および考察

### 1. ヒト観察

アンケート調査による断酒継続アルコール依存症者（A群）6名は全例TASTスコア5.0以上のALDH2非欠損者(nonflusher)であった。

A群と健常者のうち、飲酒歴15年以上で飲酒時に赤くならないTASTスコア5.0以上のnonflusher群を比較の対照として結合型エタノールおよびアセトアルデヒド濃度について検討した。健常のnon flusher群については、毎日4単位（1単位は日本酒換算1合）以上飲酒する群（H群）7名、毎日1～2単位飲酒する群（L群）4名、ほとんど飲酒しない・まったく飲酒しない群（N群）8名と3群に分けた。

結合型エタノール濃度では、A群は毎日飲酒するH群、L群に比較し各々有意に低値( $p<0.05$ ,  $p<0.05$ )であり、N群とは差が認められなかった。

結合型アセトアルデヒド濃度では、A群はH群、L群、N群のいずれの群より低値であり特にH群、N群に比較し各々有意に低値( $p<0.01$ ,  $p<0.05$ )であった(table-2)

これらの結果から、尿中結合型エタノールおよびアセトアルデヒド濃度は飲酒量依存的に高値であることが判明した。また依存症者であっても断酒継続1年以上であれば、尿中結合型エタノールおよびアセトアルデヒド濃度は、ほとんど飲酒しない・まったく飲酒しない者のレベルに降下していた。

## 2. 動物実験観察

1) 生後4週齢時からの投与開始群で、結合型エタノール濃度は3ヶ月後で投与群と対照群で有意差は認められなかった。12ヶ月、18ヶ月、24ヶ月後では投与群がいずれも有意に高値であった( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )。これらの結果から、投与期間が長期になるに従い、結合型アルコール濃度は高値となっており、特に18ヶ月、24ヶ月後では3ヶ月投与後に比較し有意に高値( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ )であった。結合型アセトアルデヒド濃度は3ヶ月後で投与群と対照群で有意差を認めなかった。12ヶ月、18ヶ月、24ヶ月後では投与群がいずれも有意に高値を示した( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )。これらの結果から、投与期間が長期になるにしたがい高値となり、特に18ヶ月、24ヶ月投与後では3ヶ月投与後に比較し有意に高値であった( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )(Table-3)。

2) 生後6ヶ月齢時からの投与開始群では、結合型エタノール濃度は1ヶ月後で投与群と対照群で有意差を認めず、9ヶ月、15ヶ月、24ヶ月後では投与群がいずれも有意に高値を示した( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )。これらの結果から、投与期間が長期になるにしたがい高値となり、9ヶ月、15ヶ月、24ヶ月投与後では1ヶ月投与後に比較し有意に高値を示した( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )。9ヶ月投与後に比較し15ヶ月、24ヶ月後では有意に高値を示した( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )。24ヶ月投与後では15ヶ月後に対しても有意に高値を示した( $p<0.05$ )。結合型アセトアルデヒド濃度は1ヶ月後で投与群と対照群で有意差は認められな

かった。9ヶ月、15ヶ月、24ヶ月後では投与群がいずれも有意に高値であった( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )。これらの結果から、投与期間が長期になるに従い高値を示し、9ヶ月、15ヶ月、24ヶ月投与後は1ヶ月投与後に比較し有意に高値を示した( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )。9ヶ月投与後に比較し15ヶ月後は有意に高値を示した( $p<0.05$ )(Table-4)。

以上の結果から、エタノール投与期間が長期となるに従い、結合型エタノールおよびアセトアルデヒド濃度は共に高値を示していた。

#### D. 結 論

この研究により尿中結合型エタノールおよびアセトアルデヒド濃度は飲酒期間および飲酒量に依存して増加することから、飲酒直接的マーカーとなりうることが示唆された。従って、尿中結合型エタノールおよびアセトアルデヒド濃度を測定することにより、長期飲酒者のスクリーニングを可能にし、個人の飲酒様態をも明らかにすることができる。このことから尿中のエタノールおよびアセトアルデヒド値を飲酒者に認識させることは、飲酒教育の有効な一助となり、地域保健領域での活用が期待されている。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

#### 特別報告

今井常彦、大道正義、武田秀勝、大本美彌子：  
飲酒様態のバイオマーカーに関する検討. 第76  
回日本産業衛生学会総会、山口、2003  
(予定)

表-1 飲酒に関するアンケート調査

ご記入にご協力下さい。

氏名 ( ) 年齢 ( ) 歳

初めてお酒を飲んだのは 年齢 ( ) 歳頃  
誰と 一人 一緒 誰とですか ( )  
飲んだ酒の種類は ( )

今の飲み方について 飲酒頻度 毎日 週4～6日 週1～3日  
月1～3日 年に数回  
ほとんど飲まない 全く飲まない  
1日の飲酒量 ビール 大 ( ) 本  
ウイスキーシングル ( ) 杯  
焼酎 ( ) 杯  
日本酒 ( ) 合  
その他 ( )  
飲酒場所 自宅 友人宅 職場 店

今の飲み方になったのは何歳頃からですか。 ( ) 歳頃から

あなたは飲酒した時、次のような症状が出たことがありますか。

- |                     |     |      |      |
|---------------------|-----|------|------|
| 1. 顔が赤くなる           | いつも | ときどき | ならない |
| 2. 顔以外の部分が赤くなる      | いつも | ときどき | ならない |
| 3. かゆくなる            | いつも | ときどき | ならない |
| 4. めまいがする           | いつも | ときどき | ならない |
| 5. 眠くなる             | いつも | ときどき | ならない |
| 6. 不安になる            | いつも | ときどき | ならない |
| 7. 頭が痛くなる           | いつも | ときどき | ならない |
| 8. 頭の中がどンドン打つように感じる | いつも | ときどき | ならない |
| 9. 汗をかく             | いつも | ときどき | ならない |
| 10. 心臓がドキドキする       | いつも | ときどき | ならない |
| 11. 吐き気がしやり気分かわるくなる | いつも | ときどき | ならない |
| 12. 寒けがする           | いつも | ときどき | ならない |
| 13. 息苦しくなる          | いつも | ときどき | ならない |

ご記入有難うございました。

東邦大学医学部衛生学教室 今井常彦

Table-2 Bound ethanol and acetaldehyde of man in urine

Group	alcohol	acetaldehyde nmol/mg creatinine
A Alcoholics (abstinence)	(6) 26.15±7.75 a*, b*	1.20±0.48 a**, c*
Non flusher (TAST score over 5.0)		
H (over 4 units every day)	(7) 380.32±310.55	3.69±1.45
L (1 ~2 units every day)	(4) 36.62±8.61	1.62±0.66
N (non or social drinker)	(8) 26.13±6.44	2.07±0.61

Mean±S. D.

\*\* p&lt;0.01 \*p&lt;0.05

a: Significantly different from group H

b: Significantly different from group L

c: Significantly different from group N

Table-3 Bound ethanol and acetaldehyde of rat in urine  
Age of 4 weeks

Period	Bound ethanol		Control	
	Sake		nmol/mg creatinine	
3M	(5)	18.7±3.9	(5)	19.1±6.2
12M	(9)	23.8±4.9 a**	(9)	14.4±3.5
18M	(8)	25.2±5.0 a**, b*	(6)	14.1±3.6
24M	(9)	26.6±4.1 a**, b**	(7)	14.6±3.7

Mean±S. D.

Period	bound acetaldehyde		Control	
	Sake		nmol/mg creatinine	
3M	(5)	0.17±0.04	(5)	0.15±0.04
12M	(9)	0.21±0.05 a*	(9)	0.16±0.04
18M	(8)	0.25±0.02 a**, b**	(6)	0.14±0.01
24M	(9)	0.27±0.06 a**, b**, c*	(7)	0.15±0.02

Mean±S. D.

\*\* p&lt;0.01 \*p&lt;0.05

a: Significantly different from control group

b: Significantly different from group 3M

c: Significantly different from group 9M

d: Significantly different from group 18M