

動揺検査について検討を加えた。重心動揺検査は、視覚・前庭系、脊髄固有反射系などを制御する神経機能の簡便な検査であり、職域におけるシックハウス症候群患者にどのような特徴が見られるか、また重心動揺検査が本症の補助診断法として労働衛生学的意義があるかについて検討した。

## B-1. 研究方法：装置

### 1. 重心動揺計装置

#### 1) 重心動揺検査について

重心動揺検査は、被検者を直立させるのみで、被検者の身体に装置をつけることなく、直立姿勢に現れる身体動揺を重心動揺として記録、自動分析できる利点がある。重心動揺検査は、a) 面積・軌跡長検査、b) パワー・ベクトル検査および c) 姿勢反射誘発を加えた重心動揺検査の3段階に分けられている。今回実験に用いた検査は、a) 面積・軌跡長検査であり、これは重心動揺検査の基本となるものである。

#### 2) 重心動揺計 (EGG) の測定原理

重心動揺計は、被検者の直立時の足圧中心の動きを測定する。重心動揺計は、その足圧の検出器から水平面における二等辺三角形、正三角形または矩形の各頂点に設置された3ないし4個の圧力変換器に与えられる垂直荷重の中心点を求め、足圧中心の動揺を電気信号変化として出力する検出器と記録処理器から成り立っている足検出装置である。装置は体重などによる割り算回路などで体重の差による動揺の大きさの違いは自動的に補正されている。重心動揺の記録法は被検者を検査台の上に直立させ、直立姿勢に現れる重心動揺を記録する。記録・各種パラメータの計測・解析は装置により自動的に行われ、結果はグラフおよび数値として記録される。

#### 3) 測定に用いた重心動揺計について

本研究では、アニマ株式会社製・重心動揺計、グラビコーダ GS-11 を用いた。グラビチャートは重心動揺計による検査データを簡略化したもので、面積・軌跡長値と比較する。また重心動揺計内ではニューラルネット解析（コンピ

ューター障害部位解析）を行った。

## B-2. 研究方法：対象

今回測定対象とした患者は、職域においてシックハウス様症状を訴えた患者で、平成15年7月から平成15年9月までの期間に北里研究所病院臨床環境医学センターを受診した29名（男性12名、女性17名）である。

## B-3. 測定パラメーターの意味

- ・ 総軌跡長：重心動揺測定中、刻一刻のXY軸の微妙な変化分から三平方の定理により動揺距離を算出し、それを測定時間中積算した値で重心図を1本に伸ばしたときの端からの長さを表す。
- ・ 外周面積：重心動揺の軌跡によって囲まれる内側の面積を表す。平衡障害の程度を示す。
- ・ ロンベルグ率：閉眼検査データ／開眼検査データ

## C. 結果：重心動揺検査の評価

重心動揺検査において、機器が測定データを正常か異常か判定した結果、シックハウス症候群では、48%が異常と判定された。異常と判定されたケースにおいてその障害部位は、脳性障害性が79%、迷路障害性が21%であった。

また、異常女性患者と健常者の総軌跡長の比較シックハウス症候群において機器判定で異常と判定された女性患者の開閉眼時の総軌跡長の値を年齢別に健常者と比較すると、開眼時は4名が健常者の範囲を越えているに対し、閉眼時には2名認められた。シックハウス症候群の異常女性患者総軌跡長ロンベルグ率については、シックハウス症候群では一名のみ大きく健常範囲を越えていたが、それ以外はほぼ健常範囲内であった。

さらに、異常女性患者障害性分類からみた総軌跡長の比較すると、開眼時での脳性障害の総軌跡長の範囲は45~100cmであった。迷路性障害では患者は1名のみで、110cmだった。脳性障害と迷路性障害の総軌跡長の長さに差は認められなかった。閉眼時では脳性障害は90~130cmの範囲

であった。シックハウス症候群異常女性患者の障害性分類と外周面積の比較については、開眼時の脳性障害は約4~9cm<sup>2</sup>の範囲内であり、迷路性障害では6cm<sup>2</sup>であった。閉眼時は脳性障害は4~15cm<sup>2</sup>の範囲であり、開閉時とも脳性障害が迷路性障害より外周面積は大きくなった。

#### D. 考 察

今回われわれは、シックハウス症候群の補助診断法の一つとして、重心動揺検査を施行し、本症に特徴的な所見が得られるか否かについて検討した。その結果、異常と判定されたのはほぼ50%であった。シックハウス症候群では中枢神経系に異常を認める頻度が高いが、同様に「中枢神経系検査としての重心動揺検査においても約半数に異常が確認された。異常と判定された患者のなかで脳性障害と判定された患者は、シックハウス症候群では79%であった。統計学的基盤に基づいた機器判定によるものではあるが、脳性障害と判定した結果は、中枢神経系機能を反映した結果と考えられ、重心動揺検査の有用性を示す結果となった。迷路性障害と判定されたのは、シックハウス症候群で21%であり、迷路性障害の判定は末梢神経系機能を反映していると判断できる。シックハウス症候群は、脳性障害すなわち中枢神経系機能に異常が出現する頻度が高いことが、重心動揺検査でも確認することが出来た。また、迷路性障害に関しても、シックハウス症候群の患者で20%以上存在し、今後検討を重ねる必要がある。総軌跡長については、異常と判定された女性患者（異常と判定された男性患者が少数であったため女性のみとした）の開閉時を評価したが、開眼時は半数以上が健常者の範囲を越えていた。35~50歳代の患者は開閉時の総軌跡長が長く、身体の揺れが大きく認められた。このことは、総軌跡長を補助診断に利用する場合、閉眼時の評価を省いても異常と判定することができる可能性が示された。障害部位の評価に関しては、シックハウス症候群では、脳性障害の方が迷路性障害よりも開閉時ともに総軌跡長が長いことから、身体の揺れが大きく、平衡を保つことが困難であることがわかった。これら

の結果より、シックハウス症候群の患者では総軌跡長が比較的長い場合に脳性障害を、短い時には迷路性障害を疑う特徴が認められた。これは中枢神経系に障害が認められると、重心動揺は前後左右に同様するため、全身平衡が取りにくく、揺れは大きく、距離は長くなる。また末梢神経系に障害が認められる場合は、重心動揺は回転性の揺れを生じるので揺れが一定しており、大きな揺れを生じることはなく、距離が短くなるためと考えられる。外周面積に関する評価も同様で、脳性障害では外周面積は大きく、迷路性障害では小さかった。よって、シックハウス症候群では、脳性障害すなわち中枢神経系機能に何らかの障害がある場合に、眼球運動検査におけるサッケード値は高出現率で現れ、その値も高く、開閉時の総軌跡長も長い、また総軌跡長で囲まれる外周面積も大きくなることが示された。

#### E. 結 論

職域においてシックハウス様症状を呈した者に重心動揺検査を同時に実施することは、本症の補助的診断法、スクリーニング法の一つとして、極めて有益だと考えられた。

#### 本年度学術研究発表

- 1) Saito M, Kumano M, Yoshiuchi K, Kokubo N, Ohashi K, Yamamoto Y, Shinohara N, Yanagisawa Y, Sakabe K, Miyata M, Ishikawa S, Kuboki T: Symptom profile of multiple chemical sensitivity in actual life. *Psychosom. Med.* 67(2):318-325, 2005
- 2) 坂部 貢ら：化学物質過敏症の見方・考え方 (3)－心身医学からみた化学物質過敏症－. *神経眼科* 21(1):59-62, 2004
- 3) 坂部 貢ら：化学物質過敏症の見方・考え方 (4)－化学物質過敏症－オーバービュー－. *神経眼科* 21(2):198-201, 2004
- 4) 坂部 貢：化学物質過敏症. *Medicina* 41(3):452-453, 2004
- 5) 坂部 貢：ビル環境とシックビル症候群. *ビルと環境* 106:40-43, 2004

- 6) 坂部 貢：化学物質過敏症発現のメカニズム  
と個体差. ストレス科学 19(2):20, 2004  
(Proceeding)

## 騒音職場従事者の音環境に関する研究 —4kHz dip とそれ以外の聴力型との比較—

研究協力者 橋本 大門、佐野 肇、岡本 牧人 北里大学医学部耳鼻咽喉科学教室  
西田 陽 新キャタピラ三菱健康管理室

### 研究要旨：

騒音職場従事者で 4kHz dip 群と 4kHz dip 以外の群について、両群の違いをきたす要因があるか検討を行った。アンケート調査の結果をもとに検討した。今回検討した項目は、1) 耳栓着用の頻度、2) 耳栓を着用しなかった年数、3) 喫煙歴、4) 飲酒歴、5) 既往歴、6) 家族歴、7) 音楽の趣味である。検討の結果、4kHz dip 群と 4kHz dip 以外の群でこれらの項目に統計学的な有意差を認めなかった。

今回の検討で耳栓を着用したにもかかわらず難聴をきたしてしまった者がいると分かった。そこで、実際に用いられている耳栓を使って、その遮蔽効果を測定した。その結果、耳栓の入れ方次第で、遮蔽効果が大きく変化することが分かった。

### A. 研究目的

4kHz dip 群（以下、dip 群）と 4kHz dip 以外の聴力型を呈する群（以下、非 dip 群）が存在する。両群の違いをきたす要因が職場環境以外にあるのか、両群の背景に関して検討した。また、実際に A 社で使用されている耳栓の遮蔽効果を測定した。

### B. 研究方法、研究対象

研究方法はアンケート調査で行った。騒音職場を有する A 社の社員のうち、協力を得られ、次の項目に該当した者 100 名へアンケートを配布した（実際に用いたアンケートを参考資料として掲載する）。

1. 特殊健康診断の対象である者。
2. 通常健康診断で難聴を指摘された者。
3. 現在は騒音職場に従事していない者。

アンケートを配付した 100 名に標準純音聴力検査を行った。標準純音聴力検査は北里大学病院所属の臨床検査技師に測定を依頼し、500 Hz、1k Hz、2k Hz、4k Hz、8k Hz の 5 周波数を測定した。測定結果をもとに 100 名を聴力型の違いから dip 群、非 dip 群、対照群に分類した。聴力型の

分類は、dip 群は 500 Hz から 4k Hz までの 1 周波数の聴力レベルが隣接する周波数の聴力レベルより 20dB 以上上昇するものとした。非 dip 群はそれ以外の年齢非相応な聴力レベルのものとした。対照群は年齢相応な聴力レベルのものとした。

dip 群、非 dip 群、対照群の 3 群で以下の条件を満たすものを研究対象とした。

1. 50～60 歳代の男性。
2. 騒音職場従事の経験あり。
3. 聴力レベルの左右差が 1 周波数で 10dB 以内。
4. 聴力レベルの左右差が 2 周波数の合計で 15dB 以内。
5. 騒音性難聴以外の感音難聴の既往がない。
6. A 社以外の騒音職場従事経験なし。

研究対象は dip 群 13 例、非 dip 群 20 例、対照群 6 例となった。

A 社では興研式 10 型耳栓（図 1）、DECIDAMP（図 2）という名称の耳栓が使用されている。両者とも JIS 第一級該当品で、大きさはフリーサイズである。耳栓着用を義務づけられた社員は、どちらかを選択して使用していた。

今回の遮蔽効果の測定にあたっては、被験者 A と B が耳栓を装着した状態と、耳栓をはずした状態で標準純音聴力検査を行った。

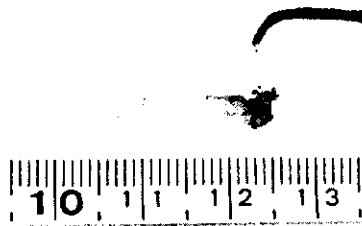


図 1

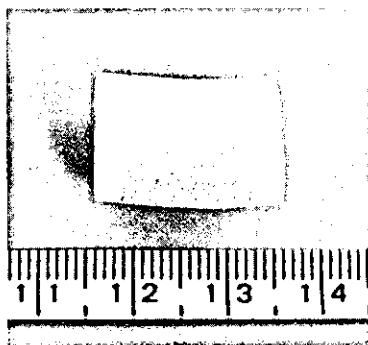


図 2

#### (倫理面への配慮)

今回の調査で得られたデータを解析する際に患者個人情報(氏名、住所など)は削除した。従ってこれ以上の倫理的配慮は必要ないと考える。

### C. 研究結果

#### アンケート結果

##### 1) 耳栓着用の頻度

dip 群では、「常に着用」が 8 例、「時々着用」が 4 例、「全然着用せず」が 1 例であった。非 dip 群では、「常に着用」が 15 例、「時々着用」が 4 例、「全然着用せず」が 1 例であった。対照群では、「常に着用」が 6 例、「時々着用」と「全然着用せず」が 0 例であった。クラスカル・ワーリス検定を行い、統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.22$ )。

##### 2) 耳栓を着用しなかった年数

耳栓を着用せずに仕事をした年数は、dip 群が  $8.39 \pm 11.33$ 、非 dip 群が  $6.6 \pm 8.82$ 、対照群が  $2.33 \pm 5.72$  であった。クラスカル・ワーリス検定を行い、統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.37$ )。

##### 3) 喫煙歴

Brinkman index は、dip 群では  $621 \pm 376$ 、非 dip 群では  $488 \pm 188$ 、対照群では  $487 \pm 421$  であった。分散分析を行い、統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.59$ )。

##### 4) 飲酒歴

飲酒の頻度は、dip 群では、「毎日」が 5 例、「ほぼ毎日」が 3 例、「週に数回」が 1 例、「機会飲酒」が 2 例、「なし」が 2 例であった。非 dip 群では、「毎日」が 5 例、「ほぼ毎日」が 5 例、「週に数回」が 6 例、「機会飲酒」が 1 例、「なし」が 3 例であった。対照群では、「毎日」が 0 例、「ほぼ毎日」が 3 例、「週に数回」が 1 例、「機会飲酒」が 1 例、「なし」が 1 例であった。クラスカル・ワーリス検定を行い、統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.60$ )。

飲酒の年数は、dip 群が  $30.08 \pm 14.77$ 、非 dip 群が  $27.79 \pm 13.83$ 、対照群が  $31.83 \pm 16.61$  であった。クラスカル・ワーリス検定を行い、統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.58$ )。

##### 5) 既往歴

dip 群は、「高血圧」が 6 例、「糖尿病」が 2 例、「既往症なし」が 5 例であった。非 dip 群は、「高血圧」が 6 例、「糖尿病」が 2 例、「高脂血症」が 1 例、「既往症なし」が 12 例であった。対照群は「糖尿病」が 1 例、「既往症なし」が 5 例であった。各群間で既往症の「あり」、「なし」について  $\chi^2$  検定を行い、統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.17$ )。

##### 6) 家族歴

dip 群、非 dip 群、対照群、いずれの群においても家族内に難聴の発生は認めなかった。

## 7) 音楽の趣味

dip 群は「音楽の趣味あり」が 5 例、「音楽の趣味なし」が 8 例であった。非 dip 群は「音楽の趣味あり」が 6 例、「音楽の趣味なし」が 14 例であった。対照群は「音楽の趣味あり」が 3 例、「音楽の趣味なし」が 3 例であった。

### 遮蔽効果の測定 (図 3)

耳栓をはずした状態を「裸耳」と表示した。DECIDAMP の方は、外耳道に入っている長さで分け、表示した。また、実際に公表されている 2 つの耳栓の遮蔽効果を参考値として表示した。

被験者 A の場合、興研式 10 型耳栓は参考値とほぼ同じ値であった。DECIDAMP は 12mm の方が、全く入れていない方 0mm に比べて 125~1000Hz の周波数域において高い遮蔽効果を認めた。しかし、いずれも参考値と比べ 20dB は低い値になった。

被験者 B の場合、興研式 10 型耳栓は参考値とほぼ同じ値で、被験者 A の場合と変わらない結果であった。DECIDAMP は被験者 A よりも深く入れることができた。DECIDAMP の場合は参考値と比べ 10~15dB ほど低い値であったが、被験者 A よりも高い遮蔽効果を得られていた。

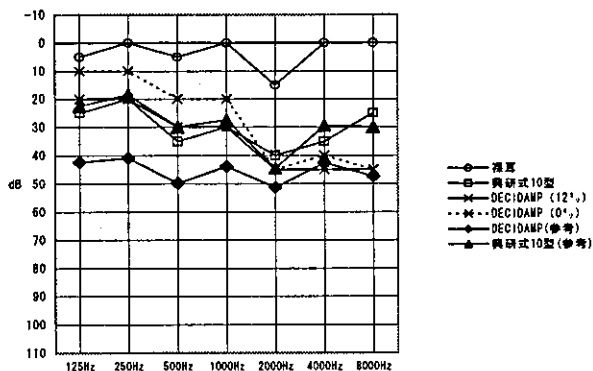


図 3 (被験者 A)

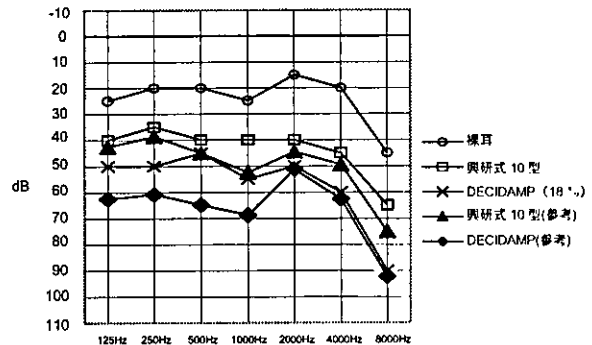


図 3 (被験者 B)

## D. 考 察

今回の検討では dip 群、非 dip 群の違いを来す要因を見いだすことはなかった。

今回の検討で、騒音性難聴を起こしている者が多いということが分かった。常に耳栓を着用していた社員は 39 例中 29 例 (74.4%) おり、耳栓着用率は決して低くはない。むしろ、耳栓着用率は高く、作業管理は整っていると言える。それにもかかわらず、社員 39 例中 33 例 (84.6%) に騒音性難聴を認めたことは問題である。遮蔽効果の測定結果から、耳栓の装着の仕方により、その遮蔽効果が大きく異なることが分かった。以上から、耳栓を着用しているにも関わらず騒音性難聴を来した原因は、防音保護具である耳栓は着用しているが、効果的な着用をしていないからだと考える。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 騒音職場従事者の音環境に関するアンケート調査

このアンケートは、騒音性難聴という病気が職場の音環境以外にも影響を受けているかどうかを研究するためのものです。職場の音環境以外とは具体的にはどのようなことかという、生活における音、嗜好歴、家族歴、既往歴などです。

その為、騒音職場のある新キャタピラ三菱社でアンケート調査を行うことになりました。しかし、結果の解析には、騒音職場での作業経験のある方や難聴のある方だけではなく、作業経験や難聴のない方に対してもこのアンケート調査を行う必要があります。そこで、お手数ではありますが、下記の記入上の注意点を御読みいただき、ご記入下さいますようお願いいたします。

なお、このアンケート結果を会社へ知らせることはありません。

### 記入上の注意点

1. このページの、お名前・生年月日にご記入下さい。
2. 質問は全部でQ1～Q11まであります。Q1から順番にお答え下さい。
3. お答えは、下線の箇所にご記入下さるか、該当項目に○印をつけて下さい。
4. 記入欄に入りきらない場合は余白に記載して下さいてもかまいません。
5. お答えによっては、とばす質問もあります。

お名前 \_\_\_\_\_ 生年月日 西暦 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日  
(記入漏れの確認のみに使用し、それ以外の目的に使うことはありません)

Q1 新キャタピラ-三菱社での勤務年数と勤務内容についてお伺いします。  
勤務内容は事務職、技術職、管理職、現場勤務から選り○印をつけて下さい。  
勤務内容に変更のあった方は、年齢ごとに勤務内容を選んで下さい。

(騒音の暴露を伴った仕事の場合には現場勤務に○印をつけて下さい)

\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで 事務職・技術職・管理職・現場勤務 を担当

\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで 事務職・技術職・管理職・現場勤務 を担当

Q2 Q1で現場勤務に○印をつけた方だけお答え下さい。

勤務中は耳栓を着用していましたか？ 常に着用・時々着用・全然着用せず

耳栓を着用していた年数は？ \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで

Q3 新キャタピラ三菱社以外で勤務経験があり、しかもそれが騒音の暴露を伴った仕事（または、耳栓着用が義務であった仕事）の方だけお答え下さい。

勤務年数は？ \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで

勤務中は耳栓を着用していましたか？ 常に着用・時々着用・全然着用せず

耳栓を着用していた年数は？ \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで

Q4 家族（父、母、祖父、祖母）の難聴の有無について「あり」か「なし」に○印をつけて下さい。

父の難聴：あり・なし、 母の難聴：あり・なし

父方の祖父の難聴：あり・なし、 父方の祖母の難聴：あり・なし

母方の祖父の難聴：あり・なし、 父方の祖母の難聴：あり・なし

Q5 喫煙したことのある方だけお答え下さい。（本数は平均を記載して下さい）

\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで 一日喫煙本数\_\_\_\_\_本

Q6 飲酒歴についてお答え下さい。飲酒の機会に関する質問は○印をつけて下さい。  
飲酒の量に関する質問では、ビール 500ml、もしくは日本酒三合など具体的な飲酒量を記載して下さい。

飲酒の機会はどの程度ですか？ 毎日・ほぼ毎日・週に数回・機会飲酒・なし

\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで 飲酒の量 \_\_\_\_\_

Q7 音楽をよく聴きますか？「はい」か「いいえ」に○印をつけて下さい。

はい・いいえ



Q8 Q7で「はい」に○印をつけた方だけお答え下さい。場所、形態、種類について該当箇所に○印をつけて下さい。

場所：コンサート会場・自宅・マイカー内・電車やバスの中

その他（具体的に\_\_\_\_\_）

形態：スピーカー・ヘッドホン（耳にあてるタイプ）・イヤホン（耳の中に入れるタイプ）・その他（具体的に\_\_\_\_\_）

種類：ロック・ジャズ・クラシック・ポップス・演歌

その他（具体的に\_\_\_\_\_）

Q9 Q7で「はい」に○印をつけた方だけお答え下さい。

音楽を聴く機会はどの程度ですか？ 毎日・ほぼ毎日・週に数回・一回につき何時間聴きますか？ \_\_\_\_\_時間

Q10 趣味や娯楽でよく利用する項目がありましたらご記入下さい。

パチンコ : \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一週間に\_\_\_\_日、一日に\_\_\_\_時間

カラオケ : \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一週間に\_\_\_\_日、一日に\_\_\_\_時間

キャバレー : \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一週間に\_\_\_\_日、一日に\_\_\_\_時間

居酒屋 : \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一週間に\_\_\_\_日、一日に\_\_\_\_時間

射撃 : \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一週間に\_\_\_\_日、一日に\_\_\_\_時間

剣道 : \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一週間に\_\_\_\_日、一日に\_\_\_\_時間

バイク : \_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一週間に\_\_\_\_日、一日に\_\_\_\_時間

Q11 既往歴（今までにかかった病気や、今かかっている病気）と常用薬（現在使用中の薬だけでかまいません）についてお答え下さい。既往歴は該当する項目すべてに○印をつけて下さい。常用薬は薬品名と使用年数をご記入下さい。

既往歴：突発性難聴・メニエール病・慢性中耳炎・真珠腫性中耳炎・耳硬化症

高血圧・狭心症・心筋梗塞・糖尿病・高脂血症・脳梗塞

その他（\_\_\_\_\_）

常用薬：薬品名\_\_\_\_\_、\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで

薬品名\_\_\_\_\_、\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで

薬品名\_\_\_\_\_、\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで

薬品名\_\_\_\_\_、\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで

質問は以上で終了です。ご協力ありがとうございました。

## 職域の健康障害における作業因子の一つである微生物の寄与と 予防に関する評価方法の検討

分担研究者 谷口 初美 産業医科大学・微生物学教室・教授

### 研究要旨：

環境微生物叢を数、種類において網羅的に検出し評価する方法は、廃棄物処分場の危険度予測及び安定化の状況を生物学的観点から評価するために重要であると考えられる。昨年度までに、遺伝子工学的な手法による環境サンプルの微生物叢解析手法を考案した。本年度は、本手法によって得られる大量の細菌の 16S rDNA 塩基配列情報をより迅速にかつ精確に処理し、細菌叢情報に変換するシステムの構築を行った。また、本システムを用いて非汚染土壌一箇所（4 サンプル）及び汚染土壌一箇所（4 サンプル）を対象に微生物叢解析を実施した。これまで得られた菌叢解析結果から、非汚染土壌と潜在的に硫化水素ガス発生の可能性を有している汚染土壌は、硫酸還元菌とイオウ酸化細菌の全菌数における割合、及び両菌種の存在バランスで特徴付けられることが示唆された。硫化水素ガス発生に関する菌叢解析手法にとどまらず、健康障害に寄与する作業因子の一つとしての環境微生物叢の解析手法として幅広く利用出来ると考えられた。

### A. 研究目的

健康障害に寄与する作業因子の一つとして環境微生物が注目されている。実際に微生物が主要な原因の一つ考えられる事故が散見され、廃棄物処分場や不法投棄現場で高濃度の硫化水素ガスが発生し、従事員の健康障害のみならず、環境汚染が深刻な問題となっている。これまで、職域における環境微生物叢を数、種類において網羅的に検出し、評価する方法を確立することは労働衛生対策上重要であると考え、環境微生物叢解析技術の構築を行ってきた。すでに、15 年度の研究成果として、環境試料（主に土壌サンプル）の全菌数計測法（蛍光染色法、real-time PCR 法）、DNA 抽出法、16S rDNA 塩基配列に基づく菌叢解析手法について構築し、様々な土壌サンプルに適用可能であることを確認した。また幾つかの土壌サンプルの細菌叢解析結果から、硫化水素ガス発生と密接に関わると考えられる細菌群の特徴が見い出された。本年度は、さらに検査試料の数を増やしてデータの集積をはかること、及び菌叢解析手法を更に検討し精度を向上させることを主な目的として

研究を進めた。

### B. 研究方法

#### (1) 土壌のサンプリング

土壌サンプルは、昨年度報告した 4 地点 16 サンプルに加え、対照土壌一箇所 4 サンプル、及び海面埋立処分場一箇所 4 サンプルについてサンプリングをおこなった。廃棄物処分場では現場職員の協力の元、重機（パワーショベル等）による掘削、対照土壌に関しては手動掘削機（ハンドオーガ）で採取した。得られた土壌サンプルはビニルバックに密閉し、可能な限り 4℃で保存した。

#### (2) 理化学的検査

これらの土壌の理化学検査を福岡県保健環境研究所と共同で行った。理化学試験として、溶出試験、含有量試験及び成分分析を行った。溶出試験については、昭和 48 年環境庁告示第 13 号に基づき、廃棄物と水を重量体積比 1 : 10 となるように混合し、振とう機で 6 時間振とうした後、孔径 1  $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過して検液と

して用いた。

### (3) 微生物学的検査

サンプリングした各土壌サンプルについて好気培養法（平板希釈法）及び蛍光染色法による菌数計測、の高純度 DNA の調製、real-time PCR 法による菌数の計測、ダイレクト PCR による土壌細菌の 16S rDNA の増幅及びクローニングを行った。それぞれの実験方法の詳細は、昨年度の研究報告書の記載に準ずる。

### (4) 16S rDNA 塩基配列に基づく菌叢解析

昨年度は、インターネットでアクセス可能なデータベースから塩基長が 500bp~1600bp の 16S ribosomal DNA シークエンス 20,490 件を抽出し、相同性検索の為の 16S rDNA データベースとして解析に用いた。本年度は、解析結果の精度を向上させる為に、細菌の分類の基準となる各菌種の基準株の 16S rDNA (4,386 件) のみを収集し、相同性検索用のデータベースを新たに作成した。

Phred による波形クオリティー ; moving average window size10、シークエンスの 5' 末端の quality value (QV) が 10、3' 末端を 30 で設定し、高精度な波形領域が 400bp 以下のデータについては削除した。また、Phred による波形クオリティーチェックをクリアしたデータは、PCR 反応に用いたプライマー (universal) の配列でトリミングを行ない、ベクターとプライマーの配列を削除した。

BLAST 検索 ; Phred による波形クオリティーチェック及びプライマー配列でトリミングが成功したシークエンスは、上記の 16S ribosomal DNA シークエンス DB を対象に BLAST 検索を行なった。Overlap length が 400bp 以上で matching% が 80%以上の相同性が得られた配列と、この条件を満たさない配列に分けた。Matching%が 80%以下のデータについては Unclassified とした。

データの集計 ; 投入した塩基配列に対して BLAST 検索で最も高い相同性を示した配列の GeneBank ID から Taxonomy ID を取得した。Taxonomy DB から、その生物種の階層分類表(門、

綱、目、科、属、種)を作成し、集計結果を Excel ファイルで出力した。

このシステムを日立ソフト社の遺伝子解析ソフト DNASIS Space に組み込んで解析を行った。シーケンサーから得られた波形データを大量 (2000 件まで)に入力すると波形のクオリティチェック、ベクタートリミング、BLAST 検索、階層分類表作成まで全自動で行なうことが可能になった。得られた塩基配列を本解析システムを用い解析を行なった。

## C. 研究結果

### (1) 土壌のサンプリング

非汚染土壌として畑の土壌、汚染土壌として海面埋立処分場の 2ヶ所の土壌サンプルを採取した。各々の土壌の特色について表 1 に示す。

### (2) 理化学的検査

サンプリングした土壌の理化学検査結果を表 2 に示す。pH は対照土壌 (IT) では 6.3~6.5 の範囲であったが、海面埋立処分場土壌 (OI) では、表層で 9.4 で焼却灰が含まれる深層では pH10 以上のアルカリ性を示した。電気伝導率は対照土壌と比較して廃棄物処分場土壌で約 100 倍ほど高かった。有害重金属 (カドミウム、鉛、クロム、水銀、砒素、セレン) 等は全てのサンプルで検出限界以下の濃度であった。海面埋立処分場である OI では深度が浅いところで硫酸イオン濃度が高かった。

### (3) 微生物学的検査

各土壌サンプルの菌数計測結果を表 3 に示す。

8 土壌サンプルの内 6 サンプルから DNA を精製することが出来た。DNA 抽出操作に伴う菌体破壊率は、IT2 (48%) 以外で 70%以上であった (表 4)。

この DNA を鋳型とした PCR を行い、16S rDNA 塩基配列に基づく菌叢解析を行った。

新規に構築した菌叢解析システムのシークエンス精度検定をパスした約 600bp の 16S rDNA 断片を形質転換した大腸菌 2803 (IT ; 1498、OI ;

1305) クローンについて解析結果を得た。菌種の階層分類結果を表5に示す。

各々の土壌の解析結果を以下に示す。

#### 畑土壌 (IT)

表層の土壌 (IT1) で  $10^7$  cells/g が好気培養法で検出され、深度の深い土壌 (IT2~IT4) の約10倍の菌数であった。蛍光染色法でも深度が深くなるに従い菌数が減少する傾向がみられたが、いずれのサンプルでも好気培養法の約100倍の菌数が計測された。IT2は好気培養法で  $10^6$  cells/g、蛍光染色法で  $10^8$  cells/g の菌が検出されたにも関わらず DNA が抽出出来なかつた為、Real time PCR 法による菌数計測は実施出来なかつた。IT3 及び IT4 の Real time PCR 法による菌数計測では、蛍光染色法の約 1/4 の菌数が計測された。しかしながら IT1 では 1/20 と検出菌数が比較的少なかつた (表3)。

IT1 で 8、IT3 で 9、IT4 で 9 門が検出され、属レベルでも各々 82、100、107 属が検出され、深度が深くなるに多様性が広がる傾向が見られた (表5)。門のレベルで解析した結果、FS サンプル同様深度に関わらず非常に類似した菌叢パターンがみられた (図2)。最も優勢を示したのは *Proteobacteria* 門であった。しかしながら FS サンプルとは異なり、深度が深くなるに従いその割合が増加した。表層の IT1 の 28% の検出率に対し、最深部の IT4 では約 2 倍の 60% を占めた。*Actinobacteria* が *Proteobacteria* について優勢を示したが、その他の門は 5% 未満であった。FS サンプルでは第2 優占種が *Bacteroidetes* であり、門のレベルでも菌叢の差異が明確になった (図2)。未知菌種は表層で約 40% 検出されたが、深度が深くなるに従い減少し、IT4 では約 15% に激減した。

IT1、3 は非常に類似した菌叢パターンであったが、それらと比較して最深部の IT4 では  $\alpha$ -*Proteobacteria* 及び  $\beta$ -*Proteobacteria* が顕著に多く、この2 門で全体の 50% を占めていた。 $\alpha$ -*Proteobacteria* では *Rhizobiales* 目に分類される菌種が多く、特に *Rhodopseudomonas* 属菌が 38 クローン検出された。本菌は硫黄を還元力として

利用出来ない光合成細菌で、主に日光の当たる嫌氣的な環境に分布する。しかしながら検出された IT4 は地下 3m の土壌であり、光りの届く環境ではない。環境中での微生物の生理作用には未知の多様性がある可能性が示唆された。いずれの IT サンプルからも *Gemmatimonadetes* 門の *Gemmatimonas* 属の菌種が 8~20 クローン検出された。本菌は近年、16S rRNA 遺伝子配列に基づく系統解析から、いかなる既存菌株とも配列相同性が極めて低く、「門」という細菌系統内の最高分類階級レベルで他者と隔たっていることが明らかとなった菌である。土壌中にはこのような未知の菌種が数多く手付かずで残っていることが推察された。特に IT1 は未分類菌種が多く、新菌種を探索する為の有用なサンプルと考えられた。

硫酸還元菌とイオウ酸化細菌の検出率は低く (1.0~3.5%)、また深度に関係なく大きな偏りは見られなかつた。この傾向は、硫化水素ガス発生とは無縁な土壌の特徴として位置付けられる可能性が示唆された (表6)。

#### 海面埋立処分場の土壌 (OI)

好気培養法で検出される菌数が深度が深まるに従い減少する傾向は特に顕著であった。蛍光染色法と Real time PCR 法の比較でも、深度に従い菌数の差が大きくなる傾向が見られた。OI4 では、畑土壌の IT2 と同様に蛍光染色法で有る程度 ( $10^8$  cells/g) の菌数が検出されたにも関わらず DNA が抽出出来ず、Real time PCR 法での菌数計測は出来なかつた (表3)。

覆土である OI1 では *Proteobacteria* 門が 55% で優占種であり、ついで *Bacteroidetes* 門が 13% 検出された。OI2 と OI3 では *Proteobacteria* 門の割合が減少し、逆に *Firmicutes* 門が増加した。OI1 及び OI2 で検出された *Firmicutes* 門の菌種はほとんど *Clostridia* 綱に属する菌種であった。

硫酸還元菌とイオウ酸化細菌の検出率は、覆土の OI1 ではイオウ酸化細菌と硫酸還元菌の検出クローン数は 26 : 0、0.5m の OI2 では 4 : 28、1.5m の OI3 では 17 : 13 であり、深度によってバランスが大きく偏っていた。硫酸還元菌の種類は

*Firmicutes* 門に分類される芽胞形成能を有する菌種が多かったが、*Desulfotomaculum* 属と類縁の *Desulfosporosinus* 属の菌種が多く検出された (表 6)。

#### D. 考 察

土壌中には  $10^7 \sim 10^9$  cells/g の菌が分布していることが蛍光染色法及び Real-time PCR 法によって明らかになった。この膨大な菌数を含むサンプルを対象に遺伝子工学的手法を用いて菌叢を解析する為には、相応しいクローン数の解析が必要である。今回構築した解析システムではシークエンサーから得られる塩基配列の波形データを大量に一括入力することで、門 (phylum)、綱 (class)、目 (order)、科 (family)、属 (genus)、種 (species) までの生物学的階層分類が可能となり、分類されたクローンの階層ごとの集計までが全自動で出来るようになった。16S ribosomal DNA のデータベースの整備や、相同性解析方法の検討等、改良すべき部分もあるが今後サンプルを大量に処理する為には有用な手段になると考えられた。

本解析システムでの階層分類の結果、今回用いたサンプルから 16 門、23 綱、63 目、146 科、415 属が検出された (表 1)。この結果は、本研究で用いた遺伝子工学的手法が、サンプル中の特定の菌種だけを取り上げて解析しているのではなく、偏りの少ない全菌叢を反映した解析結果を提供していることを示唆している。今回、対照土壌 (非汚染土壌) 1 箇所 (IT)、海面埋立処分場 2 箇所 (OI) と異なる性状の土壌サンプルを対象として実験を行なったが、各階層で検出される種の数には大きな差異は認められなかった。畑の土壌であっても、pH や塩濃度が極めて高い海面埋立処分場であっても同程度に多様性のある菌叢を有していることが明らかになった。また、多様性については、深度による影響もほとんど認められなかった。

イオウ循環に関与すると考えられる菌種について解析した結果、畑土壌では海面埋立処分場と比較して硫酸還元菌とイオウ酸化細菌の割合が低かった。今回用いた IT のサンプルでは両菌種は 1.0 ~ 3.5% の範囲であった。汚染土壌である海面埋立

処分場の OI2、では硫酸還元菌とイオウ酸化細菌のバランスが大きく偏り、硫酸還元菌が高頻度で検出された。硫化水素ガス発生の観点から考察すると、非汚染土壌と潜在的に硫化水素ガス発生の可能性を有している汚染土壌とでは、硫酸還元菌とイオウ酸化細菌の全菌数における割合、及び両菌種の存在バランスで特徴付けられると考えられた。

対照土壌 IT の土壌からは *Desulfovibrio*、*Desulfotomaculum* 属等の  $\delta$ -*Proteobacteria* 綱の硫酸還元菌が主に検出された。一方、廃棄物処分場では、*Firmicutes* 門に分類される *Desulfotomaculum* 属や *Desulfosporosinus* 属等の芽胞形成能を有する菌種が多く、 $\delta$ -*Proteobacteria* 綱の硫酸還元菌はほとんど検出されなかった。これは、廃棄物処分場に埋められている焼却灰の影響であると考えられた。焼却灰は pH や塩濃度が極めて高く、焼却灰が混入した土壌は一般的な土壌とは理化学的性状を大きく異にする。この特殊な環境で生存可能な菌種、つまり、芽胞を形成し、過酷な環境に耐えうる菌種が残ったと考えられた。OI2、OI3 では、*Firmicutes* 門に分類される *Clostridium* 等の有芽胞菌が高頻度で検出されており、この考察を支持する結果となった。

様々な土壌サンプルの菌叢を各階層別に解析すると、門のレベルでもその菌叢の違いを有する程度反映することが明らかになった。非汚染土壌では、深度による菌叢パターン変化は少ないが、汚染土壌では、大きな菌叢の変化があった。今回、遺伝子工学的手法で検出した硫酸還元菌やイオウ酸化細菌の中には培養が困難な菌種も含まれているが、本手法ではそれらの菌種も全菌叢の一部として網羅していた。硫化水素ガス発生に関する菌叢解析手法にとどまらず、環境サンプルの解析手法として幅広く利用出来ると考えられた。

#### E. 結 論

昨年度確立した細菌叢解析手法を理化学成分の異なる様々な土壌に試みた。その結果、従来の培養法より迅速に且つ網羅的な解析が可能であることが明らかになった。

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 論文

谷口初美、福田和正、王岩、山内和紀、市原剛志、水野康平、石松維世、世良暢之、濱崎光宏、高橋浩司、堀川和美・土壌細菌叢評価法の構築—廃棄物処分場の硫化水素ガス発生対策のため—・J. UOEH・2004・26(3)・349-367

Hinoue M.・Fukuda K.・Wan Y.・Yamauchi K.・Ogawa H.・Taniguchi H.・An effective method for extracting DNA from contaminated soil due to industrial waste.・J. UOEH・2004・26(1)・13-21

Fukuda K.・Wan Y.・Hinoue M.・Yamauchi K.・Taniguchi H.・The cultivation-independent approach for determining microbial flora in contaminated soil・Modern Landfill Technology and Management (Proceedings of the Third Asian-Pacific Landfill Symposium in Kitakyushu 2004)・2004・728-731

Mizuno K.・Gitahi K.・Fujii A.・Shiraishi A.・Fukuda K.・Taniguchi H.・Analysis of bacterial community structure in illegally dumped industrial waste・Modern Landfill Technology and Management (Proceedings of the Third Asian-Pacific Landfill Symposium in Kitakyushu 2004)・2004・417-421

### 学会発表

福田和正、王岩、小川みどり、宮本比呂志、谷口初美：汚染及び非汚染土壌の細菌叢解析・第57回日本細菌学会九州支部総会、福岡、2004.9.3

堀川和美、濱崎光宏、高橋浩司、世良暢之、谷口初美：不法投棄現場土壌中の硫酸還元菌について・第57回日本細菌学会九州支部総会、福岡、2004.9.3

王岩、福田和正、樋上光雄、山内和紀、小川みどり、宮本比呂志、谷口初美：産業医科大学の土壌の深度別細菌叢・第77回日本細菌学会総会、大阪、2004.4.3

樋上光雄、王岩、福田和正、山内和紀、小川みどり、宮本比呂志、谷口初美：畑土壌における深度別細菌叢評価・第77回日本細菌学会総会、大阪、2004.4.3

水野康平、福田和正、谷口初美：好気培養による不法投棄現場土壌の細菌叢解析・第56回日本細菌学会九州支部総会、宮崎、2003

堀川和美、濱崎光宏、高橋浩司、世良暢之、谷口初美：不法投棄現場土壌中の硫酸還元菌について・第56回日本細菌学会九州支部総会、宮崎、2003

濱崎光宏、堀川和美、高橋浩司、世良暢之、谷口初美：不法投棄現場の土壌から検出された硫酸還元菌とメタン生成菌の16S rDNAによる菌種の同定・第56回日本細菌学会九州支部総会、宮崎、2003

福田和正、樋上光雄、王岩、小川みどり、宮本比呂志、谷口初美：遺伝学的手法による不法投棄現場土壌の細菌叢解析。第56回日本細菌学会九州支部総会、宮崎、2003

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### (1) 特許取得

廃棄物処分場土壌からの高純度DNA抽出法  
(出願済み)

### (2) 実用新案登録

### (3) その他

表 1 実験に用いた土壌サンプル

採取場所	サンプル名	採取日	深さ(m)	採取方法	特徴
畑土壌	IT1	2003.5.27	0.3	スコップ	非汚染土壌
	IT2	"	1.0	ハンドオーガ	"
	IT3	"	2.0	ハンドオーガ	"
	IT4	"	3.0	ハンドオーガ	"
海面埋立処分場 (海辺)	OI1	2003.9.18	0.0	スコップ	覆土
	OI2	"	0.5	重機	焼却灰及び土
	OI3	"	1.5	重機	焼却灰及び土
	OI4	"	3.0	重機	焼却灰及び土

表 2 理化学検査結果

	項目	単位	IT-1	IT-2	IT-3	IT-4	OI-1	OI-2	OI-3	OI-4
			表土	1m	2m	3m	表土	0.3m	1.5m	3m
溶出試験	pH	-	6.3	6.5	6.4	6.4	9.4	11.1	10.3	10.9
	電気伝導率	mS/m	6.27	11.0	3.02	2.45	112	51.1	198	222
	全窒素	mg/l	0.4	1.5	0.2	0.3	1.4	0.9	5.9	6.2
	カドミウム	mg/l	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.010	0.001
	鉛	mg/l	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.012	0.019
	六価クロム	mg/l	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04
	総水銀	mg/l	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005
	砒素	mg/l	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005
	セレン	mg/l	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.002
	鉄	mg/l	0.033	0.066	0.20	0.19	0.048	0.037	0.048	0.022
	マンガン	mg/l	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.014	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005
	銅	mg/l	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005	0.066	0.042	0.77	0.44
	亜鉛	mg/l	0.014	0.017	0.009	0.007	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
	ナトリウムイオン	mg/l	1.1	1.1	1.5	1.6	52.7	20.9	157	198
	カリウムイオン	mg/l	2.9	1.4	0.1	0.2	27.9	15	82.7	102
	マグネシウムイオン	mg/l	0.8	1.8	0.7	0.5	0.3	< 0.1	< 0.1	< 0.1
	カルシウムイオン	mg/l	5.2	10.9	3.6	2.8	134	39.8	170	153
塩化物イオン	mg/l	0.7	1.8	0.8	0.8	158	31.7	645	704	
硫酸イオン	mg/l	19.9	36.2	9.4	7.0	325	83.0	26.6	28.9	

表3 各種計測手法による土壌中の菌数計測結果

		好気培養 (CFU/g)	蛍光染色 (Cells/g)	Real-time PCR (E.coli換算菌数/g)
畑土壌	IT1	$1.9 \pm 0.4 \times 10^7$	$9.6 \pm 1.4 \times 10^8$	$4.8 \pm 0.1 \times 10^7$
	IT2	$2.8 \pm 1.2 \times 10^6$	$1.6 \pm 0.6 \times 10^8$	未実施
	IT3	$1.9 \pm 1.0 \times 10^6$	$8.3 \pm 5.1 \times 10^7$	$2.6 \pm 0.4 \times 10^7$
	IT4	$1.2 \pm 0.1 \times 10^6$	$8.7 \pm 4.2 \times 10^7$	$1.9 \pm 1.0 \times 10^7$
海面埋立処分場	OI1	$(9.2 \pm 2.4) \times 10^5$	$5.5 \pm 2.1 \times 10^8$	$1.5 \pm 0.1 \times 10^8$
	OI2	$(4.4 \pm 0.4) \times 10^4$	$3.1 \pm 1.2 \times 10^8$	$4.0 \pm 2.1 \times 10^7$
	OI3	$(3.6 \pm 2.0) \times 10^3$	$4.4 \pm 3.3 \times 10^8$	$4.3 \pm 0.9 \times 10^7$
	OI4	$(1.7 \pm 0.7) \times 10^2$	$5.9 \pm 2.2 \times 10^8$	未実施

表4 土壌サンプルからのDNA抽出結果

		菌体破壊率 (%)	DNA量 ( $\mu\text{g}/1.0\text{g}$ )	純度 (260/280nm)
畑土壌	IT1	$81.0 \pm 15.8$	$5.90 \pm 0.70$	$1.30 \pm 0.20$
	IT2	$48.0 \pm 16.5$	回収不能	未実施
	IT3	$79.7 \pm 11.5$	$5.63 \pm 1.07$	$1.30 \pm 0.10$
	IT4	$91.4 \pm 3.0$	$2.17 \pm 0.97$	$1.57 \pm 0.23$
海面埋立処分場	OI1	$78.5 \pm 6.2$	$2.35 \pm 0.97$	$1.25 \pm 0.19$
	OI2	$71.4 \pm 5.7$	$2.68 \pm 0.91$	$1.07 \pm 0.18$
	OI3	$76.2 \pm 4.1$	$2.51 \pm 1.18$	$1.14 \pm 0.02$
	OI4	$68.8 \pm 9.8$	回収不能	未実施



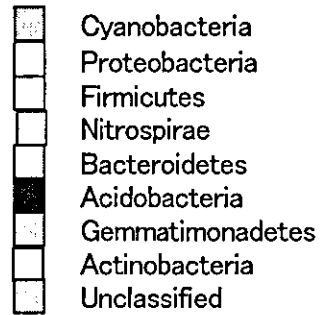
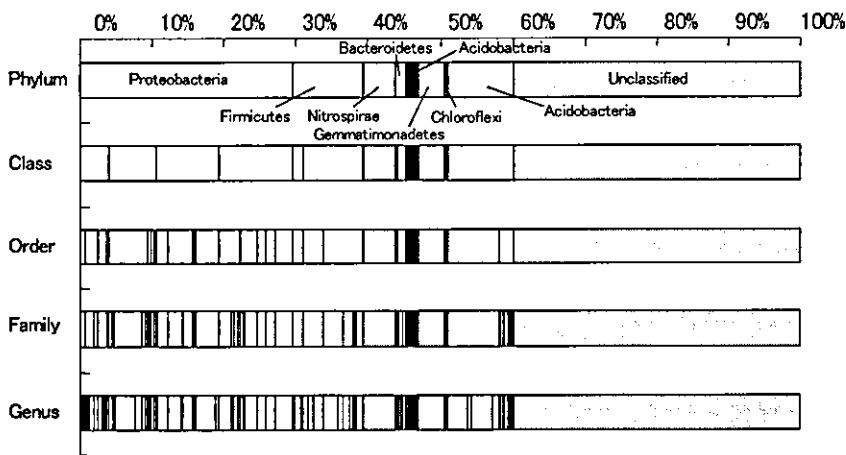
表5 菌種の階層分類結果

サンプル	クローン数	phylum	class	order	family	genus	species	
畑土壌	IT1	510	8	13	30	57	82	104
	IT3	500	9	14	33	60	100	127
	IT4	488	9	15	32	64	107	145
	IT	1498	11	17	37	79	155	238
海面埋立処分場	OI1	469	8	14	31	52	87	103
	OI2	359	6	12	24	40	58	78
	OI3	477	7	15	37	76	137	189
	OI	1305	9	17	46	95	186	272
Bergey's Manual		23	32	77	182	872	5007	

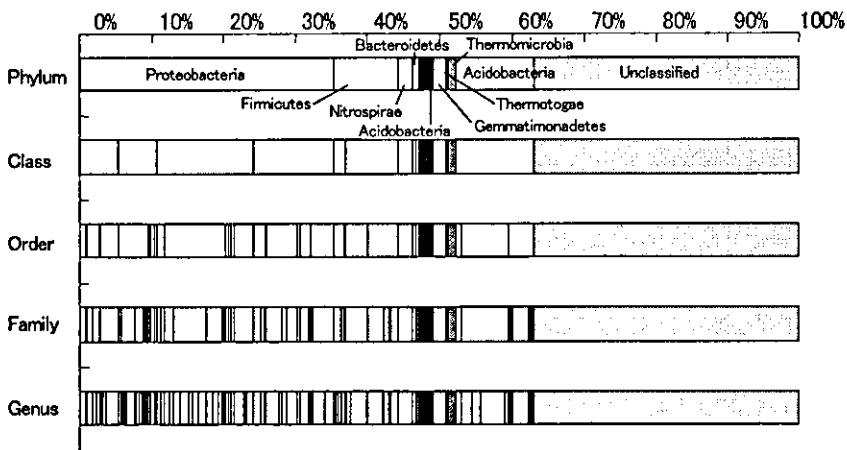
表6 各土壌サンプルにおける硫黄循環に関与する細菌群の分布

	(畑土壌)			(海面埋立処分場)		
	IT1	IT3	IT4	OI1	OI2	OI3
解析したクローン数	510	500	488	469	359	477
硫黄酸化細菌の数 (%)	9(1.8)	11(2.2)	5(1.0)	26(5.5)	4(1.1)	17(3.6)
無色硫黄細菌						
<i>Hydrogenophilaceae</i>	1(0.2)	3(0.6)	1(0.2)	1(0.2)	3(0.8)	8(1.7)
<i>Piscirickettsiaceae</i>	0	0	0	1(0.2)	0	0
<i>Thiotrichaceae</i>	0	0	0	1	0	0
紅色硫黄細菌						
<i>Chromatiaceae</i>	6(1.2)	3(0.6)	0	2(0.4)	1(0.3)	1(0.2)
<i>Ectothiorhodospiraceae</i>	2(0.4)	5(1.0)	4(0.8)	24(5.1)	0	9(1.9)
緑色硫黄細菌						
<i>Chlorobiaceae</i>	0	0	0	0	0	0
硫酸還元菌の数 (%)	18(3.5)	15(3.0)	7(1.4)	0	28(7.8)	13(2.7)
<i>δ Proteobacteria</i>						
<i>Desulfonatronumaceae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Desulfovibrionaceae</i>	7(1.4)	2(0.4)	2(0.4)	0	0	0
<i>Desulfobacteraceae</i>	6(1.2)	6(1.2)	2(0.4)	0	0	1(0.2)
<i>Desulfobulbaceae</i>	0	2	0	0	0	1(0.2)
<i>Desulfoarculaceae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridia</i>						
<i>Peptococcaceae</i>						
<i>(Desulfotomaculum)</i>	5(1.0)	5(1.0)	3(0.6)	0	28(7.8)	12(2.5)
<i>Clostridiaceae (Clostridium)</i>	11(2.2)	10(2.0)	4(0.8)	0	49(13.6)	28(5.9)

IT1(サンプル数:510)



IT3(サンプル数:500)



IT4(サンプル数:488)

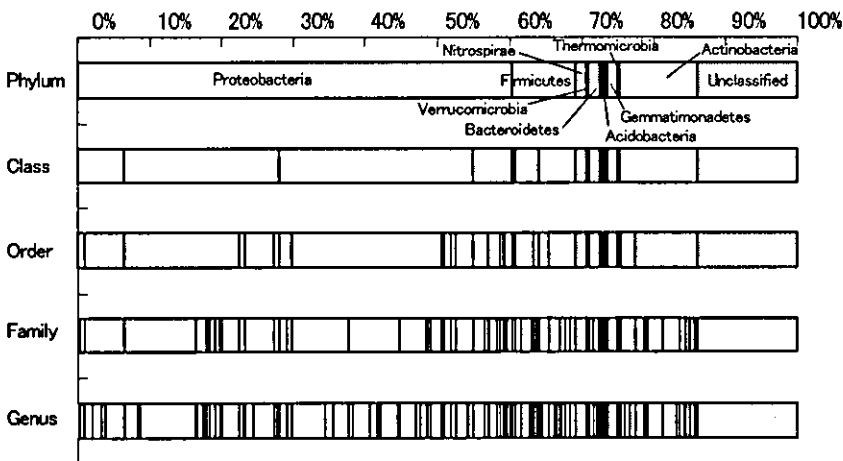


図 1 IT サンプルの細菌叢解析結果

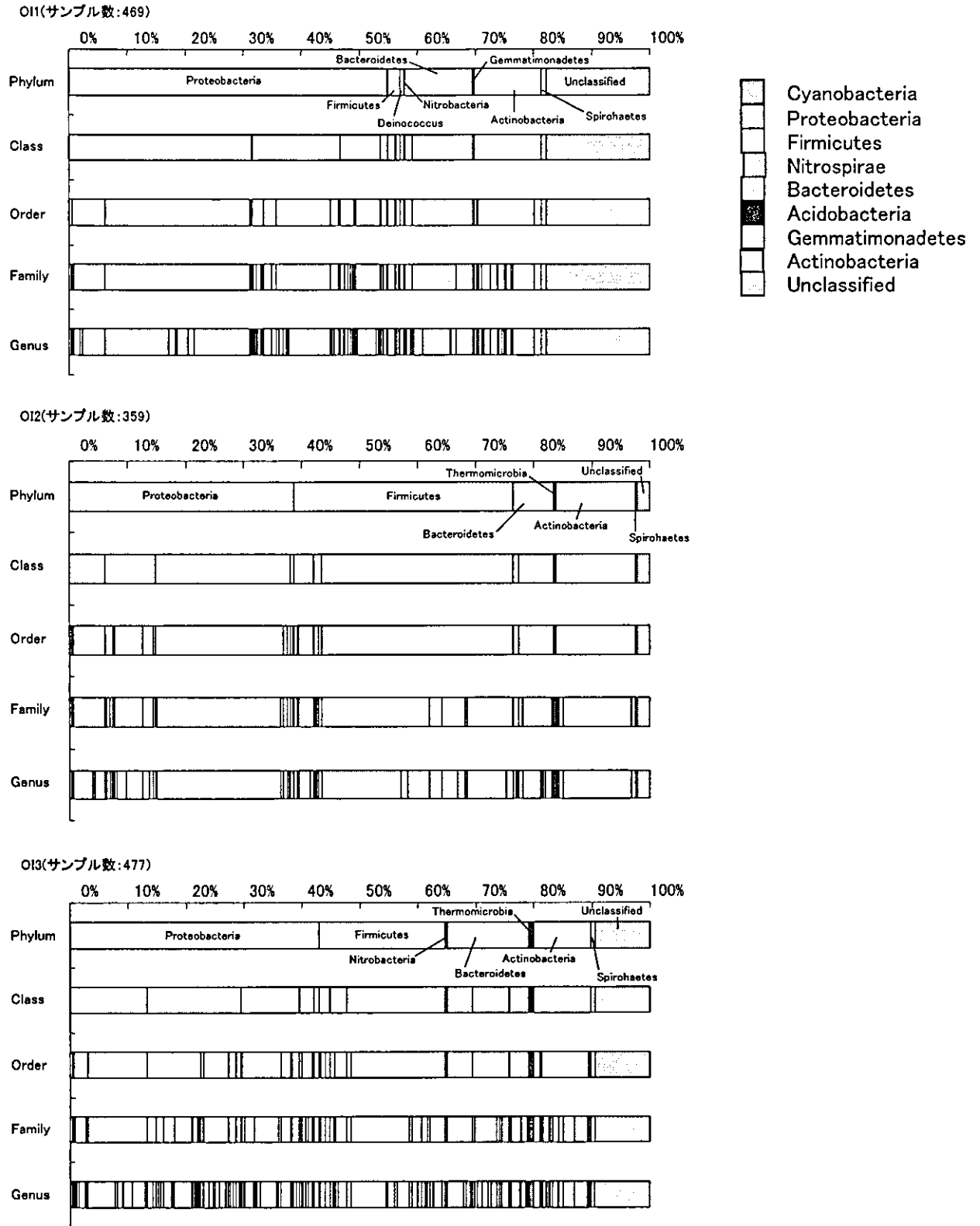


図2 O1サンプルの細菌叢解析結果