

## 1 学会誌への投稿

**Seki E, Yoshizumi M, Tanaka R, Ryo A, Ishioka T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Okayama Y, Okabe-Kado J, Goya T, Kimura H. Cytokine profiles, signalling pathways and effects of fluticasone propionate in respiratory syncytial virus-infected human foetal lung fibroblasts. *Cell Biol Int.* 2013; 37(4), 326-39.**

To examine cytokine production in response to RSV infection, we assessed the levels of 29 cytokines released from RSV-infected human foetal lung fibroblasts. We also examined the relationships between the effects of fluticasone propionate and various signalling pathways in the cells. Twenty-four hours after infection (1MOI), RSV-infected cells released cytokines, for example proinflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$ ), anti-inflammatory (IL-1ra), Th1 (IFN- $\gamma$ , IFN- $\lambda$ 1a, IL-2 and IL-12), Th2 (IL-4, IL-5, IL-10 and IL-13), granulopoiesis-inducing (G-CSF and GM-CSF), eosinophil recruitment-inducing (eotaxin and RANTES) and neutrophil recruitment-inducing cytokines (IL-8, IP-10, MCP-1 and MIP-1 $\alpha$ ). Aberrant release of most was significantly suppressed by fluticasone propionate. Twelve hours after RSV infection, increased phosphorylation of Akt, p38 MAPK, ERK1/2 and I $\kappa$ B- $\alpha$  was noted. Fluticasone propionate suppressed the phosphorylation of Akt, p38 MAPK, and ERK1/2, but not I $\kappa$ B- $\alpha$ , in virus-infected cells. TLR-4 expression was unchanged in control and RSV-infected cells, and TLR-3 and RIG-I expression was not detected. The results indicate that RSV infection induces aberrant production and release of certain cytokines through these signaling pathways in human lung fibroblasts. Overproduction and imbalance of these cytokines may be associated with the pathophysiology of RSV-induced excessive and allergic inflammation.

**Tsukagoshi H, Ishioka T, Noda M, Kozawa K, Kimura H. *Front Microbiol. Molecular***

**epidemiology of respiratory viruses in virus-induced asthma.**

***Front Microbiol.* 2013;4:278.**

Acute respiratory illness (ARI) due to various viruses is not only the most common cause of upper respiratory infection in humans but is also a major cause of morbidity and mortality, leading to diseases such as bronchiolitis and pneumonia. Previous studies have shown that respiratory syncytial virus (RSV), human rhinovirus (HRV), human metapneumovirus (HMPV), human parainfluenza virus (HPIV), and human enterovirus (HEV) infections may be associated with virus-induced asthma. For example, it has been suggested that HRV infection is detected in the acute exacerbation of asthma and infection is prolonged. Thus it is believed that the main etiological cause of asthma is ARI viruses. Furthermore, the number of asthma patients in most industrial countries has greatly increased, resulting in a morbidity rate of around 10-15% of the population. However, the relationships between viral infections, host immune response, and host factors in the pathophysiology of asthma remain unclear. To gain a better understanding of the epidemiology of virus-induced asthma, it is important to assess both the characteristics of the viruses and the host defense mechanisms. Molecular epidemiology enables us to understand the pathogenesis of microorganisms by identifying specific pathways, molecules, and genes that influence the risk of developing a disease. However, the epidemiology of various respiratory viruses associated with virus-induced asthma is not fully understood. Therefore, in this article, we review molecular epidemiological studies of RSV, HRV, HPIV, and HMPV infection associated with virus-induced asthma.

**Saraya T, Mikoshiba M, Kamiyama H, Yoshizumi M, Tsuchida S, Tsukagoshi H, Ishioka T, Terada M, Tanabe E, Tomioka C, Ishii H, Kimura H, Kozawa K, Shiohara T, Takizawa H, Goto H. Evidence for reactivation**

**of human herpesvirus 6 in generalized lymphadenopathy in a patient with drug-induced hypersensitivity syndrome.**

**J Clin Microbiol. 2013;51(6):1979-82.**

The present case provides direct evidence of human herpesvirus 6 reactivation in resected lymph node tissue in a patient with drug-induced hypersensitivity syndrome. This case clearly demonstrates that appropriate pathological evaluation of lymphadenopathy for drug-induced hypersensitivity syndrome, which mimics malignant lymphoma in clinical, radiological, and pathological findings, is required.

**Kobayashi M, Takayama I, Kageyama T, Tsukagoshi H, Saitoh M, Ishioka T, Yokota Y, Kimura H, Tashiro M, Kozawa K. Novel reassortant influenza A(H1N2) virus derived from A(H1N1)pdm09 virus isolated from swine, Japan, 2012.**

**Emerg Infect Dis. 2013;19(12):1972-4.**

We isolated a novel influenza virus A(H1N2) strain from a pig on January 13, 2012, in Gunma Prefecture, Japan. Phylogenetic analysis showed that the strain was a novel type of double-reassortant virus derived from the swine influenza virus strains H1N1pdm09 and H1N2, which were prevalent in Gunma at that time.

**Kushibuchi I, Kobayashi M, Kusaka T, Tsukagoshi H, Ryo A, Yoshida A, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Yamamoto N, Kanou K, Saitoh M, Noda M, Kuroda M, Morita Y, Kozawa K, Oishi K, Tashiro M, Kimura H. Molecular evolution of attachment glycoprotein (G) gene in human respiratory syncytial virus detected in Japan 2008-2011.**

**Infect Genet Evol. 2013;18: 168-173.**

We investigated the evolution of the C-terminal 3rd hypervariable region of G gene in the prevalent human respiratory syncytial virus (RSV) subgroups A (RSV-A) and B (RSV-B) in Japan in 2008-2011. Phylogenetic analysis and the evolutionary time scale was obtained by the

Bayesian Markov Chain Monte Carlo method. All 38 RSV-A strains detected were classified into genotype NA1 and the 17 RSV-B strains detected belonged to genotypes BA and GB2. NA1 subdivided around 1998 in the present phylogenetic tree. Genotype BA subdivided around 1994. The evolutionary rates for RSV-A and RSV-B were estimated at  $3.63 \times 10^{-3}$  and  $4.56 \times 10^{-3}$  substitutions/site/year, respectively. The mean evolutionary rate of RSV-B was significantly faster than that of RSV-A during all seasons. The pairwise distance was relatively short (less than 0.06). In addition, some unique sites under positive selection were found. The results suggested that this region of the RSV strains rapidly evolved with some unique amino acid substitutions due to positive pressure.

**Miyaji Y, Kobayashi M, Sugai K, Tsukagoshi H, Niwa S, Fujitsuka-Nozawa A, Noda M, Kozawa K, Yamazaki F, Mori M, Yokota S, Kimura H.**

**Severity of respiratory signs and symptoms and virus profiles in Japanese children with acute respiratory illness.**

**Microbiol Immunol. 2013;57(12):811-21.**

Associations between the severity of respiratory signs and symptoms and the respiratory viruses identified in 214 Japanese children with acute respiratory illness (ARI) enrolled between January and December 2012 were studied. Respiratory rate, wheezing, cyanosis, and the use of accessory muscles were used as indices of respiratory severity and phylogenetic analysis of the viruses identified in these children was performed. Respiratory viruses such as respiratory syncytial virus (RSV), human rhinovirus (HRV), human parainfluenza virus (HPIV), and human metapneumo virus (HMPV) were prevalent, being detected in approximately 70% of the patients (151/214 patients). Co-detection of viruses occurred in about 9% of patients. RSV was identified more frequently in cases scored as moderate/severe than in those scored as mild ( $P < 0.05$ ). Severity scores of patients with RSV were significantly higher than those of

cases with HPIV. Moreover, severity scores in patients with mild disease and co-detections were higher than in those in whom only HPIV or adenovirus was detected. Phylogenetic analysis showed that many genotypes of HRV-A and -C with wide genetic divergence were associated with acute respiratory illness (ARI). On the other hand, only a limited number of genotypes of RSV were associated with ARI. HPIV and HMPV were associated with ARI at similar frequencies. These results suggest that different respiratory viruses with unique genetic characteristics can be found in patients with mild to severe ARI.

**Kiyota N, Kushibuchi I, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ryo A, Nishimura K, Hirata-Saito A, Harada S, Arakawa M, Kozawa K, Noda M, Kimura H. Genetic analysis of the VP4/VP2 coding region in human rhinovirus species C in patients with acute respiratory infection in Japan.**

**J Med Microbiol. 2013;62(Pt 4):610-7.**

Detailed genetic analysis was carried out of the VP4/VP2 coding region in human rhinovirus species C (HRV-C) strains detected in patients with acute respiratory infection in Japan. Phylogenetic trees were constructed by the neighbour-joining (NJ) and maximum-likelihood (ML) methods. The NJ phylogenetic tree assigned 11 genotypes to the present strains, whilst the ML tree showed that the strains diversified sometime in the early 1870s. Moreover, the pairwise distance among the present strains was relatively long, and the rate of molecular evolution of the coding region was rapid ( $3.07 \times 10^{-3}$  substitutions per site per year). The results suggest that the present HRV-C strains have a wide genetic divergence and a unique evolutionary timescale.

**Ishioka T, Yamada Y, Kimura H, Yoshizumi M, Tsukagoshi H, Kozawa K, Maruyama K, Hayashi Y, Kato M. Elevated MIP-1 $\alpha$  and IL-17 Production in Experimental Asthma Model Infected with Respiratory Syncytial Virus**

**Int Arch Allergy Immunol. 2013;161 Suppl 2:129-37.**

Respiratory syncytial virus (RSV) infection is associated with both the development and exacerbation of bronchial asthma. We examined eosinophil infiltration and the cytokine profiles of both airway and peripheral blood in antigen-sensitized mice infected with RSV to investigate the pathogenesis of exacerbations of asthma due to RSV infection. Airway responsiveness was significantly enhanced in the OVA and OVA/RSV groups compared with the control group. Levels of tissue and BALF eosinophils were higher in the OVA and OVA/RSV groups than in the RSV or control group. Significantly higher levels of MIP-1 in BALF were observed in the OVA/RSV group compared with the three other groups. Production of serum IL-17 was also significantly elevated in the OVA/RSV group compared with the control or OVA group. These findings suggest that MIP-1 $\alpha$  and IL-17 may play important roles in acute exacerbation of asthma induced by RSV in an animal model.

**Tsukagoshi H, Yokoi H, Kobayashi M, Kushibuchi I, Okamoto - Nakagawa R, Yoshida A, Morita Y, Noda M, Yamamoto N, Sugai K, Oishi K, Kozawa K, Kuroda M, Shirabe K, Kimura H. Genetic analysis of attachment glycoprotein (G) gene in new genotype ON1 of human respiratory syncytial virus detected in Japan.**

**Microbiol Immunol. 2013;57(9):655-9.**

We studied the evolution of the G gene in the new genotype ON1 of RSV detected from patients with acute respiratory infection in Japan. Phylogenetic analyses and the evolutionary timescale were obtained by the Bayesian MCMC method. We also analyzed p-distance and positive selection sites. A new genotype ON1 emerged around 2001. The evolution rate was rapid ( $3.57 \times 10^{-3}$  substitutions/site per year). The p-distance was short and no positive selection site was found in the present strains. These results

suggested that a new genotype ON1 of RSV-A emerged approximately 10 years ago and spread to some countries with a high evolution rate.

**Nishina A, Kimura H, Tsukagoshi H, Kozawa K, Koketsu M, Ninomiya M, Furukawa S. Neurite Outgrowth in PC12 Cells Stimulated by Components from *Dendranthema × grandiflorum* cv. “Mottenohoka” Is Enhanced by Suppressing Phosphorylation of p38MAPK.**

**Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:403503.**

Components from *Dendranthema × grandiflorum* cv. “Mottenohoka” that promote neurite outgrowth of PC12 cells were identified and the mechanism of neurite outgrowth stimulated by isolated components was studied. Components that promoted the phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK 1/2) of PC12 cells were isolated. From various structural analyses, the active components were identified as acacetin and luteolin. The effects of acacetin or luteolin on PC12 cells were evaluated by electro-blotting and immunostaining. Slight neurite outgrowth in PC12 cells was observed within 2 days of culture after stimulation by luteolin or acacetin. However, NGF-stimulation induced remarkable neurite outgrowth in comparison. Neurite outgrowth by luteolin or acacetin was significantly enhanced by pretreatment with SB203580 (a p38MAPK inhibitor). The results of this study into the phosphorylation of ERK 1/2 and p38MAPK by flavonoids suggest that the inhibition of p38MAPK phosphorylation may effectively enhance neurite outgrowth.

**Niwa S, Tsukagoshi H, Ishioka T, Sasaki Y, Yoshizumi M, Morita Y, Kimura H, Kozawa K. Triplex real-time polymerase chain reaction assay for detection and quantification of norovirus (GI and GII) and sapovirus. Microbiol Immunol. 2014;58(1):68-71.**

To improve detection of norovirus (NoVGI, NoVGII) and sapovirus (SaV), a simultaneous

quantitative RT-PCR method was established. This triplex real-time PCR method was evaluated using a combination of optimized specific primers and probes. The performance of the developed PCR assay was equivalent to that of multiplex real-time PCR across a broad dynamic range of  $10^2$ - $10^7$  copies/assay using plasmid DNA standards. The limit of detection was  $10^2$  copies/assay. The quantitative value was comparable with that of multiplex real-time PCR of stool samples. Our triplex real-time PCR is useful for detection of NoV and SaV infections.

**Suzuki M, Ito Y, Shimada A, Saito M, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Kimura H, Kojima S. Long-Term Parvovirus B19 Infections With Genetic Drift After Cord Blood Transplantation Complicated by Persistent CD4<sup>+</sup> Lymphocytopenia. J Pediatr Hematol Oncol. 2014;36(1):e65-8.**

A 5-month-old girl was diagnosed with Langerhans cell histiocytosis and received unrelated umbilical cord blood transplantation at the age of 14 months. After cord blood transplantation, CD4<sup>+</sup> lymphocytopenia from unknown causes was observed, and persistent infections with human parvovirus B19 (B19) occurred. We performed repeated longitudinal genetic analysis for B19, which revealed 6 nucleotide mutations in B19 nonstructural protein regions in the patient. The resulting changes of the nonstructural 1 structure may have altered antigenicity of the virus and could play a role in the pathogenesis of persistent infection under immunocompromised conditions.

**齊藤由倫, 飯島明宏, 木村真也, 小澤邦壽. 温泉流動の理解を目的とした温泉水中希土類元素の地球化学的指標性の検討. 日本温泉科学会誌, 2013; 63(2): 141-157.**

地下の温泉流動の解明を目指して、谷川・水上温泉地域を対象に希土類元素(REE)の地球化学的な指標性について検証を行った。近接する12源泉の主要イオン成分の組成は類似したの

に対し、REE の組成には違いが見られた。温泉水中REEをろ液と残渣分画(孔径0.45 $\mu\text{m}$ のろ紙でろ過)に分け、12 源泉間の特徴を統計解析した。その結果、残渣中REEパターンは温泉が賦存する湧出母岩の地質そのものを反映している可能性が、一方、ろ液中REEはその地下の酸化還元状態や炭酸塩等の共存といった物理化学的条件を反映している可能性が示唆された。この知見を基に、谷川・水上温泉の地下の地質構造と破碎帯などの水脈の分布を仮定し、それを数値解析モデルに投入したところ、源泉井戸における観測水頭と計算水頭は概ね一致した。したがって、複雑な地下の温泉流動の解明にとって、温泉水中REEは新たな糸口を与える地球化学的指標になる可能性が示された。

**熊谷貴美代. 群馬県における PM<sub>2.5</sub> 汚染の特徴. 安全工学, 2013; 52(6): 401-407.**

群馬県においてこれまでに実施したPM<sub>2.5</sub>観測結果から化学組成および地域特性について考察した。PM<sub>2.5</sub>濃度は近年減少が見られたが、依然として環境基準を達成できていない状況である。PM<sub>2.5</sub>の成分としては硫酸塩、硝酸塩、有機成分が大部分を占めており、春では硝酸アンモニウム、夏季では硫酸アンモニウムおよび有機粒子の増加が特徴的であった。有機粒子については、夏季において光化学反応による二次生成が支配的となっていた。群馬県におけるPM<sub>2.5</sub>は二次生成無機・有機粒子の割合が高いため、これらに対する低減対策が重要と考えられた。冬季ではバイオマス燃焼の寄与が大きくなることから、地域特有の発生源としてバイオマス燃焼も考慮していく必要がある。

## 2 学会等での発表

**塚越博之, 石岡大成, 森田幸雄, 野田雅博, 木村博一, 小澤邦壽. A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness. 国際華夏医薬学会, 中国山東省齊寧 (2013年4月)**

Acute respiratory virus infection may be associated with not only acute respiratory illness (ARI) but also induction/exacerbation of asthma in children. However, relationships between acute wheezing and epidemiology of RSV infection are not exactly known. The aim of this study is to genetically analyze RSV G gene detected from ARI with acute wheezing children. In our results, various respiratory viruses were detected in over 80% of the patients. The dominant viruses were RSV and HRV, and both were detected in over 10% of the patients. Interestingly, RSV was the dominant species detected in patients with no history of wheezing and/or asthma, while HRV was dominant in patients with a history of wheezing and/or asthma. These results suggested that RSV and HRV were major ARI viruses regarding virus-induced acute wheezing in the present study. Further larger work is warranted to better understanding the detailed genetic characteristics of the various respiratory viruses detected in wheezy children.

**熊谷貴美代, 関東内陸における大気エアロゾル中の有機指標成分の挙動. 第39回酸性雨問題研究会シンポジウム, 東京都 (2013年5月)**

PM<sub>2.5</sub> 低減対策を議論していくうえで有機エアロゾルの動態や発生源を把握することは重要な課題の一つである。粒子中に存在する有機化合物の種類は極めて多く、網羅的に成分を定量するのは困難なため、有機エアロゾルを有機炭素成分として総量を把握する分析方法が一般的である。しかし、この情報だけでは有機エアロゾルを理解するには不十分であることから、我々は有機エアロゾルに含まれる発生源に特徴的な指標成分の調査を行った。その結果、関東

内陸の群馬県では、夏季には光化学反応により二次生成有機粒子の生成が増加する一方で、冬季では、野焼きといったバイオマス燃焼が地域特有の発生源となっている可能性があると考えられた。

**一条美和子, 熊谷貴美代, 田子博, 齊藤由倫, 小澤邦壽. 群馬県平野部におけるPM<sub>2.5</sub>濃度と化学組成の地域特性, 第54回大気環境学会年会, 新潟市 (2013年9月)**

前橋と太田におけるPM<sub>2.5</sub>の濃度変動パターンと化学組成について比較した。各季の平均濃度は、夏季では両地点に差がなかったのに対し、秋季は太田のほうが有意に高かった。前橋では太田に比べ風が強く大気が拡散しやすいなど、両地点における風向風速等の気象条件の違いが、PM<sub>2.5</sub>濃度の差をもたらす一因と考えられた。また、PM<sub>2.5</sub>濃度が前橋で減少している一方、太田では上昇している日が見られ、このときの成分を比較すると、前橋と太田でNO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度に大きな差が見られた。両地点の各成分を比較したところ、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は夏季・秋季ともに相関があったものの、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は相関が見られなかった。このことから、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は広域的に分布しているが、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は局地的に増加しうるということがわかった。

**一条美和子, 熊谷貴美代, 田子博, 齊藤由倫, 小澤邦壽. 群馬県におけるPM<sub>2.5</sub>の濃度上昇パターン事例 —NO<sub>3</sub><sup>-</sup>粒子の広がりの違い—, 平成25年度全国環境研協議会関東甲信静支部大気専門部会, さいたま市 (2013年9月)**

2012年度に実施した、前橋と太田におけるPM<sub>2.5</sub>調査の結果について考察した。夏季および秋季においては、両地点でPM<sub>2.5</sub>の濃度変動パターンに差が見られ、特にNO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度に違いが見られたことから、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>粒子は局地的に増加しうるということがわかった。一方、冬季においてはPM<sub>2.5</sub>濃度のレベルと変動パターンは前橋と太田で類似していた。全国的に高濃度が観測された日には、両地点ともにNO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の上昇が見られており、前橋および太田に到達した気塊の流れを調べてみると、いずれも国内を移動するものであった。この期間のPM<sub>2.5</sub>の高濃度事象は、群馬県内においては国内の発生源からの影

響が大きかったと推察される。

群馬県において PM<sub>2.5</sub> の高濃度をもたらすのは、季節を問わず NO<sub>3</sub> 粒子の高濃度化によるものが多いと考えられた。その範囲は夏・秋季に見られたようにごく局地的である場合と、冬季に見られたようにある程度の広がりをもつ場合とがあったが、いずれにせよ当県においては、国内発生源の重要性が確認された。

**塩野雅孝, 小林美保, 齋藤美香, 松井重憲, 横田陽子, 高山郁代, 中内美名, 影山 努, 田代真人, 木村博一, 下田雅昭, 小澤邦壽. 群馬県内の豚におけるインフルエンザウイルス保有状況について. 平成 25 年度日本獣医公衆衛生学会 関東・東京地区獣医師大会, 渋川市 (2013 年 9 月)**

豚は、人におけるインフルエンザウイルス流行の感染源の一つであり、豚が保有するウイルスの実態を把握し、新型インフルエンザウイルスの出現を監視することは重要である。平成 20 年 11 月～平成 25 年 2 月の群馬県内の食肉処理場に搬入された 360 頭の豚についてインフルエンザウイルスの保有状況を調査したところ、インフルエンザウイルスは、360 検体中 4 検体 (1.1%) が分離された。分離された 3 株は A/H1N2 亜型であり、1 株は A/H1N1 亜型のインフルエンザウイルスであった。3 株の A/H1N2 ウイルスのうち、2012 年に分離された 1 株は、NA 遺伝子が豚インフルエンザ A/H1N2 に由来、それ以外の遺伝子は A/H1N1pdm09 に由来していた。また 2013 年に分離された 2 株は、HA 遺伝子が A/H1 亜型豚インフルエンザに由来、NA・NP 遺伝子は A/H1N2 亜型豚インフルエンザに由来、それ以外の遺伝子は A/H1N1pdm2009 に由来していた。2013 年に分離された A/H1N1 ウイルス 1 株については、全遺伝子が A/H1N1pdm09 に由来していた。今回豚から分離された A/H1N1pdm09 ウイルスは、人の流行から豚への感染の可能性も示唆された。また、分離された A/H1N2 亜型は豚に感染した A/H1N1pdm09 ウイルスに、A/H1N1 亜型もしくは A/H1N2 亜型豚インフルエンザウイルスの遺伝子交雑により出現した、これまで国内では報告のない新たな A/H1N2 亜型であることが明ら

かとなった。

**熊谷貴美代, 一条美和子, 田子博, 齊藤由倫, 小澤邦壽. 2013 年 2 月に観測された広域 PM<sub>2.5</sub> 高濃度現象の群馬県における要因について, 第 54 回大気環境学会年会, 新潟市 (2013 年 9 月)**

2013 年 1 月 30 日から 2 月 1 日にかけて全国的な PM<sub>2.5</sub> 高濃度事象が観測された。中国の深刻な PM<sub>2.5</sub> 汚染と日本への越境大気汚染がマスコミに取り上げられ、PM<sub>2.5</sub> が大きな社会問題へと発展した一因にもなった高濃度事象である。九州や瀬戸内など西日本を中心に多くの地点で PM<sub>2.5</sub> 濃度の上昇が観測され、同時期に群馬県においても PM<sub>2.5</sub> の濃度上昇が見られた。このときの PM<sub>2.5</sub> 成分分析データから、この高濃度事象の要因について解析した結果、九州で観測された組成とは違いが見られ、群馬県においては硝酸アンモニウム粒子の二次生成が主要因となっており、越境汚染よりも自動車排ガス等による地域汚染の影響が大きいと推察された。

**熊谷貴美代, 一条美和子, 田子博, 小澤邦壽. 大気エアロゾル中の生物起源二次有機マーカ (BSOA マーカー) の測定, 第 54 回大気環境学会年会, 新潟市 (2013 年 9 月)**

大気中 PM<sub>2.5</sub> の環境基準を達成するためには寄与の大きい二次生成粒子に対する対策を検討していく必要がある。二次生成の中には二次有機エアロゾル (SOA) があり、光化学活性が高い夏季などにおいては SOA が優勢な成分となっていることが分かってきた。SOA は揮発性有機化合物 (VOC) が前駆物質となり生成し、植物起源 VOC (BVOC) から生成する BSOA と人為起源 VOC から生成する ASOA が存在するため、PM<sub>2.5</sub> 対策を考える上で ASOA および BSOA の寄与率を推定することが課題となっている。有機エアロゾルの発生源情報を得るには指標物質 (有機マーカ) を測定することが有用な手法としてあげられる。本研究では BSOA の有機マーカに着目し、シリル化 GC/MS 法によるバイオマス燃焼マーカのレボグルコサン等と BSOA マーカーとの同時測定の検討を行った。その結果、多成分同時観測が可能であり、PM<sub>2.5</sub> 成分モニタリングの新たな調査手法にな

り得ると考えられた。

**住谷敬太, 木村哲也, 齋藤利明, 横田陽子, 黒澤 肇, 高田勇人, 石岡大成, 塚越博之, 吉住正和, 木村博一, 小澤邦壽. 濾過装置におけるレジオネラ標準株を使用した培養方法の基礎的検討. 日本防菌防黴学会第 40 回年次大会, 豊中市 (2013 年 9 月)**

循環式等の温浴施設では濾過器内の濾材がレジオネラ属菌(以下 L 菌)の増殖源になると考えられている。濾材中の L 菌検査を定量的に行うため、濾過装置における L 菌標準株を用いて、栄養条件を変えた培養方法について検討を行った。結果として、濾過装置を用いた L 菌標準株の培養においても増殖には L-Cysteine の添加が必須であることが確認された。今後は、L-Cysteine を添加した L 菌の好適な培養条件の検討を重ね、水系の L 菌検査は元より、濾材に付着する微生物膜からの L 菌の定量化を図る必要がある。

**丹羽祥一, 佐々木佳子, 塚越博之, 石岡大成, 黒澤 肇, 小澤邦壽. ノロウイルス, サポウイルスをターゲットにした Multiplex Real-time PCR 系の確立. 第 28 回関東甲信静支部ウイルス研究部会総会・研究部会, 千葉市 (2013 年 9 月)**

ノロウイルス (NoV) は冬期における主な食中毒の原因となっており、主として GII 型が流行している。カリシウイルス科の中でヒトが自然宿主となり病原性を示すウイルスとして、NoV に加えてサポウイルス (SaV) が知られている。近年では NoV 同様に SaV による食中毒の報告も増えてきている。本研究では、NoVGI、NoVGII および SaV を同時に検出が可能であり、高感度で定量性のある Multiplex Real-time PCR 系を確立した。NoV のプライマーは終濃度  $0.5\mu\text{M}$  が、SaV のプライマーは終濃度  $0.7\mu\text{M}$  が最適であった。プローブは全て終濃度  $0.2\mu\text{M}$  が最適であった。反応条件については、denature ステップは  $95^{\circ}\text{C}$  で 45 秒、annealing ステップは  $60^{\circ}\text{C}$  で 45 秒が最適であった。それぞれのウイルスについて検量線を作成した結果、NoVGI については  $R^2=0.998$ 、NoVGII については  $R^2=0.996$ 、SaV については  $R^2=0.990$  であり、

100copies/reaction まで検出が可能であった。また、NoVGI, NoVGII, SaV の中で、1 種類のみが検出された便検体および 3 種類を混合した擬似検体について、至適化された系と公定法に準拠した系とで定量結果を比較したところ、2 つの系に有意差は認められなかった。この Multiplex Real-time PCR 系は、コストや労力の面からも感染性胃腸炎などの検査に有用であることが示唆された。

**佐々木佳子, 丹羽祥一, 塚越博之, 吉住正和, 黒澤 肇, 小澤邦壽. ヒトメタニューモウイルス簡易検査キットの有用性の検討. 第 28 回関東甲信静支部ウイルス研究部会総会・研究部会, 千葉市 (2013 年 9 月)**

ヒトメタニューモウイルス (hMPV) は小児を中心とした急性呼吸器感染症の原因ウイルスの 1 つである。近年では、hMPV による集団感染事例も報告されていることから、迅速な検査が求められている。そこで、本研究では hMPV を迅速に診断するための簡易検査キット [アイピー・ヒトメタニューモ (IP-hMPV キット, イムノ・プローブ)] の有用性について検討を行った。91 検体のうち、IP-hMPV キットで陽性となったのは 20 検体、リアルタイム PCR 法により陽性となったのは 27 検体であった。リアルタイム PCR 法により陰性と判定された検体は全て IP-hMPV キット陰性であった。IP-hMPV キットの検出感度は 74.1%、全体一致率は 92.3%であった。IP-hMPV キットで陽性と判定された最小のウイルス遺伝子量は  $5.1 \times 10^3$  copies/mL であった。また、これらの HMPV の遺伝子型は、A1 が 1 検体、A2 が 3 検体、B1 が 7 検体、B2 が 16 検体であり、遺伝子型による違いは認められなかった。さらに、IP-hMPV キットは hMPV 以外のウイルスとの交差反応は認められなかった。結果から、IP-hMPV キットはベッドサイドで迅速に hMPV を診断するのに有用であることが示唆された。

**齋藤由倫, 田子博, 熊谷貴美代, 一条美和子, 小澤邦壽. 大気環境に関する体験型環境学習プログラムの開発 —地環研がもつノウハウの新たな地域貢献への活用—. 第 40 回環境保全・公害**



### **防止研究発表会、松山市 (2013 年 11 月)**

地方環境研究所がもつ調査ノウハウを活用して、SPM に関する体験型の環境学習プログラムを開発した。これを児童・生徒に対し実践し、学習効果を測るためのアンケートを学習前後で 2 回実施した。その結果、学習前は漠然としたイメージで大気環境を捉えていたのに対し、学習後では SPM の測定結果から大気環境の状態を客観的に捉えられるようになったことが示された。SPM を介して大気環境の全般的なことを学び、自身の調査体験に基づいてその現状を認識し、調査結果の科学的考察から人間活動と環境の関連について自発的に気づかせる本学習は、受講者の環境保全意識の向上と、さらには近年重視されている科学リテラシーの向上に寄与することが期待できた。

### **熊谷貴美代、一条美和子、田子博、齊藤由倫、有害大気汚染物質の環境基準超過事例、第 40 回環境保全・公害防止研究発表会、松山市 (2013 年 11 月)**

群馬県では、化学物質排出移動量届出制度 (PRTR) の届出データに基づき、揮発性有機化合物等の大気への排出量が多い事業所を対象に年間 6 カ所の当該事業所周辺大気環境調査を実施している。2012 年度に同調査を実施したところ、トリクロロエチレンの大気排出量が多い A 事業所の周辺において、トリクロロエチレンが極めて高い濃度で検出された。群馬県ではその対応として追加調査を実施し、環境基準濃度を大きく上回る高濃度が再度検出されたことから、A 事業所への立ち入り検査および指導をするとともに、有害大気汚染物質調査の対象地点として、継続的にモニタリングをしていくことになった。周辺環境調査結果と現在までのモニタリング結果について発表した。本事例は、PRTR データを元に計画した事業所周辺環境調査によって、トリクロロエチレン汚染の高濃度地域を把握することができた事例であり、PRTR データの有用性を示すものである。

### **塩原正枝、河合優子、佐々木佳子、石岡大成、腸管出血性大腸菌感染症 O157 の家族内感染における感染源調査、第 59 回群馬県医学検査学会、**

### **前橋市 (2013 年 11 月)**

2009 年度に県内の A 保健所管内において、腸管出血性大腸菌 O157:H7 VT1VT2 (以下 O157) 感染症患者の届出があった。保健所で接触者調査をしたところ、同居家族から 1 名の健康保菌者が判明した。さらに同家族から 2011 年度に患者 1 名の届出と接触者調査による 1 名の健康保菌者が判明した。保健所の喫食状況等調査では原因となるものは特定できなかった。しかし、この家族は牛舎に行く機会があったことから、感染源を接触した牛と推定し、感染源調査を実施した。結果として牛糞便より 8 株、環境 (し尿排水溝ふた) より 1 株の O157 が分離され、牛の O157 保有が確認された。また、2011 年の患者株と 2012 年の牛および環境由来株において、遺伝子学的相同性が確認された。

### **河合優子、佐々木佳子、井上伸子、黒澤 肇、横田陽子、小澤邦壽、塩原正枝、石岡大成、牛が感染源と推定された腸管出血性大腸菌感染症の疫学的解析、平成 25 年度地衛研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会第 26 回研究会、東京都 (2014 年 2 月)**

腸管出血性大菌 (以下 EHEC) 感染症の感染経路の一つとして、EHEC を保有する牛等との接触が知られている。群馬県内の某家族で、2009 年に 2 人が、その後 2011 年に 2 人が EHECO157 (以下 O157) に感染し届出となった。この家族はたびたび牛と接触していたことが確認されたため、当該家族で繰り返し発生する EHEC 感染症の感染源が牛であると推定して疫学調査を行った。牛糞 20 検体、牛舎内ふきとり 10 検体、計 30 検体のうち、9 検体から EHECO157:H7VT1VT2 が検出され、また 4 検体から EHEC OUT:HUTVT1 が検出された。今回の調査で検出された O157 菌株の PFGE 切断パターンは、2011 年度届出の O157 菌株の切断パターンと同一であり、また 2009 年度届出の O157 菌株の切断パターンとは数本のバンドが異なっているが、類似した切断パターンであった。PFGE 画像から作成したデンドログラムでも、今回検出された O157 菌株は、2011 年度届出の O157 菌株と類似度 100% を示し、また 2009 年度届出の O157 菌株とも高い類似度を示して

いた。IS-printing では、2ndSet は供試菌株全てが同一パターンを示した。1st Set は、他の供試菌株で見られるエキストラバンドが 2009 年度届出の O157 菌株ではみられないが、IS-printing の結果としては同一パターンと判断できるものであった。

**佐藤侑介，梅澤真一，高坂真一郎，山口直哉，中島穂泉，下田雅昭，小澤邦壽．地方環境研究所等による水質汚濁事故原因究明への取組みについて，平成 25 年度全国環境研協議会研究集会，仙台市（2014 年 3 月）**

水質汚濁事故には多様な事故が含まれ、事故の内容に応じて分析機関には様々な分析技術が要求される。こうした状況において当所でも今後さらに事故原因究明態勢の整備を進めていく際の参考とするために、全国自治体の公的分析機関（地方独立行政法人、公益財団法人を含む。）における水質汚濁事故への取組みの現状について調査を実施した。

水質汚濁事故発生に伴う現場対応マニュアルについては、78.3%の自治体でマニュアルが整備されているという結果であった。一方で、水質汚濁事故に係る分析機関での分析対応マニュアルが備わっている自治体の割合は35%程にとどまっていた。

事故対応マニュアルの整備状況と事故の原因究明率の相関性を見たところ、現場対応マニュアルについては整備の有無で原因究明率にほとんど差が見られなかったが、分析対応マニュアルは有りとは回答した群の方が無しとは回答した群よりも原因究明率が高かった。このことから分析機関において普段の水質分析で実施している項目だけでなく、様々な事故を想定した分析マニュアルを整備しておくことの重要性が示唆された。

**齊藤由倫，田子博，小澤邦壽．大気環境学習を通じた喫煙による室内汚染の認識．平成 25 年度群馬県地域保健研究発表会，前橋市（2014 年 3 月）**

SPM に関する環境学習の一環として、受講者(中学生)に対し、予め喫煙所で採取した SPM のサンプルとその測定結果を示し、タバコの喫

煙による健康リスクがいかに高いかを教えた。学習後のアンケート結果を解析したところ、受講者達のタバコに対する忌避意識は、一般的な中学生のそれに比べて高く、また、周囲で吸われるタバコに対する嫌悪感も受講者達の方が高いことが示された。これは本学習によって、喫煙所の室内汚染を SPM の調査結果から科学的に捉えた効果であろうと推察された。すなわち、本環境学習を通じた喫煙教育は一定の教育効果が期待できることが示された。