

## 1 学会誌への投稿

※当研究所職員は下線で示した。

**Kimura H, Saitoh M, Kobayashi M, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Tsukagoshi H, Shirabe K, Nishina A, Kozawa K, Kuroda M, Takeuchi F, Sekizuka T, Minakami H, Ryo A, Takeda M, Molecular evolution of haemagglutinin (H) gene in measles virus. *Sci Rep.* 2015;5:11648.**

We studied the molecular evolution of the haemagglutinin (H) gene (full length) in all genotypes (24 genotypes, 297 strains) of measles virus (MeV). The gene's evolutionary timescale was estimated by the Bayesian Markov chain Monte Carlo (MCMC) method. We also analysed positive selection sites. The MCMC tree indicated that the MeV H gene diverged from the rinderpest virus (same genus) about 250 years ago and that 24 MeV genotypes formed 3 lineages dating back to a 1915 ancestor (95% highest posterior density [HPD] 1882-1941) with relatively rapid evolution (mean rate:  $9.02 \times 10^{-4}$  substitutions/site/year). The 3 lineages diverged in 1915 (lineage 1, 95% HPD 1882-1941), 1954 (lineage 2, 95% HPD 1937-1969), and 1940 (lineage 3, 95% HPD 1927-1952). These 24 genotypes may have diverged and emerged between the 1940s and 1990 s. Selective pressure analysis identified many negative selection sites on the H protein but only a few positive selection sites, suggesting strongly operated structural and/or functional constraint of changes on the H protein. Based on the molecular evolution of H gene, an ancestor MeV of the 24 genotypes emerged about 100 years ago and the structure of H protein has been well conserved.

**Kobayashi M, Yoshizumi S, Kogawa S, Takahashi T, Ueki Y, Shinohara M, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Sasaki Y, Suzuki R, Shimizu H, Iwakiri A, Okabe N, Shirabe K, Shinomiya H, Kozawa K, Kusunoki H, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolution of the Capsid Gene in Norovirus Genogroup I. *Sci***

**Rep.** 2015;5:13806

We studied the molecular evolution of the capsid gene in all genotypes (genotypes 1-9) of human norovirus (NoV) genogroup I. The evolutionary time scale and rate were estimated by the Bayesian Markov chain Monte Carlo (MCMC) method. We also performed selective pressure analysis and B-cell linear epitope prediction in the deduced NoV GI capsid protein. Furthermore, we analysed the effective population size of the virus using Bayesian skyline plot (BSP) analysis. A phylogenetic tree by MCMC showed that NoV GI diverged from the common ancestor of NoV GII, GIII, and GIV approximately 2,800 years ago with rapid evolution (about  $10^{-3}$  substitutions/site/year). Some positive selection sites and over 400 negative selection sites were estimated in the deduced capsid protein. Many epitopes were estimated in the deduced virus capsid proteins. An epitope of GI.1 may be associated with histo-blood group antigen binding sites (Ser377, Pro378, and Ser380). Moreover, BSP suggested that the adaptation of NoV GI strains to humans was affected by natural selection. The results suggested that NoV GI strains evolved rapidly and date back to many years ago. Additionally, the virus may have undergone locally affected natural selection in the host resulting in its adaptation to humans.

**Sugai K, Tsukagoshi H, Nojima I, Fujiwara K, Kodera A, Kimura N, Tsuchimoto K, Sekimoto K, Kitada K, Takahashi N, Araki T, Fujii Y, Miyaji Y, Ikeda M, Kozawa K, Noda M, Kuroda M, Kimura H. Severe acute encephalopathy related to human parainfluenza virus type 2 infection in an infant: a case report. *JMM Case Reports*, 2015(2), [jmmcr.0.000072](https://doi.org/10.1093/jmmcr/0.000072).**

Introduction: We present here a rare case of severe acute encephalopathy with extra-pulmonary symptoms in a two-year-old girl caused by human parainfluenza virus type 2 (HPIV2) infection. Case Presentation: The patient was brought in by ambulance, presenting with fever, hypoxia and generalized tonic-clonic seizure, and was admitted

into Fukuyama Medical Center. She had a depressed level of consciousness with drowsiness. Her Glasgow coma score was 6. Based on the results of laboratory examinations, brain computed tomography, brain magnetic resonance imaging and electroencephalography, we diagnosed her with acute encephalopathy. Treatment was initiated with high-dose intravenous immunoglobulin, methylprednisolone pulse therapy and edaravone along with mechanical ventilation. We confirmed HPIV2 infection using samples of sputum from the intra-tracheal tube, throat swab and blood using next-generation sequencing and the PCR method. After continued steroid and anti-inflammatory therapy, the patient recovered completely. Conclusion: Extra-pulmonary symptoms in parainfluenza viral infections are rare. HPIV2 infection can cause severe acute encephalopathy via a systemic immunological reaction along with airway symptoms.

**Sugai K, Kimura H, Miyaji Y, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Sasaki-Sakamoto T, Matsunaga S, Yamada Y, Kashiwakura J, Noda M, Ikeda M, Kozawa K, Ryo A, Yoshihara S, Ogata H, Okayama Y. MIP-1 $\alpha$  level in nasopharyngeal aspirates at the first wheezing episode predicts recurrent wheezing. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(3):774-81.**

BACKGROUND: Respiratory virus-induced wheezing, such as that induced by respiratory syncytial virus (RSV) and human rhinovirus, is an important risk factor for recurrent wheezing and childhood asthma. However, no biomarkers for predicting recurrent wheezing have been identified.

OBJECTIVE: We searched for predictors of recurrent wheezing using nasopharyngeal aspirates obtained from patients during the first wheezing episode who were hospitalized with an acute lower respiratory tract illness.

METHODS: We enrolled 82 infants during the first wheezing episode (median age, 5.0 months) who were hospitalized for acute lower respiratory tract illness between August 2009 and June 2012 and

followed these patients for 2.5 years. Nasopharyngeal aspirates and blood samples were obtained on the first day of hospitalization. Viral genomes were identified by using RT-PCR and sequencing. Levels of 33 cytokines, tryptase, IgE, anti-RSV IgE, and anti-RSV IgG were measured by using ELISAs or the Bio-Plex multiplex assay. Predictors of recurrent wheezing were examined by using a stepwise logistic regression model with backward elimination.

RESULTS: Sixty percent of the patients experienced recurrent wheezing episodes. One or more viruses were detected in the nasopharynxes of 93% of the patients during the first wheezing episode. IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-9, MIP-1 $\alpha$ , and MIP-1 $\beta$  levels were significantly higher among patients with recurrent wheezing than among those without recurrent wheezing ( $P < .05$  or  $.01$ ). The stepwise model demonstrated that the MIP-1 $\alpha$  level (odds ratio, 7.72; 95% CI, 1.50-39.77;  $P = .015$ ) was the strongest independent predictor of the occurrence of recurrent wheezing.

CONCLUSION: An increased MIP-1 $\alpha$  level in nasopharyngeal aspirates from patients with acute respiratory symptoms during the first wheezing episode caused by viral infections might predict recurrent wheezing.

**Kotani O, Naeem A, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Nakajima N, Hosomi T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Neuropathogenicity of Two Saffold Virus Type 3 Isolates in Mouse Models. *PLoS One.* 2016;11(2):e0148184.**

OBJECTIVE: Saffold virus (SAFV), a picornavirus, is occasionally detected in children with acute flaccid paralysis, meningitis, and cerebellitis; however, the neuropathogenicity of SAFV remains undetermined.

METHODS: The virulence of two clinical isolates of SAFV type 3 (SAFV-3) obtained from a patient with aseptic meningitis (AM strain) and acute upper respiratory inflammation (UR strain) was analyzed in neonatal and young mice utilizing virological,

pathological, and immunological methods.

RESULTS: The polyproteins of the strains differed in eight amino acids. Both clinical isolates were infective, exhibited neurotropism, and were mildly neurovirulent in neonatal ddY mice. Both strains pathologically infected neural progenitor cells and glial cells, but not large neurons, with the UR strain also infecting epithelial cells. UR infection resulted in longer inflammation in the brain and spinal cord because of demyelination, while the AM strain showed more infectivity in the cerebellum in neonatal ddY mice. Additionally, young BALB/c mice seroconverted following mucosal inoculation with the UR, but not the AM, strain.

CONCLUSIONS: Both SAFV-3 isolates had neurotropism and mild neurovirulence but showed different cell tropisms in both neonatal and young mouse models. This animal model has the potential to recapitulate the potential neuropathogenicity of SAFV-3.

**木村博一, 吉住正和, 塚越博之, 長澤耕男, 大石和徳. 喘息・喘鳴に關与する呼吸器ウイルスとサイトカイン産生. 臨床免疫・アレルギー科 63(4) (2015年4月発行)335-339.**

以前より、呼吸器ウイルス感染により、乳幼児に気道過敏性の亢進による喘鳴が生じることがよく知られていた。また、成人においても喘息の発症や増悪、慢性閉塞性肺疾患(COPD)の増悪に呼吸器ウイルス感染が密接に關与することが示唆されている。現在、種々の呼吸器ウイルス感染によって誘発される喘息の phenotype を virus-induced asthma というようになっている。現在のところ、virus-induced asthma の病態や発症・増悪機序には不明な点が多い。一方、本疾患に關与する呼吸器ウイルスの種類やサイトカイン産生に關する生体防御機構に關する知見が集積しつつある(5-7)。そこで、本稿においては、喘息・喘鳴に關与する主な呼吸器ウイルス(ヒトライノウイルス, RS ウイルスおよびヒトパラインフルエンザウイルス)の基礎とこれらのウイルス感染細胞から産生されるサイトカインプロファイルの概要について述べる。

**木村博一, 塚越博之, 梁明秀, 黒田誠. 次世代シーケンサーによる呼吸器ウイルスゲノム解析 - ライノウイルス主要抗原遺伝子解析への応用- 臨床とウイルス 43(3): 68-74 2015.**

次世代シーケンサー(NGS)は、RNA ウイルスのゲノム解析にも応用されるようになってきている。本稿においては、NGS によるウイルスゲノム解析の一例として、human rhinovirus species C (HRV-C)の主要抗原である VP1-3 全長遺伝子塩基配列とその配列を先駆的バイオインフォマティクス技術により解析した内容を述べた。

**齊藤由倫, 田子博. 視覚による官能試験を利用したPM2.5簡易測定法の検討—地方環境研究所の強みを活かした科学リテラシー向上のための環境学習を目指して—. 全国環境研会誌, 2016; 41(1): 28-34.**

PM2.5 の環境学習を行うために、視覚による官能試験を利用した PM2.5 質量濃度 (以下、PM2.5 濃度) の簡易測定法を検討した。地域特性の異なる一般環境、山間地、沿道の3地点で、異なる時期にPM2.5をフィルター捕集し、その視覚的な色の濃淡を官能試験したところ、3地点とも色の濃淡とPM2.5濃度は比例した。そのため、PM2.5濃度が既知の標準フィルターの色を指標に、官能試験によって未知のPM2.5濃度を簡易測定できることが考えられた。ただし、PM2.5濃度は同じでも、沿道のそれは他の2地点よりも色が有意に濃いと判定され、自動車排ガス由来の元素状炭素の影響が考えられた。また、同じ地点でも色の濃淡が異なる時期があった。地点別のPM2.5簡易測定法の確度は、日環境基準 35 µg/m<sup>3</sup> と同等の実測値 (公定法) に対して、86~114% (一部 151%) であった。時期による影響で一部 151%となったことから、標準フィルターの選択 (作成) には地点と時期を考慮する必要が考えられた。

## 2 学会等での発表

※当研究所職員は下線で示した。

**Hiroshi Tago, Masahito Ishii, Akihiro Iijima, Current status on environmental education in Japanese elementary schools: What is lacking in present Japanese environmental education?, World Environmental Education Congress (8<sup>TH</sup> WEEC), Gothenburg SWEDEN(2015年6月)**

This study is intended to clarify key issues confronting current Environmental Education (EE) at elementary schools. From a questionnaire survey, we will discuss the outlook for EE in the elementary education. Questionnaire survey was carried out to all the 58 principals of public elementary schools in Takasaki City, Japan. The questionnaire prepared the question of both the selection type and the description type focusing on the following contents: (1) implementation of EE, (2) teacher(s) in charge of EE, and (3) requirements of EE in school education. In contrast with government expectation, this survey suggests that suitable EE is not necessarily performed at elementary schools. Current Japanese EE is positioned to cultivate multifaceted and unbiased perspectives for environment. A consecutive curriculum for EE should be prepared of course, simultaneously we need to develop teaching materials for EE which are useful for both pupils and teachers.

**Yoshinori Saitoh, Hiroshi Tago, Kunihisa Kozawa, Experience-based Learning with Analytical Perspective about Atmospheric Environment focused on PM2.5 in Japan, World Environmental Education Congress(8<sup>TH</sup> WEEC), Gothenburg SWEDEN(2015年6月)**

We developed the experienced-learning program of PM2.5, which intends to provide occasions of measuring and thinking about atmospheric environment scientifically based on numerical data. This program was implemented to students, who

were 13 to 15 years old, and evaluated whether it affect to their “Ability of analysis and thinking” by questionnaire. Concentrations of PM2.5 measured by students ranged from 19 to 41  $\mu\text{g}/\text{m}^3/\text{day}$ , the highest value at the most congested intersection exceeded the Japanese environmental standard (35  $\mu\text{g}/\text{m}^3/\text{day}$ ). On the result of questionnaire "What do you think about the state of the air?", some students' answer changed from “Don't know” to “Polluted” before and after the program. This change probably suggests that the students were able to discuss about atmospheric environment quantitatively with analytical perspective and judge the state of it objectively. This experiences would contribute to “Ability of analysis and thinking”.

**Itsuki Kakitani, Hiroki Masui, Shumpei Ujiyama, Bok Ryun Chang, Kentaro Koide, Kazuyoshi Hashidate, Masataka Shiono, Kazue Kudo, What measures are effective for the dengue epidemic in Japan? A study using a modified Ross-Macdonald model International Conference on Asian Innovative Mathematical Modeling for the Analysis of Infectious Disease Data (IMAID2015) 札幌(2015年10月)**

Dengue is one of the most important mosquito-borne viral diseases in the world. Japan had had only imported dengue cases for recent 70 years. From August to October 2014, we experienced an outbreak of autochthonous dengue transmitted by *Aedes albopictus* in Tokyo. With the expansion of the geographical distribution of *Ae. Albopictus*, dengue epidemic might be repeated next year and beyond. In this study, we clarified what measures were effective in preventing dengue transmission by using a mathematical model. The model, which is a modified Ross-MacDonald model, consists of two sets of host-vector compartments. Each set has susceptible-infected-recovered compartments for host and susceptible-infected compartments for vector. The two sets correspond to high-risk and low-risk areas, and only host can move between

them. In the high-risk area, e.g. parks, the number of vectors per capita is larger than in the low-risk area, e.g. business districts and residential areas.

The parameters are set on the situation of Tokyo in August, which is the time when many mosquitoes live during a year in Japan. Changing parameters, such as biting and mobility rates, we estimate the basic reproduction number  $R_0$  and the cumulative infection cases during 90 days to evaluate the effectiveness of control measures

**田子博, 飯島明宏, 馬場龍樹. 大学生による水に関する e-learning 教材の開発. 日本環境教育学会第 26 回大会, 名古屋(2015 年 8 月)**

より効果的な環境教育を実践していくために、現在の「感性教育」に偏重した学習カリキュラムではなく、包括的な環境教育プログラムの開発を目指した。このプログラムの一部として e-learning 型教材の開発を大学生を中心として行った。さらに、このプロジェクトを通して、教材の主たる作成者である大学生に対しての学習効果を評価することも目的としている。本発表においては、教材作成プロジェクトの進め方およびその内容について紹介した。

**齊藤由倫, 田子博, 松田錦弥. 科学的な視点の向上を目指した環境教育—地方環境研究所のノウハウを活用した PM2.5 調査— 日本環境教育学会第 26 回大会, 名古屋(2015 年 8 月)**

地方環境研究所が持つ PM<sub>2.5</sub> 測定ノウハウを活用して、体験学習型の教育プログラムを開発した。これを中学校科学部の生徒 18 人に対して実践し、生徒に対して教育の前後で自由記述式アンケートを行った。アンケート結果をテキストマイニング分析したところ、教育前は PM2.5、ニュース、中国が共起したことから、メディアから受けた印象の強さがうかがえたが、教育後は PM2.5、分かる、場所、量などが共起したことから、これらの情報を基に PM2.5 の現状を客観的に考察・判断できたことが示唆された。

**田子博, 熊谷貴美代, 齊藤由倫, 飯島明宏, 工藤慎治, 群馬県における PM2.5 と無機ガスの同**

**時測定. 第 56 回大気環境学会年会, 東京都(2015 年 9 月)**

群馬県内で大気環境の異なる複数の地点(前橋、富岡、赤城山)において、PM2.5 と無機ガスの同時測定を行い、その結果について報告した。硫酸塩粒子による汚染は各地点間の差が小さく、越境汚染を含む広域的なものが主であると考えられた。それに対し、硝酸塩粒子は季節差、地域差ともに大きいため、地域汚染の影響が大きいと考えられた。前橋におけるアンモニアガス濃度は他の地点と比較して極めて高く、これが前橋における硝酸塩粒子の生成に寄与している可能性が示唆された。

**板野泰之, 山神真紀子, 長谷川就一, 田子博, 長田健太郎, 鈴木義浩, 秋山雅行, 山川和彦, 菅田誠治. PM2.5 質量濃度自動測定機の維持管理のための空試験データの有効活用法の検討, 第 56 回大気環境学会年会, 東京都(2015 年 9 月)**

現状の空試験結果の評価は 15 時間以上の時間値の算術平均値が規定の値を超えないかどうかのみによってなされており、これでは時間値のばらつきが考慮、活用されていない。700 件近い空試験の事例を解析した結果、平均値の多くは規定内におさまっていた一方で、ばらつき(標準偏差)は広範囲の分布を示した。区間推定という統計手法を用いて平均値だけでなく標準偏差も管理すると、より機器の維持管理に有効であることがわかった。

**熊谷貴美代, 田子博, 齊藤由倫, 飯島明宏, 工藤慎治. PM2.5 の起源解明に向けた有機マーカーの多成分同時測定. 第 56 回大気環境学会年会, 東京都(2015 年 9 月)**

PM2.5 対策を検討する上で、各種発生源の寄与割合を把握することが必要である。特に PM2.5 の主要成分である有機粒子に関する知見が求められている。本研究では発生源の指標となる有機マーカー成分に着目し、有機マーカーの多成分同時測定法を検討するとともに、郊外地点と森林地点においてフィールド観測を実施した。有機マーカーの測定は、溶媒抽出—誘導体化 GC/MS 法とし、ピノン酸、2-メチルテトラール、ジカルボン酸類 (C3~C9)、レボグルコサンなどの同時分析メソッドを作成した。前橋

と赤城山において、2014年夏および秋にPM<sub>2.5</sub>を採取し、本法を用いて有機マーカ成分を測定した結果、夏季には二次生成由来の成分が増加し、秋にはバイオマス燃焼由来の成分が増加するなど、地点の周辺環境や季節によって各マーカ成分の挙動に特徴が見られることが分かった。

**熊谷貴美代, 田子博, 山神真紀子, 寺本佳宏, 橋本貴世, 牧野雅英, 佐久間隆, 長谷川就一, 菅田誠治, 全国PM<sub>2.5</sub>成分測定結果から見た高濃度日における地域別化学組成の特徴(第2報). 第56回大気環境学会年会, 東京都(2015年9月)**

PM<sub>2.5</sub>の短期基準超過となる要因を探るため、全国モニタリングによるPM<sub>2.5</sub>成分分析結果を利用して、高濃度日におけるPM<sub>2.5</sub>組成の特徴を把握することを目的に解析を行った。本発表では、昨年度の2011年度データ解析結果の続報として、2012年度データを加えた解析結果について報告する。

使用したデータは環境省により公表されている2011、2012年度の常時監視PM<sub>2.5</sub>成分測定結果である。PM<sub>2.5</sub>濃度が35 µg/m<sup>3</sup>以上だった日を高濃度日としてデータを抽出した。さらに高濃度日については、主要5成分のデータについてクラスター分析を行い、得られたグループについて季節や地域毎にそれぞれの発生状況を解析した。クラスター分析の結果、6種類の組成パターンに分類された。関東では、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>が多いパターンやOCが多いパターンなど地域汚染由来を示す組成パターンが多く発生しているのに対し、九州ではSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が多いパターンが高濃度日の8割以上を占めていた。このように各パターンの発生頻度は九州、関東などの地域や季節によって大きく異なることが明らかになった。

**工藤慎治, 飯島明宏, 熊谷貴美代, 田子博, 齊藤由倫. PM<sub>2.5</sub>サンプルのGC/MS分析によって得られた未定量ピークの利用可能性(1)-クラスター分析による経時変化の特性把握. 第56回大気環境学会年会, 東京都(2015年9月)**

PM<sub>2.5</sub>は発生源から直接排出される一次粒子と、大気中での光化学反応などにより生成する二次粒子に大別される。このうち、二次粒子の動態および発生源寄与に関する理解は十分とはいえない。そこで、本研究では有機成分に着目

し、GC/MS分析のスキャンデータとして蓄積された網羅的な組成情報を利用して、有用な情報を取り出すことができるか検討した。

**飯島明宏, 工藤慎治, 熊谷貴美代, 田子博, 齊藤由倫. PM<sub>2.5</sub>サンプルのGC/MS分析によって得られた未定量ピークの利用可能性(2)-因子分析による発生源の推定. 第56回大気環境学会年会, 東京都(2015年9月)**

有機粒子は、無機塩粒子とともにPM<sub>2.5</sub>中で大きな割合を占めている。しかしながら、発生源からの一次排出に加え、大気中での二次生成といった複雑な発生過程を含むことから、有機粒子の環境中での動態や個々の発生源からの寄与については十分に解明されていない。本研究では、GC/MS分析のスキャンデータとして蓄積された網羅的な組成情報を用い、因子分析を用いた有機粒子の動態解析における未定量ピークの利用可能性について検討した。

**橋本貴世, 山神真紀子, 武田麻由子, 熊谷貴美代, 寺本佳宏, 宮田朋子, 長谷川就一, 菅田誠治, 2014年4月におけるPM<sub>2.5</sub>高濃度事例の解析. 第56回大気環境学会年会, 東京都(2015年9月)**

2014年4月16~18日にかけて中国・四国方から関東地方までの広域的なPM<sub>2.5</sub>高濃度事例が観測された。今回、複数の地方環境研究所が共同で実施しているPM<sub>2.5</sub>の同時観測で得られた成分分析結果から、これらの高濃度事例の要因について解析した。PM<sub>2.5</sub>質量濃度35 µg/m<sup>3</sup>を超過した際の主要成分は、いずれもSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>であったが、地域によってはNO<sub>3</sub><sup>-</sup>やOCも高くなっていた。今回の高濃度事例は越境汚染と地域汚染の複合汚染が原因と見られるが、地域汚染の要因としては、四国・東海・北陸・関東といった地域ごとで異なると推察された。

**寺本佳宏, 山神真紀子, 花岡良信, 熊谷貴美代, 宮田朋子, 中島亜矢子, 橋本貴世, 長谷川就一, 菅田誠治. 2014年5.6月におけるPM<sub>2.5</sub>高濃度事例の解析. 第56回大気環境学会年会, 東京都(2015年9月)**

2014年5月27日～6月4日に九州から関東にかけてPM<sub>2.5</sub>の広域的な高濃度事象が観測された。本研究では、複数の地方環境研究所が共同でPM<sub>2.5</sub>の観測を実施し、その成分分析結果から、同期間における高濃度要因について解析を行った。期間の前半はSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が高く、またCa<sup>2+</sup>濃度も高くなっており(図2)、黄砂を含んだ大陸からの越境汚染の影響が示唆された。6月2～4日は前橋、加須、長野で高濃度が観測された。成分はSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度が高いだけでなく、NO<sub>3</sub>濃度が高い地点もあり、大陸からの越境汚染だけでなく、国内汚染の影響も示唆された。

**遠藤昌樹, 浅川大地, 熊谷貴美代, 山神真紀子, 橋本貴世, 武田麻由子, 花岡良信, 牧野雅英, 小泉英誉, 梶田奈穂子, 長谷川就一, 菅田誠治**  
**2014年7月におけるPM<sub>2.5</sub>高濃度事例の解析**  
**第56回大気環境学会年会, 東京都(2015年9月)**

2014年7月23日から30日にかけて、東日本を中心とするPM<sub>2.5</sub>高濃度事象が観測された。北海道では、25日にシベリアの森林火災が原因と見られる煙霧が観測されており、翌26日には注意喚起情報が発表された。また、数日前後して関東地方や東北地方でも日平均値が35μg/m<sup>3</sup>を超える高濃度が観測された。本研究では、地方環境研究所が共同でPM<sub>2.5</sub>を採取し、得られた成分分析結果から、2014年7月に発生した高濃度要因について解析した。

期間の前半は関東地方ではPM<sub>2.5</sub>濃度上昇に合わせてSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度も上昇していた。このときOxが高濃度となっており、二次生成粒子が発生しやすい状況下で高濃度になったと推察された。一方28～30日の高濃度事象では、宮古と村山ではPM<sub>2.5</sub>の濃度上昇に合わせてOC及びレボグルコサン濃度が顕著に上昇しており、バイオマス燃焼による影響が強く示唆された。

**河合優子, 櫻井昇幸, 田子明弘, 松井孝男.**  
**VNTR解析による結核菌サーベイランスの必要性について,**  
**日本結核病学会関東支部学会,**  
**前橋市(2015年9月)**

疫学情報により関連性が疑われる結核患者5名について、分離菌株の収集とVNTR解析実施を試みた。分離菌株が収集できたのは3株で、

VNTR解析結果から2株は同一感染源、1株は別の感染源であることが示唆された。収集できなかった2株は医療機関等ですでに廃棄されていた。結核菌は特定病原体(BSL3)であるため、自施設での検査を終えると速やかに廃棄されることが多い。行政等による網羅的サーベイランスの必要性を再認識した。

**櫻井昇幸, 河合優子, 田子明弘. 散发事例として登録された5例の肺結核患者がその後の調査により疫学的関連が確認された1例, 日本結核病学会関東支部学会, 前橋市(2015年9月)**

約1年間に渡り、それぞれ関連性が確認されていない散发事例として登録された5名の肺結核患者について、その後の調査により飲食店や仕事上の接触があったことが判明した。そのうち3名の分離菌株が収集され、VNTR解析を実施したところ、2名の一致が確認された。積極的な疫学調査の重要性を痛感した1例であった。

**佐々木佳子, 丹羽祥一, 塚越博之, 黒澤肇, 藤田雅弘, 猿木信裕. 群馬県で検出されたA群ロタウイルスについて. 第30回関東甲信静支部ウイルス研究部会, さいたま市(2015年9月)**

ロタウイルスは乳幼児の嘔吐下痢症の原因ウイルスであり、ロタウイルス腸炎は重症化しやすいことでも広く知られている。現在わが国ではロタウイルス感染症を予防するワクチンとしてロタリックス(1価)、ロタテック(5価)の2種類が、それぞれ2011年、2012年に承認され、国内におけるワクチン接種率は年々増加傾向にある。本研究は群馬県内における2008年から2015年までの発生動向調査によって得られたロタウイルス陽性検体について遺伝子系統解析をおこない、ロタウイルスワクチンが流行の遺伝子型分布に与えた影響について調査したので、その結果について報告する。

検体は発生動向調査によって得られた検体のうち、2008年から2015年までロタウイルス陽性であった78検体を使用した。検体はRNA抽出後プライマーを用いてVP7領域を遺伝子増幅、シーケンス解析をおこない、系統樹解析によって、それぞれの遺伝子型を決定した。

2008年は2検体中G9型が2検体であった。2009年は5検体中G1型が2検体、G9型が3検体であった。2010年は3検体中G1型、G3型、G9型がそれぞれ1検体であった。2011年は8検体すべてがG1型であった。2012年は9検体すべてがG1型であった。2013年は5検体中G1型が2検体、G2型が3検体であった。2014年は24検体中G1型が16検体、G2型が5検体、G3型が1検体、G9型が2検体であった。2015年は22検体中G1型が11検体、G2型が2検体、G3型が1検体、G9型が8検体であった。ロタウイルスワクチンが発売された2011年、2012年以降は1型が占める割合の減少と9型の増加が観察されたが今後さらなる調査が必要である。

**中曽根佑一、高坂真一郎、梅澤真一、井上俊、町田仁、猿木信裕. フェノール類一斉分析法の検討. 平成27年度全国環境研協議会関東甲信静支部水質専門部会、長野市(2015年10月)**

平成24年度から平成25年度にかけてノニルフェノール(NP)等が水生生物保全環境基準等に追加され、水質監視業務を実施している地方環境研究所の業務の量的又は費用的な負担は増大してきている。一方で、人員や予算等は削減傾向にあるため、水質監視業務の効率化は急務と言える。水質監視業務の効率化においては一斉分析法が有用であるとされており、当所では昨年度までに水生生物保全環境基準等が設定されているフェノール類の一斉分析法の検討を行い、フェノール、2,4-ジクロロフェノール(2,4-DCP)、4-t-オクチルフェノール(4-t-OP)の一斉分析法を確立した。現在、この一斉分析法にNPを追加する検討を行っており、本発表ではその経過報告を行った。

NPを誘導体化(TMS化)した際には、マススペクトル等から判断し、14本のピークを用いて定量を行った。標準品を用いて0.5~10mg/L(全異性体合計)の範囲で検量線を作製したところ、各異性体の検量線の相関係数は0.989~0.995であった。繰り返し測定によりNP(全異性体合計)の装置検出下限値(IDL)及び装置定量下限値(IQL)を算出したところ、IDL 0.016mg/L、IQL 0.055mg/Lであった。

公定法でNPを分析するとIDL 0.14mg/L、IQL 0.48mg/Lであったため、TMS化することでIDL及びIQLを大きく改善することができた。生物特Aの水生生物保全環境基準値が0.0006mg/Lと最も小さいため、この手法は試料を100倍濃縮することで水質監視業務に適用することができる。また、TMS化することで、公定法では分析条件の異なるフェノール類が一斉分析が可能となった。

**齊藤由倫、田子博、松田錦弥. 科学的な視点を養う環境教育—研究所のノウハウを活用して生徒自らが調べるPM2.5—. 平成27年度全国環境研協議会関東甲信静支部大気専門部会、静岡(2015年11月)**

地方環境研究所のノウハウを環境教育の体験学習に活かした教育プログラムを開発し、生徒に対して実践した。その結果、本プログラムは、PM2.5の『見える化』による大気汚染の実感と、調査結果や各種データに対する論理的な考察、さらに現状の客観的な判断という一連の経験を提供できることが考えられた。このような経験は、環境問題に関する科学リテラシーの向上に寄与することが期待された。

**藤田雅弘、塚越博之、小林美保、松田錦弥、猿木信裕、鈴木渉、大熊博、木村博一. 便からのノロウイルス検査におけるBL採便容器の有用性評価. 第36回日本食品微生物学会、川崎市(2015年11月)**

NoVの検査診断は、食安監発第0514004号による高感度な遺伝子検査法(公定法)が主として使われているが、検査診断コストが高く、一度に多数の検体を測定することは困難である。BLEIAでは、特別な手技を必要とすること無く簡便にNoVの検査が可能であるが、大量の検体を処理するには糞便を安全に前処理するための時間が必要であった。今回、前処理操作を簡便にするため開発したBL採便容器の有用性を評価した。2014年12月~2015年4月にかけて、群馬県で発生した食中毒事例等から得られた糞便の139検体をrRT-PCRで検査した結果、NoV陽性が47検体、NoV陰性が92検体であった。BL容器法で検査した結果、NoV陽性が43



検体、NoV 陰性が 96 検体であり、懸濁法により検査した結果、NoV 陽性が 45 検体、NoV 陰性が 94 検体であった。感度、特異度および一致率は、それぞれ BL 容器法では 91.5%、100%、97.1%、懸濁法ではそれぞれ 95.7%、100%、98.6%であった。なお、NoV 陽性検体の遺伝子型には、2014/15 シーズンに流行した GII.17 が含まれていたが、BL 容器法および懸濁法ともにこれらの検体から高感度に検出することができた。本研究の結果から、BL 容器法は懸濁法と同等の性能であり、新たに流行した変異株の検出にも対応可能であることがわかった。BL 採便容器は、簡便な操作で一定量の糞便を採取することができる容器であり、安定性から 1 週間程度の冷蔵保存も可能である。したがって、懸濁法よりも大量の検体を迅速かつ安全に検査が行えることから、調理従事者の検便検査等における迅速な NoV スクリーニングに応用できると考えられた。

#### **塚越博之. 新しい時系列分子系統解析法. 第 27 回ウイルス性下痢症研究会, 福岡市 (2015 年 11 月)**

分子生物学の発展に伴って生物の進化を遺伝子レベルで解明しようとする分子進化学が誕生した。分子レベルでの進化は比較的一定の速度で起こり種の系統を反映していると考えられている。この性質を分子時計として用いることにより種の分岐年代を推定することも可能になってきている。現在では、解析技術の発展に伴ってウイルスの進化を分子進化学的に解明する試みが多く行われている。従来より、ウイルスの系統樹解析には近隣結合法(NJ法)が主として使用されてきた。NJ法は進化速度が速いゲノムの解析に使用され、遺伝学的距離、進化方向の推定およびクラスター解析が可能であるという特徴がある。しかし近年コンピュータの処理速度の進歩によって、ベイジアン・マルコフ連鎖モンテカルロ法 (Bayesian Markov chain Monte Carlo method, MCMC 法) による解析を行う事が出来るようになってきた。MCMC 法は、NJ 法に加えて塩基置換速度 (進化速度) の推定が可能であるという特徴があり、分岐年代の推定が可能になる。

ノロウイルス (NoV) に代表される下痢症ウイルスは、毎年大きな流行を起こしている。NoV は流行の大きさから多くの施設で検出されているが、NJ 法による解析が主として行われている。本講演では、新しい時系列解析法として MCMC 法により NoV について行った概要を紹介する。

#### **高坂真一郎, 中曽根佑一, 梅澤真一, 町田仁, 猿木信裕. 高速液体クロマトグラフを用いた環境水中 LAS 分析法の検討について. 第 42 回環境保全・公害防止研究発表会, 東京都 (2015 年 12 月)**

平成 25 年 3 月に水性物の保全に係る環境基準として設定された直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩 (LAS) は陰イオン界面活性剤である。LAS の分析法について、公定法では固相抽出・高速液体クロマトグラフ・タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) が採用されている。LC-MS/MS は高感度・高性能な分析機器である反面、非常に高価であり各地方環境研究所によって導入状況に差が生じている。

当県の状況としては、環境基準に設定されている LC-MS/MS 分析対象物質が LAS のみとなっていることもあり、その導入には至っていない。しかし、昨年度の県内公共用水域河川環境調査において、一部の河川で LAS が環境基準を超過する可能性があることが明らかとなった。そのため、発生原因を含めた環境状況を調査することが急務となっている。本研究では、水道法の陰イオン界面活性剤 (LAS) 分析法に採用されている固相抽出・高速液体クロマトグラフ法を環境水に対して導入することを検討するため、実際の河川水を用いて分析条件の検討を行った。

超純水と河川水を使用した添加回収試験 (LAS 濃度: 2mg/L) を実施したところ、超純水では LAS の同族体 5 種のピーク分離は良好であり回収率も 89~109% と良好な分析を行う事ができた。一方、河川水では炭素鎖の長いものほどピークがブローになり感度が低下した。回収率も C10: 92%、C11: 80%、C12: 69%、C13: 54%、C14: 44% であり、炭素数の大きい異性体ほど顕著に回収率が低下した。河川水の添加回収試験での回収率の低下は河川水中の夾雑物等の影響が大きいと考えられるため、クリーンア

ップ等の検討を行い、環境調査を実施する予定である。

**熊谷貴美代, 田子博, 齊藤由倫, 木村真也, 飯島明宏, 工藤慎治, PM2.5 中の有機マーカー成分の測定について. 第 42 回環境保全・公害防止研究発表会, 東京都(2015 年 12 月)**

発表内容は「熊谷ら, PM2.5 の起源解明に向けた有機マーカーの多成分同時測定, 第 56 回大気環境学会年会, 東京都 (2015 年 9 月)」に同じ。

**齊藤由倫, 田子博, 松田錦弥. 科学的な視点を養う環境教育－研究所のノウハウを活用して生徒自らが調べる PM2.5－. 第 31 回全国環境研究所交流シンポジウム, つくば(2016 年 2 月)**

発表内容は「齊藤由倫, 田子博, 松田錦弥. 科学的な視点を養う環境教育－研究所のノウハウを活用して生徒自らが調べる PM2.5－. 平成 27 年度 全国環境研協議会関東甲信静支部大気専門部会, 静岡 (2015 年 11 月)」に同じ。

**熊谷貴美代, 田子博, 齊藤由倫, 飯島明宏, 工藤慎治. PM2.5 中の有機マーカー成分の測定について. 第 31 回全国環境研究所交流シンポジウム, つくば(2016 年 2 月)**

発表内容は「熊谷ら, PM2.5 の起源解明に向けた有機マーカーの多成分同時測定, 第 56 回大気環境学会年会, 東京都 (2015 年 9 月)」に同じ。

**松井重憲, 井上伸子, 佐々木佳子, 小林美保, 黒澤肇, 藤田雅弘, 猿木信裕. 市販食材における食中毒原因菌の検索. 関東甲信静支部細菌研究部会. 静岡市(2016 年 2 月)**

食中毒の原因菌では腸管出血性大腸菌 (EHEC)、カンピロバクターなどが高頻度に分離されている。今回、県内の複数の店舗から購入した野菜や肉等について、食中毒原因菌による汚染状況を調査した。

平成 26 年 10 月から肉類 (牛、豚、鶏)、野菜類、鶏卵、魚介類等計 80 品目を購入し材料とした。検査対象は、*E.coli* (EHEC を含む)、カンピロバクター、セレウス菌、ウエルシュ

菌など 14 菌種とした。漬け物等 (野菜) の 15 検体は、大腸菌群と一般生菌数も測定した。13 店舗の計 80 検体のうち、5 店舗の 10 検体 (12.5%) から原因菌が検出された。鶏肉類からはサルモネラ O7 群、カンピロバクタージェジュニ、病原大腸菌 O18 が検出された。野菜類は白菜、人参、馬鈴薯、ほうれん草、ゴボウ、もやしの計 6 検体からセレウス菌が検出された。セレウス菌は全て嘔吐毒遺伝子の保有はなく、下痢毒産生性も陰性であった。キャベツ漬け及び茄子カット漬けでは大腸菌群は  $3.0 \times 10^3 \text{cfu/g}$  以上、一般生菌数は  $3.0 \times 10^3 \text{cfu/g}$  以上であった。海藻類の切り昆布、戻しワカメは大腸菌群不検出、一般生菌数は  $1.1 \times 10^3 \text{cfu/g}$ 、 $1.6 \times 10^3 \text{cfu/g}$  であった。本調査から、鶏肉類からはカンピロバクター及びサルモネラなど、野菜類は土壌由来の細菌が付着し、食中毒原因の可能性が示唆された。従って、衛生的な取扱い、十分な洗浄と調理など指導・啓発が重要と考えられた。

**梅澤真一, 町田仁, 松田錦弥, 猿木信裕. 全自動同定・定量データベースを用いた群馬県内河川中農薬流出実態の解明. 第 50 回日本水環境学会年会, 徳島市(2016 年 3 月)**

GC/MS の条件を固定し、化学物質のリテンションタイム、マススペクトル等の情報をあらかじめデータベースに蓄積しておくことで、標準物質を使用せずに自動で同定・定量を行うことができる全自動同定・定量データベース (AIQS-DB) を用いて群馬県内河川の農薬についてスクリーニング調査を行った。調査地点は県内を流れる一級河川利根川の本流から 3 地点とその支流の環境基準点 9 地点の計 12 地点とし、月 1 回の採水・分析を行った。

調査の結果、17 種類の農薬が検出された。そのうち検出回数が最も多かったのは水田で除草剤として使用されるプロモブチドで、6 月には全 12 地点、7 月には 8 地点で検出された。また、検出された農薬全体でも、水田で使用される農薬が多く、検出される時期は田植えの時期である 6 月、7 月が全体の 8 割以上を占め、9 月以降はほとんど検出されなかった。河川で検

出される農薬は水田からの流出が大きく影響していることが示唆された。

今回検出された 17 種の農薬のうち基準が設定されているものは 12 種あったが、そのうち当県で定期的にモニタリングを行っているものは 3 種に留まった。また、検出された農薬の中には当所で標準品を所有していないものも含まれており、AIQS-DB をスクリーニングに用いることは有用であったといえる。

### **佐藤侑介, 高坂真一郎, 中島穂泉, 塩野剛, 吉田幸正. 草津温泉湯畑での総硫黄濃度低減効果の実証. 平成 27 年度日本水環境学会年会併設研究集会, 徳島市(2016 年 3 月)**

草津町にある湯畑源泉は、湧出した直後の成分のまま浴用利用する場合、総硫黄濃度が一定値以上含まれていることから、国が示す利用基準の適用を受け、浴室内に換気扇を設置するなどの硫化水素ガス対策が必要となる。一方、本源泉は江戸時代に設置されたとされる湯樋等の施設を通じて各旅館に引湯しており、その過程で総硫黄濃度が低減されているとの報告があることから、各旅館で浴用利用する段階において総硫黄濃度が低減していれば、換気扇の設置などの構造基準は不要と考えられた。今回、草津湯畑の湯樋等による総硫黄濃度の低減効果について、近年では科学的な検討がなされた報告例が少ないことから、本調査を実施した。

調査は平成 24 年 8 月から平成 25 年 7 月までの間で湯の花を除去する月は 2 回/月で計 12 回、湯の花を除去しない月は 1 回/月で計 6 回、湯畑内の 6 地点で総硫黄（硫化水素及びチオ硫酸イオン）等の分析を実施した。

湯畑の各調査地点における総硫黄濃度は、源泉で  $5.8 \pm 0.8 \text{mg/L}$  であり、湯樋を経過することで低減していき、各旅館で温泉水として利用される滝下では  $0.3 \pm 0.1 \text{mg/L}$  であった。湯樋を経過することで総硫黄濃度は約 95% 低減し、利用基準 ( $2 \text{mg/L}$ ) を大きく下回ることが判明した。

湯の花除去作業の前後で総硫黄濃度に大きな変化はなく、湯の花の析出量は総硫黄濃度の低減効果に影響を与えていなかった。また、気温等の影響も小さく、総硫黄濃度の低減効果は調査期間中安定していた。

調査の結果、湯樋を経過することで、源泉の総硫黄濃度の約 95% が滝下までいくと除去されていることが判明し、各旅館で利用される温泉水中の総硫黄濃度は年間を通じて十分に低減されていることが科学的に裏付けられた。