



衛研

技術情報

VOL.8 NO.1

1984

神経芽細胞腫のマスクリーニングについて

愛知県では神経芽細胞腫の検査（以下検査と略す）は昭和56年10月から試行のかたちで6保健所で3,496人について行ない、昭和57年度からは全県下25全保健所で実施している。57年度の実施状況は戸紙配付件数45,563件、そのうち検査数は34,342件で受検査率は75.4%であった。

検査方法はDip法で行っている。判定区分はバニルマンデル酸（VMAと略す） $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下陰性、 $11 \sim 20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 疑陽性、 $21 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を陽性としている。 $11 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のものを同様方法で再検査、再々検査を行って、再々検査 $21 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のものを医療機関に紹介し、精密検査を受ける様に指導している。57年度の実績をみると保健所の規模により検査数、再検査数にかなりの差が認められ、検体数は平均値 \pm 標準偏差（範囲）は $1,373.7 \pm 1,021.5$ （ $155 \sim 3,780$ 件）、再検査数 31.4 ± 43.9 （ $0 \sim 193$ 件）、再検査率は 2.25 ± 1.88 （ $0 \sim 7.5\%$ ）であった。再々検査の実施率は全県下20%、68件であり、そのうち陽性と認められたものは11件、0.03%であった。このうち1例は医療機関で本疾患の患者と認められた。なお57年度本検査では陰性と認められたがVMA値が低く、ホモバニリン酸（HVAと略）値の高い患者が1名58年度に医療機関でみつかった。

上記の様な実施状況であるが、その方法および結果から次の様な問題点が考えられた。

1 検体採取用の戸紙は尿を充分浸み込ませた場合は100枚の平均値 \pm 標準偏差（範囲）は 0.817 ± 0.0506 （ $0.712 \sim 0.927 \text{ g}$ ）の尿が含まれるが、尿検体として送られてくる戸紙に充分尿が浸み込んでいるかどうかは不明である。

2 尿検体は採取時により尿濃度に差があることが知られているが、この検査では戸紙は夜間におしめにはきんで夜間から早朝の尿を採尿するよ

うに指導しているが、それが守られているかどうかは不明である。

3 保健所により年間の検体数にかなり差があり、判定の習熟度に差があり、検査者の判定眼の差のためか、保健所間で再検査率、再々検査率にかなりのバラノキがある。

4 最終判定も肉眼による比色で行うため陽性者の決定があいまいとなり検査者に不安のこる。

5 尿そのものに含まれる夾雑物が試薬により発色し、褐色系統の色を強く呈する検体があり、このような場合は標準系列の色調と差があり、肉眼での比較は困難である。

これらの問題点を解明し、解決するために次の様な検討を行った。

戸紙中のクレアチニン量の測定

戸紙に含まれる尿量を測定することは困難であるから、尿の正常成分であり比較的簡単に測定出来るクレアチニンを測ることにより間接的に尿量、尿濃度を把握し、戸紙に充分尿が浸み込んでおり検体として適当なものかを判断することとした。

方法 58年6月下旬の2週間分の検体戸紙の検査後ののこりを5保健所から集め、各保健所50枚ずつ無作為にとり出し、計250枚の戸紙のクレアチニン量の測定を行った。

戸紙を 0.01N 塩酸 5 ml で抽出し、その 0.5 ml を用いてFolin Wu法により測定した。

結果および考察 5保健所の合計および各保健所毎のクレアチニン量を図1、図2に示した。図中の数字は平均値 \pm 標準偏差である。250枚の平均値は $19.9 \text{ mg}/\text{dl}$ 、標準偏差 $12.9 \text{ mg}/\text{dl}$ 、変動係数 64.8% ときわめてバラノキが大きかった。クレアチニン量 $10 \text{ mg}/\text{dl}$ 以下のものが 36.4% と多く、尿量あるいは尿濃度が不足していると考えられる

検体が多いものと思われた。この様に検体量の不足している場合は陽性のものを陰性と判定する可能性があり、問題であると思われるので尿採取にあたって尿量、尿濃度を得ることが必要と思われた。

保健所毎に見た場合、A～C群とD、E群では分布等に若干異なった傾向を示している。すなわちD、E群はクレアチニン量10mg/dl以下の割合が多く、特にEにその傾向が強い。

この保健所による差の原因については、はっきりしたことはわからないが、尿濃度に地域差があるとは考えられないので、検体採取の際のおしめへの汚紙のはさまみ方、採取時間帯に問題があったと考えられた。

再検査者の尿中VMA量、HVA量の測定

尿濃度の著しく高いもの、夾雑物の多いものは判定困難、判定不能として、再検査を行なっているが、再検査でも判定出来ない場合、あるいは疑わしい検体の場合、検査をくりかえすが、最終判定も肉眼による比色で行うというのは判定にあいまいさがのこり検査者が不安である等、保健所検査側からの意見が多くあった。

したがって将来、再々検査をVMA、HVA量の定量というかたちで行うことを考え、高速液体クロマトグラフ(HPLCと略)によるVMA、

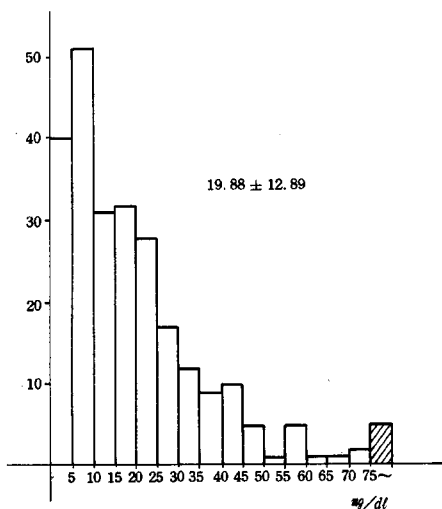


図1 汚紙中クレアチニン量(尿濃度に換算)

HVA量の測定を試行のかたちで行った。

方法：県下全保健所で58年6月中に再検査を行った乳児の尿をハルンバッグを用いて採尿し、その尿についてクレアチニン量をFolin Wu法、VMA、HVA量を薄層クロマトグラフ(TLCと略す)で半定量し、HPLCで定量した。

各保健所当りの昨年の検査数を12で割り、1ヶ月の検査数と仮定し、これにより各保健所毎の再検査率を計算した。

結果および考察：クレアチニン量(mg/dl)を図3に、VMA、HVA量(μg/ml、μg/mgクレアチニン(mg·c))を図4～7に示した。

再検査率は平均値±標準偏差3.43±3.42(%)、範囲は0～11.9(%)と保健所によりかなり差がみとめられた。

クレアチニン量は平均値33.8(mg/dl)と汚紙中の値に比べて高く、10mg/dl以下のうすい尿も少なかった。VMA、HVAの平均値±標準偏差を

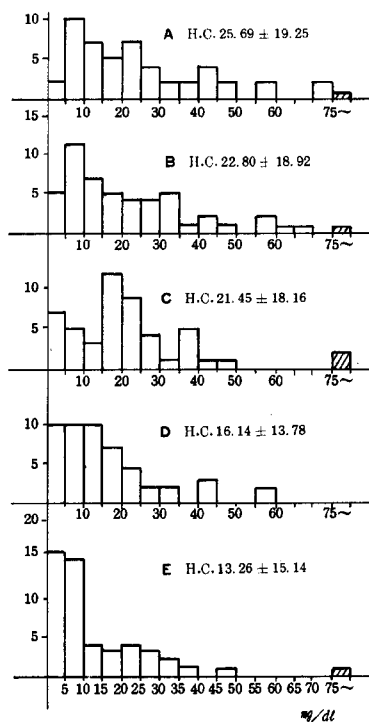


図2 5保健所別クレアチニン量(尿濃度に換算)

図中に示したが、VMA、HVA値ともにクレアチニンで補正した $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{c}$ の方が変動係数も小さく、正規分布に近い分布を示した。また単にVMA、HVAの濃度のみで判定すると尿の濃度により結果が左右されるのでクレアチニン値により補正する必要があると思われた。

TLCの結果はスポットの大きさ、濃度で肉眼的に行った半定量なので数値として表わすことは不可能であるが概略は全検体109件のうちTLCスポットでVMA $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 程度の発色が認められた検体は25件あり、この尿のクレアチニン量は 63.6 ± 21.6 ($29.6\sim 113$)であり、薄層上にVMA、HVA以外に数個の同様な発色スポットが認められた。この様な例はDip法で濾紙上の色調だけで判定するのはむずかしいと思われた。

まとめ

これらの結果から現在Dip法を3回くりかえして再々検査まで行い、陽性の判定を行なっているが、この様に同じ方法をくりかえすことは余り効果的とは思われないので、3回目の再々検査はHPLCにより定量し、クレアチニン mg 当りの数値で判定するのが望ましいと思われた。

Dip法は簡単な方法であるのでマススクリーニング法としては有効な方法であるが、25保健所で行う場合、検査者の経験その他により判定眼が一定でないことが考えられることは、また尿それ自体に着色がみられる検体などでは判定を誤ることが考えられることなどから濃度のわかった検体により時々精度管理を行う必要があることを痛感した。(生物部 早川清子)

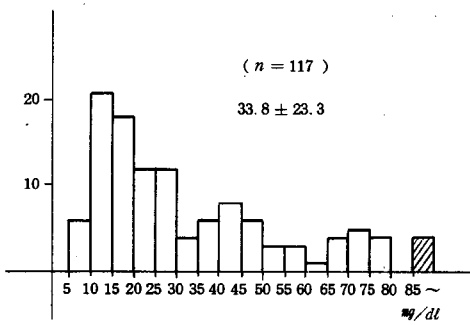


図3 尿中クレアチニンヒストグラム

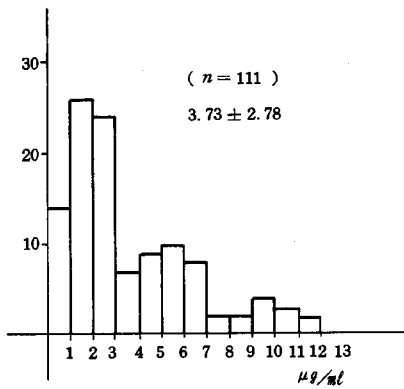


図4 尿中VHA濃度ヒストグラム

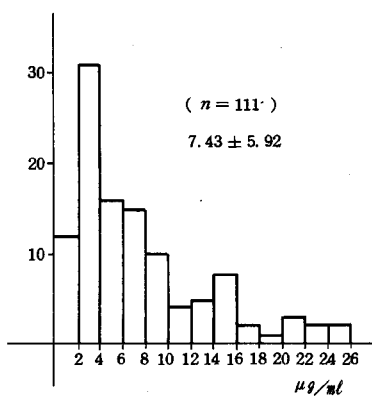


図5 尿中HVA濃度ヒストグラム

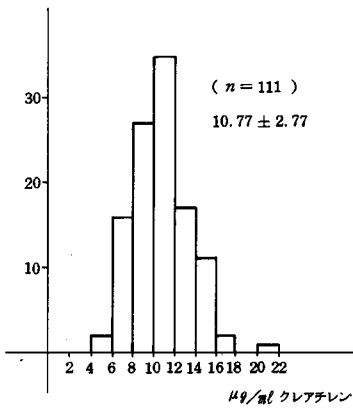


図6 尿中VHAヒストグラム

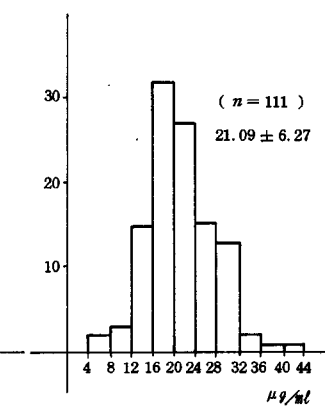


図7 尿中HVAヒストグラム

各種梅毒血清反応の意義 (I)

— TP-IgM 抗体検出を中心として —

I はじめに

世界の梅毒の現況をみると、欧米の罹患率は、我が国の数倍であり、また、アフリカや東南アジアなどの低開発国では欧米の十数倍で、我が国のように戦後、急激に梅毒の少なくなった国は見当らない。しかし、最近の性の自由化の進展速度からみて、今後、我が国も欧米のようになるのではないかと心配されている。

現在の我が国の梅毒は、臨床症状を欠き梅毒血清反応のみ陽性の潜伏梅毒が多く、診断は、ほとんど血清反応に頼らなければならない。従って梅毒血清反応は、梅毒の診断上、極めて重要な位置を占めており、各種の血清反応の意義を正しく理解した上で検査を行うことが必要である。

最近、治療の要否、治療効果の判定、治癒判定の基準となる血清反応の開発が強く求められており、この要求を満足させるものとして、梅毒特異的 IgM 抗体 (TP-IgM 抗体) を証明する各種の方法が検討されている。

私達は、これ迄に TPHA 及び FTA-ABS¹⁾、FTA-ABS (IgM)²⁾⁸⁾ について解説してきたが、ここでは各種資料⁴⁾⁵⁾ 及び当所の成績を参考にし、TP-IgM 抗体の検出法を中心に、各種梅毒血清反応の意義について述べることにする。

II 梅毒血清反応の種類

表 1 は、今日我が国で広く用いられている梅毒血清反応と最近発表され注目されている梅毒血清反応である。このうち、保健所などで実施されていない検査法について概略を説明する。

RPR カードテスト：本法は手技の簡便なことから我が国でも採用される傾向にあるが、非特異反応が多い。本法は、もともと集団検診用に開発されたもので、反応の特異性よりも簡便さに主眼がおかれているからである。

MCA-TP (人工赤血球受身凝集反応)：TPHA は受身凝集反応の担体として赤血球を用いているが、MCA-TP は化学的に安定なマイクロカプセルを担体とし、Treponema Pallidum (TP) の菌体成分で感作し、TPHA と同じように被検血清との間に受身凝集反応を実施して判定する方法である。本法は IgM 抗体に対し感度が良いと言われている。(本法は国立予防衛生研究所で開発された。)

TP-IgM 抗体の検出法：表 1 の II 群に示した方法は、TP に対する IgM 抗体のみを証明するために開発された方法で現在最も注目されている。このうち、当所では FTA-ABS (IgM)、TPHA (IgM) (超遠心法) を常時実施している。

表 1 梅毒血清反応の種類

抗 原	術 式	備 考
カルジオリピン抗原試験 (STS)	ガラス板法 RPR カードテスト 梅毒凝集法 緒 方法	カルジオリピンに対する抗体を証明
トレポネーマ抗原試験	I 群 TPHA MCA-TP FTA-ABS	梅毒病原体 (TP) に対する抗体を証明
	II 群 FTA-ABS (IgM) EIA (IgM) TPHA (IgM) { 超遠心法 ゲル濾過法 TP-IgM-HA SPHA	TP に対する IgM 抗体のみを証明

表2 TP-IgM抗体の検出法

検査法	反応形式	方 法
FTA-ABS(IgM)	蛍光抗体法	(のせガラス上のTP)+(TP-IgM抗体)+(抗ヒトIgMFITC標識抗体)
EIA(IgM)	酵素抗体法	(ビース上のTP)+(TP-IgM抗体)+(抗ヒトIgMアルカリフォスファターゼ標識抗体)
TPHA(IgM)	超遠心法	遠心法で得た19S(IgM)分画についてTPHAを実施する。
	ゲル濾過法	ゲル濾過法で得たIgM分画についてTPHAを実施する。
	TP-IgM-HA	(TP感作血球)+(TP-IgM抗体)+(抗ヒトIgM抗体感作血球)
	S P H A	(TP感作血球)+(TP-IgM抗体)+(抗ヒトIgM抗体感作トレイ)

表3 成人におけるTP-IgM抗体

No.	年齢	性別	採血月日	VDRL	TPHA	TP-IgM抗体検出法			
						FTA-ABS(IgM)	EIA(IgM)	TPHA 19S *1 7S	TP-IgM-HA
1	29	♀	S 57. 11. 22	32	1, 280	50	2. 9 u	+ < +	320
			S 57. 12. 2	16	1, 280	50	2. 5 u	+ < +	320
			S 57. 12. 16	8	1, 280	50	2. 2 u	+ < +	20
			S 58. 1. 13	2	1, 280	Neg	1. 9 u	+ < +	5
			S 58. 2. 28	2	1, 280	Neg	1. 0 u	- +	Neg
2	29	♂	S 57. 1. 30	64	20, 480	Neg	Neg	+ < +	80
			S 57. 2. 20	32	5, 120	Neg	Neg	+ < +	20
			S 57. 5. 25	2	5, 120	Neg	Neg	+ < +	5
			S 57. 9. 29	2	5, 120	Neg	Neg	+ < +	Neg
			S 58. 2. 8	1	5, 120	Neg	Neg	- +	Neg

Neg: Negative No. 1: 感染後3か月と推定し、ペニシリンで治療中

*1: 超遠心法 No. 2: 感染後6か月と推定し、ペニシリンで治療中

表4 高齢者におけるTP-IgM抗体

No.	年齢	性別	VDRL	TPHA	TP-IgM抗体検出法			
					FTA-ABS(IgM)	EIA(IgM)	TPHA 19S *1 7S	TP-IgM-HA
S 1	86	♂	64	20, 480	20	1. 1 u	+ < +	20
S 2	88	♂	64	20, 480	20	1. 0 u	+ < +	20
S 6	69	♂	16	1, 280	20	1. 9 u	+ < +	5
S 15	83	♀	16	1, 280	50	2. 0 u	+ < +	20
S 35	80	♂	2	1, 280	20	1. 1 u	+ < +	5
S 37	75	♀	1	1, 280	20	1. 0 u	+ < +	5
S 38	69	♂	2	1, 280	20	1. 1 u	+ < +	N.D.

*1: 超遠心法

表2にTP-IgM抗体検出法の種類とおおよその方法を示した。表3、4は当所で比較検討した成績であるが、これからわかるように感度にかかなりの差が認められるので、今後は検出法の標準化が必要であると思われる。

III STSとTP抗原試験の特徴

1 脂質抗原試験 (STS)

(1) STSは、極めて鋭敏度が高く、梅毒に感染後4、5週目には陽性を示し、TPHAに比べて1週間は早く陽転する。STSの中では、ガラス板法が最も鋭敏度が高い。

(2) STSの最大の特徴は、その抗体価の高低が活動性病変の有無とかなりはっきりとした相関を示すことである。初期硬結から第2期顕症梅毒にかけて抗体価は急速に上昇し、最高値を示すようになるが、駆梅療法により治癒に向うと、抗体価も平行して低下してくる。つまり、STSは、治療の指標となる。

(3) STSの欠陥は、診断液(抗原)が梅毒の病原体とは関係のない脂質物質(カルジオリピン)のため、梅毒以外でもかなりの頻度で陽性反応がみられることで、これを生物学的偽陽性反応(BFP)と呼ぶことは周知のことである。伝染性単核症、原発性異型肺炎、水痘、麻疹、マラリア、ウイルス性肝炎などでは一過性に、また悪性腫瘍、各種膠原病では長期に陽性となる。すなわち、STSがキャッチする抗体は、梅毒の病原体に対する抗体ではなく、組織損傷によって生ずる脂質物質に対する抗体であるために、梅毒以外にも陽性反応がみられるのである。

2 トレポネーマ抗原試験

(1) TPHAやFTA-ABSの長所は、希に非特異反応がみられるものの梅毒以外の疾患ではほとんど陽性を示さないことである。非特異反応がみられるのは、口腔内のTreponema microdentiumやT. macrodentiumといった梅毒病原体と同属の人体常在菌に対する抗体が吸収操作で除かれずに反応する場合や、熱帯地方の風土病であるフランベジアで陽性を示す場合である。しかし、TPHAとFTA-ABSとを組み合わせれば、判断は95%以上確実なものとなる。

(2) TPHAやFTA-ABSの欠点は、一旦、陽

性となると、極めて早期に治療しない限り、容易に、おそらくは生涯陰性化しないことであり、また、臨床症状と関係なく高い抗体価を示し、治療しても急には変動しないことである。

TPHAやFTA-ABSは梅毒であるか、あるいは過去に梅毒に罹患したことがあるか否かを判定するには役立つが、治療の要否や、治癒判定には役立たないのである。

IV 梅毒血清反応による治癒判定

一般に感染性疾患では、臨床症状の消失をもって治癒と判定されているが、梅毒は顕症期と潜伏期を交互に繰り返す疾患なので、臨床症状の消失だけで治癒判定を下すわけにはいかない。そこで血清反応の成績が取り上げられるわけである。

1 STSによる治癒判定

前にも述べたように、晩期梅毒では、十分な治療を行っても生涯STSの弱い反応が持続し、治癒と判定できないケースが多い。従って、通常、治癒判定を次の如く行っている⁶⁾。

(1) 感染後2年以内の早期梅毒ではSTS(-)をもって治癒とする。

(2) 感染後3年以上を経過したものは、必要十分量の駆梅療法を行ったのち、縮方法(補体結合反応)の抗体価が40倍前後(ガラス板法4倍)で固定し、その後2年間変動のない場合は一応治癒と判定する。

2 TP-IgM抗体による治癒判定

現行のTPHAやFTA-ABSは、梅毒の病原体(TP)に対する抗体を検出するものであって、TPの生体内の有無についての正確な情報は得られない。そのため現行の血清反応では、陰転しないかぎり抗生物質による治療の実績とSTS抗体価の程度を参考に治癒したものと想定するに留まっている。

この梅毒の治癒(生体内からのTPの消失)を決定するための指標として、血清中のTP-IgM抗体を利用しようとする考え方が広まってきた。

この治癒判定を迅速に知るための指標となるのが表1のトレポネーマ抗原試験のII群に属する血清反応である。これらの血清反応は、TP-IgM抗体を証明する反応で、いずれの方法もまだ多少の問題をかかえており、追試、改良の段階にあるが、

将来、梅毒の早期診断から治療判定に至るまでの極めて有用な手段になるものとして期待されている。

(1) TP-IgM抗体研究の現況
前にも述べたように梅毒が治癒したか否かを判定することは早期梅毒の場合とはかく、晚期潜伏梅毒では極めて難しい。

これまで、血清中のTP-IgM抗体を検出し、梅毒治療の指標とする試みが多くの学者によってなされてきた。

1972年にO'Neillは、有効な駆梅療法により、FTA-ABS (IgM)抗体が消失することを報告した。

その後、Müllerらは、患者血清をセファデックスG-200でゲル濾過し、IgMとIgGとに分画し、そのIgM分画にてTPHAを行い、全血清を用いたTPHAでは反応しない感染後2週間前後の初期梅毒患者のTPHA抗体を証明した。なお、十分に

表5 梅毒血清反応の結果とその解釈 (O'Neill, 1976)

STS	TPHA	FTA-ABS	FTA-ABS (IgM)	臨床症状
-	-	+	+	梅毒感染初期 (未治療及び治療後)
+	+	+	+	未治療及び最近治療した早期梅毒 (感染初期を除く、再感染を含む) 未治療の顕症晚期梅毒 (脊髄癆を除く) 5年以内に治療した顕症晚期梅毒 潜伏梅毒 (少数例)
+	(低い抗体価)	+	-	治療した晚期梅毒 古い梅毒以外のTP疾患 潜伏梅毒 (少数例) 脊髄癆 (少数例)
-	+	+	-	治療した早期梅毒 古い梅毒以外のTP疾患 潜伏梅毒 (少数例) 脊髄癆 (少数例)
-	-	+	-	治療した第1期梅毒 昔治療した梅毒以外のTP疾患 (少数例)
+	-	-	± or -	偽陽性反応

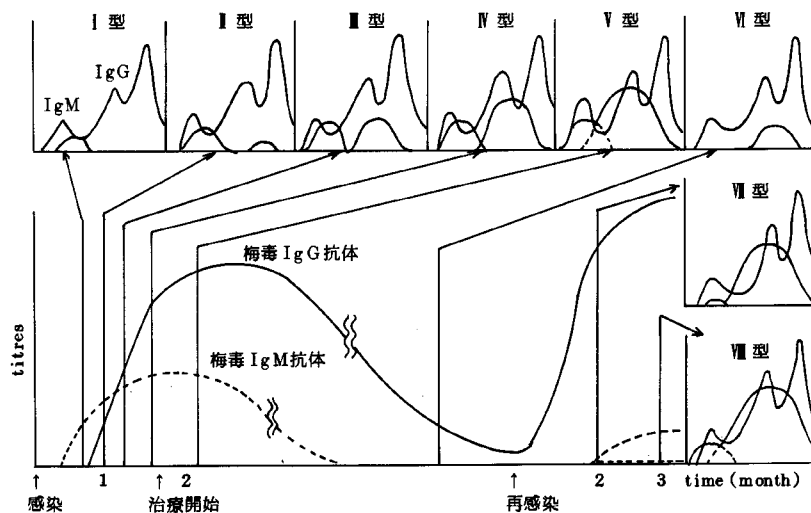


図1 TPHA-IgM・TPHA-IgGの推移と病期別のパターン (津上, 1981)

治療した潜伏梅毒の患者でIgM分画にTPHA抗体を証明し得ない患者は、臨床治癒とみなし治療を継続する必要はないという考え方を発表した。

津上⁷⁾は、各病期の梅毒患者血清について、Müllerらを追試して次のような結果を得ている。TP-IgM抗体は感染後2～3週間頃から産生され、1か月ぐらいでピークに達する。その後やや遅れてTP-IgG抗体が産生される。感染後1～2か月ではIgM抗体とIgG抗体とが同程度になり、以後IgG抗体は増加を続け、感染後2～3か月でIgG抗体もピークに達する。抗生物質で治療すると、TP-IgM抗体は速やかに減少し、やがて消失してIgG抗体のみが残存する。TP-IgM抗体は初期および早期梅毒では、治療開始後6か月以内に、遅くとも2年以内には消失する。

いずれにせよ、第1期、第2期の早期梅毒患者血清にはTP-IgM抗体が存在し、有効な治療を加えることによりTP-IgM抗体は消失する。そして再感染の患者では、再びTP-IgM抗体が出現することから、TP-IgM抗体の証明は、宿主内におけるTPの生物学的活性を意味し、その反対にTP-IgM抗体の消失は、たとえ、TP-IgG抗体が証明されても病勢は沈静したものと解される。この関係を図1に示したが、その他、このIgMとIgG抗体の比から病期を推定しようとする試みもある。

従来のSTS、TPHA、FTA-ABSとTP-IgM抗体とを組み合わせ、その結果と解釈の仕方を表5に示す。

V 今後の問題

TP-IgM抗体の研究が活発であることから、ともするとTP-IgM抗体の有無だけで梅毒の診断、治癒判定のすべてが行われる心配がある。TP-IgM抗体の存在は、宿主体内におけるTPの生物学的抗

原の活性を意味するもので、TPによる組織破壊の程度については、全く不明である⁵⁾。この点を補う意味から、STS又はSTS-IgM抗体を併用することが適切であると考えられる。ただ、STS-IgM抗体については超遠心法では検出可能であるが、適切な簡易法が見い出されていないので、この面の研究、開発が必要である。

VI おわりに

今まで、研究レベルにあったIgM抗体がルチンに取り入れられようとしている。しかし、まだIgM抗体検出法の標準化はなされておらず、しかも、次々に新しい検出法が開発されている段階であり、当分の間混乱が続くものと予想される。これらの新しい検出法を評価するために、私共はIgM抗体の意義を明確に理解していることが必要であろう。

参考文献

- 1) 愛知県衛生部：梅毒血清診断法の解説(1972. 9. 1)
- 2) 愛知県衛生部：梅毒血清反応におけるIgM抗体の検出とその意義(1975. 2. 1)
- 3) 愛知県衛生部：衛生部ノート、第21巻、第14、18号(1976)
- 4) 第18回STD(Sexually Transmitted Diseases)研究会(1983. 8. 20)
- 5) 松井博範、對尾征彦、中村 章、井上裕正：梅毒抗体陽性高齢者の19S、7Sについて、日本細菌学雑誌、38：152、1983
- 6) 幸田 弘：梅毒の血清診断とその意義、臨床と研究、59：2205～2208、1982
- 7) 津上久弥：梅毒治療の指標としての梅毒IgM抗体の検出、日本医事新報、3002：43～47、1981
- 8) 厚生省監修：微生物検査必携、免疫血清反応検査、第2版、145～217、日本公衆衛生協会、東京、1978

(細菌部 松井博範)

水道水のカビ臭について

はじめに

湖沼や貯水池などの水源の富栄養化に伴ない、微生物の異常増殖が起き、水道水源の異臭味とくにカビ臭の発生が最近全国各地で大きな社会問題となっている。

このカビ臭問題は古く、既に19世紀後半にはフ

ランスやアメリカなど欧米諸国で報告がなされている。

我国でも昭和26年神戸市の千疋貯水池でカビ臭が発生し、40年代に入り急増し、昭和44年には関西一円の水源となっている琵琶湖(南湖)でもカビ臭が発生して京都市がその影響をうけた。以来

全国各地の水道水源で発生し、現在では水源の40%以上、1,700万人以上が影響をうけ、なお年々増加の傾向にある。

愛知県でも矢作川支流巴川の上流に多目的ダムとして昭和38年に建設された羽布ダム（三河湖）において昭和54年よりカビ臭が発生、以来毎年のように発生して下流域の足助中央簡易水道、幸田浄水場などが影響をうけている。

カビ臭原因生物

水にカビ臭をつける原因が、放線菌か藍藻によるものであるというのが定説となっている。

Silvey J.K.G.ら（1950）は、ダラス湖から得た放線菌を純粋培養し、水道水のカビ臭と同じ臭気であることを確認、次いで1963年にRomano, A.H.らは、放線菌*Streptomyces griseolutes*培養物からカビ臭物質を取り出したが、不純物が多くその本体を解明するまでには至らなかった。続いてアメリカNew Jersey州Rutgers大学微生物研究所のGerber, N.ら（1965）は、*St. griseus*をはじめ数属の放線菌よりカビ臭物質の単離に成功、geosminと命名し発表した。

また1969年には別のカビ臭物質を放線菌がつくり出すことをGerberはイスラエルの貯水池から分離した*Streptomyces*属から、そして殆ど同時にMedsker, L.L.らも分離し構造決定を行い、これが2-methyl isoborneolであることを証明した。

ところで我国でのカビ臭原因生物が放線菌であると確認されたのは、昭和38年大阪府の狭山池が最初である。その後多くの研究者によって琵琶湖千苅池、印旛沼、山口貯水池、大路池など各地で放線菌*Streptomyces*属が分離され、カビ臭物質が証明されている。

一方Saffermanら（1967）は、水中に生息する藍藻*Symbloca muscorum*がgeosminを産生することを確認した。これは藍藻もカビ臭原因生物であるという最初の報告である。続いてMedsker（1968）、Henley, D（1970）、Tabaehk, J. L（1976）らによって*Oscillatoria tenuis*、*Anabeana circuncalis*、*Lyngbia cryptoraginata*など種々の藍藻からカビ臭物質が検出されている。

我国での藍藻による最初の報告は、京都大学薬学部の菊池ら（1972）で、琵琶湖の生物調査を行った際、数種の発臭性藍藻を採集、それらが*Shi-*

zothrix mülleri、*Oscillatoria animalis*であり、geosminを産生することを確認して琵琶湖のカビ臭が放線菌だけでなく、藍藻類も原因の一つであることを証明した。

(1) 放線菌

放線菌は、分類学的には細菌と真菌の間に位置する細菌に近い微生物であり、グラム染色では陽性に染色する。土壌中に広くみられ放射状に分枝する菌糸をつくることからこの名がある。

カビ臭を産生する放線菌は今までに*Streptomyces*、*Micromonospora*、*Norcadia*、*Actinomycetes*、*Actinomadura*の各属で確認されているが、カビ臭の研究対象になっているのは*Streptomyces*属である。

放線菌の生理学的な特徴は、水温20~30℃とくに30℃以上でよく生育し、PHは中性付近、溶存酸素が20%以上でカビ臭の発生がみられること、又成長には栄養源として有機物、リン、窒素、鉄、マグネシウムなどが必要である。

発臭性放線菌の培養には通常クレンスキー培地（PH7）が用いられている。

(2) 藍藻

藍藻は最も原始的な藻類で、細菌と同じように細胞核、色素体を欠く原核生物である。

光合成を営む独立栄養生物であり、同化色素としては、クロロフィルと藍藻色素フィコシアニンを、時にフィコエリスリン及び両方をもっている。

単細胞から群体、糸状体と形態の変化に富み、89℃の高温水からPH1.4という強酸性水域まで地球上のあらゆる環境に生育する。

水にカビ臭をつける藍藻は、浮遊性と附着性のものがあり、いずれも糸状体構造をなす種類である。

橋本ら（1977）のアンケート調査の結果から我国の水道水源のカビ臭と藍藻の関係をみると、カビ臭の発生している水道水源では73.9%で藍藻が出現しており、その種類は*Phormidium tenue*か*Oscillatoria limuetica*が大部分をしめ67.4%であるという。しかもこの2種類は同一種かもしれないといわれている。この結果から我国の水道水のカビ臭は浮遊性藍藻が重要であることがわかる。

藍藻は、放線菌と違って1種類からは同時に2種類のカビ臭物質をつくることはなさそうである。

表一に今までに確認されている藍藻類と産生されるカビ臭物質を示した。

(3) その他のカビ臭発生生物

菊池ら(1981)は、長野県下で採集した真菌ケトミウム・グロボサームのイーストエキス培地からの培養物より geosmin を証明し、また粘菌 *Phyosarum polycephalum* を半合成培地で振とう培養し、この培養物から geosmin を得ている。(1983)

カビ臭物質

(1) geosmin

1965年 Gerber らは、放線菌 *St. griseus* の培養物を水蒸気蒸留し、留液を塩化メチレンで抽出、分取ガスクロマトグラフィーで精製し、紫外、赤外分光、マスキロマトメトリーなどによって bp. 270 °C、 $[\alpha]_D^{20} -16.5$ の無色油状のカビ臭物質を単離これを geosmin と命名、発表した。ギリシャ語で ge = earth (土) を、Osme = odor (臭) を意味する。

1968年には分子式が $C_{12}H_{22}O$ の図1〔I〕で示される構造式 trans-1, 10-dimethyl-trans-9-decalol の3級アルコールであることが解明さ

れ、同年 Marshall らによって dl 体が合成された。

(2) 2-methyl isoborneol

もう一つのカビ臭物質 2-methyl isoborneol (II) (1, 2, 7, 7-tetramethyl isoborneol 2-MIB と略す) は、1969年同じく Gerber 及び Medsker によって殆ど同時に放線菌から分離同定された。ついで Rosen ら(1970)は、オハイオ州 Grand Lake の湖水より 2-MIB を geosmin とともに検出し bp. 210 °C と推定した。

我国では菊池らが放線菌琵琶湖 B 株 (*St. resistomycificus* の一変異株) から検出したのが最初で、以後千苺 II 株、千苺池の水、山口 II 株、同池水などで分離されている。

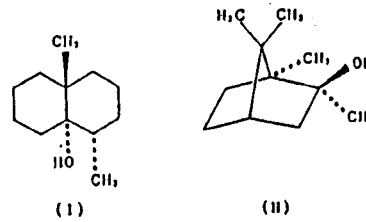


図1 カビ臭物質

表一 日本における発臭性藍藻と産生カビ臭の種類

藍藻の種類	位置	カビ臭物質	発表者
<i>Oscillatoria animalis</i>	(滋賀県)琵琶湖(南湖)	geosmin	菊池ら(1973)
<i>O. amoena</i>	(東京都)坂川	〃	松本ら(1979)
<i>O. chlorina</i>	(神戸市)千苺貯水池	〃	矢野ら(1976)
<i>O. gleminata</i> ^{a)}	(東京都)不忍池	2-MIB	松本ら(1979)
<i>O. limnetica</i> ^{a)}	(〃)〃	〃	松本ら(1976)
<i>O. splendida</i>	(神戸市)千苺貯水池	geosmin	矢野ら(1976)
<i>O. splendida</i>	(東京都)善福寺川	〃	松本ら(1976)
<i>O. sp.</i>	(愛知県)三河湖	〃	山田ら(1981)
<i>Phormidium tenue</i> ^{a)}	(神戸市)千苺貯水池	2-MIB	矢野ら(1976)
<i>P. tenue</i> ^{a)}	(奈良県)室生貯水池	〃	八木ら(1978)
<i>P. tenue</i> ^{a)}	(名古屋市)名城濠	〃	山田ら(1981)
<i>P. tenue</i> ^{a)}	(滋賀県)琵琶湖(南湖)	〃	梶野ら(1982)
<i>P. autumnale</i>	(神戸市)中村湖	geosmin	菊池ら(1973)
<i>Anabeana spiroides</i> ^{a)}	(〃)村山貯水池	〃	乙幡(1975)
<i>A. macrospora</i> ^{a)}	(滋賀県)琵琶湖(南湖)	〃	八木ら(1981)
<i>Ahanizomenon flos-aquae</i>	(東京都)不忍池	〃	松本ら(1976)
<i>Shizothrix mülleri</i>	(滋賀県)琵琶湖(南湖)	〃	菊池ら(1972)

注 a) 浮遊性藍藻

また矢野、中野 (1976) は、千苺池、呉市三永貯水池から分離した *Phormidium tenue* 培養藻体から 2-MIB を確認している。

その他に mucidon がカビ臭物質として報告されたが、この物質は弱い果実臭を示すのみであり、カビ臭物質は現在のところ geosmin と 2-MIB の 2 種類だけが確認されている。

カビ臭物質の感知濃度

臭いの強さの測定は、人の嗅覚による測定法があり、我国では上水試験法に臭気濃度として TO 表示を用いている。ただ臭気は微妙なものであり同一者でも生理状態によって、あるいは臭気の温度や混合物の種類や割合によっても変動が大きい。まして個人差はさらに大きい。

geosmin の場合その感値は 0.01 ppb 溶液で臭気を感じるという結果が得られている。また 2-MIB では東京都と川崎市のクロスチェックの結果 0.005 ppb で感知できたという報告がなされている。

カビ臭物質の定量法

水中からのカビ臭物質の定量法は、活性炭吸着法、水蒸気蒸留法、イオン交換樹脂吸着法あるいは closed-loop stripping analysis などが報告されているが、八木、梶野 (1980) は、perge and trap 濃縮法と mass-fragment graphy を利用して少量の試料で簡便、迅速に定量する方法を開発した。この方法は、試料 100 ml に塩析効果を期待し NaCl を添加しイオン強度をあげた後、窒素ガ

スでカビ臭物質を追い出し、Tenax に吸着濃縮してこれを GCMS-MF についで、加熱しカビ臭物質を定量する。この方法では 1 ng/ℓ の濃度が測定可能で、直接カビ臭が発生している湖水からのカビ臭物質を定量することが可能となった。八木ら (1981) は、本法を用いて琵琶湖の水のカビ臭濃度を定量している。また愛知県衛生研究所生活環境部でも本法によって三河湖におけるカビ臭物質の定量を行っている。

カビ臭の発生と水質

カビ臭の発生は、湖沼の富栄養化による水質汚濁と密接な関係にあることから、昭和51年日本水道協会は、厚生省の依頼をうけて「異臭味対策委員会」を設け、同委員会による全国的なアンケート調査が実施され、その結果は八木によって発表された。翌昭和52年第2回のアンケート調査が貯水量 50,000 m³ 以上の湖沼、貯水池などを水源とする 129 水道事業体を対象に実施され、「日本の湖沼、貯水池におけるカビ臭の実態」と題して報告された。

それによるとカビ臭発生と水質との関係では、有機物質汚染の指標の一つ過マンガン酸カリウム消費量 (上水試験法) とカビ臭発生がよい相関が認められるとしており (図-2)、循環期の KMnO₄ 消費量が 3 mg/ℓ 以上で要注意、5 mg/ℓ を越える池では、カビ臭発生が 50% を越えるという。

またカビ臭発生の時期は 5 月が最も多く、この時期の貯水池等の水温は 20℃ ± 2℃ であったこと、

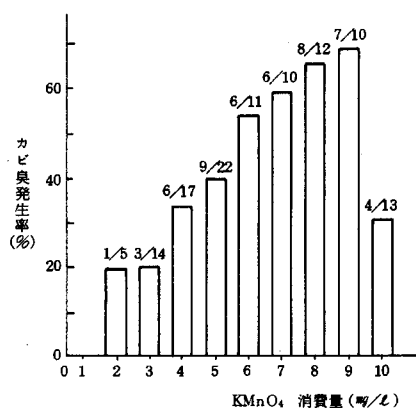


図2 湖沼の過マンガン酸カリウム消費量とカビ臭発生率 (橋本ら 1978)

表-2 KMnO₄消費量、無機窒素、磷酸の停滞期、循環期に於ける流入水の比較

停滞期	KMnO ₄ cons.	Inorg Nitrogen	Phosphate
	8.0 mg/L	0.17 mg/L	0.05 mg/L
S.55	7.0 mg/L	0.16 mg/L	0.03 mg/L
S.56	9.0 mg/L	0.17 mg/L	0.04 mg/L
S.57			
循環期	KMnO ₄ cons.	Inorg Nitrogen	Phosphate
S.56-12	4.3 mg/L	0.20 mg/L	0.03 mg/L
S.58-3	4.6 mg/L	0.23 mg/L	0.01 mg/L
流入水	KMnO ₄ cons.	Inorg Nitrogen	Phosphate
S.57	6.4 mg/L	0.35 mg/L	0.05 mg/L

そしてカビ臭発生は富栄養化の進んだ湖沼に多いために、PH7~10と植物プランクトン等の増殖が多い水域で多発している。

さらに循環期の無機態窒素が0.3 mg/ℓ、リン酸態リン0.006 mg/ℓ、リン酸イオンとして0.02 mg/ℓ以上がカビ臭発生が急増していることを示している。

地域的には、北海道や東北地方でも発生することを報告書は示しているが、最も発生割合が高いのは、近畿地方以西とりわけ瀬戸内海沿岸と九州にあり、湖沼の形態からは広く浅いところで多発する傾向がみられる。

次に参考までに生活環境部が行った三河湖の昭和56年~58年までの水質汚濁項目を表-2に示した。いずれの項目もカビ臭発生に十分な濃度である。

カビ臭物質の除去

カビ臭物質は、緩速濾過で殆ど完全に除去することができるが、通常の急速濾過では除去できない。一般にはカビ臭が発生した場合は、活性炭処理による除去法が行われていて、通常50mg/ℓ、30分以上の接触時間で臭気はほぼ除去される。

海外情報

ポリオコントロール国際会議

50国より約400人のポリオ専門家による国際シンポジウムが1983年3月14~17日ワシントンDCのPan American Health Organization(PAHO)において開催された。後援はFogarty International Center of NIH,WHO,PAHOおよび他の多くの機関である。主題は、ポリオウイルスに関する最近の知見と世界各地の状況を知り、ワクチン接種の政策的、経済的、行政的問題点とポリオ撲滅の可能性を考えること、および必要な研究の認識と対策の勧告をだすことであった。討議された主な問題と勧告は次の通りである。

勧告

1. 各国は国内のポリオの状況を把握し、コントロールを達成する計画を作成すべきである。
2. WHOや国連の免疫強化計画等は途上国のコントロール計画に対する援助を強化すべきである。

以上カビ臭について概略を説明したが、自然水域におけるカビ臭発生のメカニズムはいまだ不明な点が多く十分に解明されていない。

愛知県衛生研究所生活環境部では関連機関とともに昭和55年より三河湖における実態調査を続けている。また当湖や各地から単離したり分与をうけた放線菌や藍藻を用いてカビ臭物質の発生機序と予知に関する研究を行っている。

参考文献

- 1) 日本水道協会：異臭味水対策の指針，1979
- 2) 八木正一：淡水生物一特に藍藻類に起因する臭気、衛生化学，29(1)，17~24，1983
- 3) 菊池 徹：琵琶湖及び印旛沼の水の臭気問題，JAPAN ANALYST，22，1530~1538，1973
- 4) 菊池 徹：神戸市上水道水源池から分離された放線菌、藍藻および真菌類の臭気成分ならびに千刈貯水池の水から2-MIBの検出、水道協会雑誌，(429) 23~37，1975
- 5) 橋本徳蔵ら：日本の湖沼、貯水池におけるカビ臭の実態、水道協会雑誌，(531)，30~47，1978

注) 個々の引用文献は、紙面の都合で省略しました。(生活環境部 山田直樹)

3. 最終的ゴールは経常保健行政にポリオ免疫を組み込むことであるが、特別対策などその国の特殊事情にあわせた方策がとられるべきである。
4. 1~2回で有効な高力価のIPV開発について努力されるべきである。
5. より耐熱性でより弱毒化したワクチン開発について努力されるべきである。
6. 熱帯地域の免疫問題を明らかにするため、さらに野外試験が必要である。
7. 分子遺伝および免疫学が新しいvaccinologyを可能にしている。この方法により特異性が高く、標準化された安いワクチンの開発の可能性がある。
8. ワクチンの標準化、管理、検定、さらに野外研究における国際協力が不可欠であり、強化されるべきである。

(WHO, WER, 58, No.45, 350, 1983)