

トラコーマクラミジアとその関連疾患

はじめに

去る6月4日～6日、札幌市で開かれた日本化学療法学会のシンポジウムで、クラミジア感染症がとりあげられた。欧米同様、近年わが国でも、クラミジアによる成人の性病が潜在的に流行していることが報告され、参集したわが国の研究者を驚かしたが、この内容が新聞、週刊誌などにも“新型性病流行か”と報道され、一般にも大きな反響を呼んだことは記憶に新しいところである。

さて、このクラミジアと呼ばれる病原体はすでに今世紀初頭に発見されたものであるが、1962年頃まではウイルスの中に分類されていた。現在ではこのクラミジアはオウム病クラミジア (*Chlamydia psittaci*) と、トラコーマクラミジア (*Chlamydia trachomatis*) の2種に大別され、前者がオウム病の病原体、後者のトラコーマクラミジアは古くからトラコーマ、ノケイリンパ肉芽腫症(第4性病)、封入体結膜炎の病原体として知られていた。また生殖器疾患との関連も示唆されていた。近年、文明圏ではトラコーマ、第4性病という病気は殆んど見られなくなっていたが、1972年、英国の3人の学者が別々に、非淋菌性尿道炎患者の約半数がトラコーマクラミジアに起因することを報告し注目されるようになった。以下、まずクラミジア全体の性状を紹介し、次にトラコーマクラミジア及びその関連する疾患について、最後にわが国の現状を述べてみたい。

表1 各種病原体の性状比較

性状	病原体	細菌	リケッチャ	クラミニア	ウイルス
DNA + RNA		+	+	+	どちらか一種
二分 裂		+	+	+	-
抗生物質の有効性		+	+	+	-
リオノーム		+	+	+	-
培養(人工培地)		+	-	-	-
封入体		-	-	+	(+)
エネルギー代謝		+	+	-	-
核酸代謝		+	-	+	-

クラミジア全体の性状

クラミジアはウイルスと同様に生きた細胞でのみ増殖可能で、クラミジアが細胞内に入ると、ある時期その感染性がなくなるなどから、1962年頃まではウイルスの中に分類されていた。その後1960年代に入って進められた電子顕微鏡的、分子生物学的研究で、(1)核酸としてDNAとRNAを有する、(2)2分裂で増殖する、(3)抗生物質によって増殖が阻止される、(4)蛋白合成に關与するリボソームが存在するなど、細菌がもっている諸性状を多くもっていることが判り、細菌やリケッチャに近い微生物と考えられるようになった。表1に、細菌、リケッチャ、クラミジア、ウイルスの異同を示した。また、クラミジアが2種に大別されることはすでに述べたが、これは表2に示した差異に基づいている。

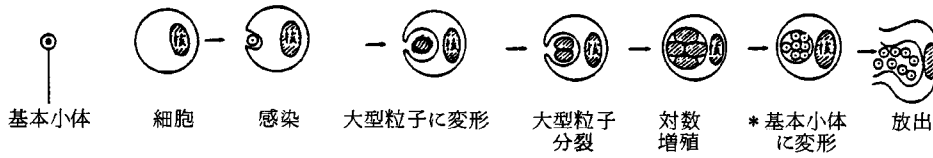
トラコーマクラミジアについて

トラコーマクラミジアの寄生細胞内のライフサイクルを図1に示した。このトラコーマクラミジアの起こす主なる疾患、伝播経路及び疾患と血清型との関係を表3に示した。血清型は15種類に型別され、血清型によって臨床像の異なった疾患が惹起される(血清型B、Cでも子宮頸部炎や尿道炎が起こるとの報告もある)。

以下、トラコーマクラミジアで起こる非淋菌性尿道炎、新生児封入体結膜炎、乳幼児肺炎について述べることにする。

表2 クラミジア2種属の鑑別上の特徴

鑑別上の特徴	クラミニアの種類	
	オウム病クラミニア	トラコーマクラミニア
スルフォニルアミド感受性	抵抗性	感受性
封入体中のクリコゲン	なし	あり
封入体の形態	ひまん性	濃密
DNAの(Guanine + Cytosine%)	41	44～45
主要宿主	トリ、家畜、ウサキ モルモット	ヒト



* 封入体(基本小体の集合)、光顕では濃密に見える

図1 トラコーマクラミジアの寄生細胞内増殖様式

表3 トラコーマクラミジアの臨床スペクトル

病名	伝播経路	血清型
トラコーマ(眼)	家族、媒介物 ハエ	A, B, Ba, C
男性非淋菌性尿道炎 副睾丸炎	性交	D, E, F, G
女性頸管炎、卵管炎		H, I, J, K
新生児封入体結膜炎 乳幼児肺炎	産道	D, E, F, G H, I, J, K
ソケイリンパ肉芽腫症	性交	L1, L2, L3

非淋菌性尿道炎

非淋菌性尿道炎 (Nongonococcal Urethritis) はその名が示すように、淋菌以外の病原体による尿道炎で、トラコーマクラミジア、ウレアプラズマ、トリコモナス、表皮ブドウ球菌などが病原体として知られているが、確実に視されているのはトラコーマクラミジアとウレアプラズマである。淋菌性尿道炎 (Gonococcal Urethritis) との鑑別は、主として Swarz らの基準に基づいている。すなわち、臨床症状と、分泌物の塗抹標本中に多核白血球が一視野(対物レンズ100倍)に4個以上見られ、しかも淋菌が細胞内外に見られないものが非淋菌性尿道炎、白血球内にグラム陰性の淋菌が認められるものが淋菌性尿道炎とされている。トラコーマクラミジアに起因する非淋菌性尿道炎は、欧米では当該疾患患者の30~59%、淋菌性尿道炎と診断された患者の4~32%(混合感染と思われる)と報告されている。その臨床症状は通常の尿道炎症状であるが、膿汁が淋菌性のものより薄い、全くないのが特徴とされている。

新生児封入体結膜炎

この疾患は性器にトラコーマクラミジア感染のある母親の産道において出生時に感染すると考えられている。潜伏期は5~14日であるが、早期破水の場合はより短く、出生当日に結膜炎が認められるようである。クラミジアによる結膜炎は意外に多く、欧米では新生児、乳幼児全結膜炎患者の33~50%を占めると報告されている。

乳幼児肺炎

上述の封入体結膜炎同様、産道において感染するもので、侵入門戸は鼻咽頭とされている。鼻汁または軽度の咳嗽で発症する。無熱であることが多いため、多呼吸によって肺炎の存在が明らかにされる場合が多いとされている。咳嗽は次第に強くなり、しばしば百日咳様の咳嗽が認められると言われている。発生率は、欧米では出生時から16週齢児までの場合、全肺炎患者の約40%と報告されている。

以上、欧米の報告を紹介したが、以下、わが国の現状を述べることにする。

わが国の現状

泌尿生殖器感染： わが国では1978年以降、トラコーマクラミジアによる非淋菌性尿道炎患者が臨床的にみて欧米同様の率で存在しているのではないかと言われてきた。しかしながら、ごく最近に至るまで病原体検索は全くなされず、1983年に至り、全国3~4の医学部で病原検索が始められるようになってきたが、それとて、病原体の分離(血清型別は外国に依頼)、抗体調査に止まっている現状である。

札幌、岐阜、神戸大などの泌尿器科の成績では、淋菌性尿道炎患者の5.6~21.6%、非淋菌性尿道炎患者の33~51%、非淋菌性子宮頸管炎患者の21.6%、膣炎患者の16.7%からトラコーマクラミジアが分離されている。札幌医大の抗体調査では、淋菌性尿道炎患者の19%、非淋菌性尿道炎患者の18.7%、子宮頸管炎患者の50%、トルコ風呂接客婦の95.8%がクラミジアに対する抗体が陽性、また、千葉大の性病科受診の成人男性では59.6%、女性では62.5%、トルコ風呂接客婦93%が抗体陽性と報告されている。これらの成績から、わが国においてもトラコーマクラミジアが泌尿生殖器疾

患の重要な病原体となっていることが示された。しかし、上述の抗体陽性者が直ちにトラコーマクラミジアを原因とする性病に罹患または過去に罹患したことがあるとするには若干問題がある。なぜならば、表3に示すように、性病を引き起こす血清型(D、E、F、G、H、I、J、K)と、新生児肺炎、封入体結膜炎を起こす血清型は全く同一であるからである。

新生児肺炎、結膜炎： この疾患については、わが国では札幌医大小児科でのみ病原体検索がなされているに過ぎないが、それによると新生児肺炎患者の24.1%、結膜炎患者の18.8%からクラミジア陽性と報告されている。

クラミジアの関与が疑われるその他の疾患

これまで述べてきた疾患の他、最近、欧米では直腸炎、卵管炎、副睾丸炎、バルトリン腺炎、不妊症、肝門周囲炎、心内膜炎など多種の疾患とクラミジアとの関連が示唆されてきている。

トラコーマクラミジアの検査法

1. クラミジアの検出(顕微鏡的検査)

検査材料： 男性尿道分泌物、女性尿道分泌物、新生児咽頭ぬぐい液、眼擦過物が用いられる。

検査方法： 上記材料をスライドガラスに塗抹後、ギムザ染色を施し、細胞質内封入体の有無を鏡検する。また、同スライド標本を蛍光色素標識抗クラミジア免疫血清で染色し鏡検する。蛍光抗体直接法と、標本に抗クラミジア免疫血清を反応させ、更に蛍光色素標識抗免疫グロブリン血清で染色する蛍光抗体間接法が使用される。その他、最近になり蛍光色素標識抗クラミジアモノクローナル抗体が外国で市販され、これを用いた蛍光抗体法が感度、特異性ともにすぐれているとされているところから、今後、最も普及する手技と考えられる。

2. クラミジアの分離(発育鶏卵法、細胞培養法)

材料： 検出の項で述べた材料が使用される。但し、クラミジアは温度に敏感であるため、分離まで24時間以上を経過する場合は検体を凍結しなければならない。

方法： 従来、発育鶏卵卵黄嚢内接種法が広く用いられてきたが、最近では放射線の前処理されたMcCoy細胞や、DEAEデキストラン処理されたHeLa 229細胞による組織培養法が主流をなしている。これらの細胞に検体を接種、一定時間培養後、あらかじめ培養瓶に入れて置いたカバースリップをとり出し、検出の項で述べた方法で鏡検する。

分離株の血清型別： 分離株は、まず、オウム病クラミジアとトラコーマクラミジアに分類(表2)し、トラコーマクラミジアと決定された時、血清学的型別を実施するわけである。この型別はマイクロ蛍光抗体法で行われている。すなわち、分離株をスライドガラスに塗抹し、その上に15種類の血清型のクラミジアに対する免疫血清をそれぞれ別々に種類ずつ反応させ、更に蛍光色素標識抗免疫グロブリン血清で染色鏡検する。現在、これを実施できる機関はわが国にはない。

3. 抗体測定

従来、補体結合反応(CF)や、赤血球凝集抑制反応(HI)が用いられてきた。しかし、この方法はオウム病クラミジアに対する抗体とトラコーマクラミジアに対する抗体との鑑別ができないことや、感度が低いなどの問題があり、最近では上述のマイクロ蛍光抗体法が用いられる。マイクロ蛍光抗体法に使用する抗原は、15種類の血清型のトラコーマクラミジアをそれぞれ別々にMcCoy細胞やHeLa 229細胞で増殖させ、更に数回の遠心操作で精製して作成される。

むすび

以上、トラコーマクラミジアの性状及び関連疾患の概要、わが国の現状などについて述べた。欧米では性病としてのトラコーマクラミジアが重視され、研究も進んでいるが、わが国では研究が緒についたばかりで、今後の発展が望まれると同時に、研究の進展に伴って、他の疾患との関連も明確となり、益々重要な疾患になってくるものと考えられる。なお、当研究所では従来からオウム病クラミジアについては検査、研究を行ってきたが、トラコーマクラミジアについては明年度から手をつける予定である。

(ウイルス部 三宅恭司)

飲料水中のマンガンによる中毒事件

昭和59年7月18日付の毎日新聞夕刊で報道されたMn中毒事件を機会に、Mn中毒について、もう一度考えなおしてみよう。

Mnは、どこにでもある重金属だが、その発症は比較的濃度で、比較的短期間で起る。しかもその症状は精神病を含めて、きわめて陰惨なものである。私自身、10年以上前、平塚で起った中毒例に接したとき、それがあまりにもはげしいため、半信半疑であった。しかし、今回の山口県で起った報道と合わせ考えたとき、Mn中毒のはげしさを信じざるを得ない。

遠い山口県で起った一事件と話題にするだけでなく、『他山の石』として、我々の周囲をもう一度見なおしてみる必要があるのではなからうか。愛知県内でも、充分中毒量に相当するMnを含んだ地下水も、数ヶ所見つかっている。幸い、直接飲料に使っていないようだが、これは、衛研で特にMnを意識せずに検査したわずか100件程の検査成績を見なおした結果にすぎない。

以下、山口で起ったMn中毒事件と、神奈川県平塚で起った、Mn中毒事件について紹介する。

山口県の中毒事件

山口市の新興住宅地に、昨年3月30日、一家4人は、新築したマイホームに入り、井戸水を使っていた。4月始頃から、4人と引きつづき引越しの手伝いに来ていた叔母が、吐き気を催し、脱力感などを訴えるようになった。井戸水を検査した結果、6.11ppmのMnが検出された。病院で検査した結果、血液中のMn値が高く、重症の小学生兄弟2人が入院した。この後、両親と叔母の3人の症状がひどくなり、Mn中毒症と診断された。さらに、ブロック塀の工事に、10日間来て、井戸水を飲んだ、元左官職人（其後転職）も、血液中の

表1 井戸水の化学分析 (ppm)

	No.1 井戸				No.2 井戸 18/I	No.3 井戸 18/I	No.4 井戸 18/I	No.5 井戸 18/I
	18/XII	8/I	18/I	5/II				
Mn ²⁺	14.34 14.25	9.80 10.25	8.75 9.25	4.20 4.50	10.65 11.05	7.63 7.86	0 0	0 0
Zn ²⁺	16.38 17.00	12.29 11.89	10.38 10.70	9.82 9.52	12.37 13.08	8.25 8.13	0.031 0.032	0.082 0.080
HCO ₃ ⁻	37.12	36.35	34.21	35.30	34.87	32.04	18.69	21.32

Mn量が高くなり、Mn中毒と考えられた。

小学生兄弟は、通学に支障はないものの、記憶力、集中力の低下が、いぜん見られる。両親ら5人も、Mn中毒特有の脱力感、関節痛に悩まされ、母親は、家事が手につかない日もある。元左官は肉体労働に耐えられず、セールスマンに職を変えざるを得なかった。

平塚の中毒事件

昭和14年12月、神奈川県平塚近郊に、脳炎症状の患者が発生した。一家6人、全員同様の症状である。この家族は始め、脳炎患者として、血液検査や髄液をマウスに注射するなど検査したが、結果はすべて陰性であった。普通、脳炎は夏に起り、一般に散発的に起るもので、この様な一家の集団発生は非常に珍しい。その上臨床症状から、単なる脳炎とは考えられなかったため、死亡した患者について解剖が行われた。

血液および髄液は無菌であり、血管周囲の細胞の浸潤、神経細胞の変化、グリア細胞の増加および、食神経細胞現象、等の脳炎の組織学的現象を示していなかった。一方錐体外路系の障害の症状は、中毒症状であることを示唆していた。

この家族は自転車店であり、今、仮にA家族と呼ぶことにするが、当時、自転車用の古い乾電池を井戸附近にたくさん埋めていた。水質検査の結果、表1のように大量のMn、Znが検出された。

A家は、汚染源（井戸No.1）の自転車店で主人

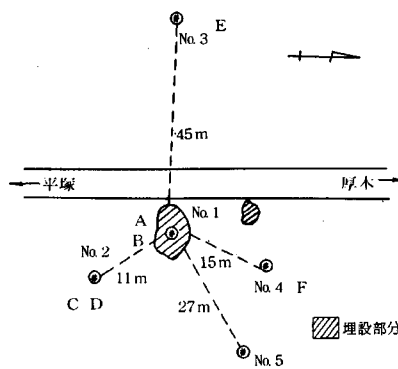


図1 中毒発生現地の略図

(46才)が、11月15日に苦しみ始め、17日に死亡した。妻(45才)、長男(11才)はそれぞれ、11月10日及び、18日に発病している。又、三男(14才)及び長女(11才)は、それぞれ11月20日及び12月10日に発病して、この井戸を使用しているA家族は、全員中毒にかかってしまった。

さらに、これら病人の看護に来たB家の老夫婦(71才と70才)も、12月27日及び12月20日にそれぞれ発病した。夫は、次第にうつ病になり、川へ投身自殺している。

No.2の井戸を使用しているC家族のうち、夫(32才)及び妻(27才)は、1月5日に発病したが、彼の子供(4才と2才)は健康であった。同じ井戸、すなわちNo.2の井戸を使用している、D家の家族のうち、夫(44才)および妻(40才)は、1月8日に発病したが、彼等の子供6人は、全部健康であった。

No.3の井戸を使用しているE家の家族は、祖母(79才)が11月1日に嗜眠状態となり、11月20日に死亡、息子夫婦(55才および41才)と孫息子(27才)は、11月2日頃発病した。これは、その後回復した。又、孫息子の妻(25才)は病気になるなかった。

これら患者の最初の症状は、食欲不振および便秘をとまなう嗜眠状態である。顔の表情は、能面のようになり、よだれを流す状態になる。筋の緊

張性は増し、下肢の関節は、リウマチのような疼痛をとまない強直する。最初から浮腫があり、腕の筋の緊張性が増し、顕著な震えがあり、食べる事、書くことが困難になる。腱の反射作用も顕著に増して、歩行が困難になる。そして、精神状態は顕著に阻害され、アンバランスとなる。記憶も失なわれ、ある患者はうつ病的になり、ある患者は幻覚をもった。

なお、No.4、No.5の井戸は、ほとんど汚染されず、F家からは病人は出なかった。

この事件は、2人が死亡し、1人がうつ病になり自殺した以外は、次第に回復した。

なお、文献によれば、健康者の肝臓および腎臓に含まれているMn量は、それぞれ0.087~0.392mg%および0.17mg%であるという。又、健康者の血液中の含有量は、0.03~0.05mg%であり、尿中の含有量は0.02mg%であるという。

臨床症状を読むかぎり、なかなか中毒であると発見しにくい。しかも年齢が高くなるほど、症状も重くなっている。

愛知県でも、方々で、プールの水がコーヒー色になったとか、黒い沈澱がたくさん出来て困っているとかという苦情が保健所に寄せられている。これは、水中のMnがCl₂によって酸化され、MnO₂となるためである。

又、県下の多くの水道で、除マンガン装置を取

表2 患者および中毒患者

民家 No.	A						C		D		E				B	
使用井 No.	No. 1						No. 2		No. 2		No. 3				No. 1	
発病月日	14/11	10/11	18/11	18/11	20/11	10/12	5/1	5/1	8/1	8/1	1/11	2/11	2/11	8/11	27/12	20/12
回復または死亡月日	7/12	4/2	4/2	4/2	20/1	18/1	18/2	18/2	18/2	18/2	20/11	28/12	28/12	28/12	16/2	4/2
患者姓名	I T	K T	N T	S T	Y T	M T	S A	F A	T Y	T Y	K H	S H	E H	I H	M T	N T
年齢	46 ♂	45 ♀	18 ♂	16 ♂	14 ♂	11 ♀	32 ♂	27 ♀	44 ♂	40 ♀	79 ♀	55 ♂	41 ♀	27 ♂	71 ♂	70 ♀
家族関係	主人	妻	長男	次男	三男	長女	主人	妻	主人	妻	祖母	主人	妻	長男	主人	妻
職業	自転車店		工員	工員			鉄道工夫		青物商			農		工員		農
症状経過	重死 症亡	重 症	重 症	中 等 症	軽 症	軽 症	軽 症	軽 症	軽 症	軽 症	重死 症亡	重 症	軽 症	軽 症	中 等 症	軽 症
摘要	家族全員発病						子供2人健		子供6人健		長男妻健康				両名ともA家に看護に通う	

りつけて Mn を除き、水道水として用いている所も多い。

このように、愛知県下でも、ごくありふれた重金属である。水道供給者、保健所担当者は充分心掛けておく必要があることは論をまたないが、最近、水道の水よりおいしい水を求めて、自家井戸

の水を飲んでいる人が増加している。更に健康を求めて「霊水」を愛飲している人達も相当数にのぼる。この人達を Mn 中毒から防ぐにはどのようにすればよいのだろうか？

(生活環境部 浜村憲克)

天然色素分析へのアプローチ(Ⅰ) クチナシ黄色素の確認

はじめに

昭和40年頃を境としてタール色素の毒性問題が取り上げられ、それに伴って食用タール色素の削除が相次いだことは周知の事実である。そこで従来までは、コストの面で比較的特殊な部門にのみ使用されていた天然色素が、その利用開発の研究の進展につれて、身近な領域にまで浸透して来ている。更に法的規制の絡みとも相まって、食品中への天然色素の使用はますます増加の傾向にある。一般に日本をはじめ諸外国において天然色素と称する場合には、1)生体色素、2)生体色素の構造の一部を化学変化させた色素、3)生体色素と全く同じ構造に合成した色素、4)動植物体乾燥物を磨砕したもの、5)動植物体を搾汁した色素含有物または粗抽出物、6)微生物を液体または固体培地に培養・分離した色素、7)天然物または生体色素を出発原料として、これに微生物または食用酵素を作用させて得た色素、などがあげられる。

日本では食品衛生法により、2)・3)は化学的合成品として取り扱われ、天然色素と見なされているものは、2)・3)を除いた色素に限られている。いずれの項目に入る色素もそれは天然物であり、主色素成分以外に数多くの化合物を含んでいることは言うに及ばない。例をあげると、ある植物の有機溶媒抽出物(色素画分の粗抽出物)中には、50、100 といった数ではなく、それ以上の化合物を含んでいる。天然色素製剤は多種多様であり、個々の天然色素製剤につき、含有される化合物の多少に相違は見られるものの、色素成分・非色素成分の集合体が天然色素と呼ばれているものである。上述したように天然色素はタール色素と異り、多くの化合物を含有した天然抽出物(混合物)である。従ってペーパーまたは薄層クロマトグラフィーにより分析する場合、その中に含まれる数多

くの化合物がクロマトグラム上で観察され、それらのうちのある種の化合物はテーリングないしはリーディングを起こし、個々の化合物の Rf の決定を困難にしている。

現在までに天然色素の分析に関する報告は数多く見られるにも拘らず、食品中に使用された天然色素が何であるか正確に判定する方法は未だ確立されていないのが現状である。それらの中にはタール色素分析法(一斉分析法)をまるごとスライドさせ、天然色素分析に適用させたものも見られるが、天然色素の性質から判断すれば、それらはほとんど意味のない方法と言わざるを得ない。個々の天然色素についてみれば、その主要色素成分は既に単離・同定されているものも多い。しかしながら、食品の着色が主要色素成分のみによりなされているとは一概に言い難い。また各色素製造メーカーはそれぞれ独自の製造方法(抽出操作)を採用しているため、含有成分の相違が著しく、しかも原料植物(動物など)中の成分含量にも相当なバラツキがみられる等々の原因が、天然色素の分析を更に難しくしている。

我々は天然色素の分析を始めるにあたり、従来のタール色素の一斉分析法なる手法は取り入れず、各々の天然色素が当然持っている特徴を充分調査したうえで、天然物化学的に取り扱うという立場に立った。即ち色素成分のみを観察するだけではなく、原料中に含まれ着色には寄与しないであろう非色素成分、および食品の着色に寄与していると考えられる主要色素以外のマイナー色素成分を指標とする方法、またはクロマトグラム上でテーリングなどを起こす主要色素成分を適当な化学修飾を施し、Rf の決定をより確実にする方法などである。当然のこととして指標化合物を原料より各種クロマトグラフィーにより精製・単離し、そ

の化学構造を同定したうえで、これを指標として、食品中に実際使用された天然色素の種類を決定しようとした。

現実に保健所など第1線の現場で日々着色料の検査に携わっておられる分析者が直面している問題を考慮したとき、現在までに提示された天然色素分析法の多くは、天然色素が使用されているらしいという感触はつかめるものの、それが一体何であるか正確に判定することは極めて難しいと思われる。

我々は天然色素分析の出発点に立ったところであり、多くの実験データを持っているわけではないが、この紙面の情報が着色料検査にあたっての一助となりえれば幸いに思う。今後更に実験データが得られ次第、この紙面をお借りすることとして、今回はクチナシ黄色素について述べてみる。

クチナシとは

クチナシは日本の西南部から台湾および中国にかけて自生し、また庭木として栽培される常緑の低木で、初夏には白い花が咲き芳香がある。クチナシ果実はサンシン（山梔子）と呼ばれ、日本薬局方に収載されている生薬であり、漢方では消炎・利尿・解熱・止血・鎮静の目的で使用されている。一方クチナシ果実はカロチノイド系色素のクロシン・クロセチンなどの黄色色素を含むため、古くから飲食物の着色料として菓子・麺類などに使用されている。なおサンシンの学名は *Gardeniae Fructus* と言う。

市販クチナシ黄色素製剤の薄層クロマトグラフィ

市販クチナシ黄色素8社8品目について薄層クロマトグラフィを行った。図1に示すように各製剤とも5から8個の黄色スポットを与え、色素メーカーにより異なるクロマトグラムを与えた。

このクロマトグラムの結果より、製造メーカーの異なるクチナシ黄色素が食品に使用されたとき、果して黄色スポットのみをよりどころにして、その使用を的確に判断できるか否かは疑問である。そこで天然物領域で繁用される *p*-アニスアルデヒド硫酸試薬（メタノール160 ml、酢酸30 ml、濃硫酸10 mlの混液に *p*-アニスアルデヒド2 mlを混和したもの）を薄層プレートに噴霧し、加熱したところ、総てのクチナシ黄色素製剤より Rf 0.4

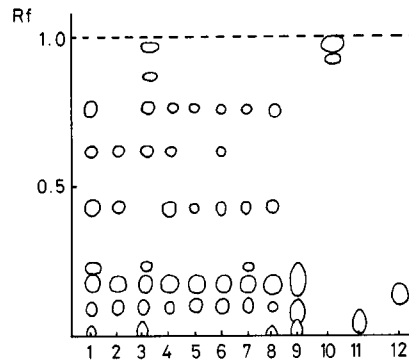


図1 市販黄色色素製剤の薄層クロマトグラム

1～8：製造メーカーの異なるクチナシ黄色素、9：紅花黄色素、10：ウコン色素、11：食用黄色4号、12：食用黄色5号。

プレート：メルク TLC プレートシリカゲル 60 F₂₅₄ 20×20 cm (0.25 mm厚)。

溶媒：クロロホルム-メタノール-水 (65：35：10、下層)

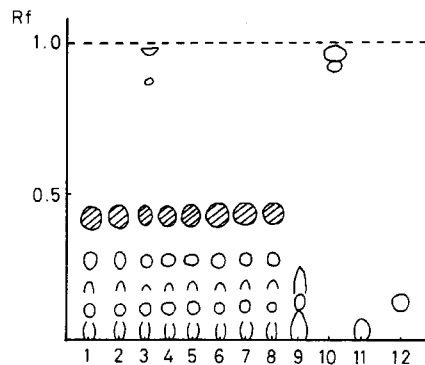


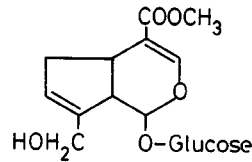
図2 発色試薬を噴霧した市販黄色色素製剤の薄層クロマトグラム

発色：*p*-アニスアルデヒド硫酸試薬を噴霧し、150°で1分間加熱。

検体番号、プレート、および溶媒は図1に同じ。

付近に鮮明な赤紫色スポットが出現した(図2)。発色試薬は *p*-アニスアルデヒド硫酸試薬の代わりに硫酸試薬エタノール中に5% W/V になるように濃硫酸を加え混和したもの)でも代用できるが、前者のような鮮明な発色は得られず、茶黒色スポットを与える。クチナシ黄色素を除く他の黄色系天然色素または食用黄色色素からはこのスポットと同一の R_f を持ち、類似の色調を示すスポットは得られなかったことから、この赤紫色スポットを与える成分を指標にすることにより、クチナシ黄色素の食品への使用の有無を証明することができるであろうと考えた。

まずこの赤紫色スポット成分を原料のクチナシ果実より単離し、その構造を明らかにすることを試みた。クチナシ果実を粉碎し脱脂後、メタノールで抽出した。メタノールエキスをクロロホルム-メタノール(9:1)混液を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、当該分画を分取し、析出させた。再結晶ののち、プロトンおよびカーボン核磁気共鳴スペクトルデータより、クチナシ果実の主成分の一つであるイリドイド配糖体のゲニポサイドと同定した。ゲニポサイドはクチナシ近縁植物のほか、ミズキ科の *Cornus suecica* L. に含まれているが、クチナシ黄色素を除く他の天然色素に含まれているという報告は見あたらない。従ってゲニポサイドを薄層クロマトグラフィーで検出することにより、クチナ



ゲニポサイドの化学構造式

シ黄色素の使用を判定できると考えた。

食品中からのゲニポサイドの抽出

比較的夾雑物が少ないアメ・ゼリーなどの食品は水または温湯で検体を均一に溶解させ、*n*-ブタノールを加えて分配する。*n*-ブタノール層を分取し溶媒を留去後、濃縮物をアセトン-水(1:1)で溶解し、薄層クロマトグラフィー用の検液とする。一方夾雑物が多い栗の煮物(シロップ漬)などはアンバーライト XAD-2 カラム処理を加える。即ち検体を温湯で均一に溶解または懸濁させ、必要に応じて不溶物は濾過して取り除く。予め洗浄したアンバーライト XAD-2 カラムに検液をアプライし、水で充分カラムを洗浄する。次いでメタノールを流し黄色色素およびゲニポサイドを溶出させる。メタノール分画を濃縮し、薄層クロマトグラフィー用のサンプルとする。一般的に定性・定量などの分析を行う場合、前処理操作により分析に影響を及ぼす夾雑物をどれほど取り除くことができたか? これはデータの信頼性を考

夾雑物の少ない食品(検体採取量30g)
(キャンディー、ゼリーなど)

- 1) 温湯 200 ml で溶解
- 2) *n*-ブタノール 100 ml を加え分配

n-ブタノール層 水層

夾雑物の多い食品(検体採取量30g)
(栗の煮物など)

- 1) 温湯 100 ml で抽出
- 2) 濾過

濾液 残渣

アンバーライト XAD-2 カラムクロマト
グラフィー(樹脂量50ml)
1) 水 500 ml で洗浄
2) メタノール 200 ml で溶出
メタノール分画

- 1) 溶媒留去
- 2) アセトン-水(1:1) 0.5 ml で溶解

薄層クロマトグラフィー

食品からのゲニポサイドの分析操作

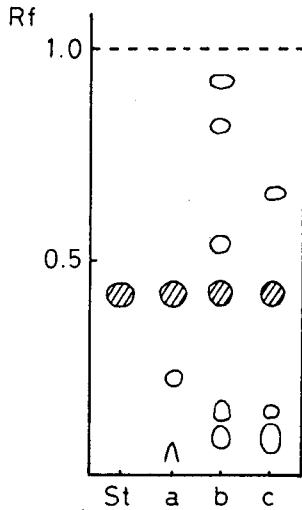


図3 食品から得た検液の薄層クロマトグラム
St:ゲニポサイド、a:ゼリー、b:キャンデー、c:栗の煮物。
プレート、溶媒、および発色条件は図1、図2に同じ。

えるうえで大きなファクターとなる。今回用いた前処理は簡単であり、しかも効率的に目的成分を精製できるので、クチナシ黄色素には適った前処理法である。市販食品の分析の結果、ゼリーなどの色素使用量の少ない検体では、色素スポットは薄く、これにより判定することは難しかったが、ゲニポサイドを指標にとることにより、クチナシ黄色素の確認は容易であった(図3)。

ゲニポサイドの安定性

食品製造工程中にゲニポサイドが分解または変化するか否か実験室的な検討として、酸およびアルカリ条件下で加熱し、その安定性をみた。pH 1 から pH 11 の範囲で85°、2時間の加熱でも分解の徴候は認められなかった。このことは一般的に行なわれる食品製造行程において、ゲニポサイドが消失する可能性がほとんどないことを示している。

おわりに

以上、ゲニポサイドを指標としたクチナシ黄色素の確認法を述べたが、薄層板上黄色スポットのみでは判別が極めて困難な場合でも、ゲニポサイドを確認することにより食品中への使用の有無が判定でき、充分天然色素分析の一手段となりうる。しかし、クチナシ黄色素は“たくあん”の着色に使用された場合“たくあん”が緑変する現象が稀に起こる。この現象はクチナシ黄色素製剤中のイリドイド配糖体が、大根に含まれる酵素β-グルコシダーゼにより加水分解を受けてイリドイドアグリコンとグルコースになり、更にイリドイドアグリコンが1級アミン(アミノ酸など)と反応し、緑色色素体を生成したことに起因している。そのために最近ではイリドイド配糖体を何らかの方法により取り除いたクチナシ黄色素製剤も作られている。しかしこのようなクチナシ黄色素製剤は、食品加工中に酵素活性が失われない食品にのみ使われ、本来酵素活性のないアメ・ゼリー・キャンディー類または加工中に失活する栗の煮物等の食品には、無処理のクチナシ黄色素を使っているようである。また“たくあん”の着色には普通食用黄色4号・5号が使われ、稀にウコン色素、クチナシ黄色素が使われると聞いている。

クチナシ果実はカロチノイド系黄色色素をはじめ、イリドイド配糖体も多く含んでいる。このイリドイド配糖体を利用した色素製剤の開発が盛んに行われている。上述のごとくイリドイドアグリコンは1級アミンと反応して、黄色色素を生成するが、更に反応条件を変えることにより、イリドイドアグリコンと1級アミンより、赤色・青色など任意の色調の色素組成物を得ることが可能であり、既に開発が進められているものもある。

今回記述したゲニポサイドを指標としたクチナシ黄色素の確認法が、クチナシ黄色素の確認において、オールマイティーとは考えていない。しかしながら天然色素分析への一つのアプローチをしたことにはなると考えている。皆様の御批評を仰ぐ次第である。

本稿は日本薬学会第102年会および衛生化学29、7~12(1983)に発表または掲載された一部をまとめたものである。

(食品薬品部 山田貞二)

赤痢菌の血清学的分類の改訂について

赤痢菌の血清学的分類は、国際腸内細菌分類小委員会による1958年の改訂後、新血清型の追加あるいは修正の提案がなされてきたものの、これまで全く改訂をみていなかった。しかし、最近に至り、同委員会はこれら懸案の提案事項について検討・審議し、本年それらに対して勧告をだすこととなった（詳細は International Journal of Systematic Bacteriology, 34巻、87、1984を参照）。以下この勧告のなかで、従来の分類に変更の生じた点につき簡単に紹介する。

1. *S. flexneri* の分類

①型 5 新たに 5a および 5b の 2 亜型を設置する。抗原構造は 5a = V : 3, 4、また 5b = V : 7, 8 である。

②型 3 従来の 3 亜型を以下のように 2 亜型に縮小する。

3a = III : 6, 7, 8 → 3a = III : (3, 4), 6, 7, 8

3b = III : 3, 4, 6 } → 3b = III : (3, 4), 6

3c = III : 6

ただし、3a を 3b、3b を 3a とする呼称変更に係る提案は不採用。

2. *S. dysenteriae* の分類

赤痢菌 provisional serotype 3873-50 および 3341-55 は、*S. dysenteriae* の新血清型であり、それぞれ型 11 および 12 として抗原表に追加する。

3. *S. boydii* の分類

赤痢菌 provisional serotype 2710-54, 3615-53 および E10163 は、*S. boydii* の新血清型であり、それぞれ型 16, 17 および 18 として抗原表に追加する。

なお、provisional serotype 1621-53 については保留。また、同 2000-53 株は赤痢菌でなく大腸菌であると判定され、新血清型の追加は不採用となった。

以上の改訂に基づく赤痢菌の新たな血清学的分類表を別表に示す。

赤痢菌の新しい分類

菌種	血清型/亜型	抗原構造	
<i>S. dysenteriae</i>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	10		
	11	(provisional type: 3873-50)	
	12	" : 3341-55)	
<i>S. flexneri</i>	1 1a	I : 4	
	1b	I : 6	
	2 2a	II : 3, 4	
	2b	II : 7, 8	
	3 3a	III : (3, 4), 6, 7, 8	
	3b	III : (3, 4), 6	
	4 4a	IV : 3, 4	
	4b	IV : 6	
	5 5a	V : 3, 4	
	5b	V : 7, 8	
6	VI : 4		
X	- : 7, 8		
Y	- : 3, 4		
<i>S. boydii</i>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	10		
11			
12			
13			
14			
15			
16	(provisional type: 2710-54)		
17	" : 3615-53)		
18	" : E10163)		
<i>S. sonnei</i>			

(工藤泰雄・東京都微生物検査情報第 5 巻第 4 号より転載)

今般、以上のとおり国際腸内細菌分類小委員会から赤痢菌の血清学的分類の改訂に関する勧告がなされた。いずれメーカーから、新たに追加された各血清型の診断用血清が市販されることとなるが、衛研としては市販血清が整備されるまで、従来の分類（手引書、第 3 版）により検査を続ける方針である。

なお、市販診断用血清に非凝集の赤痢菌が分離された場合は、衛研へ送付されたい。

(細菌部 中村 章)