

ISSN 1884-6165

保健科学研究

第 11 卷 第 1 号

Journal of Health Science Research

Vol.11 No.1



保健科学研究

J. Health Sci. Res.

2020

保健科学研究

第 11 卷 第 1 号

Journal of Health Science Research

Vol.11 No.1



2020

目次

【原著】

- 藤岡 美幸、吉岡 翔、野坂 大喜：
Escherichia albertii における培養温度の検討..... 1
- 藤岡 美幸、林 稜太、月足 正辰、吉岡 翔、松下 紬、阿部 翼、野坂 大喜：
各種液体培養法における下痢原性大腸菌関連遺伝子の検出状況..... 7

【報告】

- 須藤 那月、大津 美香：
認知機能が低下した高齢者の主観的評価のアウトカムに影響する要因の検討..... 13

【原著】

Escherichia albertii における培養温度の検討藤岡美幸*¹ 吉岡 翔*¹ 野坂大喜*¹

(2020年7月2日受付, 2020年7月16日受理)

要旨: 新興病原体である *Escherichia albertii* は 1998 年にバングラデシュの下痢症患者から分離され、現在わが国でも食中毒の原因菌として知られている。*E. albertii* の生化学的性状は *E. coli* に類似しており、臨床検査機関では誤同定されている可能性がある。そこで本研究では *E. albertii* をはじめ、*E. coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Citrobacter freundii* の 4 種類の腸内細菌の混合液を作製し、使用培地や培養温度別に *E. albertii* の検出を検討した。その結果、*E. coli* の選択培地である EC ブロス 44.5°C で選択培養した EMB 寒天培地上では *E. albertii* を検出できなかったが、37~42°C では *E. albertii* 濃度が高い混合菌液での検出を認めた。一方で BTB 寒天培地での発育はいずれの条件でも *E. albertii* の検出は可能であったが、BTB 寒天培地の通常の培養温度である 37°C が最も有効であった。*E. coli* 検出には高温下での選択培養が行われるが、他菌種のみならず一部の *E. coli* の発育も抑制することから、*E. albertii* の分離には 37~42°C での選択増菌後に BTB 寒天培地等を用い、*E. albertii* の特徴である乳糖非分解集落を標的にすることが有効である。

キーワード: *Escherichia albertii*, 食中毒原因菌, 誤同定, 培養温度

I. はじめに

かつて猛威を振るったサルモネラやビブリオは 2001 年の食品衛生法施行規則の改正¹⁾により激減^{2, 3)}した。また、現在食中毒原因菌第 1 位であるカンピロバクターもその特性が解明されつつあり⁴⁾、感染症予防の検討が進められている⁵⁾。

一方で新興病原体の報告もある。*Escherichia albertii* は 1998 年にバングラデシュの下痢症患者より分離され、当初は *Hafnia alvei* と同定されていた⁶⁾。しかし 2003 年に Huys ら⁷⁾により生物化学的性状やハウスキーピング遺伝子の解析等が行われ、*E. albertii* と命名された。現在、*E. albertii* は質量分析等で *E. coli* と誤同定されており⁸⁾、臨床検査機関において正しく菌種同定されていない可能性がある。*E. albertii* の生化学的性状は、乳糖非分解、非運動性、インドール陰性、リジン脱炭酸陽性、D-キシロース非醗酵等⁹⁾が知られているが、当研究室の先行研究ではインドール陽性や D-キシロース発酵等、様々な生物学的な性状を示した。

そこで本研究は *E. albertii* と腸内細菌科細菌を混合させた混合菌液を作製し、菌液中の *E. albertii* の検出について検討した。

II. 対象および方法

対象は腸内細菌科細菌である *E. albertii* JCM17328 株、*E. coli* ATCC25922 株、*Klebsiella pneumoniae* (臨床由来株)、*Citrobacter freundii* (臨床由来株) の 4 菌株とした。

E. albertii は *E. coli* の選択培地 EC ブロス (栄研) でマク

ファーランド標準濁度 (McFarland standard turbidity: McF) 0.5 に調整後に生菌数をカウントし、菌濃度を 1.5×10^8 CFU/mL とした。この菌液 2 mL を 0.2 mL ずつ階段希釈し 10^4 倍まで行い、 10^4 倍希釈液の菌濃度を 1.5×10^4 CFU/mL とした。*E. coli*、*K. pneumoniae*、*C. freundii* の 3 菌種は McF 0.5 に調整後、 10^2 倍希釈し、それぞれの 20 μ L、すなわち生菌数 3.0×10^4 個を各 *E. albertii* 菌液に添加し、これを混合菌液とした。混合菌液における *E. albertii* の菌濃度を表 1 に示す。*E. albertii* の菌濃度 1.5×10^8 CFU/mL では混合菌液に含まれる菌数が *E. coli*、*K. pneumoniae*、*C. freundii* より 10^4 倍相当であるため、この混合菌液を *E. albertii* 濃度 10^4 倍液とした。またこれら 3 菌種と *E. albertii* の生菌数が等量になるように調整した 10^4 倍希釈液を *E. albertii* 濃度等量液とした。これら混合菌液は 37、40、42、44.5°C で一晚培養後、培養液の 1 白金耳を *E. coli* の選択培地である EMB 寒天培地 (ニッスイ)、グラム陰性菌用の非分離用培地である BTB 寒天培地 (ドリガルスキー改良培地、栄研) に塗抹し、37、40、42、44.5°C で一晚培養後、*E. albertii* の分離状況を検討した。

III. 結果

1. 各寒天培地 37°C 培養における対象菌株の発育状況

1) EMB 寒天培地における発育状況

E. coli は集落が密集しているところでは金属光沢が認め

表1 混合菌液中における *E. albertii* 濃度

	10 ⁴ 倍液	10 ³ 倍液	10 ² 倍液	10倍液	等量液
菌数 (CFU/mL)	1.5×10^8	1.5×10^7	1.5×10^6	1.5×10^5	1.5×10^4
菌数 (個)	2.7×10^8	2.7×10^7	2.7×10^6	2.7×10^5	2.7×10^4

*1 弘前大学大学院保健学研究科
Hirosaki University Graduate School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-39-5970
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan
Correspondence Author mfujioka@hirosaki-u.ac.jp

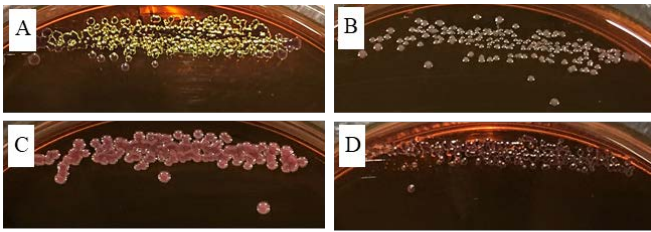


図1 EMB寒天培地における対象株の発育

A: *E. coli*, B: *E. albertii*, C: *K. pneumoniae*, D: *C. freundii*

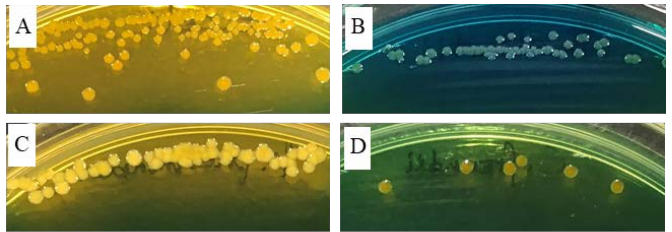


図2 BTB寒天培地における対象株の発育

A: *E. coli*, B: *E. albertii*, C: *K. pneumoniae*, D: *C. freundii*

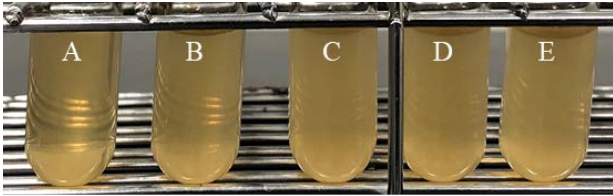


図3 ECブロス44.5°C培養における各混合菌液

A: *E. albertii* 10⁴倍混合菌液, B: 10³倍混合菌液, C: 10²倍混合菌液, D: 10倍混合菌液, E: 等量混合菌液

られたが、単離集落は黒色であった。*E. albertii* は無色透明の小集落、*K. pneumoniae* は赤紫色の大集落、*C. freundii* はやや小さい濃赤紫色集落であった(図1)。

2) BTB 寒天培地における発育状況

E. coli は黄色集落、*E. albertii* は無色透明の小集落、*K. pneumoniae* は淡黄色の大集落、*C. freundii* はやや小さい黄色集落であった(図2)。

2. EC ブロスにおける温度別の発育状況

1) 混合菌液における EMB 寒天培地での発育状況

EC ブロス 44.5°C 選択培養では *E. albertii* 濃度 10³ 倍および 10⁴ 倍混合菌液における培養液の濁度は McF 2~3 であったが、等量~10² 倍混合液および EC ブロス 37, 40, 42°C の選択培養温度におけるすべての濃度で強い混濁が認められた(図3)。

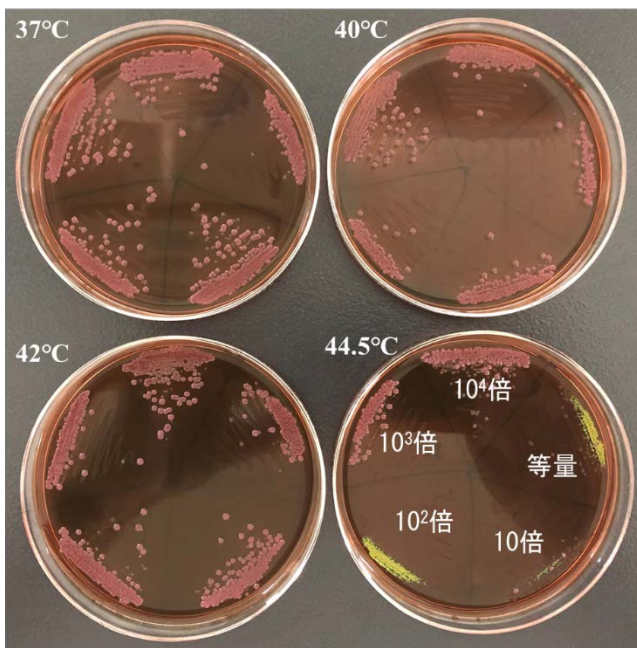


図4 EMB寒天培地におけるECブロス培養温度別混合菌液

これらの培養菌液をそれぞれ EMB 寒天培地に塗抹し 37°C 培養した結果を図4に示す。EC ブロス 44.5°C 選択培養における *E. albertii* 濃度が等量~10² 倍混合菌液では金属光沢集落が認められたが、10³, 10⁴ 倍混合菌液では認められなかった。また EC ブロス 37, 40, 42°C 培養後の EMB 寒天培地ではいずれの *E. albertii* 濃度でも金属光沢は認められず、*K. pneumoniae* の発育が良好であった。これらの培地上の小集落を釣菌した結果、すべて *E. coli* であった。

EC ブロス 37, 40, 42°C 選択培養後の EMB 寒天培地での発育は 37, 40, 42°C 培養ともに等量~10² 倍混合菌液では金属光沢集落が認められたが、10³, 10⁴ 倍混合菌液では認められなかった。また 44.5°C 培養では全濃度の混合菌液で黒色集落のみ認められた。これらの EMB 寒天培地上の半透明小集落を釣菌した結果、すべて *E. coli* であった。

2) 混合菌液における BTB 寒天培地での発育状況

EC ブロスを各温度で培養した菌液を BTB 寒天培地に塗抹し、37°C 培養した結果を図5に示す。EMB 寒天培地と同様に、EC ブロス 44.5°C 培養における *E. albertii* 濃度が等量~10² 倍混合菌液では黄色集落が認められ、*E. coli* が優位に発育していた。一方で *E. albertii* 濃度が 10³, 10⁴ 倍混合菌液において乳糖非分解の透明集落を釣菌した結果、すべて *E. albertii* であった。

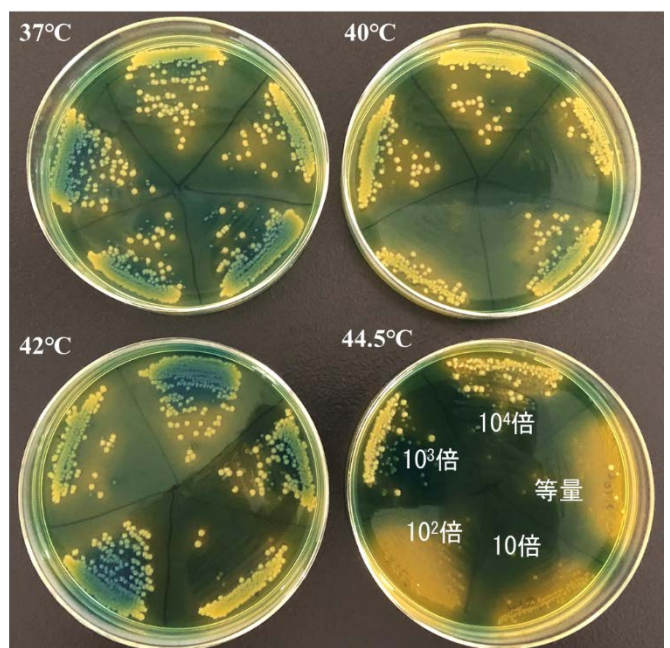


図5 BTB寒天培地におけるECブロス培養温度別混合菌液

EC ブロス 37, 40, 42°C 選択培養後の BTB 寒天培地での発育は 37, 40, 42°C 培養ともに乳糖分解菌の発育が良好であったが, 44.5°C 培養では EC ブロスの培養温度に関わらず, 対象菌株の発育が抑制されていた。また *E. albertii* 全濃度の混合菌液において, 各培養温度から乳糖非分解集落を釣菌した結果, すべて *E. albertii* であった。

IV. 考察

近年, 新興病原体である *E. albertii* による食中毒事例がいくつか報告^{10,11)}されている。しかしながら *E. albertii* は臨床検査機関における質量分析等では *E. coli* 等と誤同定されており⁸⁾, 同定には PCR による *E. albertii* 特異遺伝子の検索等が必要であるため, 通常の臨床検査では下痢症原因菌として分離しても菌種同定が正しくできていない現状がある。そこで本研究では大腸菌群である *E. coli*, *E. albertii*, *K. pneumoniae*, *C. freundii* の 4 菌種を対象に混合菌液を作製し, 大腸菌群を選択的に分離・培養する EC ブロスや EMB 寒天培地, グラム陰性桿菌や腸内細菌を分離する BTB 寒天培地を用いて *E. albertii* の分離を検証した。

EC ブロスは添付書により, 37°C で 48 時間培養後にガスの産生があれば大腸菌群陽性, 44.5°C で 24 時間培養後にガスの産生があれば *E. coli* 陽性と判定されるが, 実際に菌種同定するためには集落の分離が必要である。今回対象とした 4 菌種は大腸菌群に含まれ, また *E. albertii* は *E. coli* と同じ *Escherichia* 属であることから, 本研究では各培地上の集落の様子を詳細に確認した。EC ブロス 37, 40, 42, 44.5°C の温度で一晩選択培養後, EMB 寒天培地に塗抹し, その様子を観察した。EMB 寒天培地は大腸菌群の確定試験に使用され, 添付書に準じた 37°C 培養により, *E. coli* は中心部黒色で黄金色の金属光沢を示し, サルモネラや赤痢菌は透明な小集落を形成するとされる。今回, *E. albertii* はうすいピンク色の透明なやや小さな集落を形成しており, サルモネラや赤痢菌と類似した透明な小集落を形成した。一方, *E. coli* は集落が密集しているところでは金属光沢が認められたが単離集落は黒色集落, *K. pneumoniae* はピンク色の大集落, *C. freundii* は黒色小集落であった。よって EMB 培地における *E. albertii* の分離は透明集落を標的にすることが有効であると考ええる。

EC ブロス 37, 40, 42°C で選択培養後の EMB 寒天培地における各培養温度別の分離状況では, *E. albertii* の菌濃度に関わらず *K. pneumoniae* が優位に発育し, 他の 3 菌種は発育があまり良くなかった。一方で EC ブロス 44.5°C で選択培養後の EMB 寒天培地 37, 40, 42°C 培養した培地での発育は, *E. albertii* の菌濃度 10^3 , 10^4 倍混合菌液では *E. albertii* の発育を認めた。しかしながら 44.5°C での培養ではいずれの選択培養温度でも *E. albertii* や *K. pneumoniae*, *C. freundii* は検出できず, また *E. coli* も黒色集落のみで金属光沢集落を形成しなかった。このことから 44.5°C の高温下での培養

は他菌種のみならず, 一部の *E. coli* も発育を抑制される可能性が示唆された¹²⁾。また EMB 寒天培地の培養温度も必要以上に高温にせず, 添付書による 37°C 培養が有効であることを再確認した。

今回, EC ブロスで増菌培養後, EMB 寒天培地と同様に BTB 寒天培地での混合菌液の分離状況も検討した。BTB 寒天培地は 37°C で 24 時間培養をすると, 乳糖分解菌は黄色集落となり, 一方で乳糖非分解菌は透明な集落となる。本研究の対象菌株は *E. albertii* のみ乳糖非分解であるため, いずれの培養条件でも分離が困難ではなく, *E. albertii* の濃度が高ければ容易に分離が可能であった。また EMB 寒天培地と同様に高温下での培養は対象菌種も発育抑制される可能性があり, 添付書による 37°C の培養温度が有効であった。

食中毒の原因菌である赤痢菌や腸管出血性大腸菌, カンピロバクター等は 100 個程度でも感染・発症が可能であるとされるが, 一般には 10^6 ~ 10^8 個の原因菌の摂取により食中毒を起こす¹³⁾。よって *E. albertii* が原因となる食中毒では, 患者便中には相当数が含有されていることが想定されるため, 増菌培養を行わずに *E. albertii* の検出が可能であると考ええる。一般に便培養には BTB 寒天培地は使用されないが, 同様に乳糖を含有する SS 寒天培地ではサルモネラや赤痢菌以外の発育は強く抑制される¹⁴⁾。また SS 寒天培地より選択性が強くない腸内細菌分離培地である DHL 寒天培地は乳糖と白糖が含まれている¹⁵⁾。*E. albertii* は乳糖および白糖非分解との報告が多い^{16, 17)} が, 白糖分解 *E. albertii* の報告¹⁸⁾ もあることから, DHL 寒天培地の 2 種類の糖非分解の集落を対象とすることは見落としの可能性を否定できない。さらに BTB 寒天培地は非選択培地であるため, 便を塗抹・培養した際には様々な菌種が発育することが予想される。そこで EC ブロス 44.5°C で選択培養することで, 非目的菌の発育を抑制することが可能となる。菌量が少ないことが予想される検体では直接あるいは濃縮して BTB 寒天培地に塗抹・培養し, 乳糖非分解菌を標的にすることで, *E. albertii* を見逃す可能性を減少させることができると考える。他にマッコンキー寒天培地¹⁹⁾ が乳糖を含有するが, 当研究室の先行研究では BTB 寒天培地と同様の発育状況であった。しかしながらマッコンキー寒天培地は NaCl を含有するグラム陰性桿菌の選択培地であり, 一部のグラム陽性球菌が発育可能な BTB 寒天培地より選択性が強いことから, 検体の種類により使用培地の選択は慎重に行う必要がある。

臨床検体等から検出した乳糖非分解菌が *E. coli* に類似した生化学的性状であり, 自施設で *E. albertii* との詳細な鑑別が難しい場合は, 現段階では PCR 等を用いた鑑別が可能な施設へ同定依頼が必要になると思われる。よって今後は生化学的性状の解析や検出技術の検討等を進め, 一般の施設でも実施可能な *E. albertii* 簡易同定法の開発に努めたい。

利益相反 開示すべき利益相反はありません。

引用文献

- 1) 厚生労働省生活衛生局長. 食品衛生法施行の一部を改正する省令の施行等について. 生衛発第 1836 号, 1998.
- 2) 国立感染症研究所. 細菌性食中毒 1998~2007 年. IASR, 29(8): 213-215, 2008.
- 3) 国立感染症研究所. サルモネラ症. IASR, 27(8): 191-192, 2006.
- 4) 藤岡美幸, 木村俊太, 他: 凍結環境が *Campylobacter* 生存に与える影響に関する調査. 保健科学研究. 10(1): 39-42, 2019.
- 5) 畜産技術協会. 食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書. 98-113, 2010.
- 6) Albert MJ, Alam K, et al.: *Hafnia alvei*, a probable cause of diarrhea in humans. Infect Immun, 59(4): 1507-1513, 1991.
- 7) Huys G, Cnockaert M, et al.: *Escherichia albertii* sp. nov., a diarrheagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children. Int J Syst Evol Microbiol, 53(3): 807-810, 2003.
- 8) 杵淵貴洋, 角谷不二雄, 他: 同定に MALDI-TOFMS の使用が有効であった患者由来 *Escherichia albertii* 2 株の細菌学的概要 - 北海道. IASR, 39(5): 84, 2018.
- 9) Abbott SL, O'Connor J, et al.: Biochemical properties of a newly described *Escherichia* species, *Escherichia albertii*. J Clin Microbiol, 34(3): 4852-4843, 2003.
- 10) 深田真美, 福原亜美, 他: 集団感染事例から検出された *Escherichia albertii* について. IASR, 37(5), 100-101, 2013.
- 11) 石岡真緒, 関 哲, 他: 宇都宮で発生した *Escherichia albertii* による食中毒事例について. IASR, 38(8): 175-176, 2017.
- 12) 角野 猛, 佐久間久仁子: 大腸菌群の発育縫い及ぼす培養温度の影響について. 家政学雑誌, 33(12):46-49, 1982.
- 13) 松木隆広: ヒト腸内フローラ構成菌の定量的 PCR 検出保の確立および菌属・菌種分布の解析. 日本細菌学雑誌, 62(2): 255-261, 2007.
- 14) 藤田保健衛生大学「臨床検査学入門」編集委員会: 医学領域における臨床検査学入門 第 2 版. p458-465, KTC 中央出版, 東京, 2009.
- 15) 前田哲司: 栄研マニュアル 第 10 版 DHL 寒天培地. p61, 栄研化学株式会社, 東京, 1996.
- 16) Asoshima N, Matsuda M, et al.: Identification of *Escherichia albertii* as a causative agent of a food-borne outbreak occurred in 2003. Jpn J Infect Dis, 67(3): 139-140, 2014.
- 17) Stock I, Rahman M, et al.: Natural antimicrobial susceptibility patterns and biochemical identification of *Escherichia albertii* and *Hafnia alvei* strains. Diagn Microbiol Infect Dis, 51(3): 151-163, 2005.
- 18) Ooka T, Tokuoka E, et al.: Human gastroenteritis outbreak associated with *Escherichia albertii*, Japan. Emer Infect Dis, 19(1): 144-146, 2013.
- 19) 日本臨床衛生検査技師会: 臨床微生物検査 技術教本 エンエリキア属. p148, 丸善出版, 東京, 2017.

【Original article】

Study on culture temperature in *Escherichia albertii*

MIYUKI FUJIOKA^{*1} SHO YOSHIOKA^{*1}
HIROYUKI NOZAKA^{*1}

(Received July 2, 2020 ; Accepted July 16, 2020)

Abstract: *Escherichia albertii*, an emerging pathogen, was isolated from a patient with diarrhea in Bangladesh in 1998, and is now a known cause of food poisoning in Japan. *E. albertii* is similar to *E. coli* and has been misidentified by clinical laboratories. We prepared a mixture of *E. albertii* with three other types of enterobacteria and assessed the ability to detect *E. albertii* on various different culture media and at various culture temperatures. *E. albertii* was not detected on EMB agar plates, which were cultured at 44.5°C after inoculation with mixed culture in EC broth, a selective medium for *E. coli*. *E. albertii* was detected in mixed bacterial cultures with high *E. albertii* concentrations after culturing at 37, 40, and 42°C in EC broth. In contrast, growth of *E. albertii* on BTB agar plates was detectable under all conditions, although 37°C (the most common incubation temperature for BTB agar plates) was most effective for detection of *E. coli*. Selective culturing at high temperatures inhibits growth not only of other bacterial species, but also of *E. coli* to some extent. We suggest that bacterial culture in selective media at 37, 40, and 42°C, followed by plating on nonselective media such as BTB agar, for non lactose-degrading colonies, is an effective method for detecting *E. albertii*.

Keywords: *Escherichia albertii*, Food poisoning bacteria, Misidentification, Culture temperature

【原著】

各種液体培養法における下痢原性大腸菌関連遺伝子の検出状況

藤岡美幸*1 林 稜太*2 月足正辰*3 吉岡 翔*1
松下 紬*2 阿部 翼*2 野坂大喜*1

(2020年7月27日受付, 2020年8月25日受理)

要旨: ヒトや動物の腸管に常在する大腸菌は通常病原性はないとされるが、特にヒトに下痢症を引き起こす大腸菌は下痢原性大腸菌 (DEC) と呼ばれる。DEC はその病原機序から5種類に大別され、各病原因子の遺伝子も明らかである。本研究では糞便系大腸菌を選択的に培養する液体培地を用いて、温度等の培養条件別に DEC 関連遺伝子の検出状況を調査した。対象とした全218検体から *eae* 1株, *aggR* 2株, *astA* 20株, *aggR+astA* 1株が検出された。通常の EC ブロスの培養温度 44.5°C ではいずれの遺伝子も検出状況が悪く、EC ブロスおよび HI ブイオンいずれも 40°C 培養での検出が良好であった。本研究により、糞便検体を平板培地に塗抹・培養することなく、液体培地を用いることで DEC 関連遺伝子の迅速検出が可能となり、また培養温度を 40°C にすることで、より多くの DEC 関連遺伝子の検出が可能となった。

キーワード: 下痢原性大腸菌, 遺伝子検索, 液体培養, 培養温度

I. はじめに

大腸菌はもともとヒトや動物の腸管内常在菌のひとつである一方で、病原因子の獲得により下痢を起こす下痢原性大腸菌 (*Diarrheagenic Escherichia coli*: DEC) や、髄膜・尿路などの腸管以外の部位に感染を起こすものがある¹⁾。DEC は腸管出血性大腸菌, 腸管病原性大腸菌, 腸管毒素原性大腸菌, 腸管侵入性大腸菌, 腸管凝集付着性大腸菌の5種類に大別され、その病原性の特徴から遺伝子検索により各カテゴリーに分類することが可能である²⁾。一般に DEC の検索は糞便検体を直接平板培地に分離培養し、培地上に発育した大腸菌を対象に遺伝子検索が行われるため、手技が煩雑であり、検査結果が得られるまでに時間を要する。また、腸内細菌は 25~40°C で最もよく増殖する³⁾とされるが、糞便系大腸菌を分離するための選択培地として液体培地が知られており⁴⁾、いくつかの EC 培地 (極東製薬, 関東化学, 栄研化学, ニッスイ) は主に 44.5°C の高温で培養される。この温度は大腸菌の発育可能限界温度でもある⁵⁾ため、一部の細菌を見逃してしまう可能性が考えられる。そこで本研究では適切かつ迅速に下痢原性大腸菌を検出する方法の確立のため、糞便検体を直接用いた液体培地での

DEC 関連遺伝子検出状況を選択培地や非選択培地を用いて培養温度別に検討した。

II. 対象および方法

1. 対象

対象は弘前市医師会健診センターに提出された下痢症患者由来便を滅菌生理食塩水に懸濁した218検体とした。

2. 方法

1) 各種培養法

滅菌生理食塩水 1 mL に懸濁された検体は同センターにて糞便検査に供試され、その残り 200~500 μ L を翌日まで冷蔵保存した。これを懸濁液検体とし、弘前大学大学院保健学研究科に搬入後、当日中に各種培養に用いた。残った懸濁液検体は -30°C で凍結保存した。懸濁液検体を対象とした各種液体培地を用いた培養法の流れを図1に示す。

①培養法 1

培養法 1 は弘前市医師会健診センターで 44.5°C 培養が行われた EC ブロス (極東製薬) とした。同センターにおいて EC ブロスで一晩選択培養されたものを当日中に弘前大学に搬入した。

②培養法 2

懸濁液検体 100 μ L を EC ブロス (栄研化学) 1 mL に添加し、40°C 一晩選択培養したものを培養法 2 とした。

③培養法 3

懸濁液検体 100 μ L を非選択培地であるハートインヒュージョンブイオン (HI ブイオン, ニッスイ) 1 mL に添加し、40°C 一晩培養したものを培養法 3 とした。

*1 弘前大学大学院保健学研究科

Hirosaki University Graduate School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-39-5970
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan

*2 弘前大学医学部保健学科

Hirosaki University School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-33-5111
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan

*3 弘前市医師会健診センター

Hirosaki Medical Association Health Care Center
〒036-8045 青森県弘前市野田 2-7-1 TEL:0172-34-6121
2-7-1, Noda, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8045, Japan

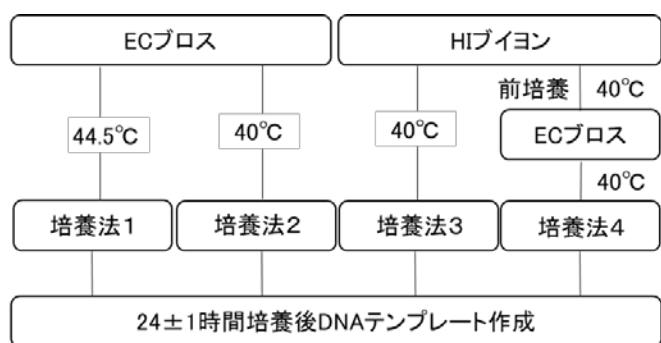


図1 各種液体培地を用いた培養法の流れ

④培養法 4

懸濁液検体 100 μL を HI ブイオン 1 mL に添加し、40°C 一晩前培養した。その後、培養液 100 μL を EC ブロス (栄研化学) 1 mL に添加し、さらに 40°C 一晩選択培養したものを培養法 4 とした。

2) PCR による遺伝子検索

DEC の遺伝子検索は 5 種類に分類されるカテゴリーを代

表1 下痢原性大腸菌における標的遺伝子

下痢原性大腸菌	標的遺伝子
腸管出血性大腸菌	<i>stx1, stx2, eae</i>
腸管病原性大腸菌(Typical)	<i>eae, bfpA</i>
(Atypical)	<i>eae</i>
腸管侵入性大腸菌	<i>invE</i>
腸管毒素原性大腸菌	<i>esth, estp, elt</i>
腸管凝集付着性大腸菌	<i>aggR, astA</i>

表する *stx1, stx2, eae, bfpA, aggR, elt, esth, estp, invE, astA* の 10 種類を標的遺伝子とした⁶⁾(表 1)。また腸管病原性大腸菌が保有する *eae* を共通遺伝子として保有する *E. albertii* の報告もある¹¹⁾ことから、同菌との鑑別には *E. albertii* 特異遺伝子 *mdh, lysP* を用いた。今回使用したプライマーを表 2 に示す。

各条件で培養した培養液 100 μL を TE 緩衝液 (pH8.0, 富士フィルム和光純薬工業) 900 μL に加え、100°C で 5 分

表2 使用プライマー一覧

Target gene	Sequence (5' to 3')	Size of PCR product (bp)	Reference
<i>stx1</i>	AGTTAATGTGGTGGCGAAGG CACCAGACAATGTAACCGC	347	6)
<i>stx2</i>	TTCGGTATCCTATTCCTCGG CGTCATCGTATACACAGGAG	589	6)
<i>eae</i>	CCCGAATTCGGCACAAGCATAAGC CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCG	881	7)
<i>bfpA</i>	AATGGTGCTTGCGCTTGCTGC GCCGCTTTATCCAACCTGGTA	324	8)
<i>aggR</i>	GTATACACAAAAGAAGGAAGC ACAGAATCGTCAGCATCAGC	254	9)
<i>elt</i>	AACGTTCCGGAGGTCTTATG CAACCTTGTTGTCATGATG	511	6)
<i>esth</i>	TTCACCTTTCCTCAGGATG ATAGCACCCGGTACAAGCAG	172	6)
<i>estp</i>	ACTGAATCACTTGACTCTTCA TCACAGCAGTAAAAATGTGTTGT	120	6)
<i>invE</i>	GCAGGAGCAGATCTTGAAG GAAAGGCACGAGTGACTTTC	208	6)
<i>astA</i>	CCATCAACACAGTATATCCG ACGGCTTTGTAGTCCTTCCA	101	6)
<i>mdh</i>	CTGGAAGGCGCAGATGTGGTACTGATT CTTGCTGAACCAGATTCTTACAATACCG	115	10)
<i>lysP</i>	GGGCGCTGCTTTCATATATTCTT TCCAGATCCAACCGGGAGTATCAGGA	252	10)

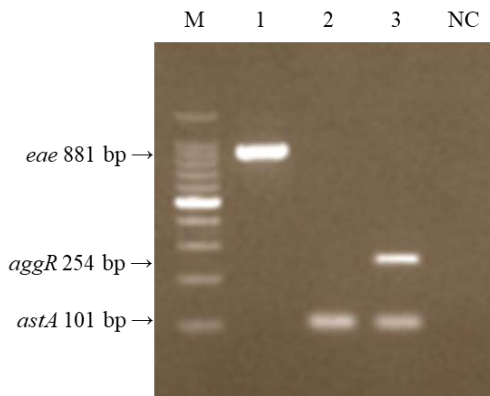


図2 PCRによるDEC関連遺伝子の検出例

M: Marker(100 bp ladder), 1: *eae*, 2: *astA*, 3: *aggR* + *astA*, NC: Negative control

間加熱後, 10,000 rpm で 5 分間遠心分離した上清を DNA テンプレートとした。PCR の反応条件は 1 検体あたり滅菌蒸留水 18.375 μ L, 10 \times Ex TaqTM buffer(TaKaRa) 2.5 μ L, dNTP mixture(TaKaRa) 0.125 μ L, DNA テンプレート 2.5 μ L, 25 μ M プライマー各 0.125 μ L とし, 全量を 25 μ L とした。PCR の条件は前熱変性を 94 $^{\circ}$ C1 分間行い, 熱変性 94 $^{\circ}$ C1 分間, アニールリング 60 $^{\circ}$ C1 分間, 伸長反応 72 $^{\circ}$ C1 分間を 25 サイクル, 最終伸長反応を 72 $^{\circ}$ C10 分間行った。PCR 産物はエチジウムブロマイド添加 2.5%アガロースゲルにて 100 V, 30 分間電気泳動 (Mupid-21, コスモバイオ社) を行い, UV 照射にて遺伝子の確認を行った。

遺伝子陽性検体は凍結懸濁液から再分離したコロニーを対象に, PCR にて DEC 関連遺伝子の確認を行った。再分離は凍結した懸濁液検体を HI ブイヨンに 1 白金耳接種し, 37 $^{\circ}$ C一晩培養後, HI 寒天培地 (栄研化学) に塗抹・培養し, 対象コロニーを分離した。

さらに *aggR* 陽性検体は簡易同定法である Clump 試験¹²⁾を行った。再分離したコロニーはガラス試験管を用いて HI ブイヨン 3 mL に接種後, 100 rpm で 37 $^{\circ}$ C 20 時間振盪培養し, 菅壁の凝集を観察した。

なお, 本研究は弘前大学大学院保健学研究科倫理委員会 (整理番号: 2020-011) により承認され実施した。

III. 結果

下痢症患者由来 218 検体を対象に, 4 種の液体培養法を用いて DEC カテゴリーを代表する 10 種類の遺伝子を検索した。その結果, *eae* 1 検体, *aggR* 3 検体, *astA* 21 検体が検出された。*stx1*, *stx2*, *bfpA*, *elt*, *esth*, *estp*, *invE* は検出されなかった。これら遺伝子陽性検体は凍結懸濁液から再分離したコロニーを対象に DEC 遺伝子を確認した結果, 24 株が DEC 関連遺伝子 3 種類を保有しており, *eae* 1 株, *aggR* 2 株, *astA* 20 株, *aggR* + *astA* 1 株であった。PCR による検出例を図 2 に示した。

DEC 関連遺伝子陽性の *eae* 1 検体, *aggR* 3 検体, *astA* 21 検体における培養法別の検索結果を表 3 に示す。*eae* 陽性 1

表 3 培養法別DEC関連遺伝子検索結果

培養法	液体培地	培養温度	<i>eae</i> (n=1)	<i>aggR</i> (n=3)	<i>astA</i> (n=21)
1	ECブロス	44.5 $^{\circ}$ C	0	0	8
2	ECブロス	40 $^{\circ}$ C	1	3	19
3	HIブイヨン	40 $^{\circ}$ C	1	3	20
4	HIブイヨン \rightarrow ECブロス	40 $^{\circ}$ C	1	3	18

検体および *aggR* 陽性 3 検体は, 培養法 1 では検出できなかったが, 培養法 2~4 ではすべて検出された。*astA* 陽性 21 検体は, 培養法 1 では 8 検体, 培養法 2~4 では 18~20 検体の検出であり, 21 検体すべてを検出した方法はなかった。

eae 保有 1 検体は凍結懸濁液から再分離し, *E. albertii* 特異遺伝子を標的とする PCR を行った結果, *mdh*, *lysP* 遺伝子は検出されなかった。また *aggR* 保有 3 検体も同様に再分離し, 確認試験として Clump 試験を行った。1 検体は検査不能であったが, 2 検体のうち 1 検体が Clump 試験陽性であった。

IV. 考察

糞便汚染指標菌として大腸菌や大腸菌群等が知られているが, この大腸菌群には腸内細菌ではないエロモナス属等も含まれ, すべてが糞便由来ではない問題があるとされる。そのため温血動物の糞便由来大腸菌群を高温で増菌・培養することで, 糞便系大腸菌群として通常の大腸菌群と区別する¹³⁾。一般に大半の細菌は 30 $^{\circ}$ C以上の温度で増殖可能であり, 増殖の温度域により低温菌, 中温菌, 高温菌に分類される。腸内細菌は中温菌に分類されるが, 糞便系大腸菌を分離するためのいくつかの EC 培地は主に 44.5 $^{\circ}$ Cの高温で培養される。この温度は大腸菌の発育可能限界温度でもあるため⁵⁾, 大腸菌の発育も抑制している可能性がある。本研究では糞便由来検体を対象とし, 液体培地を用いた 4 種類の培養法別に選択増菌・培養し, DEC 関連遺伝子の保有状況を検討した。

DEC 関連遺伝子検索の結果, 対象 218 検体中, *eae* 1 検体, *aggR* 3 検体, *astA* 21 検体が検出された。遺伝子陽性検体を再分離し遺伝子検索した結果, *eae* 1 株, *aggR* 2 株, *astA* 20 株, *aggR* + *astA* 1 株であった。これら 3 種類の DEC 関連遺伝子は培養法 1 での検出数が低く, 他の方法では大きな差はなかった。このことから, 検体中の大腸菌量が多くなかったことや 44.5 $^{\circ}$ Cの高温下での発育に適していなかった可能性が考えられた。この高温下における大腸菌の選択培養は, 菌量が多くない場合には少なからず増菌・発育に影響を受けるものと考えられる。PCR は数個の菌数で遺伝子検出が可能である¹⁴⁾ことから, 増幅された DEC 関連遺伝子は必ずしも下痢症の原因に関係していない可能性が示唆され, 今後は菌量による培養条件別の検出感度の検討が必要である。

eae 保有 1 株は *bfpA* を保有していなかったことから、Atypical 腸管病原性大腸菌に分類された。腸管病原性大腸菌は EAF プラスミドを保有する Typical と保有しない Atypical に分類され、このプラスミド上にある集束形成線毛関連遺伝子である *bfpA* により分類する⁸⁾。*bfpA* を持たない *eae* 保有大腸菌は健康人からの分離報告¹⁵⁾もあることから、その病原性の診断は慎重に判断する必要がある。またこの *eae* 保有 1 検体は *E. albertii* 特異遺伝子 *lysP* および *mdh* を保有していなかったことから、大腸菌と同定された。*E. albertii* は 2003 年に新興病原体として命名され¹⁶⁾、わが国でも食中毒の原因菌としてしばしば報告されている¹¹⁾。しかしながら、その性状は大腸菌と類似していることから臨床検査機関では多くが誤同定されており、また近年多くの臨床検査機関で導入が進んでいる質量分析でも正しい同定ができていない現状である¹⁷⁾。現在、これらの鑑別は PCR による特異遺伝子の検索が有効とされている¹¹⁾ことから、今後 *eae* 保有大腸菌検出の際には、これらの特異遺伝子の検索も併せて行うことが重要である。

aggR は腸管凝集付着性大腸菌の凝集付着に関する活性因子であり、腸管凝集付着性大腸菌と同定するためには細胞付着試験¹⁸⁾等が必要となる。しかしながら細胞を用いた付着試験は手技が煩雑で実用的ではないことから、*aggR* 保有株にはガラス付着特性を活かした Clump 試験¹²⁾を行った。*aggR* 保有 3 検体のうち、1 検体は生菌が得られず判定不能であったが、1 検体は Clump 試験陽性、もう 1 検体は陰性であった。*aggR* は *eae* と同様に健康人からの検出報告¹⁶⁾があり、特に *aggR* 保有にも関わらず凝集付着特性を示さない株は下痢症の直接の原因ではない可能性も考えられた。

今回最も多く検出された遺伝子は *astA* であり、218 検体中 21 検体から検出された。*astA* は腸管凝集付着性大腸菌耐熱性エンテロトキシン 1(EAST-1) をコードする遺伝子であり、DEC では *aggR* と同様に腸管凝集付着性大腸菌に分類される²⁾。しかしながら腸管凝集付着性大腸菌において凝集付着に関与する遺伝子は *aggR* であり、*astA* の病原性は未だに明らかになっていない⁶⁾。*astA* は単独保有による集団食中毒の報告¹⁹⁾がある一方で、健康人での保有例¹⁵⁾も報告されている。桶嶋ら²⁰⁾は、*astA* 保有大腸菌が他の菌と相互作用することで病原性を発揮している可能性を否定できないとしていることから、*astA* 保有大腸菌の病原性の判定は *eae* と同様に慎重に行われることが望まれる。

本研究では下痢症患者由来便の懸濁液を対象に平板培地による分離培養をせず、液体培養にて DEC 関連遺伝子を検索した。44.5°C の高温下での液体培養では大腸菌の発育抑制が考えられたが、40°C の中温下では遺伝子の検出が良好であった。今回検出された 3 種類の DEC 関連遺伝子は健康人保有の報告もあることから、病原性の判断は慎重に行うことが必要である。今後は他の検査材料にも応用し、遺

伝子検索と同時に生菌数あるいは菌量の評価をあわせて下痢症原因菌迅速検出法を検討したい。

利益相反 開示すべき利益相反はありません。

引用文献

- 1) 吉田眞一, 柳 雄介, 他: 戸田細菌学 改訂 34 版. pp317-327, 南山堂, 東京, 2013.
- 2) Nataro JP, Kaper JB: Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev, 11(1): 142-201, 1998.
- 3) 林 英生, 岩本愛吉, 他: ブラック微生物学 第 2 版. pp157-159, 南山堂, 東京, 2007.
- 4) 日本食品衛生学会: 食品安全の辞典. pp393-395, 朝倉書店, 東京, 2009.
- 5) 角野 猛, 佐久間久仁子: 大腸菌群の発育に及ぼす培養温度の影響について. 家政学雑誌, 33(12): 666-669, 1982.
- 6) Fujioka M, Otomo Y, et al.: A novel single-step multiplex polymerase chain reaction assay for the detection of diarrheagenic *Escherichia coli*. J Microbiol methods, 92(3): 289-292, 2013.
- 7) Oswald E, Schmidt H, et al.: Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. Infect Immun, 68(1): 64-71, 2000.
- 8) Gunzberg ST, Tomieporth NG, et al.: Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR based detection of the bundle-forming pilus gene. J Clin Microbiol, 33(5): 1375-1377, 1995.
- 9) Ratchtrachenchai OA, Subpasu S, et al.: Investigation on enteroaggregative *Escherichia coli* infection by multiplex PCR, Bull Dept Med Sci, 39:211-220, 1997.
- 10) Hyma KE, Lacher DW, et al.: Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia albertii* and related *Shigella boydii* strains. J Bacteriol, 187(2), 619-628, 2005.
- 11) 大岡唯祐: 新興下痢症原因菌 *Escherichia albertii*. 日本食品微生物学会雑誌, 34(3), 151-157, 2017.
- 12) Fujioka M, Ahsan CR, et al.: Rapid detection method for enteroaggregative *Escherichia coli* using simple Clump formation and aggregative assay. Adv Microbiol, 3: 552-556, 2013.
- 13) 吉田眞一, 柳 雄介, 他: 戸田細菌学 改訂第 34 版. pp194, 南山堂, 東京, 2013.
- 14) 西島裕人, 増山博幸: これからの微生物検出について. SCAS NEWS, 22(2): 7-10, 2005.
- 15) 藤岡美幸, 月足正辰, 他: Multiplex PCR を用いた健康人における下痢原性大腸菌の保有状況. 医学検査, 60(6): 871-874, 2011.
- 16) Huys G, Cnockaert N, et al.: *Escherichia albertii* sp. Nov., a diarrheagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children. Int J Syst Evol Microbiol, 53(3): 807-810, 2003.
- 17) 杵渕貴洋, 角谷不二雄, 他: 同定に MALDI-TOFMS が有効であった患者由来 *Escherichia albertii* 2 株の細菌学的概要—北海道. IASR, 39(5), 83, 2018.
- 18) Scaletsky ICA, Lourdes M, et al.: Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. Infect Immun, 45(2): 534-536, 1984.
- 19) Yatsuyanagi J, Saito S, et al.: Characterization of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains harboring the *astA* gene that were associated with a waterborne outbreak of diarrhea in Japan. J Clin Microbiol, 41(5): 2033-2039.
- 20) 桶嶋三津子, 王 麗麗, 他: 非定型下痢原性大腸菌について 1—腸管凝集接着性大腸菌耐熱性償還毒素 (EAST1) 遺伝子保有大腸菌—. 生活衛生, 54(4): 271-284, 2010.

【Original article】

Detection of Diarrheagenic *Escherichia coli*-related genes on various liquid culture methods

MIYUKI FUJIOKA^{*1} RYOTA HAYASHI^{*2} SEISHIN TSUKIASHI^{*3}
SHO YOSHIOKA^{*1} TSUMUGI MATSUSHITA^{*2} TSUBASA ABE^{*2}
HIROYUKI NOZAKA^{*1}

(Received July 27, 2020 ; Accepted August 25, 2020)

Abstract: Some *Escherichia coli* strains have acquired virulence genes that confer pathogenicity and are referred to as diarrheagenic *E. coli* (DEC) and has been categorized into the five groups. In this study, we used some selective liquid culture methods to detect DEC-related genes. As the results, we detected 24 DEC-related gene harboring strains (one *eae*, two *aggR*, 20 *astA*, and one *aggR+astA*) from 218 samples. The detection status of all genes was not good at the normal EC broth incubation at temperature of 44.5°C, and the detection of genes were good at 40°C culture of both EC broth and HI bouillon. This study enabled the rapid detection of DEC-related genes on liquid culture instead of smearing and culturing fecal specimens on agar plate, and more DEC-related genes could be detected by incubating the specimens at 40°C.

Keywords: Diarrheagenic *Escherichia coli*, Gene detection, Liquid culture, Culture temperature

【報告】

認知機能が低下した高齢者の主観的評価の アウトカムに影響する要因の検討

須藤那月*¹ 大津美香*²

(2020年6月29日受付, 2020年8月7日受理)

要旨: 本研究では認知機能が低下した高齢者の主観的評価のアウトカムに影響する要因を明らかにすることを目的とした。看護学生がHDS-Rの得点が20点以下の認知機能が低下した高齢者4名と約20分間生活歴に関する会話をし、その前後にSF-8(24時間版)を実施した。対照群として相互に馴染みのある一般高齢者5名にグループで生活歴に関する会話をしてもらい、その前後にSF-8(24時間版)を実施した。認知機能が低下した高齢者と会話した看護学生4名にグループインタビューを行い、主観的評価のアウトカムに影響があると認識した要因について聴取した。認知機能が低下した高齢者と一般高齢者の主観的評価のアウトカムの比較では、会話の前後でSF-8の回答が一致したのは一般高齢者1名のみであった。認知機能が低下した高齢者のSF-8の回答が会話の前後で異なっていた場合、身体的要因、調査者の要因、認知症の中核症状、社会的要因、心理的要因が主観的評価のアウトカムに影響すると考えられた。

キーワード: 認知症, 主観的評価, アウトカム, 影響要因

I. はじめに

我が国では高齢化の進展に伴い、認知症のさらなる増加が見込まれている。新オレンジプラン¹⁾や認知症施策推進大綱²⁾等の認知症施策では、認知症の人にとってやさしい地域づくりを目指し、認知症の人や家族の視点を重視している。その一方では、認知症の当事者に対するスティグマやエイジズムが社会に深く根を張っている³⁾といわれている。豪州のクリスティーン・ボーデン氏は認知症の当事者として執筆した書籍の中で、自身の体験を通して具体的な病状や心情を伝え⁴⁾、患者を取り巻く誤解や偏見等のある社会に一石を投じる啓発書としても極めて重要な役割を果たしている⁵⁾と評価されている。認知症の人の視点を重視した支援方法を検討するには、本人の意見や思いを把握することが重要であると考えられる。

認知症ケアに関する研究は、その効果を本人の内省から得にくいため、効果判定が難しい⁶⁾とされる。また、認知症の人の主観的評価のアウトカムについては、本人の思いが正しく表出されているのか、信頼性の検討が必要である⁷⁾とされる。認知症グループホームのケア⁸⁾や脳活性化リハビリテーションを用いた回想法⁹⁾等の認知症ケアに関する効果を検証した研究では、認知症の行動心理症状(Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia; BPSD)¹⁰⁾や精神状態に関する評価¹¹⁾等、行動観察による客観的評価指標が用いられる傾向にある。

認知症の人の肯定的側面として、生活意欲¹²⁾や穏やかな状態¹³⁾などを測定するための尺度が開発されているが、

客観的な情報を基に評価を行う手法となっている。また、認知症高齢者に「聞き書き」を実施し、その効果を検証した研究¹⁴⁾では、主観的評価のアウトカムとして感想が聴取されていたが、肯定的側面の客観的評価指標^{12,13)}が併用されており、認知症の人のアウトカムに関する主観的評価は、単独で用いられることはほとんどない。

認知症を抱えていても、言動によってニーズを伝えられる力を十分にもつ高齢者は存在する¹⁵⁻¹⁷⁾。介護老人保健施設入所中の認知症高齢者は「自分で何かやりたい」「人とつながってほしい」等、ニーズを言動で表出している¹⁵⁾。BPSDのみられる場合においても、徘徊する認知症高齢者は、徘徊の目的や理由について「家族に会いに行く」「家に帰りたい」等と、中等度から重度の認知症の状態であっても自らの言葉で表現することができていた¹⁶⁾。また、収集行動のある認知症高齢者では、他者の所有物である紙を自分の物と誤認していたが、紙の本来の使用目的と収集理由が合致する¹⁸⁾ケースもあった。これらの先行研究の結果から、言語的に意思疎通が可能な認知症高齢者の中には意思や思いを正しく伝えられるケースがあるということが示された。

先行研究から、言語的に意思疎通が可能な認知症高齢者の意思や思いは援助者によって引き出すことができる¹⁵⁻¹⁷⁾と考えられるが、認知症の人の主観的評価のアウトカムについては、信憑性の確認が必要である⁷⁾とされる。また、認知症の人のアウトカムに関する主観的評価を実施する際、どのような要因が影響するのかは明らかにされていない。

*1 弘前大学大学院保健学研究科 博士前期課程
Master's Course in Hirosaki University Graduate School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-33-5111
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan

*2 弘前大学大学院保健学研究科
Hirosaki University Graduate School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-33-5111
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan

アウトカムに関する主観的評価における信頼性を高める方法を検討するために、本研究では認知機能が低下した高齢者の主観的評価のアウトカムに影響する要因を明らかにすることを目的とした。

【用語の操作的定義】

本研究では、「認知症高齢者」とは認知症である65歳以上の高齢者とした。また、「認知症の人」とは若年性認知症を含み年齢を問わず認知症である人全般を指すこととした。

II. 研究方法

1. 対象者

第1段階では改訂長谷川式簡易知能評価スケール(HDS-R)の得点が20点以下の認知機能の低下が認められる回復期病棟に入院中の75歳以上の後期高齢者4名が対象となった。第2段階では比較対象として、同地域に長年居住し馴染みのある仲間同士である、要介護認定や認知症の診断を受けていない介護予防一次予防事業に参加している一般高齢者5名が対象となった。3段階では第1段階において調査を担当した看護学生4名が対象となった。

2. 研究期間

実施期間は2017年11月から2018年3月までであった。

3. 調査方法及び内容

第1段階では看護学生1名につき認知機能の低下した1名の高齢者が約20分間、生活歴に関する会話をし、前後にSF-8(24時間版)を実施した。質問と選択肢は紙面を見せながら看護学生が読み上げて高齢者には該当する選択肢を口頭で回答してもらった。その際、同意を得て高齢者の言動をフィールドノートに記録した。また、高齢者の年齢、既往歴、認知症の診断結果、1カ月以内に実施したHDS-Rの得点について病棟スタッフから情報を得た。

第2段階では比較対象として、要介護認定や認知症の診断を受けていない介護予防一次予防事業に参加している一般高齢者5名に約20分間グループで共通の生活歴に関する会話をしてもらい、前後にSF-8を実施した。調査用紙を配布し、調査者が質問と回答を読み上げ、一般高齢者には該当する選択肢を自己記入により選択してもらった。

第3段階では第1段階で認知機能の低下した高齢者とかかわった看護学生4名に約20分間のグループインタビューを行った。認知機能の低下した高齢者が会話の前後でSF-8の選択した回答が一致しなかった場合に影響があると看護学生が認識した要因について自由に話してもらった。発言された内容は同意を得て、ICレコーダーに録音した。

本研究で使用したHDS-Rは1974年に開発された長谷川式簡易知能評価スケール(HDS)の改訂版¹⁹⁾であり、1991年に加藤らによって作成された。見当識、短期記憶、計算能

力、ワーキングメモリ、近時記憶、視覚記憶力、言語の流暢性など9の設問項目から成る。認知症のスクリーニングとして用いられ、得点は30点満点中20点以下では認知症の疑いがあるとされる。また、SF-8(24時間版)は福原が2005年に開発した健康関連QOL尺度²⁰⁾である。身体機能、日常役割機能(身体)、体の痛み、全体的健康感、活力、社会生活機能、日常役割機能(精神)、心の健康の8項目の質問から構成される。項目数が少なく、認知機能の低下した高齢患者にとって負担感が少ないと考えた。得点の範囲は0~100点であり、得点が高いほど良好な健康状態を示す。

4. 分析

認知機能の低下した高齢者と一般高齢者のSF-8の回答は会話の前後で回答が異なる場合の項目の数を比較した。認知機能の低下した高齢者の生活歴に関する会話内容と会話後のSF-8回答時の言動は事例別にデータを示した。看護学生のグループインタビューの結果は質的帰納法により分析した。複数の研究者間で分析し、合意が得られるまで検討した。また、研究対象者に分析結果を確認してもらい、妥当性の確保に努めた。

5. 倫理的配慮

全ての対象者には口頭及び文書を用いて本研究の目的や調査方法・内容、研究参加の任意性、データの取り扱い方等について説明を行い、同意を得た。認知機能の低下した高齢者では家族に対しても同様の説明を行い、同意を得た。倫理委員会の承認を得ている(整理番号:2017-022)。

III. 結果

1. 対象者の概要

研究第1段階の認知機能の低下した高齢者A~D氏の概要を表1に示す。全員が女性であり、平均年齢は90.0±8.1歳であった。認知症の診断はアルツハイマー型認知症(AD)が1名、他3名は診断がされていなかったが、HDS-Rの得点は11点以下であり、スタッフから記憶障害や見当識障害がみられ、転倒や転落のリスクが高い状態であると認識されていた。現病歴は全て骨折であり、全員が訓練室でのリハビリテーションを毎日受けていた。

研究第2段階の一般高齢者E~I氏の概要についても表1に示す。全員が女性であり、平均年齢は79.8±4.4歳であった。自己申告による持病の有無については確認できなかった。

研究第3段階の看護学生は全員が21~22歳の女性であり、4年生が3名、3年生が1名であった。

表 1 認知機能の低下した高齢者と一般高齢者の概要

対象者	年齢(歳)	性別	HDS-R(点)	認知症診断	現病歴
A	95	女性	11	無	腎盂腎炎、廃用症候群
B	79	女性	7	AD	左恥骨骨折
C	97	女性	8	無	右大腿骨転子部骨折、心不全
D	89	女性	7	無	第9胸椎圧迫骨折
E	75	女性	—	無	—
F	79	女性	—	無	—
G	79	女性	—	無	—
H	79	女性	—	無	—
I	87	女性	—	無	—

A~D:認知機能の低下した高齢者4名

E~I:一般高齢者5名

2. 認知機能が低下した高齢者と一般高齢者のSF-8の回答結果

表 2 に認知機能の低下した高齢者と一般高齢者の会話前後の SF-8 の回答結果を示す。グレーのマーカ一部は会話の前後で回答が一致しなかった箇所である。認知機能の低下した高齢者は対象者全員が生活歴に関する会話の前後で同じ質問をされているということをつかできなかった。一方、一般高齢者は全員が会話の前後で同じ質問をされていることを認識していた。それにもかかわらず、認知症のない一般高齢者であっても、8つの質問項目がある中で、会話の前後で回答が全て一致していたのはF氏のみであった。認知機能が低下した高齢者は8項目中、会話の前後で回答が異なっていたのは2~5項目、平均は4.3項目であった。これに対して、一般高齢者では会話の前後で回答が異なっていたのは0~5項目、平均は2.4項目であった。

3. 認知機能が低下した高齢者の SF-8 の回答時の言動

A氏には個室で14時から約20分間座位で会話し、家族との思い出、若い頃に陸上競技の大会に出場し、入賞したこと、故郷の思い出などが語られた。会話前後の SF-8 の回答時は設問に対する回答以外の発言はなく、最後に「昔のことを振り返って話すのが楽しかった。」と話した。

B氏には周囲に人がいないダイルームの一角で15時30

分から約20分間会話をした。会話前の回答では「少し。」と「わずか。」の選択肢が提示される際、「少しよりも、わずかだ。」と区別がついており、仕事でリンゴを作っていた話や踊りの趣味について楽しそうに話した。会話後、痛みに関する設問4に対して、選択肢の回答ではなく、「仕事をすれば腰が痛い。」とリンゴ農家の話になった。設問5「過去24時間、どのくらい元気でしたか？」に対して、「元気でなければだめだよ。」と回答した。設問6の回答後には「まだあるの。」と発言し、16時過ぎにダイルームの周辺を通り過ぎる人を目で追い「何でみんないなくなるの？私も帰らなきゃ。」と立ち上がりようとした。設問7の心理的な問題には選択肢の中から回答を選んだが、現在の状態ではなく「過去に悩まされたことがあった。」と答え、「現在は？」と聞かれると、「悩まされていないことにしようか、そうじゃなきゃだめだ。」と回答した。

C氏には個室で14時から約20分間ファウラー位で会話し、出身地のことやリンゴ農家であったという話が聞かれた。途中、天気の話になり、外の景色が見たいといわれたためカーテンを開けると、窓の外の雪景色に「わー。」と驚かれた。会話後、健康状態を問う設問1に「どっちでもいいね、わかんねじゃ。」、身体的活動の妨げに関する設問2には選択肢に対する回答ではなく「歩かねばまいねーもん。」と答えた。体の痛みの設問4には選択肢ではなく「足、冷たいんだよな。」といい、「程度はどれくらいですか？」と聞かれると「中だな。」と選択肢を回答した。

また、設問4終了時に「長いな。なんぼ長いんだ。」といい、調査の継続が可能であることを確認したうえで、元気を問う設問5に選択肢ではなく「何をすればいいかわかんね。」と答えた。つきあいの妨げに関する設問6には「もういいじゃ。」、日常行う活動の心理的妨げに関する設問8には「そういうことはない。おかげさまで。どうもありがとう。あといい。」と、最初の質問には選択肢の回答を答えられていたが、8項目中半数を過ぎると、集中力がもたない状態となった。

D氏には周囲に人がいないダイルームの一角で14時30

表 2 認知機能の低下した高齢者と一般高齢者の会話の前後での SF-8 の回答結果

対象者	前		後		前		後		前		後		前		後		前後で異なる回答項目数
	身体機能	身体機能	日常役割機能(身体)	日常役割機能(身体)	体の痛み	体の痛み	全体的健康感	全体的健康感	活力	活力	社会生活機能	社会生活機能	日常役割機能(精神)	日常役割機能(精神)	心の健康	心の健康	
A	27.59	27.59	47.42	27.91	38.21	38.21	40.40	40.40	28.68	28.68	55.14	55.14	54.19	42.24	44.94	44.94	2
B	53.54	47.77	54.09	40.65	60.35	52.46	50.27	63.38	53.74	53.74	55.14	55.14	42.24	42.24	56.93	50.72	5
C	41.45	47.77	54.09	54.09	52.46	46.1	50.27	58.54	53.74	53.74	37.65	45.6	48.04	48.04	44.94	50.72	5
D	53.54	41.45	54.09	54.09	46.10	38.21	58.54	58.54	53.74	38.51	55.14	55.14	48.04	54.19	44.94	50.72	5
E	53.54	41.45	21.80	27.91	38.21	38.21	50.27	50.27	44.48	44.48	45.60	37.65	42.24	42.24	50.72	50.72	3
F	53.54	53.54	54.09	54.09	60.35	60.35	50.27	50.27	53.74	53.74	55.14	55.14	54.19	54.19	50.72	50.72	0
G	53.54	53.54	54.09	54.09	52.46	60.35	58.54	58.54	53.74	60.01	55.14	55.14	54.19	54.19	56.93	56.93	2
H	41.45	41.45	40.65	47.42	46.1	46.1	40.4	40.4	44.48	44.48	45.6	45.6	48.04	48.04	44.94	50.72	2
I	41.45	41.45	27.91	40.65	46.10	52.46	58.54	58.54	53.74	53.74	29.15	37.65	31.42	42.24	36.30	50.72	5

分から約 20 分間会話した。若いころ関東方面に就職し帰郷してからは裁判所で働き、スポーツは苦手な花や音楽が好きという話をされた。特に、花や音楽の話題では表情が朗らかになった。「普段話す人がいないから、こうやって(昔のことを)話せるのがいい。」という発言と「昔は大変だった。」と戦時中～戦後の話をした。会話後、健康状態の設問 1 には「よくないわけでもないけど。子どものときは元気じゃなくても助けてくれる。でも、大人になったら、元気じゃなければダメだね。」と選択肢以外の発言があり、「今はどうですか？」に、「年いけばどうしてもまいねくなる。姑がいたころはわからなかったけど、今になれば、年取ればどうしても元気じゃなくなる。」と答えた。身体活動の妨げに関する設問 2 には「若い時から自分の身体は自分で守らなきゃまいねーはんで。痛いといっても、黙っていればたいしたことねー。」と答えた。身体活動を妨げられた程度に関する設問 3 には「少し痛みがあっても、自分の身体は自分で守らなきゃまいねー。赤ん坊とか子供だば泣けば親が聞いてくれて助けてくれるけども。」と答えた。

どれくらい元気かの設問 5 には選択肢を「とてもじゃねーべし。疲れやすいし。」といいながら選択しようとし、「わずかですか？」に「人と人の付き合いだばさ、疲れる、神経使う。」と話す。「少し元気度はありますか?」「元気の程度は?」には「カラ元気だばある。」と答えた。「体がついていかないってことですかね?」と問うと「気持ちだべな。若い人さ負けたくないって思っで。」という。つきあい

が妨げられた程度に関する設問 6 には「それほどでもないな。まずないな。」といい、「わずかにくらいですかね?」に「人それぞれ、違うつきや。逆らったところで、どうにもなんねつきや。平和がいいつきや。」と話す。活動の心理的妨げに関する設問 8 には「ねーってばねー。全然ないけども、みんなそれぞれだの一。働いていた頃はまあまあ。」と発言し、「今はどうですか?」に「わずかだ。」と選択肢を回答した。

4. 会話前後の SF-8 の回答に違いが認められた場合に影響があったと認識した要因

表 3 に看護学生が認知機能の低下した高齢者の SF-8 の回答に違いが認められた場合に、影響があったと認識した要因を示す。25 のコードが得られ、8 のサブカテゴリーと 5 のカテゴリーに分類された。サブカテゴリーを < >、カテゴリーを【 】と示す。コード数の多い順に【身体的要因】【調査者の要因】【認知症の中核症状】【社会的要因】【心理的要因】であった。

IV. 考察

1. 主観的評価のアウトカムに影響する要因

(1) 身体的要因による影響

B 氏は会話前の SF-8 は選択肢を選択できていたが、会話後の SF-8 では質問を進めていくにつれて、設問 6 の回答

表 3 SF-8 の回答に違いが認められた場合に影響があったと看護学生が認識した要因

カテゴリー	サブカテゴリー	コード数	コード数合計	コード
身体的要因	話疲れ	6	8	インタビューで疲れてきたりしたことが回答に影響してきたのかもしれない。 疲れもある。 話をした後に悪くなることもあり、話疲れもあるのかもしれない。 疲れてきてと思った。 途中で疲れて全部2番とか、番号で選んだ人もいた。 「それでいいや」と、選択肢を全て示す前に答える人もいた。 最初は元気で健康状態はいいよと言っていたが、一つ答えたら、もういいという感じになっている雰囲気があった。 認知症の人は長い時間集中するのは難しく、短時間で気分が良くなるよう現在の話を聞いた。
	集中力が長く持たない	2		
調査者の要因	質問の仕方	4	6	わずかにとか、少しとか、1が良くてだんだん弱くなっていくと言うしかなかった。 定義があるわけではないので、自分の聞き方もちょっと悪かったのかと反省した。 学生個人が質問内容をかみ砕いて質問しているので、人によって解釈の仕方もたぶん違う。 痛みは言われたら気になるというのがあり、こちら側の誘導でずれたというはある。 質問用紙のわかりにくさもある。質問項目が分かりづらかった。 痛みを数字で表すのが分からないと言われた時があった。
	質問内容のわかりにくさ	2		
認知症の中核症状	現在と過去の混在(見当識障害)	3	5	昭和や自分が全盛期の頃とか、ばりばり働いていた頃の時代で答える人が多かった。 直前の話の時代を引きつづけてSF-8に答えていたのもあるのかもしれない。 話の内容が今と過去がごっちゃになり、過去の状態で回答をしているなど、混ざっていた。 最後に聞いたことが残っていて、悪い方を選んだこともなくはないと思った。 もう1回最初からと言われたことが何回もあった。選択肢が5-6個あると覚えられない。
	短期記憶障害	2		
社会的要因	客観的に自分をみる	4	4	自分で思っているのと看護師さんから見ただけはたぶん違うと周りの人の目を気にしていた。 自分では元気だと思うが、病院にいるから元気ではないと思うからと言っていた。 何度もインタビューを重ねるうち、周りからはこう見えるという発言が出てきていた。 話して落ち着いても、元気じゃないと思われるという発言もある。
心理的要因	気持ちや感情の変化	2	2	昔の話では楽しんでたが、感想を聞いたときにうまく話せないことがマイナス思考になり、そのままの感情で答えていたように思えた。 その日の気分が答えていたように思えた。

後には「まだあるの。」と発言し、＜集中力が長く持たない＞状況になった。C氏の会話後のSF-8においても、設問6では「もういいじゃ。何?」、設問8では「そういうの無い。おかげさまで。どうもありがとう。あといい。」等、質問を進めていくにつれて＜話疲れ＞や＜集中力が長く持たない＞状況となり、【身体的要因】が回答に影響したと考えられた。C氏は心不全の既往もあり、痛みに関する設問への回答時には「足、冷たいんだよな。」と発言があった。下肢の浮腫もみられたため、端座位や座位ではなくファウラー位で話をしたが、心不全の症状の一つである易疲労感もあり、会話に集中できていなかった可能性も考えられた。

看護学生もまた、インタビュー調査において、＜話疲れ＞＜集中力が長く持たない＞ことによる【身体的要因】を挙げていた。認知症の人の認知機能の特徴として、注意力や集中力の低下がある²¹⁾といわれているが、看護学生は認知機能の低下した高齢者とのかかわりを通して「インタビューで疲れてきたりしたことが回答に影響してきたのかもしれない。」と感じ、「認知症の人は長い時間集中するのは難しく、短時間で気分が良くなるよう現在の話を聞いた。」と対応に配慮していた。疲労や長時間による集中力が切れることを防ぐため、短時間で現実の状態を引き出すためのコミュニケーション技術が調査者には必要になる。

(2) 調査者の要因及び認知症の中核症状による影響

看護学生のインタビュー調査では、＜質問の仕方＞や＜質問用紙のわかりにくさ＞といった【調査者の要因】や＜短期記憶障害＞といった【認知症の中核症状】が影響した可能性があった。質問の仕方を工夫する等、対象者にとってわかりやすく質問を伝える必要があった。認知症の人に対しては、できないことよりもできることに注目して援助を行うことが大切であり⁷⁾、評価スケールの意味内容は変えずに、対象者の持てる力に合わせた質問の仕方を工夫する必要があった。

HDS-Rの得点が10点以下であり認知機能が重度に低下したB氏、C氏、D氏に共通していたのは、入院生活を送っているにもかかわらず「仕事をすれば腰が痛い。」「今お姑さんというから、ストレスだ。」等、過去の生活に基づいて回答していたことが考えられた。また、看護学生のインタビュー結果においても、「直前の話の時代を引きづってSF-8に答えていたのもあるのかもしれない。」「話の内容が今と過去がごっちゃになり、過去の状態で回答をしているなど、混ざっていた。」と＜現在と過去の混在(見当識障害)＞があることを感じていた。認知機能の低下した高齢者は生活歴を話した直後にSF-8の回答を求められたため、直前に話していた時代を現在のこととして捉えていた可能性があった。その一方では、質問者側が「今はどうですか?」と一言加えることで、現時点の状態を自ら回答できていたことから、質問をする直前に現実の世界に戻ってもらえる

ようリアリティ・オリエンテーション²²⁾などで現実の方向付けを行ってから質問をすることで、回答の信頼性が確保されると考えられた。

(3) 社会的要因による影響

B氏とD氏は、「元気でなければだめだよ」「人それぞれ、違うっきゃ。逆らったところで、どうにもなんねっきゃ。平和がいいっきゃ。」と本心を述べているのではなく、個々の信念・理想や他者の目を気にした回答であった。看護学生からも、「自分で思っているのと看護師さんから見たのはたぶん違うと周りの人の目を気にしていた。」等、＜客観的に自分をみる＞ことをしており、【社会的要因】が影響していることが考えられた。

先行研究¹⁶⁾では徘徊のみられる認知症高齢者には「他者の邪魔になるため移動する」という周囲への＜気遣い＞が要因とされる【社会性】のある徘徊行動がみられていた。また、食事の時間帯に関する見当識障害はあったが、食事の準備のために自らテーブル周辺の「ゴミを捨てる」という＜自立動作＞から生じる【社会性】のある徘徊行動もみられていた。これらの先行研究の対象者は認知症の重症度が中等度であったが、本研究の対象者についてはB氏とD氏のHDS-Rの得点は7点と認知機能の低下が重度であった。重度であっても信念を持ち、周囲の目を気にする機能は保持されていた。個人の考え方や価値観を形成する成育歴は事前に家族やスタッフから聴取し、回答の見通しがつくようにしておくことで、対象者に対する理解を深める²³⁾ことにつながると考える。

(4) 心理的要因による影響

看護学生のインタビュー調査から、「昔の話では楽しんでしたが、感想を聞いたときにうまく話せないことがマイナス思考になり、そのままの感情で答えていたように思えた。」「その日の気分で答えていたように思えた。」といった＜気持ちや感情の変化＞がみられ、【心理的要因】が影響していると考えられた。急かせず待つ姿勢と発言から内容を推測し確認してみるなど、うまく話せないと思わせないよう配慮することが必要になると考える。また、認知症の当事者であるクリスティーン・ブライデン氏は、認知症が進行すると、話の筋道が理解できなくなり、話された内容ではなく、どのように話されたのか(笑顔で話されたなど)が記憶に残る²⁴⁾と述べている。論理的に話を進めるよりも、不安を感じずに自ら話したくなるような感情を引き出すコミュニケーション技術や環境づくりが大切になると考える。

認知機能の低下した高齢者の言動については、B氏は16時頃周囲を移動している人を気にして「何でみんないなくなるの?私も帰らなきゃ。」と立ち上がろうとした。B氏はADの診断を受けており、調査は15時30分頃から行われ、16時過ぎに終了したため、夕方頃から落ち着きがなくなる

夕暮れ症候群が出現した可能性があった。BPSD の出現は周囲の環境に影響を受ける²⁵⁾ため、重度の認知症高齢者に対するアウトカムに関する主観的評価を行うための調査は15時頃までの時間帯が望ましいと考える。また、発言や行動から、周りの人の影響を受けていた。B氏はダイルムで調査を行ったが、夕暮れ時に周囲の動きが気になり、ここにいていいのか等不安に感じてしまった可能性があった。認知症の診断がされているADのB氏のみの特徴的な症状であり、個室で行うことが望ましかった。

2. 会話前後で異なる項目が少なかった要因

A氏は、会話前後で異なる回答数が2項目と、他の対象者に比べて最も少なかった。SF-8の回答の選択も円滑であり、生活歴の会話が回想法の効果につながったことも考えられ、調査後に「昔のことを振り返って話すのが楽しかった」と正の感情も得られていた。HDS-Rの得点が他の対象者と比べて11点と高く、短期記憶が保持できていた。一事例のみであったが、認知機能が中等度に低下した高齢者では30分程度の会話も取り入れながらアウトカムに関する主観的評価を行う方法は回答に影響を受けることが比較的少ないという傾向があった。

3. 一般高齢者との比較

一般高齢者においても、会話前後のSF-8の回答に違いがみられた。しかし、実施前後に同じ質問をされているということ全員がわかっていた。動作の生じない会話によって健康関連QOLが変化することは予測できなかったが、回答の選択肢が5~6あり、「わずかに」「少し」や「かなり」「非常に」等、微妙な程度の違いを選択するうえで、誤差が生じたものと思われた。

V. 結語

認知機能が低下した高齢者と一般高齢者の主観的評価のアウトカムの比較では、会話の前後でSF-8の回答が一致したのは一般高齢者1名のみであったが、認知機能が低下した高齢者においては、主観的評価のアウトカムには身体的要因、調査者の要因、認知症の中核症状、社会的要因、心理的要因が影響していることが考えられた。

VI. 研究の限界

認知機能の低下した高齢者と一般高齢者の両群において、調査方法の統一性とサンプル数に限界があった。調査方法と対象者数を確保し、再検討の必要性がある。

利益相反 開示すべき利益相反はありません。

謝辞 協力頂いた対象者の皆様に、深謝いたします。

引用文献

- 厚生労働省：認知症施策推進総合戦略(新オレンジプラン). <http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000064084.html> (2020/6/15)
- 厚生労働省：認知症施策推進大綱 <https://www.mhlw.go.jp/content/12300000/000519434.pdf> (2020/6/15)
- 中島紀恵子: 認知症ケアにおいて当事者の声を聴くことの重要性. 日本認知症ケア学会誌, 17(2): 377-383, 2018.
- クリスティーン・ボーデン: (私は誰になっていくの?). (松垣陽子訳). クリエイツかもがわ. (初版). pp.1-229, 京都, 2003.
- 上沼美由紀: 文学に見る障害者像「ノーマライゼーション 障害者の福祉」2008年6月号. 障害保健福祉研究情報システム. <https://www.dinf.ne.jp/doc/japanese/prdl/jsrd/norma/n323/n323014.html> (2020/6/15)
- 加藤伸司: 認知症ケア研究の特徴 そのむずかしさと克服の工夫. 日本認知症ケア学会誌, 16(3): 582-590, 2017.
- 山上徹也: 認知症のリハビリテーションのアウトカムとその評価尺度. MEDICAL REHABILITATION, 164: 9-15, 2013.
- 山口晴保, 林邦彦, 安藤高夫, 他: 認知症グループホームにおけるグループホームケアの効果研究. 認知症ケア研究誌, 2: 103-115, 2018.
- 藤生大我, 須田昇司, 山田早綾香: 介護老人保健施設利用者に対する脳活性化リハ5原則に基づいた回想法実施充実度と効果の関係~効果的なグループ回想法を実施するために~. 認知症ケア研究誌, 2: 85-92, 2018.
- 博野信次, 森悦朗, 池尻義隆, 他: 日本語版Neuropsychiatric Inventory 痴呆の精神症状評価法の有用性の検討. 脳と神経, 49(3): 266-271, 1997.
- 小林敏子, 播口之朗, 西村健, 他: 行動観察による痴呆患者の精神状態評価尺度(NMスケール)および日常生活動作能力評価尺度(N-ADL)の作成. 臨床精神医学, 17(11): 1653-1668, 1988.
- Kenji Toba, Ryuhei Nakai, Masahiro Akishita, et al.: Vitality Index as a useful tool to assess elderly with dementia. Geriatrics and Gerontology International, 2: 23-29, 2002.
- 辻村弘美, 小泉美佐子: 施設で過ごす認知症高齢者への「改訂版おだやかスケール(18項目版 DEOS)」の適用. 日本看護研究学会雑誌, 39(4): 89-96, 2016.
- 工藤悠生, 大津美香, 工藤晶子, 他: ボランティア学生の「聞き書き」が回復期病棟の認知機能の低下した高齢者の心身機能面に与える影響. 保健科学研究, 10(1): 9-18, 2019.
- 奥村朱美, 内田陽子: 介護老人保健施設入所中の認知症高齢者のニーズの特徴. 老年看護学, 13(2): 97-103, 2009.
- 大津美香, 高山成子, 渡辺陽子: アルツハイマー病と血管性認知症高齢者にみられる徘徊行動の比較. 保健科学研究, 2: 9-23, 2012.
- 大津美香, 高山成子, 渡辺陽子: 認知症高齢者における徘徊対

- 応プロトコールの有用性の検討. 保健科学研究, 3: 85-99, 2013.
- 18) 渡辺陽子, 高山成子, 大津美香: アルツハイマー型認知症と血管性認知症にみられる収集行動の比較と援助方法の検討. 日本認知症ケア学会誌, 12(2): 510-521, 2013.
- 19) 加藤伸司, 下垣光, 小野寺敦志, 他: 改訂長谷川式簡易知能評価スケール(HDS-R)の作成. 老年精神医学雑誌, 2(11): 1339-1347, 1991.
- 20) 福原俊一, 鈴嶋よしみ: 健康関連 QOL 尺度-SF-8 と SF-36. 医学の歩み, 213: 133-136, 2005.
- 21) 下村辰雄: 認知症の記憶・言語障害へのケア. JOURNAL OF CLINICAL REHABILITATION, 18(3): 220-228, 2009.
- 22) Folsom JC: Elderly patients found responsive to program of Reality Orientation. Psychiatric Progress, 1: 1-3, 1966.
- 23) 林智一: 高齢者に対する回数制限非構造的ライフレビューの臨床的考察-「こころの生涯学習」としての有用性と限界について. 大分大学高等教育開発センター紀要, 9: 13-22, 2017.
- 24) クリステーン・ブライデン: (私は私になっていく 痴呆とダンスを). (馬籠久美子, 桧垣陽子訳). クリエイツかもがわ. (初版). p.185, 京都, 2004.
- 25) 野口代: 特別企画 行動分析による認知症ケア. おはよう 21, 31(3): 70-73, 2020.

【Report】

Examination of factors affecting outcomes of subjective evaluation of elderly people with cognitive impairment

NATSUKI SUTO*¹ HARUKA OTSU*²

(Received June 29, 2020 ; Accepted August 7, 2020)

Abstract: The purpose of this study was to clarify factors that affect outcomes of subjective evaluation of elderly people with impaired cognitive function. Nursing students had a conversation for about 20 minutes with four elderly people with HDS-R scores of less than 20 about life history, and SF-8 (24-hour version) was conducted before and after that. As a control group, 5 general elderly people familiar with each other had a conversation about their life history in groups, and SF-8 (24-hour version) was conducted before and after that. We conducted a group interview with four nursing students who had conversations with elderly people with impaired cognitive function, and asked them about factors that were recognized to affect outcomes of subjective evaluation of those elderly people. Comparing the subjective evaluation outcomes of the elderly with cognitive decline and the general elderly, only one general elderly had the same SF-8 response results before and after the conversation. The result suggested that their subjective evaluation of the outcome were influenced by physical factor, investigator factor, core symptoms of dementia, social factor, and psychological factor.

Keywords: Dementia, Subjective Evaluation, Outcome, Influencing Factors

CONTENTS

【Original article】

Study on culture temperature in *Escherichia albertii*

Miyuki FUJIOKA, Sho YOSHIOKA, Hiroyuki NOZAKA 1

Detection of Diarrheagenic *Escherichia coli*-related genes on various liquid culture methods

Miyuki FUJIOKA, Ryota HAYASHI, Seishin TSUKIASHI, Sho YOSHIOKA, Tsumugi MATSUSHITA,
Tsubasa ABE, Hiroyuki NOZAKA 7

【Report】

Examination of factors affecting outcomes of subjective evaluation of elderly people with cognitive impairment

Natsuki SUTO, Haruka OTSU 13

保健科学研究投稿規程

1. 名称：保健科学研究とする。
2. 発行：発行は原則として電子ファイルで年2回とする。
3. 区分：区分は「総説(Review)」、「原著(Original article)」、「報告(Report)」、「資料(Material)」、「事例報告(Case report)」等を原則とし未発表のものに限る。なお各内容についての定義は以下に示すものとする。
 - 1) 総説とは、保健科学に関する特定の主題について、これまでの知見、研究業績を総括し、体系化あるいは解説したもの。原則として編集委員会が執筆を依頼するが、投稿も歓迎する。
 - 2) 原著とは、オリジナリティなどの新規知見を報告するものとする。
 - 3) 報告とは、検討に関するもの(追試、改良等を含む)。オリジナリティなどの新規知見を含まなくてもよい。原著論文とするには十分な客観的データが得られていない場合も報告に該当する。
 - 4) 資料とは、保健科学に資する資料として有用なもの。研究としての価値ではなくデータベースなど資料としての価値の位置づけにふさわしいものとする。
 - 5) 事例報告とは、有用な情報を提供する事例に関するものとする。
4. 論文の作成：論文の作成に際しては、所定の執筆要領に従うものとする。
5. 論文の掲載：保健科学研究には、次の論文を掲載する。
 - 1) 保健科学研究所所属大学および短期大学の教員(以下「教員」という)およびその指導協力を得た共同研究者(共著者)による論文
 - 2) 教員以外の者が投稿する場合は、教員との共同研究者で連名とし、保健科学研究編集委員会(以下「委員会」という)が適当と認めた論文
 - 3) 上述以外の論文で委員会が適当と認めた論文
6. 論文数および論文の長さ：筆頭著者が各号に掲載できる論文数の制限はないものとする。ただし、1編の論文の長さは刷り上がりでカラー10頁以内とする。
7. 論文の投稿：投稿原稿は、電子ファイルで提出するものとする。また、その際に論文1編につき投稿料1,000円を委員会に支払う。

振込先
銀行名：青森銀行弘前支店
口座番号：3073058
口座名義：保健科学研究所 会長 木田和幸
預金種別：普通

8. 投稿受付：投稿は随時受け付ける。
 - 1) 受付は委員会が指定する電子メールアドレスへの原稿ならびに投稿料信憑証票(振込票等支払いを確認できる書類)のコピー送付をもって行い、委員会は受理後すみやかに原稿預り証を発行する。
 - 2) 著者より請求があれば、委員会は論文掲載予定通知書を発行する。
9. 投稿原稿の採否：
 - 1) 投稿された論文は、すべて査読される。
 - 2) 査読の後、委員会は投稿論文の体裁および内容について修正を求められることがある。
 - 3) 論文の採否は、委員会において決定する。
10. 編集：
 - 1) 著者校正は原則初校のみとし、校正の際の加筆は原則として認めない。
 - 2) その他、編集に関することは委員会に一任する。
11. 刊行
 - 1) 査読期限は年2回とし、1号は7月31日、2号は1月31日とする。原則として期限内に査読を終了した論文のみを刊行する。
 - 2) 刊行期日は原則として、1号は9月30日、2号は3月31日とする。
 - 3) 掲載された論文の著作権(著作財産権)および版権は、保健科学研究会に属し、その全部または一部をそのまま他の出版物等に掲載する場合には、定められた様式に基づく文章により編集委員長の許可を得るとともに、当該の出版物等に保健科学研究からの転載であることを明記すること。なお、原稿等が保健科学研究に掲載されることが決定した際、著者は著作権委譲承諾書に署名後、pdfに変換し、すみやかに編集委員長宛てにメールで送付すること。
12. 別刷：別刷は原則として発行しない。

附 則 この規程は、平成31年3月31日から施行する。

投稿先：保健科学研究会HPに示す編集委員会宛に送付すること。

執 筆 要 領

1. 原稿の表紙ファイルには、論文題名、著者名、所属及び所在地（e-mailアドレスも）を和文と欧文の両方でそれぞれ明記する。

2. 原稿は、保健科学研究会HPに掲載している編集委員会所定の書式を用いる。

3. 要旨

- (1) 論文には要旨をつける。
- (2) 要旨は論文が欧文の場合には和文要旨（400字以内）を、和文の場合は欧文要旨（200語以内）をつける。

4. キーワード

- (1) 論文の題名、著者名、要旨の次に「キーワード」と見出しをつけて記載する。
- (2) キーワードの選定数は、原則として5個以内とする。
- (3) キーワードは、論文が和文欧文のいずれも和文と欧文の両方で記載する。
- (4) 欧文は、固有名詞、略語などの特殊な場合を除き、小文字で記載する。
- (5) 各キーワード間はコンマで区切る。

5. 論文中で繰り返し使用される名称は、略称を用いることが出来るが、初出の箇所には正式名を書き、続けて（ ）に入れて略称を示す。[例：Activities of Daily Living (ADL)]

6. 形式等

- (1) 英文のタイトルは、最初の文字のみ capital にする。
- (2) タイトルに含まれる著者名の右肩に付ける所属のアスタリスク (*) は、1名（あるいは所属が同じで複数名）の場合、「*」とし、所属が異なっており2名以上の場合、「*1, *2・・・」とする。
- (3) 著者名には所属も付ける。

(4) 文章中に用いられる数字の種類とそのランク付けについては、以下のようにし、それよりも深いレベルでは著者に一任する。

I, II, III・・・ 1, 2, 3・・・

.

(1), (2), (3)・・・

①, ②, ③・・・

i), ii), iii)・・・

英文の論文の場合、大項目をローマ数字とし、そのタイトルはイタリック体とする。

- (5) 英文の論文の各セクション（Introduction等）は、すべての文字を capital にする。
- (6) 印刷に当たって指定したい事項（字体・打点部分・下線・傍線など）は原稿内に朱書きし、説明を加える。

7. 図、表及び写真

- (1) 図及び写真は完成されたものとする。
- (2) 掲載（印刷）時の図、表及び写真の文字等是不鮮明とならない大きさとし、フォントは原稿と同じものを使用する。

8. 引用文献

- (1) 引用文献は本文末尾に一括して引用順に記載する。本文中においては引用箇所の右肩に¹⁾, ^{1,3)}, ¹⁻⁴⁾ のように表示する。
- (2) 引用文献の記載の形式は下記のとおりとする。

[雑誌] 著者名：論文題名. 雑誌名, 巻(号): 頁, 年. 例

1) 片山美香, 松橋有子: 思春期のボディイメージ形成における発達的研究—慢性疾患群と対照群との比較調査 から—. 小児保健研究, 60 : 401-410, 2001.

2) Ding WG, Gromada J: Protein kinase A-dependent stimulation of exocytosis in mouse pancreatic β -cells by glucose-dependent insulinotropic polypeptide. Diabetes, 46 : 615-621, 1997.

[単行本] 著者名:(論文題名). (編者名). 書名. (版). 頁, 発行所, 発行地, 年.

例

- 1) 高橋雅春, 高橋依子: 樹木画テスト. pp. 30-44, 文教書院, 東京, 1986.
- 2) Gorelick FS, Jamieson JD : The pancreatic acinar cells: structure-function relationships. In: Jonson LR. (ed) Physiology of the gastrointestinal tract, 3rd ed, pp. 1353-1376, Raven Press, New York, 1994.

註 1 . 記載形式の () 内は必要に応じて記入する。
。 訳者, 編者等に関しては氏名のあとに訳, 編などを付ける。

註 2 . 著者が 2 名の場合は全員記入し, 3 名以上の場合は省略形式を用いてもよい。
(例: ○○○, ○○○, 他 [和文の場合], ○○○, ○○○, et al. [欧文の場合])

註 3 . 雑誌名は慣用の略称 (Index Medicus など) を用いる。

[URL] URLのアドレス (参照年月日)

例 1) <http://www.hirosaki-u.ac.jp/> (2010-05-20)

9 . その他

(1) 人及び人体材料を用いた研究の場合は, 原則的に所属機関の倫理委員会などの公的審査会で認められた研究内容で, 同意書等を取得した上で得たデータでなければならない。また, 動物を対象にした研究論文は, 所属機関で規定される実験動物に関する管理と使用に関するガイドラインに従った旨を明記する。

10. 個人情報の保護

個人情報の保護の観点から, たとえ学術論文であっても容易に個人が特定されないように, 症例等の記載については十分配慮されなければならない。

11. 利益相反 (conflict of interest (COI)) の開示

投稿にあたっては, 当該論文に関わるCOI状態について, 所定の書式により報告しなければならない。この利益相反報告書の内容は, 論文末尾, 謝辞または参考文献の前に記載する。規定された利益相反状態がない場合は, 「利益相反なし」 「No potential conflict of interest were disclosed.」などの文言を同部分に記載する。

編集委員 (◎は委員長)

◎大 津 美 香	飯 泉 恭 一
柏 崎 勉	菅 原 大 輔
高 橋 純 平	對 馬 惠
富 田 雅 弘	藤 岡 美 幸
真 野 由紀子	三 上 聖 治
渡 部 菜穂子	

保健科学研究 第11巻 第1号
Journal of Health Science Research Vol.11 No.1

令和2年9月30日 発行 (非売品)
編集・発行 保健科学研究編集委員会
〒036-8564 弘前市本町66番地1
電話 0172 (39)5948 Fax 0172 (39) 5948
