

調査研究の概要

1. 保健科学係

調査研究名	研究の概要
<p>未成年者及び妊産婦における喫煙及び受動喫煙の実態とその防止対策の検討</p> <p>研究担当者: 福士 勝 保健科学係</p> <p>研究期間: 平成 19 年度から 2 年間</p>	<p>【目的】 幼児における受動喫煙の実態を明らかにするとともに、科学的根拠に基づく喫煙および受動喫煙を防止するためのメディアを制作して、乳幼児健診や母親教室でのたばこ煙暴露防止対策の推進に資する。</p> <p>【方法】 非喫煙者の受動喫煙時の尿及び唾液中ニコチン代謝物（コチニン）レベルを測定した。札幌市内の3歳から6歳の保育園児を対象として、その家族の質問票による喫煙状況の調査と園児のろ紙尿中のコチニンを測定した。母子保健たばこ対策に有用なメディアの構成・内容を検討しDVD制作を委託した。</p> <p>【結果・考察】 受動喫煙の影響がない場合のコチニンの暫定基準値として乾燥ろ紙尿で5ng/mg クレアチニン、唾液で0.5ng/ml が妥当であった。3歳から6歳の母乳栄養の影響がない保育園児のろ紙尿コチニンレベルの中央値は、同居家族全群非喫煙群2.6ng/mg クレアチニン、母非喫煙・家族喫煙群、母喫煙・家族非喫煙群、母喫煙・家族喫煙群でそれぞれ、4.6、13.9、11.6ng/mg クレアチニンと全員非喫煙群と比較して有意に高値を示し、受動喫煙の実態調査に有用であった。母子保健たばこ対策プロジェクト会議の検討により有効なメディアとしてDVDを制作してDVDプロジェクターとともに区保健センターに配布した。</p> <p>本研究は平成20年度厚生労働科学研究費補助金がん臨床研究事業「がん予防に資する未成年等における包括的たばこ対策に関する研究」（主任研究者：原めぐみ佐賀大学医学部助教）及び平成20年度「地域保健総合推進事業-自治体レベルにおける妊婦及び乳幼児の効果的なたばこ対策に関する研究-」の研究費を受けて、保健所、区健康子ども課、札幌市幼稚園保育園園医協議会との協同研究として実施した。</p>
<p>新生児スクリーニング施設基準に関する研究</p> <p>研究担当者: 福士 勝</p> <p>研究期間: 平成 19 年度から 3 年間</p>	<p>【目的】 タンデムマススクリーニングの導入で課題となっている自治体との関係及び費用に関する問題点を明らかにして早期導入の方策を検討する。</p> <p>【方法・結果】 平成17年度～19年度の本研究班の新生児スクリーニング検査施設基準に関する報告書及びその後の調査結果などをもとに自治体との連携と検査費用について再検討した。</p> <p>【結果・考察】 タンデムマススクリーニングの導入には、実施主体の自治体に対する厚生労働省、関係学会、スクリーニング検査実施施設から、その重要性・有効性など積極的に情報提供し、タンデムマスによる拡大スクリーニングの導入を働きかけることが必要である。タンデムマススクリーニングの検査費用は、既存スクリーニング対象疾患と合わせて行う場合は、年間3万人から5万人のスクリーニング検査施設では1件当たり130円程度の増で可能である。</p> <p>本研究は厚生労働科学研究（子ども家庭総合研究事業：「タンデムマス等の新技術を導入した新しい新生児マススクリーニング体制の確立に関する研究、主任研究者島根大学山口清次教授）により他機関（島根大学、熊本保健科学大学）との協同研究として実施した。</p>
<p>特殊検査を用いた先天性代謝異常症を疑われる患者の診断支援システムの確立</p>	<p>【目的】 新生児スクリーニング陽性例及び有症患者依頼症例の検査データと臨床データを収集して先天性代謝異常症診断データの蓄積を行うとともに、検査法の開発・改良を行い新生児先天性代謝異常症スクリーニングの精度の向上を図る。</p>

<p>研究担当者: 田上泰子、野町祥介、穂積哲彦</p> <p>研究期間: 平成 20 年度から 1 年間</p>	<p>【方法】</p> <p>HPLC によるアミノ酸分析の短時間化を図る。 タンデムマス分析による尿中アシルカルニチン測定法を確立する。 平成 18 年度の依頼検体の確定診断の追跡調査を実施する。 検査の受け入れ方法等について基準を整備し、参加医療機関に周知する。 依頼検査終了後に依頼検体を現行検査法の改良・検査法の新規開発にも使用できるようにするため、検体送付依頼書に研究等への目的外使用に関する承諾欄を加える等の適切な方法を検討する。</p> <p>【結果・考察】</p> <p>Waters 法から SIMAZU 法への移行 老朽化した Waters 法 (HPLC) から、SIMAZU 法 (HPLC) へのアミノ酸分析の移行を検討した。 分析条件の検討 アミノ酸 19 成分を 1 検体 65 分で分析することを可能とした。検体(る紙血)によるアミノ酸成分の相関は、Pro を除いて良好であった。また、タンデムマス法との相関では Orn を除いて良好であった。 検体(尿)は夾雑物の影響が大きく正常値以下の検体には定量性に問題があった。 引き続き SIMAZU 法における安定性・定量正などの検討を重ね、HPLC 法として確立したいと考えています。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 未実施 ・ 2008 年度倫理審査委員会の開設に伴いヒトを対象とする医学研究にかかる研究計画にて「追跡調査による代謝異常依頼検査の有用性の評価に関する研究」として承認されたことで、 に関しては新たに検査依頼の承諾書を作成し、印刷が出来上がっている。2007～2008 年度依頼のあった道内医療機関 58 施設に配布予定と考えている。また、その際に改めて、注意事項などを整理した文章も添付したいと準備中である。
<p>1 歳 6 か月児を対象とした神経芽細胞腫スクリーニング事業の有用性の検討</p> <p>研究担当者: 太田 優、田上泰子</p> <p>研究期間: 平成 20 年度から 1 年間</p>	<p>【目的】</p> <p>札幌市の神経芽細胞腫スクリーニング事業は、6MS で発見される予後良好例の過剰診断・治療を低減し、2 歳から 4 歳で発症する予後不良例を効果的に発見することを目的として、平成 18 年度から 1 歳 6 か月児を対象として実施している。本研究では、市内の神経芽細胞腫患者症例の確実な捕捉により、この目的が達成されているかどうか検証するとともに、18MS 導入後の札幌市の正確な罹患率、死亡率の把握及びスクリーニングを実施していない地域との比較検討を行い、スクリーニングの有効性を検証する。</p> <p>【方法】</p> <p>札幌市における 18MS のデータをまとめ、発見患児に関する治療状況などの情報を収集した。また、小児慢性特定疾患医療意見書を閲覧し、神経芽細胞腫に関する情報を収集した。</p> <p>【結果・考察】</p> <p>18MS 開始後 3 年目となり、これまでのスクリーニングの結果についてまとめた。 18MS の有効性を評価するために、小児慢性特定疾患医療意見書を調査した結果 2008 年度までの申請のうち 18MS で見逃した例は見つからなかった。また、共同研究者である西先生が収集しているデータにおいても 18MS 見逃し例は確認されなかった。 18MS で発見された患者は 6MS、14MS と比べ、進行例の割合が多くなった。</p>
<p>ムコ多糖症のスクリーニングシステムの確立に関する研究</p>	<p>【目的】</p> <p>ムコ多糖症マス・スクリーニング法の開発及び同システムの構築のため、Agilent6410 システムで二糖分析系を確立できるか検討する。</p> <p>【方法】</p>

<p>研究担当者: 野町祥介、福士 勝 保健科学係 北海道大学小児科 木田 和宏、窪田 満</p> <p>研究期間: 平成 19 年度から 3 年間</p>	<p>酵素反応のより以下の 3 種の GAG 由来のオリゴ糖を同時分析することで行う。 Keratan Sulfate (Keratanase) Gal 1 4GlcNAc(6S) + Gal(6S) 1 4GlcNAc(6S) Heparan Sulfate (Heparitinase) DiHS-0S + DiHS-NS + DiHS-6S Dermatan Sulfate (ChondroitinaseB) DiHS-4S (標準品なし)</p> <p>【結果・考察】 分析条件、問題点等を以下にまとめる。 分析条件 : Gal 1 4GlcNAc(6S) と Gal(6S) 1 4GlcNAc(6S) : 462.1>97 100V 70eV negative DiHS-0S : 378.1>174.9 130V 10eV negative DiHS-N0S : 416>137.9 130V 20eV negative DiHS-6S と DiHS-4S 458.2>97.1 130V 35eV negative ・ Gal 1 4GlcNAc(6S) と Gal(6S) 1 4GlcNAc(6S) は分離できない ・ DiHS-4S と DiHS-6S は分離できない ・ DiHS-0S と DiHS-N0S は衛研の分析システムでは感度が不足 なお、型及び型患者の尿では、健常尿に比し DiHS-0S、DiHS-NS、 DiHS-6S がいずれも高値</p>
<p>タンデム質量分析計によるスクリーニング・システム構築に関する研究</p> <p>研究担当者: 野町祥介、穂積哲彦 保健科学係</p> <p>研究期間: 平成 20 年度から 2 年間</p>	<p>【目的】 現行のろ紙血液を用いる新生児代謝異常等検査に、タンデム質量分析計による検査法を導入することで、見出しうる代謝異常疾患を増やし、新生児マス・スクリーニング事業の効果を高めることを目的として、新しい札幌市のスクリーニング・システムを構築する。</p> <p>【方法】 2005 年 4 月から「タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングの研究実施要領」に基づいて研究を開始した。2005 年 4 月から希望者を対象にタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングを研究的に開始した。2008 年度は引き続いて希望者を対象に検査を実施した。検査希望率はおよそ 99%である。</p> <p>【結果及び考察】 延べ検査数はほぼ 6 万件となっている。2008 年度は、すでに精査でフォローとなっていたカルニチントランスポータ異常症(CTD)疑 2 例がいずれも遺伝子検査により当該疾患として確定診断に至った。また 2008 年度内に精査となった 2 例のうち、1 例は一過性のもので最終的に正常となったが、もう 1 例は MCAD 欠損症と確定した。このほか 4 年間で、グルタル酸尿症 2 型 1 例、プロピオン酸血症 4 例の 5 名を発見したほか、一次検査法をタンデム質量分析計に変更したアミノ酸代謝異常症等検査においては古典的 PKU1 例と良性持続性高 Phe 血症 1 例を発見した。(資料参照) また、非誘導体化法キット NeoBase に関する検討を行ったところ、現行法との間に良好な相関が得られた他、チロシン血症 1 型の指標となるスクシニルアセトンも定量可能であった。</p>
<p>スクリーニング対象疾患における確定診断法の構築に関する研究</p> <p>研究担当者: 野町祥介 保健科学係</p> <p>研究期間:</p>	<p>【目的】 各種先天性代謝異常症の確定診断法を確立する</p> <p>【方法】 (1)ウィルソン病の確定診断法について 市内の医療機関からの依頼、又はコンサルタント医の紹介に基づいて、ウィルソン病責任遺伝子 ATP7B を直接塩基配列解析することにより、21 のエクソンとその両側のスプライシングサイト領域について病因変異を検索することにより実施した。 (2)ミトコンドリア病 MELAS(3243A G)、MERRF(8334A G)について</p>

<p>平成 19 年度から 3 年間</p>	<p>調査研究「代謝異常依頼検査」において医療機関から依頼に基づきろ紙血液を試料とする RFLP 法による変異解析を行うことにより実施した。 【結果・考察】 (1)ウィルソン病の確定診断法について 当所で用いている蛍光型遺伝子解析装置 HITACH-SQ5500E で使用していた電気泳動用ゲルが生産中止となった。そのため自家製試薬によるゲル調整を試みた。その結果、LongRanger 50% Gel Solution タカラバイオ (Code:F0611)、Urea (ultra pure) インビトロジェン、AG501-X8 Resin(分子生物学用) BioRad (Code:143-7424)、APS (Ammonium Peroxodisulfate) ナカライ (Code:02627-34)、N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine ナカライ (Code:33401-72)を用いて良好に解析できた。依頼は市内及び札幌市代謝異常症コンサルタント医から 3 件あり、うち 2 件をこの方法で解析したところ、うち 1 件が Exon18 AAT>AGT(N1270S)と未報告変異 Exon18 GGC>AGC(G1287S)の compound hetero の遺伝子変異型として確定診断に至った。もう 1 例から病因変異は同定されなかった。 (2)その他 ミトコンドリア病のうち MELAS(3243A G)、MERRF(8334A G)について継続して依頼に基づいて解析を行った。2008 年度は、MELAS1 例を同定した。</p>																																																																			
<p>先天性副腎過形成症スクリーニングの精度向上に関する研究</p> <p>研究担当者: 藤倉かおり、吉永美和</p> <p>研究期間: 平成 20 年度から 1 年間</p>	<p>【目的】 先天性副腎過形成症 (CAH)スクリーニングの精度を向上させ、より効果的なスクリーニングシステムに改良すること。</p> <p>【方法】 新生児ろ紙血中の下記のステロイドについてタンデム質量分析計による測定法を確立し、CAHスクリーニングに応用するための検討を行なう。 ・ 17-OHP ・ 4-アンドロステンダイオン ・ コルチゾール ・ 11-デオキシコルチゾール ・ 21-デオキシコルチゾール</p> <p>【結果及び考察】 タンデム質量分析計による測定条件の検討について タンデム質量分析計 (E S I) による 17-OHP、コルチゾール、4-アンドロステンダイオン、21-デオキシコルチゾール、および 11-デオキシコルチゾールの測定条件について、対象物質の標準品を超高濃度 (10 µg/ml blood) に添加したろ紙血液を用いて検討した。</p> <p>1) 測定条件 エレクトロスプレーイオン化法 MRM ポジティブモード、ガス温度 350 、乾燥ガス流量 10.0L/min、ネブライザーガス圧 50psi で検討した結果、表 1 に示す条件が最適であった。</p> <p>2) 液体クロマトグラフィー条件 表 2 の条件で、保持時間 3.2 分に F、4.3 分に 21-DOF、4.6 分に 11-DOF、4.9 分に 4-A、5.4 分に 17-OHP のピークが観測できた。</p> <table border="1" data-bbox="901 1205 1417 1473"> <thead> <tr> <th></th> <th>Precurser Ion (m/z)</th> <th>Product Ion (m/z)</th> <th>Fragment (M)</th> <th>Collision energy (eV)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>17-OHP</td> <td>331.2</td> <td>109.1 & 97.0</td> <td>140</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>17-OHP-d3</td> <td>339.2</td> <td>113.0 & 100.0</td> <td>140</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>F</td> <td>383.2</td> <td>121.1</td> <td>140</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>F-d4</td> <td>367.3</td> <td>121</td> <td>140</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>21-DOF</td> <td>347.2</td> <td>211.2</td> <td>150</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>21DOF-d3</td> <td>355.3</td> <td>219.3</td> <td>150</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>11-DOF</td> <td>347.2</td> <td>97.0</td> <td>150</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>11DOF-d2</td> <td>349.2</td> <td>97.0</td> <td>150</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>Δ 4-A</td> <td>287.2</td> <td>109.0 & 97.0</td> <td>140</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Δ 4-And?</td> <td>294.3</td> <td>113.1 & 100.2</td> <td>140</td> <td>25</td> </tr> </tbody> </table> <p>表 1 . 質量分析 (MRM) 測定条件</p> <table border="1" data-bbox="917 1579 1428 1854"> <thead> <tr> <th>カラム</th> <td>Waters Symmetry C18, 3.5 µm, 2.1 × 50mm</td> </tr> <tr> <th>注入用</th> <td>20 µL</td> </tr> <tr> <th>移動相 A</th> <td>H₂O (1% HCOOH)</td> </tr> <tr> <th>移動相 B</th> <td>メタノール</td> </tr> <tr> <th>流速</th> <td>0.25mL/min</td> </tr> <tr> <th>グラジエント条件 (移動相Bの割合)</th> <td>0 1min 50% 85% 1 4min 85% 100% 4 10min 100% 10 12min 100% 50% 12min 50%</td> </tr> </thead> </table> <p>表 2 . H P L C 測定条件</p>		Precurser Ion (m/z)	Product Ion (m/z)	Fragment (M)	Collision energy (eV)	17-OHP	331.2	109.1 & 97.0	140	40	17-OHP-d3	339.2	113.0 & 100.0	140	30	F	383.2	121.1	140	40	F-d4	367.3	121	140	40	21-DOF	347.2	211.2	150	15	21DOF-d3	355.3	219.3	150	15	11-DOF	347.2	97.0	150	30	11DOF-d2	349.2	97.0	150	30	Δ 4-A	287.2	109.0 & 97.0	140	25	Δ 4-And?	294.3	113.1 & 100.2	140	25	カラム	Waters Symmetry C18, 3.5 µm, 2.1 × 50mm	注入用	20 µL	移動相 A	H ₂ O (1% HCOOH)	移動相 B	メタノール	流速	0.25mL/min	グラジエント条件 (移動相Bの割合)	0 1min 50% 85% 1 4min 85% 100% 4 10min 100% 10 12min 100% 50% 12min 50%
	Precurser Ion (m/z)	Product Ion (m/z)	Fragment (M)	Collision energy (eV)																																																																
17-OHP	331.2	109.1 & 97.0	140	40																																																																
17-OHP-d3	339.2	113.0 & 100.0	140	30																																																																
F	383.2	121.1	140	40																																																																
F-d4	367.3	121	140	40																																																																
21-DOF	347.2	211.2	150	15																																																																
21DOF-d3	355.3	219.3	150	15																																																																
11-DOF	347.2	97.0	150	30																																																																
11DOF-d2	349.2	97.0	150	30																																																																
Δ 4-A	287.2	109.0 & 97.0	140	25																																																																
Δ 4-And?	294.3	113.1 & 100.2	140	25																																																																
カラム	Waters Symmetry C18, 3.5 µm, 2.1 × 50mm																																																																			
注入用	20 µL																																																																			
移動相 A	H ₂ O (1% HCOOH)																																																																			
移動相 B	メタノール																																																																			
流速	0.25mL/min																																																																			
グラジエント条件 (移動相Bの割合)	0 1min 50% 85% 1 4min 85% 100% 4 10min 100% 10 12min 100% 50% 12min 50%																																																																			

<p>甲状腺機能検査に関する検討</p> <p>研究担当者: 藤倉かおり、吉永美和</p> <p>研究期間: 平成 20 年度から 1 年間</p>	<p>【目的】 甲状腺機能検査の精度向上とより効果的なスクリーニングシステムの再構築</p> <p>【方法】 母乳中ヨード測定についての検討 ICP 発光分光分析法による測定方法を確立する。実サンプルを測定して、母乳中ヨード濃度範囲を調べ、この方法による測定が実際に本研究目的のために有用かどうか調べる。 クレチン症スクリーニング要精密検査例での検討 クレチン症精密検査時の児とその母の尿および母乳におけるヨード濃度を調べ、クレチン症スクリーニングへの応用を検討する。 妊婦甲状腺機能検査における検討 妊婦甲状腺機能スクリーニングで軽症甲状腺機能低下症例（TSH 軽度上昇、FT4 正常）について、医療機関（妊婦甲状腺機能検査の精密検査施設）の協力を得て、TSH 高値と尿中ヨード濃度との関連について調べる。</p> <p>【結果及び考察】 尿に比べて母乳では隣接波長による測定干渉が大きく、精度をあげるためには標準添加法による測定が必要と思われたが、その場合感度が悪くなる（0.1～0.5$\mu\text{g/ml}$ くらい）ため、ICP による母乳中ヨード測定は不向きと考えられた。 平成 20 年度の要精密検査例 23 例のうち、北大小児科または N T T 病院小児科で精査を行った 15 名の児とその母についてヨード測定のための採尿を行った。精査時の児の尿中ヨード/クレアチニン比は平均 10.2$\mu\text{g/ml}$、母親の尿中ヨード/クレアチニン比は平均 0.9$\mu\text{g/ml}$ であった。 妊婦甲状腺スクリーニングで見つかった軽症甲状腺機能低下症例の尿中ヨードの調査については実施できなかった。</p>
<p>妊婦および新生児乾燥る紙血を用いる感染症の疫学調査</p> <p>研究担当者: 吉永美和、藤倉かおり</p> <p>研究期間: 平成 20 年度から 1 年間</p>	<p>【目的】 札幌市内の妊婦における風疹抗体保有率および麻疹抗体保有率を調査し、風疹及び麻疹感染症の対策に資する。</p> <p>【方法】 妊婦の風疹及び麻疹抗体価の測定：2007 年 4 月から 2008 年 3 月までに妊婦甲状腺機能検査を受けた 1961 年から 1990 年出生の妊婦 551 名を 5 歳ごとに 6 世代に分類し、風疹抗体価はる紙血液による HI 法により、麻疹抗体価はる紙血液 PA 法により測定した。新生児麻疹抗体価の測定：2007 年 4 月から 2008 年 3 月までに新生児代謝異常検査を受けた新生児 500 名を無作為に抽出したる紙血液により PA 法で測定した。</p> <p>【結果及び考察】 妊婦の風疹抗体陽性率（抗体価 8 倍以上）は 1986 年から 1985 年出生の 2 群（82 から 88%）では 1986 年以降出生の 4 群（94 から 99%）よりも低く、妊婦全体の陽性率は 92.6% であった。妊婦の麻疹抗体陽性率（抗体価 128 倍以上）は 1986 年から 1985 年出生の 2 群（83%）では 1986 年以降出生の 4 群（87 から 90%）よりも低く、妊婦全体の陽性率は 86.6% であった。新生児の麻疹抗体価が 128 倍以下の感受性者は 10.2% であった。 妊婦の麻疹、風疹抗体保有率は若年層ほど低く、感染の流行を防止するためワクチン接種の勧奨が重要である。新生児の麻疹感受性者 10% と高く、妊娠の可能性のある女性の麻疹感受性者の低減のための対策が必要である。</p> <p>本研究の実施にあたり、一部、財団法人大同生命厚生事業団から平成 20 年度「地域保健福祉研究助成」を受けた。</p>