

調査研究の概要

調査研究の概要

1. 保健科学課 保健科学係

調査研究名	研究の概要
<p>非喫煙者の受動喫煙による唾液及び尿中ニコチン代謝物レベルの検討</p> <p>研究担当者: 福士 勝</p> <p>研究期間: 平成 21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>1) 酵素免疫測定法 (ELISA 法) による尿中コチニン測定値の参考基準値として、非喫煙者の全く受動喫煙の影響がない時のコチニンレベル、非喫煙者の受動喫煙時のコチニンレベルを明らかにする。</p> <p>2) ELISA 法で測定されるコチニンとガスクロマトグラフィ・質量分析計 (GC - MS) による一斉分析で得られるデータと比較検討することにより、ELISA 法で得られたコチニンの基準値の信頼性を向上させる。</p> <p>【方法】</p> <p>対象: 喫煙しない成人で、インフォームドコンセントが得られた者から連続して同時に採取された尿及び受動喫煙の可能性の有無がわかる日常行動調査票を収集した。</p> <p>方法: 唾液及び尿を検体として下記の成分を定量する。なお、尿ではクレアチニンの測定も行った。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ELISA 法ではニコチン代謝物をコチニン量として測定する。 ・ GC-MS 法ではニコチン、コチニンを測定する。 <p>【結果・考察】</p> <p>1) 非喫煙者の尿コチニンレベルは、受動喫煙がない状況で 3ng/mg クレアチニン以下であった。非喫煙者で 10 分程度の受動喫煙により 2 時間後には 2 から 8ng/mg クレアチニンへ上昇し、4 ~ 6 時間後には 10 から 7ng/mg クレアチニンまで上昇してほぼ一定になった。ELISA 法尿コチニン測定による受動喫煙の疫学調査では、尿コチニンレベル 3ng/ml クレアチニンを暫定基準値とすべきである。</p> <p>2) GC/MS によるコチニンの検出感度は約 0.1 µg / mL で、検量線は 0.063 ~ 2.00 µg / mL ほぼ直線性を示した。尿検体 6 重測定の同時再現性の CV は 3.8 ~ 7.5% (約 0.8 µg/mL)、また 3 日間の日差再現性の CV は 3.7% であった。検出感度では GC/MS 法は ELISA 法に及ばなかった。GC/MS で測定した喫煙者ボランティア 5 名、22 検体のコチニン濃度は、21.0 ~ 786.4ng / mgCre であった。また、ELISA 法で測定した非喫煙者 18 名 88 検体のコチニン濃度は 0.06 ~ 14.11ng/mgCre であり、アンケート調査では全員が受動喫煙はなかったと答えていたがコチニン濃度にばらつきがみられた。喫煙者の喫煙後及び非喫煙者の受動喫煙後の尿中コチニンの濃度を喫煙後 6 時間に亘って測定した結果、コチニン濃度が最も高かったのは喫煙者では 3 時間後、非喫煙者では 3 ~ 4.5 時間後であった。</p> <p>本研究は平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金がん研究事業「たばこ規制枠組み条約に基づく有害化学物質等の国際標準化試験法及び受動喫煙対策を主軸とした革新的ながん予防に関する研究 (研究代表者: 国立保健医療科学院生活環境部稲葉洋平)」の研究費を受けて、熊本保健科学大学梅橋操子教授との共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 ~ 21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>タンデムマスによる新生児マススクリーニングのパイロットスタディによりその有効性が明らかになってきたことから、現行 6 疾患対象の新生児マススクリーニングへの早期導入が望まれている。そこで、現行のマススクリーニングシステム体制に悪影響を及ぼさず、かつ可能な限り低コストでタンデムマススクリーニングを導入するためにどのようにしていくべきかを検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>1) 現行の新生児マススクリーニングシステム体制に悪影響を及ぼさないシステムのあり方を現行システムの流れ、実施主体の都道府県・政令指定都市 (以下、自治体) の状況を調査した。</p> <p>2) 検査コスト試算方法は、現行 6 疾患対象マススクリーニング検査コストとタンデムマススクリーニングの検査コストを試算し、タンデムマススクリーニングの導入形態の相違による検査コストの相違を検討した。</p> <p>【結果・考察】</p>

	<p>タンデムマスによる新生児マススクリーニングを導入する場合、現行のマススクリーニングシステム体制に悪影響を及ぼすことがないようにするために、全額公費負担または一部受益者負担のいずれの場合でも、原則として都道府県・政令指定都市が行政の母子保健サービスとして実施すべきである。さらに、現行スクリーニングと同時に同一施設で年間5万検体の検査を実施することにより、現行の標準検査費2,220円/1検体と比較して100円強の増額で実施可能であることから、タンデムマススクリーニングをできるだけ低コストで実施するためには、検査機関の集約化が重要となる。一方、現行マススクリーニング検査実施施設でタンデムマスによる検査ができない場合、タンデムマススクリーニングを現行スクリーニングと別の検査施設で実施しても、年間検査数が年間5万検体以上の施設で実施することにより1検体で600円程度の増額で可能であるが、この場合は検査結果の迅速な提供のため採血用紙の様式の変更とる紙血液検体の送付システムの変更が必要である。</p> <p>本研究は平成 19 年度から 21 年度の厚生労働科学研究(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マススクリーニング体制の確立に関する研究の分担研究課題:新しい新生児マススクリーニング体制の検討の一環として実施し、一定の成果を得たことから本年度で終了する。</p>
<p>重症複合型免疫不全症の新生児スクリーニング法の検討</p> <p>研究担当者: 福士 勝、野町祥介</p> <p>研究期間:平成 20 年度</p>	<p>【目的】 重症複合型免疫不全症は、易感染性を呈し、早期診断、早期治療を行わなければ致命的になる疾患である。しかし、診断がつけば、抗菌剤の投与、ガンマグロブリンの定期補充などにより感染症の予防が可能であり、さらに幹細胞移植により根治的な治療も期待できる。そこで、乾燥濾紙血液による重症複合型免疫不全症の簡便迅速で多検体処理が可能な測定法を確立して新生児スクリーニングへの応用を検討する。</p> <p>【方法】 1)スクリーニングの指標:重症複合型免疫不全症で産生が低下する TCR-rearrangement excision circles(TRECs)、2)測定法:リアルタイム定量 PCR による TRECs の定量、3)検討事項:)ろ紙血液からの DNA 及び TRECs の抽出条件の検討、)適切なプライマーの検討、)定量 PCR でのインターカレタ - 法(SYBR Green)と TaqMan プローブ法の比較、)内部標準としてプラスミド RNase 及び TRECs による定量下限の検討、)新生児ろ紙血液及び患者ろ紙血液の TRECs の測定の検討。</p> <p>【結果・考察】 1)ろ紙血液からの TRECs の抽出とプライマーは、Baker M B らの報告(J Allergy Clin Immunol 2009;124:522-7)による方法が最適であった。2)プラスミド TRECs の定量下限は SYBR で 100 コピー、プラスミド RNase は 10 から 100 コピー程度であった。3)TaqMan プローブ法よりも SYBR Green 法が 10 倍程度感度が良好であった。4)新生児ろ紙血液 3mm1 枚で TRECs の検出が可能であり、SCID 患者では検出されなかった。新生児 SYBR Green 法は TaqMan プローブ法よりも試薬が安価であり、新生児マススクリーニングへの応用に有効と思われる。</p> <p>本研究は山口昭弘(日本食品分析センター)、山田雅文、有賀正(北海道大学大学院医学研究科小児科)との共同研究である。</p>
<p>母親教室における受動喫煙防止啓発 DVD の活用効果の検証について</p> <p>研究担当者: 福士 勝、花井潤師、 太田 優</p> <p>研究期間:平成 21 年度</p>	<p>【目的】 地域保健総合推進事業の分担研究として、平成 20 年度には、受動喫煙防止啓発用 DVD を製作した。21 年度には、妊婦およびその夫を対象にした両親教室において、DVD を視聴前後における、受動喫煙の危険性に対する意識の変化をアンケート調査し、DVD の有用性を検証する。さらに、妊婦及び乳幼児への受動喫煙防止の啓発を促進することを目的に、ポスター、リーフレットなどの啓発物を作成し、関係機関に配布する。</p> <p>【方法】 協力の得られた 3 区で、平成 21 年 8 ~ 12 月に実施した両親教室において、199 組の夫婦(398 人)を対象に、DVD 視聴前後で受動喫煙の危険性に対する意識の変化に関するアンケート調査を実施した。アンケートの内容は喫煙者の禁煙意欲、受動喫煙の危険性に対する知識等に関して、視聴前後で同一の質問を行い、回答の変化を検討した。回答は「そう思う」、「ややそう思う」、「あまりそう思わない」、「そう思わない」から選択することとした。</p>

	<p>【結果・考察】</p> <p>アンケート調査：DVDの視聴後に、喫煙群を対象に行った禁煙への意欲は、「そう思う」の回答が、妊婦では5人中2人 3人、夫では15% 37%に増加し、喫煙者の禁煙への意識変容へのDVDの有用性を示すものと考えられる。また、喫煙群も非喫煙群も、DVD視聴によって、妊婦や家族の喫煙による小児の健康被害等に関する知識を効果的に得ていた。しかし、喫煙群のほうが非喫煙群に比べ喫煙の危険性を少なく見積もる傾向が見られた。</p> <p>啓発物の配布：ポスター、リーフレットを製作し、札幌市内産婦人科医療機関、札幌市内保育所、各区保健センター、道内保健所、札幌市小児科医会とすることとし、目的に応じて、啓発用DVD、ポスター、リーフレットを配布した。</p> <p>本研究は平成21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-」の研究費の補助を受けて実施した。</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>研究担当者： 野町祥介、福士 勝</p> <p>北海道大学小児科 木田 和宏、窪田 満</p> <p>研究期間： 平成 19～21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>ムコ多糖症 (mucopolysaccharidosis, MPS) は、現在 I～IX 型の病型に大別されている。出生時には異常を示さず、出生後徐々に全身の組織に GAG の沈着が進行して症状が顕在化するが、症状発現前には発見することは難しい。治療には酵素補充療法や骨髄移植が有効であるが、症状顕在化前に治療を開始することにより良好な予後が期待できる。そこで、新生児期での早期発見法としてろ紙血液中の GAG を高速液体クロマトグラフィー/タンデムマス質量分析計 (LC/MS/MS) を用いて一斉定量する手法を検討する。</p> <p>【方法】</p> <p>小熊らの報告に準じて、ろ紙血液中デルマトン硫酸 (DS)、ヘパラン硫酸 (HS)、ケラタン硫酸 (KS) の 3 種の GAG を LC/MS/MS API4000 で定量した。対象は札幌市の新生児スクリーニング受検し、研究目的の使用に同意が得られているもので日齢 4 から 6 の間に採血されたものを用いた。体重別に 6 群に分け、各 23 検体ずつ計 138 検体を正常検体として用いた。また手稲溪仁会病院小児科でフォローされている MPS 患者のろ紙血で、予め同意が得られているものを患者検体として使用した。</p> <p>【結果・考察】</p> <p>新生児ろ紙血の GAG は、DiHS-0S の平均は 87.57 ± 28.53 ng/ml、DiHS-6S の平均は 205.58 ± 73.76 ng/ml、KS の平均は 357.07 ± 102.96 ng/ml となった。DiHS-NS については今回十分な感度が得られないものが多かった。各二糖の相関としては、HS の DiHS-0S と同じく HS 由来の DiHS-NS は良好に相関し ($R=0.79$)、DiHS-0S と DS を反映する DiHS-6S は弱い相関 ($R=0.56$)、KS と他の二糖の相関は弱かった ($R=0.11 \sim 0.2$)。MPSI 型患者の日齢 5 のろ紙血液では正常新生児と比較して明らかな高値を示した。また、治療開始後、KS を除くろ紙血中の GAG が低下していた。本法は被験者に対する侵襲も少なく、これまでと同様の方法で検体を収集できるという点において優れており、これまで困難であった MPS の早期発見の一助となる可能性が示唆された。また、早期発見のみならず、その後の治療効果判定などにも使用できる可能性があり、大きなメリットと思われた。</p> <p>本研究は木田和宏 (北海道大学大学院小児科学分野)、窪田満 (手稲溪仁会病院小児科)、藤井正 (札幌イムノダイアグノスティックラボラトリー)、小熊敏弘 (第一三共株式会社薬物動態研究所) との共同研究である。</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： 雨瀧由佳、野町祥介</p> <p>研究期間： 平成 20～21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>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】</p> <p>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】</p> <p>2009 年 1 月末までの延べ検査数はほぼ 7 万 8 千件となっている。2009 年度は、プ</p>

	<p>ロピオン酸血症 2 例、 VLCAD 欠損症 1 例を見出した。ただし、2 例のプロピオン酸血症のうち 1 例は急性症状により医療機関の判断に基づき日齢 3 のろ紙血検体により検査を実施したものである。パイロットスタディ開始からタンデム質量分析計によるスクリーニング対象疾患の疑いで 19 例を精査とし、うち 11 例が患者であった。そのため陽性反応適中率(PPV)は 58%となる。また、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、2009 年度に Met 高値から MAT 欠損症 1 例を発見した。アミノ酸 3 項目も含めた 2005 年度以降の全精査例を添付資料にまとめる。</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、雨瀧由佳、藤倉かおり</p> <p>研究期間: 平成 19 ~ 21 年度</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 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。 (3)21-水酸化酵素欠損症の確定診断法について 先天性副腎過形成症スクリーニングで要精密検査となった新生児およびその両親の 21-水酸化酵素欠損症責任遺伝子 CYP21B を解析し、病因変異を検索することにより実施した。</p> <p>【結果・考察】 (1)ウィルソン病の確定診断法について ウィルソン病が疑われた 3 例につて解析を行った。うち 2 例については、それぞれ A874V、V1106I の compound hetero、R778L の homozygote の遺伝子型を同定し、確定診断に導くことができた。また、残りの 1 例は遺伝子型に異常を認めず、後の臨床所見と合わせてウィルソン病を疑い疾患から除外することができた。 (2)その他 ミトコンドリア病 MELAS(3243A G)、MERRF(8334A G)については、2009 年度の依頼例からは当該病因変異は同定されなかった。21-水酸化酵素欠損症の遺伝子解析については、2009 年度は 2 家系の依頼があり、このうち 1 例で病因変異が同定できた。</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 - 追跡調査 -</p> <p>研究担当者: 野町祥介、田上泰子、花井潤師</p> <p>研究期間:平成 21 年度</p>	<p>【目的】 各種先天性代謝異常症の化学的補助診断の有用性を高める。</p> <p>【方法】 医療機関の依頼に基づいて、タンデム質量分析計による血中アミノ酸・アシルカルニチン分析、GC/MS による尿中有機酸分析を中心とした特殊検査により、診断補助に貢献できるデータを治療に還元しているが、これに加えてその有用性を高めるため以下の検討を行う。</p> <p>(1) タンデム質量分析法による尿中アシルカルニチン分析法を検討する。 (2) タンデム質量分析法による尿中アミノ酸分析法を検討する。 (3) タンデム質量分析法による血中 Lys、Thr、Ser の測定法を検討する。 (4) 血中アミノ酸分析法について、島津 HPLC システムによる検査法を検討する。 (5) 追跡調査等を実施することで、最終診断名と検査結果の突き合わせを行い、検査の精度を把握する。 (6) タンデム質量分析法による新生児スクリーニングの対象疾患の患者が見つかった場合、新生児期のサンプルを取得し、検査時期による検査の感度の違いがあるか検討する。</p> <p>【結果及び考察】 代謝異常依頼検査では例年通り毎月 50 ~ 80 件程度の依頼があり、2009 年度はファ</p>

	<p>ンコニー・ビッケル症候群、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ(SCOT) 欠損症各 1 例の診断を補助した。上記の検討結果について以下に示す：</p> <p>(1) 倫理審査委員会の回答を待って、尿サンプルを用いた検討に移行する</p> <p>(2) 同上</p> <p>(3) コントロール検体による検討を行った。Thr,Ser については測定条件の検討はほぼ終了しており、他のアミノ酸と同様の回収率を得られている。それに比較して Lys は回収率が他のアミノ酸の 1/4 前後であり、安定性があればファクターによる算出を考える必要がある。</p> <p>(4) 移行は可能であるが、検査の負担を考えると、タンデム質量分析計に統一した方が系として適切と思われる。</p> <p>(5) 倫理審査委員会の承認を待って、検査受付時に本人もしくは代諾者の「承諾」を得られるシステムを導入する。</p> <p>(6) 倫理審査委員会の承認を待って、体制を整備したい…(5)と同様。</p>
<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</p> <p>研究期間:平成 21 年度</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>【結果及び考察】</p> <p>18MS 開始後 4 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。</p> <p>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 2009 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。</p> <p>これまでに 18MS で発見された患者は 6MS、14MS と比べ、進行例の割合が多かったが、2009 年発見患児は 3 例とも INSS 病期 1 で腫瘍は全摘されており、早期発見例であった。</p>
<p>クレチン症スクリーニングシステム精度評価のための研究</p> <p>研究担当者: 藤倉かおり、福土 勝</p> <p>研究期間: 平成 21 ~ 22 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>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】</p> <p>クレチン症スクリーニング陽性例の児とその母の尿中ヨードの測定</p> <p>クレチン症スクリーニング陽性例において、医療機関で行う精密検査の一環として採取した母児の採血ろ紙と尿を当所に郵送する。当所では、ろ紙血中の甲状腺刺激ホルモン(TSH)、遊離サイロキシン(FT4)、尿中のヨード濃度、クレアチニン濃度を測定し、母児の甲状腺検査データとヨード測定データ、スクリーニング検査データ、精密検査データ、診断データを照合することで疫学的な検証を行う。</p> <p>クレチン症スクリーニング正常例の尿中ヨード測定</p> <p>NTT 東日本札幌病院産婦人科にて出生し、保護者から本研究に対する同意が得られた児と母親の産後 4-6 日目における尿を採取する。また、児の母親に対してはアンケート調査票に記入してもらおう。尿は、アンケート調査票と一緒に随時当所へ送付されるものし、当所において ICP 蛍光分光分析法によりヨード濃度を測定する。</p> <p>得られた測定データおよびスクリーニング検査時の甲状腺機能検査データから、尿中ヨード濃度レベルの分布を調べる。また、健常児における尿中ヨードと甲状腺機能の関連についても調べる。</p> <p>【結果及び考察】</p>

	<p>2004 年度から 2008 年度までにスクリーニング陽性のため北大または NTT 病院を受診した症例のうち、ヨード測定のための採尿を行っていた児 32 名(2009 年 7 月の調査での診断名がクレチン症(治療中)の 22 名と一過性甲状腺機能低下症または一過性高 TSH 血症であった 10 名)および母親 12 名(児がクレチン症だった 9 名と一過性甲状腺機能低下症または一過性高 TSH 血症であった 3 名)について尿中ヨード濃度および甲状腺機能検査データを比較した。(添付資料のとおり。)母親のヨードが極端に高い 2 例はその児のヨードも極端な高値で、いずれも一過性甲状腺機能低下症と診断されていた。しかしこの 2 例を除く母児では、母児のヨードの相関は認められず、児のヨードが中程度に高くなる要因は、母親からの影響以外であることが多いと予想された。</p> <p>倫理審査委員会で審査中のため、まだ開始していない。</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</p> <p>研究期間: 平成 21 年度</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 スクリーニングの確認検査として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(4-A) ・コルチゾール(F) ・11-デオキシコルチゾール(11-DOF) ・21-デオキシコルチゾール(21-DOF) 今年度は、これまで行ってきた Agilent6410 での検討に加え、現在新生児代謝異常スクリーニングで使用している Waters 社製タンデムマス Quattro micro の後継機候補である ACQUITY TQD と Quattro Premier XE について、ろ紙血から抽出した対象ステロイドの分析を Waters 社に依頼し、CAH スクリーニングへの導入が可能かどうか検討した。</p> <p>【結果及び考察】 ・ろ紙血からのサンプル調整方法の検討について 従来ろ紙血を水に溶出後にエーテル抽出していたが(従来法)、文献を参考に、より簡便な、ろ紙血から直接有機溶媒(アセトン/アセトニトリル 50% + ステロイド内部標準メタノール溶液)で抽出する方法を検討した。この結果、文献どおりの方法ではピーク強度は従来法に比べて極端に低く、回収率・感度は悪いと考えられた。抽出する有機溶媒に少量の水を添加する等文献の方法をアレンジすることで回収率を改善できないか、検討すべきと考えられた。</p> <p>・Waters 社製タンデムマスと Agilent6410 の比較検討について 5 種のステロイドを含むろ紙(F については 1.3~380ng/ml、その他の 4 ステロイドについては 0.7~190ng/ml の 7 濃度)を従来の方でエーテル抽出したサンプルについて、直線性を検討した。Quattro Premier XE では、いずれのステロイドにおいても最低濃度まで直線性が認められた。ACQUITY TQD と Agilent でも 4-A においては最低濃度まで直線性が認められたものの、17-OHP、11-DOF、21-DOF および F で直線性が認められた最低濃度は、1.6、4.1、10.1、および 3.3ng/ml であった。以上の結果から、CAH スクリーニング確認検査に応用するには Quattro Premier XE が望ましいと考えられた。</p>

微生物係

調査研究名	研究の概要
<p>食中毒事例及び感染症事例のパルスフィールド電気泳動パターン (PFGE) の解析について</p> <p>研究担当者：廣地 敬</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】 細菌学的疫学指標の一つとしてパルスフィールド電気泳動パターン (PFGE) の解析は、食中毒事例及び感染症事例において疫学調査の結果と菌株間の関連性を考える上で、必要な検査となっている。 当所で取扱った菌株の PFGE を調べ蓄積し、疫学情報に役立てるため継続実施する。</p> <p>【方法】 PFGE 法は国立感染症研究所ニュープロトコールに基づき実施し、泳動パターンを Fingerprinting で解析し類似度を比較した。 EHEC 0157 については、IS Printing System (Version2) (TOY0B0) も併せて取扱い説明書に従って実施した。</p> <p>【結果及び考察】 EHEC 0157 は、26 株集まり PFGE と IS Printing System で解析した。複数の株が分離されたのは 3 事例であった。 事例 1 は 3 月末から 4 月初旬にかけて生肉・レバ刺し等を喫食して発生した 5 株と同時期に発生した 2 株の PFGE で 94.4% を示し同一由来の食中毒が疑われたが疫学調査や後日実施の IS Printing System set 2 で 2 ヶ所の違いがあり異なる由来と判断した。 事例 2 は 7 月初旬から中旬にかけて保育園で発生した 4 株で PFGE が同一のパターンを示した。後日実施した IS Printing System も同一の結果であった。 事例 3 は 8 月後半に大通り公園で行われたイベント「牛とのふれあい」で患者の発生届がなされたもので、原因は疫学情報を入手出来なかったので牛と接触していたことによる感染か、体験作成食品を喫食していたことによる食中毒かの判断はできなかった。PFGE は、5 株中 1 株が類似度 97.2% であったが IS Printing System は同一のパターンであった。 この結果、事例 1 等の判断に迷うケースでは PFGE と IS Printing System の併用が望ましいと思われた。</p>
<p>結核菌の遺伝子型別について</p> <p>研究担当者： 川合常明、廣地 敬</p> <p>研究期間： 平成 11～21 年度</p>	<p>【目的】 本調査研究は平成 11 年 3 月から保健所と共同で「結核菌遺伝子分析研究事業」として実施しており、結核菌の遺伝子型分析を行うことにより、集団発生時における同一感染源の特定及び結核菌株の蔓延状況を把握するなど、結核予防対策に役立てる。 結核菌の遺伝子型別検査法は RFLP 法により行ってきたが、平成 20 年度から従来法よりも迅速検査が可能な PCR を用いた VNTR 法を行っている。</p> <p>【対象】 平成 11～20 年の集団感染事例の 19 事例 48 株及び平成 17～21 年の結核菌陽性の菌株 146 株、計 194 株を用いた。</p> <p>【方法】 JATA(12) - VNTR 法により分析を行った。なお、集団感染事例において遺伝子型が 1-2 箇所異なる場合、MIRU 及び ETR 領域について追加分析を行った。</p> <p>【結果及び考察】 VNTR 分析結果 (1) 集団感染事例：遺伝子型が一致したのは、15 事例 (34 株) あり、それぞれ同一由来株と判断した。また、遺伝子型が 1 箇所異なる 3 事例 (10 株) について追加分析を行った結果、2 事例 (5 株) はそれぞれ遺伝子型が一致した。しかし、1 事例 (5 株) の 1 株が 1 箇所異なっていたが、JATA(12) - VNTR 法が一致したため、同一由来株と判断した。 一方、遺伝子型が 3 箇所以上異なる 2 事例の 2 株については別株と判断したが、その他の株は一致したため、それぞれ同一由来株と判断した。</p>

	<p>(2) クラスター分析結果：クラスター数は 23 種 75 株であったが、そのうち 19 種が集団感染事例であった。また、遺伝子型が一致したのは 3 事例 (9 株) 及び 2 事例 (6 株) であった。</p> <p>【まとめ】 JATA(12) - VNTR 法及び追加分析の結果、ほとんどの集団感染事例において同一感染源であることが判断できた。 クラスター分析の結果、集団感染事例において散発的に同一の遺伝子型株が検出され、今後も検出されることが推定された。 今後、データの蓄積等により結核菌の伝播状況及び蔓延状況等をより正確に把握することができると考えられる。</p>
<p>PCR 法による食肉の食中毒菌関連遺伝子の検出について</p> <p>研究担当者：坂本裕美子</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】 食肉の食中毒菌検査時に、従来の培養法と併せて遺伝子学的検査法として PCR 法を用いることの有用性について検討する。</p> <p>【方法】 平成 21 年度に採取した市販肉 (牛 4 検体、豚 7 検体、鶏 8 検体、羊 2 検体) 21 検体をサンプルとし、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌、アルコバクター属菌による汚染状況について増菌培養法に基づく検査を実施すると同時に、その増菌培養液をテンプレートとして PCR を実施した。 PCR 法の結果と培養法の結果を比較検討する。</p> <p>【結果及び考察】 腸管出血性大腸菌 O157 : 21 検体すべてにおいて PCR 法、培養法ともに陰性であった。 サルモネラ属菌 : 鶏 2 検体が PCR 法、培養法ともに陽性となり、別の鶏 1 検体が PCR 法のみで陽性となった。培養法で検出された 2 検体の同定結果は 2 検体ともに <i>Salmonella</i> Typhimurium であった。 カンピロバクター属菌 : 21 検体すべて PCR 法、培養法ともに陰性であった。 アルコバクター属菌 : 鶏 1 検体、豚 1 検体が PCR 法、培養法ともに陽性となった。また、鶏 1 検体が PCR 法のみで陽性となった。 以上の結果より、鶏のサルモネラ汚染は食中毒事例では原因と <i>Salmonella</i> Infantis の報告が多いが、<i>Salmonella</i> Typhimurium によっても起こる可能性を再確認した。また、市販鶏肉がアルコバクター属菌に汚染されている実態が確認され、食中毒検査依頼時にはアルコバクター属菌も視野に入れた検査の必要性が感じられた。 培養法陰性で PCR 法のみ陽性となった検体がサルモネラ属菌、アルコバクター属菌それぞれ 1 検体あった事実は、これら細菌が食肉中で培養できない状態あるいは損傷菌の状態で存在している可能性を示唆するものであり、食肉汚染の実態を把握するうえで重要である。また、PCR 法の迅速性は培養法の検査結果予測に資するという意味においても有用であると考えられる。</p> <p>【今後の方針】 食中毒菌について保存条件、培養条件などの違いによる検出状況について調査し、より迅速・確実な検査法について検討したいと考えている。</p>
<p>札幌市におけるオセルタミビル耐性インフルエンザウイルスのサーベイランス</p> <p>研究担当者： 菊地正幸、村椿絵美</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】 2009 年 4 月、メキシコ・北米を中心に、これまでの A/H1N1 と抗原性の異なるブタ由来の A/H1N1 新型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm) が発生し、その後、日本を含む世界中に広がった。6 月には、日本・香港・デンマークでオセルタミビル耐性 A/H1N1pdm 株の検出が報告された。日本は世界有数のオセルタミビル使用国であるため、耐性株発生状況を把握することが公衆衛生上重要である。そこで、札幌市におけるオセルタミビル耐性 A/H1N1pdm のサーベイランスを行い、感染症対策のための科学的データを得ることを目的とする。</p>

	<p>【方法】 2009年6月から2010年2月までに、疑い症例、クラスターサーベイランスおよび入院サーベイランス(以下、入院等サーベイランス)において搬入された鼻腔ぬぐい液10検体および鼻腔ぬぐい液からのA/H1N1pdm分離株137株についての遺伝子解析を行った。また、2009年8月から2010年2月までに感染症発生動向調査病原体検査定点から搬入された咽頭ぬぐい液からのA/H1N1pdm分離株366株についても遺伝子解析を行った。遺伝子解析は、「新型インフルエンザ薬耐性株サーベイランス A/H1N1pdm - NA 遺伝子解析実験プロトコル」(国立感染症研究所)に基づき実施し、ノイラミニダーゼの275番目のアミノ酸のヒスチジンからチロシンへの変異の有無により耐性株を同定した。</p> <p>【結果及び考察】 入院等サーベイランスにおいて検出されたA/H1N1pdm耐性株は1株であった。この事例は予防内服をしていた。通常の感染症発生動向調査において分離された366株からは、A/H1N1pdm耐性株を2株検出した。1株はオセルタミビルを服用した事例であり、もう1株はオセルタミビルを服用しておらず、ヒト-ヒト感染が疑われる事例であった。札幌市におけるオセルタミビル耐性A/H1N1pdmの出現頻度は0.58%(3/513)であった。全国的には、出現頻度は1.53%(44/2897)であり(1月29日現在)、多くの耐性A/H1N1pdmは薬剤の選択圧により発生していると考えられている。以上より、耐性A/H1N1pdmは、昨シーズンに流行した季節性A/H1N1耐性株とは異なり、ヒト-ヒト間で効率よく伝播する性質を獲得していないと考えられる。</p>
<p>生物テロに使用される可能性の高い細菌・ウイルス等による感染症の蔓延防止、予防、診断、治療に関する研究</p> <p>研究担当者： 菊地正幸、村椿絵美</p> <p>研究期間： 平成20～22年度</p>	<p>【目的】 厚生労働科学研究「新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」(佐多班)の中で生物テロ対策として迅速に病原体を特定するためのスクリーニングキットを開発すると共にその評価を行い、感染症の蔓延防止、予防、診断、治療に関する研究を行う。</p> <p>【方法】 共同研究者の開発したスクリーニングキットを全国10地衛研で使用し、その評価を行う。</p> <p>【結果及び考察】 札幌市は、地衛研地域ブロックで使用するリアルタイムPCRの設置状況調査の実施と、2種類のウイルススクリーニングキット(オルソボックスウイルス、網羅的検出キット)の使用経験を報告し、代表である堺衛研でまとめた。 使用機器でのマニュアルの調整やキット使用時のコンタミネーションの解消などの問題点が確認されたが、簡易キットとして有効であった。</p>
<p>新型インフルエンザ(インフルエンザ A/H1N1sw1)発生への検査、調査についての準備及び初期対応と、病原体検査や感染者に関する今後の国と地方との連携強化及び対応能力強化に関する緊急研究</p> <p>研究担当者： 伊藤はるみ、水嶋好清</p> <p>研究期間：平成21年度</p>	<p>【目的】 厚生労働科学研究「新型インフルエンザ(インフルエンザ A/H1N1sw1)発生への検査、調査についての準備及び初期対応と、病原体検査や感染者に関する今後の国と地方との連携強化及び対応能力強化に関する緊急研究」(宮村班)の分担研究で「地方衛生研究所における検査能力の検証と今後の在り方検討」について検討を行う。</p> <p>【方法】 新型インフルエンザについて札幌市の実施状況と今後に向けての検証を実施した。</p> <p>【結果及び考察】 札幌市における初期対応の検証では、検査法の検証、人的対応、機器整備、連絡体制など、混乱もなく実施できたこと、タミフル耐性解析について精力的に行い、2株の耐性株を解析、2009/10シーズンにA香港亜型2株を検出したこと、血清HI抗体価の測定による知見を得たことなど、今後の新たな変異や新興感染に対応する検証が得られた。</p>

感染症検査担当

調査研究名	研究の概要
<p>新型インフルエンザウイルスに対するHI抗体価調査について</p> <p>研究担当者: 扇谷陽子</p> <p>研究期間: 平成 21 ~ 22 年度</p>	<p>【目的】 インフルエンザウイルスに対するヒト血清中の赤血球凝集抑制(HI)抗体価は、流行の推測やワクチンの免疫原性の評価など、疫学的・免疫学的に重要な情報を提供する。しかし、2009年4月に初めて報告された新型インフルエンザ pandemic H1N1 2009(以下、新型インフルエンザと略)のHI抗体価推移については、まだ十分に把握されていない。そこで、これらの状況を把握する一端として、ワクチン接種者の、接種前後のHI抗体価推移について調査した。</p> <p>【方法】 試料はインフォームド・コンセントを得られた医療従事者14名から、ワクチン接種前と接種後約3週間後に採血された血清を用いた。 HI抗体価の測定は、季節性インフルエンザのHI抗体測定方法に準じて、4単位の不活化ウイルス(A/California/07/2009pdm X-179A)と0.5%七面鳥赤血球を用いて実施した。</p> <p>【結果と考察】 ワクチン接種前の抗体価について、12名が10倍未満であった。残り2名は20倍と40倍であった。ワクチン接種後の抗体価について、14名中13名が、新型インフルエンザウイルスに対する抗体価が4倍以上上昇し、その抗体価は、40~320倍の範囲にあった。残り1名は、ワクチン接種前後の抗体価に変動がなく、10倍未満のままであった。 季節性インフルエンザのワクチン接種は、効果を高めるため2回実施されることが多い。しかし、新型インフルエンザの医療従事者へのワクチン接種は、1回とされている。今回の調査の結果、1回のワクチン接種で、9割以上の14名中13名が、感染防御に効果があると考えられている40倍以上の抗体を獲得できていることが確認された。</p>

2. 生活科学課 食品化学係

調査研究名	研究の概要
<p>動物用医薬品分析法の検討 (1.一斉分析法の検討)</p> <p>研究担当者: 竹下紀子</p> <p>研究期間: 平成 21 年度</p>	<p>【目的】 現在は約 200 種類の動物用医薬品に対して規格基準が設定され、厚生労働省から分析法が示されつつある。本研究では、現在、当所で行っている残留動物用医薬品検査法について、精度の向上及び新規成分の分析を目指して検討することを目的とする。</p> <p>【方法】 厚生労働省から通知された「HPLC による動物用医薬品等の一斉分析法」を基にし、LC/MS/MS を用い、標準品による測定イオン、液クロ条件の検討及び実サンプルでの定量条件の検討、添加回収試験等を行う。</p> <p>【結果及び考察】 標準品を用いた検討では、現在収去検査の対象としている成分の大部分を一斉分析できることが確認できた。食肉抽出成分中では通知法の試験溶液ではマトリックスによるイオン抑制により定量性が悪化するため、これを希釈して測定することを検討した。5～10 倍程度に希釈すればマトリックスの影響はかなり抑制できることが判った。</p>
<p>動物用医薬品分析法の検討 (2.ニトロフラン類の分析法の検討)</p> <p>研究担当者: 小金澤望</p> <p>研究期間: 平成 21 年度</p>	<p>【目的】 平成 17 年度より施行されたポジティブリスト制度により、約 200 種類の動物用医薬品に対して規格基準が設定され、厚生労働省から分析法が順次提示されている。これら動物用医薬品のうち、一斉分析法の対象になっておらず、かつ、告示法での分析が困難であるとされるニトロフラン類(フラゾリドン、フラルタドン、ニトロフラントイン、ニトロフラゾン)の検査法を平成 20 年度より継続して検討している。平成 20 年度は、フラゾリドンについて検査法を確立したので、平成 21 年度は、フラルタドン及びニトロフラントインの検査法を検討する。</p> <p>【方法】 告示法によると、フラゾリドン、フラルタドンニトロフラントインは、同時抽出と LC/MS/MS による同時分析が可能であることから、フラゾリドン、フラルタドン及びニトロフラントインの 3 種類同時分析を試みた。 新規導入された Waters Quattro Premier を用いてプリカーサーイオン、プロダクトイオンの検討を行った。液体クロマトグラフ部分は UPLC を使用し、分析時間の短縮を狙った。さらに妥当性を確認するための添加回収試験を行った。</p> <p>【結果及び考察】 3 種のニトロフラン標準品について、告示法を基にした分析条件で分離・定性することができた。次いでマトリクス(抽出液)存在下で分析を行ったところ、フラゾリドン、フラルタドンは測定可能だが、ニトロフラントインについてはピークが微弱であり所定の定量下限値を満たすことが困難であった。今後はニトロフラントインについての最適分析条件及びニトロフラゾンの検査法を検討し、標準作業書の制定を目指す。</p>
<p>食品添加物一日摂取量調査 - 食品中のソルビン酸、安息香酸(1-6 歳児)について -</p> <p>研究担当者: 浦嶋幸雄、畠山久史</p> <p>研究期間: 平成 21 年度</p>	<p>【目的】 食品添加物一日摂取量調査は、日本人が日常の食生活を通じて摂取する添加物の量を把握し、安全性を評価するため厚生労働省が行っている事業である。この事業には、国立医薬品食品衛生研究所と全国 6 つの地方衛生研究所が参加して調査を行っており、当所は、平成 21 年度、小児(1-6 歳)についてのソルビン酸、安息香酸の調査を担当した。</p> <p>【方法】 最新の国民栄養調査による食品喫食量データに基づき、約 350 の食品を購入した。8 つの食品群に分類し、喫食量の比率に応じて混合した試料(群別試料)及び購入食品の中でソルビン酸または安息香酸の表示のあった食品(個別食品試料)のソルビン酸、安息香酸含有量を測定した。群別試料の検査結果に一日喫食量を乗じて一日摂取量を求め、8 食品群の総和をそれぞれソルビン酸及び安息香酸の一日総摂取量とした。</p>

	<p>【結果及び考察】</p> <p>ソルビン酸及び安息香酸の一日総摂取量の平均はそれぞれ 4.77mg/人/日及び 1.09mg/人/日であった。ソルビン酸については、表示のあった食品の分析から計算上求められた摂取量 4.57mg/人/日とほぼ一致した。これに対し、安息香酸は、表示のあった食品の分析から計算上求められた摂取量は 0.44mg/人/日と群別試料の約 40%程度であった。このことから、食品中のソルビン酸はほぼ添加物由来であるが、安息香酸については天然物由来のものが存在するということが確認された。</p> <p>ソルビン酸及び安息香酸の一日総摂取量 4.77mg/人/日及び 1.09mg/人/日は、小児(1-6歳:平均体重 15.7kg)の ADI(一日許容摂取量)の 1.2%及び 1.4%に相当し、安全上問題のないレベルと考えられる。</p>
<p>農薬の一斉分析化に伴う検査データの有効活用について</p> <p>研究担当者: 菅原雅也、小野准子、 滝川香織</p> <p>研究期間:平成 20～21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>平成 18 年 5 月より実施された「ポジティブリスト制度」に対応するために、当係でも平成 20 年度から、食品中に含まれる農薬の一斉分析が開始された。従来の検査と比較して、1 検体あたりの検査項目数が飛躍的に増加し、年間を通して膨大な検査結果が蓄積されることが予想されるが、これらのデータを、成績書発行以外に活用する検討は未だになされていなかった。そこで、検査結果をデータベース化し、有効に活用する方法の検討を行った。</p> <p>【方法】</p> <p>国立医薬品食品衛生研究所(国衛研)に提供する食品汚染物モニタリング調査データを作成するために、収去検査サブシステムの構造調査結果を参考に、Access のクエリーを用いて、目的データを抽出した。その後、国衛研からの入力テーブルに基づいて、提供データを規定の形式に変換した。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>今回の検討結果で、国衛研の入力テーブルへのデータの手入力が不要となったため、格段の省力化が達成され、収去検査サブシステムに蓄積されている膨大なデータを有効に活用することができた。</p>
<p>残留農薬分析法の検討 (1. 農作物の残留農薬 GC/MS 一斉分析法の検討)</p> <p>研究担当者: 小野准子、菅原雅哉、 滝川香織</p> <p>研究期間:平成 21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>食品衛生法改正により、平成 18 年 5 月から食品中の残留農薬について「ポジティブリスト制度」が実施され、法的規制の対象となる農薬数が大幅に増加した。この対応として、分析可能な農薬種の増加を目的とした検討を行った。</p> <p>【方法】</p> <p>厚生労働省の GC/MS による残留農薬一斉分析法の対象農薬及び過去に GC を用いて分析を行っていた農薬のうち、現在検査項目となっていない農薬で入手可能である 58 種を対象として、分析可能な農薬かどうか検討した。試料溶液の調整については現在の SOP に準じて実施し、各農薬についての GC/MS での測定条件の設定を行い、S/N=10 となる注入量を算出して定量下限値とし、一律基準を満たしているかどうか調べた。また、イオウ化合物を含む農産物としてキャベツについての添加回収試験を行い、妥当性評価ガイドラインを満足するかどうか調べた。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>定量下限値が一律基準を満たす農薬成分は 51 種であった。これらの農薬については、GC/MS による残留農薬一斉分析法で分析可能と思われる。その内、キャベツ(A分類:野菜)の添加回収試験の結果、ガイドラインの目標値を満足した農薬は 35 種であり、一斉分析の検査項目として採用できる。今後は、B分類:根菜やC分類:果実等について添加回収試験を行い、SOP を策定していく予定である。</p>
<p>残留農薬一斉分析法の検討 (2. 農作物の残留農薬 LC/MS/MS 一斉分析法の検討)</p> <p>研究担当者:</p>	<p>【目的】</p> <p>熱に不安定、または難揮発性の農薬は GC/MS に供することが困難であり、液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)による分析が必要となる。近年、LC/MS による分析を必要とする農薬は増加傾向にあり、LC/MS を用いた一斉分析法についての検討の重要性が増している。</p>

<p>滝川香織、菅原雅哉、 小野准子</p> <p>研究期間:平成 21 年度</p>	<p>平成 20 年度は、標準品が手元にある 56 成分について LC/MS で検討した結果、キャベツで 30 成分、りんごで 18 成分が適用可能であった。 これらを踏まえて、平成 21 年度は、機器の更新に伴い新規に導入される LC/MS/MS にて測定条件の検討を行う。</p> <p>【方法】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ プリカーサーイオン、プロダクトイオンの検討 ・ 各成分の S/N の検討 ・ サンプル希釈倍率の検討 ・ 添加回収試験 <p>【結果及び考察】</p> <p>新規に導入された LC/MS/MS で各農薬成分のプリカーサーイオン、プロダクトイオンの最適な条件を検討できた。 2ppb で S/N 10 であったため、一律基準 10ppb まで測定するのにサンプルは 5 倍まで希釈できることがわかった。 「食品中に残留する農薬等に関する試験法のガイドラインについて」を参考に、ほうれん草とオレンジでバリデーションしたところ、56 成分中ほうれん草は 34 成分、ばれいしょは 40 成分、オレンジは 42 成分で目標値を満たした。</p>
---	--

大気環境係

調査研究名	研究の概要																		
<p>平成 21 年度化学物質環境実態調査（初期環境調査：大気中の 4-ヒドロキシ安息香酸メチル）</p> <p>研究担当者：吉田 勤</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】 初期環境調査は、「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の促進に関する法律」における指定化学物質の指定について検討が必要とされる物質、社会的要因から調査が必要とされる物質等の環境残留状況の把握を目的とする。平成 21 年度は大気中の 4-ヒドロキシ安息香酸メチルについて調査を行った。</p> <p>【方法】 親水性・親油性基を持つ逆相充填剤からなる捕集剤(Oasis HLB)を用いて大気試料を捕集する。試料採取後の捕集剤からメタノールを用いて抽出を行い、窒素気流下で濃縮後、10%メタノールに転溶し、内部標準物質としてビスフェノール A-d14 を加え、LC/MS/MS-SRM 法で定量する。</p> <p>LC/MS/MS の条件 使用機器：Agilent 1200/6410 使用カラム：Asentis™ RP-Amide (2.1mm i.d.×100mm, 3μm) カラム温度：30 注入量：10μL 移動相：精製水(A)、メタノール(B) グラジエント条件</p> <table border="1" data-bbox="635 891 930 1093"> <thead> <tr> <th>time</th> <th>A(%)</th> <th>B(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0min</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>25min</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>34min</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>35min</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>45min</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table> <p>流量：0.2mL/min ガス温度：350 ガス流量：10L/min ネブライザ：50psi イオン化法：ESI(-)-SRM(MRM) ESI キャピラリー電圧：4kV モニターイオン 4-ヒドロキシ安息香酸メチル：151 92 ビスフェノール A-d14：241 223</p> <p>【結果及び考察】 札幌市における大気中の 4-ヒドロキシ安息香酸メチルの調査結果は、すべて定量限界未満(0.0054~0.011ng/m³)であった。</p>	time	A(%)	B(%)	0min	90	10	25min	5	95	34min	5	95	35min	90	10	45min	90	10
time	A(%)	B(%)																	
0min	90	10																	
25min	5	95																	
34min	5	95																	
35min	90	10																	
45min	90	10																	
<p>平成 21 年度化学物質環境実態調査（詳細環境調査：大気中の イソプロピルベンゼン及び クレゾール類）</p> <p>研究担当者：立野英嗣</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】 詳細環境調査は、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」における特定化学物質及び監視化学物質、監視環境リスク初期評価を実施すべき物質等の環境残留状況の把握を目的とする。平成 21 年度は大気中のイソプロピルベンゼン及びクレゾール類について調査を行った。</p> <p>【方法】 イソプロピルベンゼン 活性炭捕集剤 (Sep-Pak AC-2) を用いて大気試料を捕集する。試料採取後の捕集剤からジクロロメタンを用いて抽出を行い、内部標準物質としてイソプロピルベンゼン-d12 を加え、GC/MS-SIM 法で定量する。</p> <p>GC/MS の条件 使用機器：HP5973N 使用カラム：J&W DB-1 (0.25mm×60m×1.0μm)</p>																		

	<p> カラム温度：40 (1min) 10 /min 250 (10min) 注入口温度：200 インターフェース温度：200 注入方法：スプリットレス モニターイオン イソプロピルベンゼン : 120 (定量用), 105 (確認用) イソプロピルベンゼン-d12 : 114 クレゾール類 予め L-システインを含浸させたアミノプロピルシリカゲル充填捕集剤 (Sep Pak Plus NH₂) を用いて大気試料を捕集する。試料採取後の捕集剤からアセトニトリルを用いて抽出を行い、窒素気流下で濃縮後、内部標準物質としてフェノール-d5 を加え、GC/MS-SIM 法で定量する。 GC/MS の条件 使用機器：HP5973N 使用カラム：J&W DB-WAX (0.25mm×60m×1.0μm) カラム温度：50 (1min) 8 /min 200 (3min) 注入口温度：250 インターフェース温度：200 注入方法：スプリットレス モニターイオン o、m、p-クレゾール : 108 (定量用), 107 (確認用) フェノール-d5 : 99, 100 【結果及び考察】 イソプロピルベンゼン 札幌市における大気中のイソプロピルベンゼンの調査結果は、33～39ng/m³ の範囲であり、分析法を開発した川崎市公害研究所が行った平成 20 年度の調査結果 60～170ng/m³ の 1/2 以下の濃度であった。 クレゾール類 札幌市における大気中のクレゾール類の調査結果は、o-クレゾールが 3.9～6.3ng/m³、m-クレゾールが 2.0～3.7ng/m³、p-クレゾールが 2.1～5.1ng/m³ の範囲であった。分析法を開発した熊本県保健環境科学研究所が行った平成 20 年度の調査結果では、o-クレゾールが 7～9ng/m³、m-クレゾールが 6～8ng/m³、p-クレゾールが 10～17ng/m³ であり、p-クレゾールを除き、ほぼ同レベルの濃度であった。 </p>
<p> 平成 21 年度化学物質環境実態調査 (分析法開発調査：大気中の 4-ビニル-1-シクロヘキセン) 研究担当者：立野英嗣 研究期間：平成 21～22 年度 </p>	<p> 【目的】 分析法開発調査は、化学物質環境実態調査対象候補物質について、物理化学的性状を把握するとともに、化学物質環境実態調査において得られる環境試料から環境省が示す要求感度を満足した上で分析を行う方法の開発を目的とする。平成 21 年度は、大気中の 4-ビニル-1-シクロヘキセンについて検討を行っている。 【方法】 活性炭捕集剤又はポリマー系捕集剤を用いて大気試料を捕集する。試料採取後の捕集剤からジクロロメタンを用いて抽出を行い、内標準物質としてトルエン-d8 を加え、GC/MS-SIM 法で定量する。 GC/MS の条件 使用機器：HP5973N 使用カラム：GL AQUATIC (0.25mm×60m×1.0μm) カラム温度：40 (2min) 10 /min 180 注入口温度：200 インターフェース温度：200 注入方法：スプリットレス </p>

	<p>モニターイオン 4-ビニル-1-シクロヘキセン：79（定量用），80（確認用） トルエン-d8：98，100</p> <p>【結果及び考察】 環境省が示す要求感度は100$\mu\text{g}/\text{m}^3$であるが、当所で検討した方法による検出感度は0.0022$\mu\text{g}/\text{m}^3$であった。また、当所で試験的に採取した大気中の4-ビニル-1-シクロヘキセンは不検出であった。 今後、より最適な分析条件について検討するとともに、試料採取量、採取試料中に共存する水分除去方法等について検討を進め、平成22年度内の分析法確立を目指す。</p>
<p>臭素系ダイオキシソ類に関する調査研究 -札幌市における臭素系ダイオキシソ類のモニタリング調査-</p> <p>研究担当者： 吉田 勤、鈴木恵子</p> <p>研究期間：平成21～22年度</p>	<p>【目的】 臭素系難燃剤は、化学反応によりダイオキシソ類と同等の毒性を有し、かつ、天然には存在しない臭素系ダイオキシソ類に変化する場合があると考えられており、臭素系難燃剤の使用・排出等に関する法的規制がないことから、環境中への放出が問題視されている。 そこで、本市の大気中の臭素系ダイオキシソ類について、モニタリング調査を行うことにより、これらの排出実態・環境実態を明らかにする。</p> <p>【方法】 適切なカラムの組み合わせの選択、それぞれのカラムにおけるガスクロマトグラフでの昇温条件の決定、質量分析計での適切な測定条件及びモニターイオンの決定を行い、分析条件の確立を行う。</p> <p>【結果及び考察】 カラムの組み合わせとして、DB-5ms及びDB-17HTが適当であった。また、それぞれのカラムでの測定条件を決定し、検量線の作成を行った。</p>
<p>分煙に関する調査研究 -市有施設における分煙状況の実態調査-</p> <p>研究担当者：三上 篤</p> <p>研究期間：平成21～23年度</p>	<p>【目的】 分煙を推進している本市の公共施設を対象として、健康増進法第25条に規定する受動喫煙防止対策の有効性について、科学的に評価を行い、より効果的な分煙環境に改善していく。</p> <p>【方法】 新たな職場における喫煙対策のためのガイドライン（平成15年改正）に示された新しい分煙効果判定の基準に基づき、喫煙所、非喫煙所及びそれらの境界における浮遊粉じん・一酸化炭素濃度の測定、境界における風向・風速の測定を行う。 また、ガス状成分としてニコチン及び3-ビニルピリジン濃度の測定を行い、空気清浄機を使用している場合の環境評価等を行う。</p> <p>【結果及び考察】 主に調査対象施設における喫煙所の設備状況を把握するための事前立入調査を市役所本庁舎及び水道局庁舎で行った。 その結果、本庁舎では、設備状況が複数ある喫煙所ごとに異なっていたことから、他の庁舎においても、設備状況によって分煙効果はかなり異なることが予想された。</p>
<p>有機フッ素化合物の環境汚染実態と排出源について（C型共同研究） -札幌市における大気中の有機フッ素化合物のモニタリング調査-</p> <p>研究担当者：吉田 勤</p>	<p>【目的】 ストックホルム条約にて、排出が制限されることとなったペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）及びその類似化合物であるペルフルオロオクタン酸（PFOA）について、環境動態等の状況を明らかにするため、本物質に関連したC型共同研究に参加している。今年度は、大気中の有機フッ素化合物の分析方法を確立し、札幌圏におけるモニタリング調査実施体制を整える。</p> <p>【方法】</p>

研究期間：平成 21～22 年度

ハイボリュームエアサンプラーを用いて、石英ろ紙に大気中の粉塵を捕集し、10vol%メタノール水溶液で超音波抽出した後、固相カートリッジで濃縮する。さらに、0.1%アンモニア含有メタノールで抽出後、内部標準物質として ^{13}C ラベル体を加え、LC/MS/MS-SRM 法で定量する。

LC/MS/MS の条件

使用機器：Waters Alliance 2695(LC)、Waters Quattro micro API (MS)

使用カラム：Atlantis T3 (2.1mm i.d. × 150mm, 3 μm)

カラム温度：30

注入量：5 μL

移動相：10mM 酢酸アンモニウム水溶液 (A)、アセトニトリル (B)

グラジエント条件

time	A(%)	B(%)
0min	70	30
4min	70	30
20min	25	75
25min	25	75
26min	10	90
35min	10	90
36min	70	30
40min	70	30

流量：0.2mL/min

ガス温度：350

ガス流量：10L/min

ネブライザ：35psi

イオン化法：ESI (-) -SRM (MRM)

ESI キャピラリー電圧：4kV

モニターイオン

ペルフルオロブタン酸：213 169

ペルフルオロペンタン酸：263 219

ペルフルオロヘキサン酸：313 269

ペルフルオロヘプタン酸：363 319

ペルフルオロオクタン酸：413 369

ペルフルオロノナン酸：463 419

ペルフルオロデカン酸：513 469

ペルフルオロウンデカン酸：563 519

ペルフルオロドデカン酸：619 569

ペルフルオロトリデカン酸：663 619

ペルフルオロテトラデカン酸：713 669

^{13}C ペルフルオロブタン酸：172 172

^{13}C ペルフルオロヘキサン酸：315 270

^{13}C ペルフルオロオクタン酸：417 372

^{13}C ペルフルオロノナン酸：468 423

^{13}C ペルフルオロデカン酸：515 470

^{13}C ペルフルオロウンデカン酸：565 520

^{13}C ペルフルオロドデカン酸：615 570

ペルフルオロブタンスルホン酸：299 80

ペルフルオロヘキサンスルホン酸：399 80

ペルフルオロヘプタンスルホン酸：449 80

ペルフルオロオクタンスルホン酸：499 80

ペルフルオロデカンスルホン酸：599 80

^{13}C ペルフルオロヘキサンスルホン酸：403 84

^{13}C ペルフルオロオクタンスルホン酸：503 80

【結果及び考察】

試料の抽出方法について、高速溶媒抽出装置（ASE）と超音波抽出法を比較したところ、ASE では装置由来と思われるブランク値が高く、超音波抽出法の方が優れていると思われた。また、ハイボリュームエアサンプラーのろ紙ホルダーは、ブランク値が高いといわれていたが、ろ紙ホルダーのテフロンシートが接触する部分を除去することにより、この影響を除外することができた。

ただし、この方法による試料捕集では、目的物質の捕集がまだ不完全であるため、他の共同研究機関の動向を見ながら分析法の改良にあたりたい。

水質環境係

調査研究名	研究の概要
<p>平成 21 年度環境省化学物質環境実態調査受託調査 分析法開発（17 -ヒドロキシエストラ 4,9,11 -トリオン 3 -オン別名 -トレンボロン）</p> <p>研究担当者:折原智明</p> <p>研究期間:平成 20～22 年度</p>	<p>【目的】 LC/MS により水質試料中の -トレンボロンの分析法開発を行う。 要求感度は 0.00005 µg/L である。</p> <p>【方法】 水質試料を固相抽出し、メタノールで溶出して LC/MS/MS-SRM で測定する。 -トレンボロンと異性体である -トレンボロンの同時定量を行う。</p> <p>【結果及び考察】 試料の保存性、検出の高感度化、クリーンアップについて検討を行った。保存性は遮光低温で保存することで、また HPLC 移動相をアセトニトリルからメタノールに変更することで約 10 倍の高感度化を達成した。しかし夾雑物による影響で河川水添加試料では満足できる結果は得られなかった。 平成 22 年度は、MS/MS 条件の再検討等を実施する予定である。</p>
<p>環境水及び底質中の農薬等の系統分析法の検討について</p> <p>研究担当者:阿部敦子</p> <p>研究期間:平成 20～23 年度</p>	<p>【目的】 環境水、底質等の環境試料における農薬多成分一斉分析方法の確立</p> <p>【方法】 昨年度と同じ条件で、ゴルフ場排水監視と事業場排水監視全項目検査の検体を用いて添加回収試験う。LC/MS/MS 系に 8 - ヒドロキシキノリンと 2 - アミノベンゾイミダゾールを追加し検討した。</p> <p>【結果及び考察】 LC/MS/MS 系 21 項目については、ODS であまり保持しないもの（ヒメキサゾール、8 - ヒドロキシキノリン、2 - アミノベンゾイミダゾール）が回収されなかったため、その他の水溶性の農薬（アセフェート、メタミドホスなど）とともに他の LC 条件を検討する必要があると思われる。</p>
<p>ジイソプロピルナフタレン等の札幌市内の水質、底質及び紙製品などからの検出状況調査</p> <p>研究担当者:阿部敦子</p> <p>研究期間:平成 21 年度</p>	<p>【目的】 ジイソプロピルナフタレン、1,4-ジメチル-2-(1-フェニルエチル)ベンゼンは、PCB の代替物としてインク、カーボン紙、コンデンサー用絶縁体、プラスチック原料などに広く使用されており、当所ではそれぞれ 21 年度と 20 年度のエコ調査で環境試料から検出したため、汚染原因を推定するための環境調査と紙製品などの検査を行った。</p> <p>【方法】 環境調査:豊平川下流、新川下流及びモエレ沼とその周辺の河川の水質と底質は「化学物質環境実態調査実施の手引き」により試料を採取し、試料溶液調製と測定は、イソプロピルナフタレンの試験法（兵庫県立健康環境科学研究所）によった。 紙製品は、再生紙ティッシュ、トイレtpーパーと新聞紙、牛乳パックなどを底質のイソプロピルナフタレンの試験法により定量した。</p> <p>【結果及び考察】 水質は、どの採水地点においても両物質とも数 ng/L 程度検出した。 底質は、豊平川下流は両物質とも数 ng/g-dry、新川下流はその 10 倍程度検出し、モエレ沼はその中間であった。 紙製品は、両物質とも数 ng/g から数百 ng/g と製品間のばらつきが大きかったが、牛乳パックよりは新聞紙などの印刷物が高く、パルプ 100%の製品よりは再生紙原料の製品のほうが高かった。 底質の汚染原因のひとつは、トイレtpーパーなどに残っていた両物質が下水処理過程で分解されずに蓄積したものと推定される。</p>
<p>2009 年豊平川底質中の金属類実態調査について</p> <p>研究担当者:藤沼政憲</p>	<p>【目的】 札幌市内を流れる豊平川は、上流域に定山溪温泉街を有しており、河川水のヒ素・ホウ素が高い傾向となっている。 このため、その影響を河川底質の側面から調査し、豊平川上流～下流域における河川底質への影響を把握するため、実態調査を行った。</p>

<p>研究期間:平成 21 年度</p>	<p>【方法】 豊平川上流～下流域の9地点およびBLとして支流の真駒内川1地点の底質を採泥し、金属類の全含有量の測定を行った。</p> <p>【結果及び考察】 定山溪温泉街直下流の玉川橋では、底質のヒ素が高い結果(216mg/kg-dry)であったが、それ以降の下流では、BLとして行った真駒内川の底質の含有量(22.6mg/kg-dry)と同水準の値(18.4～30.1mg/kg-dry)であった。 ホウ素については、上流～下流域で同程度の値(15.2～27.8mg/kg-dry)であり、底質中に堆積する特性はないと思われた。 今回調査した9地点のうち2地点は、1981年に底質調査を行っており、測定した項目(Cd・Pb・Cu・Zn・Fe・Mn・As)では、Znが高くなっている結果であったが、他の元素については、ほぼ同程度の値であった。</p>
<p>河川環境等における医薬品・PPCPs(パーソナルケア用品)について</p> <p>研究担当者:中島純夫</p> <p>研究期間:平成 21 年度</p>	<p>【目的】 H20年度に河川における医薬品検出実態がおおまかに把握でき、下水処理場放流水の影響が大きいことが判明した。しかし、分流式下水道地区である西野浄水場取水口で抗てんかん薬のカルバマゼピンが検出され、その原因が汚水管が雨水管に誤って接続されていることが考えられた。そこで、カルバマゼピン等医薬品が従来から用いられているコプロスタノール等と同様に汚水混入指標として有効であるかを検討する。</p> <p>【方法】 LC/MS/MSによる医薬品類の測定法を検討し、雨水吐口採水試料中の医薬品を測定した。従来からの糞便汚染指標である糞便性大腸菌及びコプロスタノールも同時に測定した。</p> <p>【結果及び考察】 吐口試料のなかには、カルバマゼピン等の医薬品類やコプロスタノールが検出されるものがあり、医薬品測定が汚水や生活排水混入指標として有効と考えられた。また、医薬品の雨水管への混入原因は、誤接続の可能性もあるが、下水管の構造から判断し、汚水管と雨水管が並行して埋設されている地区では、降雨や地下水位の上昇により汚水が雨水に混入した可能性が高いと考えられた。 なお、この結果は、本年報に「医薬品類を指標とした水質評価について」として報告した。</p>

