

免疫影響調査マニュアル

<3 歳児>

平成 14 年度厚生科学研究費補助金

食品・化学物質安全総合研究事業

「生活環境汚染物質による小児での毒性評価のための
免疫指標の開発に関する研究」

1. 調査チーム組織図

採血等の実施に当たっては、事故発生を防止し、円滑に作業が行えるよう、次のように調査チームを組織する。

総括責任者（研究代表者）	吉田貴彦（旭川医大）
現場責任者（研究代表者または分担者）	
説明係	
採血受付係	
採血責任者（医師）	
採血係	
血液処理係	
介助係	

2. 作業内容等（全体）

1) 説明者

保健所の3歳児健診総合受付後の、全体説明時に口頭での説明
現場責任者が実施

2) 採血現場受付係

- (1) 受付に来た順に、通し番号を記入し（同意書、アンケート）、協力者台帳（協力者名簿）に記入する。その現場で協力を申し出た者には、協力同意書とアンケート用紙を渡して、記入してもらう。
- (2) 質問があれば対応する。
- (3) 協力同意書（押印のない場合はサインで可）の確認、結果通知用の住所の確認。
- (4) 受付番号カード作成（付箋に鉛筆で名前をひらがなで記入）。
- (5) 同意書・アンケート一式と受付番号カードを渡し、採血検査へ誘導（口頭）。

3) 採血係 別に採血マニュアルあり

- (1) 同意書・アンケート一式、受付番号カードを受け取り、受付番号を確認。
同意書・アンケート一式を、介助係に渡す。
- (2) 採血の可否について確認。
一度の穿刺で採血できない場合には中止すること。
その際に、検査が行えないことを了解してもらう。
- (3) 保護者に協力して子供を保持する。
- (4) 腕より注射筒にて手引きで採血する。
- (5) 採血中に異常があれば、採血責任者の医師に連絡。
- (6) 採血した注射筒を、番号カードに乗せて、血液処理係に渡す。
採血不能時には、番号カードを介助係に渡すとともに採血不能と通知。
- (7) 止血のための指示をし、止血用バンドエイドを渡す。
採血不可、もしくは採血量が少ない場合、測定できる項目が限られる、または採血による結果が全て測定できない（採血不可の場合）ことを説明する。

(8) 介助係へ誘導（口頭）。

4) 血液処理係

- (1) 受付番号カードと注射筒を受け取り、試験管の番号を確認する。
- (2) 血液処理マニュアルに従い、血液を分注する。
- (3) 受付番号と分注試験管の番号を確認する。

5) 介助係

- (1) 受付係から同意書・アンケート一式を受け取る。
- (2) 子供の採血中にアンケートの記入内容を確認する。
- (3) 子供におもちゃ等を渡し、気を落ち着かせる。
- (4) アンケート未記入などあれば、保護者に記入してもらう。
質問があれば答え、想定にない質問であれば現場責任者に連絡。
- (5) 採血量が少ない場合には、測定できない項目があることを説明。
最終的な報告が3、4ヶ月ほどかかることを説明。
採血不能者の場合でも、同意書一式は返却しない。測定が出来ないことを話し、お詫びするとともに理解を求める。
- (6) 最後に止血を確認し、出口へ誘導。
- (7) 同意書・アンケート一式を、別個にファイルする。

6) 採血責任者

- (1) 採血時に異常が生じたときに対応

7) 現場責任者

- (1) 想定外の質問に対応。
- (2) その他全般的に不測の事態が生じたときに対応する。

3. 過誤の発生防止

調査時に起こりうる過誤として、協力者の受付番号と採血試料、アンケートの番号の不一致があげられる。

これを防ぐため、協力者（子供）の保護者に番号と氏名が入っている同意書一式と受付番号カードを渡し、調査終了時まで持っていてもらい、各段階で受付番号との照合を行う。

具体的には

- (1) 採血現場受付にて、同意書、アンケート用紙に受付番号を記入する。
- (2) 同じ番号の受付番号カード（子供の名前を「ひらがな」で書いた付箋を貼る）を保護者に渡す。子供をあやす際に名を呼ぶために。
- (3) 採血係は、受付番号カードと名前を確認し、採血する。
- (4) 血液処理係は、受付番号カードを試料用試験管の番号の一致を確認する。カードはその場で回収。

4. 人員配置（例）

- 1) 現場責任者
- 2) 採血責任者（医師）
- 3) 説明係
- 4) 採血協力受付係
- 5) 採血係（看護師）
- 6) 血液処理係
- 7) 介助係

採血マニュアル

採血手順

採血（採血の作業は、医師の立ち会いのもとに行う）

- 1) 採血の適否について、看護師1が尋ねる。
 - ・ 1度の穿刺によって採血できない場合は、そこで採血を中止すること。
 - ・ 採血できない場合には、検査が出来ないこと。
 - ・ 採血量が不足の場合には、測定できない項目があること。以上をあらかじめ説明する。
- 2) 子供を保護者に後ろから抱いてもらい足を足ではさみ、看護師1が保持する。
- 3) 子供の腕に駆血帯をつけ、看護師2が採血する。
- 4) 採血は5ml注射筒を使用し、採血針は22G静脈針を用いる。（翼状針は使用しない）
- 5) アルコール綿を看護師1が子供の採血部位に当て、保護者に押さえてもらう。
- 6) 採血した注射筒を、番号カードに乗せて血液分離者に渡す。
- 7) 止血を確認後、止血用バンドエイドを渡し、採血部位に貼ってもらう。

（注）3.5mlの採血が困難な場合は、3.0mlでも可。（採血困難な場合は採血せず）

採血が容易な場合には、4.0mlあるとロスが少なくて良い。

介助者が場合により手助けをする。

* 注意事項

採血時に気分が悪くなった場合（子供または母親）に、休む場所が必要。

採血量が少ない（または採血不可）場合には、検査項目に制限があることを説明。

要準備品目リスト

- 同意書・アンケート調査票（予備）
- 説明文書様式 4（当日現場用）
- マニュアル（現場説明用）
- 協力者名簿
- 駆血帯（2 セット）
- 注射筒（5ml）、シリンジ（22G）
- 注射器トレイ（2 セット）
- アルコール綿（2 セット）
- 止血用バンドエイド
- 真空採血管
- ISOGEN 入り試験管またはキアゲン溶液入り試験管
- 金属測定用試験管（真空採血管）
- 検体チューブ・管 立て
- 白衣
- ゴム手袋
- バスタオル、タオル（腕枕として使用）
- ボルテックス
- 試験管等搬送容器
- コールドパック（凍結）
- 使用済み針、注射筒入れ（廃棄物入れ）
- 受付テーブル
- アンケート記入台
- 筆記具（鉛筆）
- 番号カード（60 番まで記入）、無記入も 10 枚程度
- おもちゃ（協力お礼用）
- 同意書ファイル
- アンケートファイル
- ティッシュペーパー
- 名札入れホルダー
- ポスター（案内）
- ホッチキスリムーバー
- ホッチキス

血液処理マニュアル（採血現場にて）

血液の分注

血液分注の優先順位

血液量が 3.5ml を余裕で上回る場合

- ① 金属測定用チューブに 0.5ml
- ② 血清分離用真空チューブに 残り全て
- ③ ②から mRNA 用チューブに 0.5ml を正確に移す

それ以外の場合すべて

- ① 血清分離用真空チューブに 2.5ml 目盛りまで
- ② 金属測定用チューブに 残り全て
- ③ ②から mRNA 用チューブに 0.5ml を正確に移す

血清分離用真空チューブに圧調整用針を刺す。

採血した注射筒の針を刺す。

対照用(2.5ml)チューブを目安に、2.5ml まで血液を注入。

注射筒、圧調整用針を抜く。

静置する。

- 1) mRNA 測定用
- 2) 金属測定用
- 3) 血清分離用

コールドバック入り運搬容器内の試験管立てに入れて保管。

運搬。

出産されるお子さまの免疫影響調査へのご協力をお願い

最近、私たちの身の回りの生活環境中の化学物質による健康影響の問題が多く取り上げられるようになりました。環境汚染化学物質による健康障害は診断や治療が難しいことから、その有害な健康影響が明らかになる前に、免疫影響等の鋭敏な生体指標によって有害影響を早く察知し、生活環境中の有害要因（リスク要因）をあらかじめ取り除く事が大切と考えられています。このため厚生労働省では生活安全総合研究事業として、免疫影響を調べることによって生活環境の健康リスクを評価するための研究班を設け、検討を行っております。

東京都が行った最近の3歳児アンケート調査では約4割のお子さんが何らかのアレルギー疾患にかかっていることが報告されています。そこで研究班では昨年度から、大人に比べて地域の生活環境の影響を受けやすいと考えられる幼児（3歳児）を対象として、アレルギーや感染に関する免疫機能を調査し、異なる地域の環境要因がどのように幼児の免疫機能に影響を及ぼしているかを調査しています。さらに今年度から小児期前の母胎内において胎児が環境から受ける影響についても調査することとなりました。

今回の調査では、出産時に臍帯血と臍帯の一部を提供していただきます。臍帯血についてアレルギーに関連する抗体等の免疫機能の検査を行い、また環境中の物質の影響を見るために臍帯中の物質量の測定を行います。つきましては、皆様には、臍帯血（約5~10ml）および臍帯（約10cm）の提供とアンケート調査（妊娠中のアレルギー症状の有無と生活環境について）にご協力いただきたく、お願い申し上げる次第です。

免疫機能検査では、アレルギー感受性の指標として総IgEならびに免疫応答の産生調節因子（サイトカイン）のバランス等の測定を予定しています。なお、ご提供いただいた臍帯血や臍帯を、これらの検査以外の目的に使用することは一切ありません。これらの検査の結果は、地域ごとのデータとして統計的に処理されますので、特定の個人の方のデータが公表されることは一切なく、ご協力いただいた皆様へご迷惑をおかけすることはありません。

なお、このような研究にご協力いただく場合には、研究に関する説明と、協力者の同意「インフォームド・コンセント」が必要とされています。この説明書の内容をご理解された上で、研究協力を同意していただける場合には、「免疫機能調査への協力同意文書」にご署名下さり、入院される時またはそれ以前に主治医にお渡し下さい。アンケートは出産後にご提出下さい。次世代の子供たちの健康リスクを少しでも減らすことを目的とするこの調査に、どうぞよろしくご協力下さいますようお願い申し上げます。

本研究に関する説明



1. 研究テーマ

「生活環境汚染物質による小児での毒性評価のための免疫指標の開発に関する研究」

2. 研究組織

	研究機関名	研究者名	職名
研究代表者	旭川医科大学医学部	吉田貴彦	教授
分担研究者	帝京大学薬学部 (財)食品薬品安全センター 国立医薬品食品衛生研究所	大沢基保 小島幸一 手島玲子	教授 部長 室長
研究協力者	旭川医科大学医学部	石川睦男	教授

3. 研究目的

この研究の目的は、免疫機能についての指標を用いて生活環境による（アレルギーや感染への感受性増加）を集団レベルで解析し、健康に対して有害な影響を及ぼす生活環境因子を早期に検出し、健康障害の防止と環境改善の対策に結びつけようとする事です。免疫影響を調べるために、血液の中のアレルギー抗体、免疫応答の産生を調節しているサイトカインのバランスを測定し、母体を介して異なる生活環境で過ごした胎児について免疫影響の程度を調べるものです。

4. 免疫影響の解析に必要なもの

今回の調査に必要とするものは、臍帯血約 5~10ml、臍帯約 10cm と妊娠中の生活環境等に関するアンケートです。この臍帯血については、アレルギー抗体（総 IgE 等）とサイトカイン・バランス等を測定します。また臍帯は、環境中の物質等の影響を評価するためのものです。アンケートは生活環境の把握に用います。また、基本的事項としまして、お子さまの性別、出産時週令、体重、身長についてもお教え願います。

5. 健康に関して

臍帯血および臍帯をいただくのは、お子さまのご出産の後ですから、お子様やお母様には全く影響はありませんので、ご心配はありません。

6. 個人情報の保護について

同意書の性格上の理由からご署名とご住所の記載が必要ですが、臍帯および臍帯血の提供者の情報（住所、氏名などの個人情報）は、分析する前に試料の整理簿から削除し、代わりに新しく符号を付けて取り扱いますので、個人が特定されることはなく、その情報は一切公表されません。また、試料等の提供は任意ですので、協力への同意はいつでも撤回できます。ただし、調査研究の結果が既に公表されている場合は、研究結果の廃棄ができないことがありますので、ご了承下さい。試料に余りがある場合は、再検査の必要に備えて保存されますが、研究終了 2 年経過後までには、当研究に直接関わらない第三者の立ち会いのもとにすべて廃棄されます。なお、今回の研究においては、DNA の抽出や検査は一切行いません。

7. 解析結果の公表

本研究で得られた結果は集団データとしてのみ解析され、厚生労働省に結果報告書として提出され公表されます。また、学会発表あるいは論文として公表される場合もあります。

本研究によって解明された成果が社会に還元されることにより、お子さん並びにあなたは研究に協力された一員として、次世代の人々のために生活環境の改善に向けて貢献されることとなります。

8. 協力事項に関する問い合わせ先

旭川医科大学医学部衛生学講座 吉田 貴彦
連絡先 TEL/FAX 0166-68-2402/2409

免疫影響調査協力同意書

平成 14 年度厚生科学研究費補助金食品・化学物質安全総合研究事業

「生活環境汚染物質による小児での毒性評価のための免疫指標の開発に関する研究」

研究代表者 吉田貴彦（旭川医科大学医学部衛生学講座教授）

私は、平成 14 年度厚生科学研究費補助金食品・化学物質安全総合研究事業に関する調査研究班が実施する免疫影響調査の趣旨について理解し、この調査に協力するため臍帯血及び臍帯を提供するとともに、関連のアンケート調査に協力いたします。

平成 年 月 日

住 所： 〒 _____

氏 名： _____ 印

印鑑がない場合はサインで結構です

この用紙はご出産前にご提出下さい

同意書をいただいた方のみに調査をさせていただきます

23. 寝室についてお答え下さい

1. ふとん	2. ベッド	
床の材質はなにですか		
1. じゅうたん	2. たたみ	3. 板張り(フローリング)
4. ビニール床材	5. タイル	6. その他

24. 自宅でペットを飼っていて、接したことがありますか

1. はい	2. いいえ	3. わからない
↓ どんな動物をいつの時期ですか。<例：1年前から現在>		
種類	いつ	

25. 同居している方(あなたを除く)の中で、たばこを吸う人がいますか(あなたの前で吸わない場合は「いいえ」に○をして下さい)

1. はい (何人ですか 人)	2. いいえ
-----------------	--------

ご協力ありがとうございました

以下は、1ヶ月以上前に里帰りされた方にのみお尋ねします。

あてはまらない方は、記入されなくて結構です。

C. 里帰りされているお宅についてお尋ねします

26. 1ヶ月以上前に里帰りされましたか

1. はい	2. いいえ	3. わからない
↓ どの位前に里帰りしましたか _____ 週間前		
里帰り先住所	市・町	(地区・町名)

27. お宅の近所(100m以内位)に交通量の多い道路がありますか

1. はい	2. いいえ	3. わからない
↓ その名前は<記入例：国道XX号線、バイパスなど>		

28. お宅の近所(100m以内位)に大きな工場や焼却場がありますか

1. はい	2. いいえ	3. わからない
↓ その種類は <記入例：焼却場、火力発電所、など>		

29. 住居についてお答え下さい

1. 木造	2. 鉄筋コンクリート	3. わからない
-------	-------------	----------

30. 暖房についてお答え下さい

夏の出産など、使用しない場合には
9. 使わない に ○ を付けて下さい

使っているものに○をつけてください(複数回答可)								
1. I/P(冷暖房)	2. 排気が室外に出るストーブ	3. 排気が室外に出ないストーブ	4. 薪かピット	5. 石油ヒーター	6. こたつ	7. セトラヒーター	8. その他	9. 使わない

31. お宅の居間などの主な床材についてお答え下さい

あるものに○をつけてください(複数回答可)					
1. じゅうたん	2. たたみ	3. 板張り(フローリング)	4. ビニール床材	5. タイル	6. その他

32. 寝室についてお答え下さい

1. ふとん	2. ベッド	
床の材質はなにですか		
1. じゅうたん	2. たたみ	3. 板張り(フローリング)
4. ビニール床材	5. タイル	6. その他

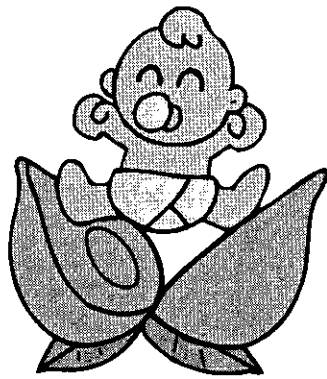
33. お家でペットを飼っていて、接したことがありますか

1. はい	2. いいえ	3. わからない
↓ どんな動物ですか。		
種類		

34. お家で同居している方(あなたを除く)の中で、たばこを吸う人がいますか(あなたの前で吸わない場合は「いいえ」に○をして下さい)

1. はい (何人ですか 人)	2. いいえ
-----------------	--------

ご協力ありがとうございました



免疫影響調査マニュアル

<臍帯血>

平成 14 年度厚生科学研究費補助金

食品・化学物質安全総合研究事業

「生活環境汚染物質による小児での毒性評価のための
免疫指標の開発に関する研究」

1. 趣意書等の配布と回収

1) 主治医より、外来にて

趣意書、同意書、アンケートの一式（封筒入り）を配布してもらう。

配布対象者は、正常妊娠（妊娠中毒症、基礎疾患を有する妊娠、子癇、切迫流産、妊娠中に先天異常を起こす可能性のある感染症・薬剤使用の既往、等を除く、帝王切開出産は除かない）で出産の間近な方。選択は主治医に一任する。

2) 入院前に、外来にて同意書およびアンケートを回収してもらう。同意書の提出があった者だけが調査対象者となる。アンケート中、出産児に関してのデータ（出産時体重、性別、出産時週令、etc）は、出産後に本人の了承のもと主治医が記入しても差し支えないこととする。

2. 出産時のサンプリング

1) 出産後に、臍帯血の採取。

10ml シリンジ 18G にて採血、以下の3種類計4本のチューブに分注してもらう。

- ・血漿分離用真空チューブ（3ml）に分注する。 3ml
- ・キアゲン mRNA 抽出様真空チューブ（2.5ml）2本に分注する。 各 2.5ml
- ・血清分離用真空チューブ（金属測定用）3ml（少なくとも可）。

2) 臍帯の採取

数 cm 程、50ml 遠心管に入れる。

チューブ類にイニシャルなり番号の記載を忘れずに記入する。

以上の操作は無菌でなくとも良い。母体血の混入は避ける。

以上の検体を、分娩室またはナースステーションの冷蔵庫に保管する。

当日、夕刻に 検体を得られたことを衛生学講座に電話連絡してもらい、連絡を受けて、衛生学講座スタッフが、サンプルと同意書・アンケート一式を回収する。その際お礼品（タオル）を持参し、協力者に渡すように主治医に依頼する。