

念されているビスフェノール A(BPA)と構造が類似しており、その BPA には脂肪細胞で中性脂肪の蓄積を促進する作用が報告されていることから、TBBPA についても類似の生体影響が懸念されている。そこで本研究では、BFRs として広く使用されている PBDEs、ヘキサブロモベンゼン (HBB) および TBBPA に着目し、脂肪細胞への影響を検討した。

一方、医薬品や食品など、規格基準のある製品に対しては、分析値の信頼性を確保するためにさまざまな適格性確認方法 (分析バリデーション) が構築され、これに基づいた多くの分析結果が発表されている。しかしそれぞれの分析操作過程においては、使用器具の公差や試験者の熟練度に起因する誤差を必ず含んでいる。このような誤差を含んだ分析結果は、時には製品の品質管理等に大きな影響を与える場合もあることから、確立された分析バリデーションが正しい分析結果を与えると保証するための、何らかの客観的データ検証法が必要とされる。そこで構築された分析バリデーションを保証するために、分析用器具の公差解析や試験者の熟練度における精度管理を行い、操作過程において生じる誤差の範囲を求め、分析結果がどの程度正しい範囲に入っているのか推定を行うことなど、測定データのばらつきに関する基礎的な精度管理問題について検討を行った。

B. 研究方法

検討課題(1) BFRs の 3T3-L1 培養脂肪細胞に及ぼす影響

マウス繊維芽細胞 (3T3-L1 細胞) を、化学物質を含む培地で 2 日間培養した後、インスリンと化学物質を含む培地で更に 5 日間培養し、脂肪合成活性の指標となる GPDH 活性の測定と、細胞内に蓄積された中性脂肪量の測定を行った。GPDH 活性の測定は GPDH 活性測定キットを用い、分光光度計 (340nm) で単位時間当たりの吸光度の減少を測定した。中性脂肪内に蓄積した脂肪はオ

イルレッド O 染色液で染色後、抽出液により色素を溶解し、分光光度計 (540nm) で測定を行った。以下に本実験方法の詳細を示す。

3T3-L1 細胞を、6 マルチウェルプレートに 5×10^4 cells / well で播種し、増殖培地中でコンフルエントになるまで培養した。次に、各 BFRs を含んだ分化誘導培地、あるいは BFRs を含まない分化誘導培地に切り替え、48 時間培養した。その後、各 BFRs を含んだ維持培地、あるいは BFRs を含まない維持培地に切り替え、5 日間培養した。培養 5 日目に培地を除去後、細胞を再浮遊させ、超音波破碎機で細胞破碎液を作成した。この細胞破碎液に DNA 定量キット付属の発色試薬を加え、DNA の定量を行った。また、細胞破碎液に反応基質液を加えて、GPDH 活性の測定を行った。

また、中性脂肪量の測定は、リピットアッセイキットを使用した。培養液を除去した後、脂肪細胞内に蓄積した脂肪を、オイルレッド O 染色液で染色後、抽出液 (イソプロピルアルコール) により色素を溶出させて、分光光度計 (540 nm) で測定した。

検討課題(2) 分析の不確かさの評価

本研究では、試料の希釈系列調製時に用いられるガラス器具の持つ不確かさと、試験者の熟練度に起因する不確かさを求め、一連の希釈操作で生じる合成標準不確かさを統計的に計算した。

【実験】20mL 容メスフラスコの標線まで精製水を満たし、精製水の重質量を測定した。得られた測定値の変動から試験者の熟練度による標準不確かさの検討を行った。またホールピペット及びメスピペットを使用した場合でそれぞれの実験器具の違いによる不確かさの検討を行った。

C. D. 研究結果及び考察

検討課題(1) BFRs の 3T3-L1 培養脂肪細胞に及ぼす影響

PBDEs および HBB は、化学物質を添加せずに培養したコントロールと同程度の

GPDH 活性、中性脂肪量を示し、ダイオキシンやビスフェノール A に見られるような脂肪細胞への影響は認められなかった。

他方、TBBPA は誘導促進剤を加えたものと同値の GPDH 活性を示したことから、脂肪細胞の分化に促進的に作用する可能性が示唆された。

GPDH は、脂肪細胞の脂肪合成活性の指標となる酵素で、脂肪合成に伴い GPDH 活性は上昇する。そこで、GPDH 活性を測定することにより、当該化学物質の脂肪細胞の分化に及ぼす影響を検討した。分化誘導剤を添加すると、分化が誘導され、前駆脂肪細胞が効率よく脂肪細胞へと分化する。よって分化誘導剤添加時の GPDH 活性は高値を示す。そこで、分化誘導剤を添加する代わりに、当該化学物質を添加し、分化誘導作用の有無を検討した。活性の判定は、分化誘導剤無添加で培養した際（陰性コントロール）や、分化誘導剤を添加して培養した際（陽性コントロール）の GPDH 活性値と比較することで行った。その結果、PBDEs (HpBDE #183、DeBDE #209) HBB および TBBPA は、ともに分化誘導剤添加時のような GPDH 活性は見られなかった。このことから HpBDE #183、DeBDE #209、HBB、TBBPA は、脂肪細胞の分化を誘導する作用を持たないことが示唆された。

しかし、分化誘導剤を添加後、インスリン存在下に TBBPA を添加、またはインスリン非存在下に TBBPA を添加した際の GPDH 活性を Fig.1 に示す。脂肪細胞に、インスリン存在下に TBBPA を添加すると、陽性コントロールよりも、高値の GPDH 活性を示し、インスリン非存在下に、TBBPA を添加した場合についても、GPDH 活性の上昇が認められた。

次にオイルレッド O による染色の結果を Fig.2 に示す。GPDH 活性測定結果と同様、インスリン存在下だけでなく非存在下に TBBPA を添加した際の吸光度も高値を示した。

これらの結果から、TBBPA がインスリンのように脂肪細胞内への脂肪蓄積を促進する作用を持つことが示唆された。

検討課題(2) 分析の不確かさの評価

試験者として大学部生（1年生、3年生）および大学4年生以上（大学院生及び教職員を含む）の以上34人において、20mL メスフラスコを使用して定容する際の熟練度を算出したところ、学部1年生と3年生では大きいばらつきが認められたが、4年生以上になると1年生、3年生に比べて約18~30%程度にばらつきが小さくなった (Fig.3)。このような傾向はホールピペットおよびメスピペットを用いた際のばらつきデータにおいても同様に認められた (Fig.4,5)。

また、検量線用の標準溶液を調製する際には、ガラス器具の公差及び熟練度がデータのばらつきに関与し、分析値の不確かさの要因となることがわかった。20倍希釈の操作をホールピペットおよびメスピペットを使用した際、RSD はそれぞれ0.63%、5.903%であり、メスピペットはホールピペットの約10倍の不確かさがあることがわかった。

これらの結果から、分析者は、分析値を提出するにあたり、その分析値が含んでいる不確かさを把握し、分析値の信頼性確保に努めなければならないと考える。

E. 結論

本年度は、次の2つの課題についての研究を行った。まず、PBDEs (HpBDE #183、DeBDE #209)、HBB および TBBPA の脂肪細胞の分化に及ぼす影響を検討した結果、いずれの化学物質も、細胞の分化自体を誘導する作用を有していないことが示唆された。しかし、分化誘導刺激を与えて脂肪細胞へと分化させた後、TBBPA を添加すると、インスリン非存在下においても GPDH 活性の上昇が認められた。このことから、TBBPA が脂肪細胞内への脂肪蓄積を促進する作用を有していることが示唆された。

また、測定器具由来のデータのばらつきな

ど基礎的な精度管理問題を考察するために、メスフラスコやピペットを用いた室内再現精度を測定した。その結果、使用する器具による測定値のばらつき及び個々の試験者の技量の差に起因する測定値のばらつきが観察された。本研究では、従来あまり省みられてこなかった測定器具由来のデータのばらつきなど基礎的な精度管理問題を考察することによって新たな知見が得られ、今後の精度管理に有益な情報を提供することができ、更に測定データの精度向上も期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Koichi Saito, Masahiko Ogawa, Mikiko Takekuma, Atsuko Ohmura, Migaku Kawaguchi, Rie Ito, Koichi Inoue, Yasuhiko Matsuki, Hiroyuki Nakazawa, Systematic analysis and the toxicity evaluation of dioxins and hexachlorobenzene in human milk, *Chemosphere*, 61, 1215-1220 (2005)

2. 学会発表

- 1) 福井美緒、大村厚子、竹熊美貴子、岩崎雄介、伊藤里恵、斉藤貢一、中澤裕之、テトラブロモビスフェノール A の 3T3-L1 培養脂肪細胞に及ぼす影響、日本薬学会第 125 年会、仙台。(2006)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
2. その他 なし

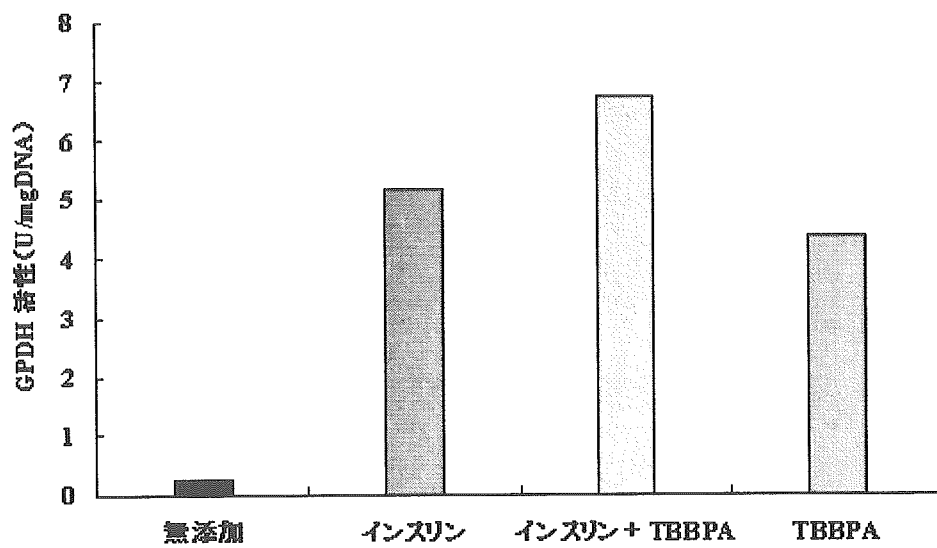


Fig. 1 TBBPA 添加時の GPDH 活性

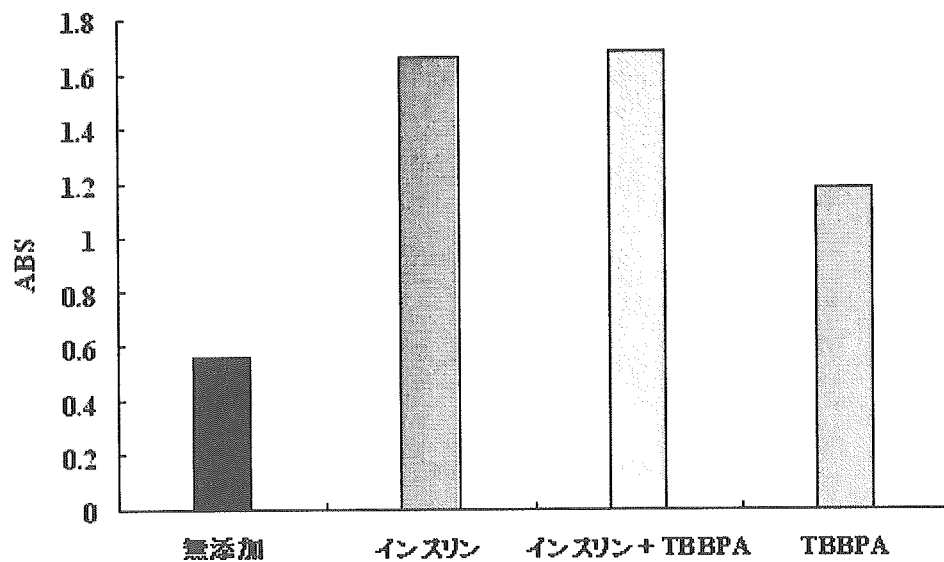


Fig. 2 TBBPA 添加時のオイルレッド染色結果

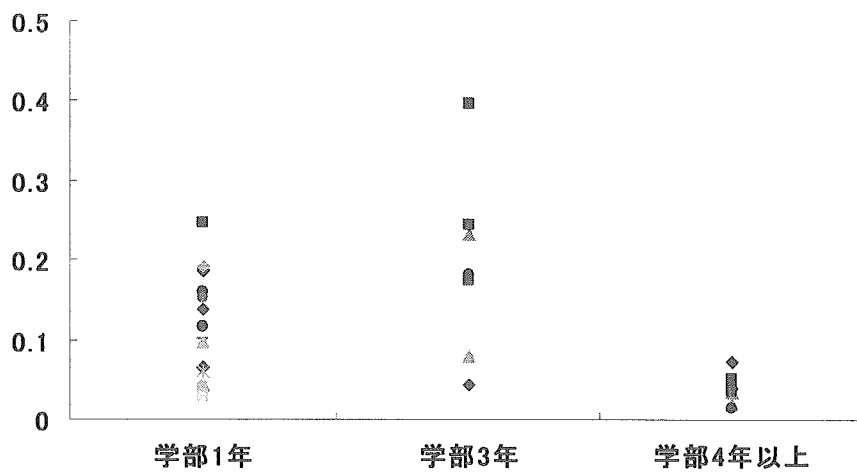


Fig. 3 20mL メスフラスコを用いた計量のばらつき

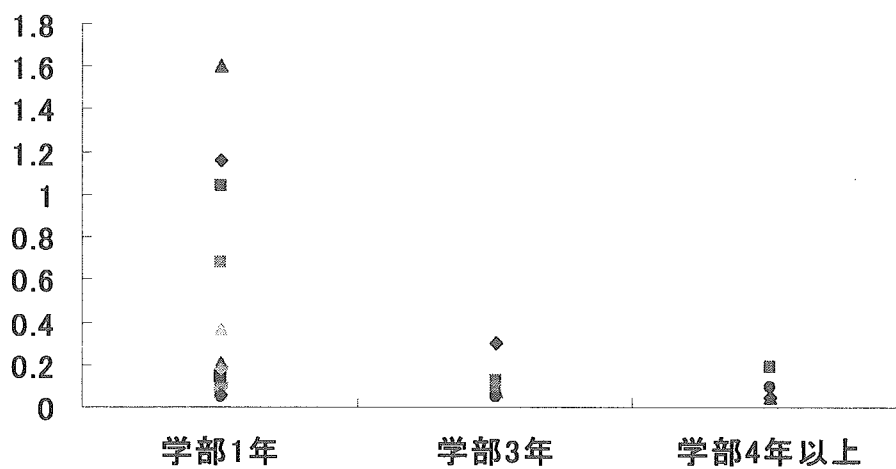


Fig. 4 10mL ホールピペットを用いた計量のばらつき

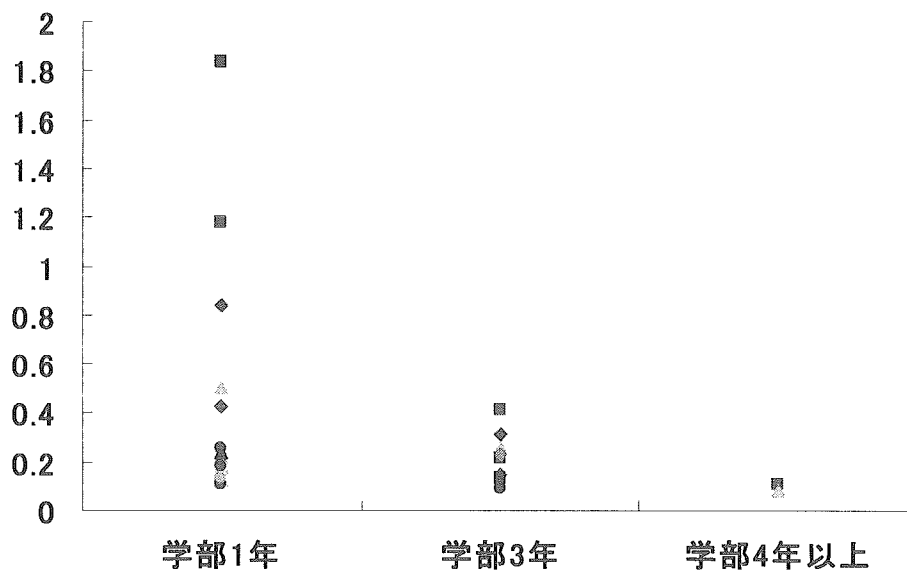


Fig. 5 10mL メスピペットを用いた計量のばらつき

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

「検査機関の信頼性確保に関する研究」

平成 17 年度

分担研究報告書

食品中ダイオキシン類検査の外部精度管理用適正調査試料
の作成および評価法の検討

分担研究者 米谷 民雄

検査機関の信頼性確保に関する研究

分担研究報告書

食品中ダイオキシン類検査の外部精度管理用適正調査試料の
作成および評価法の検討

分担研究者 米谷 民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長
協力研究者 松田 りえ子 国立医薬品食品衛生研究所 食品部室長

研究要旨

7カ所のダイオキシン類分析機関に試料を配布し、報告された分析結果を比較した。試料として、魚（ボラ）を凍結乾燥し均一に混合し粉末としたものを用いた。今回の試料に選んだボラ試料の TEQ は 5 pg/g 程度であり、試験室間の RSD% は 7% 程度であった。個々の異性体では濃度により、試験室間の RSD% がかなり大きいものもあり、外れ値の存在が考えられた。参加機関数が減少しているため、解析は外れ値の影響を受けやすくなっていると考えられるが、検定で除外するとデータ数が減少し、評価結果の信頼性が低下する。そこで、外れ値の影響の少ない頑健な解析法を適用し、通常の数値法で得られた結果との比較を行った。

A. 研究目的

近年、ダイオキシン類による健康への危害が、社会的に大きな問題となっている。ヒトへのダイオキシン類曝露の主要な経路は食品であると考えられており、ダイオキシン類曝露の影響を精密に評価するためには、多数の食品の分析値や、トータルダイエット試料を分析した結果から、食品に含まれるダイオキシン類の量の分布を知り、食品からのダイオキシン類摂取による健康リスクを評価しなければならない。

正しいリスク評価のためには、食品中のダイオキシン類を分析し、正確な分析値を得ることが重要である。しかし、前述のように食品からのダイオキシン類摂取量の総摂取量に対する割合は高いとはいえ、個々の食品におけるダイオキシン類の濃度は、たとえば飛灰のような環境試料と比較すると非常に低い。また、食品には多くの成分が含まれてお

り、このような複雑なマトリクスから極微量のダイオキシン類を抽出し、分析できる状態にまで精製するには、長時間にわたる煩雑な前処理が必要となる。このため、ダイオキシン類の分析値は、食品のマトリクスによる妨害に加えて、試験室の空気や試薬の汚染といった、分析環境からのコンタミネーションの影響を受ける可能性が高い。このように、食品中のダイオキシン類の分析結果には大きな誤差が伴う可能性があり、このような分析値に基づいたリスク評価は、誤った結論に陥る危険もある。

従って、食品からのダイオキシン類摂取量を求め、さらにその生体への影響を評価するためには、単に多数の食品中のダイオキシン類分析値を収集するだけでは、その結果の信頼性は低いものとなる。正しい評価のためには品質の保証された分析値に基づいた推定が不可欠である。

分析値の品質あるいは正当性を保証するために、分析の精度管理あるいは品質管理を取り入れなければならない。品質の保証された分析値を得るために、厚生省、環境庁等が作成したダイオキシン類分析に関連したガイドライン・マニュアル中には、分析法だけではなく、測定データの品質管理に関する項目が設定されている。品質管理項目としては、分析法のバリデーション、分析時の信頼性の確認、データの管理・評価、内部精度管理の実施に加えて、外部精度管理に参加することが規定されている。外部精度管理は技能試験ともいわれ、多数の試験機関が共通試料を分析した結果を相互比較する事によって、個々の分析機関の能力を客観的に評価する手法である。

本研究では、ダイオキシン類分析の技能試験方法を検討する目的で、7機関を対象として外部精度管理を実施した。試料として、ダイオキシン類の主要な摂取源である魚類（ボラ）の凍結乾燥粉末を使用した。また、小数の参加機関の結果の、正しい統計解析方法についても、考察した。

B. 研究方法

7カ所のダイオキシン類分析機関に試料を配布し、報告された分析結果の比較及び統計解析を実施した。

試料 ボラの筋肉部を均一に混合し粉末としたものを試料とした。

技能試験結果の評価

7参加機関からの報告値について、全ての異性体ごとに、平均値、標準偏差(SD)、相対標準偏差(RSD)を求めた。はずれ値を含む可能性もあるため、頑健な平均、標準偏差、相対標準偏差も求めた。頑健な統計量の算出には、ISO 5725 Part-5 の algorithm A を用いた。検出下限以下の分析値は除き、分析値が報告されたもののみについて、統計量を計算

した。

さらに、通常の統計量と頑健な統計量を用いた、2種類の z-スコアを計算し、比較を行った。

C. 研究結果

7参加機関全てから分析結果が報告された。

Table 1 に各試料の分析値、Table 2 に全ての分析結果の平均値、SD、RSD(%で表示)、頑健な平均値、頑健な SD、頑健な統計量から計算した RSD%を示す。報告値から計算した TEQ の統計量も示した。

Table 3 には通常の統計量から計算した z-スコア、Table 4 には頑健な統計量に基づいて計算した z-スコアを示した。

D. 考察

PCDD、PCDF では、RSD%が 10%程度から 100%以上の異性体があり、異性体間でばらつきが異なった。また、PCB についても、ほとんどが 10%程度あるいは以下の RSD%であったが、2', 3, 4, 4', 5-PeCB は 122%の RSD となった。TEQ の RSD%は 8%であった。

濃度の低い異性体が、必ずしも大きなばらつきを示すわけではなく、外れ値の存在が考えられた。ただし、参加機関数が少なく、Grubbs の検定等を用いて検定し、外れ値を除外して機関数を減らすことは適切ではないため、頑健な統計量の計算を行った。頑健な統計量は、外れ値を除外することなく、その影響を除いた平均値と標準偏差が求められる。Table 2 に示すように、頑健な統計量から計算すると、100%を超えるような大きな RSD%は無くなった。

Figure 1 及び 2 に、異性体毎の通常と頑健な平均値を示す。Figure 3 及び 4 には、異性体毎の通常と頑健な SD を示す。2つの方法で計算した平均値は、ほとんどの異性体で同程度の値であったが、OCDD

と 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF では、頑健な平均値が通常の平均値よりも小さい結果となった。

Figure 5 に各機関から報告された 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF の結果を示す。機関 3 が他の 10 倍以上の値を報告している。この値を含めて、通常の方法で平均値を求めると 0.24 pg/g となるが、頑健な平均値は 0.073 pg/g であり、外れ値と考えられる機関 3 の結果の影響が除かれている。

SD は平均値よりも、外れ値の影響を受けやすいために、Figure 3 及び 4 には、2 つの方法で求めた SD が一致していない異性体が多く見られる。Figure 6 には一例として、2, 3, 7, 8-TCDD の報告値を示す。機関 6 が他の機関の 2 倍程度の値を報告した結果、SD は 0.12 pg/g となり、RSD% は 40% 程度であった。頑健な SD ではこの影響が除かれ、SD は 0.036 pg/g、RSD% は 14% となった。

Figure 7 と 8 には、通常の統計量を用いて計算した z-スコアと、頑健な統計量を用いて計算した z-スコアを示す。通常の統計量を用いて計算した z-スコアには 3 を超える値は現れず、外部精度管理の評価では、全ての機関が問題ないと評価される。しかし、頑健な統計量により計算した z-スコアでは、いくつかの異性体で 3 を大きく超える z-スコアが現れ、問題のある数値が明らかとなった。

E. 結論

技能試験の結果から、TEQ が 5 pg/g 程度の魚試料において、TEQ の試験室間の変動は 7 % 程度であることが示され、我が国における食品中のダイオキシン類分析値の信頼性が保証された。異性体によっては、大きく外れた報告値があり、小数の機関から統計量を求める際に、大きな SD を与えた。その結果として、外れた値の z-スコアも 3 以下となった。頑健な統計量を用いることにより、外れた値には 3 を超える z-スコアが計算され

た。外部精度管理の目的は、他機関と比較して分析上の問題点を見だし、是正していくことである。この目的から、参加数機関数が少なく、外れ値の発生が予想されるような分析の外部精度管理においては、頑健な統計量による評価の方が望ましいと考えられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

Table 1 ボラ試料を用いたダイオキシン精度管理結果 (pg/g)

	分析値	1	2	3	4	5	6	7
P C D D s	2,3,7,8-TCDD	0.238	0.223	0.211	0.247	0.265	0.542	0.269
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.397	0.384	0.560	0.404	0.370	—	0.492
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.077	0.068	ND	0.068	—	—	0.086
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.181	0.161	0.209	0.191	0.202	—	0.180
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.044	0.048	ND	0.044	—	—	0.019
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.15	0.16	0.30	0.15	0.16	—	0.15
	OCDD	0.2	0.5	1.6	0.2	0.2	—	0.2
P C D F s	2,3,7,8-TCDF	1.75	1.78	2.12	1.88	1.99	1.78	1.77
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.23	0.23	0.19	0.23	0.17	—	0.28
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.88	0.81	0.98	0.96	1.05	1.15	1.61
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.06	0.06	0.95	0.07	—	—	0.07
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.32	0.12	0.13	0.06	—	—	0.09
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	N.D.	ND	ND	0	—	—	0.012
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.09	0.10	ND	0.10	—	—	0.08
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.03	0.07	0.13	0.06	—	0.07	0.42
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	N.D.	ND	ND	0.01	—	—	0.03
OCDF	N.D.	ND	ND	0.03	—	—	0.06	
ノ ン オ ル ト	3,3',4,4'-TCB	166.0	158.0	155.0	164.0	178.8	174.2	186.1
	3,4,4',5'-TCB	15.3	14.8	13.1	16.3	15.8	13.0	17.1
	3,3',4,4',5'-PeCB	23.7	24.6	23.0	24.9	28.6	23.8	29.3
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	2.14	2.06	1.85	1.81	2.50	2.03	2.28
モ ノ オ ル ト	2,3,3',4,4'-PeCB	2089	2250	2470	2530	2253	2379	2391
	2,3,4,4',5'-PeCB	130.3	137.5	151.0	126.0	154.7	174.8	158.1
	2,3',4,4',5'-PeCB	6490	7405	7750	7860	7400	7672	7873
	2',3,4,4',5'-PeCB	135.9	139.0	145.0	154.0	144.3	1066.5	195.7
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	667.8	626.0	660.0	697.0	687.0	631.4	699.8
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	170.0	165.0	158.0	180.0	184.0	150.3	177.9
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	340.6	335.5	339.0	363.0	345.0	334.2	367.4
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	59.7	50.5	48.8	53.8	53.1	50.6	55.8
TEQ	5.12	5.21	5.48	5.48	5.79	5.31	6.36	

Table 2 通常の統計量と頑健な統計量

		mean ($\mu\text{g/g}$)	SD ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	Robust mean ($\mu\text{g/g}$)	Robust SD ($\mu\text{g/g}$)	Robust RSD (%)
P C D D s	2,3,7,8-TCDD	0.285	0.115	40.407	0.251	0.036	14.304
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.434	0.075	17.236	0.434	0.085	19.545
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.075	0.008	11.316	0.075	0.010	12.832
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.187	0.017	9.178	0.187	0.019	10.407
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.039	0.013	34.461	0.039	0.015	39.079
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.177	0.058	32.758	0.159	0.016	10.024
	OCDD	0.476	0.568	119.431	0.320	0.239	74.570
P C D F s	2,3,7,8-TCDF	1.867	0.139	7.471	1.860	0.143	7.687
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.221	0.038	17.378	0.221	0.044	19.707
	2,3,4,7,8-PeCDF	1.062	0.265	24.944	1.019	0.190	18.644
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.242	0.394	162.891	0.073	0.020	27.711
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.145	0.101	70.077	0.138	0.098	70.951
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.093	0.011	11.634	0.093	0.012	13.193
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.130	0.147	112.704	0.092	0.068	73.742
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	OCDF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
ノ ン オ ル ト	3,3',4,4'-TCB	168.869	11.312	6.699	168.869	12.827	7.596
	3,4,4',5'-TCB	15.055	1.544	10.258	15.055	1.751	11.632
	3,3',4,4',5'-PeCB	25.412	2.505	9.856	25.412	2.840	11.177
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	2.096	0.241	11.514	2.096	0.274	13.057
モ ノ オ ル ト	2,3,3',4,4'-PeCB	2337.556	150.302	6.430	2337.556	170.442	7.291
	2,3,4,4',5'-PeCB	147.489	17.220	11.675	147.489	19.527	13.240
	2,3',4,4',5'-PeCB	7492.800	482.902	6.445	7576.894	332.431	4.387
	2',3,4,4',5'-PeCB	282.920	346.116	122.337	160.965	34.594	21.492
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	666.994	29.927	4.487	666.994	33.937	5.088
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	169.320	12.326	7.280	169.320	13.978	8.255
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	346.375	13.378	3.862	346.375	15.171	4.380
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	53.172	3.699	6.956	53.057	4.086	7.701
TEQ	5.536	0.427	7.705	5.493	0.379	6.907	

Table 3 通常の統計量によるz-スコア

	分析値	1	2	3	4	5	6	7
P C D D s	2,3,7,8-TCDD	-0.405	-0.542	-0.642	-0.329	-0.173	2.230	-0.138
	1,2,3,7,8-PeCDD	-0.494	-0.674	1.676	-0.407	-0.864		0.762
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.318	-0.776		-0.818			1.276
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.370	-1.528	1.265	0.217	0.838		-0.423
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.382	0.704		0.398			-1.483
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-0.528	-0.257	2.023	-0.455	-0.234	#VALUE!	-0.549
	OCDD	-0.545	-0.004	1.998	-0.452	-0.571	#VALUE!	-0.426
P C D F s	2,3,7,8-TCDF	-0.842	-0.622	1.816	0.095	0.860	-0.629	-0.679
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.144	0.138	-0.708	0.177	-1.358		1.608
	2,3,4,7,8-PeCDF	-0.704	-0.950	-0.310	-0.382	-0.051	0.339	2.060
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	-0.462	-0.460	1.789	-0.440			-0.427
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.725	-0.269	-0.126	-0.829			-0.501
	1,2,3,7,8,9-HxCDF							
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	-0.341	0.793		0.811			-1.264
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-0.690	-0.403	0.005	-0.491		-0.410	1.988
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF							
OCDF								
ノ ン オ ル ト	3,3',4,4'-TCB	-0.258	-0.961	-1.226	-0.430	0.878	0.471	1.526
	3,4,4',5-TCB	0.169	-0.165	-1.266	0.806	0.493	-1.331	1.295
	3,3',4,4',5-PeCB	-0.674	-0.324	-0.963	-0.205	1.273	-0.660	1.554
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	0.183	-0.170	-1.019	-1.185	1.678	-0.267	0.779
モ ノ オ ル ト	2,3,3',4,4'-PeCB	-1.651	-0.583	0.881	1.280	-0.560	0.276	0.357
	2,3,4,4',5-PeCB	-0.997	-0.580	0.204	-1.248	0.417	1.586	0.618
	2,3',4,4',5-PeCB	-2.077	-0.182	0.533	0.760	-0.192	0.371	0.786
	2',3,4,4',5-PeCB	-0.425	-0.416	-0.398	-0.372	-0.400	2.264	-0.252
	2,3,3',4,4',5-HxCB	0.026	-1.370	-0.234	1.003	0.668	-1.189	1.096
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0.052	-0.350	-0.918	0.866	1.191	-1.540	0.700
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	-0.435	-0.813	-0.551	1.243	-0.103	-0.910	1.569
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	1.752	-0.736	-1.182	0.170	-0.019	-0.686	0.701
	TEQ	-0.985	-0.765	-0.129	-0.136	0.606	-0.530	1.940

Table 4 頑健な統計量によるz-スコア

	分析値	1	2	3	4	5	6	7
P C D D s	2,3,7,8-TCDD	-0.355	-0.797	-1.117	-0.115	0.387	8.089	0.498
	1,2,3,7,8-PeCDD	-0.436	-0.594	1.478	-0.359	-0.761		0.672
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.280	-0.684		-0.721			1.125
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.326	-1.348	1.115	0.192	0.739		-0.373
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.337	0.621		0.351			-1.308
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-0.750	0.240	8.571	-0.483	0.322	#VALUE!	-0.828
	OCDD	-0.646	0.642	5.403	-0.424	-0.709	#VALUE!	-0.363
P C D F s	2,3,7,8-TCDF	-0.776	-0.561	1.817	0.139	0.885	-0.568	-0.617
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.127	0.122	-0.624	0.156	-1.198		1.418
	2,3,4,7,8-PeCDF	-0.753	-1.096	-0.204	-0.304	0.157	0.702	3.102
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	-0.659	-0.614	42.993	-0.233			0.008
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.866	-0.206	-0.057	-0.788			-0.447
	1,2,3,7,8,9-HxCDF							
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	-0.301	0.699		0.716			-1.114
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-0.930	-0.311	0.570	-0.500		-0.327	4.848
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF							
OCDF								
ノ ン オ ル ト	3,3',4,4'-TCB	-0.227	-0.847	-1.081	-0.380	0.774	0.416	1.346
	3,4,4',5'-TCB	0.149	-0.146	-1.117	0.711	0.435	-1.174	1.142
	3,3',4,4',5'-PeCB	-0.595	-0.286	-0.849	-0.180	1.122	-0.582	1.370
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	0.162	-0.150	-0.899	-1.045	1.480	-0.235	0.687
モ ノ オ ル ト	2,3,3',4,4'-PeCB	-1.456	-0.514	0.777	1.129	-0.494	0.243	0.315
	2,3,4,4',5'-PeCB	-0.879	-0.512	0.180	-1.100	0.368	1.399	0.545
	2,3',4,4',5'-PeCB	-3.269	-0.517	0.521	0.852	-0.532	0.286	0.889
	2',3,4,4',5'-PeCB	-0.724	-0.635	-0.461	-0.201	-0.481	26.176	1.004
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0.023	-1.208	-0.206	0.884	0.589	-1.049	0.967
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0.046	-0.309	-0.810	0.764	1.050	-1.358	0.617
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	-0.384	-0.717	-0.486	1.096	-0.091	-0.803	1.384
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	1.614	-0.638	-1.042	0.182	0.011	-0.593	0.663
	TEQ	-0.994	-0.747	-0.032	-0.040	0.794	-0.482	2.294

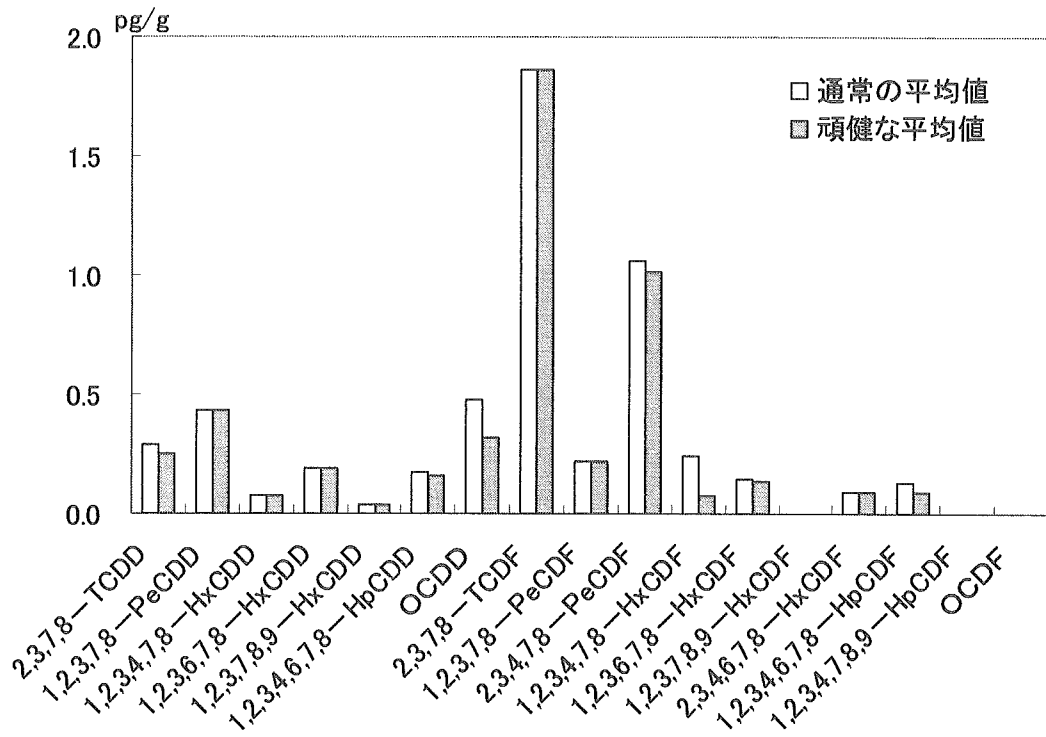


Figure 1 PCDD 及び PCDF の通常の前平均値と頑健な平均値

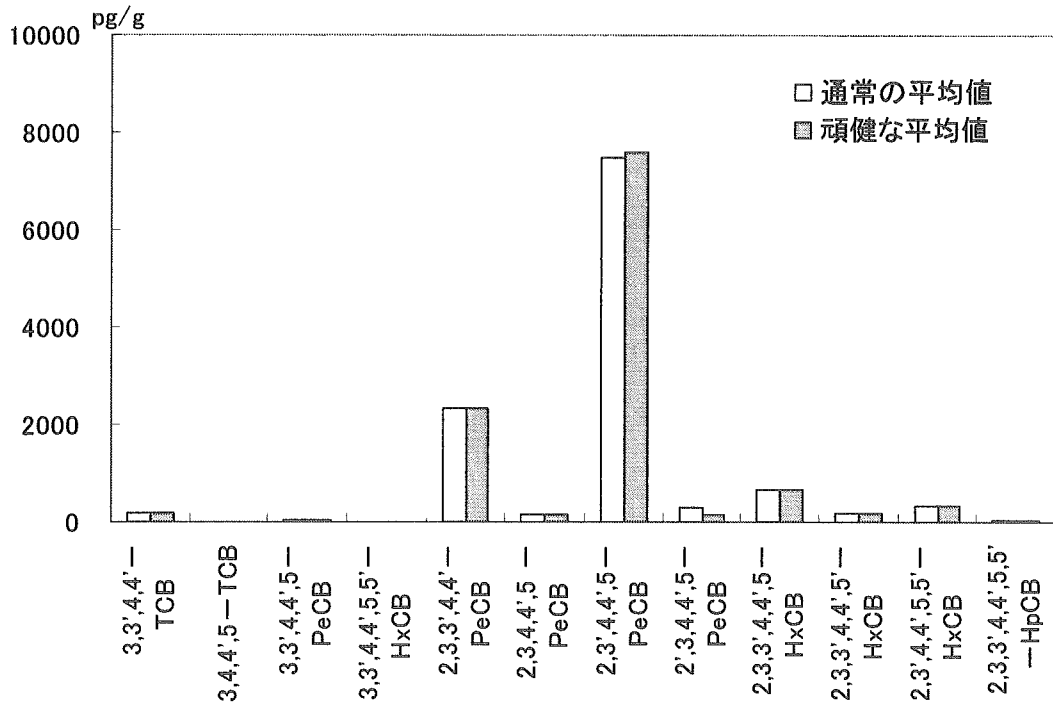


Figure 2 Co-PCB の通常の前平均値と頑健な平均値

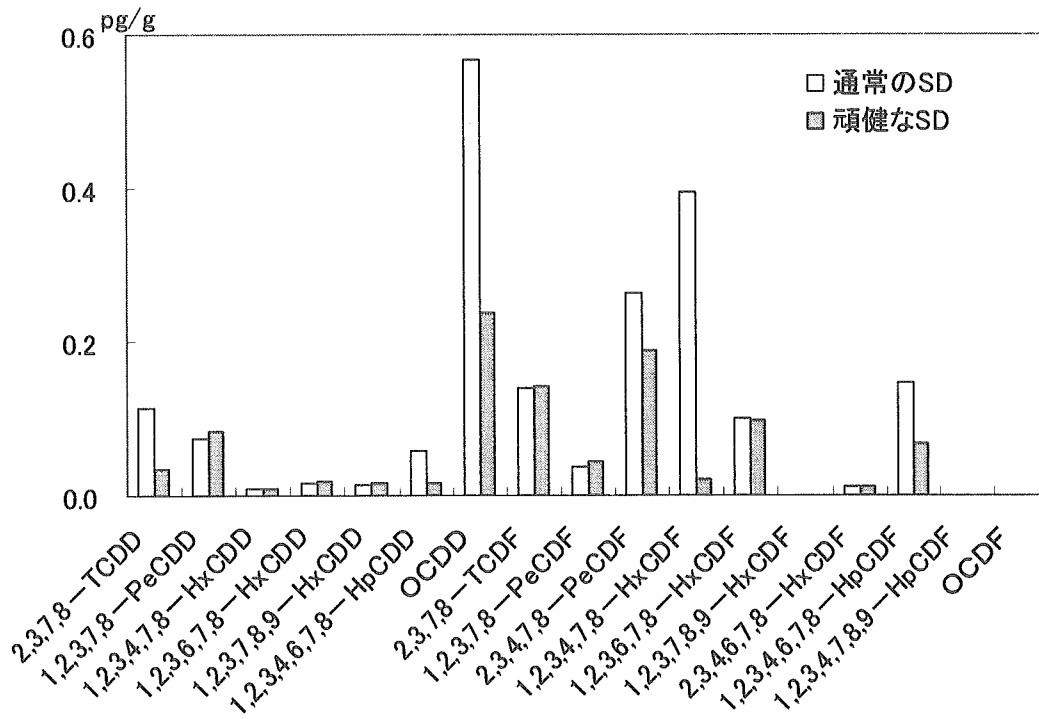


Figure 3 PCDD 及び PCDF の通常の平均値と頑健な平均値

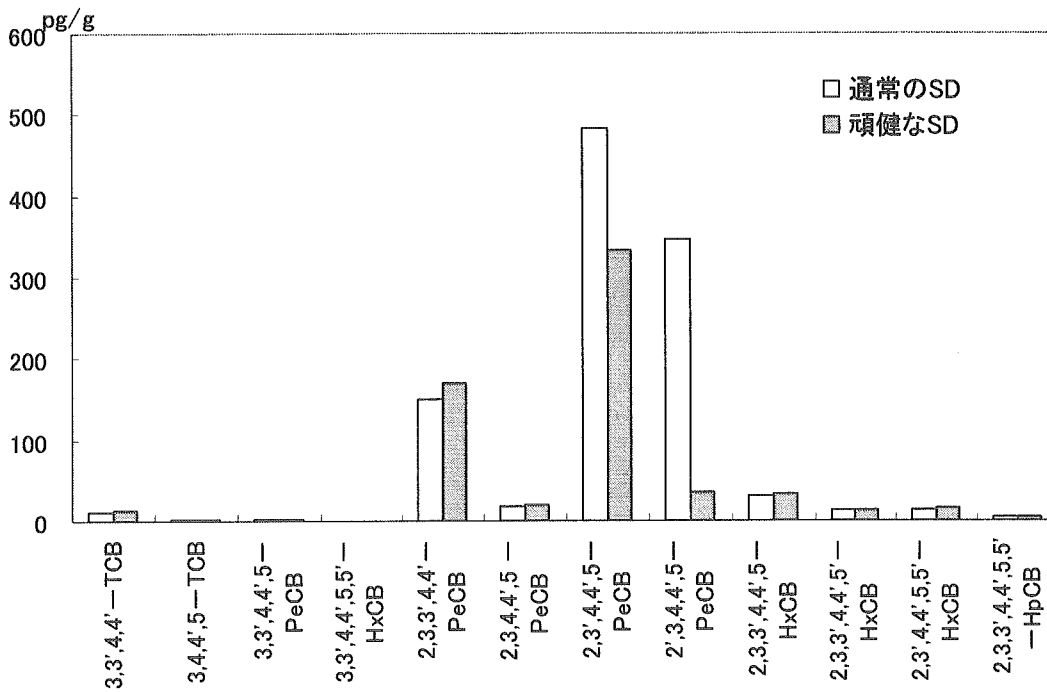


Figure 4 Co-PCB の通常の SD と頑健な SD

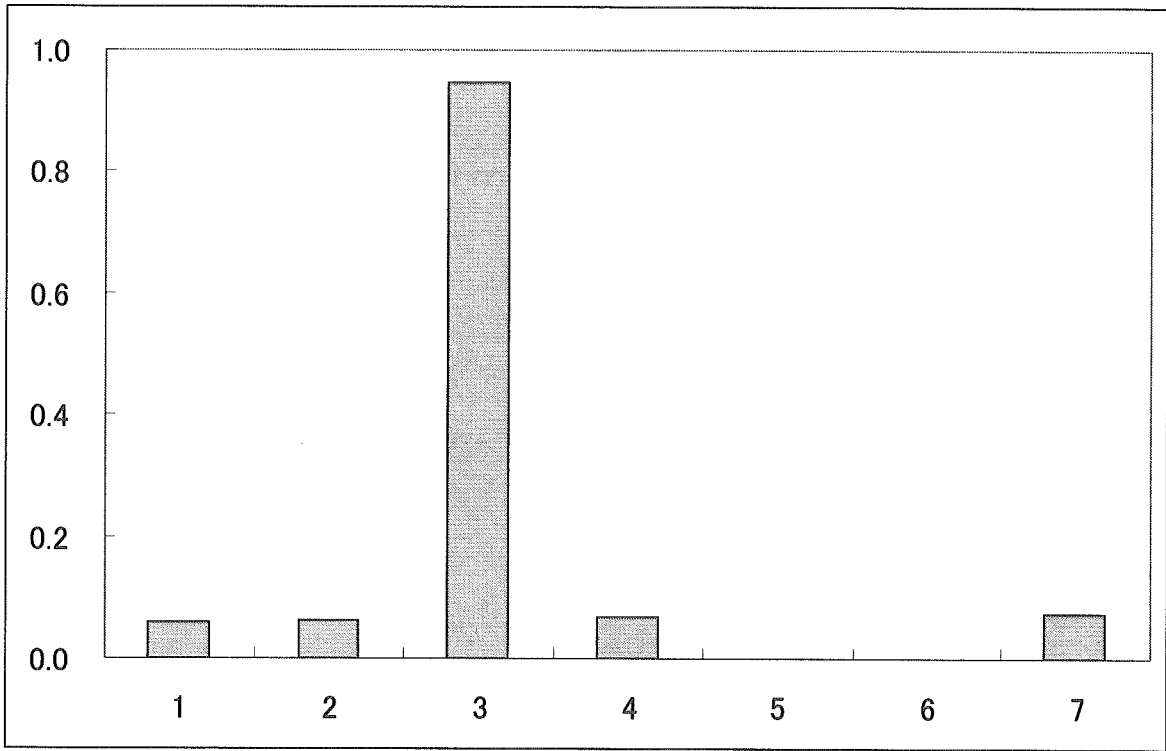


Figure 5 1、2、3、4、7、8-HxCDF 報告値

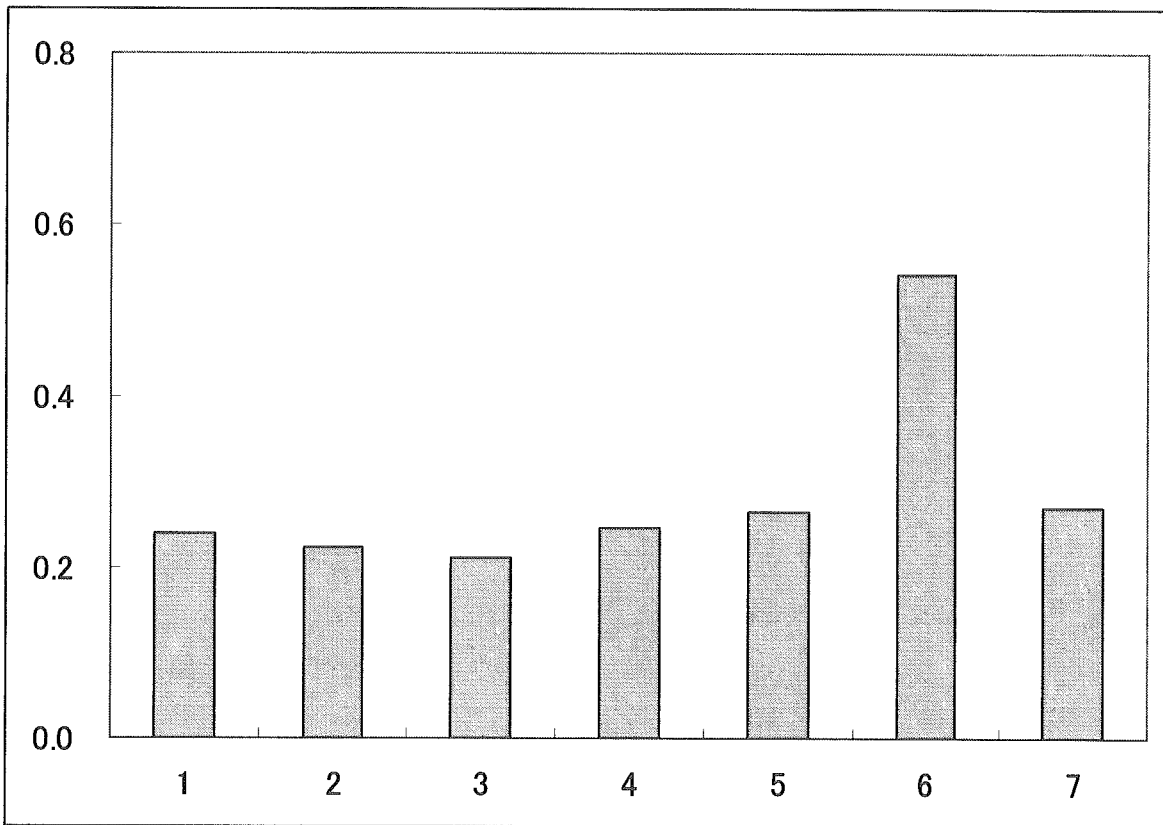


Figure 6 2、3、7、8-TCDD 報告値

通常の統計量によるzスコア

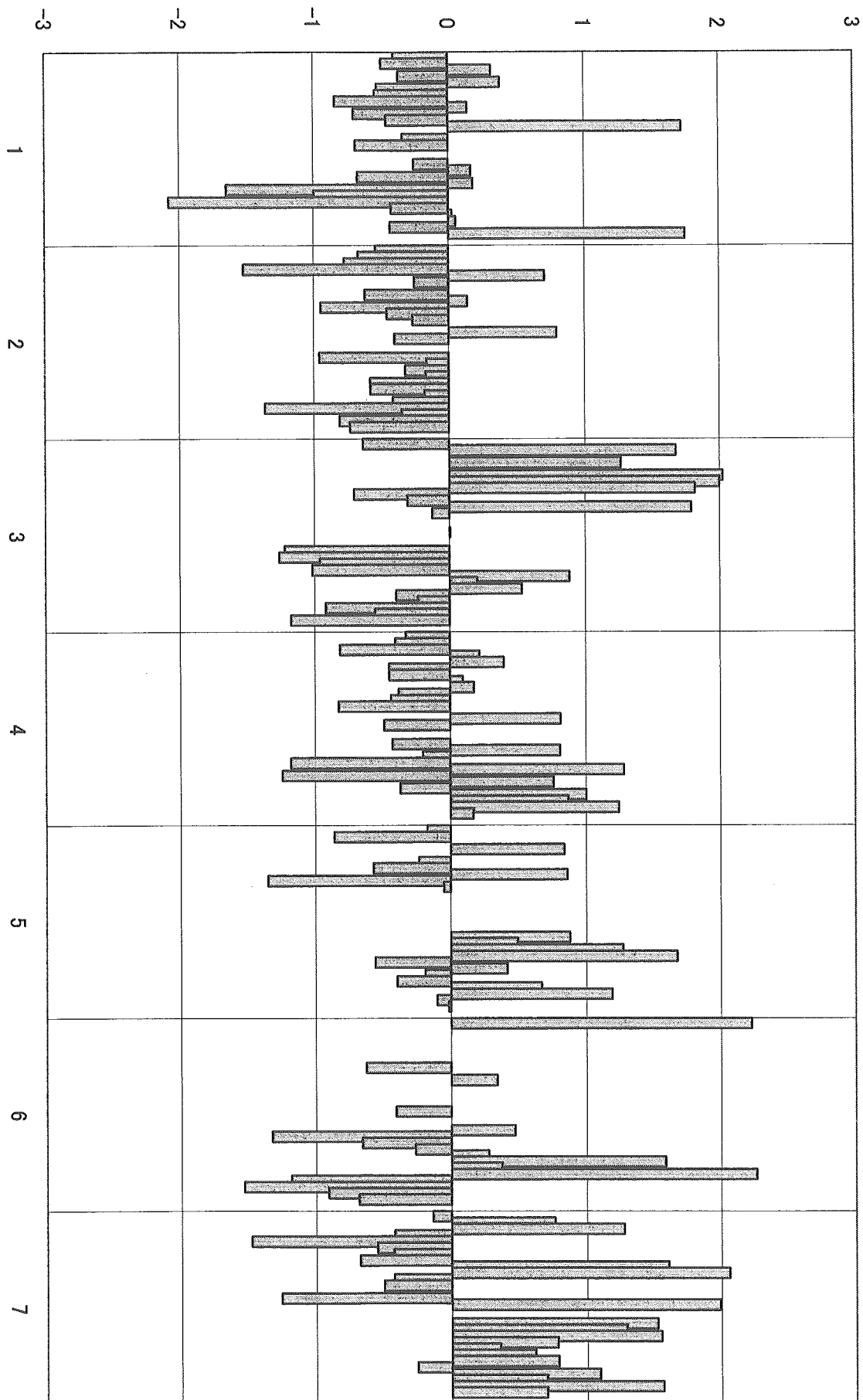


Figure 7 各参加機関の通常の統計量によるzスコア

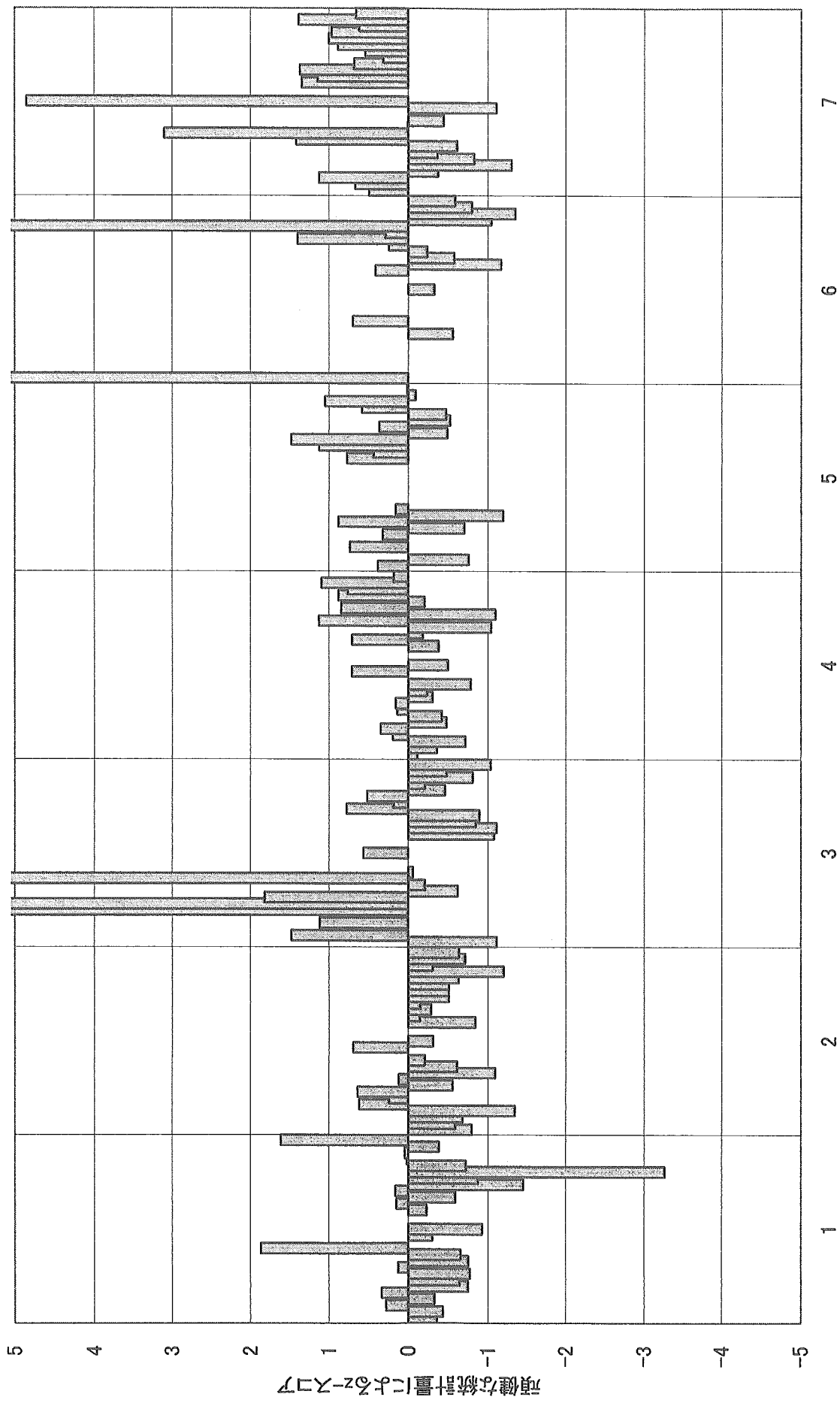


Figure 8 各参加機関の頑健な統計量によるzスコア

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

「検査機関の信頼性確保に関する研究」

平成 17 年度

分担研究報告書

組換え DNA 技術応用食品検査の信頼性確保に関する研究

分担研究者 渡邊 敬浩

検査機関の信頼性確保に関する研究

分担研究報告書

組換えDNA技術応用食品検査の信頼性確保に関する研究

主任研究者	遠藤 明	(財)食品薬品安全センター 理事長
分担研究者	渡邊 敬浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部 主任研究官
協力研究者	米谷 民雄	国立医薬品食品衛生研究所食品部 食品部長
	穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部 食品部第三室長
	大島 赴夫	(財)食品薬品安全センター 食品衛生事業部長
	笠間 菊子	(財)食品薬品安全センター 研究員
	鈴木 達也	(財)食品薬品安全センター 研究員
	井上 雪乃	(財)食品薬品安全センター 研究員

研究要旨

安全性審査を終了した遺伝子組換え(GM)トウモロコシの定量分析法として、厚生労働省からの通知により定量PCR法が定められている。また同通知中には、定量PCR法における直接の分析対象物質となるDNAを抽出・精製する方法についても、3種の方法(シリカゲル膜タイプキット法; mini法、シリカベースレジソタイプキット法; WIZARD法、セチルトリメチルアンモニウムブロミド法; CTAB法)が記載されている。しかし、定量PCR法の妥当性確認試験においては、上記3種のDNA抽出法とは異なる方法(シリカゲル膜タイプキット法; MAXI法)がDNA抽出法として採用されており、これら異なる4種のDNA抽出法が分析結果(定量値)に与える影響についてはこれまでに明らかにされていない。そこで、100%GMトウモロコシ試料および、それらを含む2種の擬似混入試料から各DNA抽出法を用いて抽出されたDNAの質ならびに収量、DNA分解の程度、さらに定量PCR法により得られた定量値について詳細な解析を行った。

安全性審査を終了したGMトウモロコシのうちGA21ならびにMon810系統をそれぞれ重量混合比として1%となるように混合した試料(GA21L)および、GA21系統を5%、Mon810系統を1%の割合で混合した試料(GA21H)を擬似混入試料とした。各試料からのDNA抽出法はmini法、WIZARD法、CTAB法については食安発0517001号、MAXI法についてはJAS分析試験ハンドブックに準拠した。検討の結果、抽出されたDNAの分解の程度には明確な差が認められなかったが、DNAの質および収量、さらには定量PCR法により得られる定量値にDNA抽出法依存的な差異が認められた。

A. 研究目的

厚生労働省では「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」(平成13年3月27日、食発第110号、一部改正:平成17年5月17日、食安発第

0517001号)を通知し、遺伝子組換え(GM)食品に関する検査方法(通知法)を定めた。この通知法を準用するに当たり、得られた分析結果の信頼性を確保するためには、外部精度管理試験の実