

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

ヒト生体試料バンクの整備に関する研究（平成16年度）

分担研究者 吉永侃夫 大阪夕陽丘学園短期大学・教授

研究要旨

平成15年度に創設された生体試料バンクは既収集サンプルを基盤に新規に収集されたサンプルを積み上げる方式で構成されている。サンプルバンクのサンプルは採取、処理、保存に多数の研究者が携わっているため、これらのステップには標準化されたプロトコルが必須である。本研究ではⅠ．サンプルバンク採取の手順の標準化、Ⅱ．データファイルのデータベース化、Ⅲ．試料収集の標準化、Ⅳ．試料の品質管理の4項目の標準化について検討した。

A. 研究目的

平成15年度に設立した難分解性環境汚染物質長期曝露モニタリングのための生体試料バンクにおける試料は、時間的、空間的広がりの中で採取、処理、保存、供与、分析のそれぞれのステップで数多くの研究者が関与することが予想される。従ってサンプルが人為的な理由で変動することを極力避けなければならない。そのためにはバンクの性質からできるだけ標準化された方法で採取・処理・保存されることが不可欠であり、サンプルの人為的な修飾の有無を検討するためには、サンプル取扱いの各ステップで適切なブランクの同時保存が望まれる。本年度の「サンプルバンク整備に関する研究」の目的を、これらのサンプルの取扱過程における標準化に焦点をあて検討した。具体的には

Ⅰ サンプルバンク採取の手順の標準化

Ⅱ データファイルのデータベース化

Ⅲ 試料収集の標準化

Ⅳ 試料の品質管理

の4項目を中心に検討した。

B. 研究方法

1) サンプルの集約化の標準化

A. 食事サンプル

食事サンプルの採取法は陰膳方式と買い取方式が主要な方法であり、本バンク設立以前に採取された日本縦断サンプルと京大サンプルは陰膳方式で採取されている。陰膳方式は食品の調理プロセスまでの情報が含まれており優れた方式であるが食事の提供者を確保するのに困難を伴う。最近では外食を利用する人の割合が急増してきており、購入方式の有効性が増してきている。本プロジェクトでは、買取方式を採用しており、採取分担者は、対象者の性別、年齢を想定して、食品店で調理された食事を春秋2回にわたって購入し、その食材の種類と重量を記録する。

一部のサンプルについては陰膳方式でサンプルを採取し、その場合には

データファイルにその旨を記録する。

B. 血液・母乳サンプル

血液・母乳の採取は医療機関に健診に来た人から、本プロジェクトの目的と概要を説明し、同意を得たれた人に対して、「京都大学・医の倫理委員会」の承認を得た書式で作成した同意書に氏名、住所、を記入してもらい。採血、採乳方式は実施した医療機関の方式に従い、その時使用した同一の採取器具をblankとして保存する。

採取分担者は採取地点でサンプルに匿名化した記号（S：血清、B：全血、M：母乳－採取者－採取者の通し番号、例 S－小泉－123）をつけて、後述の処理をほどこす。また、サンプルの記号、採取地点、採取年月日、性別、年齢、最長居住地、職業のみを記入した匿名化したデータファイルを作成する。

A, Bの方法で採取されたサンプルは同意書を採取分担者の手許に保管し、血清・血液と母乳サンプルは京大内の研究班事務局に、食事サンプルは京都市内の冷凍倉庫に送られ、データファイルは研究班事務局に送付される。送付されたサンプルについてバンク事務局でデータファイルに記載項目の漏れと、サンプルとの対応、匿名化が為されているかを点検の上、内容物の重量を測定され、データベースに追加される。

本研究ではバンクに送付されたサンプルとデータファイルについて、バンク側で指定した方式でサンプル収集が行われているかを検討した。

2) データファイルの標準化

本生体試料バンクに納められているサンプルは採取区分ごとに分類され（F－研究班、B-研究班、S-研究班、M-研究班：研究班データファイル）、

採取品目毎に通し番号を付けられる。これら新規採取のサンプルについては4種のサンプルのデータファイルが支柱である。既存サンプルについては試料の収集、または試料の属性を示すもの、さらにそれらを使って測定された各種の詳細な測定値を記載したファイルが存在する（15年度分担研究報告書「サンプルに関するソフトインフラ整備に関する研究」参照）。これら4種類の研究班データファイルと既存サンプルのデータファイル（全国縦断サンプルデータファイル、京都サンプルデータファイル、京大サンプルデータファイル）にはこれらのサンプルを使って測定を行った時、測定項目と使用量、測定結果が付記される。また、保存中のサンプルのサンプル相互の属性の関連等を参照し、管理するためにマイクロソフトのアクセスを使ってリレーショナルデータベースが構築されている。また、バンクの試料を使用する研究プロジェクト毎に、バンクから抽出して使用したサンプル番号と使用量、測定項目、測定結果をまとめたファイルも作成される。これらデータファイル、データベースに新たな移動があった場合にその情報が記載されているかを含めて整備状況について検討した。

3) 試料処理の標準化

本バンク創設以降に各地で採取されたサンプルについて、採取・保存の標準化を行ってきた。

1) サンプル処理方法の統一

①食事サンプルは買い取りの場合にはその食事が何才かの男性または女性を対象にして食品取扱店で購入し、収集した食品の献立、食材の種類とそれぞれの重量、をデータファイルに記入する。食品に貼付されている

食材の種類と産地、添加物、重量、カロリー、製造元等の表示シールが存在すればこれをはがし、別の台紙に貼って食事資料としてまとめてバンク事務局に送付する。

食品は食事の際に飲む飲料と混合してホモジナイザーでペースト状となるまで均質化して規定の容器に入れる。内容物の重量を測定して記録する。

食事・飲料と同量の蒸留水で同一の処理を行い、それぞれ規定の容器に入れてblankとしてバンクに送付する。

②血液は今年度から全血と、血清に分けて保存する。

それぞれの医療機関の方式で採取された血液は2mlをEDTA(凝血防止剤)入のチューブで処理し、それをバンク指定の容器に入れ換える。残りの血液は血清分離管または遠心法で血清を分離しバンク指定の2mlの容器に分注する。

③各医療機関の採乳法で採取した母乳はバンク指定の容器に移す。

食事、血液、母乳のそれぞれの容器には前述の形式(例:M-小泉-234)のラベルをレーザープリンターでプリントアウトして、適当なサイズに切り取ったものをスプレー糊(3M-555)で容器に貼り付け、その上をメンディングテープ(スコッチ)で覆う。

2) サンプル保存に関する事項の統一

サンプルはいずれも-20℃の冷凍保存が原則である。分担者によって採取されたサンプルはサンプル数が揃うまで分担者のもとで冷凍保存され、冷凍便でバンクに送付される。バンクではいずれの母乳サンプルも母乳サンプルの容器にあわせて作成したて、データファイルに対応する番号(M-班-○)を付されたコンテナーに収納されて

冷凍保存されている。全国縦断サンプルの血液は8mlのポリエチレン容器に入れられ、採取年代と地域毎に通し番号順に試験管立てに納め、それをデータファイルの番号(B-班-○)を付したコンテナーに入れて保存している。それ以外の血液サンプルは2mlのポリエチレン製バイアルに、採取地域、採取年月日毎に採集者の名前とラック通し番号(S-小泉-○)を振った100本入りラックに収納し、それを通し番号S-班-○)を振ったコンテナーに入れて冷凍保存している。

サンプル採取分担者が試料処理を標準化したプロトコルに従って処理し、保存し、バンクへ送付しているかを検討した。バンク到着以降の処理、保存は共通のプロとコルに従って処理を行っている。

4) 脂質重量の推定

難分解性の汚染物質の多くは濃度表現として脂質量で補正された値で報告される。しかし、長期の保存により脂質は過酸化を受け変性するため、長期保存後は正しく脂質濃度は測定できない。

脂質量を測定する方法は有機溶剤で脂質を抽出し、重量法で測定するのが一般的である。この方法は被測定物質をかなり大量に必要とし、食事サンプルの様にサンプル量が比較的多量にある場合は適用できるが血液サンプルの場合には貴重なサンプルを浪費することになる。そこで、重量法による脂質測定に代え、サンプル消費量を最小限にするためにコレステロールとトリグリセライドを酵素的に測定することで総脂質量として換算した。コレステロールとトリグリセライドの測定は酵素法によるレフロトンを用いて測定した。測定値をサンプルの属性としてデータファイルとデ

ータベースに記載する。

この方法で測定し総脂質として換算した値が標準測定法として認知されている重量法と比較して妥当な値を示すかどうか、また今年度から始めた全点の血清のレプレトロンによる測定に意義があるかどうかを判定する。

C. 研究結果

1) サンプル採取の手順の標準化:

a). 食事サンプル

収集された食事サンプルは90%以上がコンビニエンスストアまたはスーパーマーケットを通じた購入方式であったが、陰膳方式で採取した食事は、平成15年および16年度を通じて秋田、大阪および和歌山で採取されたものであり、合計146検体とであった。

b). 血液サンプル

医療機関の健診の際に採取されたものが大部分であった。今年度開始した全血は血清サンプルと対になっているが例外的に岐阜の一部で血清のみのサンプルもあった。

c). 母乳サンプル

母乳サンプルは20mlを標準としていたが地域によって採取量に差があり、平均重量で4倍の差がみられた。

全国で集められた検体は、標準的な手順でほぼ集められてきた。血液、食事、母乳サンプルとも決められ手順と方法で採取されていた。また適切なブランクも同時に採取されていた。全サンプルは匿名化されており、同意書が採取分担者に管理されているため、連結不可能である。

今年度から指定したサンプル容器に貼付するラベルの作成は大部分の分担者が実行してくれていた。

2) データファイルの標準化

各施設から送付されるサンプルのデータについてはほぼ100%決められた情報が付加されていたが、一部職業欄に空白がみられた。

サンプル群をそれぞれ纏めたデータファイル(研究班データファイル)が作成され、保存中のサンプルの基本的な数量と属性の管理を行えるようになっていた。測定プロジェクト毎にサンプルの選択、使用量、処理法、測定結果をまとめたファイルが作成されており、サンプルのプーリングに対して研究班データファイルが対応できない点を補っていた。

これらのデータを相互に関連づけるためにマイクロソフトのアクセスを使ってリレーショナルデータベースが構築され、この研究が始まる以前に作成された種々の属性、分析結果を必要な時に参照可能なインターフェイスが参照可能となっている。

3) 試料処理の標準化

A. 食事サンプル: 食事サンプルは男女、年齢、朝、昼、夕食のいずれかを想定し、購入後、素材、添加物、カロリー等の表示シールが貼付されておれば資料として別途ファイルに保存されていた。食品はホモジェネートを行う前にそれぞれの素材を秤量して献立フィルに記録されていた。ホモジェネートは同時に採取された飲料とともに素材が判断出来なくなるまでブレンダーで均質化して、全重量が記録されていた。

これと同時に食事・飲料の代りに水を用いて同一の処理過程を経たもの、空の容器をブランクとして保存されていた。

B. 血液（血清および全血）、母乳サンプルは、記載した方法でそれぞれ処理しており。また所定の容器に保存されていた。

4) 脂質重量の推定

2003年以降の血清サンプルについて既に測定値の存在する検体以外の全点（1742検体）についてレフロトロンを用いてコレステロールとトリグリセライドの測定を行い、データベースに記載した。全国縦断サンプルは採取時に詳細な生化学的検査を行っているのでそのファイルを参照することができた。

レフロトロンを用いた酵素法と重量法による血清サンプル中の脂質重量の相関を図-1に示した。

また、血清サンプルでは血清中のコレステロールとトリグリセライドから推定した値との比（推定法/重量法）を求めた。1990年以前のサンプルでは 0.90 ± 0.10 ($n=16$)、1991年から2000年までに集めたサンプルでは、 0.94 ± 0.10 ($n=0.10$)、2000年以降では 1.07 ± 0.15 ($n=10$)であり、ほぼ推定値と重量法は一致した。しかし、保存期間と比の関係は：比 $=1.059-0.009 \times$ 期間（年）（ $r=0.468$ 、 $p=0.0013$ ）で保存期間が長くなると推定値は小さくなる。従って酵素法で脂肪重量としてコレステロールとトリグリセライドを測定しているが、レフロトロンのコレステロール検査試薬の説明通り、なるべく新鮮な間に測定した方がよさそうである。

一方、全血では、1997年以前のサンプルのみの検討であるが、比は 2.61 ± 0.60 ($n=20$)であれば、Htを40%とするとほぼ1に近いが、ふらつきが大きい。

D. 考察

既存のサンプルおよび新規サンプルともデータの標準化はなされている。さらに輸送、採取、処理、ブランク同時採取による品質管理もほぼプロトコルどおりであった。データファイルの一部に職業欄の空白がみられたが、ボランティアとして提供しているため、属性の全欄記入は強制できない。

脂質重量については抽出法による測定が大量のサンプルが必要なことから、コレステロールおよびトリグリセライドによる脂質含量の推定は、極めて有効な方法と考えられた。この方法はサンプル採取から測定するまでの時間が経過すると測定値が低下するので、早期に測定しておくことが肝要である。全血サンプルについては適用に注意が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

第75回 日本衛生学会総会、2005年3月27-30日

難分解生化学物質を対象とした生体試料リンクの創設に関する研究

吉永侃夫、原田浩二、井上佳代子、森川亜紀子、Eslami Bita、井上純子、湯木知史、研究班グループ、小泉昭夫

第44回 近畿産業衛生学会、2004年11月6日

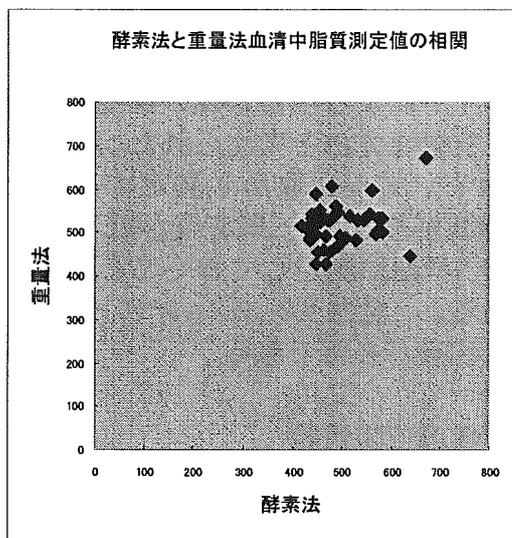
難分解生化学物質を対象とした生体試料リンクの創設に関する研究

吉永侃夫、原田浩二、井上佳代子、森川亜紀子、Eslami Bita、井上純子、

生体バンク研究班グループ、新保慎一郎、池田正之、小泉昭夫

H. 知的財産権の出願・登録状況なし

図-1 レフロトロンを用いた酵素法と重量法による血清サンプル中の脂質重量の相関



厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

試料バンクの現状分析と整備に関する研究（平成17年度）

主任研究者 小泉昭夫 京都大学大学院教授
分担研究者 井上佳代子 京都大学大学院講師

研究要旨

ヒト生体試料バンクの創設において平成18年3月現在、全血7,099検体、血清22,535検体、母乳2,704検体、食事3,380検体が保存されている。保存場所は京都大学大学院医学研究科G棟3階336号室サンプルルームであり、この部屋には-20℃に設定された部屋と4℃に設定された部屋が備え付けられている。これら保存試料のうち、厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）（平成15年度～17年度）により系統的に収集された試料数は、全血3,322検体、血清6,220検体、母乳2,614検体、食事947検体である。バンク試料の運用において、2年間にわたって全血150検体、血清410検体、母乳50検体、食事390検体を提供した。これらの試料を円滑に管理するために、Microsoft Access data base「サンプルバンク運用管理システム」を委託開発した。

A. 研究目的

平成15年度より厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）「POPsのリスク評価にむけてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンクの創設に関する研究」でヒトの血液、母乳、食事を試料とするバンクを創設したが、平成15年度、16年度においては京都大学大学院医学研究科内における保存場所が小さかったため、外部倉庫を借用していた。平成17年度において京都大学大学院医学研究科内にサンプルルームを増設し、保存場所を確保した。外部倉庫と内部サンプルルームとの比較、およびExcel fileで保存していたデータをAccess fileでのデータベースとして整備する利点について検討した。また、今後の保存スペースの面も考えて、食事試

料の保存の仕方を考慮した。

B. 研究方法

外部倉庫の借用と京都大学大学院医学研究科内のサンプルルーム利用における費用、利便性、試料に与える影響について比較した。またMicrosoft Accessにて作成されたデータベースの利点について検討した。食事試料の保存の仕方については、平成15年度、16年度は、1日3食別々に、それぞれ1L用のボトルに入れて収集していたが、3食を混合して、1日分を1L用ボトル1本で収集することとした。そのため、平成15年度、16年度に収集した1日3食別々の3本のボトルの分を解凍し、新たにホモジェナイズなおして、1日分を1L用ボトルに注入して

保存しなおすこととした。

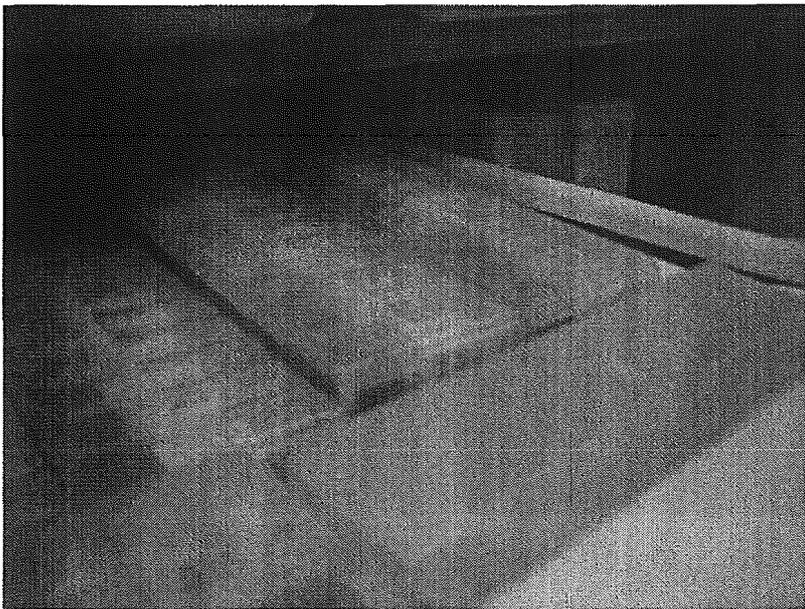
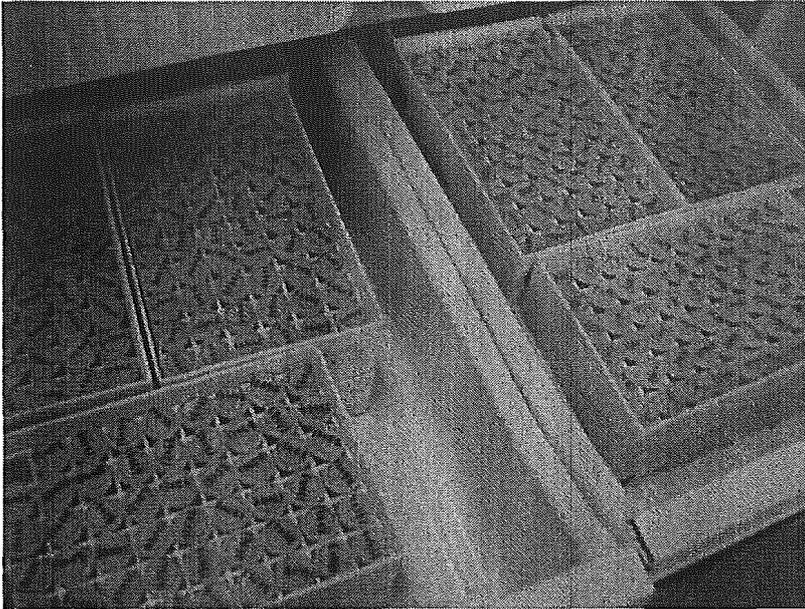
C. 研究結果

C-1. 試料保存場所の検討

		外部倉庫の借用	京都大学大学院医学研究科内のサンプルルーム
費用	光熱費	場所借用料に含まれる。	-20℃と4℃のルームが設置されているため、高額。
	運搬費	380×260×240のコンテナに入れて保存しているため、数個の試料を取り出すときでも複数個のコンテナを運搬してもらう必要性があり、多額の運搬費を生じた。	なし。
	場所借用料	2種類の外部倉庫を借用した。非常にまれにしか利用しない試料は、配達不可の賃貸料が安い外部倉庫に保管し、出し入れする可能性のある試料は、配達可能な外部倉庫に保管した。コンテナあたりの費用が生じるため、試料収集に伴い、場所借用料が増大していった。	G棟使用分配支出金(一定額)。
利便性		前日までにFAXでの連絡が必要。運搬には約1時間かかる。	必要なときにすばやく容易に出し入れできる。
試料に与える影響		保冷車を持たないため、毛布に包んでの移動となり、試料の冷凍性が保たれないこともある。	ほとんど影響を与えないで実験室に運ぶことが可能。
その他		機械的に出し入れされており、他のコンテナと同時に保管されているため、コンテナをビニール袋に入れて保管したが汚れが目立った。	室内で汚れがなく、清潔に保たれる。他の使用者がなく、最低限の開閉で利用できている。

下記の図は京都大学大学院医学研究科内のサンプルルームである。





C-2. Microsoft Accessにて作成されたデータベースの利点

厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業) (平成15年度~17年度)により系統的に収集された試料は、Excel file でデータ管理可能で

あったが、1980年代から1990年代にかけての過去の試料データには、血液生化学データ、食事中的金属、繊維質、無機質、脂質、タンパク質など複数の測定データが付随しており、専門的なリレーショナルデータベースの構築

が必須であることが判明した。そのため、Access を用いたデータベースの開発を委託開発した。このデータベースは Microsoft access を用いて作成し、それぞれの試料の持つ情報ごとに分類され、リレーショナルデータベースとしてデータ保存、検索できるようにした。過去の試料については提供者の血液検査などの情報が付随しており、提供者データ管理機能と試料の持つデータ（採取日、採取場所、食事内容、カロリー、蛋白質量、線維質量、ビタミン・金属などの量など）、および収集されてからのデータ（重量、コレステロール値、トリグリセライド値、測定された化学物質濃度など）などが、同一試料にすべて関連付けられて表示できるようになっている。検索条件も多様であり、採取年、採取地域、提供者の性や年齢など、複数の絞込みも可能であるため、試料の運用に関して検索が容易である。個人情報の特定ができないよう細心の注意を払って開発した。

C-3. 食事試料混合

平成15年度、16年度に収集した1日3食別々の3本のボトルに保存していた試料を解凍し、新たにホモジェナイズしなおして、1日分を1L用ボトルに保存しなおした。（平成17年度は、1日分を1L用ボトルで収集した。）混合しなおした試料を下記の表に示す。

D. 考察

平成17年度は京都大学大学院医学研究科内にサンプルルームの完成を見て、外部倉庫からすべての試料を大学内に移動した。それにより、経費の削

減とともに、試料の保存の面からも利点が認められた。また、Microsoft Accessにて作成されたデータベースは、測定されたデータのリレーショナルデータベースとして有用なものであった。食事試料の保存方法を3食別々の保存方法から、3食を混合して1日分として保存することにより、保存方法としてもスペースの節約になり、運用として提供するときにもより容易に準備できるようになった。

E. 結論

ヒト生体試料バンクは平成18年3月現在、全血7,099検体、血清22,535検体、母乳2,704検体、食事3,380検体を、京都大学大学院医学研究科G棟3階336号室サンプルルームに保存している。これらの試料は、リレーショナルデータベースで管理されており、保存、運用に関して利便性のある状況に整った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

第78回 日本産業衛生学会、2005年4月20-23日

難分解性化学物質に対する生体試料バンクの有用性検証と曝露評価

吉永侃夫、原田浩二、井上佳代子、ヒト生体試料バンク研究班グループ、小泉昭夫

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

- | | |
|-----------|--------|
| 1. 特許取得 | なし |
| | 3. その他 |
| なし | |
| 2. 実用新案登録 | なし |

地域	元の資料数	新たな試料数	地域	元の資料数	新たな試料数	地域	元の資料数	新たな試料数
秋田	285	90	宮城	96	32	東京	351	117
岐阜	147	49	福井	200	66	京都	39	13
兵庫	196	64	和歌山	198	64	山口	24	7
沖縄	180	60						

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

新たな試料の採取に関する研究-秋田県での採取（平成 15-17 年度）

分担研究者 村田 勝敬 秋田大学医学部教授
研究協力者 塚田三香子 聖霊女子短期大学教授

研究要旨

化学物質の健康影響についての厚生行政施策立案によるリスク管理を可能とするために、ヒトデータを利用した化学物質のリスク評価に寄与する試料バンクの創設に関する研究事業に参加した。筆者は北東北地方（特に、秋田県）の全血・血清、母乳および食事試料の収集を担当した。平成 15 年 4 月より 18 年 3 月まで試料の収集に努めた。この間に、血清約 500 検体、全血約 400 検体、母乳約 150 検体、食事 333 検体（333 食分）を収集した。これらはマイナス 30℃ に冷凍保存し、全国の一括試料バンクの拠点である京都大学大学院医学研究科環境衛生学教室に送った。

A. 研究目的

本研究は、自然界で分解され難い化学物質（難分解性化学物質、POPs）の曝露状況を、全国規模で各年齢層にわたって測定可能とする試料バンクを創設することを目的とした。難分解性化学物質は産業活動の中で人知れず産生され、自然界に環境汚染物質として廃棄されヒトに蓄積する可能性がある。しかしながら、これらの多くは未だに測定法の確立がなされていない物資も多く、このため検出はおろか、有害性についても不明であることが多い。かくして試料バンクとして生体試料（全血、血清、母乳、食事）を汚染のない形で長期間冷凍保存しておくことは、今後の医科学（とりわけ環

境保健上）の重要な課題である。何故なら、日進月歩の科学技術の進展により、これら難分解性化学物質のヒトへの有害性の認知とともに、測定法の確立が期待されるからである。したがって、本研究は、一方で現在までに有害性が証明されかつ測定法が確立されている難分解性化学物質の日本国内の分布（性、年齢、時代、場所）および曝露評価に資するとともに、他方で将来に測定されるための試料保存に供される。欧米では、このような試料バンクが既に存在しており、我が国では今回の研究でこの目的が達せられることになる。この試料バンクの創設により、長期間にわたる難分解性化学物質のヒトへの曝露動向が明らかに

されるとともに、この結果を踏まえて政策への提言や政府機関の規制効果などの確認を行うことも可能となる。

この研究企画では、全国各地の老若男女から試料バンク用の全血・血清、母乳、食事が採取・収集されることが望まれるが、疫学倫理とデータ還元が問題となり、容易でない側面を持つ。この問題解決の方策として、地域保健を担っている全国医科大学衛生公衆衛生学領域の分担研究者を擁することにより、地域住民の理解を得て収集に当たることである。筆者もこの分担研究者の一人として、平成 15 年度から 3 年間に渡って秋田県内の各地で可能な限り多くの生体試料を採取・収集する研究事業に参加した。

B. 研究方法

京都大学大学院医学研究科の「医の倫理委員会」より、「POPs のリスク評価に向けてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンク創設に関する研究」の承認を得て、本研究は実施された。生体試料の採取・収集に当たっては、秋田県内に在住する健常参加者に、①個人名は消去され（連結不可能匿名化）、性・年齢・もともと長い居住県・職業のみを持った 1 サンプルになること、②データの還元はインターネットないし学術雑誌の公表により行われること、③一度生体試料を採取した後には不参加表明することは不可能であること、④参加による直接的な利益はないことを十分に説明・確認した上で、文書による同意を得て血液

採取、母乳・食事収集を行った。

血液は 10~12 ml を肘静脈より医師が真空採血管 2 本を用いて採取し、全血 1.8 ml を小容器に、また遠心機で分離後の血清を別の小容器に入れ、冷凍庫に保管した。残った血球成分はその他の検査等に再利用されないよう全て焼却処分した。母乳は個人産婦人科医院の他、総合病院産科入院中の褥婦より残乳を容器に搾乳してもらい、20ml 以上になった時点で容器を回収し、冷凍庫に保管した。食事の採取・収集においては、聖霊短期大学教授塚田三香子氏の分担協力を得て行った。男女の朝食、昼食および夕食に相当する外食弁当とともに、女子からは朝・昼・夕食を陰膳方式で集め、ミキサーで粉碎後容器に入れ、冷凍庫に保存した。

これらの試料の収集後、京都大学大学院医学研究科社会健康医学系環境衛生学分野内事務局に冷凍便で搬送した。また、氏名のない試料のデータ（性、年齢、居住県、職業）ファイルも同大学環境衛生学分野内事務局にメールで送信した。

得られた同意書は秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野で個人情報漏洩されない形で保管している。また、一括して保管される生体試料については、京都大学大学院医学研究科社会健康医学系環境衛生学分野内で厳重な管理下に置かれることになっている。なお、平成 16 年度および平成 17 年度は血液中の水銀濃度を調べるため、全血 1.8 ml を余分

に採取したが、既に述べたように採取された残りの血液および血球成分は、分離後に焼却処分したので遺伝研究等に使用されることはない。

C. 研究結果

血清は、秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野および秋田県総合保健事業団が中心となり、秋田県内に在住する健常参加者約500名から採取・収集された。内訳は男子約250検体(20～29歳14%、30～39歳20%、40～49歳26%、50歳以上40%)、女子250検体(20～29歳25%、30～39歳25%、40～49歳30%、50歳以上20%)である。

母乳は、秋田県内にある産婦人科医院および6総合病院の産婦人科の協力を得て、当該科で出産した褥婦約150名より採取された。

食事調査は、聖霊女子短期大学が中心となり、女子の陰膳方式による朝・昼・夕の333検体を収集した。これらの食事の内容・成分の集計結果は既に京都大学大学院医学研究科社会健康医学系環境衛生学分野に送った。

D. 考 察

難分解性化学物質はバクテリア・菌類、紫外線・酸化等によって容易に分解しない物質であり、環境中生物内で生物濃縮し、長距離移動性を有する。難分解性化学物質には、アルドリン、ディルドリン、エンドリン、クロルデン、ヘプタクロル、トキサフェン、ヘキサクロロベンゼン、DDT(以上、殺

虫剤)、マイレックス(防火剤)、PCBs、ダイオキシン類、フラン類などが含まれ、多くの場合不完全燃焼の産物である。これらはヒトの健康や生態系に対する毒性を有する物質であり、地球規模の汚染をもたらす可能性が示唆され、近年注目されている。これを防止するための国際的拘束力のある手段として難分解性化学物質の製造・使用の禁止・制限、排出の削減、廃棄物や貯蔵の適正処理等の措置を講ずるため、POPs条約が2001(平成13年)年5月にストックホルムで開催された外交会議で正式に採択された。

しかしながら、我が国においてはこれら難分解性化学物質を定期的にモニタリングすることができる施設は限られており、全国規模のモニタリングに至っては組織的に実施・監督する機関が存在しなかった。今回の厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)によって、初めてこの種の化学物質のリスク管理のためのリスク評価を系統的にできる体制を構築することとなった。これにより、今後新たに対象となる難分解性化学物質についても、日本の汚染地域の同定、性・年齢別の汚染状況を把握することが可能となり、リスク評価の曝露状況をより正確に知ることができる。また、政府等の規制物質の対応や効果の確認も行いやすくなるだけでなく、今後の政策への提言も可能となろう。

例えば、全国規模で毛髪水銀濃度を測定している国立水俣病総合研究センター(安武博士)では、魚介類摂取

状況が異なる地域で毛髪水銀濃度の値が相当異なることを発表している。このような調査は、現在厚生労働省が薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品・毒性合同部会の検討結果を踏まえて発表した「水銀を含有する魚介類等の摂食に関する注意事項」（平成15年6月3日および平成17年11月2日）の事前の曝露評価に活用された。但し、毛髪の場合、パーマ処置によって毛髪水銀濃度が約30%低下するため不正確さが否めないため、赤血球中の水銀濃度を測定することが今後望まれるだろう。したがって、本研究の保存全血が地域の曝露状況を把握するのに有用となろう。

また、生体試料の測定として、現在血液・血清、母乳、食事などが考えられているが、体内の曝露濃度を反映し、比較的low濃度長期曝露の指標となり得、かつ保存スペースを取らない試料として爪が考えられる。爪の採取・収集は非侵襲性であることから、生体試料の項目として考慮する必要がある。特に、難分解性化学物質に含まれるカドミウムや鉛の評価に有用であるかも知れない。もっとも、爪濃度の正確な測定法の確立が急務となるが。

秋田県内における当該試料バンクへの協力に対する県民の理解度は相変わらず低く、今回の採取・収集に当たっても、結果的に個人的な知り合いを通して協力を願う他なかった。特に、母乳の採取に関しては、秋田県内で最も出産数の多い4病院産婦人科において収集を断られ、検体収集を予定期

日までに終了することができなかった。この理由として、秋田県内では出産数が少ないことに加え、母乳栄養を推奨しているため、20 mlの母乳を本研究のために出せないとの産婦人科医の回答であった。また、依頼した産婦人科医師自らが褥婦にお願いする場合は収集率が高いが、一方産婦人科医から病棟助産婦に依頼した場合は収集率が低い傾向があった。このように、参加者に直接的利益を伴わず、かつ研究者が直接収集に携わることが難しい生体試料の場合には、病院・病棟の方針が最優先され、かつ病院に人的負担を強いるため母乳収集の障害となったと考えられる。

本研究は、京都大学大学院医学研究科の「医の倫理委員会」より「POPsのリスク評価に向けてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンク創設に関する研究」の承認を得て実施され、さらに院内倫理委員会をもっている病院では、その倫理委員会の承認を経て実施された。対象者にこの趣旨を理解して頂き、同意書に署名を得た後に採血、母乳・食事収集を行ったが、これ自体に異議を申し立てする者はいなかった。しかしながら、何等益することがないことに不満を訴えていたので、我々は血液（全血および血清）提供者が希望する場合に限り貧血検査（赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、血小板数）を本人の前で自動血球計数器を用いて実施し、その測定結果を直接手渡している（この貧血検査成績は我々の手元に

一切保管されていない)。これによって、全血の収集が新たに加わったにもかかわらず、昨年度を上回る血液・血清の試料バンクへの提供者が現れると期待される。このように、日赤の献血事業のように、何等かの益する情報を試料バンク収集者が提供できる体制を構築しておくことが、協力を得る上で重要となる。

他方、「地域で行われている調査に関心を持ち、積極的に参加することが環境有害物質による健康影響を未然に防止する原動力になる」という認識を地域住民に常日頃訴えることは、地方大学医学部の環境保健担当教官に課された仕事と言えるかもしれない。特に、私の担当地域では「臭いものには蓋をする」ことが過去の風習として残っているが、情報化社会においては、地域における汚点をひた隠ししないで問題の所在を明確にし、解決に向かう方策を練ることの方が住民の将来にとって重要である。地域における環境問題は住民の意識改革から始まるように思われる。

E. 結 論

我々の健康を脅かす怖れのある難分解性化学物質を過去に遡って調査できるようにする生体試料バンクの創設のために、秋田県内より血清 500 検体、母乳 150 検体、食事 333 検体を採取・収集した。我が国における有害物質曝露による健康影響を検討するリスク評価の前段階として、曝露評価が今後ますます重要性を増すと予想

される。この種の試料バンク創設に向けて、生体試料の提供を容易にする戦略を考案・構築することが情報化社会において重要な鍵を握ると考えられる。この一方法として、試料バンクへの協力者に窓口で何等かの検査結果を提供できる体制を整えることが有効と考えられた。

F. 謝 辞

本研究を実施する上でご協力頂きました秋田県総合保健事業団（井上義朗理事、松井邦夫事業推進課長）、秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野の岩田豊人助手、嶽石美和子助手に感謝申し上げます。

G. 研究発表

1. 論文発表

Murata K, Weihe P, Budtz-Jørgensen E, Jørgensen PJ, Grandjean P (2004) Delayed brainstem auditory evoked potential latencies in 14-year-old children exposed to methylmercury. *J Pediatr* 144: 177-183

Grandjean P, Murata K, Budtz-Jørgensen E, Weihe P (2004) Cardiac autonomic activity in methylmercury neurotoxicity: 14-year follow-up of a Faroese birth cohort. *J Pediatr* 144: 169-176
Iwasaki Y, Sakamoto M, Nakai K, Oka T, Dakeishi M, Iwata T, Satoh

- H, Murata K (2003) Estimation of daily mercury intake from seafood in Japanese women: Akita cross-sectional study. *Tohoku J Exp Med* 200: 67-73
- Murata K, Sakai T, Morita Y, Iwata T, Dakeishi M (2003) Critical dose of lead affecting delta-aminolevulinic acid levels. *J Omlup Health* 45: 209-214
- 嶽石美和子, 小野崎幾之助, 坂井公, 森田陽子, 岩田豊人, 村田勝敬 (2003) 仏壇製造に従事する女性労働者における有機溶剤曝露による自律神経機能への影響. *産衛誌* 45: 194-196
- 村田勝敬, 嶽石美和子, 佐藤洋 (2003) メチル水銀基準摂取量のゆくえ. *公衆衛生* 67: 531-533
- 村田勝敬 (2003) 鯨と環境保健. *秋田県公衆衛生学雑誌* 1: 47-49
- 村田勝敬 (2004) 環境有害物質と健康. *秋田大学環境安全センター報* No. 24, 8-9
- Sakamoto M, Kubota M, Liu X-J, Murata K, Nakai K, Satoh H (2004) Maternal and fetal mercury and *n*-3 polyunsaturated fatty acids as a risk and benefit of fish consumption to fetus. *Environ Sci Technol* 38: 3860-3863
- Dakeishi M, Iwata T, Ishii N, Murata K (2004) Effects of alcohol consumption on hepatocellular injury in Japanese men. *Tohoku J Exp Med* 202: 31-39
- Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saito Y, Kurokawa N, Kameo S, Satoh H (2004) The Tohoku Study of Child Development: a cohort study of effects of perinatal exposure to methylmercury and environmental persistent organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children. *Tohoku J Exp Med* 202: 227-237
- Grandjean P, Murata K, Budtz-Jørgensen E, Weihe P (2004) The brainstem as a target of developmental methylmercury toxicity. *RMZ-Materiali in Geookolje* 51: 408-411
- Nakai K, Murata K, Suzuki K, Oka T, Sakamoto M, Yasutake A, Kameo S, Kurokawa N, Sugawara N, Satoh H (2004) Methylmercury exposure in the Tohoku pregnant women. *RMZ-Materiali in Geookolje* 51: 485-487
- Satoh H, Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saito Y, Kurokawa N, Kameo S (2004) A cohort study of effects of perinatal exposures to methylmercury and environmentally persistent

- organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children: study design and status report. *RMZ-Materiali in Geokolje* 51: 512-515
- Ishii N, Iwata I, Dakeishi M, Murata K (2004) Effects of shift work on autonomic and neuromotor functions in female nurses. *J Omlup Health* 46: 352-358
- Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Weihe P, Dakeishi M, Iwata T, Liu X-J, Ohno T, Kurosawa T, Kamiya K, Satoh H (2004) Effects of methylmercury on neurodevelopment in Japanese children in the relation to the Madeiran study. *Int Arch Omlup Environ Health* 77: 571-579
- 村田勝敬, 嶽石美和子, 岩田豊人 (2004) フェロー諸島における出生コホート研究. *環境科学会誌* 17: 169-180
- 村田勝敬, 仲井邦彦, 佐藤 洋 (2004) メチル水銀と健康問題～未来～. *環境科学会誌* 17: 191-198
- 坂井 公, 中嶋義明, 森田陽子, 井上 修, 村田勝敬, 小野崎幾之助 (2004) 低濃度 n-ヘキサン曝露の指標としての遊離および総 2,5-ヘキサンジオンの有用性. *日職災医誌* 52: 308-314
- 村田勝敬 (2004) 妊婦は魚を食べない方がよいか. *総合臨床* 53: 2750-2752
- 村田勝敬, 嶽石美和子 (2005) 胎児性メチル水銀曝露の小児発達影響と臨界濃度—セイシェルおよびフェロー諸島の研究を中心に—. *日衛誌* 60: 4-14
- 嶽石美和子, 村田勝敬 (2005) 環境疫学における小児の神経生理機能の評価. *医学のあゆみ* 212: 243-246
- 岩田豊人, 村田勝敬 (2005) 環境有害因子に曝露された小児の神経運動機能の評価. *医学のあゆみ* 212: 247-250
- Iwata T, Mori H, Dakeishi M, Onozaki I, Murata K (2005) Effects of mixed organic solvents on neuromotor functions among workers in Buddhist altar manufacturing factories. *J Omlup Health* 47: 143-148
- Wada Y, Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, Inoue S, Eslami B, Hirose I, Hirose A, Fujii S, Fujimine Y, Hachiya N, Koda S, Kusaka Y, Murata K, Nakatsuka H, Omae K, Saito N, Shimbo S, Takenaka K, Takeshita T, Todoriki H, Watanabe T, Ikeda M (2005) Secular trends and geographical variations in the dietary intake of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) using archived samples

- from the early 1980s and mid 1990s in Japan. *J Omlup Health* 47: 236-241
- Murata K, Yano E, Hashimoto H, Karita K, Dakeishi M (2005) Effects of shift work on QTc interval and blood pressure in relation to heart rate variability. *Int Arch Omlup Environ Health* 78: 287-292
- Dakeishi M, Nakai K, Sakamoto M, Iwata T, Suzuki K, Liu X-J, Ohno T, Kurosawa T, Satoh H, Murata K (2005) Effects of hair treatment on hair mercury - the best biomarker of methylmercury exposure. *Environ Health Prev Med* 10: 208-212
- Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, Inoue S, Eslami B, Fujii S, Fujimine Y, Hachiya N, Koda S, Kusaka Y, Murata K, Nakatsuka H, Omae K, Saito N, Shimbo S, Takenaka K, Takeshita T, Todoriki H, Wada Y, Watanabe T, Ikeda M (2005) Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s. *Environ Res* 99: 31-39
- Ishii N, Dakeishi M, Iwata T, Sasaki M, Murata K (2005) Cardiac autonomic imbalance in female nurses with shift work. *Auton Neurosci* 122: 94-99
- Karita K, Yano E, Dakesihi M, Iwata T, Murata K (2005) Benchmark dose of lead inducing anemia at the workplace. *Risk Anal* 25: 957-962
- Iwata T, Yano E, Karita K, Dakeishi M, Murata K (2005) Critical dose of lead affecting postural balance in workers. *AM J Ind Med* 48: 319-325
- Sakamoto M, Murata K, Nakai K, Satoh H (2005) Difference in methylmercury exposure to fetus and breast-feeding offspring: a mini-review. *Kor J Environ Health* 31: 179-186
- Iwata T, Nakai K, Sakamoto M, Dakeishi M, Satoh H, Murata K (2006) Factors affecting hand tremor and postural sway in children. *Environ Health Prev Med* 11: 15-21
- Karita K, Nakao M, Nishikitani M, Iwata T, Murata K, Yano E (2006) *J Omlup Health* 48: 65-68
- 村田勝敬 (2005) メチル水銀のリスク評価. *安全医学* 2: 38-42
- 嶽石美和子, 小野崎幾之助, 本橋豊, 岩田豊人, 村田勝敬 (2005) 秋田県における小規模事業所の受動喫煙防止対策と従業員の健康状態の関連. *産衛誌* 47: 139-141
- 石井範子, 嶽石美和子, 佐々木真