

## 分担研究報告書

### 油症患者の血液中ポリ塩化ビフェニール異性体分析における分析条件の検討

研究分担者	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	課長
研究協力者	広瀬勇氣	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	上原口奈美	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	梶原淳睦	公益財団法人北九州生活科学センター	参事
	千々和勝己	公益財団法人北九州生活科学センター	常務理事
	池田光政	公益財団法人北九州生活科学センター	理事長

**研究要旨** HT-8 PCB カラムを用いてヒト血液中 PCB の異性体分析を行ってきたが、カラム固定相の原材料が製造中止となり、従来使用していたカラムでの分析が出来なくなった。その代替りとして、新しい新規ポリマーを固定相に配合したカラムが発売された。各異性体の分離に関しては、以前使用していたカラムより良好であったが、測定時間が約 60 分と長く従来法の 2 倍の時間を要する。今回、新たに発売された分析カラムを用いて、PCB 異性体の分離および測定時間の改善に関して検討を行った。その結果、各異性体の分離は、検討前の方法より良好で、分析時間も 40 分程度となり、20 分短縮可能となった。今後もヘリウムガスの供給が制限された場合、本法はヘリウムガスの消費を抑制できるので非常時の対策として有効である。

#### A. 研究目的

Thermo Fisher Scientific 社のガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置を用いて、油症患者血液中ダイオキシン類の高感度分析法を検討している。今年度も新型コロナウイルスの影響により、海外から検討に必要なパーツ類が十分に供給されないため、従来法よりも高感度かつ高精度な分析法を確立するまでには至っていない。従って、今年度の研究テーマを変更し、油症患者の血液中ポリ塩化ビフェニール異性体分析における分析条件の検討という内容で報告を行う。

ポリ塩化ビフェニール(PCB)は、塩素の置換数・位置により理論的に 209 種類の異性体が存在する。ヒト血液中では、約 70 種類の異性体を測定対象としている<sup>1)</sup>。従来使用していたカラムの固定相は、メ

タカルボラン骨格にフェニル基がついた構造を基本としていたが、カラム固定相の原材料が製造中止になり、従来使用していた分析カラムの供給が停止されたため、その代替りとして新しい新規ポリマーを固定相に配合したカラムが発売された。各異性体の分離に関しては、以前使用していたカラムより良好であったが、測定時間が約 60 分と長く従来法の 2 倍の時間を要する。従って、年間約 400 検体の測定を行う場合、この分析法での PCB 異性体分析は、効率的な方法ではない。

今回、この問題を解決するために、各異性体の分離を維持したまま、分析時間を可能な限り短縮できるように昇温時間の条件検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. 分析方法

高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置 (GCMS) に関して、GC 部は Agilent 社製 HP-7890A、MS 部は Micromass 社製 AutoSpec Premier を用い、試料注入はオートサンプラー Combi-PAL (CTC Analytics 社製) を使用した。カラムは HT-8 PCB (Trajan 製、内径; 0.25; 長さ; 60m) を用いた。昇温条件は、100°C で 1 分間保持、180°C まで 20°C/分 で昇温、180°C で 0 分間保持、260°C まで 2°C/分 で昇温、260°C で 0 分間保持、300°C まで 5°C/分 で昇温、300°C で 0 分間保持、320°C まで 10°C/分 で昇温、320°C で 5 分間保持の条件化で行った。イオン化法は、EI 法で、イオン源温度とインターフェイス温度は、それぞれ 280°C で、イオン化電圧、イオン化電流、および加速電圧は、それぞれ 40eV, 750  $\mu$  A および 8000V に設定し、分解能 10000 に調整した。

(倫理面への配慮)

本研究の結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

## C. 研究結果・考察

従来血液中 PCB の異性体分析に使用していた分析カラムは、PentaCB (#132) と PentaCB (#153) との分離の悪さが顕著に見られていたが、新しいタイプのカラムでは、良好な分離が得られている。各異性体の分離を維持したまま、分析時間を短縮できるように昇温時間の検討を行った。その結果、昇温条件を、130°C で 1 分間保持、220°C まで 20°C/分 で昇温、220°C で 0 分間保持、280°C まで 2°C/分 で昇温、280°C で 0 分間保持、320°C まで 20°C/分 で昇温、320°C で 2.5 分間保持の条件化で行うと、検討前の方法よりも良好な分離が得られるとともに、分析時間が 20 分短縮可能となった。

令和 3 年および令和 4 年に油症検診を受診した未認定患者は、それぞれ 92 および 131 名であった。その両年度に受診を行った 27 名の未認定患者の血液中 PCB 異性体濃度分析を、従来法と検討した方法により行い各異性体濃度を比較した。令和 4 年度に検診を行った 27 名の未認定患者の血液中 PCB 異性体濃度を検討した方法により測定した結果、PentaCB (#118), HexaCB (#153), HexaCB (#156) および total PCB 濃度の各値は、令和 3 年度に従来法で測定した各値とほとんど同じ値であった (表 1)。さらに、令和 4 年度の PCB 異性体分析の結果を基に行った 27 名のパターン解析の判定結果を、令和 3 年度の結果と比較すると、すべて同じ判定結果が得られ、測定法の違いによる影響は認められなかった。

## D. 結論

近年、血液中 PCB の異性体分析に使用していた分析カラムの供給が停止されたため、従来法とは異なる新規ポリマーを固定相に配合した新しい分析カラムが発売された。PCB 各異性体の分離に関しては、従来使用していたカラムより良好な分離が得られたが、測定時間が約 60 分と長く、年間約 400 検体の測定を行う場合、キャリア-ガスとして用いるヘリウムの消費量も多くなり効率的な方法ではない。今回、昇温時間の検討を行った結果、検討前の方法よりも良好な分離が得られるとともに、分析時間が 20 分短縮可能となった。

ヘリウムガスは世界的な需給の逼迫により、日本への供給が制限されている。ヘリウムガスをキャリア-ガスとして用いる測定では、その対策として極力消費量を抑える、もしくは代替ガスへの変更などの対策が必要である。高分解能質量分析装置による PCB 異性体分析は、イオン源部内で、超高真空の条件下で PCB 異

性体のイオン化を行っている。キャリアーガスとして水素ガスを用いた場合、ヘリウム使用時と同様な超高真空度が得られないので、PCB の異性体分析を行うのは不可能です。一方窒素ガスは安全性の高いガスですが、キャリアーガスとして用いた場合、PCB 異性体の検出感度が低下し、異性体の分離も良好でないため、これら代替ガスによる PCB の異性体分析は、極めて困難です。

今後もヘリウムガスの供給が制限された場合、今回行った血液中 PCB の異性体分析法の検討は、測定時間を短縮でき、ヘリウムガスの消費を抑制できるので非常時の対策として有効である。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) ○Sato T, Kogiso T, Kamiharaguchi N, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Furue, M, Tsuji G. Polychlorinated quaterphenyl concentrations in the blood and their patterns in subjects examined for a possible diagnosis of Yusho from FY 2009 to 2019. Fukuoka Igaku Zasshi, 2021; 112(2): 90-98.
- 2) ○Shintani Y, Hori T, Tobiishi K, Hirakawa H, Sato T, Yasutake D, Todaka T, Kajiwara J, Katsuki S, Tsuji G, Furue M. Interlaboratory cross-comparison study of dioxins and PCBs analysis in human blood samples (from FY 2016 to 2019). Fukuoka Igaku Zasshi, 2021; 112(2): 99-109.

### 2. 学会発表

なし

## F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 参考文献

- 1) Todaka T, *et al.* Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over thirty-five years after the Yusho incident. Chemosphere, 2009;74:902-909.

表 1 令和3および令和4年の両年度に油症検診を受診した27名の血液中ポリ塩化ビフェニール濃度

	Concentration (p g / g)							
	2021				2022			
	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum
TriCB-29	0.033	0.043	0.015	0.155	0.034	0.039	0.015	0.163
TriCB-28	1.949	1.310	0.461	5.656	1.882	1.205	0.629	5.648
TriCB-37	0.015	0.000	0.015	0.015	0.015	0.000	0.015	0.015
TetraCB-52	0.819	0.955	0.015	3.581	0.763	0.911	0.136	3.356
TetraCB-49	0.198	0.178	0.015	0.921	0.218	0.177	0.015	0.851
TetraCB-47	0.556	0.305	0.269	1.577	0.606	0.328	0.311	1.582
TetraCB-44	0.255	0.117	0.015	0.653	0.212	0.152	0.015	0.676
TetraCB-71	0.039	0.033	0.015	0.134	0.027	0.019	0.015	0.076
TetraCB-63	0.129	0.141	0.015	0.526	0.134	0.151	0.015	0.614
TetraCB-74	15.318	28.421	1.150	141.239	15.015	25.167	1.408	121.567
TetraCB-70	0.207	0.098	0.079	0.499	0.159	0.065	0.042	0.285
TetraCB-66	1.672	1.466	0.208	6.034	1.762	1.530	0.413	6.788
TetraCBs-56/60	0.353	0.316	0.081	1.421	0.407	0.317	0.015	1.321
PentaCB-95	0.402	0.396	0.015	2.055	0.466	0.493	0.015	2.522
PentaCB-92	0.569	0.675	0.015	3.243	0.618	0.780	0.015	3.782
PentaCB-101	1.571	2.019	0.137	10.227	1.668	2.275	0.122	11.942
PentaCB-99	12.438	17.540	2.029	89.710	12.731	15.361	2.348	70.665
PentaCB-117	1.090	1.475	0.015	5.899	1.100	1.572	0.015	7.081
PentaCB-87	0.831	1.118	0.015	5.138	0.473	0.670	0.015	2.618
PentaCB-85	0.290	0.300	0.015	1.082	0.134	0.185	0.015	0.692
PentaCB-110	0.259	0.222	0.015	0.993	0.379	0.381	0.015	1.713
PentaCB-107	1.124	1.328	0.015	4.861	1.133	1.362	0.015	5.387
PentaCB-123	0.385	0.551	0.015	2.260	0.442	0.567	0.015	2.286
PentaCB-118	25.499	37.165	2.346	171.370	25.282	33.733	3.008	149.069
PentaCB-114	3.101	4.899	0.099	19.667	3.208	4.734	0.135	18.028
PentaCB-105	4.343	6.547	0.537	32.412	4.024	5.069	0.510	23.541
HexaCB-151	1.066	1.279	0.015	5.892	1.055	1.240	0.053	6.171
HexaCB-135	0.384	0.438	0.015	1.841	0.347	0.393	0.015	1.700
HexaCB-147	0.642	0.872	0.015	4.117	0.678	0.926	0.015	4.520
HexaCB-139	0.204	0.208	0.015	1.069	0.136	0.282	0.015	1.327
HexaCB-134	0.021	0.033	0.015	0.190	0.022	0.030	0.015	0.172
HexaCB-165	0.015	0.000	0.015	0.015	0.067	0.111	0.015	0.527
HexaCB-146	28.536	43.914	1.353	176.706	29.029	42.931	1.801	191.705
HexaCB-132	0.045	0.081	0.015	0.388	0.138	0.228	0.015	1.073
HexaCB-153	152.023	230.814	8.858	897.404	157.303	224.358	12.193	863.784
HexaCB-141	0.218	0.315	0.015	1.552	0.237	0.340	0.015	1.696
HexaCB-137	4.255	6.984	0.288	32.443	4.116	6.031	0.310	23.414
HexaCB-130	4.199	6.163	0.223	23.608	4.225	6.070	0.162	26.576
HexaCB-164	30.845	46.432	1.166	191.667	37.308	55.268	2.220	236.359
HexaCB-138	56.408	91.984	4.314	432.780	57.534	83.438	6.179	358.509
HexaCB-128	0.793	1.004	0.015	4.902	0.573	0.719	0.015	3.613
HexaCB-167	6.054	9.437	0.325	36.250	6.378	9.456	0.243	36.740
HexaCB-156	14.639	21.221	0.646	76.293	13.722	18.624	0.778	78.127
HexaCB-157	3.215	4.574	0.136	16.892	3.150	4.118	0.177	16.336
HeptaCB-179	0.185	0.208	0.015	1.056	0.168	0.245	0.015	1.213
HeptaCB-178	16.702	27.224	0.484	113.315	16.614	27.136	0.650	125.285
HeptaCB-182	68.708	114.995	2.058	453.108	66.470	110.663	2.460	497.755
HeptaCB-183	10.441	17.266	0.552	73.901	9.962	14.978	0.561	56.815
HeptaCB-181	0.111	0.279	0.015	1.431	0.087	0.181	0.015	0.801
HeptaCB-177	12.654	20.541	0.528	75.687	11.418	18.018	0.580	70.759
HeptaCB-172	8.005	13.240	0.185	53.014	7.723	12.930	0.235	58.614
HeptaCB-180	156.487	252.893	3.934	1010.223	163.194	265.972	5.419	1159.743
HeptaCB-191	1.129	1.696	0.015	5.762	1.232	1.751	0.038	6.539
HeptaCB-170	40.220	62.921	1.146	245.428	40.193	63.281	1.403	277.672
HeptaCB-189	2.496	3.721	0.015	15.634	2.557	3.850	0.015	16.914
OctaCB-202	9.758	15.747	0.248	63.788	7.728	13.018	0.070	57.562
OctaCB-200	0.814	1.511	0.015	7.170	0.564	0.970	0.015	4.449
OctaCB-201/198	29.315	48.544	0.452	202.618	28.030	46.787	0.500	209.775
OctaCB-203	14.353	22.921	0.189	90.444	13.092	21.710	0.402	99.987
OctaCB-195	3.718	5.918	0.097	22.344	3.506	5.613	0.015	24.856
OctaCB-194	26.554	43.450	0.441	187.688	27.157	46.943	0.463	217.591
OctaCB-205	0.557	0.846	0.015	3.455	0.445	0.928	0.015	4.376
NonaCB-208	1.220	1.711	0.015	7.300	1.290	1.908	0.037	8.930
NonaCB-207	0.435	0.533	0.015	2.014	0.381	0.512	0.015	2.300
NonaCB-206	3.736	5.178	0.104	22.041	3.659	5.134	0.130	23.731
DecaCB-209	2.530	2.574	0.139	10.668	2.627	2.799	0.211	11.841
Total TriCBs	1.997	1.317	0.491	5.827	1.930	1.199	0.659	5.678
Total TetraCBs	19.545	30.191	2.495	148.922	19.304	26.809	2.957	127.215
Total PentaCBs	51.902	71.471	5.796	330.972	51.658	64.267	6.673	271.425
Total HexaCBs	303.561	458.168	18.352	1778.600	316.018	448.327	24.678	1749.923
Total HeptaCBs	317.137	511.984	9.459	2014.129	319.617	515.972	11.619	2265.843
Total OctaCBs	85.069	138.152	1.528	573.818	80.521	135.059	1.613	616.787
Total NonaCBs	5.392	7.399	0.134	31.355	5.330	7.517	0.202	34.961
Total PCBs	787.133	1201.211	38.394	4437.238	797.007	1177.687	48.746	4943.647

ND: less than the detection limit.

SD: standard deviation.

CB: chlorinated biphenyl.