

第3回 福岡県保健環境研究所研究終了報告会

(平成15年度研究終了課題)

講演要旨集

目 次

1	ノロウイルスを原因とするウイルス性食中毒の高感度検出法の開発	119
2	エイズ予防対策としての福岡県における HIV-1分離株の解析	123
3	インフルエンザウイルスの流行株の解析	127
4	油症及びダイオキシンに関する研究	131
5	ダイオキシン類の排泄促進に関する研究 ダイオキシンの人体汚染防止及び食生活指針に関する研究	135
6	大気中ダイオキシン類関連化合物の植物葉への沈着状況解明のための モデル植物葉試作と大気長期計測法の開発	139
7	底質中のダイオキシン類の処理に関する研究	143
8	廃棄物埋立処分場の適正管理に関する研究	145
9	生活環境中のラドン等の動態と低減化に関する調査研究	149

ノロウイルスを原因とするウイルス性食中毒の高感度検出法の開発

研究期間（平成13年度～15年度）

濱崎光宏^{*1}，長野英俊^{*2}，梶原淳睦^{*1}，江藤良樹^{*1}，世良暢之^{*1}，石黒靖尚^{*1}，千々和勝己^{*1}

要 旨

ウイルス性食中毒の主な原因ウイルスであるノロウイルスの検出効率の向上と検査時間の短縮を目的として、新たなプライマーのデザインおよび PCR 条件の検討を行った。まず、新たなプライマーをデザインするために、福岡県で流行しているノロウイルスの遺伝子型を調査した。69株のウイルスについて RNA ポリメラーゼ領域の塩基配列を比較した結果、G1型が3株、G2型が66株であり、ほとんどが G2 型であった。これらのウイルス遺伝子を元に新たなプライマーをデザインした。このプライマーを使用した場合、ノロウイルスの検出率は、現在使用している NV 系プライマーと同程度であった。次に、PCR 条件の検討を行った。熱変性、再結合、伸長のそれぞれの反応温度は変更せず、反応時間を30秒に変更すると、PCR の反応時間を1.5時間に短縮でき、検出効率も16倍向上させることができた。また、ノロウイルスの食品からの検出方法について、陽電化フィルターを用いたウイルス濃縮方法を応用し添加実験を行った。その結果、ウイルスの回収量は30%以上であり、実際のウイルス検査業務に十分使用できるものと考えられる。以上の研究結果をノロウイルスの検査に応用することにより、検出効率の向上と検査時間の短縮および感染源の特定が期待でき、いち早く検査結果を行政の施策に反映できると考えられる。

[キーワード： Norovirus，ウイルス性食中毒，SRSV，食品衛生，Norwalk like virus]

1 はじめに

冬季に発生する食中毒は、ウイルスに起因する 경우가多く、ノロウイルスが主な原因ウイルスとされている。ノロウイルスは、現在、動物や培養細胞を用いた培養方法が確立されていないため、その検出は電子顕微鏡法および PCR 法の2つの方法で行っている。しかし、前者は検出効率が低く、後者は検出効率は高いが、特異性が高いためプライマーが一致しない変異ウイルスを検出することは難しい。また、検体搬入から確認試験終了まで4～5日要しているが、検査結果を行政施策にいち早く反映させるためには、検査時間の短縮は必要不可欠である。さらに、食品からの検出方法も確立されていないため、食中毒事例において、汚染原因を特定できない場合が多く問題になっている。以上の問題を解決するために、我々は、福岡県下で流行しているノロウイルスの遺伝子型を調査し、新たなプライマーの設計、PCR 条件の検討および食材からノロウイルスの検出方法の検討を行った。

2 研究方法

2・1 福岡県で流行しているノロウイルスの調査

平成11年6月から平成14年3月にかけて食中毒行政依頼検査および感染症発生動向調査で搬入された便211件について PCR 法でウイルス遺伝子を増幅を試みた。遺伝子の増幅が確認された検体について、ダイターミネーター法でサイクルシーケンスを行い塩基配列を決定した。決定した塩基配列をクラスタル法で多重整列を行い、分子系統樹を作成した。標準株として比較に用いたノロウイルスを表1に示す。作成した分子系統樹より、分離株の遺伝子型を決定した。

2・2 PCR条件の検討

PCR 法でノロウイルスが検出された平成13年11月27日に搬入された検体（FC1）について、ウイルス RNA を抽出し、ランダムプライマーおよび逆転写酵素を用いて cDNA を合成した。得られた cDNA を2倍段階希釈し、PCR 条件の検討を行った。PCR 産物は、アガロースゲル電気泳動で確認した。

*1 福岡県保健環境研究所

(〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

*2 田川保健福祉環境事務所

(〒825-8577 福岡県田川市大字伊田松原通り3292-2)

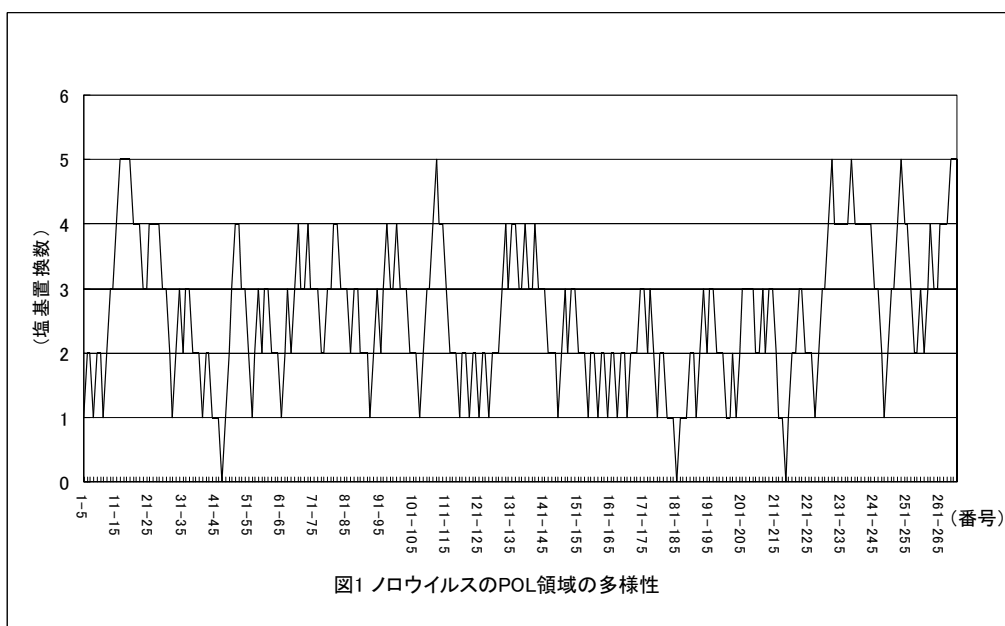


表1. 比較したノロウイルスの標準株

株名	GenBank登録番号
Norwalk virus	M87661
Lordsdale virus	X86557
Camberwell virus	U46500
Mexico virus	U22498
Hawaii virus	U07611
Snow Mountain virus	U70059
Melksham virus	X81879
Yuri virus	AB009876

表2. 検出されたノロウイルスの遺伝子型

グループ	遺伝子型	検出数
G1	Norwalk virus	3
	Lordsdale virus	1
	Camberwell virus	7
	Mexico virus	13
	Hawaii virus	15
	Snow Mountain virus	12
	Melksham virus	4
	Yuri virus	6
	その他	8

2・3 食材からノロウイルスの検出方法の検討

市販の野菜サラダおよび自家製おにぎりの2品目について、それぞれ FC1を高濃度 (2.2×10^7 copy/g) および低濃度 (2.2×10^5 copy/g) になるように添加した。1～2時間室温に放置し、陽電化フィルター (Cuno 社, USA) を用いてウイルスの濃縮を行った。回収したウイルス量は、サイバークリーン法を用いて測定した。

3 結果及び考察

3・1 福岡県で流行したノロウイルスの調査

平成11年6月から平成14年3月に福岡県で流行したノロウイルスの遺伝子型を表2に示す。ノロウイルスは、G1型および G2型の2つの遺伝子型に分類されている。検出された69株は、G1型が3株、G2型が66株であった。G2型のうち、Hawaii 型が15株と最も多く、次に Mexico 型、

Snow Mountain 型の順であった。また、G2型には分類されるが、標準株と異なる遺伝子型を持つウイルスが8株検出された。このように福岡県において多様なノロウイルスによる流行が発生しているが、インフルエンザウイルスやエンテロウイルスのように分離された時期による遺伝子型の変化は観察されなかった。

3・2 プライマーのデザインおよび評価

検出した69株のノロウイルスについて、RNA ポリメラーゼ領域270bp の塩基配列を比較した。塩基配列の5塩基ごとに69株間の塩基置換数を比較したものを図1に示す。その結果、ノロウイルスは多様性に富んでいるが、39塩基付近と224塩基付近に塩基置換数が少ない箇所がある。この領域について、我々は新たな検出用のプライマー (SRSV4625-SRSV4809) をデザインした。このプ

ライマーと現在使用している RNA ポリメラーゼ領域に設定された NV 系プライマー¹⁾(NV81, NV82, SM82)およびカプシド領域に設定されたカプシド系プライマー²⁾(COG1F-G1SKR, COG2F-G2SKR)についてノロウイルスの検出率を比較した。平成11年から12年にかけて搬入された検体より任意に50検体選び、それぞれのプライマーを用いて PCR を行った。その結果を図2に示す。50検体中26件は、いずれのプライマーを用いても検出することができなかった。3種類全てのプライマーで検出できたのは11件、カプシド系プライマーと NV 系プライマーで検出できたのは2件、カプシド系プライマーのみで検出されたのが1件、NV 系プライマーのみで検出されたのは4件であった。カプシド系プライマーと SRSV4625-SRSV4809プライマーで検出できたのは、6件であった。カプシド系プライマーで検出できた総数は20件、SRSV4625-SRSV4809プライマーおよび NV 系プライマーで検出できたのは17件であった。カプシド系プライマーが最も検出数が多かったが、これは、設定している領域がカプシド領域と RNA ポリメラーゼ領域で違うためと考えられる。RNA ポリメラーゼ領域の NV 系プライマーと SRSV4625-SRSV4809プライマーを比較すると、NV 系プライマーは、Nested PCR が必要なため検査時間が SRSV4625-SRSV4809プライマーと比較して2倍要する。このことを考慮すると、我々がデザインした SRSV4625-SRSV4809プライマーは、NV 系プライマーより優れていると考えられる。

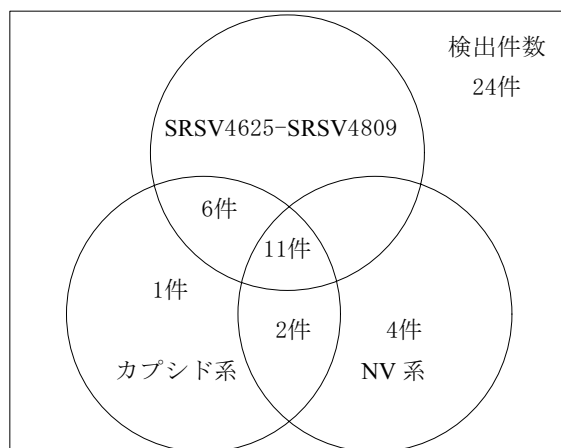


図2. 新たにデザインしたプライマーの評価

検査件数：50件、いずれかのプライマーで検出された件数：24件、
いずれのプライマーでも検出されなかった件数：26件

3・3 PCR条件の検討

検査時間を短縮するために PCR の反応時間について検討を行った。反応温度については、変更せずに反応時間のみを検討した。その結果を表3に示す。従来法の場合

合は、cDNA の希釈倍率が4倍までしか DNA を検出することができなかったが、方法1の場合は、64倍希釈まで検出することができ従来法と比較して検出効率が16倍向上した。さらに、反応時間は、従来法の約50%に短縮することができた。また、方法2および方法3においても従来法より検出効率が4倍以上向上していた。この原因は、従来法において、使用している TaqDNA ポリメラーゼが長時間の反応で不活化したため、検出効率が低下していると考えられる。このため、反応時間を最適なものに設定すると検出効率が向上したと考えられる。

表3. PCR条件の検討

	熱変性	再結合	伸長	反応時間	最大希釈率
従来法	60秒	60秒	60秒	約3時間	4倍
方法1	30秒	30秒	30秒	約1.5時間	64倍
方法2	10秒	10秒	10秒	約0.5時間	8倍
方法3	10秒	10秒	30秒	約1時間	16倍

3・4 食品からノロウイルス検出方法の確立

ノロウイルスは、食品中では増殖しないと考えられており、調理の際に手指がふれる可能性がある食品が汚染原因になる可能性が高いと考えられる。そこで、我々は、野菜サラダとおにぎりについて添加実験を行った。その結果を表4に示す。添加したウイルス数は、 2.2×10^7 copy/g および 2.2×10^5 copy/g の濃度で食品20g に添加しウイル

表4. ノロウイルスの食品への添加実験

	添加量 (copy)	回収量 (copy)	回収率 (%)
野菜サラダ	4.4×10^8	$1.9 (\pm 0.58) \times 10^8$	30~52
	4.4×10^6	$2.2 (\pm 0.42) \times 10^6$	44~56
おにぎり	4.4×10^8	$1.3 (\pm 0.42) \times 10^8$	24~36
	4.4×10^6	$1.5 (\pm 0.28) \times 10^6$	30~38
コントロール	4.4×10^8	$3.8 (\pm 0.35) \times 10^8$	80~90
	4.4×10^6	$3.9 (\pm 0.21) \times 10^6$	84~90

スの回収量を調査した。その結果を表4に示す。表より、コントロールとして食品を加えずに陽電化フィルターのみのノロウイルス回収率は、80%以上あり添加したウイルスのほとんどが回収できたと考えられる。食品に添加したほとんどの検体から30%以上のウイルスを回収することができた。また、自家製おにぎりから回収率が低かったのは、多糖類が多く含まれているため、ウイルスが多糖類に吸着し陽電化フィルターで回収ができなかったと考えられる。我々が行った食品からのノロウイルス検出方法を図3に示す。実際の食品中に付着したウイルス量は、非常に微量であると考えられたため、検出できるウ

ウイルス量を得るためには、できるだけ多量の食品からウイルスを濃縮する方法が必要である。図3に示した方法は、20g から100g 程度の食品から付着したウイルスを濃縮することができるため、非常に有用であると考えられる。

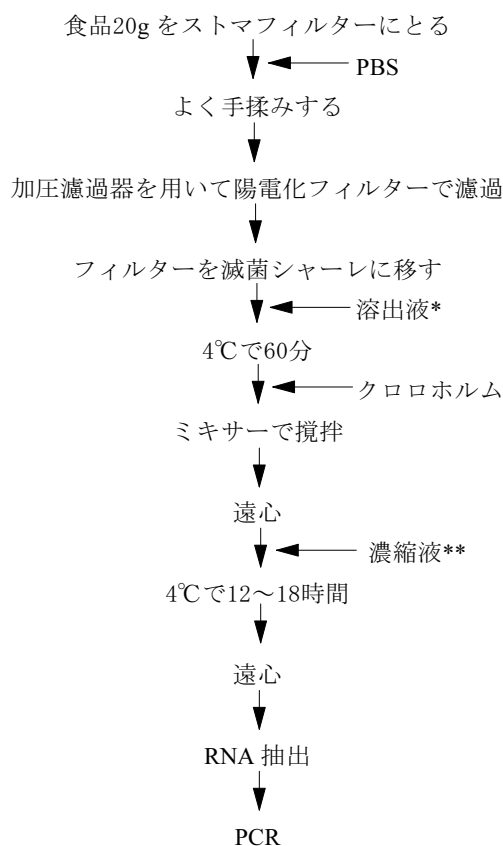


図3. 食品からのノロウイルス検出方法

*溶出液 (3%肉エキス, 1%塩化ナトリウム, 15%硝酸ナトリウム),

**濃縮液 (16%ポリエチレングリコール, 0.8M塩化ナトリウム)

4 まとめ

平成11年から平成14年にかけて福岡県で流行したノロウイルスは、主に G2型のウイルスであり G1型は希であった。検出されたノロウイルスの塩基配列を元に本研究でデザインしたプライマー (SRSV4625, SRSV4809) は、NV 系プライマーと同程度の検出効率であったが、Nested PCR の必要がなく First PCR で判定可能であるため検査時間を短縮することができる。また、PCR 条件の検討を行った結果、反応時間を短縮した方が検出効率が向上し、検査時間も短縮できることが確認された。さらに食品からのノロウイルスの検出方法も確立することができた。以上のことから、今後のウイルス性食中毒検査において、迅速な検査が可能となり、感染源の特定が可能になると考えられる。

5 行政的意義, 貢献

行政処分が伴う食中毒検査において、迅速で高感度なノロウイルスの検査が可能となった。また、原因食品の特定も可能となり、今後の食品衛生行政に貢献できると考えられる。

謝辞

この研究にご指導, ご協力を賜った当所病理細菌課の堀川和美専門研究員, 村上光一専門研究員に感謝致します。

文献

- 1) Ando, T., S. S. Monroe, J. R. Gentesch, Q. Jin, D. C. Lewis, and R. I. Glass. 1995. Detection and differentiation of antigenically distinct small round-structured viruses by reverse transcription-PCR and southern hybridization. J. Clin. Microbiol. 33:64-71.
- 2) Kojima, S., T. Kageyama, S. Fukushi, F. B. Hoshino, M. Shinohara, K. Uchida, K. Natori, N. Takeda, and K. Katayama. 2002. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. J. Virol. Methods 100:107-114.

エイズ予防対策としての福岡県におけるHIV-1分離株の解析

研究期間（平成13年度～15年度）

千々和勝己^{*1}，江藤良樹^{*1}，林純^{*2}，柏木征三郎^{*3}

要 旨

HIV-1感染者の血液からウイルス RNA を抽出し、RT-PCR 法で増幅した後、逆転写酵素・プロテアーゼ領域の遺伝子の塩基配列を決定した。その結果から、薬剤耐性変異の有無を検討し、またサブタイプを決定した。過去に採取し保存していたものも含めた、治療開始前と思われる検体について、逆転写酵素領域の薬剤耐性変異を調べたが、23件全てに耐性変異が見られなかった。しかし、プロテアーゼ領域の薬剤耐性変異は9件中6件に見られた。治療中の4名の感染者については、逆転写酵素とプロテアーゼ遺伝子上の薬剤耐性変異の経時的変化を観察することができた。また、これまでに通算60名の日本人感染者についてサブタイプを決定することができ、依然サブタイプ B が56名と大半を占めるが、サブタイプ E が3名、サブタイプ C も1名見られ、B 以外のサブタイプの増加が見られた。これらのことから、薬剤耐性株や、現在はまだ少数である B 以外のサブタイプの株が、今後流行する可能性があり、監視を強める必要がある。

[キーワード：HIV，AIDS，薬剤耐性，サブタイプ]

1 はじめに

HIV 感染者には抗ウイルス剤の投与が一般的となり、発症予防という点ではかなりの効果をあげている。しかし、使用する薬剤も多種となってきたことに伴い、多様な薬剤耐性株の出現が確認され、治療上大きな問題となっている。そこで、県内での薬剤耐性株の流行の実態を把握することと、各感染者については、治療上有益な情報を提供することを目的として本研究を行った。また、HIV-1の場合はサブタイプ（亜型）により感染経路等に特徴があることが多い。そこで、県内のウイルスのサブタイプを決定し、分子疫学的な情報を得て、予防対策立案の参考とすることも目的とした。

2 研究方法

2・1 対象

対象は、九州大学医学部附属病院を受診した HIV-1感染者で、血液から末梢血リンパ球と血漿を分離し、血漿を検体とした。未治療と考えられる感染者の検体は、1991年から2002年までに47名から、また、治療中の感染

者の検体は2002年7～12月に16名から採取した。なお、経時的な変化を解析した感染者については、過去に採取し、凍結保存していた検体も用いた。また、以前に行ったサブタイプの解析には、国立病院九州医療センターにおいて採取された検体も含まれる。

2・2 薬剤耐性変異の解析

血清からの HIV RNA の抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN 社)を用いて行った。抽出した RNA について AMV one step RNA PCR kit (宝酒造)で RT-PCR を行い、さらに PyroBest DNA Polymerase (宝酒造)を用いて nested PCR を行った。逆転写酵素(RT)領域の PCR に用いたプライマーは、平成11年度の国立感染症研究所における HIV 検査法技術講習会で示された、DRRT16・DRRT17(1st)，及び DRRT7・DRRT10(2nd)，または森らの方法¹⁾に示されたプライマーであった。また、プロテアーゼ(Pro)領域の PCR には同じく研修会で紹介された、DRPR01・DRPR02(1st)，及び DRPR03・DRPR04(2nd)，または森らの方法¹⁾に示されたものを用いた。得られた PCR 産物を精製し、dye terminator 法で塩基配

*1 福岡県保健環境研究所 (〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

*2 九州大学医学部 (〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1)

*3 元九州大学医学部，元国立病院九州医療センター，
現福岡県赤十字血液センター (〒818-8588 福岡県筑紫野市上古賀1丁目2番1号)

表1 未治療感染者における薬剤耐性変異

解析領域	採取時期	件数	解析可能例数	1次変異	2次変異
逆転写酵素	1991-2002	47	23	0	0
プロテアーゼ	1996-2002	20	9	2(1)	5(1)

()は、1次変異、2次変異の両方を持つもの

列を決定し、それを基に各領域のアミノ酸配列を明らかにし、薬剤耐性に関与する変異の有無を検討した。

血中 HIV-1 RNA の定量は、アンプリコア HIV-1 モニター v1.5 (ロシュ社) を用いて行った。

2・3 分子系統樹解析によるHIV-1のサブタイプの決定

薬剤耐性変異を解析するために塩基配列を決定した pol 遺伝子上の約580塩基に相当する各サブタイプのシーケンスを NCBI (National Center for Biotechnology Information) から収集し、遺伝子解析ソフトの Laser Gene (DNA STAR 社製) を用いて分子系統樹を作成し、それに、検体のシーケンスを加え、どのクラスターに入るかにより、サブタイプを決定した。

3 結果及び考察

3・1 薬剤耐性変異の解析

県内で実際に薬剤耐性株が感染を引き起こしている可能性を検討するため、過去に採取した未治療であると考えられる感染者の血中ウイルスについて解析を試みた (表1)。まず、RT 阻害剤に対する薬剤耐性を調べるために、RT 領域を RT-PCR 法で増幅を行ったが、47名の血清のうち、23件について増幅することができ、塩基配列を決定することができた。それを基に明らかにしたアミノ酸配列のうち、逆転写酵素阻害剤に対する耐性に関与する29カ所のアミノ酸について、変異の有無を検討した。その結果、23名の感染ウイルスには全く耐性変異を認めなかった。一方、Pro 領域については、Pro 阻害剤

が使用され始めた1996年以降に採取された、初診と思われる感染者20名を対象に検討を行った。そのうち、9件について Pro 領域を増幅することができ、塩基配列から耐性変異に関わる20カ所のアミノ酸を決定した。その結果、6件について耐性変異が見られ、そのうちの2件には耐性を単独で誘導する1次変異 (M46L, または G48V) が認められた。プロテアーゼ阻害剤に対する耐性変異は、遺伝子多型として、薬剤投与と関係なく出現しやすいことが知られているが、今回変異が見られた株が、実際に治療中の人から感染したかどうかは確認できなかった。

次に、治療中の感染者16名について血中ウイルスの解析を試みたところ、PCR 法で RT・Pro 領域を増幅できたのは、僅かに6名だけであった。その理由を調べるため、16名の血中 HIV-1 RNA 量の定量を行った。その結果、PCR 法で増幅できなかった感染者の血中 RNA 量は、いずれも検出感度以下であった。従って、解析できなかったのは、PCR におけるプライマーが不適当であったためではなく、治療効果により血中 RNA が減少していたためと考えられる。

解析が可能であった6名のうち、耐性変異が見られなかったのは1名だけであり、あとの5名には複数の耐性変異が見られ、さらにそのうちの3名には1次変異が見られた (表2)。なお、薬剤の種類別に見ると、非ヌクレオシド系 RT 阻害剤に対しては、耐性変異は見られなかった。さらに個別の薬剤に対する、耐性変異の数を表3に示す。

表2 治療中のHIV感染者における薬剤耐性変異

番号	ヌクレオシド系RT阻害剤	非ヌクレオシド系RT阻害剤	Pro阻害剤
FA15	D67N, K70R	—	解析不能
FA31	M41L, A62V, V75T , V118I L210W, T215F	—	L10I, M36I, M46I , L63P, A71V, V77I, L90M
FA32	—	—	L63P, V77I
FA47	—	—	M36I, V77I
FA48	—	—	—
FA51	解析不能	—	D30N , L63P, A71T, V77I

太字は1次変異

表3. 各薬剤に対する耐性変異の数

No. (FA)	AZT	3TC	ddC	ddI	d4T	Aba	multi	Nev	Efa	Del	Ind	Rit	Saq	Nel	Anp
15	<u>2</u>					1									
31	<u>3</u>	1	1		<u>1</u>	3	2				<u>5</u>	5	4	6	3
32											1	1	1	2	
47												1		2	
48															
51											2	2	2	<u>4</u>	

塗りつぶしは、1 次変異を含む。

FA31は、すでに多くの薬剤に対して耐性を獲得していることが明らかになった。さらに、この6名中、過去に検体を採取し、冷凍保存していた3名について、経時的な耐性変異の変化を観察した（表4）。FA15については8年間の変化を見たが、ヌクレオシド系 RT 阻害剤と Pro 阻害剤に対する耐性変異の増加が観察された。FA31では、97年にはヌクレオシド系 RT 阻害剤に全く耐性変異が見られなかったが、5年後には多数の変異が確認された。さらに、No. 32では、ヌクレオシド系 RT 阻害剤に対する耐性変異が短期間に変化していることが明らかになった。なお、非ヌクレオシド系 RT 阻害剤に対する、耐性変異はいずれの時期にも見られなかった。

表4. 薬剤耐性変異の経時的变化

No.	採血時期	RT阻害剤	Pro阻害剤
FA15	1994年1月	—	解析不能
	1997年1月	—	L63P, V77I
	2000年8月	D67N, K70R	L10V, M46I, L63P V77I, N88S
FA31	2002年11月	D67N, K70R	解析不能
	1997年3月	—	L10I, M36I, G48V, L63P, L90M
	2002年7月	M41L, A62V, V75T, V118I, L210W, T215F	L10I, M36I, M46I, L63P, A71V, V77I, L90M
FA32	1996年11月	—	L63P, V77I
	1997年2月	—	L63P, V77I
	1997年6月	V75I	L63P
	1997年12月	M184V	L63P, V77I
	1998年3月	D67N, L210W	L63P, V77I
	2002年12月	—	L63P, V77I

3・2 分子系統樹解析によるHIV-1のサブタイプの決定

これまで、HIV-1サブタイプの決定は、env や gag 遺伝子の塩基配列を基に行ってきた。しかし、薬剤耐性変異について解析する際は、RT や Pro をコードしている

pol 遺伝子上の塩基配列を決定する。そこで、pol 遺伝子の約 580塩基について分子系統樹解析を行うことにより、耐性変異の解析と同時にサブタイプを決定できるかを検討した。NCBI から、サブタイプ A～F の pol 遺伝子の相当する部分の塩基配列を収集し、分子系統樹を作成した。その結果、各サブタイプごとにクラスターを作ることが確認できた。そこで、すでにサブタイプがわかっているウイルス16株のシークエンスを加えて解析したところ、いずれも env や gag 遺伝子で決めた場合と同じ結果であった。そこで、サブタイプが未知の8株のシークエンスを加えて解析を行ったところ、7株はサブタイプ B で、1株のみがサブタイプ C であった。この結果を、以前の研究で行った県内の日本人のサブタイプの解析結果とあわせ、初診時期で分けると表5のとおりである。

表5 福岡県におけるサブタイプの分布

初診時期	サブタイプB	サブタイプE	サブタイプC
1990-1994年	22	0	0
1995-1998年	14	1	0
1999-2002年	20	2	1
合計	56	3	1

1990年から1994年では、22名全てがサブタイプ B であった。この時期は、感染経路で見ると血液製剤と男性同性間性的接触によるものが約半数ずつであった。1995年から1998年について見ると、サブタイプ B が14名、サブタイプ E が1名であった。この時期は、異性間性的接触による感染者が福岡県でも見られ始めた時期で、サブタイプ E の例も異性間性的接触による感染例であった。さらに、1999年から2002年についてみると、サブタイプ B が20名、サブタイプ E が2名、サブタイプ C が1名であった。サブタイプ E と C の3名は異性間性的接触による感染例であった。

現在、国内のサブタイプの分布状況は、男性同性間性的接触による感染者はサブタイプ B が大半を占め、異性間性的接触による感染者ではサブタイプ B に代わり、関東を中心にサブタイプ E が主流になってきている²⁾。本県の場合、サブタイプ E の増加は関東地区のように顕著ではないように思われる。また、サブタイプ C のように国内ではかなり少ないサブタイプが、本県の日本人に見られたことは、今後の動向に注意する必要がある。

4 まとめ

この研究では、福岡県内における HIV-1 感染の実態を、ウイルスの性状の面から明らかにした。実際に Pro 阻害剤の投与で生じたものが感染を引き起こしたのかは確認できなかったが、治療前の感染者から薬剤耐性変異が検出されたことから、今後もこのような監視が必要であると考えられる。

治療中の感染者については、薬剤耐性変異の出現パターンが多様性に富み、また治療の進行に伴い耐性変異に変化が見られることが確認された。従って、適正な薬剤の選択を行い、効率的な治療を進めるためには、定期的な薬剤耐性変異のモニターを行うことが重要である。

また、本県の感染者におけるサブタイプの分布は、未だサブタイプ B が主流であり、関東地区のようなサブタイプ E の急増は見られなかった。しかしながら、国内では少ないサブタイプ C が見られたことから、今後の動向に注意する必要がある。

5 行政的意義、貢献

福岡県内の HIV-1 感染状況については、患者・感染症の数は報告されているが、さらに詳しいウイルス学的な情報については、当研究所の研究以外には実施されていない。この研究で得られた結果は、本県のエイズ予防対策立案に有益な資料となり、さらに厚生労働科学研究の報告として、厚生労働省にも提供され、国のエイズ予防対策にも、資料として提供されている。

文献

- 1) 森治代, 小島洋子, 川畑拓也, 大竹徹, 大石功「薬剤耐性 HIV-1 の検出および検出法の評価」感染症学雑誌, 74 : 450-457 (2000)
- 2) 近藤真規子, 嶋貴子, 今井光信, 伊藤章, 川田かおる, 相楽裕子, 岩本愛吉, 野口有三, 宇宿秀三「HIV サブタイプと HIV 検査体制の確立に関する研究①日本における HIV-1 サブタイプの解析」厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV の検査法と検査体制を確立するための研究」総合研究報告書 (平成12-14年度) 292-298 (2003)

インフルエンザウイルスの流行株の解析

研究期間（平成13年度～15年度）

梶原淳睦*, 世良暢之*, 江藤良樹*, 千々和勝己*

要 旨

福岡県におけるインフルエンザウイルス流行株の薬剤耐性や抗原変異についてウイルス遺伝子の解析を行った。その結果、平成13～15年度には本県ではアマンタジン耐性株は流行していないものと考えられた。また、流行株の抗原性の経年変異を調べた結果、B型はワクチン株である B/山東/ 7/97株類似で、抗原性の変異も少なかった。一方、A/H3N2型はワクチン株の A/パナマ/2007/99株に比べ平成14年度の流行株で13、平成15年度の流行株で17アミノ酸が変異しており、抗原性の変異と遺伝子変異の関連を明らかにすることができた。インフルエンザウイルスは毎年遺伝子変異を起こし流行を繰り返しており、今後も変異株に対する監視は続けていく必要がある。また、ウイルス検出に遺伝子解析の手法を導入することにより検出感度の向上や迅速な診断、新型インフルエンザの検出にも応用が期待できた。

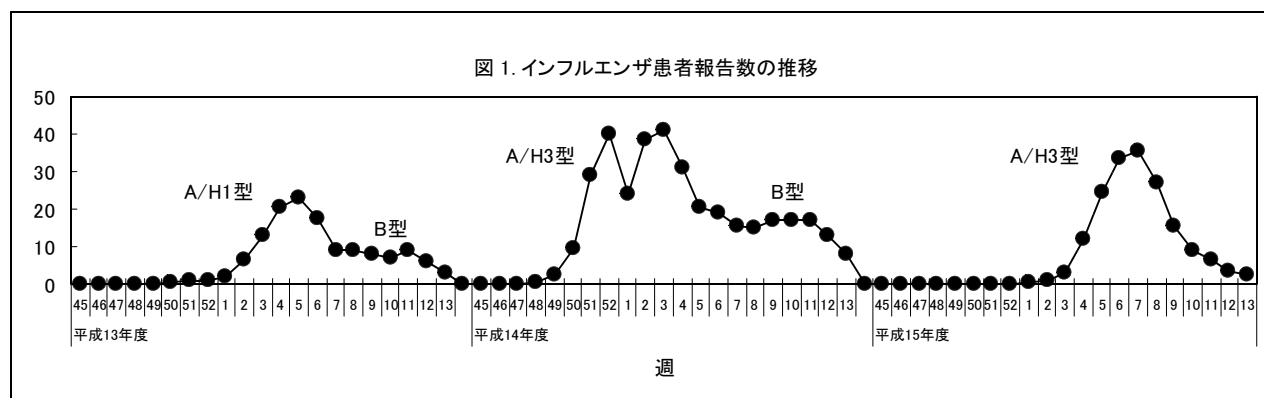
[キーワード： インフルエンザウイルス、遺伝子解析、薬剤耐性、抗原変異]

1 はじめに

インフルエンザウイルスは遺伝子変異が頻繁に起こり、抗原性が変異するため毎年のように流行を繰り返している。また、インフルエンザ治療薬に対する薬剤耐性ウイルスが出現し、インフルエンザ治療を困難にする可能性がある。そこで、これら抗原変異や薬剤耐性ウイルス等の変異株の出現や福岡県における流行状況に対する監視体制の整備及び変異株の解析を行い、変異株に対し迅速に対応するための情報提供を行うことを目的として本研究を開始した。

福岡県における平成13～15年度のインフルエンザの流

行状況を図1に示した。感染症発生動向調査事業で報告されたインフルエンザ患者の各週の報告数を折れ線グラフで、分離されたインフルエンザウイルスを図中に示した。例年インフルエンザは12月中旬に患者報告が始まり、2月初旬に A 型インフルエンザによる患者報告のピークを迎え、その後 B 型による患者が続くパターンを示している。この間のインフルエンザの流行期に分離されたインフルエンザウイルスの遺伝子を解析し、抗原性や薬剤耐性の変異の有無を検証し、変異株については変異の程度や他の変異株と相互比較を行い、変異株の性質や起源を解析した。



* 福岡県保健環境研究所

(〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

2 研究方法

感染症発生動向調査事業及び集団発生事例より採取されたインフルエンザ患者の咽頭ぬぐい液等から、発育鶏卵及びMDCK細胞を用いてインフルエンザウイルス152株（A/H1N1型23株、A/H3N2型111株、B型18株）を分離した。ウイルスの培養上清より市販キットを用いてウイルスRNAを抽出し、RT-PCR法によってインフルエンザウイルスの遺伝子を増幅し、抗原性や薬剤耐性の変異の有無を解析した。

2・1 薬剤耐性

平成13～15年度に分離されたA型インフルエンザウイルス46株（A/H1N1型23株、A/H3N2型23株）について解析した。平成13年度はA型インフルエンザウイルスの分離株の全て、平成14、15年度はA型分離株の内から10株ずつを抽出し遺伝子解析を行った。抗インフルエンザ薬のアマンタジンの標的蛋白質であるM2蛋白質の活性部位をコードする遺伝子領域をPCR法により増幅し、増幅産物を制限酵素（Hha I, Sca I）を用いて切断し、切断部位が消失している場合にはアマンタジン耐性を獲得している。そのため制限酵素の切断断片のパターン解析（RFLP）により薬剤耐性変異の有無を検討した（図2）¹⁾。

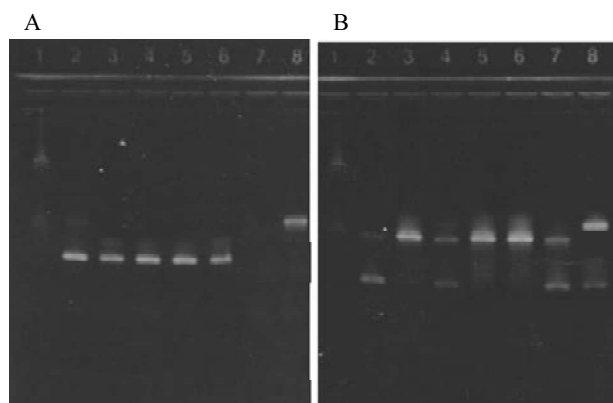


図2 RFLPによるアマンタジン耐性の解析

(A) Hha I, (B) Sca I

1: マーカ、2～7: 流行株、8: 未消化コントロール

2・2 抗原性変異

インフルエンザウイルスの抗原性を決定しているヘマグルチニン（H）蛋白質の変異を遺伝子解析の手法により解析した。平成14、15年に分離したインフルエンザウイルスA/H3N2型72株、B型14株のH蛋白質の遺伝子領域をPCR法により増幅し²⁾、増幅産物の塩基配列を決定した。その結果とワクチン株等の過去の分離株の塩基配列とを比較することにより、流行株の遺伝子変異を解析した。また、塩基配列の解析結果からアミノ酸の配列を予測し、H分子上の抗原決定部位（エピトープ）部

位のアミノ酸変異を解析した³⁾。

3 結果及び考察

3・1 薬剤耐性

平成13～15年の福岡県でのA型インフルエンザウイルスの流行株46株を解析した結果、アマンタジンに対する薬剤耐性変異を起こしている株は検出されなかった。従って、福岡県ではアマンタジン耐性株の流行は一般的にはないと考えられた。アマンタジンは平成12年に初めてA型インフルエンザ治療薬として認可され、使用されている。すでにアマンタジンを日常的に使用している病院内等で薬剤耐性株が検出されている⁴⁾ため、一般でのアマンタジン耐性株の流行状況を監視したが、これまでのところ本県下ではアマンタジン耐性株の流行はないと考えられた。しかし、薬剤の使用が多くなれば薬剤耐性株が出現する危険性が高まるため、今後も定期的な監視の必要があるし、薬剤の使用に対する啓発に努める必要がある⁵⁾。インフルエンザ治療薬としてこの他にタフミル等のノイラミニダーゼ阻害剤も使用されており、これらに対する耐性株にも今後注意する必要がある。

3・2 抗原性変異

平成14、15年度に分離されたA/H3N2型とB型のインフルエンザウイルス85株（A/H3N2型72株、B型13株）についてH遺伝子の解析を行った。その結果、B型はワクチン株であるB/山東/7/97類似であり（図3）、抗原性に関与するアミノ酸の変異も少なかった（表1）。B型は山形系統とビクトリア系統に分けられるが、平成12年

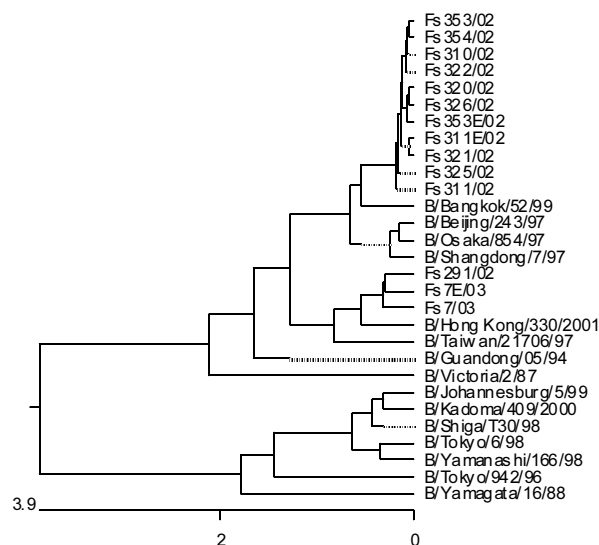


図3 B型インフルエンザウイルス流行株のH遺伝子領域の分子系統樹

表 1 B型インフルエンザウイルス流行株のアミノ酸変

AA No.	AA変異	NA変異
25	Tyr → Asn	TAT → AAT
48	Lys → Glu	AAA → GAA
121	Ile → Thr	ATT → ACT
199	Asn → Thr	AAC → ACC

度に流行の主流がビクトリア系統に移り⁶⁾、平成15年度まで同系統の流行株が主流を占めていることが明らかになった。従って、B型インフルエンザは今後大きな抗原変異が起こるまで流行規模は大きくならないものと推測される。

一方、A/H3N2型ではH遺伝子領域の分子系統樹解析の結果(図4)、分離年度ごとに遺伝子変異が蓄積し、年度ごとに分枝を生じていた。アミノ酸変異はワクチン株のA/パナマ/2007/99に対し、平成14年度の流行株で13アミノ酸が、平成15年度の流行株では17アミノ酸が変異していた⁷⁾(図5)。エピトープ部位のアミノ酸変異を見ると平成14年度分離株では5部位中4部位が、平成15年度分離株では5部位全てでアミノ酸が変異が生じていた。標準抗血清の赤血球凝集阻止(HI)抗体価の比較でも

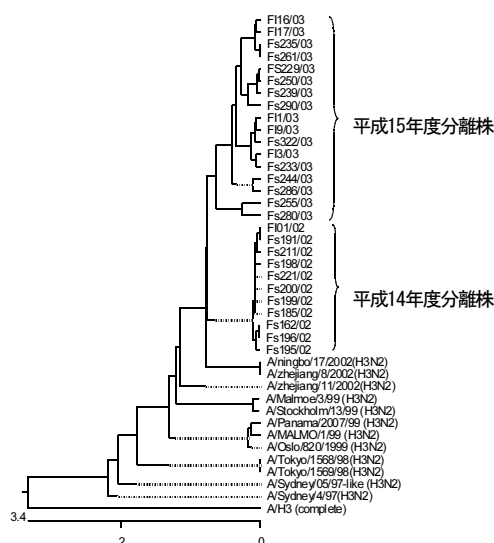


図 4 A/H3N2型インフルエンザウイルス流行株のH遺伝子領域の分子系統樹

平成14年度分離株では2倍以下の変異であったが、平成15年度分離株では4倍程度に変異が拡大していた。A/H3N2型のワクチン株はこれまで2~3年で変異が蓄積し変更されている⁶⁾。現在のワクチン株、A/パナマ/2007/99株(平成12年度採用)も流行株が変異していることから新たなワクチン株の検討が必要である。

また、A/H3N2型流行株の一部は鶏やモルモットの赤血球に対する凝集活性が弱く、通常インフルエンザウイルスの検出や同定に用いられる赤血球凝集(HA)試験やHI試験でウイルスの検出や同定を行うことが困難であった。今回、RT-PCR法を用いることにより、このような流行株も容易に検出及び同定することができた。従って、これまでインフルエンザウイルスの検出ではHA試験でスクリーニングしていたが、RT-PCR法による検出も追加した。

No.	年度	AA No.	AA変異	NA変異	エピトープ
1	03	25	Leu → Ile	CTA → ATA	
2	02	50	Arg → Gly	AGA → GGA	C
3	03	75	His → Gln	CAT → CAG	E
4	02	83	Glu → Lys	GAA → AAA	E
5	02	131	Ala → Thr	GCT → ACT	A
6	03	155	His → Thr	CAC → ACC	B
7	03	156	Gln → His	CAA → CAC	B
8	04	159	Tyr → Phe	TAC → TTC	B
9	02	183	Leu → His	ATA → CAC	
10	02	186	Ser → Gly	AGT → GGT	B
11	04	189	Ser → Asn	AGT → AAT	B
12	02	202	Val → Ile	GTC → ATC	
13	02	222	Trp → Arg	TGG → AGG	
14	02	225	Gly → Asp	GGT → GAT	
15	04	227	Ser → Pro	TCC → CCC	D
16	04	308	Tyr → Asn	TAT → AAT	C
17	04	328	Thr → Ser	ACT → TCT	

図 5 A/H3N2型インフルエンザウイルス流行株のアミノ酸変異

さらに、今回実施したRT-PCR法は、近年問題化している新型インフルエンザの検出に対してもプライマーを変更することにより応用可能であり、今後流行が発生した際にも迅速な対応が期待できる。

4 まとめ

インフルエンザウイルスの遺伝子変異について治療薬に対する薬剤耐性株と抗原変異株の出現を監視することを目的とした。その結果、平成13~15年度にはアマンタジン耐性株の流行は一般的ではないと考えられた。また、流行株の抗原性の経年変異を調べた結果、B型はワクチン株であるB/山東/7/97株類似で、抗原性の変異も少なかった。一方、A/H3N2型はワクチン株のA/パナマ/2007/99株に比べ平成14年度の流行株で13、平成15年度の流行株で17アミノ酸が変異しており、抗原性の変異と遺伝子変異の関連を明らかにすることができた。インフルエンザウイルスは毎年変異を起こし流行しており、今後も変異株に対する監視は続けていく必要がある。また、ウイルス検出に遺伝子解析の手法を導入することにより検出感度の向上や迅速な診断、新型インフルエンザの検出にも応用が期待できた。

5 行政的意義, 貢献

インフルエンザウイルス流行株の遺伝子変異に対する情報を得ることにより, 流行予測や予防対策の基礎的資料を得ることができた. すなわち, 薬剤耐性株の流行情報は医療現場で薬剤選択の参考資料として, 流行株の抗原性の変異の解析は流行規模の予測やワクチン株選択といった予防対策に寄与することができる. また, 日常のインフルエンザ検査業務に応用し, 検査の迅速・高感度化に寄与した. さらに, 新型インフルエンザの検査にも応用が期待できた.

文献

- 1) Saito R. et al. : J. Clin. Microbiology, 40(1), 84-88, 2002.
- 2) 感染症診断マニュアル, インフルエンザ: 国立感染症研究所 地方衛生研究所全国協議会, 2003.
- 3) Webster R. G. et al. : Nature, 296, 115-121, 1982.
- 4) Iwahashi J. et al. : J. Clin. Microbiology, 39(4), 1652-1653, 2001.
- 5) 辻克郎他: ウイルス, 51(2), 135-141, 2001.
- 6) 平成13年度感染症流行予測調査報告書: 厚生労働省健康局結核感染症課 国立感染症研究所感染症情報センター, 2001
- 7) Hardy I. et al. : Virus Res. , 77(1), 89-96, 2001.

油症及びダイオキシンに関する研究

研究期間（平成13年度～15年度）

飯田隆雄^{*1}，戸高尊^{*2}，平川博仙^{*1}，堀就英^{*1}，中川礼子^{*1}，芦塚由紀^{*1}，飛石和大^{*1}
松枝隆彦^{*1}，片岡恭一郎^{*1}，古江増隆^{*3}，渡邊昌^{*4}，山田健人^{*5}，岸玲子^{*6}，岩本晋^{*7}

要 旨

我々は、血液5g からダイオキシン類濃度を正確に測定できる分析法を開発した。この方法は4つの大きなステップから成る。すなわち、①ヒト血液の凍結乾燥、②高速溶媒抽出器（ASE）によるヒト血液からの脂質の抽出、③従来法の1/4スケールのクリーンアップ操作、④溶媒除去大量試料注入装置（SCLV）を装備した高分解能 HRGC/HRMS による精密定量法から構成されている。前処理方法の改善によって、前処理時間及び溶媒使用量を大幅に減らすことができた。SCLV 注入システムによる GC-MS の感度は通常の方法より10倍程度向上した。同一の血液試料を用いて今回開発した方法（試料量5g）と従来法（試料量30g）の両分析法で測定したダイオキシン類濃度の測定結果はほぼ一致しており、血液5g でダイオキシン類の測定が可能であることを確認した。この方法を用いて、油症患者血中ダイオキシン類全国調査（平成13年度371件、14年度343件）、国内調査（母体血：100件、ヒト臓器80件）及び国外調査（ベトナム血液・母乳：120件、中国母乳調査：60件）を行った。

[キーワード： カネミ油症，ダイオキシン類，血液，環境ホルモン，人体臓器・組織]

1 はじめに

油症は1968年に起こったダイオキシン類による日本で唯一の食中毒事件である。事件発生当時、約14,000人が被害を届け出た。一方、1984年までに1860人が油症患者として認定され、そのうち1,500人程度が生存されており福岡県をはじめ関東以西の各都府県に居住している。治療と追跡調査のため全国で油症一斉健康診断が毎年行われ、400人近くの患者が受診している。油症の治療及び研究には患者体内に残留する油症の主要な原因毒物である PCDF をはじめとするダイオキシン類を正確に把握し追跡調査することが重要である。既に血中ダイオキシン類濃度が体内残留量を反映することは明らかにされている。また、油症診断基準に患者血中 PCDFs 濃度を取り入れて見直すという国の方針に対応するためヒト血中に極微量存在するダイオキシン類の迅速・精密分析法の

開発と実施体制の構築が必要となった。これまで、その正確な測定にはかなり多量の血液試料（50-100ml）が必要であった。事件以来35年を経過しほとんどの患者は高齢化しており、このような多量の血液を採取することは患者にとって大きな負担である。われわれはほとんどの患者から採血可能な5-10ml の血液からダイオキシン類を正確に測定するため、抽出、クリーンアップ、高感度測定の一連の分析システムを構築した。この分析方法を使用して、平成13年度は福岡県の油症患者78名について血中ダイオキシン類を追跡調査した。更に、全国の油症患者血中ダイオキシン類追跡調査に対応するため分析方法の改良と分析体制の一層の整備を行い、平成14年度371名、平成15年度343名の油症検診受診者（希望者全員）について血中ダイオキシン類調査を実施した。これらのデータは油症診断基準の基礎データとして活用されると

-
- | | |
|------------------------|--------------------------------|
| *1 福岡県保健環境研究所 | (〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39) |
| *2 (社) 食品衛生協会リサーチレジデント | (〒150-0001 東京都渋谷区神宮前2丁目6-1) |
| *3 九州大学医学部 | (〒812-8582 福岡市東区馬出3丁目1-1) |
| *4 東京農業大学農学部公衆栄養学科 | (〒156-8502 東京都世田谷区桜岡丁目1-1) |
| *5 慶應義塾大学大学医学部 | (〒160-8582 東京都新宿区信濃町35番地) |
| *6 北海道大学医学部 | (〒060-8638 札幌市北区15条西7丁目) |
| *7 徳山大学福祉情報学部 | (〒745-8566 山口県周南市久米栗ヶ迫843-4-2) |

同時に油症データベースを構築し、ダイオキシン類濃度と油症症状との関連を検討し、ダイオキシン類の人体影響解明に活用される。更に、アジア諸国ではベトナム、ラオス、韓国等でのベトナム戦争関係のダイオキシン類被害者、台湾の Yucheng（台湾油症）患者、最近の著しい工業化に伴って危惧される中国におけるダイオキシン類環境汚染等のダイオキシン類曝露によるヒト健康影響調査研究に対して技術支援が期待されている。

2 研究方法

2・1 超高感度迅速分析法の確立と分析体制の構築^{1,2)}

油症患者の血中ダイオキシン類濃度全国追跡調査と血中 PCDF 濃度等を含めた油症診断基準の再検討に対応するため、迅速で再現性の良い分析法を開発することが必要となった。また、本研究の対象の油症患者はほとんどが高齢である。そのため、患者の負担を軽減するため、少量の血液試料から正確な測定が出来る超高感度分析法確立と分析体制を構築にすることが必須である。そこで、分析法として、①ヒト血液の真空凍結乾燥、②高速溶媒抽出器（ASE）によるヒト血液からの脂質の抽出、③従来法の1/4スケールのクリーンアップ操作、④溶媒除去大量試料注入装置（SCLV）を装備した高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置（HRGC/HRMS）による精密定量、の4段階で構成された分析系を検討した。一方、試料の少量化に伴って、分析操作中に混入してくる妨害物質が相対的に大きなブランク値を与え、定量限界値が高くなる。このブランク値を最小限に抑えるため実験環境整備を以下のように行った。

①血液分析実験室専用化、②実験台の上部にクリーンカステンを設置し、上部から常時クリーンエアを吹き込む、③器具保管庫の上部から常時クリーンエアを吹き込む、④試薬等の保管をクリーンベンチ中で行う、⑤ダイオキシンフリーオープンでガラス器具を450℃の高温で加熱して使用する。

クロスコンタミネーションを防止するため器具、機器を専用化した（凍結乾燥機、ASE 抽出機、溶媒濃縮装置、SCLV-GC/MS）。

また、使用する溶媒、試薬等は可能な限り高純度の製品を使用し、精製できるものは精製して用いた。また、試薬の保管・管理を徹底することにより、ブランク値低減化に努めた。

2・2 試料保存中のダイオキシン類濃度減少に関する検討

硬質プラスチック容器に4年間保存されていた血液46試料を再分析して4年前の分析値と比較した。ボランティア6名の血液を採血バッグで冷蔵保存し、採血当日、3週間後及び6週間後に血液を採取してダイオキシン類を

分析した。

2・3 精度管理・クロスチェック

①外部精度管理として血液5件について外部2機関とクロスチェックを行った。②厚生労働科学研究班のクロスチェックに参加した。③内部精度管理として分析22件につきコントロール血清1件の分析と操作ブランク試験1件を行った。

3 結果及び考察

3・1 超高感度迅速分析法の確立と分析体制の構築

3・1・1 GC/MSの高感度化

2,3,7,8-TCDD の血中濃度を1pg/g lipid（検出限界値）、血中脂質濃度を0.3%とすると5g 血液中には TCDD が0.015pg（15fg）存在する。血液からの TCDD の抽出・精製における回収率を50%、最終検液の2/3量を GC/MSへ注入するとき、機器への TCDD の注入量の絶対値は0.005pg（5fg）となる。この TCDD 量を S/N=10で定量するためには、少なくとも10fg で S/N=20が必要となる。血液から抽出精製された最終検液の大部分を GC/MS に注入できる装置はいくつか市販されているが、我々はSGE社のSCLV injection systemを用いた。この装置は最終検液の1/2から2/3を注入することができる。SCLV注入装置はプレカラムと分析カラムからなり、プレカラムで溶媒及びマトリックス成分の大部分を目的成分から分離して GC/MS の系外に排出し、目的成分を冷却された分析カラムの先端にトラップし、その後、昇温することにより分析カラムに導入する。そのため、分析カラムとMSへの負荷が非常に小さくなる。分析カラムは内径0.15mm、長さ30mというカラム内径が小さく、膜厚が薄く、比較的短いカラムを使用することができるので、極めてシャープなピークと良好な分離及び低いノイズレベルを実現できる。その結果、10fg で S/N=20から30の測定が可能である。SCLV 注入装置の使用によって血液5g中のダイオキシン類を検出できる感度が得られるようになった。

3・1・2 ASE抽出条件及び真空凍結乾燥条件の検討

① ASE 抽出溶媒の検討：ASE 抽出の溶媒をアセトン・ヘキサン(2:1)、アセトン・ヘキサン(1:4)及びヘキサンのみとして同じ血液からダイオキシン類を抽出した。血中ダイオキシン類内標準物質の添加回収率は、いずれの溶媒を用いた場合も30-150%の範囲内にあった。また、実測値も従来法と比べて大きく変わらなかったが、ヘキサンのみの場合、脂質の抽出率が低くなり、他方、アセトン：ヘキサン(2:1)抽出では OCDD が従来法の2倍となった。平均して従来法の値に近い実測値を示したアセトン：ヘキサン(1:4)を ASE 抽出溶媒として採用した。

② ASE 抽出法と従来法のバリデーション：一般人ボラ

ンティア6名の血液からダイオキシン類を、ASE 抽出法と従来法（溶媒攪拌抽出法）の2つの方法で抽出した結果を比較した。HpCDD および OCDD は平均値で ASE 抽出法が溶媒攪拌抽出法の2.19及び2.14倍であり、ASE 抽出の方が従来法の約2倍高い値を示すことが明らかになった。HpCDD および OCDD 以外は ASE 抽出法の方が従来法よりもわずかに高値を示し、また、血中脂質の抽出量も同様であった。以上の結果から ASE 抽出法は抽出効率が高いのではないかと考えられた。

③血液試料の真空凍結乾燥がダイオキシン分析値に与える影響の検討：内標準物質を凍結乾燥前と凍結乾燥後に添加した時の内標準物質の回収率および実測値比較した。凍結乾燥後に内標準物質を添加する方が凍結乾燥前に内標準物質を添加するよりも若干高い回収率を示した。一方、両者の実測値は同程度であった。以上の結果から、凍結乾燥中の内標準物質の揮散を防ぐため凍結乾燥後に内標準物質の添加を行うことにした。

3・1・3 ブランクの低減化

定量精度を保つためには、ブランク値は定量下限値の1/10以下にすることが望ましい。暫定分析法の定量下限値に準拠すると、血液5g中の4-5CDD/DF、6-7CDD/DF、OCDD/DF および Co-PCB の定量下限値の絶対量は15fg, 30fg, 60fg および150fg となり、ブランク値は1.5fg, 3fg, 6fg および15fg 以下にすることが望ましい。研究方法の項で述べたように可能な限りのブランク対策を行ったとき、10回連続のブランク試験結果（平均値）を暫定分析法の定量下限値と比較した場合、前者は後者の PCB#169 での1.6%から OCDD での152%と大きく変動した。OCDD はヒト血中濃度が高いのでブランク値はさほど問題にならない。多くは30%以下であったが、1, 2, 3, 7, 8-PeCDD (50%), 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD (52%), 2, 3, 7, 8-TCDF (75%), 1, 2, 3, 7, 8-PeCDF (77%), 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF (63%), PCB#77 (48%) はブランク値が定量下限値の50%以上となっており、分析ロットごとにブランク試験を行い、ブランク補正を行う必要があった。ブランクの低減化についてはなお検討が必要である。

3・1・4 分析操作の迅速化及び省資源化

血液試料量が5gに少量化されたことにより機器の導入・機械化・自動化、操作の省略、カラムクリーンアップのミニチュア化が可能となり、その結果、著しい省力効果が得られた。ガラス器具を洗剤で洗浄後、ダイオキシンフリーオーブンで加熱処理することによってガラス器具からの汚染が確実に低減し、更に、器具洗浄が簡便化された。血液試料を凍結乾燥した後に ASE 抽出することによって、抽出液を分液ロート中で水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥する一連の操作を省略することがで

きた。硝酸銀シリカゲルカラムと活性炭カラムを直結することによって、硝酸銀カラムからの溶出液を濃縮し、活性炭カラムに移す操作を省略することができた。血液試料の少量化、操作の機械化に伴って、抽出及びクリーンアップに使用する試薬や溶媒が削減できた。これらの機械化と省力効果により1日に5件程度の分析ができるようになった。

3・2 試料保存中のダイオキシン類濃度減少に関する検討

本研究で確立した超高感度迅速分析法を用いて、1999年に採血され硬質プラスチック容器中に長期間保存されていた少量の一般人血液中のダイオキシン類濃度を再測定した。2003年の PCDDs, PCDFs 及び Non-orth-PCBs の再測定値のほとんどは1999年測定値の1/3から2/3に減少していた。この中で、HpCDD, OCDD 及び PCB#77 は2から3倍に増加していた。この原因として HpCDD 及び OCDD は再測定では ASE 抽出法を用いているためにこれらの化合物が高い値となったと考えられる。PCB#77 は保存中の汚染の可能性が考えられる。このように特殊な原因が考えられる3種のダイオキシン類化学物質を除いて、2003年再分析値は1999年分析値に比べて、すべて減少していた。総 TEQ 値で比べると57%に減少していた。また、脂肪含量は90%であった。保存中にダイオキシン類濃度が低下する原因として、保存中の分解、保存中の容器への吸着等が考えられる。数年前までは、血液中のダイオキシン類濃度は非常に低濃度（pg/kg）であるので精度よく測定するためには少なくとも50gの試料が必要であり、予備試料を含めると100gの採血が必要であった。これらの試料は通常採血バッグに採取され、常温もしくは冷蔵で保存される。我々は、採血バッグに採取された血液を長期間（数週間から数ヶ月）冷蔵保存するとダイオキシン類濃度にかかなりの減少が見られるという経験をした。この現象を追試確認するため、一般人ボランティア6名の血液を100gの採血バッグに採取し、4℃で冷蔵保存し、採血直後、採血から3週間後および6週間後に採血バッグから取り出した血液についてダイオキシン類を測定した。その結果、血中ダイオキシン濃度は経時的に減少し、冷蔵保存6週目では採血直後の試料中濃度と比べて1/3-2/3程度の濃度低下が見られた。硬質プラスチック容器及び軟質プラスチック容器（採血バッグ）中保存によるダイオキシン類濃度の減少は、ともに、保存状態の不備による現象と考えられる。冷暗所保存という条件下で1週間から3週間という比較的短い時間でかなり急速に濃度が減少することから分解とは考えにくい。血中ダイオキシン類が軟質及び硬質プラスチック容器に吸着する可能性を否定できない。血液試料

は暫定分析法で推奨されているテフロン容器等で冷凍保存することが重要である。一方、脂質含量は、再測定値は平均値で見ると、1999年測定値の90%であった。脂質含量の差は抽出溶媒の違いによるものと考えられる。

3・3 精度管理・クロスチェック

3・3・1 外部精度管理

実験室内変動はかなり小さいが、分析機関の間では一部にかなりの変動が見られた。

3・3・2 厚生労働科学研究班クロスチェック

血清及び母乳を対象にした精度管理では血清脂質量が他の分析機関と比べて1/2程度と低い値であった。これは ASE 抽出に起因すると考えられるがその理由は不明である。血清の場合、脂質含量の測定は他の方法で別途行わなければならない。血清重量あたりの値は他機関とほぼ良好な一致を見た。母乳は脂質含量、ダイオキシン類実測値とも良好な一致を見た。

3・3・3 コントロール血清の分析（再現性試験）

同一ロットの分析に対してコントロール血清（コンセーラ L）5g を分析した。10回のコントロール分析における内標準物質の添加回収率は58%から116%で「暫定分析法」が望ましい回収率としている"50%から120%"の範囲内であった。また、ダイオキシン類実測値の変動係数は10%以下の良好な結果であった。

4 まとめ

血液5g からダイオキシン類を迅速かつ正確に測定できる分析方法を確立できた^{1,2)}。これは大量の再現性の高いデータを必要とするヒト汚染実態把握調査、油症、Yucheng, ベトナム戦争枯れ葉剤被害者の追跡調査研究等の進展に大いに寄与すると考えられる。また、血液試料量が10g 程度の少量で調査が可能となったことから、幼児、高齢者、病弱者なども調査の対象に出来るようになった。さらに、開発途上国の交通事情が悪い地域の調査も可能となると考えられる。このように、本法の確立はダイオキシン類のヒト健康影響調査研究の対象範囲を飛躍的に拡大したと考えられる。4年間保存されていた血液のダイオキシン類濃度はを調べたところ採血直後に測定された値に比べて1/3から2/3程度の減少を示した。保存状態の不備により血中ダイオキシン類濃度が変化することが明らかになった。

5 行政的意義、貢献

血中ダイオキシン類の超高感度・迅速分析法を確立し、その分析体制を構築した。この分析法確立と分析体制構築により血液試料量は約1/10に、分析時間は約1/5になった。血液試料の少量化、分析時間短縮、データの高精度化、分析用資材の省資源化を達成した。このことによりフィールド調査の可能性を飛躍的に拡大し、ダイ

オキシン類によるヒト汚染影響研究の進展の条件を整えた。全国油症患者の PCDF 等体内残留量を明らかにすることにより適切な健康管理をサポートする。ダイオキシン類のヒト健康影響を究明することはヒトの健康保持に資するものである。①本分析法を用いて、平成13年度に福岡県の油症患者78名の血中ダイオキシン類分析を試験的に行った³⁾。この分析法を更に改良して迅速化し、平成14年度（371名）、15年度（343名）の油症患者の血中ダイオキシン類調査を全国的に実施した^{2,5)}。②ベトナムのホットスポット住民の血液、母乳、土壌、魚試料120件の調査を行った。③中国河北省住民の母乳試料60件についてダイオキシン類濃度調査を実施した⁶⁾。④平成15年度出産者母体血100件のダイオキシン類濃度調査を実施した。⑤剖検試料20例の脾臓、脾臓、腎臓、肺臓中ダイオキシン類濃度を測定した⁴⁾。⑥大学や国立研究所の職員等に血中ダイオキシン分析技術研修をした。⑦国内学会、国際学会、専門雑誌で成果を報告した。本分析法はヒト試料中ダイオキシン類の非常に有用な分析法である。本法は食品や環境試料についても応用可能であり、今後、多くの分析機関に普及すると思われる。

文献

- 1) T. Todaka, H. Hirakawa, K. Tobiishi, T. Iida: New protocol for dioxin analysis of blood. Fukuoka Acta. Med. 2003, 94, 148- 157.
- 2) T. Iida, T. Todaka: Measurement of dioxin in human blood: Improvement of analytical method. Industrial Health 2003, 41, 197-204.
- 3) 飯田隆雄, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和大, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子: 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001年). 福岡学雑誌. 2003, 94, 148-157.
- 4) T. Iida, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, K. Tobiishi, T. Matsueda, S. Watanabe, T. Yamada: Concentration and distribution of dioxins and related compounds in various human organs. 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Dioxin 2004). September 6-10, 2004, Berlin, Germany
- 5) T. Iida, H. Hirakawa, T. Hori, T. Matsueda, K. Tobiishi, R. Nakagawa, T. Todaka: Follow-up survey of Dioxins and Related Chemicals in the Blood of Yusho Patients in 2002. 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Dioxin 2004). September 6-10, 2004, Berlin Germany
- 6) T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, T. Iida, S. Sun, J. Zhao, F. Kayama: PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs concentration of human breast milk in China and Japan. 第6回環境ホルモン学会2003年12月2-3日, 仙台市

ダイオキシン類の排泄促進に関する研究 ダイオキシンの人体汚染防止及び食生活指針に関する研究

研究期間（平成13年度～15年度）

森田邦正*, 飛石和大*

要 旨

ラットの体内に PCB を蓄積させた後、クロロフィル、クロレラ、わかめ、ひじき、こんぶ、のり及び緑茶が PCB の再吸収抑制に及ぼす効果について検討した。0.5%クロロフィル食及び10%クロレラ食は3, 4, 4', 5-TetraCB, 3, 3', 4, 4', 5-PentaCB, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HexaCB, 2, 3, 4, 4', 5-PentaCB, 2', 3, 4, 4', 5-PentaCB, 2, 3, 3', 4, 4', 5'-HexaCB 及び2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HeptaCB の糞中排泄量をコントロール群と比べて2.4～3.9倍 ($p < 0.01$) 増加させる効果が認められた。10%海藻食は3, 3', 4, 4', 5-PentaCB, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HexaCB, 2, 3, 4, 4', 5-PentaCB 及び2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HeptaCB の糞中排泄量をコントロール群と比べて1.2～2.4倍 ($p < 0.01$ or $p < 0.05$) 増加させる効果が認められた。10%緑茶食は PCB 糞中排泄量をコントロール群と比べて2.2～7.3倍 ($p < 0.01$) 増加させる効果が認められた。クロロフィル、クロレラ、わかめ、ひじき、こんぶ、のり及び緑茶は消化管壁から管内へ分泌された PCB の再吸収を抑制し、糞中へ排泄促進させる機能があることを明らかにした。これらの食品やクロロフィル及び食物繊維が多く含まれる食品は人の体内 PCB の排泄促進に有効かもしれない。

[キーワード: ダイオキシン, PCB, クロレラ, クロロフィル, 海藻, 緑茶, 食物繊維, 吸収, 排泄, ラット]

1 はじめに

人は食品経由でダイオキシン類（PCB, PCDD 及び PCDF）に暴露されていることが広く知られている。PCB は脂溶性であるため消化管からよく吸収され、その後リンパ系からキロミクロンにより移行し、体内の種々の組織に分布し、最終的に多くが脂肪組織に蓄積される。人及び実験動物において、PCB はたやすく代謝されないため長期間組織へ残留する。ラットの場合、3, 3', 4, 4'-Tetrachlorobiphenyl（3, 3', 4, 4'-TetraCB）及び2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorobiphenyl（2, 2', 4, 4', 5, 5'-HexaCB）の生物学的半減期は6.3～9日及び27日と報告されている。人の場合、PCB の生物学的半減期は台湾油症患者において2, 3', 4, 4', 5, -Pentachlorobiphenyl（2, 3', 4, 4', 5, -PentaCB）、2, 2', 4, 4', 5, 5'-HexaCB, 2, 2', 3, 4, 4', 5'-HexaCB, 2, 3, 3', 4, 4', 5'-HexaCB, 2, 2', 3, 3', 4, 4', 5'-Heptachlorobiphenyl（2, 2', 3, 3', 4, 4', 5'-HeptaCB）及び2, 2', 3, 4, 4', 5, 5'-HeptaCB が1.6～6.0年、日本の油症患者において9.1～18.4年であり、これらの PCB の半減期は2, 3, 4, 7, 8-Pentachlorodibenzofuran（2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF）等の PCDF に比べて約2倍長いことが報告されている。このことは

糞及び尿からの1日当たりの PCB の総排泄量が極めて微量であることを示している。

クロレラは緑藻で、タンパク質55～67%、葉緑素（クロロフィル）1～4%、食物繊維 9～18%、その他ミネラル及びビタミンを含有し、日本や米国等で健康補助食品として販売されている。海藻類は食物繊維とクロロフィルが豊富な食品である。茶はツバキ科の常緑樹である。中国種は緑茶用に、アッサム種は紅茶やウーロン茶の製造に用いられ、嗜好品として世界中に広く普及し飲用されてきた。日本産の緑茶はカテキン類が8～20%、カフェインが2～4%、アミノ酸類が1～8%、食物繊維が25～50%、カリウムが1～2.5%、ビタミンCが0.1～0.5%、その他ビタミンA及びEが含まれている。また、クロロフィル a 及び b は緑茶に0.17～0.95%、生葉に0.5～1%含まれ、特に抹茶や玉露に多く含まれる。

PCB による人への健康障害を未然に防止するためには、食品経由の PCB を消化管内で吸収抑制し人体への吸収量を減少させ、さらに消化管壁から消化管内へ排泄（分泌）された PCB の再吸収を効果的に抑制することにより、体内蓄積量を減少させる方法を提示することが

* 福岡県保健環境研究所

(〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

重要である。この研究において、PCB の再吸収を抑制し PCB の糞中排泄に及ぼすクロロフィル、クロレラ、海藻（わかめ、ひじき、こんぶ、のり）及び緑茶の効果についてラットを用いて検討した。

2 研究方法

2・1 実験動物

Wistyar 雄ラットは1匹ずつ代謝ケージで飼育し、水と食餌は自由に与えた。

2・2 実験材料

実験材料にはクロロフィル、クロレラ、海藻（わかめ、ひじき、のり、こんぶ）及び緑茶（八女茶）の粉末を用いた。表1にコントロール食及び実験食の組成をに示す。

表1 実験食の組成

成分	食餌 (g/100g)		
	コントロール	2%実験食	10%実験食
シュクロース	65	63	55
セルロース	5	5	5
カゼイン	20	20	20
コーンオイル	5	5	5
ミネラルミックス	4	4	4
ビタミンミックス	0.85	0.85	0.85
塩化コリン	0.15	0.15	0.15
実験材料		2	10

2・3 動物実験

図1に実験食の投与方法を示す。ラットは一夜絶食後、4g のコントロール食に60ng の PCB を溶かしたコーンオイル0.2ml を添加し、実験初日に1回ラット (n=4) に与えた。引き続き PCB 無添加のコントロール食を7日間与え、投与後8日目から35日までコントロール食及び実験食を与えた (表1)。

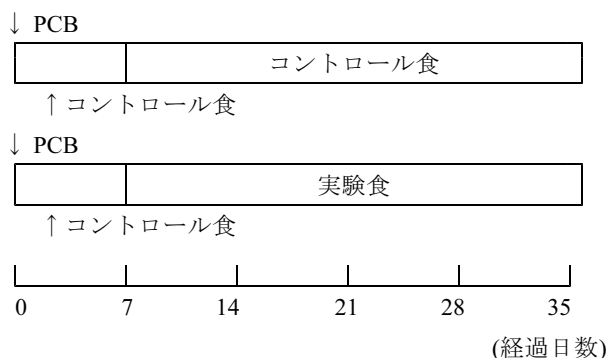


図1. 実験食の投与方法

2・4 PCBの分析法

約5g の糞及びホモジネートを50ml の遠沈管に入れ、¹³C ラベルした PCB 400~800pg を加えた。これに1.0M KOH / エタノール (1:1, v/v) 溶液10ml を加え、80℃で30分間

加水分解した。PCB は GC/MS (AutoSpec-Ultima; Micromass) にキャピラリーカラム (0.25mm 60m, BPX 5) を装着し、分解能10,000で測定し、selected ion monitoring (SIM) 法で定量した。

3 結果

3・1 PCBの糞中排泄状況及び生物学的半減期

ラット (n=5) の糞を群毎に毎日採取し、PCB 投与後35日間の糞中排泄状況を調べた (図2)。PCB をコントロール食に添加して1回経口投与すると、8種類の PCB の平均排泄量は1日目に投与量の0.60%、2日目に1.16%であった。この2日間の排泄量の大部分は未吸収分と考えられた。投与後2日間の PCB 排泄量を未吸収量とした場合、食餌経路の消化管吸収率は3, 4, 4', 5-TetraCB が99.1%、3, 3', 4, 4'-TetraCB が99.1%、3, 3', 4, 4', 5-PentaCB が98.5%、3, 3', 4, 4', 5, 5'-HexaCB が97.4%、2, 3, 4, 4', 5-PentaCB が98.7%、2', 3, 4, 4', 5-PentaCB が98.6%、2, 3, 3', 4, 4', 5'-HexaCB が98.2%、2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HeptaCB が96.4%であった。ラットの PCB 吸収率は96%以上であることが分かった。3日目から7日目の排泄量は0.25%から0.05%に低下し、その後8~9日目の0.05%から35日目の0.02%に推移した。体内から消化管壁経路で糞中に排泄される8日目以降の PCB 量は投与量の0.02~0.05%と極めて少量であった。

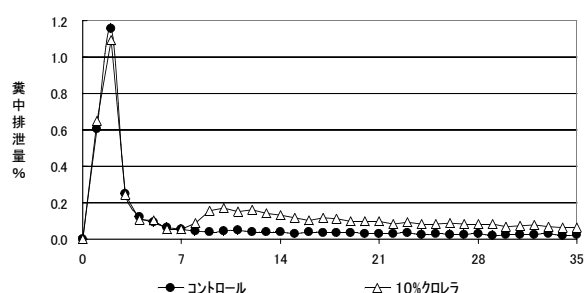


図2. PCBの排泄状況

8日目にコントロール食から10%クロレラ食に交換すると、PCB の平均排泄量は8日目に投与量の0.09%、9日目に0.16%とコントロール群と比べて排泄の増加が認められた。9日目から35日目までの毎日の排泄量はコントロール群の2.5~3.9倍となり、その比率は時間の経過及び体重の増加とともに大幅な変化は示さなかった。

表2にコントロール群及びクロレラ群における PCB 投与後8日目と35日目の体内蓄積量の平均値から1-コンパートメントモデルを用いて計算した PCB の生物学的半減期を示す。ラットにおける PCB の生物学的半減期は3, 3', 4, 4'-TetraCB を除いて極めて長く、人と同じく残留

性が極めて高いことが分かった。クロレラ群の半減期は2, 3, 3', 4, 4', 5'-HexaCB を除いてコントロール群より1.4～2.8倍短縮された。

表2. PCBの生物学的半減期に及ぼすクロレラの効果

PCB	生物学的半減期 (日)	
	コントロール食	10%クロレラ食
3, 4, 4', 5-TetraCB	170	60
3, 3', 4, 4'-TetraCB	19	12
3, 3', 4, 4', 5-PentaCB	496	199
3, 3', 4, 4', 5, 5'-HexaCB	615	236
2, 3, 4, 4', 5-PentaCB	310	221
2', 3, 4, 4', 5-PentaCB	384	149
2, 3, 3', 4, 4', 5'-HexaCB	989	989
2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HeptaCB	930	506

3・2 PCBの糞中排泄に及ぼす実験食の効果

PCB 投与後8日目から35日目まで、クロロフィル食及びクロレラ食を投与し、PCB の再吸収抑制に及ぼす効果を検討した。0.1, 0.2及び0.5%クロロフィル群において、PCB 排泄量は3, 3', 4, 4'-TetraCBを除いてコントロール群と比べてそれぞれ1.5～1.9倍, 1.6～2.1倍, 2.5～3.9倍増加した ($p<0.01$ or $p<0.05$)。クロロフィル投与量を0.1%から0.5%に増加するに伴い、PCB の糞中排泄量は増加する傾向が認められた。2%クロレラ群のPCB 排泄量は3, 4, 4', 5-TetraCB 及び 3, 3', 4, 4'-TetraCBを除いてコントロール群と比べて1.6～1.9倍 ($p<0.01$ or $p<0.05$) 増加した。10%クロレラ群の8種類のPCB 排泄量はコントロール群と比べて2.4～3.6倍 ($p<0.01$ or $p<0.05$) 増加した。クロレラ投与量を2%から10%に増加するに伴い、PCB の糞中排泄量は増加する傾向が認められた。

海藻類の場合、わかめ群の8種類のPCB 排泄量はコントロール群と比べて1.8～2.2倍 ($p<0.01$ or $p<0.05$) の増加が認められた。ひじき群のPCB 排泄量は3, 3', 4, 4'-TetraCBを除いてコントロール群と比べて2.1～2.9倍 ($p<0.01$ or $p<0.05$) 増加した。こんぶ群のPCB 排泄量は3, 4, 4', 5-TetraCB, 3, 3', 4, 4'-TetraCB 及び2', 3, 4, 4', 5-PentaCBを除いてコントロール群と比べて1.3～1.5倍 ($p<0.01$ or $p<0.05$) 増加した。のり群のPCB 排泄量は3, 4, 4', 5-TetraCB, 3, 3', 4, 4'-TetraCB, 3, 3', 4, 4', 5-PentaCB 及び2, 3, 3', 4, 4', 5'-HexaCBを除いてコントロール群と比べて1.1～1.3倍 ($p<0.01$ or $p<0.05$) の増加が認められた。またさらに、10%緑茶食の8種類のPCB 糞中排泄量はコントロール群と比べて2.2～7.3倍 ($p<0.01$) の増加が認められた。これらの結果から、クロロフィル、わかめ、ひじき、こんぶ、のり及び緑茶は消化管壁から消化管内へ分泌されたPCB の再吸収を抑制し、糞中へ

の排泄を助長する効果があることが分かった。

3・3 PCBの体内蓄積に及ぼす実験食の効果

PCB 投与後35日目の3, 3', 4, 4', 5, 5'-HexaCB 体内蓄積量は2及び10%クロレラ群がコントロール群と比べてそれぞれ6.5及び9.8% ($p<0.05$) 減少していたが、その他のPCB の体内蓄積量には有意な差はみられなかった。また、0.1, 0.2及び0.5%クロロフィル群及び4種類の海藻群とコントロール群間のPCB 体内蓄積量においても有意な差は認められなかった。海藻はラット体内のPCB を大幅に減少させる効果は認められなかった。その理由として、我々は次のように考えた。海藻は消化管内でPCB の再吸収を抑制し、糞中排泄を増加させる効果が認められたが、PCB 投与後8日目から35日までの短期間のPCB の糞中排泄レベルはコントロール群で0.05～1.2%と少なく、海藻群がコントロール群に比べてPCB の糞中排泄レベルを1.1～2.4倍増加させても、その体外への排泄量は投与量のわずか2.8%以下であったためと考えられた。10%緑茶群における3, 3', 4, 4', 5-PentaCB, 2, 3, 4, 4', 5-PentaCB, 2', 3, 4, 4', 5-PentaCB, 2, 3, 3', 4, 4', 5'-HexaCB 及び2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HeptaCB の体内蓄積量はコントロール群と比べて7.3～28.8% ($p<0.01$ or $p<0.05$) の低下が認められた。

4 考察

PCB はかなり長い生物学的半減期を持っているため、消化管壁から消化管内へ分泌されたPCB を効果的に再吸収抑制し排泄促進させることが重要である。我々はこの研究でクロレラ、クロロフィル、わかめ、ひじき、こんぶ、のり及び緑茶がPCB の再吸収を抑制し、糞中への排泄を助長する機能があることを明らかにした。以前、我々はクロレラがPCDD及びPCDFの糞中排泄を促進することを報告した。10%クロレラ食を投与したラットにおいて、毒性が高いTCDD, 1, 2, 3, 7, 8-Pentachlorodibenzo-*p*-dioxin (1, 2, 3, 7, 8-PentaCDD) 及び2, 3, 4, 7, 8-PentaCDFの糞中排泄量はコントロール群と比べて、それぞれ4.4, 2.8及び3.4倍 ($p<0.01$) 増加した。この実験でクロレラは消化管で食品経由のPCDD及びPCDFの吸収を抑制する効果と、体内から消化管内へ分泌されたPCDD及びPCDFの再吸収を抑制する効果があることを明らかにした。クロレラ及びクロロフィルによるPCB, PCDD及びPCDFの排泄促進機構は明白ではないが、その要因として、次のことが考えられた。クロロフィル誘導体のクロロフィリンは、ヘテロサイクリックアミンと複合体を形成することが知られている。消化管でほとんど吸収されないクロロフィルが、平面構造を持つPCB, PCDD及びPCDFと複合体を形成し、その消化管吸収を阻害したことに由来していると考えた。

またさらに我々は数種類の食物繊維を用いて、ラット体内の PCDD 及び PCDF の糞中排泄に及ぼす効果を報告した。10%の米ぬか繊維、ごぼう繊維、コーン繊維及び大豆繊維を投与した群の PCDD 及び PCDF の糞中排泄量は食物繊維が含まれていないコントロール群と比べて、1, 2, 3, 7, 8-PentaCDD が1.6～4.3倍 ($p<0.01$)、2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF が1.5～4.5倍 ($p<0.01$) 増加した。このことから、クロレラに含まれる食物繊維が PCB, PCDD 及び PCDF を吸着し、その消化管吸収を抑制したことに由来していると考えられた。わかめ、ひじき、こんぶ、のり及び緑茶にも食物繊維及びクロロフィルが多く含まれることから、その再吸収抑制機構はクロレラと同様の機能であると考えられる。

人の PCB 吸収排泄機構はまだ明白ではない。ラットにおける PCB の排泄促進に及ぼすクロレラ及びクロロフィル等の効果を人に当てはめる決め手は、人における生物学的半減期、代謝及び排泄である。人の場合、PCB の生物学的半減期は台湾油症患者が1.6～6.0年、日本の油症患者が9.1～18.4年と報告されている。半減期9.1～18.4年とは PCB の総排泄量が体内蓄積量の0.01～0.02% /日に相当し、PCB の代謝物 (OH-PCB, MeSO₂-PCB) 及び未変化体が尿及び糞から排泄される量が極めて少ないことを示している。

ラットの場合、PCB は極性の代謝物が尿及び糞から、未変化体が消化管壁から消化管内へ分泌され糞から排泄される。我々の研究結果から、PCB 投与後8日目から35日までの総排泄量に対する糞中排泄量 (未変化体) の比率を計算した結果、3, 3', 4, 4'-TetraCB はほとんどが代謝物として、反対に3, 3', 4, 4', 5, 5'-HexaCB は大部分が未変化体として排泄されていることが示唆された。

人の TCDD 投与実験において、TCDD は87%以上が腸管から吸収され、尿からでなく総排泄量として体内量の0.0327%/日が糞から排泄される。TCDD の生物学的半減期は5.8～9.2年、糞中の未変化体量は約50%であると報告されている。また、TCDD の血中濃度が極めて高い2名の患者にオレストラ (Olestra; sucrose polyester) を66g /日投与した実験において、オレストラは TCDD の糞中排泄量を8～10倍に増加させたと報告されている。また、PCDD 及び PCDF の総排泄量に対する未変化体の糞中排泄量の比率は37～90%であり、未変化体の糞中排泄が人における PCDD 及び PCDF 排泄の主要なルートであると報告されている。我々の研究において、0.5%クロロフィル食及び10%クロレラ食はコントロール群と比べて PCB の糞中排泄量を2.4～3.9倍増加させた。人の PCB 総排泄量に対する糞中の未変化体の比率が90%であるならば、0.5%クロロフィル食及び10%クロレラ

食は台湾油症患者の半減期6.0年を1.7～2.7年へ、日本の油症患者の半減期18.4年を4.9～7.8年へ短縮する効果があることが示唆される。

日本人の食品の摂取量は乾燥重量当たり約426g /日である。2～10%実験食は人の摂取量として8.5～42.6g /日、0.1～0.5%クロロフィル食は人の摂取量として426～2100mg /日と計算される。このクロロフィル摂取量はほうれん草に換算すると416～2051g /日 (生鮮食品)、クロレラに換算すると19～94g /日に相当する。このことから、単独でなく、種々の食品を日々摂取することが大切と思われる。

(ダイオキシンから身を守る食生活指針) : ダイオキシンによる健康障害を防止するためには、体内に蓄積したダイオキシンを排泄促進することが重要である。クロロフィルと食物繊維はダイオキシンの吸収及び再吸収を抑制し、糞中排泄を促進する機能があることが分かった。クロロフィルと食物繊維が多く含まれる様々な食品 (緑茶、緑色野菜、クロレラ、海藻類) を日々摂取する食生活を心掛けることが大切である。

5 行政的意義、貢献

ダイオキシンから身を守る食生活の方法を提示することは、県民 (国民) の健康維持と不安の解消に役立つ。

文献

- 1) Morita K. *et al.*, Increasing effect of Nori on the fecal excretion of dioxin by rats. *Biosci, Biotechnol. Biochem.* 66(11), 2306-2313 (2002).
- 2) Morita K. *et al.*, Seaweed accelerates the excretion of dioxin stored in rats. *J. Agric Food Chem.*, 50: 910-917 (2002).
- 3) Morita, K. *et al.*, Chlorophyll derived from *Chlorella* inhibits dioxin absorption from the gastrointestinal tract and accelerates dioxin excretion in rats. *Environ. Health Perspect.*, 109, 289-294 (2001)
- 4) Morita K. *et al.*, *Chlorella* accelerates dioxin excretion in rats. *J. Nutr.*, 129, 1731-1736 (1999)
- 5) Morita K. *et al.*, Effect of dietary fiber on fecal excretion and distribution of PCDF in rats. *Fukuoka Igaku Zasshi* 86: 218-225 (1995).
- 6) Morita K. *et al.*, Effect of green vegetable on digestive tract absorption of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in rats. *Fukuoka Igaku Zasshi* 90: 171-183 (1999).
- 7) Haraguchi, K. *et al.*, Comparative study on formation of hydroxy and sulfur-containing metabolites from different chlorinated biphenyls with 2, 5-substitution in rats. *Drug. Metab. Dispos.* 25: 845-852 (1997).

大気中ダイオキシン類関連化合物の植物葉への沈着状況解明 のためのモデル植物葉試作と大気長期計測法の開発

研究期間（平成14年度～15年度）

黒川陽一^{*1}，大石興弘^{*1}，飛石和大^{*1}，宗伸明^{*2}，今任稔彦^{*2}

要 旨

植物葉への代理表面としてミネラルオイル，ポリウレタンフォーム，長炭素鎖の疎水性表面を用い大気中のダイオキシン類の移行を調査した．これらの表面は大気中のガス状ダイオキシン類への大きな親和性を示し植物葉と同様な吸着特性を示した．またダイオキシン類汚染土壌の植物葉への影響は蒸散によるよりも土壌粒子の葉表面への吸着あるいは気孔等を通した内部への取り込み等の機構がより影響することが推察された．次に代理表面による大気中ダイオキシン類の汚染指標化及び長期計測法への応用を検討した．ポリウレタン熱処理加工品（スコットフィルター）は，大気中ダイオキシン類の捕集量が大きく溶媒洗浄及び抽出が可能でかつ取り扱い及び設置が容易な特徴があることから実際上大気中の微量のダイオキシン類の捕集に適していることが判明した．これについて大気中濃度と捕集量との関係性についての調査及び考察を行った．

[キーワード： ダイオキシン類，代理表面，大気長期モニタリング]

1 はじめに

植物の葉は大気中のダイオキシン類を取り込むことが知られており，表面のワックス層やクチクラ層，気孔の内部への移行によるものとされている．葉に取り込まれたダイオキシン類は最終的に人に取り込まれる食物連鎖における最初の段階に位置することからその機構を明らかにすることは重要である．また植物葉は長期的な大気汚染を知る生物モニターとして大気汚染の指標としても利用されている．近年，植物葉へのダイオキシン類の移行は大気経由が主であり，粒子状沈着よりも乾性のガス状沈着が主要な取り込み経路として報告されている¹⁾．日本において過去に調査された植物葉では，多くのガス状のパターンが観測されている²⁾．しかし過去に大量に使用されたクロロニトロフェン（Chlornitrofen, CNP）等の除草剤を含む土壌で育成された野菜の葉では，大気中ダイオキシン類とは異なるパターンが得られ³⁾，新たな取込機構を考察する必要性が生じた．取り込みのプロセスは，植物葉表面の様々な性質や生育条件等に制約されることから，移行経路を単純化することを目的として代理表面を植物葉の代わりに使用した．

また代理表面によるダイオキシン類の取り込みの機序

を明らかにした上で，代理表面を植物葉に代わる地域的な汚染の長期的かつ簡易なモニタリング手法として応用することを検討した．微量な大気中ダイオキシン類を捕集するのに適した表面積を持つ代理表面を使用し大気長期モニタリング手法に適用するための沈着速度や沈着パターン等の基礎的データを収集した．

2 研究方法

2・1 大気中ダイオキシン類の代理表面への移行

内側をミネラルオイルで塗布したペトリ皿，ポリウレタンフォーム及び ODS ディスク（オクタデシルシリカを含むポリ四フッ化エチレン円板）を，3週間，高さ15mのビルの屋上にて大気と接触する状態に置いた．同時に一般大気中ダイオキシン類をローボリウムエアースンプラーにより採取した．

2・2 土壌中ダイオキシン類の代理表面への移行

フライアッシュとダイオキシン類汚染土壌をビーカーの内側に広げ，ODS ディスクを接触した状態でフライアッシュ及び汚染土壌上に置いた．ODS ディスク上の残留粒子はエアージェル及び蒸留水で除去し，これらの ODS ディスクは，トルエンソックスレー抽出に供した．また

*1 福岡県保健環境研究所 (〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

*2 九州大学大学院工学研究院 (〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎6-10-1)

他の表面としてパラフィン及びポリスチレンについて同様な検討を行った。次に ODS ディスクを1cm の間隙においてフライアッシュと汚染土壌の上方に置き、3週間20℃の恒温に保ち ODS ディスクへの移行を調査した。さらに5 μ m の孔径を持つテフロンフィルターを ODS ディスク上部に乗せ、フライアッシュと汚染土壌を広げ、1週間後の ODS ディスクを分析した。

2・3 代理表面による大気長期計測法への応用

アセトン洗浄後のスコットフィルター（HR-13, 15cm $\times$ 30cm 厚さ5mm）を高さ15m のビルの屋上に設置し、経時的なダイオキシン類の捕集量変化を測定した。またスコットフィルター（HR-13, 30cm $\times$ 90cm 厚さ5mm）を、福岡県内の D 市（農村部）と K 市（中小都市部）の2カ所に設置し、同時に両地点にてローボリウムエアースンプラーにて大気中ダイオキシン類を採取した。試料採取後のスコットフィルターは、全てアセトンによりソックスレー抽出に供した。

2・4 前処理

全ての採取抽出液にカーボン13ラベル化体の17種ダイオキシン類の内部標準を加え、濃硫酸処理、硝酸銀-シリカゲル混合カラム、活性炭カラムで精製しダイオキシン類の分析に用いた。

2・5 GC/MS分析

前処理後の試料をノナンに溶解し、分解能10,000以上でガスクロマトグラフィー・質量分析計によりダイオキシン類の測定を行った。

3 結果及び考察

3・1・1 代理表面への大気中ダイオキシン類の沈着

様々な樹木葉中のダイオキシン類（ポリ塩化ダイベンゾ-*p*-ジオキシン（PCDDs）及びポリ塩化ダイベンゾフラン（PCDFs））の測定結果¹⁾によると、ダイオキシン類濃度は低塩素数になるほど増加し木の種類によらず PCDDs の同族体パターンは、PCDFs のそれに類似していた。これらの同族体パターンから大気中のガス状ダイオキシン類への大きな吸着性が見いだされている。ダイオキシン類を含む多くの化学物質は、一般に疎水性を持ち同じ疎水性表面への親和性を持つことより植物葉のダイオキシン類の吸着性は疎水-疎水結合によるものと推測される。よって植物葉による大気中ダイオキシン類の取り込み機構を明らかにする目的で疎水性表面を検討することとした。疎水性代理表面は樹木の葉を想定して高さ15m のビルの屋上に設置された。ミネラルオイルへ沈着した大気中ダイオキシン類（図1）は、塩素数の減少と共に増加するガス状パターンを示した。これはミネ

ラルオイルへのガス状ダイオキシン類と粒子状と比較してのより大きな分配を示すものである。同時期に測定されたローボリウムエアースンプラーの大気中ダイオキシン類濃度測定結果よりミネラルオイルへのダイオキシン

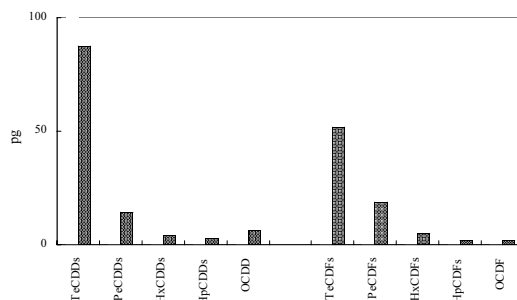


図1 ミネラルオイル中のダイオキシン類

類の沈着速度を計算したところダイオキシン類の沈着速度は、0.01から0.49cm/s の範囲であった。4-5塩素化のダイオキシン類と7-8塩素化ダイオキシン類の沈着速度の間に5倍程の差があることから2種類の沈着（すなわちガス状ダイオキシン類の沈着と粒子状ダイオキシン類の沈着）が違う速度で進行していることが考察された。ポリウレタンフォームと ODS ディスク上のダイオキシン類のパターンは同じようなガス状パターンを示し、この調査で使用された3つの代理表面（ミネラルオイル、ポリウレタンフォームと ODS ディスク）は全て、植物の葉と同様なガス状パターンであった。これらのことより植物葉への大気中ガス状ダイオキシン類の沈着は主に疎水性物質間の親和性によるものであり、ここで使用した疎水性代理表面は多くの植物葉と同様な吸着特性を有していることが示唆された。

3・1・2 汚染土壌からのODSディスク上へのダイオキシン類の移行

除草剤によって汚染された土壌で栽培されたジャガイモとキャベツの葉においては高濃度の4塩化ダイベンゾ-*p*-ジオキシン（TCDD）が検出される現象が見いだされている³⁾。野菜の葉におけるダイオキシン類パターンは、生育地に依存し除草剤によって汚染された土壌ではその影響を受けていると推察される。当初その機構はダイオキシン類の土壌からの揮散によるものと推定されたが、その詳細は検討されておらずダイオキシン類と結合した土壌粒子そのものの影響も否定できていない。実際の葉を用いた実験系では影響要素が多く特定が難しいことから代理表面を用いた単純化した幾つかのモデル実験を検討することとした。フライアッシュ及び除草剤 CNP によって汚染された土壌を使用し ODS ディスクを直接、接触させる、あるいは非接触の状態からのダイオキシン

類の移行を検討した。比較的高濃度のフライアッシュ及び汚染土壌を使用しコントロールと比較した。直接接触した状態ではフライアッシュ中のダイオキシン類の一部は ODS ディスク上へ移行し、移行したダイオキシン類パターンはフライアッシュと同様のパターンを示した。また非接触状態で1cm のエアギャップがある場合には、フライアッシュ中のダイオキシン類の有意量の ODS ディスクへの移行は見られなかった。汚染土壌でも同様に非接触でダイオキシン類の有意な移行は見られなかつ

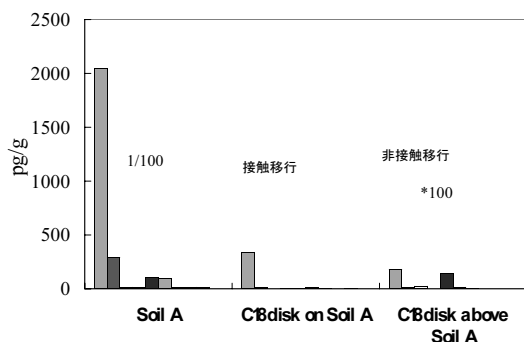


図2 ODSディスクへの土壌中ダイオキシン類の移行

た(図2)。しかし直接接触の場合に元の汚染土壌が示すような4塩素化ダイオキシンについて ODS ディスクへのかなりの量の移行が見られた。ODS ディスクの他にヒストパラフィンやポリスチレン表面での検討も行ったがダイオキシン類の微量が検出され、これらは表面に吸着残留したものと考えられた。直接接触ではこれらの表面上の残留物は除去されているものの肉眼で視認出来ない微細粒子が表面への吸着や内部へ取り込まれたものとして存在する可能性が推察された。実際の植物葉においては数 μm -数10 μm の気孔が1 cm^2 に数百から数万個存在する。よってさらに5 μm の細孔を持つテフロンフィルター上から細孔を通しての土壌粒子中のダイオキシン類の ODS ディスクへの移行も検討した。移行量の順は

直接接触>5 μm の細孔>1cmのエアギャップ

となり、汚染土壌からのダイオキシン類の移行は蒸散によるよりも土壌粒子自体の巻き上げ等に伴う葉表面への吸着あるいは気孔等を通した内部への取り込み等の機構がより影響することが考察された。

3・2 ダイオキシン類の長期計測法の開発

植物葉は、地域の長期間にわたるダイオキシン類汚染を相対的に表す指標として有効性があるとされているが、葉の個体差や測定場所が限定されること等の欠点もまた有している。代理表面を植物葉の代わりに用いることにより欠点を補い機動性を付加することが可能にな

る。そこで代理表面を汚染指標及び長期計測に応用することを検討した。ポリウレタン熱処理加工品であるスコットフィルターは、溶媒洗浄が可能であり本来のポリウレタンフォームに比べても通気性が高い3次元構造のため大気への接触表面積が大きくかつ粉塵保持容量も大きい。これらの点は長期計測法に用いるのに適していることからスコットフィルターについて大気中ダイオキシン類の吸着性に関する試験検討を行った。福岡県内の2地点にスコットフィルターを設置し、同時にローボリウムエアサンプラーにより大気中のダイオキシン類を採取し比較を行った。表1に示したように15×30cm サイズに換算したスコットフィルターへの沈着量は、ローボリウムエアサンプラーの6L/minでの同期間の吸引採取法と比較して毒性等量換算量(TEQ)で2倍以上の採取量を示した。また沈着量はD市において12 pg-TEQ/ m^2 /day、K市において22 pg-TEQ/ m^2 /dayであり大気中ダイ

表1 ローボリウムサンプラーとスコットフィルターの比較

	ローボリウムエアサンプラー		スコットフィルター
	総量(pg, pg-TEQ)	濃度(pg/ m^3 , pg-TEQ/ m^3)	総量(pg, pg-TEQ)
D地点	778 pg 4.8 pg-TEQ	4.7 pg 0.072 pg-TEQ	5791 pg 19 pg-TEQ
K地点	520 pg 4.1 pg-TEQ	4.1 pg 0.047 pg-TEQ	3035 pg 9.47 pg-TEQ

オキシン類濃度が反映されたと見られる。また沈着速度はスコットフィルターの大気中ガス状ダイオキシン類への強い親和性を示した。スコットフィルターへの捕集粉塵量は経時的に増えたが、15×30cm サイズのフィルターで約0.12g/月であった。また図3に示したように42日間の調査の結果、スコットフィルターの大気暴露期間と大気中ダイオキシン類の捕集量との間に、降雨の影響を受けるもののほぼ直線的な関係性があることが分かった。

植物葉や代理表面によるダイオキシン類大気汚染の指標性は長期間の相対的な汚染状況を把握するのには適しているが吸着量から正確な大気中濃度を知ることには問題点が存在する。それは表面の吸着特性が粒子状に対するよりも、より強くガス状態への吸着性を示すことから季節の変化に伴う気温の影響を受けガス状及び粒子状を含めた全体の大気中ダイオキシン類濃度を反映しない点があるからである。しかし全体のダイオキシン類の毒性濃度を数種の異性体を用いて代表し指標化する手法が大

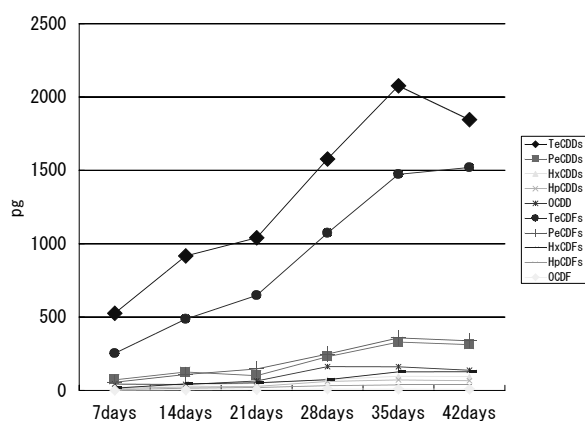


図3 ダイオキシン類沈着量の変化

気中ダイオキシン類にも適用可能であることが近年、提案されている⁴⁾。よって代理表面へ沈着した毒性濃度を代表する異性体沈着量のみから全毒性濃度を算出することにより大気中ダイオキシン類濃度をより正確に推定できる可能性がある。例えば大気中ダイオキシン類毒性濃度 (pg-TEQ/m²) は、スコットフィルターへの沈着量 (Amount) 及び沈着速度 (Deposition. rate), 表面積 (Area) と暴露期間 (Period) より大気中ダイオキシン類毒性濃度と相関性が高い^{2, 3, 4, 7, 8- PeCDF} との回帰係数1.67⁴⁾を用いると以下の式より簡易的に表される。

$$\begin{aligned} \text{TEQ} &= \text{Factor} \times \text{TEF} \times \text{Concentration of 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF} \\ &\quad (\text{TEF}=0.5, \text{ Factor, 回帰係数} = 1.67) \\ &= 1.67 \times 0.5 \times \text{Deposition. rate of 5F} \\ &\quad \times \text{Amount of 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF} \times \text{Area} \times \text{Period} \end{aligned}$$

5塩化ダイベンゾフランのスコットフィルターへの平均的沈着速度を実験結果から確定すれば、大気暴露時間と面積及び沈着量から大気中ダイオキシン類の毒性濃度が推定されることが期待される。

また沈着量に影響を及ぼす因子として雨水の影響を検討した。ダイオキシン類が雨水により洗い落とされる効果を捕集後のフィルターを水洗したもの和水洗しなかったものについて比較した (図4) と、TEQ で約30%の損失が見られた。風速の吸着量への影響はガス状ダイオキシン類の割合が大きいことより風速の変化を極力少なくすることが効果的であると考えられる。シェルターは、これらの雨水及び風速の影響を排除するのに有効であり、簡易性は損なわれるもののより高い大気中濃度との相関性の確保に寄与すると推察される。また今後スコットフィルターによる捕集データと実際の大気中濃度の比較データを蓄積していくことが重要と考えられた。

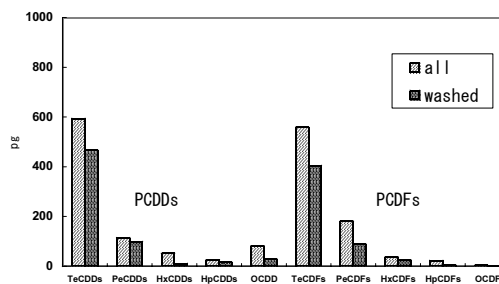


図4 水洗前と水洗後の比較

4 まとめ

大気中のダイオキシン類の植物葉への主要な移行経路であるガス状沈着は、いくつかの疎水性表面で再現されることが分かった。汚染土壌からの影響は、蒸散によるものより植物葉表面への吸着や取り込みの影響が大きいことが推察された。またスコットフィルターの大気中ダイオキシン類の長期計測法への応用を検討した結果、大気中ダイオキシン類の吸着性が大きく、大気中ダイオキシン類濃度を反映する有効な簡易的手法となる可能性が示された。

5 行政的意義、貢献

大気中ダイオキシン類の測定は、ハイボリウムエアースンプラーを用い年4回一週間の測定が公定法として行われているが、代理表面による長期計測法は、より長期的なダイオキシン類の傾向の把握及び電源や機器を必要としないどこでも簡易的に汚染傾向を知る手法として、より多くの地域でハイボリウムエアースンプラー法を補間するものとしての効果が期待される。

文献

- 1) Welsch-Pausch K., McLachlan M. S., and Umlauf G. . Environ. Sci. Technol. 29. 1090-1098. 1995
- 2) 松枝隆彦, 平川博仙, 飯田隆雄, 黒川陽一, 須田隆一, 第32回大気汚染学会講演要旨集, 476, 1991
- 3) Nakamura M., Matsueda T., Kurokawa Y., Takada S. and Fukamachi K. Organohalogen Compounds. 20. 103-106, 1994
- 4) 松枝隆彦, 黒川陽一, 大野健治, 飛石和大, 馬場義輝, 石黒靖尚, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 392-393, 2003

底質中のダイオキシン類の処理に関する研究

研究期間（平成14年度～15年度）

大野健治*, 松枝隆彦*, 黒川陽一*, 飛石和大*, 北直子*, 桜木建治*,
馬場義輝*, 石黒靖尚*

要 旨

平成12年5月に大牟田川下流域の河川水から環境基準を超える濃度のダイオキシン類が検出された。その後の調査で大牟田川中流域の河床から滲出している黒色油状物質が汚染の原因物質であることが明らかとなった。底質の汚染状況を把握するため、平成14年8月及び平成15年5月に川底ボーリング調査、平成16年1月に補足ボーリング調査が実施された。その結果、ダイオキシン類による底質の汚染範囲は、ほぼ川底に限定されていることが判明した。底質のダイオキシン類による汚染状況が明らかになり、汚染底質のダイオキシン類対策が重要な課題となってきた。そこで、ダイオキシン類の処理技術の情報を収集し、底質の処理技術を整理し、大牟田川底質に適用可能と考えられる処理技術の評価を行った。

[キーワード：ダイオキシン類、分解、底質、処理技術]

1 はじめに

平成12年5月に大牟田川下流域の河川水から環境基準(1pg-TEQ/L)をはるかに超える濃度(五月橋:93pg-TEQ/L)のダイオキシン類が検出された。その後の調査で大牟田川中流域の河床から滲出している39万 pg-TEQ/g の高濃度のダイオキシン類を含有する黒色油状物質が、汚染の原因物質であることが判明した。そこで、川底のコンクリート目地止めの応急補修工事が行われ、工事後は大牟田川の水質中ダイオキシン類濃度は低濃度で推移している。平成14年8月及び平成15年5月に底質の汚染状況を把握するため川底のボーリング調査が実施され、川底から深度6m の底質中で最高49,000 pg-TEQ/g(底質の環境基準 150pg-TEQ/g)の高濃度のダイオキシン類による汚染が存在することが明らかとなった。大牟田川中流域にダイオキシン類による底質汚染が広がっていることが推定されたため、平成16年1月に補足ボーリング調査が実施された。その結果、ダイオキシン類による汚染は横方向にはほとんど広がっておらず、汚染範囲はほぼ川底に限定されていることが判明した。今後、抜本的汚染対策として大牟田川川底の高濃度汚染底質の封じ込めあるいは除去、分解処理を実施する場合を想定し、処理技術の情報の収集及び検討、評価を行った。

2 研究方法

ダイオキシン類処理技術に関する情報をインターネットや文献から収集し、企業が保有する処理技術のアンケート調査を実施し、処理技術の内容を整理・検討した。また、横浜市鶴見川などのダイオキシン類土壌汚染対策地の現地調査及び稼働している実証プラントやダイオキシン類の分解処理施設の現地調査を行い、評価の資料とした。

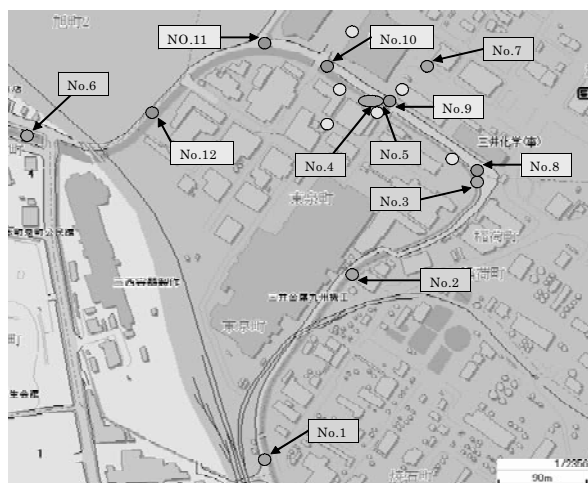


図1 大牟田川ボーリング調査位置

* 福岡県保健環境研究所

(〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

3 結果及び考察

ダイオキシン類の対策手法としては、汚染底質を掘削除去せず原位置で封じ込める手法と、掘削除去しダイオキシン類を処理する手法がある。また、ダイオキシン類の処理技術には大別すると物理化学的処理法と微生物的処理法がある。物理化学的処理法には土壌、飛灰などに適用された事例が見られるが、微生物的処理法は技術的に確立されておらず、実証事例がないため処理技術の検討から除いた。

大牟田川中流域での処理対象となる底質量は、10,000m³（含水率：10-50%）を超えると推定される。また、底質はダイオキシン類の他、ポリ塩化ビフェニール（PCB）、クロロベンゼン類（CB）及び多環芳香族化合物（PAH）により高濃度に汚染されており、この底質の処理について検討した。

表1 ダイオキシン類処理技術

処理方法	処理技術	特長・問題点	適用性
溶融固化法	プラズマ溶融炉法	①設置に1年間 ②飛灰の処理が必要	△
	間接熱脱着法＋ジオメルト法	①低コスト ②処理物の利用可能 ③可搬式	◎
	直接ガス化溶融法	①高コスト ②処理期間が長い ③飛灰の処理が必要	△
	溶融処理法	①高コスト ②処理期間が長い ③飛灰の処理が必要	△
高温焼却法	セメント焼成法	①高コスト ②DXNsの処理実績なし ③大量処理可能 ④移動不可	△
	キルン熱処理法	①設置に1年間 ②処理期間は短い ③低コスト ④大量処理可能	○
低温熱分解法	間接加熱法＋直接加熱法（ハイセック工法）	①低コスト ②大量処理可能 ③分解率は改善の余地あり ④可搬式	◎
	気相水素還元法（還元熱化学分解法）	①分解率は良好 ②処理期間が長い ③高コスト	△
化学分解法	還元加熱法＋金属Na分散体法（RH-SPプロセス）	①DXNsの処理実績あり ②処理能力が小さい ③可搬式	◎
	アルカリ触媒分解法（BCD法）	①PCBでの処理実績多数 ②DXNsの処理実績は少ない	◎
	低温加熱熱化学処理法（ダイオカット法）	①分解率が低い ②高濃度汚染物に未対応 ③可搬式	○
	DCR脱ハロゲン化法	①乾燥必要 ②処理後は粉体 ③大量処理は不向き	○
溶媒抽出法	溶媒抽出法＋金属Na分散体法（SP法）	①分解率が低い ②溶媒の揮散 ③可搬式	△

適用性：処理コスト、処理期間、分解率などを考慮して評価した

◎：適用は可能 ○：条件によっては可能 △：適用はかなり困難

企業が保有するダイオキシン類処理技術を、アンケート調査により収集、整理した結果を表1に示す。溶融固化法や高温焼却法のように一段階で処理を行う方法と間接熱脱着法や溶媒抽出法などでダイオキシン類をあらかじめ分離した後、分解処理する方法がある。各処理方法

の特徴は、次のようである。溶融固化法は、ダイオキシン類を完全に処理できるが、エネルギー消費量が大きくコストが高くなることから高濃度・小規模処理に適している。高温焼却法は排ガス処理量が多く装置が大型化するが、連続大量処理が可能な方法である。低温熱分解法及び化学分解法は、コスト的に有利な処理方法であるが、処理規模が小さいものが多く、また、高濃度汚染物では分解率が低下する可能性がある。溶媒抽出法では、溶媒の揮散の恐れや分解率が低いため、直ちに適用することは難しいと考えられる。また、比較的低温で処理する間接熱脱着法、間接加熱法は、処理物の再利用が可能となるメリットがある。処理作業は汚染現場近くで実施されることが望ましく、そのため可搬式の処理施設が開発されている処理技術もある。対策手法によっては、除去した底質の一時保管施設や水分調整・異物除去等の前処理施設の用地の確保が必要となる。このため、処理技術の優劣だけでなく付随する用地の確保等の課題も含めて、総合的に判断する必要がある。

国内のダイオキシン類汚染土壌等の対策事例としては、和歌山県橋本市では汚染土壌をジオメルト法で、鹿児島県川辺町では焼却飛灰を DCR 脱ハロゲン化法で処理を行っている。しかしながら、横浜市鶴見川、東京都大田区などでは、汚染拡大防止のため汚染土壌は一時保管され、現在、処理技術の選定が行われているように、国内でのダイオキシン類対策の実施例は少数にとどまっているのが現状である。

4 まとめ

大牟田川中流域の底質はダイオキシン類の他、ポリ塩化ビフェニール、クロロベンゼン類等に複合汚染されている。また、既存の汚染例と比較して広範囲・高濃度であり、参考となる処理実施例はほとんどない状況にある。大牟田川ダイオキシン類汚染底質の処理技術の選定に当たっては、対策に要する期間、費用、周辺地域への安全性等を考慮し、慎重な判断が必要と考えられる。

5 行政的意義、貢献

汚染対策が実施されるうえで、現在まで得られた大牟田川底質のデータや処理技術情報に基づき、適切な処理が実施され、周辺地域の環境が保全されることが期待される。

文献

- 1) 細見正明：PCB の処理技術，廃棄物学会誌，197-209，2000
- 2) 車田佳範：汚染底質の処理対策技術，環境技術，314-317，2003
- 3) 国土交通省：港湾における底質ダイオキシン類対策技術指針，2003

廃棄物埋立処分場の適正管理に関する研究

研究期間（平成13年度～15年度）

高橋浩司^{*1}，宇都宮彬^{*1}，永瀬誠^{*1}，鳥羽峰樹^{*1}，土田大輔^{*1}，
石黒靖尚^{*1}，堀川和美^{*1}，濱崎光宏^{*1}，世良暢之^{*1}，島岡隆行^{*2}，谷口初美^{*3}

要 旨

産業廃棄物最終処分場における事故や環境汚染事例が発生していることから、その原因解明及び事故防止のための新たな管理手法の確立のための研究を行った。埋立処分場からの硫化水素の発生原因の一つとされている石膏ボードについて、その発生メカニズムを検討した。また、処分場の新たな管理手法として熱赤外線画像装置によるリモートセンシング法及び微生物解析による方法を検討した。熱赤外線画像装置による地表面温度調査を行った結果、有機物分解反応や埋立物の燃焼等に起因する埋立地の温度上昇を確認できた。また、微生物解析では、硫酸還元菌及びメタン生成菌について適切な培養方法を明らかにし、さらにそれらの微生物群集を塩基配列により同定した。このことから、処分場の管理手法として、熱赤外線による地表面温度の測定や微生物解析の有効性が示唆された。

〔キーワード： 廃棄物処分場，硫化水素，メタン，リモートセンシング，土壌微生物〕

1 はじめに

近年、廃棄物埋立処分場において、硫化水素ガスの発生や火災などの事故が相次いで発生している。県内の処分場においてもいくつかの事故の事例が報告されているが、その原因の解明がほとんどなされていない。したがって、処分場における事故に至る要因を検討した。また、事故を未然に防止するため、処分場の新たな管理手法について検討を行った。

2 研究方法

2・1 石膏ボードからの硫化水素発生メカニズムの検討

埋立処分場における硫化水素の発生の主要な原因の一つと推定されている石膏ボードについて、その溶出試験を行い、石膏ボードから溶出する成分を測定した。また、石膏ボード、有機物、緩衝液、及び土壌抽出液をバイアル瓶に入れ、空気を入れないように密栓した後嫌気的条件下で放置し、約1か月後に硫化水素を測定した。

2・2 熱赤外線による管理手法の検討

処分場に有機性の廃棄物が混入して埋め立てられた場合、この有機性廃棄物が微生物により分解され、硫化水素やメタンが発生する。この微生物分解には発熱を伴うため、地表面温度を測定することにより、高温となっている部分を発見し、発熱原因を調査することで、有機物やガスなどによる汚染を未然に防止することが可能になると考えられる。そこで、熱赤外線画像装置を使用して地表面温度の調査を行い、熱赤外線による管理手法の有効性を検討した。

熱赤外線画像装置には CPA7000(チノー)を用いた。また、調査は県内の安定型最終処分場を対象に行い、地上からの調査と上空からの調査を行った。地上からの調査は、処分場内の埋立区画全体を見渡せる位置から熱赤外線画像と写真を撮影して行った。上空からの調査は、県庁環境部監視指導課が県警と合同で年4回行っているヘリコプターによる県内処分場の巡視に同行し、上空約300mの位置から熱赤外線画像を撮影して行った。

*1 福岡県保健環境研究所 (〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)
*2 九州大学大学院工学研究院 (〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎6-10-1)
*3 産業医科大学大学医学部 (〒807-8555 福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1)

2・3 微生物解析による管理手法の検討

処分場の埋立層内では微生物による有機物の分解が起きており、これが層内の酸素濃度、pH や温度などに影響し、最終的に埋立地から流出する浸出水や発生するガスの質、量に大きな影響を与える。したがって、処分場内の土壌の微生物群集を解析することにより、処分場の安全性や安定化の評価が可能になると考えられる。そこで、処分場内の土壌を採取し、培養及び遺伝学的手法を用いて土壌中の微生物群集の解析を行い、微生物解析による管理手法の有効性を検討した。

調査は、産業医科大学が採取した一般廃棄物最終処分場、産業廃棄物最終処分場、不法投棄現場及び対照となる土壌について行った。当研究所では、重金属やダイオキシン類などの理化学試験、硫酸還元菌及びメタン生成菌の培養、培養した菌の16SrDNA 塩基配列決定による微生物群集解析を行った。

3 結果及び考察

3・1 石膏ボードからの硫化水素発生メカニズムの検討

石膏ボードは、主に硫酸カルシウムと紙でできており、用いた石膏ボードの硫酸カルシウムの含有量は81%であった。石膏ボードの溶出試験を行った結果、溶出液には硫酸カルシウムに起因する硫酸イオンが1540mg/l と高い濃度で含まれていた。さらに、BOD が49mg/l であり、有機物も溶出することが分かった。このことは、石膏ボードは硫酸イオンの供給源だけでなく、有機物の供給源にもなることを示している。

硫化水素発生実験の結果、石膏ボードを加えた場合は硫化水素が6.5mg/l 検出され、石膏ボードが硫化水素発生の原因となることが分かった。この硫化水素の発生について、さらに詳細な条件を調べるために、有機物濃度、硫酸塩の濃度及び pH を変えて実験を行った。有機物の影響の結果を図1に示す。溶液中の BOD が上昇するにつれて、発生する硫化水素濃度が大きくなることが分かった。このことは、有機物濃度が高い溶液中ほど微生物の活動が活発になり、硫化水素が多く発生することを示しており、溶液中に硫酸イオンが存在する場合、有機物として BOD が20mg/l 以上あれば、高濃度の硫化水素が発生する危険性があると考えられる。さらに、硫化水素の濃度は、溶液中の硫酸イオン濃度が大きくなるにつれて高く、pH は6～7.6の間で高いことが分かった。

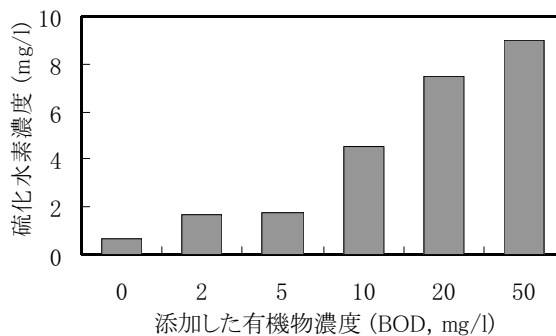


図1 有機物の影響

3・2 熱赤外線による監視手法の検討

3・2・1 地上からの調査

調査を行った処分場Aの法面の写真及び熱赤外線画像を図2に示す。この処分場では、以前から水蒸気が発生していることが確認されており、今回の温度調査の際も水蒸気の発生は継続していた。熱赤外線画像より、法面上に廃棄物表面温度が20～40℃となっている高温部分が確認された。埋立区画の影響を受けない場所の地表面温度は11℃であり、廃棄物表面の最高温度との差は29℃であった。高温部から発生しているガスを測定した結果、メタン11%、アンモニア24ppm が検出され、埋立地内部で微生物による有機物の嫌気性分解反応が起きていると推測された。さらに、地表面の掘削を行ったところ、土壌と廃棄物が黒色に変化しており、嫌気的な状態であることが分かった。また、掘削部から発生するガスの温度は76℃に達しており、さらに一酸化炭素1%が検出された。観測された温度は、微生物生育条件の上限温度である80℃に近く、さらに発生ガス中に一酸化炭素が検出されたことから、廃棄物層内部で埋立廃棄物が燃焼している可能性が考えられた。メタン等の可燃性のガスが発生しており危険であったため、熱赤外線画像により特定された高温部分を要注意箇所とし、地下の廃棄物を除去して、埋立区画に放水するよう管理者に指導した。その結果、一週間経過後には地表面温度の最高温度は30℃前後に低下した。

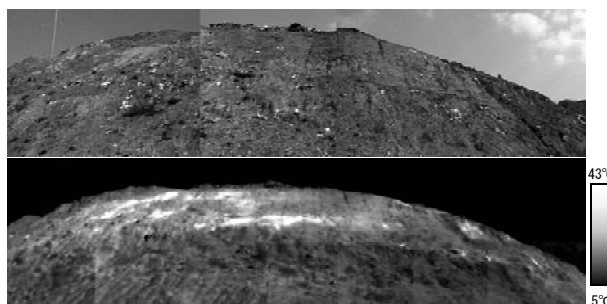


図2 処分場Aの写真(上)及び熱赤外線画像(下)

3・2・2 上空からの調査

調査は、県内の安定型最終処分場6箇所について行った。この6箇所の処分場A～Fの埋立区画及び対照地とした裸地について、それぞれ平均温度を算出して比較した。その結果、覆土のある処分場D～Fの平均温度は21℃であり、裸地の平均温度22℃とほぼ同じであった。一方、覆土のない処分場A～Cの平均温度は30℃であり、裸地の平均温度との差は8℃となった。このうち、処分場Bの上空からの撮影結果を図3に示す。熱赤外線画像から、埋立区画の温度が30～35℃となっていることがわかる。裸地に比べて高温となった処分場A～Cの地表面には、廃プラスチックが露出しており、プラスチックは土壤に比べ比熱が小さいため、太陽光により温まりやすい。調査を行ったのは、晴天日の10～12時という日射の強い時間帯であったことから、地表面の廃プラスチックが太陽光により温められたため、埋立区画の温度が上昇したと考えられた。このように、太陽光により埋立区画が30℃前後に温められている状態では、仮に有機物分解によって発熱している部分があったとしても、その位置を特定することは困難であると考えられる。

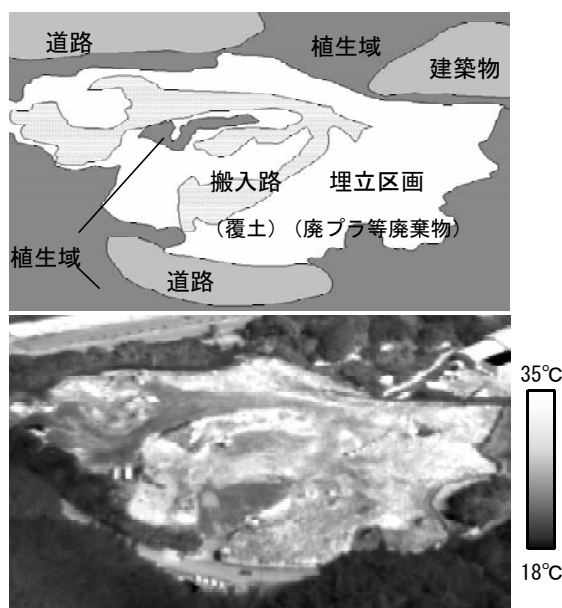


図3 処分場Bの土地被覆(上)と熱赤外線画像(下)

3・3 微生物解析による管理手法の検討

3・3・1 理化学試験

理化学試験として、pH、電気伝導率、重金属、イオン成分及びダイオキシン類等の分析を行った。その結果、硫化水素の発生が問題となっている不法投棄現場や産業廃棄物処分場の土壤では、表層からの深さが深い土壤で硫酸イオンが多く含まれる傾向が見られ、深層の嫌気的な雰囲気の中で硫酸還元菌の活動により硫化水素が発生していることが示唆された。一方、焼却灰が多く処分されて

いる一般廃棄物処分場では、pHが高く、微生物が生育しにくい環境にあると考えられた。ダイオキシン類については、廃棄物処分場の土壤のほうが対照の土壤よりも含有量が高く、焼却灰の影響が考えられた。

3・3・2 硫酸還元菌の培養

硫酸還元菌の土壤中での挙動を把握することを目的として、硫酸還元菌の計数のための培養を行った。用いた培地は、上水道試験方法に掲載されているPostgateのF培地に乳酸ナトリウムを増やしたmISA培地及び下水道試験方法(1997年版)に掲載されているPostgateのEより乳酸ナトリウムが少なく、チオグリコール酸ナトリウム、アスコルビン酸及びレサズリンを加えたDSMZ medium 63に酢酸ナトリウムを加えた培地(mDSMZ)を用いた。硫酸還元菌数の測定方法は、液体培地を用いた最確数(MPN)3本法と寒天培地を用いたパウチ法の2法で実施した。測定対象土壤は、不法投棄現場、一般廃棄物最終処分場、産業廃棄物最終処分場及び対照地点の土壤の合計24検体について実施した。

MPN法で測定した硫酸還元菌数の結果を図4に示す。廃棄物による汚染のある土壤ではmDSMZ培地で培養した場合のほうが菌数が高く、対照土壤ではmISA培地での菌数が多かった。採取地点の深さと菌数の関係は、埋立物や土壤の違いのため明確にはならなかった。また、硫酸還元菌数と培養日数の関係は、mISA培地では24検体中23検体が3、7及び21日培養後の菌数はほぼ同じであったが、mDSMZ培地ではすべての検体で3日目では培地の黒変は見られず7日目から黒変が観察され、検体の50%は21日目に菌の増殖は平衡に達していたが、50%は21日までは平衡状態の確認はできなかった。

パウチ法での硫酸還元菌数の測定は、培養時間が長くなるとコロニーが大きくなり硫化鉄の黒色反応が広がり培地全体が黒色となるため長期間の培養には不向きであるが、MPN法での菌数とパウチ法での菌数を比べた場合、遜色ない結果が得られ、短期間に簡易的に硫酸還元菌を計測する方法としては有用であることが分かった。

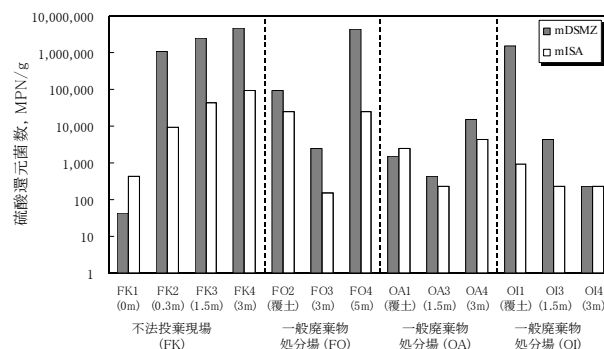


図4 土壤中の硫酸還元菌数

3・3・3 メタン生成菌の培養

土壌中のメタン生成菌を計測することを目的とし、まず土壌中に生息するメタン生成菌数を測定するための培養条件(培地、温度及び期間)について検討を行った。次に、この条件を用いて、7箇所の土壌及び水中に生息するメタン生成菌数の測定を行った。

4箇所の土壌(一般廃棄物処分場2箇所、産業廃棄物処分場及1箇所、不法投棄現場1箇所)を用いて、メタン生成菌を培養する最適条件を求めた。その結果、メタン生成菌数を測定するには、Balch 培地にギ酸、酢酸、メタノール、塩酸トリメチルアミン、塩化カリウム、塩化マグネシウム、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム鉄などを添加した Balch 変法培地で、30℃8週間培養するのが適切であると考えられた。

次に、この条件を用いて7箇所の土壌及び水中に生息するメタン生成菌数を測定した。このうち、不法投棄現場 FK 及び一般廃棄物処分場 FO のメタン生成菌の測定結果を図5に示す。メタン生成菌数は ND ~240,000 MPN/g であり、処分場によって大きな差があることが分かった。さらに、同じ場所の土壌でも、深さによってメタン生成菌数が大きく異なることが明らかとなった。さらに、50℃培養でしかメタン生成菌が計測できない土壌があること、40℃培養のほうが高い値を示す土壌もあることなども明らかとなった。以上のことから、処分場に生息するメタン生成菌数の測定は上記で設定した条件でほぼ測定できるものと考えられるが、処分場の特性を考慮して、組成を少しずつ変える必要性もあることも示唆された。

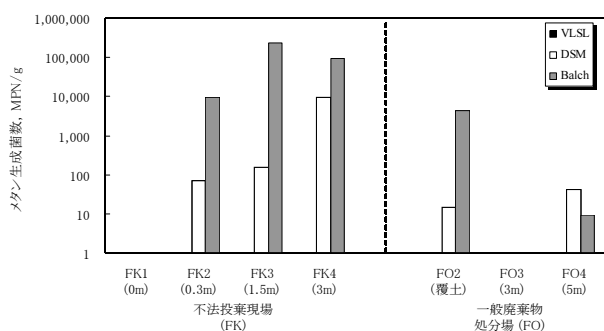


図5 土壌中のメタン生成菌数

3・3・4 16SrDNA塩基配列決定による微生物群集解析

硫酸還元菌及びメタン生成菌の培養を行った液体培地中の微生物群集解析を行った。

硫酸還元菌は、mISA 培地と DSMZ63培地で培養した検体について DNA 抽出を行い、PCR で16SrDNA 領域を

増幅し、その塩基配列から菌種の同定を行った。その結果、土壌から検出された硫酸還元菌は、*Desulfosporosinus* 属及び *Desulfotomaculum* 属の2属のみであった。水からは、*Desulfovibrio* 属、*Desulfomicrobium* 属、*Desulfosporosinus* 属及び *Desulfotomaculum* 属の4属が検出された。DSMZ63培地と mISA 培地で検出効率を比較すると、DSMZ63培地では培養したほとんどの検体から硫酸還元菌を検出することができたが、mISA 培地では培養したいくつかの検体からは硫酸還元菌を検出することができなかった。また、mISA 培地では、DSMZ63培地より *Clostridium* 属の検出率が高い傾向が認められた。以上のことから DSMZ63培地の方が硫酸還元菌の検出に適していると考えられる。

メタン生成菌については、Balch 培地及び DSM 培地を用いて培養し、メタンガスの発生が確認された検体について、その16SrDNA の塩基配列から菌種の同定を行った。その結果、いくつかの検体から *Methanobacterium* 属等4属のメタン生成菌が検出された。しかし、その検出率は、1.5%~6.5%と低いものであった。検出効率を上昇させるために DNA 抽出方法や PCR プライマーの検討が必要と考えられる。

4 まとめ

産業廃棄物最終処分場における事故や環境汚染事例が発生していることから、その原因解明及び事故防止のための新たな管理手法の確立のための研究を行った。硫化水素の発生原因の一つとされている石膏ボードについて、硫化水素発生メカニズムを検討した。また、処分場の新たな管理手法として熱赤外線画像装置によるリモートセンシング法及び微生物解析による方法を検討した。熱赤外線画像装置による地表面温度調査を行った結果、有機物分解反応や埋立物の燃焼等に起因する埋立地の温度上昇を確認できた。また、微生物解析では、硫酸還元菌及びメタン生成菌について適切な培養方法を明らかにし、さらにそれらの微生物群集を塩基配列により同定した。このことから、処分場の管理手法として、熱赤外線による地表面温度の測定や微生物解析の有効性が示唆された。

5 行政的意義、貢献

産業廃棄物処分場における事故防止のための新たな管理手法として、熱赤外線画像装置及び微生物解析による調査方法を提案した。現在実施されている有害物質等の調査に加え、これらの手法を利用することにより、処分場の事故防止のための監視指導や事故時の迅速な対応に寄与できると考えられる。

生活環境中のラドン等の動態と低減化に関する調査研究

研究期間（平成14年度～15年度）

榑崎幸範^{*1}，石橋融子^{*1}，松尾宏^{*1}，床次眞司^{*2}

要 旨

福岡県下の地下水中ラドン濃度は幾何平均値39 Bq/kgであり，北部で高く，南部で低い傾向にあった．温泉の判定に用いられているIM泉効計で測定したラドン濃度は，液体シンチレーションカウンタによる測定値に対して過大に評価される傾向にあることがわかった．一方，ラドンを含む井戸水を使用する家屋における屋内ラドンの分布及び線量評価を行い，井戸水中ラドンが屋内ラドン濃度を高める要因となっていることを示した．また，水中のラドンを効率的に除去するには激しく界面が乱れ，水中から気泡と共に揮散しやすい状態にすることがラドンの低減化に有効であった．

〔キーワード：放射能，放射線，ラドン濃度，線量評価，低減化〕

1 はじめに

ラドンは一般公衆が1年間に受ける被ばく線量の50%（1.2mSv）を占め，肺ガンや胃ガン等の健康影響が懸念されている¹⁾．国内には，鉱泉あるいは療養泉等の医治効果を期待した温泉法上の基準（下限値）がある一方で，生活環境中のラドン被ばくによるリスクという観点での基準値はない．しかし，地下水を飲料する地域の中では，米国環境保護庁の飲料水基準値（11Bq/l）をはるかに超えている地点も認められている²⁾．

本研究は，県内の地下水中ラドン濃度の実態とその分布を調べるとともに，保健物理学的な観点に基づき水中から屋内への移行と空間分布及びラドンの動態とヒトに与える線量評価を行った．さらに，水中ラドン濃度の低減化をはかる目的でラドンの除去方法についても検討を行った．

2 研究方法

（1）1996～2001年にかけて，福岡県下の温泉分析に伴い測定された分析結果（63か所）をもとに，ラドンの地域分布及び地質や地下水中の物理化学的成分との関係について解析した．

（2）水中ラドン濃度測定装置の信頼性確認のために，同一水源から採取したサンプルを用いて，「鉱泉分析法指針」に指定されている2つのラドン分析装置（IM 泉効計，液体シンチレーションカウンタ）及びバブリング装置と電離箱式モニタ（Pulse ionization chamber），バブリング装置と静電捕集式ラドンモニタ（Radon monitor）に

よる比較実験を行った．

（3）ラドン濃度の高い井戸水を使用する家庭における屋内でのラドンの暴露及び線量評価を行うため，パッシブ型ラドン濃度測定器（ラドポット）等を用いて屋内のラドン濃度を測定した．

（4）飲料水中におけるラドンの除去方法として家庭用浄水器，加熱，曝気及びくみ置きによる物理的処理方法を検討した．

3 結果及び考察

（1）福岡県下の地下水中ラドン濃度は1～1,130Bq/kg，対数正規分布を示し，幾何平均値 39Bq/kg であった．ラドン濃度は花崗閃緑岩の地質である筑豊地方及び糸島地方に高く，沖積層や洪積層の堆積物である筑後地方では低濃度であった（図 1）．



図1 IM-泉効計によるラドン濃度の分布と採取場所

ラドン濃度が 10 - 100 Bq/kg (△) , 100 Bq/kg - 730 Bq/kg (○) , 730 Bq/kg - 6720 Bq/kg (□) , 6720 Bq/kg 以上 (◇) .

*1 福岡県保健環境研究所

(〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

*2 放射線医学総合研究所

(〒263-8555 千葉県千葉市稲毛区穴川4丁目9番1号)

地下水中ラドン濃度と地下水の湧出量、水温、陽イオン濃度、陰イオン濃度等の物理化学的成分との間に有意な関係はみられなかった。

(2) 4種類のラドン濃度測定装置を用いて、水中のラドン濃度に関する比較実験を行った。液体シンチレーションカウンタの測定値に対する各装置の測定値の比を表1に示す。試料A、Bのいずれでも、IM 泉効計を除くと3種類の装置の差は±3%以内であった。しかし、IM 泉効計は液体シンチレーションカウンタに対し過大に評価される傾向にあり、校正方法の検討を含めた測定法の見直しが必要であると思われる。

表 1 異なる装置で測定された水中ラドン濃度の比較

Sample	Liquid scintillation counter	IM-fontactoscope		Pulse ionization chamber		Radon monitor	
	Measured value (Bq/l)	Measured value (Bq/l)	Ratio	Measured value (Bq/l)	Ratio	Measured value (Bq/l)	Ratio
A	231 ± 4	339	1.47	231 ± 7	1.00	223 ± 7	0.97
B	908 ± 7	1110	1.22	928 ± 6	1.02	—	—

(3) ラドン濃度353 Bq/l を含む井戸水を、主として風呂場で使用している木造モルタル平屋造りの屋内ラドン濃度、水中ラドン濃度及び土壤中核種濃度等を測定し、屋内ラドン濃度を高める要因を検討するとともにラドン濃度の分布並びに線量評価を行った。

調査家屋の間取り及び年間を通して測定した各部屋のラドン濃度を図2、表2に示す。

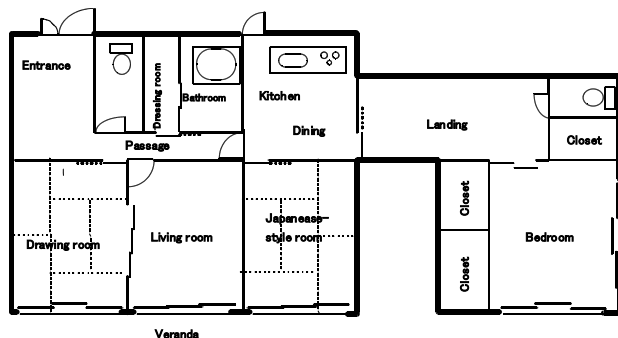


図 2 調査家屋の間取り

表 2 年間ラドン濃度及びラドン濃度の長期変動と空間分布

Installation place	Start	End	Radon concentration (Bq/m³)									
			Nov-2001	Jan-2002	Mar-2002	May-2002	Jul-2002	Sep-2002	Nov-2002	Jan-2003		
Investigated house	Bath room	42	65	184	64	53	98	36				
	Dressing room	46	33	169	39	61	68	52				
	Living	24	25	36	23	22	14	20				
	Kitchen	33	52	46	18	26	43	27				
	Bed room	14	21	24	31	28	27	25				
Control house-1	Post	5	7	5	8	2	7	13				
	1 Bath room	24	17	23	15	17	23	20				
	Living	39	45	37	24	37	47	36				
	Bed room	30	32	32	30	25	34	37				
	Post	12	23	25	2	17	7	8				
Control house-2	2 Bath room	22	9	10	9	7	14	15				
	Living	11	10	13	7	2	14	13				
	Bed room	10	12	6	12	10	8	10				
	Post	20	15	15	10	3	8	10				
	3 Bath room	14	6	18	9	6	19	14				
Control house-3	Living	7	23	6	14	13	21	15				
	Bed room	9	10	10	23	12	12	14				
	Post	5	6	6	7	4	10	12				

ラドン濃度の空間的な分布は大きく、年間の算術平均濃度は45±37 Bq/m³であった。年間のラドン濃度から求めた調査家屋における在宅時の平均的な実効線量は0.88 mSv/yと見積もられた。

この値はわが国のラドンによる年間実効線量0.46mSvに対し約2倍の線量に相当した。

屋内生活の大部分を占める居間及び寝室でのラドン濃度は諸外国の規制値よりも低い値であったが、浴室でのラドン濃度は最高184Bq/m³であったほか、脱衣所内のラドン濃度は井戸水使用時に964 Bq/m³を検出した。

(4) 飲料水中におけるラドンの除去方法として家庭用浄水器、加熱、曝気及びくみ置きによる物理的处理方法を検討した。ろ過材に粒状活性炭(370g)を使用した浄水器ではラドンの除去効果が認められたが、その効果は通水量に従い徐々に低下した。希ガスであるラドンは温度の上昇とともに溶解度は低下し、水中の濃度は減少した。しかし、加熱操作だけでは十分な除去効果は得られなかった。ラドンを完全に除去するには沸騰や曝気することが有効であった(図3、4)。

したがって、一般的には使用前に沸騰させることで米国環境保護庁の飲料水基準値(11 Bq/l)以下に除去できるものと思われる。

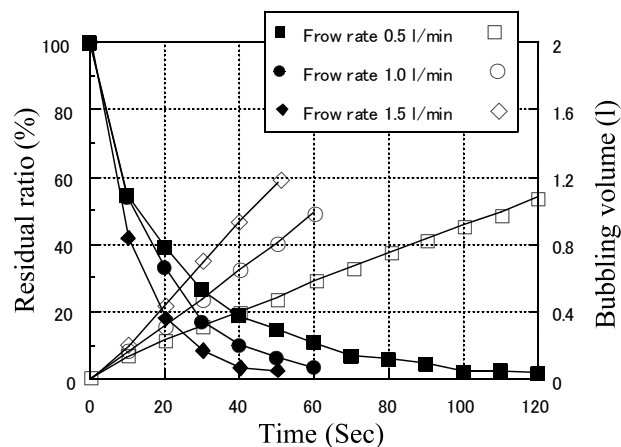


図 3 加熱によるラドンの除去

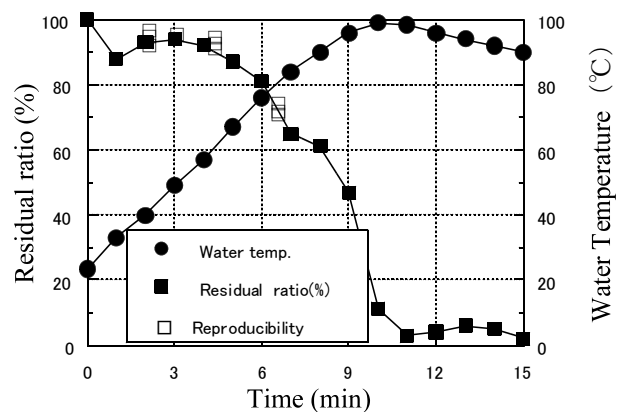


図 4 曝気によるラドンの除去

4 まとめ

(1) 福岡県下の地下水中ラドン濃度は花崗閃緑岩の地質である北部で高く、沖積層や洪積層の堆積物である南部で低い傾向が認められた。

(2) IM 泉効計で測定したラドン濃度は過大評価される傾向にあるため、液体シンチレーションカウンタ等への変更が望まれる。

(3) 水中ラドン濃度の高い井戸水を使用する家屋では、在宅時の実効線量が増加する可能性があることを示した。

(4) 水中のラドンを効率的に除去するには激しく界面が乱れ、水中から気泡と共に揮散しやすい状態にすることがラドンの低減化に効果的であることがわかった。

5 行政的意義, 貢献

文部科学省において、生活環境中のラドンに対するガイドラインが検討されている。本研究は、福岡県内におけるラドンによる被ばく線量の現状を明らかにし、ガイドライン作成の資料となるものである。また、生活環境中の濃度レベル、変動及び挙動等の実態を解明し、実効線量を推定することを可能とした。さらに、除去方法を提示することによって県民の安全と健康に寄与する。

文献

- 1) United Nations Scientific Committee on the Effectsof Atomic Radiation;Sources and effects of ionizingradiation, United Nations, New York (1993).
- 2) Y. YASUOKA and M. SHINOI; Determination of Radon concentrations in natural water in the Rokko area and evaluation of its effective dose, Radioisotopes, 49, 551 - 557 (2000).