

ヒト血漿中 POPs の簡易迅速分析法の開発

A high-throughput analysis of selected POPs in a small volume of human plasma using GC-MS/MS

○西岡 宗一郎¹, Anh Le Thai¹, 佐藤 修之¹

(¹いであ株式会社)

○NISHIOKA, Soichiro¹, ANH, Le Thai¹, SATO, Nobuyuki¹

(¹IDEA Consultants, Inc.)

e-mail: nso21524@ideacon.co.jp

【はじめに】

残留性有機汚染物質 (POPs) は環境残留性、生物蓄積性が高く、POPs 条約で製造、使用等が規制された後もヒトへの健康影響が懸念されている。ヨーロッパの出生コホート調査では胎児期 PCB 曝露と出生体重減少との間に関連性が示唆されており⁽¹⁾、今後も同様の調査をもとに影響の究明が必要である。従来のヒト血漿中 POPs 分析法は、大量の試料と分析時間が必要であり、コホート調査で想定される多検体の分析が困難であった。そこで、自動前処理装置と迅速分析用カラムを装着した GC-MS/MS を活用することで、少量の血漿試料で検出率の高い POP s を選定し、簡便かつ安価に分析できる迅速分析法の開発を試みた。

【方法】

本分析法は血漿試料 200 μ L を保持型液液抽出 (SLE) カートリッジにロードし、ヘキサンで溶出、窒素濃縮後、測定検液に転溶し、GC-MS/MS で POPs 26 物質 (OCPs 7 物質、PBDEs 3 物質、PCBs 16 物質) を分析した。抽出工程で自動前処理装置を活用し、前処理の迅速化とヒューマンエラーの防止を実現した。GC-MS/MS の分析カラムに VF Rapid-MS PCB screen を使用し、測定時間は約 15 分とした。検量線の範囲は 50 – 10,000 pg/g、各項目の直線性は $r^2 \geq 0.995$ であった。

【結果と考察】

本分析法で外部クロスチェック用のヒト血清試料 (G-EQUAS) を分析した結果、各項目で認証値の範囲内に収まり、信頼性が示された。日内変動、日間変動は 15% 以内であり、再現性も確認できた。

日本人ボランティアのヒト血漿試料 86 検体を本分析法で分析した結果、20 物質で濃度の中央値が本分析法の MDL を上回った (図 1)。すなわち日本人のコホート調査で分析を実施した場合、20 物質の検出率が 50% 以上となり、本分析法の MDL で十分な検出率が得られる可能性を示した。また、このうち 20 検体を本分析法と従来の方法で分析した。PBDEs は MDL 未満の検体が多く評価できなかったが、OCPs と PCBs では 2 方法で高い正の相関関係がみられた ($p < 0.05$)。これにより、検出率の高い物質を対象とした分析では、従来法と同程度の精度で分析が可能と考えられる。

POPs を同程度の試料量で分析した先行研究の検出下限値の比較を表 1 に示した。先行研究は高価で高感度な GC-HRMS と測定機器の違いはあるが、検出下限値に大きな違いはなかった。本分析法が従来の方法と同等に少量の血漿試料で検出率の高い POP s を簡便かつ安価に分析できる迅速分析法であることを示す。

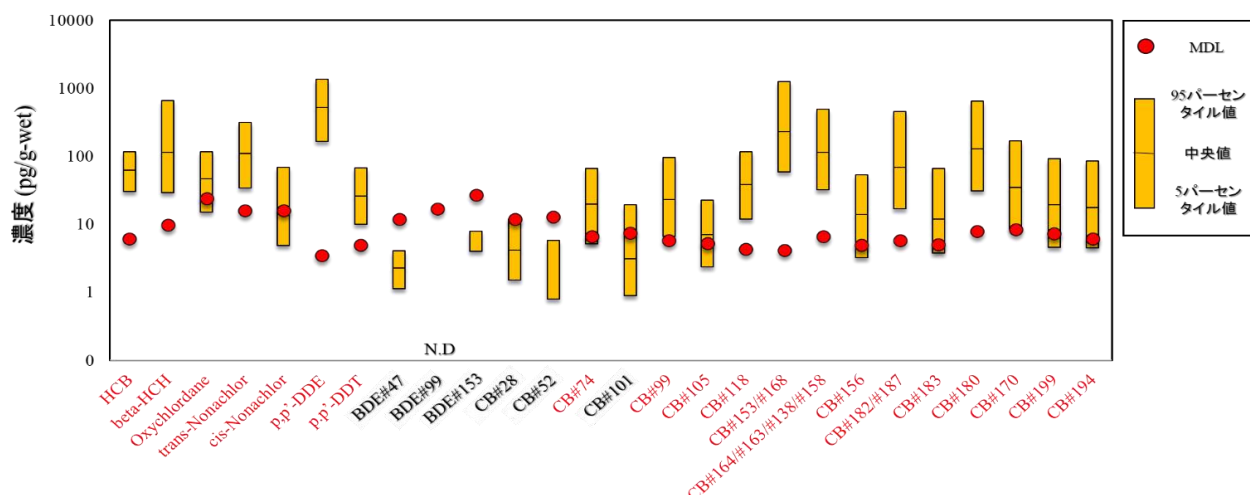
図 1 本分析法の MDL とヒト血漿中の POPs 濃度 ($n=86$) の比較

表 1 本分析法と先行研究の下限値の比較

分析法	試料	前処理	測定機器	試料量 (μ L)	OCPs		PBDEs		PCBs	
					LOD (pg/mL)	LOQ (pg/mL)	LOD (pg/mL)	LOQ (pg/mL)	LOD (pg/mL)	LOQ (pg/mL)
Wittsiepe J <i>et al.</i> , 2014	血漿・血清	SPE	GC-HRMS	200	-	7.0 - 17	N.A.	N.A.	-	8.0 - 44
Stubleski J <i>et al.</i> , 2018	血漿・血清	SPE	GC-HRMS	150	4.2 - 167	-	6.1	-	2.2 - 45	-
本分析法	血漿	SLE	GC-MS/MS	200	3.5 - 24	8.9 - 61	12 - 27	31 - 69	4.2 - 13	11 - 33

N.A. : Not Analysis

【結論】

SLE カートリッジを活用した自動前処理装置による前処理と迅速分析用カラムを装着した GC-MS/MS による測定で、血漿試料 200 μ L で OCPs 7 物質、PBDEs 3 物質、PCBs16 物質を簡便かつ安価に分析する迅速分析法を開発した。

本分析法と従来法で分析した血漿試料中 OCPs、PCBs 測定値に差はみられなかった。また、本分析法で外部クロスチェック用のヒト血清試料(G-EQUAS)を分析した結果、全て認証値の範囲内であり、信頼性が示された。GC-HRMS を用いた先行研究の検出下限を本分析法は GC-MS/MS で実現しており、コストパフォーマンスの高いハイスループットな方法であると言え、大規模コホート調査に活用できる。

【参考文献】

- Govarts *et al.*, Birth Weight and Prenatal Exposure to Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE): A Meta-analysis within 12 European Birth Cohorts. *Environmental Health Perspectives* 2012, 120, 162-170.
- Jürgen Wittsiepe *et al.*, Steenland and Moe, Determination of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in small volumes of human blood by high-throughput on-line SPE-LVI-GC-HRMS. *Journal of Chromatography B* 2014, 945-946, 217-224
- Jordan Stubleski *et al.*, A method for analysis of marker persistent organic pollutants in low-volume plasma and serum samples using 96-well plate solid phase extraction. *Journal of Chromatography A* 2018, 1546, 18-27