

平成18年度 総括・分担研究報告書

熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

平成 18 年度研究班構成員氏名

- 主任研究者 古江 増隆 (九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授)
- 分担研究者 赤峰 昭文 (九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座
歯内疾患制御学研究分野 教授)
- 飯田 三雄 (九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野 教授)
- 石橋 達朗 (九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授)
- 今村 知明 (東京大学医学部附属病院企画情報運営部 助教授)
- 岩本 幸英 (九州大学大学院医学研究院整形外科学分野 教授)
- 岸 玲子 (北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授)
- 隈上 武志 (長崎大学医学部歯学部附属病院眼科 講師)
- 古賀 信幸 (中村学園大学栄養科学部 教授)
- 佐藤 伸一 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学分野 教授)
- 重藤 寛史 (九州大学大学院医学研究院神経内科 助手)
- 月森 清巳 (九州大学病院周産母子センター 講師)
- 辻 博 (北九州津屋崎病院内科 部長)
- 徳永 章二 (九州大学大学院医学研究院予防医学分野 助手)
- 中西 洋一 (九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設 教授)
- 中山 樹一郎 (福岡大学医学部皮膚科 教授)
- 長山 淳哉 (九州大学医学部保健学科 助教授)
- 増崎 英明 (長崎大学医学部産科婦人科学 教授)
- 山田 英之 (九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 教授)
- 吉村 健清 (福岡県保健環境研究所 所長)
- 吉村 俊朗 (長崎大学医学部保健学科 教授)

(五十音順)

研究協力者	旭 正一	(産業医科大学 名誉教授)
	芦塚 由紀	(福岡県保健環境研究所生活化学課 主任技師)
	東 晃一	(九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野)
	飯田 隆雄	(北九州生活科学センター 理事長)
	石井 祐次	(九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 助教授)
	石田 卓巳	(九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 助手)
	井上 英	(厚生労働省 リサーチレジデント)
	大八木 保政	(九州大学大学院医学研究院神経内科 講師)
	緒方 久修	(九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野)
	小川 文秀	(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学分野 講師)
	小野塚 大介	(福岡県保健環境研究所管理部情報管理課 主任技師)
	梶原 淳睦	(福岡県保健環境研究所生活化学課 専門研究員)
	片岡 恭一郎	(福岡県保健環境研究所情報管理課 課長)
	神奈川 芳行	(東京大学大学院医学系研究科 (医学部附属病院企画情報運営部) 大学院生)
	北岡 隆	(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科眼科・視覚科学教室 教授)
	吉良 潤一	(九州大学大学院医学研究院神経内科 教授)
	小寺 宏平	(長崎大学医学部・歯学部附属病院産科婦人科 助手)
	柴田 智子	(九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 特任助手)
	清水 和宏	(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学分野 助教授)
	高尾 佳子	(福岡県保健環境研究所管理部情報管理課 技師)
	戸高 尊	(九州大学医学部 学術研究員)
	飛石 和大	(福岡県保健環境研究所計測技術課 研究員)
	中川 礼子	(福岡県保健環境研究所生活化学課 課長)
	中野 治郎	(長崎大学医学部保健学科 助手)
	橋口 勇	(九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座 歯内疾患制御学研究分野 助手)
	坂 晋	(北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 研究員)
	平川 博仙	(福岡県保健環境研究所生活化学課 専門研究員)
	福士 純一	(九州大学病院整形外科 助手)
	堀 就英	(福岡県保健環境研究所生活化学課 研究員)
	松枝 隆彦	(福岡県保健環境研究所計測技術課 専門研究員)
	松本 伸哉	(東京大学医学部附属病院企画情報運営部 客員研究員)
	村田 さつき	(福岡県保健環境研究所生活化学課 技師)
	安武 大輔	(福岡県保健環境研究所計測技術課 主任技師)

(五十音順)

目 次

I. 平成18年度総括研究報告書

「熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究」	01
主任研究者 古江 増隆	

II. 平成18年度分担研究報告

「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」	10
分担研究者 赤峰 昭文	
研究協力者 橋口 勇	

「2006 年度福岡県油症患者の皮膚症状に対する臨床的評価」	18
分担研究者 古江 増隆, 中山 樹一郎	
研究協力者 柴田 智子, 旭 正一	

「2005 年度福岡県油症検診における 尿中ジアセチルスペルミンと油症に関する検討」	24
分担研究者 古江 増隆	
研究協力者 柴田 智子, 徳永 章二	

「油症骨・関節病変の臨床的研究」	30
分担研究者 岩本 幸英	
研究協力者 福士 純一	

「油症患者における網膜血管の高血圧性及び 網膜細動脈硬化性変化に関する研究」	34
分担研究者 隈上 武志	
研究協力者 北岡 隆	

「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」	36
分担研究者 石橋 達朗	

「油症患者における婦人科疾患の研究」	37
分担研究者 月森 清巳, 徳永 章二, 増崎 英明	
研究協力者 小寺 宏平	

「油症患者における自覚的感覚異常と他覚的神経所見異常の経時変化の検討」・・・	4 2
分担研究者 重藤 寛史	
研究協力者 吉良 潤一, 大八木 保政	
「油症における性ホルモン影響」・・・	4 7
分担研究者 辻 博	
「油症患者の脂質代謝に関する研究」・・・	5 0
分担研究者 飯田 三雄	
研究協力者 東 晃一, 緒方 久修	
「油症認定患者血清中の抗 SS-A 抗体の解析」・・・	5 2
分担研究者 佐藤 伸一	
研究協力者 清水 和宏, 小川 文秀	
「油症認定患者血中 Catalase 活性の検討」・・・	5 4
分担研究者 佐藤 伸一	
研究協力者 清水 和宏, 小川 文秀	
「カネミ油症検診者の末梢神経、筋の変化および・糖尿病の合併について」・・・	5 6
分担研究者 吉村 俊朗	
研究協力者 中野 治郎	
「油症認定患者追跡調査」・・・	6 5
分担研究者 吉村 健清	
研究協力者 小野塚 大介, 片岡 恭一郎, 高尾 佳子	
「カネミ油症患者の症状とダイオキシンの異性体の関係に関する研究」・・・	6 8
分担研究者 今村 知明	
研究協力者 神奈川 芳行, 松本 伸哉	
「油症患者のダイオキシン類血中濃度と健康状態との関連 ー 臨床試験「油症に対するコレスチミド（コレバイン）内服療法」の 研究デザイン ー 」・・・	7 5
分担研究者 徳永 章二	
「油症一斉検診の全国集計結果及び油症患者データベースの構築」・・・	8 2
分担研究者 吉村 健清	
研究協力者 片岡 恭一郎, 高尾 佳子, 小野塚 大介, 梶原 淳睦	

「油症患者血液中の PCDF 類実態調査」・・・ 9 0

分担研究者 吉村 健清

研究協力者 梶原 淳睦, 中川 礼子, 片岡 恭一郎, 松枝 隆彦,
平川 博仙, 堀 就英, 飛石 和大, 芦塚 由紀,
安武 大輔, 小野塚 大介, 村田 さつき, 高尾 佳子
戸高 尊, 井上 英, 飯田 隆雄

「油症患者血液中 P C B 等追跡調査における分析法の改良および
その評価に関する研究」・・・ 9 9

分担研究者 吉村 健清

研究協力者 梶原 淳睦, 中川 礼子, 片岡 恭一郎, 松枝 隆彦,
平川 博仙, 堀 就英, 飛石 和大, 芦塚 由紀,
安武 大輔, 小野塚 大介, 村田 さつき, 高尾 佳子,
戸高 尊, 井上 英, 飯田 隆雄

「マイクロアレイを用いた環境化学物質代謝に關与する
遺伝子多型判別法の評価」・・・ 1 0 5

分担研究者 岸 玲子

研究協力者 坂 晋

「油症原因物質等の体外排泄促進に関する研究」・・・ 1 0 9

分担研究者 長山 淳哉

「食物成分 resveratrol による TCDD 誘発性脂肪肝軽減の試み」・・・ 1 1 3

分担研究者 山田 英之, 赤峰 昭文

研究協力者 石井 祐次, 石田 卓巳, 橋口 勇

「Proteasome 阻害剤が芳香族炭化水素レセプターを介した
シグナル伝達に及ぼす影響」・・・ 1 2 5

分担研究者 山田 英之

研究協力者 石井 祐次, 石田 卓巳

「2, 2', 3, 4', 4, 5', 6-七塩素化ビフェニル(CB183)の
in vitro 代謝の動物種差」・・・ 1 4 6

分担研究者 古賀 信幸

「ダイオキシン曝露による気道上皮傷害の検討」・・・ 1 5 3

分担研究者 中西 洋一

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 ・・・ 1 5 7

総括研究報告書

熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

主任研究者 古江増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授

研究要旨 油症患者の検診を行うことにより、今なお継続する症状を把握し、原因とされる化学物質との相関を検討した。また、基礎的研究を行い、その化学物質による生体への影響、および、油症症状の緩和をもたらす、健康食品などの効果を検討した。油症は polychlorinated biphenyl (PCB) と polychlorinated dibenzofuran (PCDF) の混合中毒であり、2001 年度の福岡県検診時より PCDF を含めた血液中ダイオキシン類濃度検査が始まり、2004 年 9 月 29 日に 2,3,4,7,8-polychlorinated dibenzofuran (PeCDF) に関する項目を追加した新しい診断基準を作成した。この診断基準に基づいて昨年に引きつづき、2006 年度も新たに 14 名を認定することができた。また、検診受診者の PCDF、PCB、各検査項目との相関についても検討が加えられた。様々な症状を緩和する方法についても検討を加え、漢方療法の臨床試験を実施し、継続中である。また 3 月からは体内に残存するダイオキシン類の排泄方法のひとつとしてコレステラミドの臨床試験を開始する予定であり、既に 18 名の登録が終了している。基礎的研究では PCB/ダイオキシン類は arylhydrocarbon receptor (AhR) を介する経路で酸化ストレスを引き起こすことが明らかとなった。またポリフェノールの一種であるレスベラトロールが、ダイオキシン毒性を一部軽減し得るが、ダイオキシン誘発性脂肪肝に対する レスベラトロール の軽減効果において、酸化的ストレスの関与は低いものである可能性が示された。昨今、検診を受診する患者の数は年々減少し、検診を受診していない患者の健康状態や、近況など把握できない状態である。また、年々徐々に症状は軽減していくものの健康に対する不安を抱く患者は少なからずいる。そのような患者の健康相談を行いながら、検診を受診していない患者の健康状態を把握するために、油症相談員事業を継続している。油症相談員によるアンケート聴取にて、油症と骨粗鬆症や関節痛の関連についてもダイオキシンの関与が示唆されている。研究を通じて明らかになった様々な事実については論文化し、日本語、英語でホームページに掲載している。また油症新聞第 2 号を発行し、昨年度の研究成果の一部を公開し、漢方療法の途中結果を公表した。この研究における究極的な目的は PCB やダイオキシン類が人体にいかなる影響を与えるのかを把握し、それによって得られた知見を、今もなお様々な症状に苦しむ患者の健康増進に還元する、ということである。

A. 研究目的

油症発生後、既に 38 年が経っており、多くの患者はその症状が徐々に軽快している一方で、いまだに、症状が持続する患者も認められ、二極化の傾向が近年み

られている。一方で、高齢化に伴い、加齢による変化や老年期障害が加わり、症状が油症によるものか加齢によるものか識別するのはなかなか困難な状況になりつつある。今後はその傾向が顕著になる

ことが予想される。ここで、現在の患者の状態を把握し、様々な角度から再評価する必要がある。

油症はPCBとPCDFの混合中毒であることは以前から知られていたが、生体内に微量に存在するPCDFを正確に測定することが困難であった。本研究班の技術改良により、血中に微量に存在するPCDFを測定できるようになり、4年前から検診に導入できるようになった。今後、より多くの患者を繰り返し測定し、検診項目、各検査との検討を行い、PCDFが症状形成にいかに関与したかを確認する必要がある。

また、最近では検診を受診する患者の数は年々減少し、検診を受診していない患者の健康状態や、近況など把握できない状態であり、患者の全体像を的確に把握するのは困難であった。また、油症症状は徐々に軽快しているとはいえ、健康に対する不安を抱く患者は少なくなく、そのような患者の健康相談を行いながら、検診を受診していない患者の健康状態を把握するために、油症相談員事業を導入した。今後もこの油症相談員事業を継続し、患者の全体像の把握に努めると同時に患者の健康相談に乗ることで、健康増進に寄与する。

油症は人類がPCBとダイオキシン類に曝露した、人類史上きわめてまれな事例である。様々な検討を通じて得られた知識は人類にとっても非常に貴重なものであり、これらの知識については患者のプライバシーに十分配慮しながら、公表可能なものは極力公表する必要がある。PCBやPCDF等のダイオキシン類が曝露後長期間経過した場合にどのような影響を人体にもたらすのかは明確になっておらず、今後も検診を継続し、注意深い観察と検討が必要である。また、症状は徐々に軽快しているとはいえ、いまだ、何らかの

症状を抱える患者も多数存在しており、有効な薬剤がない現在、臨床応用可能な薬剤の臨床試験が望まれている。以上のことを踏まえながら、現在の患者像を把握し、それに基づいて健康を増進することが求められている。

B. 研究方法

I. 班長が担当する研究

1. 班の総括と平成18年度の研究班会議開催

2. 油症検診の実施（各自治体に委託）と検診結果の全国集計

3. 油症相談員制度

健康の問題を含め、様々な不安を抱く患者の相談を行う。また、近年検診を受診していない患者の健康状態を調査する。

4. 台湾油症との情報交換

これまでの研究を通じて得た知識を相補的に交換し、互いの患者の健康増進につとめる。また、これからの研究の方向性を議論し、よりよい研究を目指す。

5. 情報の提供

本研究を通じて得られた知識で、情報公開可能なものについては極力情報公開につとめる。パンフレット、ホームページ、油症新聞の定期的な発行、あるいは直接書面で情報を患者に伝達する。また、患者集会で説明をする。

6. 検診体制の見直し

患者の症状の変遷にあわせて検診科目も変化させる必要がある。神経科、整形外科、内分泌科等の専門的、かつ医学的にも質の高い検診も望まれている。

7. 漢方療法の臨床試験を実施

漢方方剤を用いて、油症の全身倦怠感、痛みやしびれなどの症状を緩和することができるかどうかの臨床試験を継続する。またダイオキシン排泄効果が期待されるコレスチラミンの臨床試験を開始する。

II. 九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究

1. 検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、従来の症状との比較を行うとともに、各検査項目、検診項目について他覚的統計手法などを用いて、統計学的に解析し、経年変化の有無や変化の傾向について調査する。
2. 油症患者血液検査（総コレステロール、中性脂肪、アルドラーゼ、クレアチニン、 β リポ蛋白、空腹時血糖、インスリンなど）、尿検査、神経学的検査から健康影響を調査する。身体所見、臨床検査値、腹部超音波検査所見より、油症患者の脂質代謝異常と肥満・脂肪肝の関連について検討
3. 油症患者体内に残存する PCBs, PCQ や PCDF を含めたダイオキシン類を把握するために、血中濃度分析を行う。
4. 婦人科アンケート調査による婦人科疾患と油症、油症と出生との関係についての検討を行う。
5. 油症患者における骨・関節病変についてアンケート調査の結果をもとに検討を行う。
6. 油症原因物質などの体外排泄促進に関する研究を行う。
7. 油症発症機構に関する基礎的研究として、TCDD が気導上皮に与える影響を検討する。高残留性 PCB である 2,2',3,4',4,5',6-七塩素化ビフェニル (CB183) の代謝について動物差があるかを検討する。
8. ダイオキシン毒性軽減に関する基礎的研究として、植物成分レスベラトロールによるダイオキシン毒性への影響を、特に誘発性脂肪肝および酸化ストレス発生や proteasome 阻害による

arylhydrocarbon receptor (AhR) のシグナル伝達に及ぼす影響を検討する。

C. 結果および考察

1. 油症患者検診結果

データベースの構築に伴い、検診時にデータベースを用いることが可能となり、検診会場で、患者の健康増進指導に非常に有用なものとなった。今年度のデータベースには 1986 年度から 2005 年度検診までの検診受診者 1153 人が登録された。歯科では油症認定患者を対象に歯周炎ならびに口腔内色素沈着の罹患率を調べた結果、いずれも健常者に対して高い割合を示した。眼科では自覚症状では眼脂過多を訴えるものが多かったが、症状は徐々に軽くなっている。しかし、今後も慎重な経過観察が必要である。長崎県での眼科検診では網膜血管の高血圧性変化及び動脈硬化性変化を Scheie 分類を用いて、認定患者と未認定患者の間で比較検討した。高血圧性変化も動脈硬化性変化も、共に認定患者が重い傾向であったが、有意差は見られなかった。皮膚科では徐々に皮膚症状は軽快傾向にある患者が大多数であるが、3 割の患者にはいまだに油症特有の症状が認められており、今後とも注意深く観察を続ける必要がある。

2. 油症相談員制度および、アンケート調査

油症発症から 38 年が過ぎようとしているが、年月の経過とともに検診受診者も減少し、健康状況を含め、患者情報を取得することが困難な状況が続いていた。しかしながら、2002 年から導入した油症相談員事業により、様々な悩みに相談に乗ると同時に、近年検診を受診していな

い患者の健康状況をはじめとして、様々な情報を取得することができるようになった。2005年度は癌をはじめとする疾患の罹患状況、特に、骨粗しょう症や関節障害の有無についてアンケート調査を行った。骨粗鬆症の愁訴や関節痛の訴えとダイオキシン類と正の相関が得られた。今後は整形外科的検診を行うことで、変形性関節症や骨壊死症といった疾患の有無を評価し、油症患者における骨・関節障害の実態を検討していく必要があると考える。

3. 油症骨・関節病変の臨床的研究
油症患者 1257 名を対象に、骨・関節障害の実態について、アンケート形式による調査を行った。回答した 705 名について、骨粗鬆症に関連した愁訴（身長の低下や背中の曲がり、転倒による骨折など）および関節痛の有無について検討した。血中ダイオキシン類レベルが測定されている油症認定患者 307 名においては、有訴割合とダイオキシン類レベルの関連について解析したところ、骨粗鬆症の愁訴や関節痛の訴えとダイオキシン類と正の相関が得られた。今後は整形外科的検診を行うことで、変形性関節症や骨壊死症といった疾患の有無を評価し、油症患者における骨・関節障害の実態を検討していく必要があると考える。

4. 漢方療法及びコレステラミンによる臨床試験

2005 年 11 月から漢方薬による臨床試験を開始し、10 名については終了した。現在のところ 31 名の患者が登録し、多施設において継続している。終了した 10 名においては重篤な副作用は認められず、1 例には関節痛の改善が認められた。今後も参加希望者を募り、施行する予定である。

またダイオキシンの排泄促進作用が期待されるコレステラミンによる臨床試験を 2007 年 3 月より開始する。現在 18 名のエントリーが終了している。

5. 臨床試験「油症に対するコレステミド（コレバイン）内服療法」の研究デザイン

油症患者に対して高コレステロール血症治療薬コレステミドがダイオキシン類血中濃度を低下させる可能性を探るため、臨床試験「油症に対するコレステミド（コレバイン）内服療法」が行われる。この試験では油症の特殊性により事前に投与者数を積極的に設定できない。限られた症例数で検出力を高めるため、クロスオーバー試験とした。実施可能な対象者数 50 を想定すると、個人内変動（測定誤差を含む）を考慮して、主要エンドポイントの 2, 3, 7, 8-PeCDF、3, 3', 4, 4', 5-PeCB、及び、3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB の血液脂質中濃度が 10% 低下すれば十分な検出力 (>90%) で検出可能と推定された ($\alpha < 0.05$, 片側検定)。

6. 情報の提示

これまでの研究内容を患者に公表する会を開催し、研究内容をより判りやすく公表するとともに、様々な相談も受けた。パンフレット、ホームページ、新聞の発行、あるいは直接書面にて患者に伝達した。また、油症研究の概要、ダイオキシン類濃度の測定を通じて明らかとなったものを、英文学術誌である Journal of Dermatological Science の supplement として、刊行した。また、これまでの研究内容をひろく知らしめることを目的として、油症の検診と治療の手引きは、<http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html> に掲載し、油症研究 - 30 年の歩み - は

http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html として掲載した。さらに患者への情報提供のために、油症新聞第2号を発行し、ホームページにて閲覧できるように掲載した。

7. 油症認定患者追跡調査および油症一斉検診結果のデータベース構築

人体におけるダイオキシン類の摂取影響を明らかにする上で、認定患者の追跡調査は不可欠であるが、転居先不明で連絡不可能になる患者や、油症担当行政機関からの連絡を断る患者も少なくない。これまでの認定患者数を明らかにするとともに、認定患者の生存状況を調査し、死亡リスクの評価を行うことを目的として油症認定患者追跡調査を実施した。2006年に新たに油症と認定された14名を含めると、2006年12月末現在における全認定患者は1912名であった。このうち、これまでの調査期間中に生存の確認がとれている者が1374名、死亡の確認がとれている者が475名、生死不明の者が63名であった。なお、生存確認および死因調査はさらに継続中である。油症一斉検診受診者の検診電子データの維持管理及び「全国油症検診集計結果」報告を継続的に実施している。2006年度のデータベースには1986年度から2005年度検診までの検診受診者1153人が登録された。2004年度の全国油症検診集計結果、内科の自覚症状では関節痛、全身倦怠感、しびれ感、皮膚科では化膿傾向、眼科では眼脂過多、歯科では辺縁性歯周炎の訴えが多かった。油症特有の症状としては歯肉の色素沈着が約20～30%認められた。

8. 血液検査、尿検査、神経学的検査、

および腹部超音波検査からの健康影響調査

2005年度一斉検診時の身体所見、臨床検査値、腹部超音波検査所見より、油症患者の脂質代謝異常・糖代謝異常と肥満・脂肪肝の関連について検討した。BMIは総コレステロール（以下T.C）、LDLコレステロール（以下LDL-C）とは相関を認めなかったが、コリンエステラーゼ、中性脂肪、 β リポ蛋白、尿酸、空腹時血糖、血中IRI、HOMA指数とは正の相関を、HDLコレステロール（以下HDL-C）とは負の相関を認めた。腹部超音波検査でBLを認める群（BL群）と認めない群（非BL群）に分けて比較・検討すると、BL群は非BL群に比しBMI、中性脂肪、 β リポ蛋白、血中IRI、HOMA指数が有意に高かったが、T.C、HDL-C、LDL-C、コリンエステラーゼ、尿酸、空腹時血糖に有意差は認められなかった。

油症発症地域における血清脂質と認知機能との関連について、九州大学病院のもの忘れ外来患者43例の血清脂質値と神経心理学検査との相関を解析した。結果：血清総コレステロール値は、改訂長谷川簡易認知症評価スケール($r = -0.360$, $p = 0.018$) および Mini-Mental State Examination ($r = -0.313$, $p = 0.043$) と有意な逆相関を認めた。一方、血清中性脂肪値はいずれの神経心理検査値とも有意な相関は認めなかった。油症患者が発生した福岡地区において、血清総コレステロール高値は認知機能低下のリスクとなる可能性があり、油症患者でも注意する必要があることが示唆された。

油症検診者の末梢神経、筋の変化および、糖尿病の合併について個人の血清アルドラーゼの経過と変動、加えて、血清クレアチン・キナーゼ、血清アルドラーゼ、PCB、PCQ、PCDFなどとの関連性について調査し、血清アルドラーゼ値の低下の原因について検討した。血清アルドラーゼ値

の低下は、測定方法の影響はなく、地区間の差は意味があるものと考えられた。また、長崎、五島地区の油症検診者では抗 GAD 抗体陽性率は、他報告と比較して高値ではなかった。

9. 症患者における自覚的感覚異常と他覚的神経所見異常の経時変化の検討

油症検診—1968 年、1980 年、2002 年—を対象とし、各項目において経時変化および、自覚症状と他覚的神経所見異常（他覚的感覚異常、アキレス腱反射異常、腓腹神経伝導速度異常）の関連を検討した。結果：自覚的感覚異常感覚は発症時には 39.1 %であったものが、11 年後には 46.2 %、33 年後には 59.4 %と増加。他覚的感覚異常は発症時 21.7%であったものが 11 年後にはいったん 7.7%にまで減少したが、33 年後には 16.7%と再び増加。アキレス腱反射の低下を認める人数は発症時 34.8%、11 年後 34.6%、33 年後 17.4%と経時的に減少した。結論：自覚的感覚異常は時がたつにつれ増加したが、他覚的神経所見異常であるアキレス腱反射異常の比率は低下した。腱反射を構成する以外の神経、すなわち小径の神経線維の障害が改善していない可能性もあり、今後も自覚的感覚異常、他覚的神経所見異常の変化についての観察が必要と考えられた。

10. 福岡県油症検診における尿中ジアセチルスペルミンと油症に関する検討

2005 年度に福岡県一斉検診に参加した患者 85 名に対し、尿中ジアセチルスペルミンを測定し、血中ダイオキシン類、PCB 値やその他の生化学的検査値との相関関

係について検討したが、いずれも統計学的に有意ではなかった。

11. カネミ油症患者の症状とダイオキシンの異性体の関係に関する研究

2001 年度～2004 年度の油症患者一斉検診を受診し、PeCDF 値を測定した油症患者的の、内科検診、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診の 4 年間の集計結果と、ダイオキシン類の異性体との関係の有無を検討した。今回の分析の結果、従来から油症に特徴的といわれている各種の症状間の関連性は確認された。また、幾つかの異性体で、新たに関連性の可能性が見つかった。

12. 油症患者および、健常人体内の PCDF 類実態調査

油症一斉検診受診者の中で血中ダイオキシン類検査希望者（平成 14 年度 371 名、15 年度 343 名、16 年度 316 名、17 年度 351 名）の血中ダイオキシン類濃度を明らかにした。その結果、各年の検査希望者中の油症認定患者の各年の平均 Total TEQ はそれぞれ 136.4, 125.0, 126.1, 124.2 pg/g lipid であった。対照群として平成 16 年度に福岡県内の一般住民 127 名の血液中ダイオキシン類の調査を行った結果は、Total TEQ 37.4 pg/g lipid であり、受診認定者の血液中ダイオキシン類濃度は一般住民の約 3.3～3.6 倍高かった。平成 14 年から 17 年まで 4 年連続して油症一斉検診を受診した 138 名の連続受診者の血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の特徴は、年齢が高いほど高く、女性は同年代の男性よりも高い値を示した。経年変化は高濃度の群では緩やかな減少も認められるが、低濃度群ではほとんど変化していない。平成 18 年度の油症一斉健診の血中ダ

イオキシン類検査希望者（約 430 件）については現在測定中である。

1 3. 油症患者血液中 PCB 等追跡調査における分析法の改良およびその評価に関する研究

血中から検出される約 70 種類の PCB 同族体をゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）及び高分解能ガスクロマトグラフィー / 高分解能質量分析法（HRGC/HRMS）により迅速・精密に分離分析できる分析法を開発した。さらに、この分析法により血液中のダイオキシン類と PCB 類が一回の抽出操作で精製され測定することが可能となった。この分析法を用いて平成 16、17 年度の福岡県の油症一斉検診受診者及び油症患者の年齢に一致させた一般人について個別に PCB 異性体の濃度を測定し、受診認定者と一般人の各異性体の濃度、存在比を比較した。また、血中のダイオキシン類と PCB 類濃度の相関を見ると 2,3,4,7,8-PeCDF と PCB#156 に正の相関が見られた。

1 4. 油症患者における婦人科疾患の研究

福岡県および長崎県油症患者 605 名を対象として婦人科疾患罹患の実態についてアンケート形式による調査を行った。336 名より回答が得られた。その結果をもとに油症患者における流産、早産のリスクを調査する目的で 1958 年以降の妊娠・分娩を対象として、人工妊娠中絶、自然流産、早産、死産の割合について解析した。妊娠・分娩した時期を 10 年区切りで比較すると、油症発生後の 10 年間は油症発生の 10 年前に比べ、人工中絶、自然流産、早産・死産、自然流産・死産の割合が、それぞれ、5.6 倍、2.2 倍、5 倍、2.2 倍

程度上昇した。今後、血中ダイオキシン類濃度と流産・早産・死産との関連について解析を加えるとともに、油症認定患者の追跡調査を継続して行い、婦人科項目を含む健康状態を注意深くモニターしていくことが必要であると考ええる。

1 5. 油症原因物質等の体外排泄促進に関する研究

食物繊維と葉緑素に富む栄養補助食品である玄米発酵食品ハイ・ゲンキ葉緑素入り（FBRA）にそのような作用が認められるかどうか、油症患者の協力により検討した。その結果、FBRA を 1 年目のみ摂取した A グループと 2 年目のみ摂取した B グループでそれぞれ FBRA の摂取により、カネミ油症の最も重要な原因物質である 2,3,4,7,8-PeCDF が 2.9% と 1.6%、1,2,3,4,7,8-HxCDF が 16.5% と 2.7%、1,2,3,6,7,8-HxCDF が 14.7% と 1.6% 血中濃度が低下し、これらの PCDFs 同族体の体外排泄が示された。そして、もともとの汚染レベルが高かった A グループのほうが B グループよりも FBRA による PCDFs 同族体の体外への排泄に効果があった。

1 6. 油症認定患者血清中の SS-A 抗体の解析

代謝の過程で superoxide を発生する PCB の中毒症である油症は事件発生後 35 年以上たった現在慢性の酸化ストレス状態と考えられる。油症認定患者における自己免疫反応を観察するための対象自己抗原として SS-A を選択し抗 SS-A 抗体の出現頻度を油症患者血清を用いて検討したが油症患者において出現頻度は高いものの健常人との間に有意差を認めなかった。

1 7. 油症認定患者血中 Catalase 活性の検討

PCBはsuperoxideを代謝過程で発生するため事件発生後 35 年以上経過した現在高 PCB 血症である油症患者は慢性酸化ストレス状態と考えられる。油症患者における酸化ストレスの影響を評価するために油症患者と正常健康人の血清を用いて scavenger enzyme である catalase の活性を測定した。油症患者 45 名および年齢を合わせた健康人 35 名の血中 catalase 活性は各々 $31.9 \pm 5.7 \text{ nmol/min/ml}$ 、 $26.0 \pm 2.3 \text{ nmol/min/ml}$ で対照群と油症患者の間に有意差を認めなかった。

1 8. 油症発症機構と PCB/ダイオキシン類の毒性軽減に関する基礎的検討

1) ダイオキシン曝露による気道上皮傷害の検討

A549 細胞に PCB/ダイオキシン類を曝露した後に酸化ストレスを検討した結果、コントロールと比較して酸化ストレスが増強した。また マウスの実験系にて 7 日間の TCDD 投与後の検討では肺での酸化ストレスの発生は認めなかった。投与量、期間などの問題があると考えられた。今後は組織の TCDD 濃度の測定などを行い、投与量の調節を行い、酸化ストレス、気道の炎症について再評価する必要があると考えられた。

2) 食品成分によるダイオキシン毒性軽減の試み

ダイオキシン誘発性脂肪肝の軽減レスベラトロールの投与による 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性への影響を、特に誘発性脂肪肝および酸化ストレス発生を中心として検討した。その結果、TCDD とレスベラトロールを併用投与したマウスにおいて、TCDD 単独投与したマウスに比べ体重増加抑制の軽減、並びに肝トリグリセリド蓄積の軽減が観察された。一方、

TCDD による酸化ストレスの発生、並びに肝障害に対しては顕著な改善効果は見られなかった。また、レスベラトロール 単回投与による影響を観察した結果、TCDD 誘発性脂肪肝に対する レスベラトロールの軽減効果において、酸化ストレスの関与は低いものである可能性が示された。本研究より、レスベラトロールの摂取は、ダイオキシン類の毒性の一部を軽減することが明らかとなった。今後は、油症患者への適応を考える上で、低用量の TCDD 曝露に対する レスベラトロールの効果、さらに、レスベラトロールによる脂肪肝軽減機構の解明などが必要であると考えられる。

3) Proteasome 阻害剤が芳香族炭化水素レセプターを介したシグナル伝達に及ぼす影響

HSP70 誘導能と proteasome 阻害能をもつ N-acetyl-leucyl-leucyl-norleucinal (ALLN) により、AhR 依存的なタンパク質発現が抑制されることが明らかとなっている。AhR による遺伝子発現活性化は、ダイオキシン類の毒性発現において最も重要な要因の一つである。このため、この制御機構を明らかにすることは、その毒性発現機構の解明に新たな知見を与えると共に、ダイオキシン類中毒の治療法、もしくは予防法の開発に向けて重要な知見となると考えられる。以上のような背景のもと、本研究では、ALLN による AhR を介したシグナル伝達に対する影響の詳細を明らかにするため検討を行った。ヒト乳ガン細胞である T47D 細胞に AhR のリガンドである

3-methylcholanthrene (3MC) および ALLN を処理し、AhR の細胞内動態と発現量変動、並びに CYP1A/1B を標的とした転写活性化能を検討した。その結果、ALLN は AhR の発現量に変化を与えことなく、3MC による AhR の核内

蓄積を促進することが明らかとなった。一方、ALLN は、CYP1A1 および 1B1 の mRNA の発現量に影響しないにもかかわらず、その活性指標である ethoxyresorufin *O*-deethylase 活性の AhR 依存的な増加を抑制することも明らかとなった。また、このような現象は、proteasome 阻害剤である lactacystin を処理した場合では観察されたが、HSP70 のシャペロン機能阻害剤 gentamicin では観察されなかった。以上の結果から、ALLN による AhR のシグナル伝達に対する影響は、proteasome 阻害作用に起因している可能性が示唆された。

4) 2,2',3,4',4,5',6-七塩素化ビフェニル (CB183)のin vitro代謝の動物種差

本代謝物の親 PCB としては CB187 と CB183 が考えられるが、昨年までに CB187 代謝を数種類の実験動物で検討したところ、主代謝物ではないがラットおよびモルモットで生成されることを確認した。そこで本研究では、CB183 から生成されるか否か明らかにするため、ラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)による in vitro 代謝を調べた。その結果、いずれの動物肝でも2種類の代謝物 (M-1, M-2) が生成された。これらの代謝物の化学構造は、GC-MS および別途合成した標準品との比較から、それぞれ 3'-CH₃O-CB183 および 5-CH₃O-CB183 であると同定され、上記 4-OH-CB187 はいずれの動物肝 Ms によって、全く検出されなかった。また、M-1 と M-2 の生成活性はラットで最も高いこと、すべての動物で PB 前処理により生成が促進されることも明らかとなった。

以上の結果から、4-OH-CB187 の親 PCB は、CB187 であり、CB183 からは生成されないことが示唆された。

診断基準に加え、今年度も従来の診断基準では認定し得なかった14名が新たに認定された。油症相談員の導入により、検診を受診していない患者の聞き取り調査を行うことができた。それにより産科・婦人科などの情報を得ることができ、油症患者では人工中絶、自然流産、早産・死産、自然流産・死産の割合が上昇することが判明した。また骨粗しょう症や関節障害の有無についてのアンケート調査では骨粗鬆症の愁訴や関節痛の訴えとダイオキシン類と正の相関が得られ、来年度からは整形外科的検診を導入し、油症患者における骨・関節障害の実態を検討していく予定である。体内のダイオキシン濃度の正確な定量が可能となったいま、症状の軽快をもたらす薬剤や、ダイオキシン類の排泄を促進するような治療法について基礎的研究を進めるとともに、コレステラミンを用いた臨床研究を開始するための準備を行っている。また症状緩和を目指して、漢方薬による臨床試験を行っているが、1名に関節痛の改善が認められており、今後も継続し、対象者を拡大する予定である。今後も、本研究を通して、PCB/ダイオキシン類による健康障害を明らかにし、その治療法を確立し、患者の健康増進に務める必要がある。

D. 結論

2004 年から、血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF を

分担研究報告書

熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究

分担研究者 赤峰昭文 九州大学大学院歯学研究院

口腔機能修復学講座 歯内疾患制御学研究分野 教授

研究協力者 橋口 勇

//

助手

研究要旨 平成18年度の福岡県における油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者を対象に、歯周炎ならびに口腔内色素沈着の罹患率を調べた結果、いずれも健常者に対して高い割合を示した。

A. 研究目的

油症患者の口腔内色素沈着や辺縁性歯周炎の罹患状況を調べることで、歯周組織に及ぼすPCBやPCDF等の影響を検索する。

B. 研究方法

平成18年度の福岡県油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者116名（表1）を対象として、視診やX線診と同時に歯周ポケット診査を行った。歯周ポケット診査はRamfjordが提唱している方法に準じて行った。

（倫理面への配慮）

本研究は疫学的調査であり、個人名等の情報を明らかにすることはない。

C. 研究結果

歯周ポケット診査において3mm以上のいわゆる病的歯周ポケットを1歯でも有している患者は、検査対象歯を有する106名中98名（92.5%）と高い割合を示した（表2）。また、3mm以上の歯周ポケットを有する歯牙は、494の総被検歯のうち343歯（69.4%）であり、男女別にみると男性の罹患率が高い値を示した（表3、図1）。一方、4mm以上の歯周ポケットを有

する歯牙は85歯で、総被検歯に占める割合は17.2%と低かった。歯牙別では、上顎左側第一小臼歯が79%と最も罹患率が高く、次いで下顎右側第一小臼歯、下顎左側第一大臼歯、上顎右側第一大臼歯、上顎左側中切歯と続き、最も罹患率の低い下顎右側中切歯でも約57%と高い値を示した（表3）。年齢別にみると、70代の患者を除き、加齢と共に歯周ポケット罹患率は上昇しており、歯牙残存率と負の相関を示した（図1）。歯種別の歯牙残存率をみると、加齢と共に大臼歯の残存率が他の歯牙に比べて低い値を示した（図2）。

口腔粘膜に色素沈着を有する者の割合は52.6%（男性60.4%、女性47.1%）で、男性の方が高かった。年齢別にみると、60歳以上の高齢者と比較して、60歳未満の患者で発現率は高かった。また、部位別では、歯肉の色素沈着が高い発現率を示しているのに対し、頬粘膜、口蓋粘膜や口唇の色素沈着の発現率は低い値を示した（図3）。

D. 考察

3mm以上の歯周ポケットを有する者の割合は92.5%と昨年の結果（83.1%）よ

りも高かった。同様に、総被検歯に占める 3mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙の割合も 69.4%と昨年の結果 (56.9%) に比べて高い値を示した。年齢別にみると、70 代の患者を除き、加齢と共に罹患率は上昇していた。70 代の患者で罹患率の低下が見られた原因として、残存歯牙数の減少が考えられる。即ち、高齢者における歯牙喪失の原因として歯周病が挙げられており、重篤な歯周病罹患歯が抜歯されたために、結果として歯周ポケット罹患率が低下したのかもしれない。部位別に比較すると、前歯や小臼歯に比べて大臼歯の罹患率が高かった過去の報告¹⁾と異なり、大臼歯よりも小臼歯で高い値を示しており、また、前歯においても過半数の歯牙に歯周ポケットが認められた。実験的 PCB 中毒によって骨の代謝異常が惹起されることが報告²⁾されていることから、PCB 等の中毒によって歯槽骨の代謝異常が生じたため高い罹患率を示した可能性が考えられる。しかし、ほとんどが深さ 4mm 未満であったことから、患者の高齢化に伴う現象と考えるのが妥当であろう。また、男性で罹患率が高かったが、歯周病のリスクファクターとして喫煙が知られており、生活習慣の差によるものと考えられる。今回、小臼歯が最も高い罹患率を示した原因として、咬合負担過重が考えられる。即ち、加齢と共に他の歯種に比べて大臼歯が喪失する割合が高くなっており、小臼歯のみでの咬合あるいは小臼歯が義歯の鉤歯となり、咬合性外傷が生じた結果と思われる。今後益々患者の高齢化が進むことから、患者の口腔内健康を守るために適切な口腔衛生指導はもちろん、適切な咬合の維持や生活習慣の改善についても指導を行っていく必要があると考えられる。

口腔内色素沈着の発現率は健常者に比して依然として高い値を示しており、PCB 等の作用によって色素沈着が発現すると考えられる。昨年の発現率 (平均 47.2%、男性 59.0%、女性 38.0%) に比べると男性における発現率に変化はないが、女性における発現率が高くなっており、その結果全体の発現率が上昇していた。眼科や皮膚科領域では油症発症後経年的に色素沈着は減少しており、今後の観察が必要である。年代別にみると、過去の報告と同様に色素沈着は高齢者で発現率は低く、60 歳未満の患者で高かった。口腔内色素沈着の中で最も高頻度に認められる歯肉色素沈着の発現率が、血中 PCB 濃度の高い高齢者では比較的少なく、逆に 60 歳未満で高いことから、歯肉色素沈着の発現機序に及ぼす PCB 等の影響は間接的であることが示唆された。

E. 参考文献

- 1) 橋口 勇 他：油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査、福岡医誌 86:256-260, 1995.
- 2) Yagi N., et al. Sodium, potassium, and calcium levels in polychlorinated biphenyl (PCB) poisoned rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 16, 516-519, 1976.

表1．油症患者の年齢別受診者数

年齢 性別	性別	
	男性	女性
30 ～ 49	2 (2)	9 (9)
50 ～ 59	12 (12)	7 (7)
60 ～ 69	12 (12)	20 (19)
70 ～ 79	19 (17)	25 (22)
80 ～ 89	3 (1)	7 (5)
全体	48 (44)	68 (62)
		116(106)

() : 歯周ポケット診査対象歯が少なくとも1 歯以上残存している患者数

表 2. 3 mm 以上の歯周ポケットの分布状態

罹患歯数		0		1		2		3		4		5		6		計 (名)
年齢	性別	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	
30～49		0	0	0	1	1	4	0	1	0	1	0	0	1	2	11
50～59		1	2	1	0	0	1	0	0	1	2	5	2	4	0	19
60～69		2	1	1	1	2	2	1	2	2	5	2	5	2	3	31
70～79		0	2	4	7	3	8	3	1	3	0	4	2	0	2	39
80～89		0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	6
計 (名)		3	5	7	10	6	15	4	4	6	9	11	10	7	9	106

表3．部位別の3 mm以上の歯周ポケットを有する歯牙数

部位		6	1	4	4	1	6	計
男性	罹患歯数	22	22	25	29	28	26	152
	総被検歯数	29	30	29	36	40	31	195
	%	75.9	73.3	86.2	80.6	70.0	83.9	77.9
女性	罹患歯数	26	31	39	42	26	27	191
	総被検歯数	43	53	52	55	55	41	299
	%	60.5	58.5	75.0	76.4	47.3	65.9	63.9
計	罹患歯数	48	53	64	71	54	53	343
	総被検歯数	72	83	81	91	95	72	494
	%	66.7	63.9	79.0	78.0	56.8	73.6	69.4

6：上顎右側第一大臼歯、1：上顎左側中切歯、4：上顎左側第一小臼歯

4：下顎右側第一小臼歯、1：下顎右側中切歯、6：下顎左側第一大臼歯

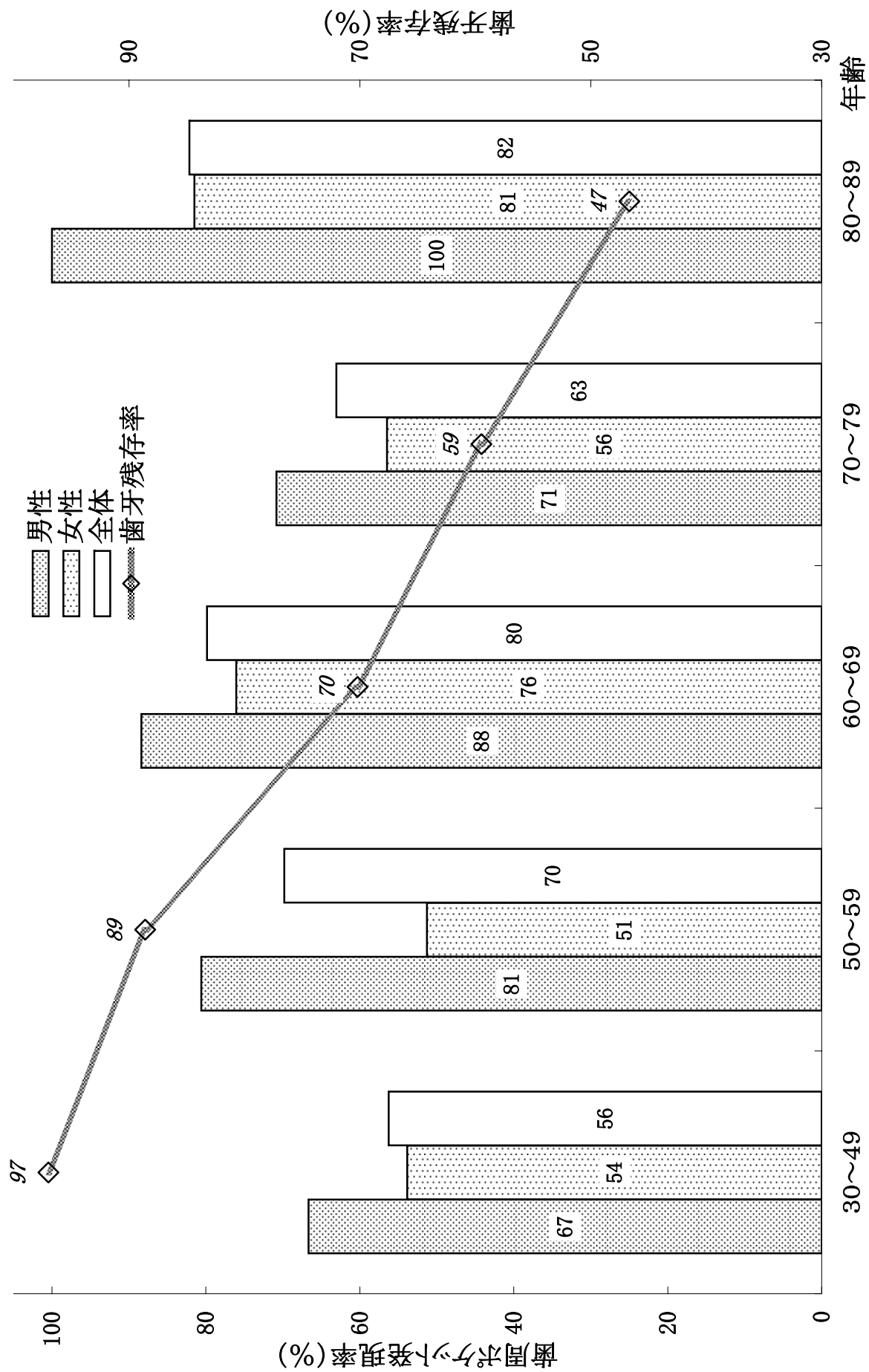


図1. 年齢別にみた3mm以上の歯周ポケット発現率と歯牙残存率

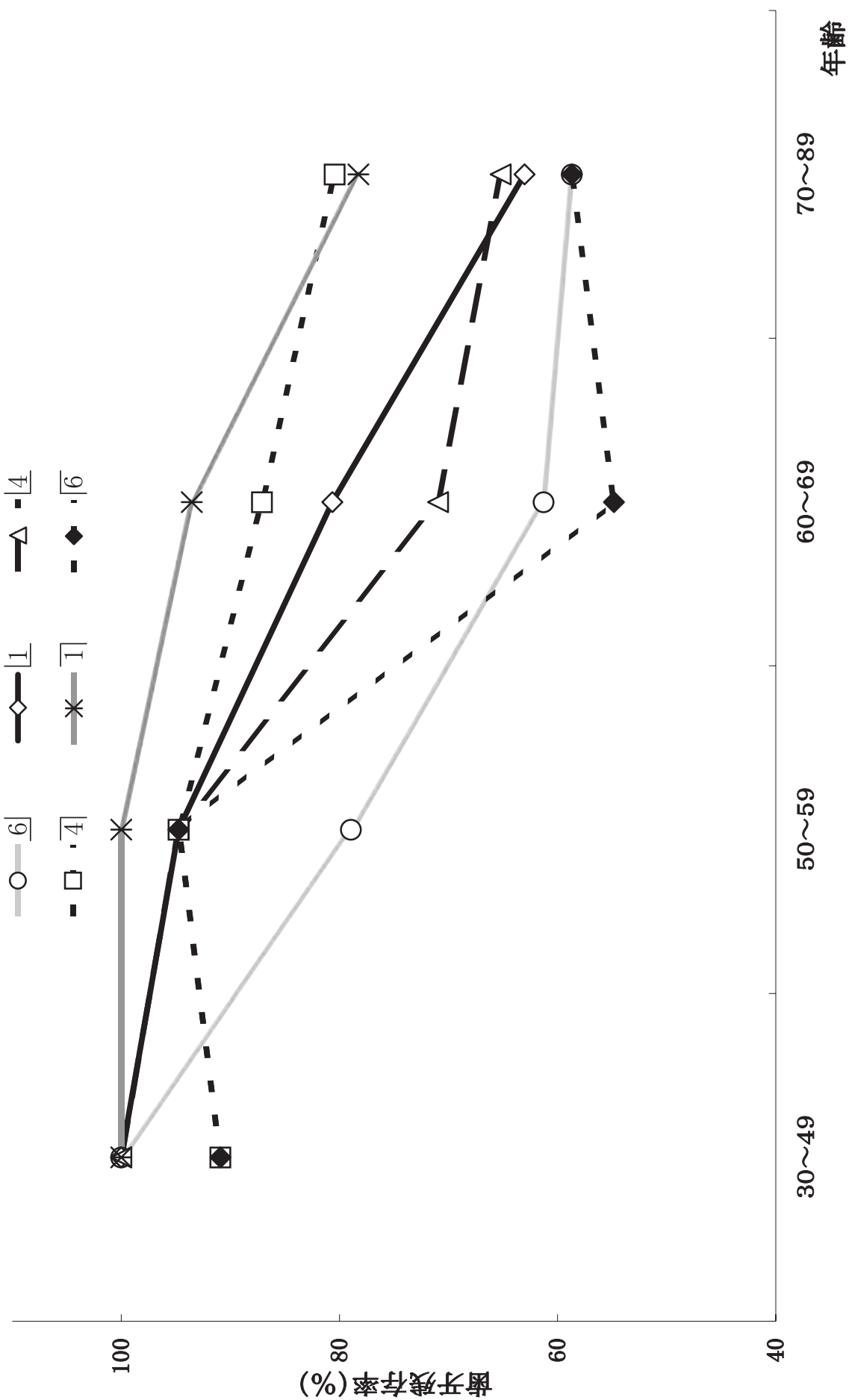


図2. 年齢別、歯種別の歯牙残存率

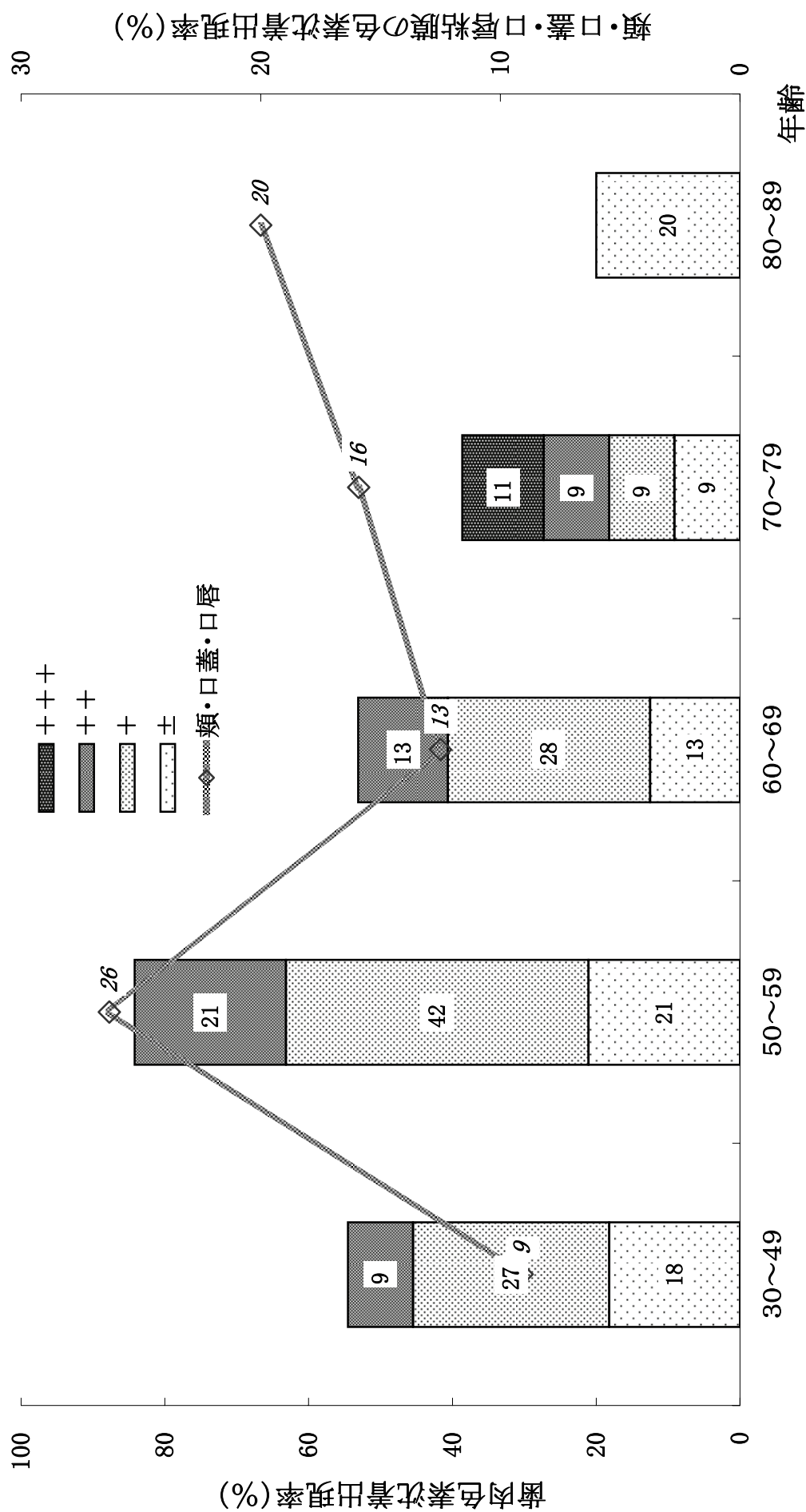


図3. 年齢別にみた色素沈着出現率

2006 年度福岡県油症患者の皮膚症状に対する臨床的評価

分担研究者 古江増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授
中山樹一郎 福岡大学医学部皮膚科 教授
研究協力者 柴田智子 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 特任助手
旭 正一 産業医科大学 名誉教授

研究要旨 2006 年度に福岡県一斉検診に参加した患者 118 名の症状を評価し、皮膚重症度、皮膚重症度得点数について検討した。

A. 研究目的

油症後 38 年が経過した。患者の高齢化とともに、加齢変化に伴う皮膚症状が加わり、油症による皮膚症状の評価は容易ではない。このような状況下、一斉検診を行い、油症による皮膚症状を抽出し、正確に評価することは PCB、やダイオキシン類による皮膚症状が長い年月を経過した後、どのように推移するかを理解するのに非常に重要なこととなっている。

B. 研究方法

2006 年度の福岡県（福岡市、北九州市、大牟田市）一斉検診時に、皮膚科検診に参加した患者を対象とした。検診時に皮膚症状を詳細に記載し、その記載をもとに皮膚症状を判断し、年次推移を検討した。

C. 研究結果

2006 年度皮膚科検診の受診者は 118 名であり、そのうち認定患者は名であった。昨年の 91 名より 27 名増加し、再び 100 台に上った。また、初診者を含めた未認定者数は 44 名であり、そのうち初診者数は 18 名であった。皮膚重症度では 0, 0~I : 81 名、I、I~II : 6 名、II、II~III : 14 名、III、

III~IV : 14 名、IV : 3 名であった。（表 1）。皮膚重症度得点数では、0・1 : 81 名、2・3 : 29 名、4・5 : 6 名、6・7 : 0 名、8・9 : 2 名であり、10 以上の患者はいなかった（表 2）。また受診患者 PCB パターン、PCB 濃度についても検討した。そのうち A パターンを示した患者は 42 名、B パターンは 41 名、BC パターンは 4 名、C パターンは 31 名であった（表 3）。皮膚重症度、皮膚重症度得点数と PCB 濃度、PCB パターンの関連を表 3、4 に示した。

D. 考察

今年度の受診者数は 162 名で、昨年より 17 名多く受診した。内訳をみると認定患者の受診者は 27 名増加し、初診者を含めた未認定者の受診者は 44 名であった。また、昨年同様、初診者も多く認められた。年次ごとに若干の増減はあるものの、認定患者を含め、受診者数は着実に増加傾向にある。皮膚重症度に関しては全体の約 70% については、油症特有な皮膚症状がないか、もしくはわずかに症状が認められる程度である。しかしながら、残り 30% については、現在もなお、油症特有の症状が残存している。また一方、皮膚重症度得点数に関

しては、全体的に点数の低下が認められている。これらの結果から、油症特有の症状がいまだに残存している患者が約 30%程度いるものの、全体的には症状は徐々に軽快していることが示された。

次に、血中 PCB パターン別に皮膚症状をみると、B、BC、C パターンでは 70%以上の患者において油症特有の皮膚症状を認めない。それに対し、A パターンでは約 50%の患者に油症特有の皮膚症状が認められる。油症患者特有とされる PCB パターンを呈する患者では今もなお、油症特有の皮膚症状が残存していることが示された。

年次推移でみると、油症特有の皮膚症状が消退している患者群と、軽快しつつあるがいまだに残存している患者群とに二極化する傾向は今年度も続いている。今後このような傾向が続くのか引き続き観察を継続する必要がある。しかし、皮膚症状が残存している患者も皮膚重症度で 10 得点以上の患者は認められず、やはり、全体的には年月とともに軽快する傾向にある。

表1 皮膚重症度

年度 重症度	1993		1997		2002		2003		2004		2005		2006	
	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
0	41	58.8	34	54	50	59.5	61	66	60	70.0	43	64.8	68	68.6
0 I	7		13		19		13		10		16		13	
I	4	7.0	9	18.4	4	4.3	4	3.6	3	3.0	3	3.3	6	5.1
I II	2		7		1		0		0		0		0	
II	0	24.4	12	23.0	8	16.4	9	14.3	7	17.0	11	15.4	7	11.9
II III	21		8		11		7		10		3		7	
III	8	12.8	3	4.6	1	16.4	7	16.1	2	10.0	10	16.5	5	11.9
III IV	3		1		18		11		8		5		9	
IV	0		0		4		0		0		0		3	2.5
計	86		87		116		112		100		91		118	

表2 皮膚重症度得点数

得点数	1993 例数 (%)	1997 例数 %	2002 例数 %	2003 例数 %	2004 例数 %	2005 例数 %	2006 例数 %
0・1	51 (59.3)	54 62.1	56 48.3	55 49.1	59 59.0	44 48.4	81 68.6
2・3	21 24.4	21 25.3	20 17.2	40 35.7	19 19.0	29 35.2	29 24.6
4・5	7 8.1	7 8.0	27 23.3	11 9.8	19 19.0	12 13.2	6 5.1
6・7	4 4.7	3 3.4	10 8.6	5 4.5	3 3.0	2 2.2	0 0.0
8・9	3 3.5	1 1.1	1 0.9	1 0.9	0	1 1.0	2 1.7
10-13	0	1 1.1	2 1.7	0	0	0	0
14-	0	0	0	0	0	0	0
計	86	87	116	112	100	91	118

表3 血中PCBパターン、血中PCB平均濃度、皮膚重症度得点数の相関性

	2001年度			2002年度			2003年度			2004年度			2005年度			2006年度		
	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症 度得点数	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症 度得点数	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症 度得点数	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症 度得点数	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症 度得点数	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症 度得点数
A	19	4.31	3.84	38	4.07	3.84	30	3.44	2.47	26	3.65	2.65	33	3.51	2.88	42	2.88	2.02
B	34	3.69	1.94	33	2.37	2.12	35	2.34	1.60	36	2.31	1.47	31	2.04	1.19	41	1.68	1.02
BC	2	2.87	4.00	1	2.14	0.00	4	1.37	2.50	8	1.51	1.13	5	0.91	0.80	4	1.62	1.5
C	30	2.07	1.8	44	1.73	1.34	43	2.01	1.28	30	1.68	1.43	22	1.67	1.59	31	2	0.55
計	85	3.24	2.36	116	2.68	2.38	112	2.48	1.74	100	2.406	1.74	91	2.42	1.88	118	2.42	1.27

表4 血中PCBパターンと皮膚重症度（2006年度）

皮膚重症度 パターン	0	I	II	III	IV	計
A	23 (54.8%)	1 (2.4%)	7 (16.7%)	8 (19%)	3 (7.1%)	42
B	32 (78%)	2 (4.9%)	4 (9.6%)	3 (7.3%)	0 (0.0%)	41
BC	3 (75%)	0 (0.0%)	1 (25%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	4
C	23 (74%)	3 (9.8%)	2 (6.5%)	3 (9.7%)	0 (0.0%)	31

分担研究報告書

2005 年度福岡県油症検診における尿中ジアセチルスペルミンと油症に関する検討

分担研究者 古江増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授
研究協力者 柴田智子 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 特任助手
研究協力者 徳永章二 九州大学医学部予防医学 助手

研究要旨 2005 年度に福岡県一斉検診に参加した患者 85 名に対し、尿中ジアセチルスペルミンを測定し、血中ダイオキシン類、PCB 値やその他の生化学的検査値との相関関係について検討した。

A. 研究目的

複数のアミノ基をもつ一群のアルキルアミンをポリアミンと総称する。ヒトの体内には 4 種類のポリアミンと、そのモノおよびジアセチル体がある。多価カチオンであるポリアミンは、核酸その他のアニオンとの相互作用を通じて蛋白質合成や核酸合成の過程に影響を与えることが知られている。活発に増殖する組織にはポリアミンが多量に含まれ、またそのような組織ではポリアミン代謝が活発であるため、ポリアミンは細胞増殖およびその制御の過程で重要な役割を果たす物質の一つであると考えられている。一般に癌患者や炎症性疾患患者、創傷治癒過程、酸化状態などでは尿中で高値を示すことが知られており、特にジアセチルスペルミンの尿中レベルが悪性腫瘍との関連性が高いことが報告されている¹⁾。

一方、油症患者では体内に蓄積する PCB により superoxide が産生され、慢性的な酸化状態にあると考えられている²⁾。尿検体の採取は患者の痛みを伴わず、しかも簡便であり、検診においても導入が可能である。そこで本研究では 2005 年に福岡県の油症検診を受診した油症認定患者に対し、同意

を得られた 85 名の患者の尿中ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) を測定し、PCB、ダイオキシン血中濃度ならびに生化学的検査項目に対する相関関係を検討した。

B. 研究方法

対象：2005 年に 9 月 3 日から 10 月 1 日に福岡県で行われた油症検診において、従来の検診項目及び血中ダイオキシン類の他、尿中ジアセチルスペルミン濃度（以下、スペルミン濃度）を測定した。調査は全体で 129 名について行われたが、その中の同意を得られた 85 名（男性 37 名、女性 48 名）の認定患者について統計解析を行った。ダイオキシン類、生化学検査値は 2005 年度測定値であるが、1 人のみはダイオキシン類レベルが未測定であったため、2003 年度の値を用いた。平均年齢 (SD) は、66.0 (11.7) 歳、最小、最大値はそれぞれ、37、89 歳であった。対象者 85 名の性、年齢構成を表 1 に、解析対象のスペルミン濃度、ダイオキシン類レベル（血液脂質中濃度）、生化学検査値を表 2 に示す。

試験実施方法：患者の尿を採取し、DiAcSpm に特異的な抗体を用いた酵素免疫学的測定により尿中 DiAcSpm を測定した。

＜尿採取方法＞

配布した紙カップに尿を採取し、PP 製ピペットで 3 回吸引し、15ml 容量の FALCON チューブに蓄尿した。採取後のチューブは速やかに-20℃で測定時まで凍結した。

＜ジアセチルスペルミン測定法＞

ジアセチルスペルミンに特異的な抗体を用いた競合 ELISA 法により、尿中のジアセチルスペルミンを測定し、クレアチニン補正をおこなった。

＜統計方法＞

スペルミン濃度とダイオキシン類レベル及び生化学検査値との関連を多重線形回帰モデルを用いて解析した。性は男女の 2 値、年齢は 3 段階（59 歳以下、51-59 歳、60 歳以上）のダミー変数として調整した。ダイオキシン類レベル及び生化学検査値で偏りの大きなものは対数変換を行って回帰した。

C. 研究結果

尿中ジアセチルスペルミンの平均値は 186nM/g・Cre、最大値 951nM/g・Cre、最小値 55nM/g・Cre であった。85 名の測定値の分布を図 1 に示す。正常値は男性で 243 (nM/g・Cre) 以下、女性 354 (nM/g・Cre) 以下とした。測定結果のほとんどが正常値以下であった。解析対象のスペルミン濃度、ダイオキシン類レベル（血液脂質中濃度）、生化学検査値を表 2 に示す。表 3 に回帰解析の結果（性・年齢調整回帰係数）を示す。尿中ジアセチルスペルミン濃度と、今回解析されたダイオキシン類及び生化学検査値との関連は、いずれも統計学的に有意ではなかった。

D. 考察

ポリアミンは核酸その他の物質との広汎な相互作用を通じて蛋白質合成、核酸合成の過程に影響を与え、細胞増殖およびその制御に重要な役割を果たすと考えられている。活発に増殖する組織における代謝の活性化を反映して、癌患者においては尿中ポリアミン排泄量が増加する傾向が認められる¹⁾。その中でもN¹, N¹²-ジアセチルスペルミン、N¹, N⁸-ジアセチルスペルミンという 2 種類のジアセチルポリアミン (DiAcSpm) は健常者の尿中にはごく僅かしか存在しないが、尿路悪性腫瘍（前立腺癌、腎癌、精巣腫瘍など）の患者の尿中で高頻度に、また著明に上昇することがわかった^{3,4)}。油症患者においては慢性的に酸化状態にあるとされ、また以前より癌の発生が危惧されている。本研究では福岡県の 85 名を対象としたが、正常値以上を示した症例はわずかに 7 名であり、血液中 PCB、やダイオキシン類との相関関係は認められなかった。

一方、大腸癌について、腫瘍マーカーとしての DiAcSpm、CEA の陽性率を検討したところ、いずれの病期においても DiAcSpm は CEA よりも高い陽性率を示し、特に、stage 0 および stage I の比較的早期の癌に対しては DiAcSpm の陽性率は CEA の 6 倍であったと報告され⁵⁾、その他の癌についても腫瘍マーカーになりうると期待されており、油症患者においても癌の早期発見に役立つのではないかと期待される。

E. 文献

1. Russell, D. Nature New Biol., 233, 144-145 (1971)
2. Gregory G. Oakley et al., Chem. Res. Toxicol. 9, 1285-1292 (1996)
3. Hiramatsu, K. et al. J. Biochem., 117,

107-112 (1995)

4. Sugimoto, M. et al. J. Cancer Res.
Clin. Oncol. 121, 317-319 (1995)

5. 高橋慶一ほか Rinsho Byori, 52,
332-335 (2004)

表 1. 性年齢構成

年齢	男性	女性
37-39	2	1
40-49	2	4
50-59	7	6
60-69	7	17
70-79	16	16
80-89	2	5
計	36	49

表 2. 生化学検査値

検査項目	平均	S D	最小～最大値
DiAcSpm 補正值 (nM/g・Cre)	186.1	116.4	55～951
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF	214.4	250.3	3～1284
3, 3', 4, 4', 5-PeCB (#126)	76.5	47.9	5～234
3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB (#169)	158.0	121.8	12～644
AST (U/L)	24.8	15.0	14～137
ALT (U/L)	23.9	18.9	8～139
LDH (U/L)	205.8	34.6	140～328
g-GTP (U/L)	37.6	33.8	11～178
Cr (mg/dl)	0.75	0.18	0.46～1.42
Amy (U/L)	108.0	38.8	46～268
UA (mg/dl)	5.32	1.34	2.0～9.9
T-Cho (mg/dl)	203.2	35.1	130～282

表 3. 性・年齢で調整した多重直線回帰による回帰係数

説明変数	回帰係数* (95%信頼区間)	両側 P 値
$\log_{10}(2, 3, 4, 7, 8\text{-PeCDF})$	-0.009 (-0.082~0.064)	0.81
$\log_{10}(3, 3', 4, 4', 5\text{-PeCB}(\#126))$	-0.041 (-0.193~0.110)	0.59
$\log_{10}(3, 3', 4, 4', 5, 5'\text{-HxCB}(\#169))$	0.036 (-0.095~0.166)	0.59
$\log_{10}(\text{AST (U/L)})$	0.135 (-0.133~0.403)	0.32
$\log_{10}(\text{ALT (U/L)})$	0.073 (-0.118~0.265)	0.45
$\log_{10}(\text{LDH (U/L)})$	-0.335 (-0.964~0.295)	0.29
$\log_{10}(\text{g-GTP (U/L)})$	0.025 (-0.142~0.192)	0.77
$\log_{10}(\text{Cr (mg/dl)})$	-0.407 (-0.945~0.132)	0.14
$\log_{10}(\text{Amy (U/L)})$	-0.114 (-0.407~0.179)	0.44
UA (mg/dl)	-0.027 (-0.062~0.007)	0.12
T-Cho (mg/dl)	-0.00025 (-0.00155~0.00106)	0.71

* 説明変数の 1 増加に伴う $\log_{10}$ (スペルミン濃度) の変化

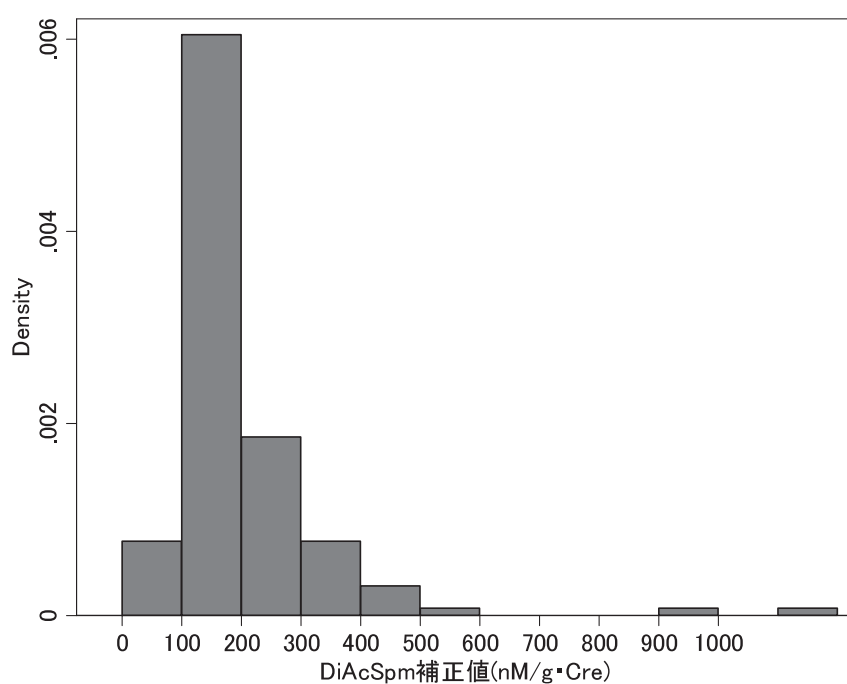


図1a: 尿中ジアセチルスペルミンの分布

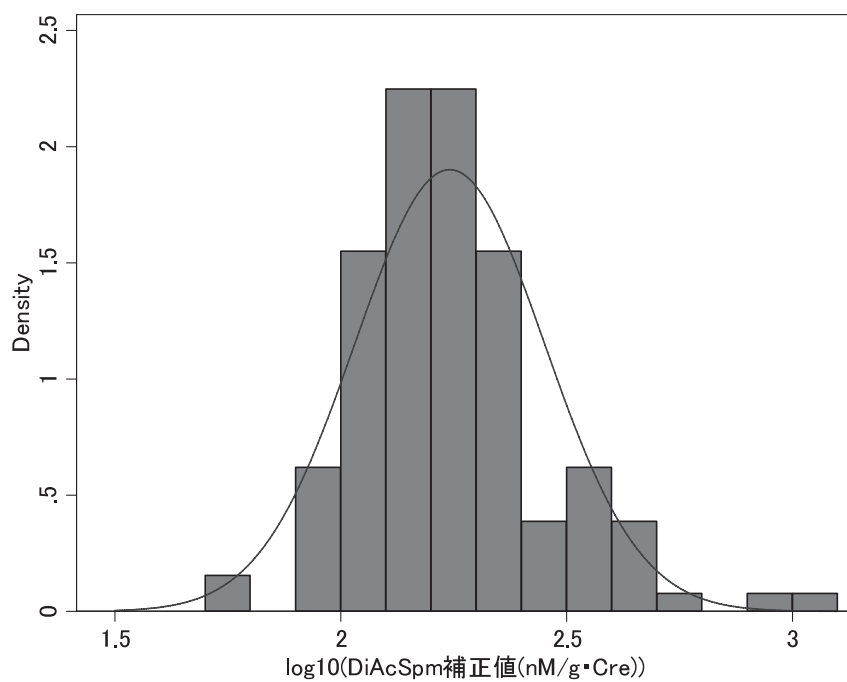


図1b: 尿中ジアセチルスペルミンの分布

分担研究報告書

油症骨・関節病変の臨床的研究

分担研究者 岩本幸英 九州大学大学院医学研究院整形外科学分野 教授

研究協力者 福士純一 九州大学病院整形外科 助手

研究要旨 油症患者 1257 名を対象に、骨・関節障害の実態について、アンケート形式による調査を行った。回答した 705 名について、骨粗鬆症に関連した愁訴（身長の低下や背中の曲がり、転倒による骨折など）および関節痛の有無について検討した。血中ダイオキシン類レベルが測定されている油症認定患者 307 名においては、有訴割合とダイオキシン類レベルの関連について解析した。

A. 研究目的

油症患者における骨・関節障害の愁訴について調査・把握し、整形外科的疾患合併の有無について検討することを、本研究の目的とした。

B. 方法

2005 年 10 月から 2006 年 7 月の間、油症患者 1257 名を対象としてアンケート調査を行った。アンケートの内容は、骨粗鬆症に関しては身長の縮みの有無、背中の曲がりや痛み、些細なことでの骨折の有無について、また関節障害に関しては、関節痛の有無とその部位について設問した。調査方法は、アンケート票を郵送し、油症相談員が電話にて患者本人あるいは代理人に確認しながら、油症相談員が記入するという聞き取り調査とした。

回答した 705 名のなかで、2001 年度から 2005 年度までの油症検診にて血中ダイオキシン類レベルが測定された油症認定患者 307 名については、有訴割合とダイオキシン類レベルの関連を多重ロジスティックモデルを用いて解析した。性は男女の 2 値、年齢は 3 段階（50 歳以下、51-59 歳、

60 歳以上）とし、ダミー変数として調整した。対象者の性、年齢構成を表 1 に、ダイオキシン類レベルを表 2 に示す。平均年齢は 66.2 歳、最小値は 27 歳、最大値は 91 歳であった。

（倫理面への配慮）

血中ダイオキシン類の測定は、全国油症検診の際に本人が希望した者のみを対象に行った。アンケート調査の結果は氏名が特定できない形でデータベース化された。コンピュータ内の情報保護には厳重な配慮がなされた。

C. 結果

705 名より有効回答を得た。骨粗鬆症の有無に関する項目では、身長の下下は 50.6%、背中や腰の痛みは 75.1%、背中の曲がりや痛みは 27.6%、転倒や些細なことでの骨折は 19.5%に認めた。関節障害の有無に関する項目では、72.5%になんらかの関節痛の訴えを認めた。

回答者のうち、血中ダイオキシン類レベルの判明している 307 名の回答結果を、男女別に表 3 に示す。表 4 には各ダイオキシン類レベルと、有訴割合との関連を示した。

血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF レベルの増加と身長、縮みおよび膝関節の痛みの間には、それぞれオッズ比 2.24 及び 1.94 の関連が見出された（表 4-1）。血中 3, 3', 4, 4', 5-PeCB レベルの増加は背中の痛み、背中の曲がり及び関節の痛みと（表 4-2）、血中 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB レベルの増加は身長、縮み、背中の曲がり及び膝の痛みと正の関連が見出された（表 4-3）。

D. 考察

705 名のアンケート回答によれば、背中や腰の痛みは 75.1%、また関節痛の訴えは 72.5%であり、過半数の油症患者が骨や関節に関する愁訴を持つことが改めて明らかとなった。

骨粗鬆症が進行すると、腰背部に痛みを生じやすくなる。脊椎に圧迫骨折を生じると身長は低下し、背中も曲がってくる。また脊椎以外の部位でも、転倒などの軽微な外力によって骨折を生じやすくなる。血中ダイオキシン類濃度の増加と、身長、縮み、背中の痛み及び背中の曲がりとの間に正の関連があったことは、注目すべき知見である。しかし結果の解釈に際しては、変形性脊椎症によっても骨粗鬆症と同様の症候を呈すること、そして骨粗鬆症の初期はほとんど無症候であることに留意する必要がある。アンケート回答者に対して骨密度測定や骨代謝マーカー測定などを行うことで、実際の骨粗鬆症の有無と、ダイオキシン類レベルとの関連を検討することが、次の課題である。

関節痛については、特に膝の痛みと 3 種類すべてのダイオキシン類レベルとの間に正の関連が見られた。しかしながら関節痛の原因について、アンケート回答から病態を推測することは困難であり、骨粗鬆症

の場合と同様、結果の解釈は慎重に行うべきである。今後は整形外科的検診を行うことで、変形性関節症や骨壊死症といった疾患の有無を評価し、油症患者における骨・関節障害の実態を検討していく必要があると考える。

表 1. 性年齢構成

年齢	男性	女性
27-49	17	20
50-59	26	23
60-69	23	51
70-79	50	59
80-91	20	18
人数	136	171

表 2. 血中ダイオキシン類レベル

ダイオキシン類	幾何平均	最小値	最大値
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF	82. 5	3. 3	1467. 6
3, 3', 4, 4', 5-PeCB (#126)	85. 7	5. 8	633. 6
3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB (#169)	136. 8	5. 2	881. 7

表 3-1. 愁訴ありとした回答数（男性）

対象者年齢 (人)	27-49 (17)	50-59 (26)	60-69 (23)	70-79 (50)	80-91 (20)	合計 (136)
身長の縮み	3	7	11	32	13	66
背中痛み	11	21	15	41	11	99
背中の曲がり	2	2	7	16	8	35
転倒などでの骨折	2	7	6	8	2	25
関節の痛み	11	17	20	41	14	103
膝	3	10	13	27	8	61
足首	3	5	4	13	3	28
股関節	0	7	4	15	4	30
手首	4	4	3	8	3	22
手の指	2	8	8	9	2	29
肘	1	5	5	7	1	19
肩	4	10	11	18	3	46

表 3-2. 愁訴ありとした回答数（女性）

対象者年齢 (人)	27-49 (20)	50-59 (23)	60-69 (51)	70-79 (59)	80-91 (18)	合計 (171)
身長縮み	4	10	37	49	17	117
背中痛み	12	18	39	48	17	134
背中の曲がり	3	3	20	25	15	66
転倒などでの骨折	4	4	10	19	6	43
関節の痛み	11	17	39	52	17	136
膝	6	11	34	42	17	110
足首	3	7	15	25	7	57
股関節	3	7	9	21	4	44
手首	4	6	11	15	5	41
手の指	4	9	17	21	7	58
肘	3	6	7	13	5	34
肩	4	7	19	33	12	75

表 4-1. 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の 10 倍増加に伴う各項目の性・年齢調整オッズ比

回答項目	オッズ比	(90%信頼区間)	片側 P 値
身長 of 縮み	2.24	(1.41 - 3.56)	0.002
背中の痛み	1.12	(0.71 - 1.76)	0.34
背中の曲がり	1.34	(0.90 - 2.02)	0.11
転倒などでの骨折	0.92	(0.60 - 1.41)	0.37
関節の痛み	0.97	(0.62 - 1.53)	0.46
膝	1.94	(1.32 - 2.85)	0.002
足首	1.02	(0.68 - 1.51)	0.48
股関節	1.15	(0.76 - 1.73)	0.29
手首	1.11	(0.72 - 1.70)	0.35
手の指	1.64	(1.10 - 2.46)	0.02
肘	1.53	(0.95 - 2.46)	0.07
肩	1.07	(0.74 - 1.54)	0.38

表 4-2. 3, 3', 4, 4', 5-PeCB(#126) の 10 倍増加に伴う各項目の性・年齢調整オッズ比

回答項目	オッズ比	(90%信頼区間)	片側 P 値
身長 of 縮み	1.88	(0.79 - 4.47)	0.11
背中の痛み	3.71	(1.56 - 8.86)	0.007
背中の曲がり	2.9	(1.26 - 6.66)	0.02
転倒などでの骨折	2.35	(0.97 - 5.68)	0.06
関節の痛み	2.38	(1.02 - 5.56)	0.05
膝	2.75	(1.30 - 5.85)	0.01
足首	0.98	(0.44 - 2.17)	0.48
股関節	1.03	(0.46 - 2.31)	0.48
手首	1.93	(0.80 - 4.67)	0.11
手の指	0.99	(0.45 - 2.15)	0.49
肘	2.09	(0.81 - 5.38)	0.10
肩	1.76	(0.85 - 3.63)	0.10

表 4-3. 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB(#169) の 10 倍増加に伴う各項目の性・年齢調整オッズ比

回答項目	オッズ比	(90%信頼区間)	片側 P 値
身長 of 縮み	4.43	(1.87 - 10.48)	0.002
背中の痛み	1.66	(0.77 - 3.62)	0.14
背中の曲がり	2.39	(1.07 - 5.33)	0.04
転倒などでの骨折	0.85	(0.39 - 1.83)	0.36
関節の痛み	1.15	(0.53 - 2.47)	0.38
膝	3.51	(1.71 - 7.21)	0.002
足首	0.96	(0.47 - 1.99)	0.47
股関節	1.14	(0.53 - 2.43)	0.39
手首	1.41	(0.64 - 3.09)	0.24
手の指	1.35	(0.67 - 2.76)	0.24
肘	2.41	(1.02 - 5.72)	0.05
肩	1.32	(0.68 - 2.58)	0.25

分担研究報告書

油症患者における網膜血管の高血圧性及び網膜細動脈硬化性変化に関する研究

分担研究者 隈上武志 長崎大学医学部歯学部附属病院眼科 講師

研究協力者 北岡 隆 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科眼科・視覚科学教室 教授

研究要旨 2006年度に油症検診受診者における網膜血管の高血圧性変化及び動脈硬化性変化を Scheie 分類を用いて、認定患者と未認定患者の間で比較検討した。高血圧性変化も動脈硬化性変化も、共に認定患者が重い傾向であったが、有意差は見られなかった。

A. 研究目的

油症事件が発生して39年が経過し、慢性期の油症患者において診断的価値が高い眼症状である眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物は、ほとんど観察されなくなった。そこで、2005年度より開始した網膜血管の高血圧性及び動脈硬化性変化の評価を、認定患者と未認定患者の間で比較検討した。

B. 研究方法

長崎県油症検診の3地区すなわち、玉之浦、奈留、長崎地区において油症検診の眼科部門を受診した油症認定患者86名、未認定患者48名を研究対象とした。眼底検査は、分担研究者一人によって行われた。網膜血管の高血圧性変化及び網膜細動脈硬化性変化は、平成16年度の報告¹⁾の如く、Scheie 分類を用いて評価した。また、血液データの血清総コレステロール、血清中性脂肪との関連がないか検討した。統計学的検討にはt検定を用いた。

C. 研究結果

平均年齢は認定患者で67.8±12.5歳、未認定患者で51.4±19.6歳であり、有意に認定患者が高かった(p<0.0001)。

高血圧性変化のスコアは認定患者で0.61±0.64、未認定患者で0.44±0.68で有意差はなかった(p=0.167)。

網膜細動脈硬化性変化のスコアは認定患者で0.79±0.60、未認定患者で0.56±0.71で有意差はなかった(p=0.063)。

高血圧症の既往歴を持つ者は、認定患者で40.7%、未認定患者で25.0%であった。

血清総コレステロール濃度は認定患者で197.7±38.0mg/dl、未認定患者で194.9±41.3 mg/dl で有意差はなかった(p=0.707)。

血清中性脂肪濃度は認定患者で111.5±71.1 mg/dl、未認定患者で120.3±57.7 mg/dl で有意差はなかった(p=0.438)。

D. 考察

昨年度に比べると認定患者で16名、未認定患者で12名の受診患者が増加した。これは昨今、新聞等で油症の話題が取り上げられている影響と思われた。

今年度油症検診受診者のうち、認定患者の平均年齢が未認定患者よりも有意に高かった。これは、未認定患者群に、認定患者の2、3世が多く含まれていた影響もあると考えられた。

有意差はなかったものの、高血圧性変化も、網膜細動脈硬化性変化も、共に認定患者のほうが高い傾向にあった。これは、認定患者が未認定患者より高齢で、高血圧症の既往も多かったためであろう。

血清総コレステロール濃度は認定患者

で高い傾向にあったが、血清中性脂肪濃度は未認定患者が高い傾向にあった。コレステロールも中性脂肪も、高すぎると動脈硬化の原因に成り得る。油症診断基準の参考他覚所見に血清中性脂肪の増加が上げられているが、発生して39年経過した現在、中性脂肪は未認定者より低かった。しかし、コレステロールは認定者のほうが高い傾向があり、認定患者の最近の網膜細動脈硬化の進行には、中性脂肪よりもコレステロールの影響が強いのではなかと推測した。今後も、網膜血管の変化を追跡調査していく計画である。

E. 参考文献

1) 今村直樹、北岡隆「油症患者における網膜血管の高血圧性および細動脈硬化性変化の検討」熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究、平成16年度総括・分担報告書、2005：29-31

分担研究報告書

熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究

分担研究者 石橋達朗 九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授

研究要旨 平成 18 年度油症患者の眼症状を追跡調査した。

A. 研究目的

油症患者の眼所見の把握および治療法の確立を目標とする。したがって、患者の眼の状態を把握し、その症状、苦痛を除くことに関する研究が目的である。

B. 研究方法

平成 18 年度の油症検診が 9 月 2 日福岡市、9 月 7 日久留米市、9 月 9 日北九州市、10 月 7 日福岡市で行われた。受診者はそれぞれ 38 名、29 名、55 名、40 名で、合計は 162 名であった。

眼科的所見として、眼脂過多、眼瞼浮腫、眼瞼結膜色素沈着、瞼板腺嚢胞形成、瞼板腺チーズ様分泌物圧出の 5 項目を検討した。

C. 結果

受診者 162 名は昨年の 142 名に比べると、やや増加していた。

自覚症状では眼脂過多を訴えるものが多かったが、その程度は軽く、油症の影響とは考えにくかった。

他覚所見として慢性期の油症患者において診断的価値が高い眼症状である眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物は観察できなかった。

D. 考察

受診者の高齢化が進み、臨床所見は捉えにくくなっている。油症患者の眼所見は徐々に軽くなっているが、今後の慎重な経過観察が必要である。また、油症との直接の関係はないが、白内障の手術を受けた受診者や眼科に通院中の受診者の割合が多くなっていた。これは受診者の高齢化が主な原因と思われる。

E. 参考文献

なし

分担研究報告書

油症患者における婦人科疾患の研究

分担研究者 月森清巳 九州大学病院周産母子センター 講師
徳永章二 九州大学大学院医学研究院予防医学分野 助手
増崎英明 長崎大学医学部産科婦人科学 教授
研究協力者 小寺宏平 長崎大学医学部・歯学部附属病院産科婦人科 助手

研究要旨 油症患者における流産、早産のリスクを調査する目的で、2005 年に行った婦人科問診調査の結果をもとに 1958 年以降の妊娠・分娩を対象として、人工妊娠中絶、自然流産、早産、死産の割合について解析した。妊娠・分娩した時期を 10 年区切りで比較すると、油症発生後の 10 年間は油症発生の 10 年前に比べ、人工中絶、自然流産、早産・死産、自然流産・死産の割合が、それぞれ、5.6 倍、2.2 倍、5 倍、2.2 倍程度上昇した。今後、血中ダイオキシン類濃度と流産・早産・死産との関連について解析を加えるとともに、油症認定患者の追跡調査を継続して行い、婦人科項目を含む健康状態を注意深くモニターしていくことが必要であると考ええる。

A. 研究目的

2005 年に行った婦人科問診調査の解析から、油症患者では油症発生後の 10 年間は油症発生の 10 年前に比べ、早産、自然流産、人工中絶の割合が増加することを昨年度の本研究報告書で報告した¹⁾。この調査は後向き調査のため、推定されたリスク等調査・分析結果の解釈には選択バイアスや情報バイアスに注意する必要がある。そこで、婦人科問診調査で得られた情報の情報バイアスを減少させ、油症の妊娠・出産への影響を明らかにすることを本研究の目的とした。すなわち、婦人科問診調査で得られた情報のなかで本人回答または母親による代理回答のみを対象者として、1958 年以降の妊娠・分娩を解析対象とし、油症患者における流産、早産、死産のリスクについて検討した。

B. 方法

2005 年に行った婦人科問診調査のなかで、本人回答または母親による代理回答が得られた 287 名を対象とした。そのなかで、1958 年以降の妊娠・分娩 214 例を解析の対象とした（表 1）。アンケート調査時の平均年齢は 59.4 歳、平均妊娠回数 2.8 回、平均分娩回数 2.3 回、平均分娩時年齢 27.8 歳であった。妊娠・分娩した時期を 1958-1967 年、1968-1977 年、1978-1987 年、1988-2003 年の 4 区分に分類し、人工妊娠中絶、自然流産、早産、死産の頻度について解析した。統計学的解析には統計パッケージソフトの Stata/SE Ver. 9.1 を用いてロジスティック回帰分析を行った。

C. 成績

各区分における全妊娠数は 1958-1967 年は 204 例、1968-1977 年は 122 例、

1978-1987 年は 88 例、1988-2003 年は 98 例であった（表 2）。人工妊娠中絶数は 1958-1967 年は 11 例（5.4%）、1968-1977 年は 21 例（17.2%）、1978-1987 年は 1 例（1.1%）、1988-2003 年は 3 例（3.1%）であった。油症発生前の 1958-1967 年における人工妊娠中絶数を 1 としてオッズ比を算出すると、1968-1977 年は 5.64、1978-1987 年は 0.22、1988-2003 年は 0.64 と油症発生後の 10 年間は有意に上昇した（ $p<0.001$ ）。

自然流産数は 1958-1967 年は 14 例（7.3%）、1968-1977 年は 14 例（13.9%）、1978-1987 年は 6 例（6.9%）、1988-2003 年は 10 例（10.5%）であった。油症発生前の 1958-1967 年に対するオッズ比を算出すると、1968-1977 年は 2.18、1978-1987 年は 1.00、1988-2003 年は 1.25 と油症発生後の 10 年間は上昇した（ $p=0.05$ ）。

早産・死産数は 1958-1967 年は 3 例（1.7%）、1968-1977 年は 6 例（6.9%）、1978-1987 年は 2 例（2.5%）、1988-2003 年は 3 例（3.5%）であった。油症発生前の 1958-1967 年に対するオッズ比を算出すると、1968-1977 年は 4.98、1978-1987 年は 1.48、1988-2003 年は 2.24 と油症発生後の 10 年間は有意に上昇した（ $p=0.02$ ）。

自然流産・死産数は 1958-1967 年は 16 例（8.3%）、1968-1977 年は 16 例（15.8%）、1978-1987 年は 7 例（8.0%）、1988-2003 年は 10 例（10.5%）であった。油症発生前の 1958-1967 年に対するオッズ比を算出すると、1968-1977 年は 2.24、1978-1987 年は 1.03、1988-2003 年は 1.06 と油症発生後の 10 年間は有意に上昇した（ $p=0.03$ ）。

つぎに、油症患者のなかで、油症発生

前と発生後の両期間において妊娠した患者 42 例 150 妊娠（発生前 77 妊娠、発生後 73 妊娠）について、油症発生前後における人工妊娠中絶、自然流産、死産の割合について解析した（表 3）。油症発生前に比べ、油症発生後の人工妊娠中絶のオッズ比は 7.27、自然流産のオッズ比は 4.82、自然流産・死産のオッズ比は 5.24 と有意に上昇した。

D. 考察

妊娠・分娩した時期を 10 年区切りで比較すると、油症発生後の 10 年間は油症発生の 10 年前に比べ、人工中絶、自然流産、早産・死産、自然流産・死産の割合が、それぞれ、5.6 倍、2.2 倍、5 倍、2.2 倍程度上昇した。一方、油症発生後 10 年以降は、人工妊娠中絶、自然流産、早産、死産の割合はすべて油症発生前に比べ差異はなかった。このことから、油症発生後 10 年間は人工中絶、自然流産、早産・死産のリスクが増加したこと、また、この妊娠に及ぼす影響は、油症発生後 10 年以降は認められないことがわかった。

台湾における油症（Yu-cheng）患者における妊娠・分娩に及ぼす影響に関する疫学的な調査では、Yu-cheng 発生後 15 年間（1979 年から 1994 年まで）における死産率が統計学的には有意ではないもののコントロール群に比して約 2.5 倍上昇することが報告されている（4.2% 対 1.7%, $P=0.068$ ）²⁾。一方、流産率は Yu-cheng 患者とコントロール群で差異がないとしている（6.8% 対 7.4%）。油症患者における流産の発症については本研究成績と台湾での研究成績において相違があるが、この相違の一因として調査期間、すなわち台湾では油症発生後 10 年以

上にわたって調査していることが挙げられる。

今後、血中ダイオキシン類濃度と流産・早産・死産との関連について解析を加えるとともに、油症認定患者の追跡調査を継続して行い、婦人科項目を含む健康状態を注意深くモニターしていくことが必要であると考えている。

文献

1. 徳永章二、月森清巳、古江増隆、柴田智子. 油症患者婦人科問診データの解析結果. 熱媒体の人体影響とその治療に関する研究-平成 17 年度総括・分担研究報告書.
2. Yu ML, Guo YL, Hsu CC, Rogan WJ. Menstruation and reproduction in women with polychlorinated biphenyl (PCB) poisoning: long-term follow-up interviews of the women from the Taiwan Yucheng cohort. Int J Epidemiol. 2000;29:672-7.

表1 対象者の特性

特性	症例数 (%)
全妊娠数	214
研究班	
福岡	102(47.7)
長崎	56(26.2)
その他	56(26.2)
調査時年齢(才)	59.4(12.2) ^a
38-49	67(31.3)
50-59	35(16.4)
60-69	64(29.9)
70-82	48(22.4)
妊娠回数	2.8(1.3) ^a
1	24(11.2)
2	76(35.5)
3	64(29.9)
4-10	50(23.4)
分娩回数	2.3(1.0) ^a
0	6(2.8)
1	26(12.2)
2	114(53.5)
3	46(21.6)
4-6	21(9.9)
妊娠時期(西暦年)	
1958-1967	204(39.8)
1968-1977	122(23.8)
1978-1987	88(17.2)
1988-2003	98(19.2)
妊娠時年齢(才)	27.8(4.4)[n=512] ^{b,c}
17-24	115(22.5)
25-34	358(69.9)
35-44	39(7.6)

a, Mean(SD); b, Mean(SD)[n]; c, 妊娠転帰が不明な2症例を除く

表2 油症発生前後における流産、早産、死産の割合

妊娠の転帰	油症発生前	油症発生後		
	1958-1967	1968-1977	1978-1987	1988-2003
全妊娠数	204	122	88	98
妊娠時年齢(SD)	26.9(3.9)	27.7(4.9)	26.9(3.7)	30.9(4.0)
人工妊娠中絶数(%)	11(5.4)	21(17.2)	1(1.1)	3(3.1)
(90%CI)	(3.1-8.8)	(11.8-23.8)	(0.1-5.3)	(0.8-7.7)
オッズ比	1(Referent)	5.64	0.22	0.64
(90%CI)	-	(2.50-12.70)	(0.04-1.36)	(0.19-2.17)
P 値	-	<0.001	0.09	0.27
人工妊娠中絶を除く妊娠数	193	101	87	95
自然流産数(%)	14(7.3)	14(13.9)	6(6.9)	10(10.5)
(90%CI)	(4.4-11.1)	(8.6-20.8)	(3.0-13.2)	(5.8-17.2)
オッズ比	1(Referent)	2.18	1	1.25
(90%CI)	-	(1.02-4.66)	(0.39-2.58)	(0.51-3.06)
P 値	-	0.05	0.5	0.34
分娩数	179	87	81	85
正期産	176(98.3)	81(93.1)	79(97.5)	82(96.5)
早産・死産 ^a	3(1.7)	6(6.9)	2(2.5)	3(3.5)
(90%CI)	(0.5-4.3)	(3.0-13.2)	(0.4-7.6)	(1.0-8.9)
オッズ比	1(Referent)	4.98	1.48	2.24
(90%CI)	-	(1.36-18.23)	(0.29-7.59)	(0.51-9.90)
P 値	-	0.02	0.35	0.19
人工妊娠中絶を除く妊娠数	193	101	87	95
自然流産・死産数 ^a (%)	16(8.3)	16(15.8)	7(8.0)	10(10.5)
(90%CI)	(5.3-12.3)	(10.2-23.1)	(3.8-14.6)	(5.8-17.2)
オッズ比	1(Referent)	2.24	1.03	1.06
(90%CI)	-	(1.12-4.50)	(0.43-2.43)	(0.46-2.44)
P 値	-	0.03	0.48	0.45

CI, confidence interval; a, 生死が確認できない症例を含む

表3 油症発生前後の両期間に妊娠した 42 例 150 妊娠の検討

妊娠の転帰	油症発生前 1958-1967	油症発生後 1968 以降	オッズ比 (90%CI)	P 値
全妊娠数	77	73		
人工妊娠中絶数(%)	5 (6.5)	15 (20.5)	7.27 (2.14～24.67)	<0.01
人工妊娠中絶を除く妊娠数	72	58		
自然流産数(%)	5 (6.5)	12 (16.4)	4.82 (1.59～14.56)	<0.01
自然流産・死産数 ^a (%)	6 (7.8)	14 (19.2)	5.24 (1.84～14.95)	<0.01

a, 生死が確認できない症例を含む

分担研究報告書

油症患者における自覚的感觉異常と他覚的神経所見異常の経時変化の検討

分担研究者 重藤 寛史 九州大学大学院医学研究院神経内科 助手
研究協力者 吉良 潤一 九州大学大学院医学研究院神経内科 教授
大八木 保政 九州大学大学院医学研究院神経内科 講師

研究要旨 目的：油症の神経障害として末梢神経障害や頭痛が報告されている。油症ではPCBだけでなく混在するダイオキシン類の毒性が問題といわれている。ダイオキシン中毒では自覚的感觉異常が無いにもかかわらず神経学的所見や電気生理的検査で異常が認められることがある。また急性期末梢神経障害は改善するという報告がある。そこで油症で報告されてきた末梢神経障害の経時変化を自覚的異常と他覚的異常という視点から検討する。方法：自覚神経症状の問診、他覚的感觉検査、アキレス腱反射検査を行っている油症検診—1968年、1980年、2002年—を対象とし、各項目において経時変化および、自覚症状と他覚的神経所見異常（他覚的感觉異常、アキレス腱反射異常、腓腹神経伝導速度異常）の関連を検討した。結果：自覚的感觉異常感覚は発症時には39.1%であったものが、11年後には46.2%、33年後には59.4%と増加。他覚的感觉異常は発症時21.7%であったものが11年後にはいったん7.7%にまで減少したが、33年後には16.7%と再び増加。アキレス腱反射の低下を認める人数は発症時34.8%、11年後34.6%、33年後17.4%と経時的に減少した。結論：自覚的感觉異常は時がたつにつれ増加したが、他覚的神経所見異常であるアキレス腱反射異常の比率は低下した。腱反射を構成する以外の神経、すなわち小径の神経線維の障害が改善していない可能性もあり、今後も自覚的感觉異常、他覚的神経所見異常の変化についての観察が必要と考えられた。

A. 研究目的

1968年、PCB混入によるカネミ油症が出現した当初から我々はカネミ油症患者（認定・非認定患者とも）に対して神経学的診察を、検診あるいは神経内科外来にておこなってきた^{1, 2, 3) 4)}。神経症状では頭重感を主とする頭痛や四肢末端、特に下肢末端のジンジン感や不快感が存在し、客観的な神経異常所見として四肢遠位部感觉異常・低下、アキレス腱反射低下が認められた。また、1969年に行われた神経伝導速度試験においては腓腹神経（感觉神経）、とう骨神経（感觉神経）および脛骨神経（運動神経）の伝導遅延を認める症例が存在していた¹⁾。急性薬物中毒による末梢神経障害では急性期を過

ぎた後、徐々に神経障害が改善してくることが多いが、油症の場合も末梢神経障害の改善の所見が得られたか否か、患者の自覚症状、他覚的神経所見の両面から検討した。

B. 研究方法

自覚的神経症状の問診、他覚的感觉検査、アキレス腱反射検査を行っている油症検診—1968年、1980年、2002年—を対象とし、1968年は油症と診断された者、1980年・2002年は油症と認定された者を対象とした。各項目において経時変化を観察した。また1968年の調査において、自覚症状、他覚的感觉異常、アキレス腱

反射低下、腓腹神経伝導速度異常の関連を検討した。

(倫理面での配慮)

個人プライバシー保護のため、患者番号のみを検討時に利用した。

C. 研究結果

1. 対象患者の内訳

1968 年 男性 11 例、女性 12 例、年齢 30.0 ± 14.8 歳。1980 年、男性 16 例、女性 10 例、年齢 56.0 ± 13.8 歳。2002 年 男性 347 例、女性 372 例、年齢 58.6 ± 17.2 歳。正常対照 (2002 年時) 男性 71 名、女性 66 名、年齢 59.9 ± 17.5 歳。

2. 自覚症状、他覚的感覚神経異常、アキレス腱反射低下の経時的変化。

四肢遠位部の自覚的感覚異常は発症時には 39.1 %であったものが、11 年後には 46.2 %、33 年後には 59.4 %と増加した。一方、他覚的感覚異常は発症時 21.7%であったものが 11 年後にはいったん 7.7%にまで減少したが、33 年後には 16.7%と再び増加した。アキレス腱反射の低下を認める人数は発症時 34.8%、11 年後 34.6%、33 年後 17.4%と経時的に減少した。2002 年に集計された正常対照では自覚的感覚異常 8.0 %、他覚的感覚異常 4.4 %、アキレス腱反射低下 14.6 %であった (以上表 1 および図 1)。

3. 自覚的感覚症状と他覚的神経所見異常 (感覚・腱反射) の関係。

1968 年の 23 名の油症認定患者においては表 2 のごとく、自覚症状、他覚的神経所見異常 (感覚異常、アキレス腱反射低下)、腓腹神経伝導速度に関して各人のプロフィールが記載されている。これによると、自覚症状がある者 9 名のうち 8

名が他覚的神経所見異常あるいは伝導速度異常が存在し、自覚症状が無い 14 名のうち 6 名に他覚的神経所見異常あるいは伝導速度異常が存在した。

D. 考察

油症患者検診の感覚異常の自覚症状と他覚的神経所見異常の経時変化を検討した。

自覚症状、すなわち四肢遠位部の異常感覚を訴える人数は経時的に増加した。この要因の一つとして、糖尿病や栄養障害による末梢神経障害、脊椎管狭窄に伴う神経根障害、その他の末梢神経障害が加齢に従って出現してきたという可能性がある。しかし、2002 年に行った正常対照と比べても有意に多く、加齢による影響というだけでは説明がつかない。PCB 混入によるカネミ油症の発生から 37 年以上が経過するが、PCB やその代謝産物である PCDF の血中濃度は油症患者でなお高値であると報告されており、油溶性の PCB が体内脂肪組織・神経髄鞘に長期間蓄積して自覚的感覚異常の出現の原因になっている可能性も考えられる。

他覚的感覚異常を認める人数は 1980 年の報告ではいったん減少したが、2002 年には再び増加した。これには他覚的症状は検査時にどの程度をもって感覚異常とするかの判断が安定しないために、検査する年度、検者によって異なってしまった可能性が考えられた。いずれにしろ自覚的感覚異常よりは頻度が低かった。

アキレス腱反射低下の頻度は経時的に減少した。他覚的感覚検査にくらべてアキレス腱反射検査は手技的なばらつきが少なく結果の出る検査であり、末梢神経障害は腱反射を構成する Ia, Ib, α 運動神経においては急性時よりも改善している可能性があった。一方上述したように

自覚的感觉異常は増加しており、腱反射を構成する以外の神経、もっと小径の神経線維の障害が改善していない可能性もあった。ダイオキシン中毒による末梢神経障害も回復すると言われているが⁵⁾、急性中毒から何十年も経てもなお改善するものなのかは未知のものであり、今後とも油症患者において観察が必要であると考えられる。

1968 年調査における自覚的感觉異常と他覚的感觉異常の関係では、自覚的感觉異常のある患者の 89 % に他覚的神経所見異常あるいは神経伝導異常が存在しており、自覚的異常が客観的にも実証できていることを示唆していた。一方、自覚症状のない人の 43 % に他覚的神経所見異常あるいは神経伝導異常が存在しており、自覚症状のない人にも末梢神経異常が潜在している可能性が示唆された。ダイオキシン中毒において自覚的症状が無くとも神経学的診断、電気生理学的診断において異常があることが指摘されており、油症の場合にも他覚的神経所見異常があっても自覚されない感觉異常の存在があると思われる⁶⁾。アキレス腱反射は経年的に異常が減少しており、自覚的感觉異常の変化と同様に今後の変化についての再検討が必要と考えられる。

E. 結論

自覚的感觉異常は時がたつにつれ増加したが、他覚的神経所見異常であるアキレス腱反射異常の比率は低下した。腱反射を構成する以外の神経、すなわち小径の神経線維の障害が改善していない可能性もあり、今後も自覚的感觉異常、他覚的神経所見異常の変化についての観察が必要と考えられる。

F. 文献

- 1) 黒岩ら：福岡医誌 60: 462-463, 1969
- 2) 岩下ら：福岡医誌 68: 139-144, 1977
- 3) 柴崎ら：福岡医誌 72: 230-234, 1981
- 4) 古谷ら：福岡医誌 96: 152-156, 2005
- 5) Bertazzi PA, et al. : Sci Total Environ 106: 5-20, 1991
- 6) Barbieri S, et al. : Neuroepidemiology 7: 29-37, 1988

G. 研究発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

表1 油症患者の自覚的、他覚的感覚異常の経時変化

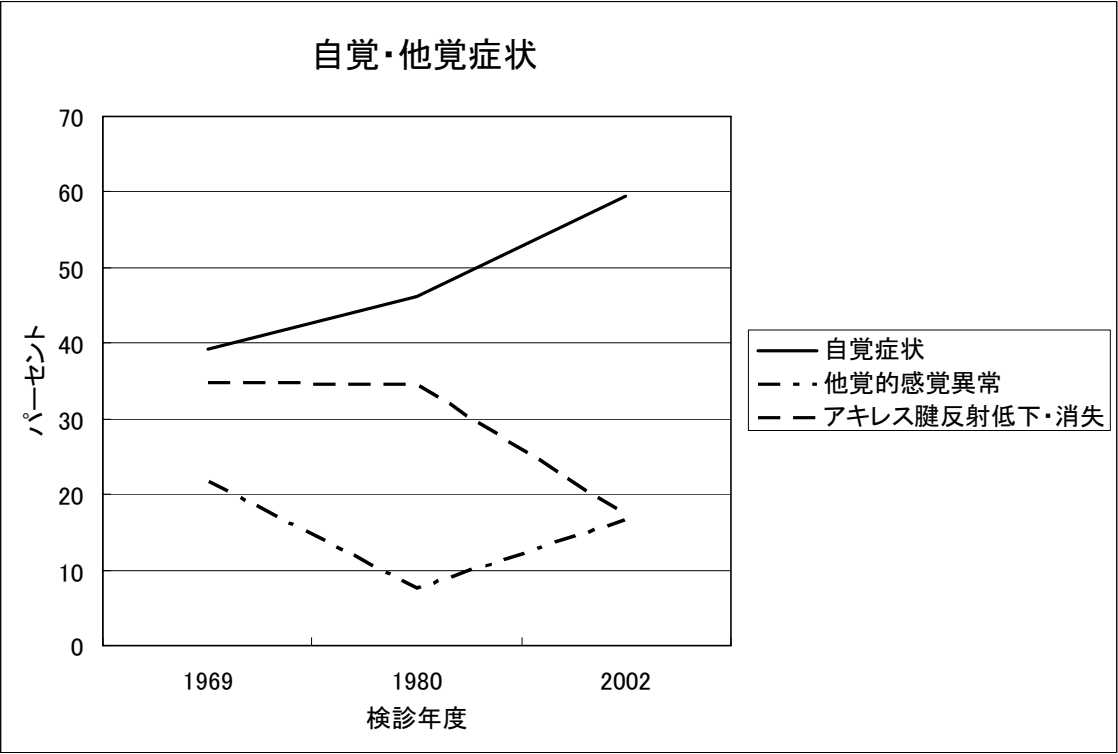
検診年度	人数(男性)	平均年齢(±sd)	自覚的感覚異常 人(%)	他覚的感覚異常 人(%)	アキレス腱反射低下 人(%)
1968	23(11)	30.0(14.8)	9(39.1)	5(21.7)	8(34.8%)
1980	26(16)	56.0(13.8)	12(46.2%)	2(7.7)	9(34.6)
2002	719(347)	58.6(17.2)*	427(59.4)	120(16.7)	125(17.4)
対照	137(71)	59.9(17.5)	11(8.0)	6(4.4)	20(14.6)

* 非認定患者含む年齢

表2 1968 年度における自覚症状と他覚的神経障害、腓腹神経伝導遅延の関係

自覚症状	他覚的感覚異常	アキレス腱反射低下	腓腹神経伝導遅延	人数
+	+	+	+	0
			—	1
		—	+	1
			—	2
	—	+	+	1
			—	3
		—	+	0
			—	1
—	+	+	+	0
			—	0
		—	+	1
			—	0
	—	+	+	2
			—	1
		—	+	2
			—	8
計				23

図1 自覚的、他覚的感覚異常の経時変化



分担研究報告書

油症における性ホルモン影響

分担研究者 辻 博

北九州津屋崎病院内科 部長

研究要旨 2006 年度福岡県油症一斉検診を受診した女性 94 例についてプロラクチン、エストラジオールおよびプロゲステロンと血中ポリ塩化ビフェニル (PCB) 濃度、血中総ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) 濃度との関連について検討した。血中 PCB 濃度とエストラジオール値の間に有意の負の相関を認め、この相関は 50 歳以上の閉経後の女性についても認められた。血中総 PCDF 濃度とプロラクチン、エストラジオールおよびプロゲステロンの間に有意の相関をみなかったが、エストラジオール値は血中総 PCDF 低濃度群に比べ高濃度群において有意の低下を認めた。

A. 研究目的

本邦において 1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライスオイル摂取により北部九州を中心に発生した油症では、原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の毒性影響が大きいと考えられる¹⁾。油症発生以来 30 年以上が経過し種々の症状は軽快しているが、重症例においては体内の PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ、慢性中毒に移行していると推定される。PCDF は、狭義のダイオキシン、ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン(PCDD)とともにダイオキシン類と総称されている。これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) を介すると考えられているが、その機構の詳細は未だ不明である。

近年、PCB、ダイオキシン類が、ホルモンの合成、分泌、輸送、受容体との結合、作用あるいは不活化等を阻害することにより生体の恒常性維持、生殖、発達、行動に関与する正常なホルモン作用を障害する外因性の物質、内分泌攪乱物質と

して注目されている。1976 年にイタリア北部のセブソで発生したダイオキシン類汚染事故では、事故後に出生が女兒に偏る傾向が報告されている²⁾。一方、ダイオキシンに暴露した男性においてテストステロンの低下と黄体形成ホルモンおよび卵胞刺激ホルモンの上昇が報告されている³⁾。

油症患者におけるホルモン影響については甲状腺機能が検討されており、油症発生 16 年後の 1984 年度福岡県油症一斉検診において対照者に比べトリヨードサイロニンおよびサイロキシンの上昇を認めることが報告されている⁴⁾。また、油症発症 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査では、甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0 ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかったが、抗サイログロブリン抗体が高濃度群の 41 例中 8 例 (19.5%) と低濃度群の 40 例中 1 例 (2.5%) に比べ高頻度に認められた⁵⁾。しかしながら、油症における原因油の内分泌攪乱物質としてのヒトへの影響についての詳細は未だ不明である。

そこで、今回は油症一斉検診を受診した

女性においてプロラクチン、エストラジオールおよびプロゲステロンを測定し、油症における PCDF の内分泌攪乱物質としての意義について検討する。

B. 方法

2006 年度福岡県油症一斉検診の受診者中、プロラクチン、エストラジオールおよびプロゲステロンの測定に同意が得られた 15 歳以上の女性 94 例を対象者とした。プロラクチンは化学発光免疫測定法(chemiluminescence immunoassay, CLIA)で、エストラジオールおよびプロゲステロンは電気化学発光測定法(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)で測定し、血中 PCB 濃度および血中総 PCDF 濃度との関連について検討した。

結果は平均±標準偏差 (mean±S.D.) で表し、平均値の比較については t 検定を用いた。

C. 結果

2006 年度福岡県油症一斉検診を受診し、性ホルモンを測定しえた 15 歳以上の女性 94 例の内訳は油症患者 71 例、未認定患者 12 例、観察 1 例、初回受診者 10 例で、平均年齢は 66.3 ± 13.5 (23–87) 歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関を認めた ($r=0.5517$, $P<0.001$)。

油症における性ホルモンと PCB の関連をみるために女性患者 94 例について血中 PCB 濃度とプロラクチン値、エストラジオール値およびプロゲステロン値の相関について検討した。血中 PCB 濃度とプロラクチン値 ($r=-0.0814$) およびプロゲステロン値 ($r=-0.1482$) の間に相関をみなかったが、血中 PCB 濃度とエストラジオール値の間に有意の負の

相関を認めた ($r=-0.3051$, $P<0.005$)。この相関は 50 歳以上の女性 78 例についてもみられ、血中 PCB 濃度とエストラジオール値の間に有意の負の相関を認めた ($r=-0.2330$, $P<0.05$)。

さらに、性ホルモンを測定しえた 15 歳以上の女性 94 例中、2005 年度福岡県油症一斉検診を受診し血中 PCDF 濃度を測定した 59 例について血中総 PCDF 濃度とプロラクチン値、エストラジオール値およびプロゲステロン値の相関について検討した。血中総 PCDF 濃度とプロラクチン値 ($r=-0.1156$)、プロゲステロン値 ($r=-0.1111$) およびエストラジオール値 ($r=-0.1886$) の間に有意の相関をみなかった。次に、血中総 PCDF 濃度 200 pg/g 脂肪未満の女性 30 例を総 PCDF 低濃度群、血中総 PCDF 濃度 200 pg/g 脂肪以上の女性 29 例を総 PCDF 高濃度群として両群間のプロラクチン値、プロゲステロン値およびエストラジオール値について検討を行なった。総 PCDF 低濃度群の平均総 PCDF 濃度は 69.9 ± 56.3 pg/g 脂肪、PCDF 高濃度群の平均総 PCDF 濃度は 720.7 ± 504.3 pg/g 脂肪であった。プロラクチン値は総 PCDF 低濃度群 12.8 ± 10.3 ng/ml に対して高濃度群 10.6 ± 15.0 ng/ml、プロゲステロン値は総 PCDF 低濃度群 0.9 ± 4.0 ng/ml に対して高濃度群 0.15 ± 0.11 ng/ml であり、いずれも両群間に差はみられなかった。しかし、エストラジオール値は総 PCDF 低濃度群 41.7 ± 78.9 pg/ml に比べ高濃度群 10.7 ± 2.1 pg/ml と有意の低下を認めた ($P<0.05$)。

D. 考察

今回の検討では女性患者の血中 PCB 濃度とエストラジオール値の間に有意の負の相関を認めた。そして、この相関は 50

歳以上の閉経後の女性についても認められることよりエストラジオール値の低下には閉経のみではなく PCB が関与している可能性が考えられた。さらに、油症原因油の分析から算出した毒性等量 (TEQ) より原因物質として毒性影響が大きいと考えられる血中総 PCDF 濃度とプロラクチン、プロゲステロンおよびエストラジオールとの関連について検討した。血中総 PCDF 濃度とプロラクチン、エストラジオールおよびプロゲステロンの間に有意の相関をみなかったが、エストラジオール値は総 PCDF 低濃度群に比べ高濃度群において有意の低下を認められることよりエストラジオール値の低下に PCDF が関与している可能性が考えられた。

橋口衛, 藤島正敏. 油症患者における甲状腺機能:油症発生 28 年後の検討. 福岡医学雑誌 88 : 231-235,1997.

E. 参考文献

1. Masuda Y , Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans inpatients with Yusho and their toxicological significance : A Review. Amer J Ind Med 5 : 31-44,1984.
2. Mocarelli P. Brambilla P. Gerthoux PM. Patterson DG Jr. Needham LL. Change in sex ratio with exposure to dioxin. Lancet 348 : 409, 1996.
3. Egeland GM. Sweeney MH. Fingerhut MA. Wille KK. Schnorr TM. Halperin WE. Total serum testosterone and gonadotropins in workers exposed to dioxin. American Journal of Epidemiology 139 : 272-81, 1994.
4. 村井宏一郎, 辻 博, 梶原英二, 赤木公博, 藤島正敏. 油症患者の甲状腺機能. 福岡医学雑誌 76:233-238,1985.
5. 辻 博, 佐藤薫, 下野淳哉, 東晃一,

分担研究報告書

油症患者の脂質代謝に関する研究

分担研究者 飯田三雄 九州大学大学院医学研究院病態機能内科学 教授
研究協力者 東 晃一 九州大学大学院医学研究院病態機能内科学
研究協力者 緒方久修 九州大学大学院医学研究院病態機能内科学

研究要旨 身体所見、臨床検査値、腹部超音波検査所見より、油症発生 38 年後の脂質代謝異常・糖代謝異常と肥満・脂肪肝の関連、動脈硬化のリスクを検討した。

A. 研究目的

1968 年 4 月頃より発生した油症では、典型例では当初貧血、白血球増多、赤血球沈降速度の亢進、脂質代謝異常、アルカリフォスファターゼの軽度上昇などが認められた。その後血中 PCB 値の低下と共にこれらの所見は徐々に改善してきたが、油症発生 26 年後の 1995 年でも、中性脂肪の上昇が 28.4%に認められた。

今回われわれは 2006 年度一斉検診時の身体所見、臨床検査値、腹部超音波検査所見より、油症患者の脂質代謝異常と肥満・脂肪肝の関連について検討した。

B. 研究方法

福岡県油症一斉検診を受診した油症認定患者 119 例を対象者とした。結果は平均±標準偏差で表し、平均値の比較については t 検定を用いた。

C. 研究結果及び考察

2006 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症認定患者は 119 例(男性 48 例、女性 71 例)、平均年齢は 66.8 ± 11.6 歳(36~90 歳)であった。

Body mass index (BMI、 kg/m^2) は平均 22.79 ± 3.15 (15.7~33.2) であった。

腹部超音波検査にて bright liver (BL) を 118 例中 85 例(72%)に認めた。

血液生化学検査では、総コレステロールの上昇を 47 例 (39.5%)、中性脂肪の上昇を 25 例 (21.0%)、HDL コレステロールの低下を 10 例 (8.4%)、 β リポ蛋白

の増加を 16 例 (13.4%)、リポ蛋白(a) (Lp(a)) の増加を 8 例 (6.7%) に認めた。総コレステロールと BMI とは相関を認めなかったが、中性脂肪、 β リポ蛋白と BMI は正の相関を、HDL コレステロールと BMI は負の相関を認めた。

腹部超音波検査で BL を認める群 (BL 群) と認めない群 (非 BL 群) に分けて比較すると、BL 群は非 BL 群に比し BMI、中性脂肪、 β リポ蛋白、コリンエステラーゼ、尿酸が有意に高かったが、総コレステロール、HDL コレステロールに有意差はなかった。

BMI ≥ 25 の油症認定患者 15 例(12.6%)の検討では、BL を全 15 例 (100%) に、高血圧(収縮期血圧 $\geq 140\text{mmHg}$ あるいは拡張期血圧 $\geq 90\text{mmHg}$) を 5 例 (33.3%) に認めた。BMI ≥ 25 の患者では BMI < 25 の患者に比し有意に BL が多かった (χ^2 検定)。

近年、生活様式とくに食生活の欧米化により、肥満、高脂血症が増え続けている。久山町における高コレステロール血症(総コレステロール $\geq 220\text{mg/dl}$) の頻度は、1961 年と 1988 年では男性で 9 倍、女性で 6 倍も増えている。今回の油症発生後 38 年の検討でも、多くの検査所見は軽快しているが、なお油症認定患者 119 例中の 59 例 (49.6%) に総コレステロールあるいは中性脂肪の上昇を認めた。また、Lp(a) は LDL を構成するアポ蛋白 B-100 にアポ蛋白 (a) が結合したもので、動脈硬化の独立した危険因子で

あるが、Lp(a)と総コレステロール或いは中性脂肪には相関を認めなかった。

PCB、PCDFの高脂血症に及ぼす影響については今後の検討を要するが、加齢あるいは生活様式の変化の影響を否定できない。

D. 参考文献

赤木公博、村井宏一郎、志方 建：油症患者の臨床検査所見、とくにリポ蛋白について．福岡医学雑誌 72(4)：245-248、1981

辻 博、池田耕一、鈴木統久、藤島正敏：油症患者における臨床検査所見の推移：油症発生 26 年後の検討．福岡医学雑誌 86(5)：273-276、1995

清原 裕：【マクロとミクロの疫学 臨床から遺伝子まで】心血管領域 日本人における心血管疾患の動向—久山町研究から．現代医療 35(1)：2-7、2003

油症認定患者血清中の抗 SS-A 抗体の解析

分担研究者	佐藤伸一	長崎大学医学部皮膚科	教授
研究協力者	清水和宏	長崎大学医学部皮膚科	助教授
	小川文秀	長崎大学医学部皮膚科	講師

研究要旨 代謝の過程で superoxide を発生する PCB の中毒症である油症は事件発生後 35 年以上たった現在慢性の酸化ストレス状態と考えられる。油症認定患者における自己免疫反応を観察するための対象自己抗原として SS-A を選択し抗 SS-A 抗体の出現頻度を油症患者血清を用いて検討したが油症患者において出現頻度は高いものの健常人との間に有意差を認めなかった。

A. 研究目的

事件発生から 35 年以上を経て、激的な症状を呈する患者はほとんど見られなくなった現在、良好な QOL を維持するための保健指導、健康相談の重要性が増してきている。油症患者は現在も血中の PCB, PCQ 濃度が高く油症認定の基準として重要視されている。一方 PCB は superoxide を発生すると報告されており¹⁾、高 PCB 血症である油症患者は酸化ストレスに慢性的にさらされている事になる。実際我々は油症患者尿中に脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane が有意に高い事を報告している。²⁾酸化ストレスは自己抗原を酸化修飾し免疫寛容(トレランス)が導入されていない抗原エピトープを自己抗原上に露出させる事によって自己免疫反応を誘導する事が知られている。アポトーシスにより発現される自己抗原として頻度が高いと報告されている Sjögren's syndrome (SS)-A を選択しそれに対する自己抗体である抗 SS-A 抗体の発現頻度を油症患者血清を用いて検討した。

B. 研究方法

①対象：2006 年 7 月の長崎、玉之浦地

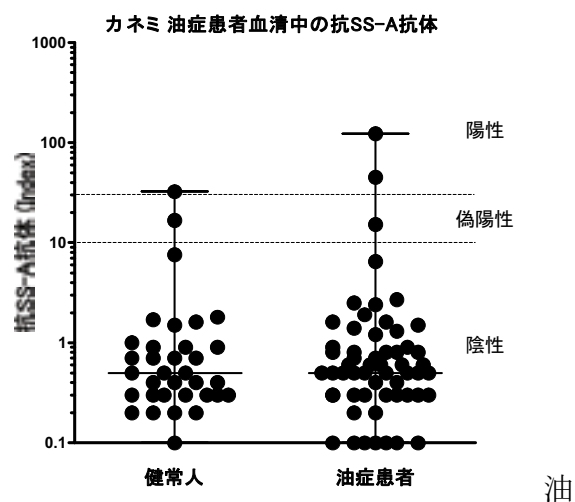
区油症検診受診者のうち同意を得られた 57 名を対象とした。検診時に採血を行い、血清を分離後凍結保存した。年齢を合致させた健常人 34 名を対照とした。

②血清中抗 SS-A 抗体測定：測定は MBL 社の MESACUP-2 テスト SS-A (ELISA kit)を使用し測定した。

③統計的処理：Mann-Whitney's U test にて検討した。

C. 研究結果

平均年齢は油症患者 70.3 ± 9.7 歳、健常人 66.0 ± 11.2 歳で有意差を認めなかった。



症患者血中抗 SS-A 抗体値は 4.0 ± 17.1

(Index)、健常人では 2.2 ± 6.1 (Index) で有意差は認めなかった。また、抗 SS-A 抗体陽性度をもとにした分割表分析においても有意差を認めることは出来なかった(図)。

D. 考察

抗 SS-A 抗体の対応抗原である SS-A は細胞質に局在する 60kDa の蛋白と hY1-5 とよばれる低分子 RNA が結合した複合体である。臨床的にはその名前の如く抗 SS-A 抗体はシェーグレン症候群や SLE に高頻度に見つかり強皮症や皮膚筋炎にも認められる。³⁾今回我々は油症が慢性酸化ストレスであるため長期に酸化修飾を受けて自己免疫反応が誘導されているのではないかとの仮説の下、対象とする自己抗原として SS-A を選択し抗 SS-A 抗体の出現頻度を油症患者血清にて検討した。今回油症患者において抗 SS-A 抗体の出現頻度は高いものの健常人との間に有意差を認めなかったが、我々は superoxide の発生が報告されている PCB の血中濃度が高い油症が慢性酸化ストレス状態であることを尿中 8-Isoprostane の高値により確認している。²⁾即ち油症において高 PCB 血症が持続する限り酸化

修飾は今後も継続していくと考えられ、自己抗体が出現する確率はあがっていくものと推察される。また抗 SS-A 抗体は疾患特異性が高く、油症患者においてシェーグレン症候群や SLE 等膠原病の発生する可能性も念頭に置かねばならず今後油症患者において厳格なるフォローアップが重要と考えられる。

E. 文献

- 1) Oakley GG. et al, Oxidative DNA Damage Induced by Activation of Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implications for PCB-Induced Oxidative Stress in Breast Cancer. Chem. Res. Toxicol., 9, 1285-1292 (1996)
- 2) Shimizu k et al Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. J Appl. Toxicol. 2006 Dec 22; [Epub ahead of print]
- 3) 秋月正史、岡野哲朗 抗 SSA/Ro 抗体、抗 SSB/La 抗体 V. 免疫学的検査 D. 自己抗体 日本臨床 48 巻 増刊号 501-504, 1990.

(図)

カネミ油症患者血清中における抗 SS-A 抗体陽性度

度数

	判 定			合 計
	陰 性	±	陽 性	
健 常 人	32	1	1	34
カネミ油症患者	54	1	2	57
合 計	86	2	3	91

油症認定患者血中 Catalase 活性の検討

分担研究者	佐藤伸一	長崎大学医学部皮膚科	教授
研究協力者	清水和宏	長崎大学医学部皮膚科	助教授
	小川文秀	長崎大学医学部皮膚科	講師

研究要旨 PCB は superoxide を代謝過程で発生するため事件発生後 35 年以上経過した現在高 PCB 血症である油症患者は慢性酸化ストレス状態と考えられる。油症患者における酸化ストレスの影響を評価するために油症患者と正常健常人の血清を用いて scavenger enzyme である catalase の活性を測定した。油症患者 45 名および年齢を合わせた健常人 35 名の血中 catalase 活性は各々 $31.9 \pm 5.7 \text{ nmol/min/ml}$ 、 $26.0 \pm 2.3 \text{ nmol/min/ml}$ で対照群と油症患者の間に有意差を認めなかった。

A. 研究目的

事件発生から 35 年以上を経て、激的な症状を呈する患者はほとんど見られなくなった現在、良好な QOL を維持するための保健指導、健康相談の重要性が増してきている。PCB 中毒である油症患者は 35 年以上たった現在でも血中の PCB 濃度が高く油症認定の基準として重要視されている。PCB は superoxide(O_2^-)を発生するため¹⁾、油症患者は酸化ストレスに慢性的にさらされていると考えられる。我々はすでに脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane が油症患者尿中において有意に高値を示している事を報告している。²⁾また O_2^- の消去に働く scavenger enzyme である superoxide dismutase (SOD)の血中濃度が油症患者において異常である事を報告した。³⁾即ち現在の油症は慢性の酸化ストレス状態であり scavenger enzyme の一つである SOD に異常をきたしていたと考えている。今回別の scavenger enzyme である Catalase をマーカーとして選択し、油症患者における酸化ストレスの影響を検討した。

B. 研究方法

①対象：2006 年 7 月の玉之浦地区油症検診受診者のうち同意を得られた 45 名を対象とし、検診時に採血を行い、凍結保存し Catalase 活性測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人 35 名を対照とした。

②血中 Catalase 活性測定：血中 Catalase 活性は Catalase Assay Kit (Calbiochem)を用いて計測した。

③統計的処理：計測値をもって Mann-Whitney's U test にて検討した。

C. 研究結果

油症患者 45 名および健常人 35 名の平均年齢は各々 72.5 ± 1.0 及び 71.7 ± 1.0 才で、血中 Catalase 活性は各々 $31.9 \pm 5.7 \text{ nmol/min/ml}$ 、 $26.0 \pm 2.3 \text{ nmol/min/ml}$ であった。対照群と油症患者に有意差を認めなかった。(図)

D. 考察

O_2^- は SOD により H_2O_2 へと触媒され、 H_2O_2 は Glutathione peroxidase (GPX)や Catalase により H_2O へと変換される。即ち Catalase は過酸化水素水を水と酸素に

変換する反応を触媒する酵素で SOD, GPX と共に活性酸素種の消去に重要な役割を果たしている。Catalase は分子量 240,000 で好氣的細胞に広く分布し H_2O_2 を H_2O に触媒するヘム蛋白 4 個から構成されるヘム酵素である。⁴⁾我々は油症患者血中において SOD の中で恒常発現型である Cu,Zn-SOD の有意な低下と誘導型である Mn-SOD の有意な上昇を報告している。³⁾即ち O_2 から H_2O_2 への反応を触媒する酵素である SOD の異常を油症において確認した事になる。今回その次の段階の反応である H_2O_2 から H_2O への触媒酵素である Catalase の血中での活性を検討したが有意差を認めなかった。今回の検討において年齢を合わせた健常対照群との間に有意差を認めなかった事は油症における酸化ストレスは血中 Catalase の活性に影響を与えない範囲である可能性が考えられ、Catalase が油症の酸化ストレスにおけるマーカーとして機能しない可能性が推察された。また何らかの feed back 機構が働き健常レベルにとどまっている可能性も否定できない。慢性酸化ストレス状態である油症患者においては今後も酸化ストレスの蓄積が予想されるため厳重な定期的観察が必要と考えられる。

E. 文献

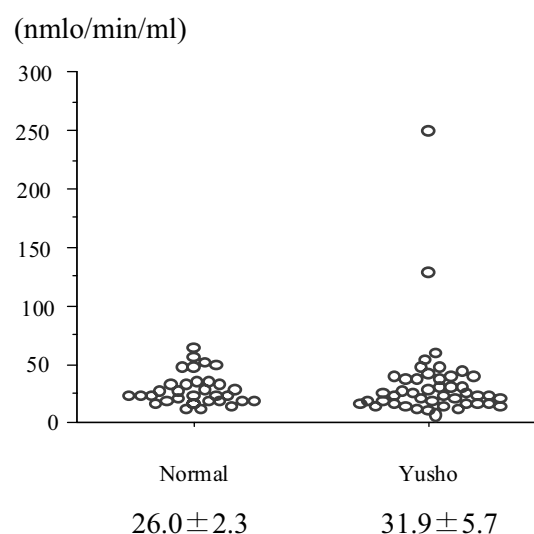
1) Gregory G. Oakley et al, Oxidative DNA Damage Induced by Activation of Polychlorinated Biphenyls (PCBs):

Implications for PCB-Induced Oxidative Stress in Breast Cancer. Chem. Res. Toxicol. 9, 1285-1292 (1996)

2) Shimizu k et al Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. J Appl. Toxicol. 2006 Dec 22; [Epub ahead of print]

3) Shimizu K et al Serum antioxidant levels in Yusho victims over 30 years after the accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. Toxicol Ind Health 19: 37-39, 2003

4) 岡部紘明、宇治義則 生化学的検査 [1] C.酸化ストレス関連マーカー カタラーゼ(CAT) 日本臨床 62 巻 増刊号 11: 554-556, 2004.



(図)

分担研究報告書

カネミ油症検診者の末梢神経、筋の変化および・糖尿病の合併について

分担研究者 吉村 俊朗 長崎大学医学部保健学科 教授
研究協力者 中野 治郎 長崎大学医学部保健学科 助手

研究要旨 カネミ油症検診者は、血清クレアチン・キナーゼの上昇や血清アルドラーゼの低下がしばしば認められる。今年度は、過去のカネミ油症検診者データを用い、個人の血清アルドラーゼの経過と変動、加えて、血清クレアチン・キナーゼ、血清アルドラーゼ、PCB、PCQ、PCDFなどとの関連性について調査し、血清アルドラーゼ値の低下の原因について検討した。血清アルドラーゼ値の低下は、測定方法の影響はなく、地区間の差は意味があるものと考えられた。また、長崎、五島地区の油症検診者では抗GAD抗体陽性率は、他報告と比較して高値ではなかった。

A. 研究目的

カネミ油症検診者では、血清クレアチン・キナーゼ（以下、血清 CK）の上昇や血清アルドラーゼ（以下、血清 ALD）の低下がしばしば認められる。そして血清 CK の上昇については、これまで血中 PCB 濃度高値がその要因の一つである可能性を報告してきた。

昨年まで、過去のカネミ油症検診者データを用い、個々人の血清 ALD の経過と変動、ならびに血清 CK との関連性について調査し、血清 ALD 値の低下の原因について検討してきた。カネミ油症検診者で認められる血清 CK 上昇の要因を平成 6 年から平成 16 年度の検診データから検討した。その結果、PCB 血中濃度と甲状腺ホルモン値に相関はなく、CK の上昇と甲状腺機能は無関係であることを明らかにした。そして、CK の上昇と運動量もしくは BUN 等は相関が認められていた。しかし、CK 上昇の要因は明らかにすることができなかった。血清 ALD は地区別で血清 ALD 値に差が認められることを報告してきたが、今年度も血清 ALD について検討した。

一方、PCB に暴露した患者において、血清抗 GAD 抗体が陽性との報告がある。カネミ油症検診者においても、血糖高値を示す例が少なからず認められるので、併せて、血

清 GAD 抗体の陽性率を求め、PCB の糖代謝に及ぼす影響も検討した。

B. 研究と方法

1). 対象

今年度の調査に用いた検診データは、1995 年～2005 年までの長崎地区、玉之浦地区、奈留地区でのカネミ油症検診者 235 名の 10 年間の蓄積データである。

以下に述べる各調査の目的に基づき、データをトリミング、群分けし検討を行った。

調査 1. 血清 CK 値の異常率、

対象：1995 年～2005 年に受診したカネミ油症検診者のうち血清 CK を測定できた延べ 1103 名（内訳；1995 年 84 名；1996 年 101 名；1997 年 97 名；1998 年 105 名；1999 年 106 名；2000 年 103 名；2001 年 90 名；2002 年 121 名；2003 年、100 名；2004 年 86 名；2005 年、110 名）を対象とした。

検討方法：

血清 CK 値が異常値（男：CK>198 U/I、女：CK>181 U/I）を示した検診者数をカウントし、全体に対する割合とヒストグラムを求めた

調査 2. 血清 CK 値の年変化と血中 PCB、PCQ 濃度

対象：1995年～2005年までのカネミ油症検診者のうち、5回以上CPK値の測定を行った128名を対象とした。

血清CK値に基づいて、正常群：毎回、正常値であった検診者（男：＜198 U/I、女：＜181 U/I）と上昇群：毎回、高値を示した検診者の2群に分類した。検討方法としては、一元分散分析、PLSDのFisher法を適用し、危険率5%未満で、各群の血中PCB、PCQ濃度を比較検討した。

調査3. 血清ALD値の変化と血中PCB、PCQ濃度

対象：2000年～2005年でのカネミ油症検診者のうち、ALDを4回以上測定した72名（男性33名、女性39名）を対象とした。血清ALD値に基づき、次ぎの4群に分類し、検討した。正常群：毎回正常範囲（1.9～4.1 IU/l）であった検診者。一時低下群（低頻度）：1回のみ、低値であった検診者。一時低下群（高頻度）：少なくとも2回以上、低値であった検診者。低下群：毎回の検診で低値であった検診者。これら各群の血中PCB、PCQ濃度を比較検討した。

調査4-（1）：地域別での血清ALD値の比較

対象：調査3と同様、2000年～2005年でのカネミ油症検診者のうち、ALDを4回以上測定した72名（男性33名、女性39名）を対象とした。長崎地区（34名、延べ115名）、玉之浦地区（58名、延べ217名）、奈留地区（41名、延べ111名）

3つの受診地において、血清ALD値、PCB値、PCQ値、PCDF値、TEQを比較検討した。

血清ALD値に関しては、その比較対象として健常人延べ31名のデータを用いた。

調査4-（2）. 時間経過による血清ALD値の変動

前回、地域別で血清ALD値に差が認められた原因として、採血から測定までの時間、すなわち運搬行程の影響を疑った。この点を明らかにする目的に以下の実験を実施した。健常者6名を対象とし、採血してか

ら検査を行うまでに経過した時間が血清アルドラーゼ値に及ぼす影響について検討した。対象から採血した血液を上清分離した後、0時間、3時間、6時間、9時間、12時間、24時間、36時間、48時間、7℃の環境に放置した。その後、通常、血清アルドラーゼ値測定を行い、比較検討した。**調査5.GAD抗体の陽性率**対象と方法:2005年のカネミ油症検診104名を対象とし、血清に含まれる抗GAD抗体の抗体価を測定した。

C. 結果

1, 血清CKの異常率

1995年から2005年まで述べ、1103名の検診者の12.4%で、血清CK値の上昇を認めた。

2, 血清CK値の年変化と血中PCB、PCQ濃度

CKの異常率は、経年で見ると、高い年で21.8%、低い年で4.5%で推移している（図1）。1995年～2005年までのカネミ油症検診者のうち、5回以上CPK値の測定を行った検診者で、毎回、正常値であった検診者（男：＜198 U/I、女：＜181 U/I）：正常群と毎回、高値を示した検診者：上昇群で、PCB及びPCQの値を比較検討した。血液PCB濃度に関しては、男性では上昇群で高値になり、女性では低値になり、男女併せて検討すると有意差がなかった。また、PCQに関しても有意差を認めなかった（図2）。

3, 血清ALD値の変化と血中PCB、PCQ濃度2000年～2005年でのカネミ油症検診者のうち、ALDを4回以上測定した検診者の血清ALD値に基づき、4群に分類し、検討した。対象となった検診者72名について検討した（表2）。各群のCK値の検討をしたが有意差を認めなかった（図3）。血清アルドラーゼ値が常に低下している群および高頻度に低下している群の2群は、アルドラーゼ値に異常の無い正常群に比較し、血中PCB濃度が有意に高値を示した。血中PCQ濃度には各群間で有意な差を認めなかった（図4）。

4- (1), 地域別での血清 ALD 値の比較-

(2) 5, GAD 抗体の陽性率 検診者 110 名で、抗GAD抗体陽性をしめしたのは4名であった。1名は22300と高値を示した(表3)。この1名の75gOGTTによる耐糖能の検査では異常を認めなかった。抗GAD抗体陽性者のPCB濃度、PCQ濃度は、陰性者と差はなかった。

D. 考案

血清CK上昇は、12.4%の検診者に認められた。検診の度に血清CKが常に上昇している群で血液中のPCB, PCQの濃度を比較した。PCQでは有意差が認められなかったが、PCBでは、男性と女性で相反する結果となり、男女併せて検討すると有意差がなかった。PCBが生体に対する影響で、性差による差は赤血球や白血球に関して若干の報告がなされている。ここで、認められた結果が、性差に起因しているのかどうかさらなる検討が必要であろう。

今回、検診の度に血清ALDが低値を呈する群と高頻度に血清ALD値が低値を呈する群で、正常群と比較して、血中PCB濃度では高値を示した。しかし、血中PCQ濃度には差がなかった。ALDは嫌気性解糖系酵素の一つで、3種類のアイソザイムからなる。それぞれ筋型であるA型、肝臓型であるB型、脳型であるC型に分かれる。そして、解糖系と糖新生系のいずれにおいても関与する酵素である。

地域別で検討した結果、地区間に差が認められた。長崎地区の検診者の血清ALD値に比べ、玉之浦地区や奈留地区ALDは有意に活性低下が認められた。検診者から採取された血液を血液検査センターまで運搬するのに必要とする時間に準拠して、ALDの活性が失われ、結果的に血清ALD値が低値を示した可能性も考慮し検討した結果、ALD測定値は、血清一定の保存温度では、採血から測定までの時間の影響は無かった。また、玉之浦地区および奈留地区での血清CK値は、長崎地区に比べ有意に高値をしめしている。加えて、血液PCB,

PCQ、PCDFおよびTEQの値は、玉之浦地区で有意に高く、これらの何れかがアルドラーゼの活性低下に影響を及ぼしている可能性はある。石井らはラットの肝において、PCB126がアルドラーゼBの活性を抑制することを示唆している。玉之浦地区、奈留地区でのALDの低下もカネミ油症の1つの現象であることが示唆される。ALDが解糖系、糖新生系の酵素にも関与していることから、何らかの運動負荷が加わった時に、糖原病類似の代謝異常が生じ、血清CKの上昇が生じていることも推測できる。現在までのところ、幸いなことに肝機能との相関もなく、臨床的にも問題は明らかに成っていない。

抗GAD抗体陽性は3.6%に認められた。Sebokova(2002)らの報告によるとPCB生産工場の労働者の40.4%に抗GAD抗体陽性を認め、コントロール群では10.5%と報告している。カネミ油症検診者においては、必ずしも抗GAD陽性者率は高率ではないが、1名で23300u/mlと高値であった。この1名はカネミ油症認定者ではなかった。また、耐糖能にも異常を認めなかった。PCBはその濃度に依存せずに、immunomodulationとして作用する可能性は十分にあり得ると考える。ここで、対象となった玉之浦、奈留、長崎地区の油症検診者においては、抗GAD抗体を惹起していない。

E. 結論

カネミ油症検診者でしばしば認められる血清ALD値の低下は、PCBの影響を受けている可能性を否定できない。臨床症状はないが、少なくともアルドラーゼ低下の意義を検討する必要がある。また、油症検診者において抗GAD抗体の上昇は認めなかった。

文献

- 1) Aizawa H, Morita K, Minami H, Sasaki N and Tobise K: Exertional rhabdomyolysis as a result of strenuous military training. J Neurol Sci 132: 239-240, 1995.

- 2) Chia LG and Chu FL: A clinical and electrophysiological study of patients with polychlorinated biphenyl poisoning. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 48: 894-901, 1995.
- 3) Huang Y, Shinzawa H, Togashi H, Takahashi T, Kuzumaki T, Otsu K, Ishikawa K: Interleukin-6 down-regulates expressions of the aldolase B and albumin genes through a pathway involving the activation of tyrosin kinase. *Arch. Biochem. Biophys.* 320:203-209, 1995.
- 4) Ishii Y, Kato H, Hamamura M, Ishida T, Ariyoshi N, Oguri K: Significant suppression of rat liver aldolase B by a toxic coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. *Toxicology* 116, 193-199, 1997
- 5) Kato H, Ishii Y, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N, Oguri K: Significant suppression of aldolase B, carbonic anhydrase III and alcohol dehydrogenase in liver cytosol of rats treated with highly toxic coplanar PCB. *JPN. Toxicol. Environ. Health* 43, 20, 1997.
- 6) Koopman-Esseboom C, Morse DC, Weisglas-Kuperus N, Lutkeschipholt IJ, Van der Paauw CG, Tuinstra LG, Brouwer A and Sauer PJ.: Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls on thyroid hormone states of pregnant women and their infants. *Pediatr Res* 36: 468-473, 1994.
- 7) Kuipers H: Exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med* 15: 132-135, 1994.
- 8) 黒岩義五郎, 村井由之, 三田哲司: 油症患者における神経学的所見. 福岡医誌 60: 462-463, 1969.
- 9) 奥村恂: 内科的症状と所見. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆 (編): 油症研究—30年の歩み—初版, pp.165-181, 九州大学出版会, 福岡, 2000.
- 10) Schneider CM, Dennehy CA, Rodearmel SJ and Hayward JR: Effects of physical activity on creatine phosphokinase and the isoenzyme creatine kinase-MB. *Ann Emerg Med* 25: 520-524, 1995.
- 11) Sebokova E, Klimes I: High prevalence of anti-glutamic acid decarboxylase (Anti-GAD) antibodies in employees at a polychlorinated biphenyl production factory. *Arch Environ Health* 57(5):412-415, 2002.
- 12) Seo BW, Li MH, Hansen LG, Moore RW, Peterson RE and Schantz SL: Effects of gestational and lactational exposure to coplanar polychlorinated biphenyl (PCB) congeners or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on thyroid hormone concentrations in weanling rats. *Toxicol Lett* 78: 253-262, 1995.
- 13) 庄司進一: クレアチンキナーゼ. 日本臨床広範囲血液・尿化学検査免疫学的検査—その数値をどう読むか—第4版, 上銘外喜夫 (編): pp.262-265, 日本臨床社 大阪 1995.
- 14) Sorichter S, Koller A, Haid C, Wicke K, Judmaier W, Werner P and Raas E: Light concentric exercise and heavy eccentric muscle loading: effects on CK, MRI and markers of inflammation. *Int J Sports Med* 16: 288-292, 1995.
- 15) Stone R: Environmental toxicants under scrutiny at Baltimore meeting,

news. Science 267: 1770-1771, 1995.

- 16) 吉村俊朗, 沖田実, 東登志夫, 上山裕文, 伊藤 聖: カネミ油症検診者におけるクレアチンキナーゼ上昇の意義、福岡医誌 88: 216-219, 1997.
- 17) 吉村俊朗, 沖田実, 上山裕文, 伊藤聖, 後 藤 公 文 , 末 松 貴 史 : Polychlorinated Biphenyls (PCB) の末梢神経髄鞘におよぼす影響について. 福岡医誌 88: 211-215, 1997.
- 18) 吉村俊朗, 沖田実, 川副巧成, 中野治郎, 中尾洋子: カネミ油症検診者における血清クレアチンキナーゼ上昇の要因に関する検討, 福岡医誌 90 :246-250, 1999.
- 19) 吉村俊朗, 沖田実, 福田卓, 藤本武士, 中尾洋子: カネミ油症検診者における血清 C K 上昇の意義ーラット筋細胞膜の freeze fracture 法による変化ー, 福岡医誌 92:123-234, 2001
- 20) 吉村俊朗, 沖田実, 中野治郎、白石裕一、岩永洋、友利幸之介、岡本眞須美: カネミ油症検診者に見られる血清クレアチンキナーゼとアルドラーゼの異常, 福岡医誌 94:97-102, 2003.

表1 血清CK値

年	男性			女性			Total		
	n	異常数	異常率 (%)	n	異常数	異常率 (%)	n	異常数	異常率 (%)
1995	28	6	21.4	56	12	21.4	84	18	21.4
1996	38	10	26.3	63	12	19.0	101	22	21.8
1997	42	6	14.3	55	4	7.3	97	10	10.3
1998	37	7	18.9	68	7	10.3	105	14	13.3
1999	40	7	17.5	66	3	4.5	106	10	9.4
2000	30	3	10.0	73	9	12.3	103	12	11.7
2001	28	4	14.3	62	11	17.7	90	15	16.7
2002	42	2	4.8	79	7	8.9	121	9	7.4
2003	36	5	13.9	64	4	6.3	100	9	9.0
2004	28	6	21.4	58	7	12.1	86	13	15.1
2005	35	3	8.6	75	2	2.7	110	5	4.5
計	384	59	15.4	719	78	10.8	1103	137	12.4

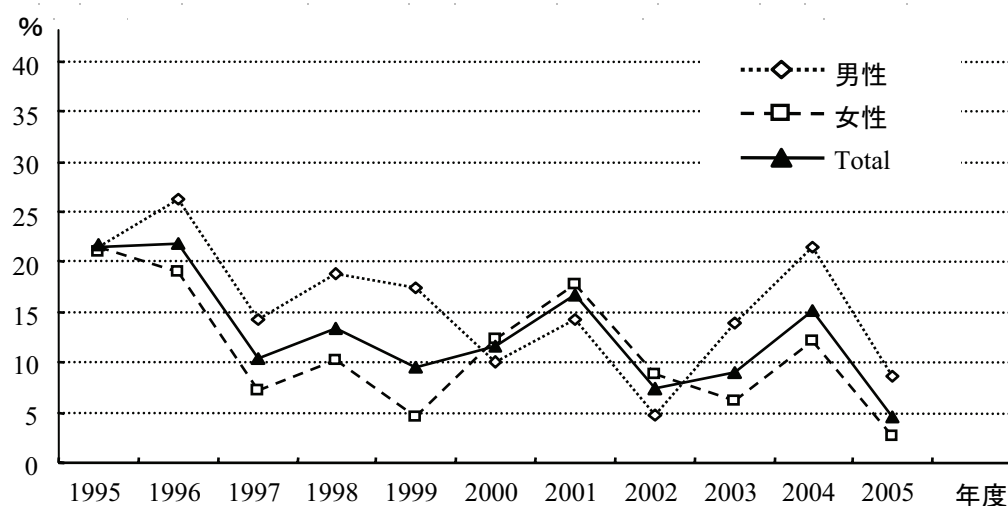


図1 血清CK異常率の推移

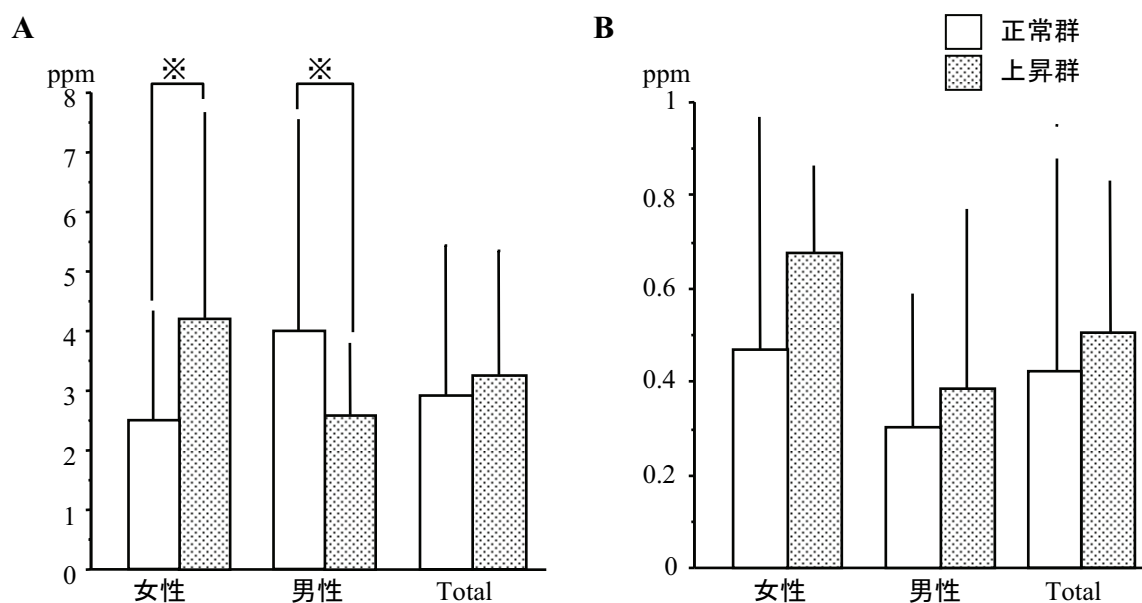


図2 各群の血中PCB・PCQ濃度(血清CK値による分類)

A: 血中PCB濃度, B: 血中PCQ濃度. 平均±標準偏差.
※P<0.05

表2 血清ADL値に基づく分類（6年分）

	n	性別		地区別		
		男性	女性	長崎	玉之浦	奈留
正常群	19名 (26.4%)	14名	5名	10名	7名	2名
一時低下群（低頻度）	20名 (27.8%)	3名	17名	6名	10名	4名
一時低下群（高頻度）	26名 (36.1%)	13名	13名	4名	9名	13名
低下群	7名 (9.7%)	3名	4名	1名	5名	1名
合計	72名 (100.0%)	33名	39名	21名	31名	20名

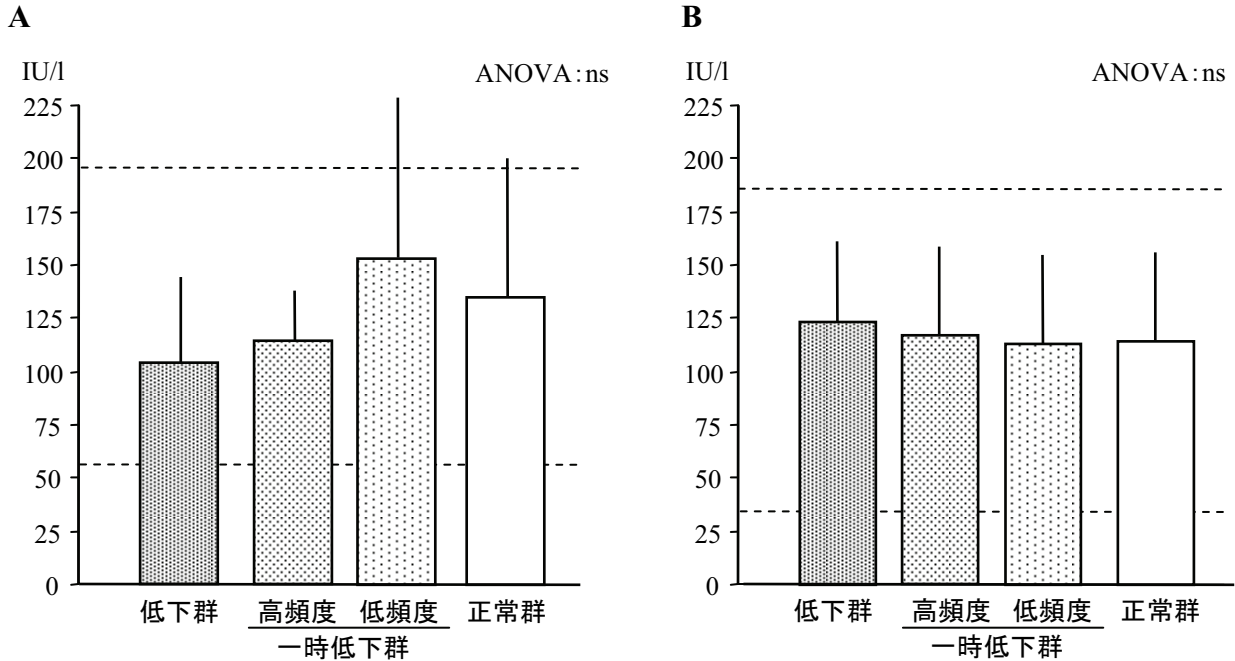


図3 各群の血清CK値(血清ALD値による分類)

A: 男性, B: 女性. 平均±標準偏差. グラフ中にCPK正常範囲を点線で示している.
※: $p < 0.05$

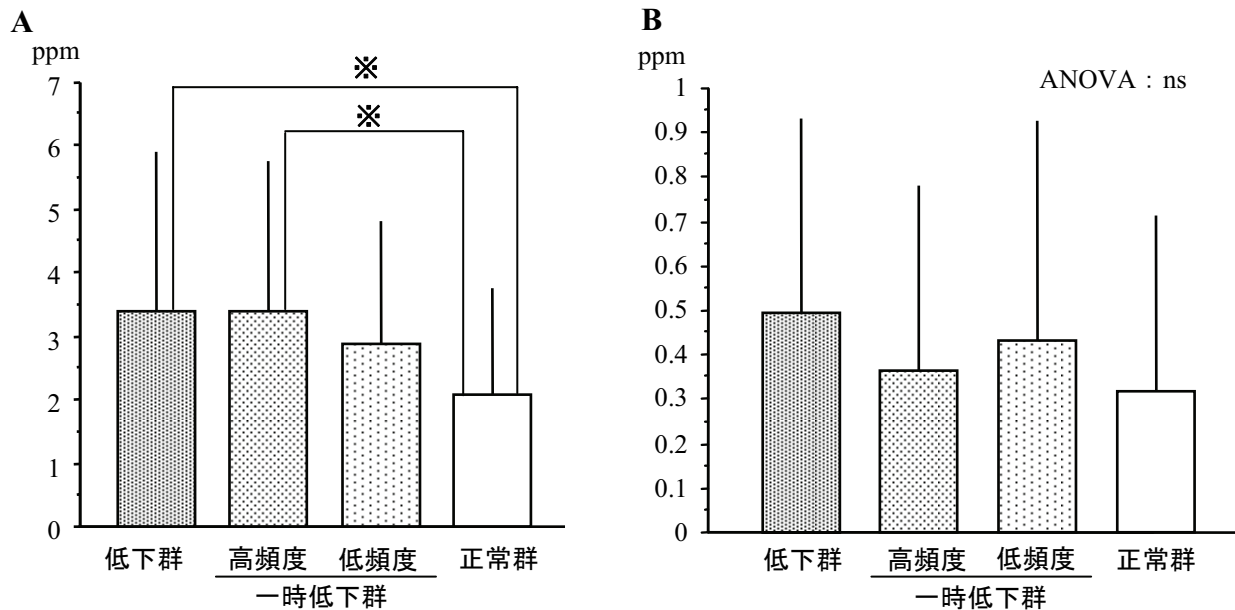


図4 各群の血中PCB・PCQ濃度(血清ALD値による分類)

A: 血中PCB濃度, B: 血中PCQ濃度. 平均±標準偏差. ※: $P < 0.05$

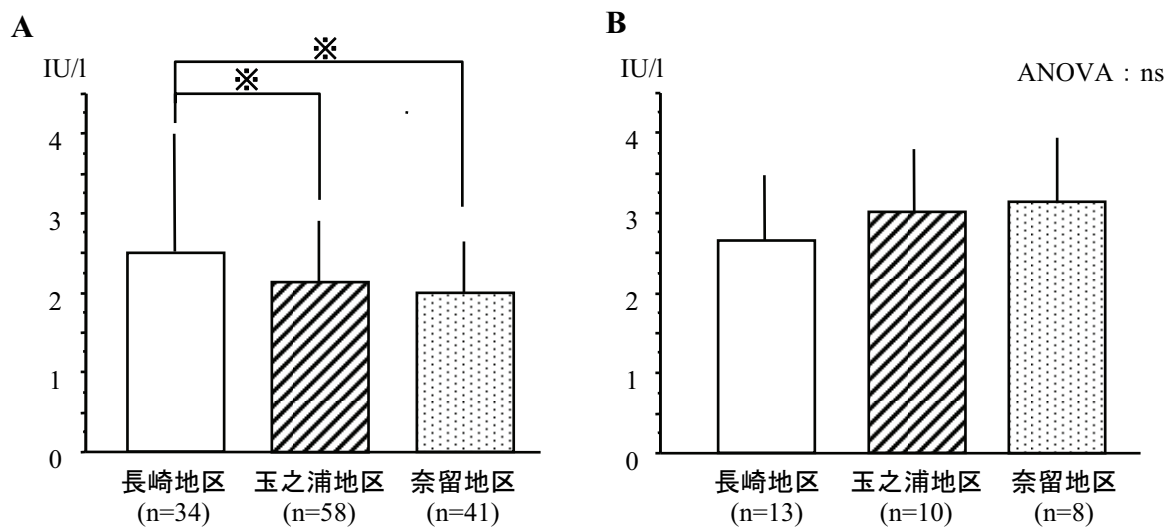


図5 地区別の血清ALD値

A : カネミ油症検診者, B : 健常人. 平均±標準偏差.
※P<0.05

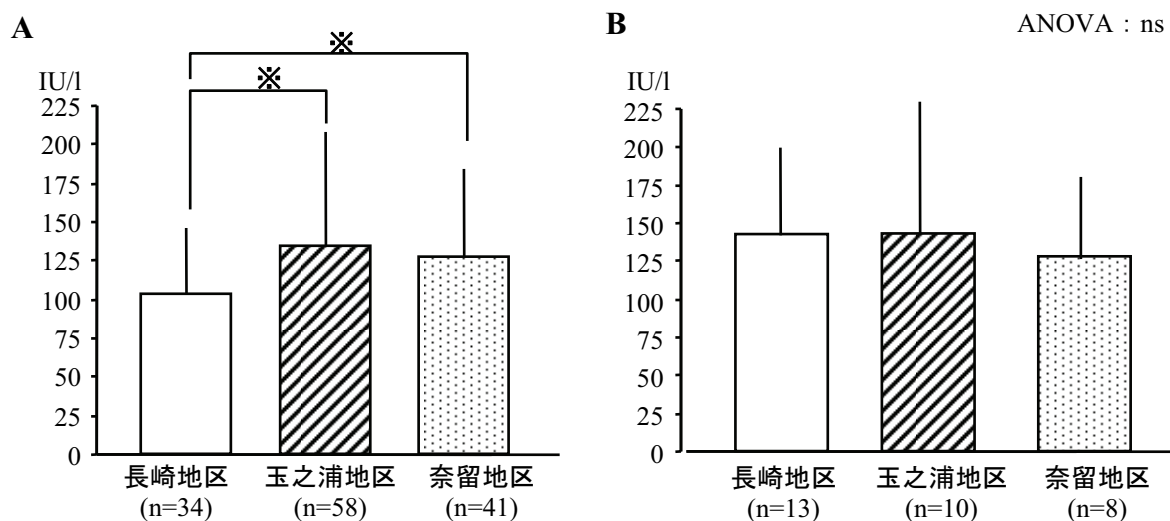


図6 地区別の血清CK値

A : カネミ油症検診者, B : 健常人. 平均±標準偏差.
※P<0.05

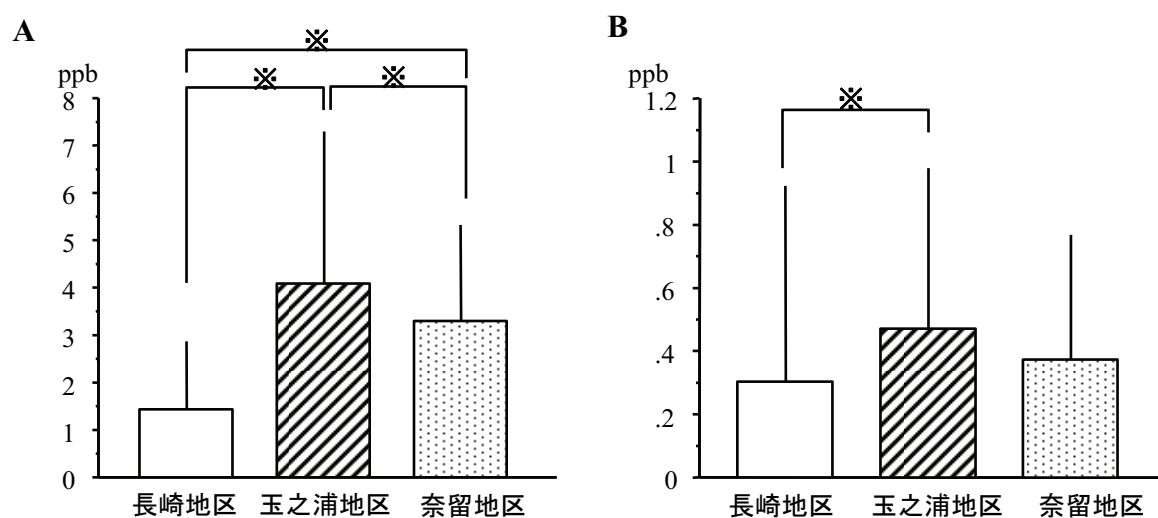
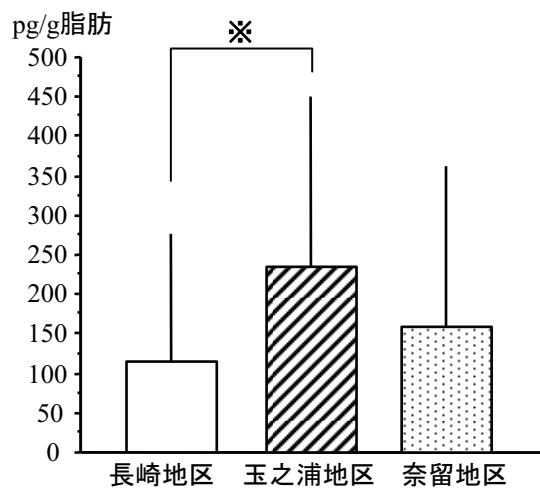


図7 地区別の血中PCB, PCQ濃度

A : 血中PCB濃度, B : 血中PCQ濃度. 平均±標準偏差.
※P<0.05

A



B

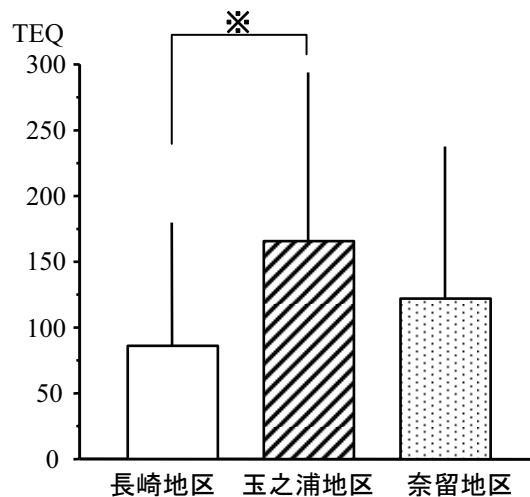


図8 地区別の血中2,3,4,7,8-PeCDF, TEQ

A: 血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度, B: 血中TEQ. 平均±標準偏差.

※ $P < 0.05$

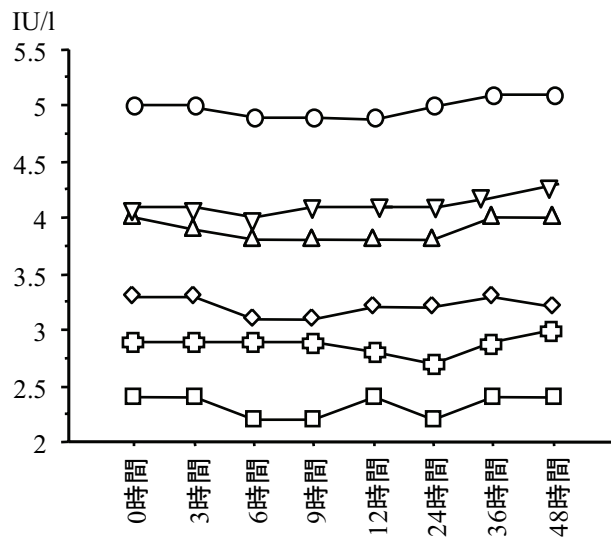


図9 時間経過による血清ALD値の変動

表3 抗GAD抗体の結果

抗GAD抗体陽性者	抗GAD抗体 (U/m)	PCB (IU/l)	PCQ (IU/l)
A	1.5	0	0
B	1.8	3	0.02
※ C	23300	4	<0.01
D	2.1	3	0.18

分担研究報告書

油症認定患者追跡調査

分担研究者	吉村 健清	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	小野塚大介	福岡県保健環境研究所	情報管理課
研究協力者	片岡恭一郎	福岡県保健環境研究所	情報管理課 課長
研究協力者	高尾 佳子	福岡県保健環境研究所	情報管理課

研究要旨：これまでの認定患者数を明らかにするとともに、認定患者の生存状況を調査し、死亡リスクの評価を行うことを目的として油症認定患者追跡調査を実施した。その結果、2006年に新たに油症と認定された14名を含めると、2006年12月末現在における全認定患者は1912名であった。このうち、これまでの調査期間中に生存の確認がとれている者が1374名、死亡の確認がとれている者が475名、生死不明の者が63名であった。なお、生存確認および死因調査はさらに継続中である。

A. 研究目的

認定患者の予後と死因を長期的に追跡調査し、各種疾病による死亡リスクを評価していくことは、人体におけるダイオキシン類の長期健康影響を明らかにする上で非常に重要である。

そこで、①これまでの認定患者数を明らかにすること、②認定患者の生存状況を調査し死亡リスクの評価を行うこと、を目的とする。

B. 研究方法

(1) 認定患者数の確定について

認定患者数の確定にあたっては、①行政情報、②油症検診情報、③相談員情報、④産業医科大学情報、⑤その他の情報、のそれぞれの情報源についてレコードリンケージにより1つに統合するとともに、内容について検証しながら認定患者名簿を作成した。このことから、1968年の油症事件発生当時から2006年5月末現在までに認定された油症患者は1898名であった。

さらに2006年には、各都道府県における

油症患者診定委員会での診定会議の結果、14名が新たに油症患者として認定されたことが行政情報等から得られた。

(2) 認定患者の生死確認について

認定患者1898名のうち、生存の確認がとれていた者については、行政機関、油症相談員、患者関係者等から引き続き情報を聴取し、情報の不整合の修正や追加情報を得ることにより、油症患者に関する生存情報の確認を行った。

2006年12月末現在において生死状況が不明であった53市区町村計134名については、過去の名簿記録をもとに、それぞれの住所地の各市区町村長宛に住民票抄本（除票含む）の交付を依頼した。依頼は公文書により行い、それぞれの市区町村における調査対象者の氏名、生年月日、住所地に関する情報をあわせて送付した。

死亡者の死因については、これまでの調査で死因が不明であった認定患者について、認定患者データベースと厚生労働省人口動態統計死亡テープとの照合による死因の特

定を行う必要があることから、統計法第 15 条第 2 項の規定に基づき、指定統計調査（人口動態統計）の調査票の使用について申請を行った（現在、申請内容についての許可承認を待っているところである）。

（倫理面への配慮）

本研究は、平成 16 年度福岡県保健環境試験研究推進協議会において審査を受け、承認されている（平成 16 年 3 月 31 日、15 企第 10223 号、「ダイオキシン類のヒト健康影響に関する調査研究」）

C. 研究結果および考察

（1）認定患者数の確定について

認定患者数についてまとめた結果、2006 年に新たに油症と認定された 14 名を含めると、2006 年 12 月末現在における全認定患者は 1912 名であった。

（2）認定患者の生死確認について

2006 年 5 月末までの認定患者名簿では、認定患者数は 1898 名であった。このうち同時点までに生存の確認がとれていた者が 1230 名、死亡の確認がとれていた者が 464 名、生死不明の者が 204 名であった。

今年度においては、追跡調査をさらにすすめていくとともに、2006 年 12 月末現在において生死状況が不明であった 53 市区町村計 134 名について住民票抄本（除票含む）の交付を依頼し、すべての市区町村から回答を得ることができた。その結果、住民票を交付された者が 71 名、交付されなかった者が 63 名であった。住民票が交付されなかった 63 名のうち、各市区町村における住民票担当部局より「氏名、生年月日、住所地に該当なし」との回答があった者が 55 名、「5 年経過除票により不明」との回答が

あった者が 8 名であった。

以上のことから、2006 年 12 月末現在までの認定患者名簿における生死確認調査の結果をまとめると、これまでの調査期間中に生存確認がとれている者が 1374 名、死亡の確認がとれている者が 475 名、生死不明の者が 63 名であった。ただし、これらの結果は現在の情報をすべて住民票情報等の公式文書によって確認し得たものではないので、暫定的な数値である。

今回、従来 of 認定患者に加えて、新たに認定された患者も含めた全認定患者について、行政機関から油症研究班に提供された情報、相談員から得られた情報、平成 18 年までの検診情報、住民票抄本（除票含む）による公的情報を追加し、追跡情報を最新のものとした。しかし、生死不明の者のうち、氏名、生年月日、および住所地に該当がない者については、これ以上の情報を各市区町村の担当課から得ることは不可能との回答があり、生存確認が非常に困難であることが示唆された。今後、追跡不能となっている患者に関しては、患者および関係者の協力を得ながら、現在の状況を可能な限り確認していくことが必要になると考えられる。また、追跡不能となる状況をこれ以上避けるため、公的情報をもとにした継続的な追跡調査を今後さらに進めていく必要があると考えられる。

死因の特定に必要な指定統計調査（人口動態統計）の調査票の使用の申請については、現在申請内容の審査中である。今後、使用の許可が下りた場合には、今までに死因の特定がなされていなかった死亡患者について、患者データベースと厚生労働省人口動態統計死亡テープとの照合により死因の特定を行い、主要死因別の死亡リスクの解析を行う予定である。

D. 結論

認定患者数についてまとめた結果、2006年に新たに油症と認定された14名を含めると、2006年12月末現在における全認定患者は1912名であった。このうち、生存の確認がとれている者が1374名、死亡の確認がとれている者が475名、生死不明の者が63名であった。今後、公的情報による生死確認をすすめるとともに、主要死因別の死亡リスクの解析を行う予定である。

E. 参考文献

1) Yoshimura T: Yusho in Japan, Industrial Health 41(3):139-148, 2003.

分担研究報告書

カネミ油症患者の症状とダイオキシンの異性体の関係に関する研究

分担研究者 今村 知明 東京大学医学部附属病院企画情報運営部 助教授

研究協力者 神奈川芳行 東京大学大学院医学系研究科 大学院生

(医学部附属病院企画情報運営部)

研究協力者 松本 伸哉 東京大学医学部附属病院企画情報運営部 客員研究員

研究要旨 2001 年度～2004 年度の油症患者一斉検診を受診し、PeCDF 値を測定した油症患者の、内科検診、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診の 4 年間の集計結果と、ダイオキシン類の異性体との関係の有無を検討した。今回の分析の結果、従来から油症に特徴的といわれている各種の症状間の関連性は確認された。また、幾つかの異性体で、新たに関連性の可能性が見つかった。

A. 目的

PeCDF 等の化学物質の血中濃度と身体
の各症状や検査結果との関連性について
検証する。

B. 研究方法

B.1 対象および検討項目

対象は、2001 年度から 2004 年度までの
油症患者一斉検診を受診し、PeCDF 値を測
定した油症患者の内科検診、血液検査等
検査、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診
における症状の有無を対象データとした。

認定患者／未認定患者の両方を対象と
し、2001、2002、2003、2004 年のデー
タの延べ人数は、501 人。このデータに
対して、各患者に対して平均値などの代
表値を用いることとし、501 人を対象
とした。各患者で 2001 年、2002 年、
2003、2004 年において内科検診、血
液検査等検査、皮膚科検診、歯科検診、
眼科検診の各項目も各年度からの代
表値を適宜求め、化学物質の各異性
体の血中濃度との関連性を分析した。

2001 年	81 人
2002 年	371 人
2003 年	343 人
2004 年	292 人

B.2 分析手法

次の手順により分析を行なった。

(1) 各患者データの代表値算出

(2) 各症状の代表値と化学物質の各
異性体の血中濃度の相関係数を算出し
関連の分析

各患者は、受診年が異なる場合が多い。
このため、より多くの患者データを用
いた分析を実施するため、複数年に亘
る検査結果から代表値を求めること
により、異なった単年度だけで受診
している患者も含めて分析を行なう
ようにした。

B.3 分析条件

油症検診の項目のうち、歯科の部位
に関する項目以外で、400 名以上の結
果が得られている項目と化合物との
相関を調べた。分析を実施した検診
項目数は、以下の通りである。ダイ
オキシンの異性体 21 項目と血液検
査内の PCB 濃度との相関係数を求
めた。

検診分類	項目数
化合物異性体	21+1
検診票	18
皮膚科検診	21
歯科検診	21
眼科検診	5
計	87

B.4 倫理面への配慮

データは、連結可能ではあるが匿名化されたものを原票として用いたが、研究対象者へ倫理的な問題が生じないようデータ分析にあたっては、連結不可能な匿名化データとして処理するなど、倫理上の問題が生じないよう配慮した。

C. 結果

C.1 内科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 1-1）

弱い相関の目安である「0.3」を超える相関係数は現れなかった。「0.2」を超えるものが幾つかの項目でみられた。「334455_PeCB_126」は、「昭和43年以前の既往歴」と「昭和43年以前の既往歴」との相関係数が各々「0.26」「0.24」であった。また、「心音」は、「123789HxCDD」と「1234678_HpCDD」と、各々「0.25」「0.21」という関係がみられた。

C.2 皮膚科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 1-2）

「334455HxCB」と「かつての色素沈着」の相関係数が「0.35」となった。「334455_HxCB_169」は、「黒色面皰」や「ざ瘡様皮疹」とは「0.2」以上を示している。「12378_PeCDD」「123678_HxCDD」「123478_PeCDF」「123478_HxCDF」「123678_HxCDF」が「かつての色素沈着」「黒色面皰」「ざ瘡様皮疹」との相関係数が「0.2」を超えていた。

C.3 眼科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 1-3）

最も大きな相関係数となったのが、「3344_TCB_77」と「瞼板腺膿胞形成」で、「-0.14」となっている。

C.4 歯科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 1-4）

全体的に負の相関係数が多く見られる。最も大きな相関係数が、「33445_PeCB_126」と「上歯肉色素沈着」「下歯肉色素沈着」が各々「-0.25」「-0.28」であった。正の相関係数を示す

ものでは、「OCDF」と「歯肉出血」が「0.18」であった。

C.5 男性内科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 2-1）

「喫煙有無」に対して、「123478HxCDD」と「1234678HxCDF」が各々「-0.30」「-0.32」であった。「昭和43年以前の既往歴有無」と「33445PeCB126」は、「0.30」であった。

C.6 男性皮膚科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 2-2）

「かつての色素沈着」に対して、「33445PeCB126」と「334455HxCB169」が各々「0.30」「0.32」であった。「黒色面皰」に対して、「123478HxCDF」と「123678HxCDF」が各々「0.30」「0.28」であった。

C.7 男性眼科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 2-3）

「0.3」を超える関係はみられなかった。「瞼板腺チーズ様分泌物圧出」に対して、「123678HxCDD」が「0.26」、「123478PeCDF」が「0.21」であった。

C.8 男性歯科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 2-4）

全体的に負の相関係数が多く見られる。「OCDF」に対して、「上口唇粘膜色素沈着」と「下口唇粘膜色素沈着」が各々「0.39」「0.39」であった。

C.9 女性内科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 3-1）

「心音」に対して、「123789HxCDD」が「0.31」であった。また、「1234678HpCDD」と「2378TCDF」に各々「0.22」「0.22」であった。

C.10 女性皮膚科症状と異性体濃度との相関係数の結果について（表 3-2）

「黒色面皰」に対して、「12378PeCDD」「123678HxCDD」「123478PeCDF」「123478HxCDF」「123678HxCDF」「334455HxCB169」が「0.3」以上であった。また、「瘢痕化顔面」と「334455HxCB169」は「0.30」であった。

C.11 女性眼科症状と異性体濃度との相関係数の結果について (表 3-3)

最も大きな相関係数となったのが、「眼瞼結膜色素沈着」と「12378PeCDD」で、「0.20」となった。

C.12 女性歯科症状と異性体濃度との相関係数の結果について (表 3-4)

全体的に負の相関係数が多く見られた。左右の「頬粘膜色素沈着」に対して、「123789HxCDF」と「OCDF」の間で「0.24」～「0.25」の相関係数であった。「33445PeCB126」に対して「上歯肉色素沈着」と「下歯肉色素沈着」が各々「-0.28」「-0.27」であった。

D. 考察

カネミ油症は、事件発症当初は、PCB による食中毒事件とされていたが、その後の研究により、PeCDF などを含む塩素系化合物による複合中毒による事件と考えられるようになった²⁻⁵⁾。

カネミ油症患者は、内科、皮膚科、眼科、歯科的に様々な症状を示すことが知られているが、それらの症状は、事件発生後の時間的経過や、原因物質の体外への排泄などの影響により⁶⁾、改善傾向が認められる症状もあるとされている^{2,3)}。

今回、油症発生後 33 年から 37 年を経過した時点で油症検診を受診した方々について、それぞれ代表値を求め、異性体との相関係数を求め、関連性を分析した。

弱い相関があるという目安の「0.3」を超えているのは、女性のほうに多くみられた。女性の体脂肪率が男性と比べて高く、ダイオキシン類の排泄速度の問題があり、男性では一般人と大差ないレベルに近づいており、強い症状を引き起こす状態ではないことが推察される。

男性では、「かつての色素沈着」に対して「33445PeCB126」と「334455HxBC169」が「0.3」を超えており、弱い相関が見られた。また、「OCDF」に対して、「上口唇粘膜色素沈着」と「下口唇粘膜色素沈着」

が「0.3」を超えていた。「OCDF」は、501 名中 494 名が同一の値を示していた。このため、7 名の方の特殊な例が反映している可能性が高いものと推察された。

女性では、皮膚科の症状で、「0.3」を超える相関が多くみられた。異性体の中で「12378PeCDD」「123678HxCDD」「23478PeCDF」「123478HxCDF」「123678HxCDF」「334455HxCB169」は、皮膚科の症状と相関を持っており、ほぼ似たような相関係数のパターンを示している。この中のどれかが皮膚科の症状の原因物質と推察される。田辺²⁾らは、ライスオイル中の濃度と TEQ (TCDD 毒性等量) を調査している。調査結果の抜粋を表 4 に示す。調査結果によると「23478PeCDF」や「33445PeCB126」は、TEQ はある程度大きいのが、現在の皮膚科の症状とは関係がないことが推察される。

内科の症状では「心音」が「123789HxCDD」との関係が強いことがわかった。何らかの因果関係があるものと推察される。また歯科の症状では、「右頬粘膜色素沈着」「左頬粘膜色素沈着」に対して、「123789HxCDF」「OCDF」の関係が存在した。これらの二つの異性体は、多くの方が同一の値を示しており、何らかの偏りが現れた可能性が強いと思われる。歯科の症状は負の関係が多く見受けられるが、そのなかでも、「33445PeCB126」に対して、「上歯肉色素沈着」「下歯肉色素沈着」が最も大きな負の関係が存在した。これらに対して何らかの因果関係が存在するものと推察される。

田辺らのライスオイル中の PCDD、PCDF、PCB 異性体の濃度および TEQ (TCDD 毒性等量) 濃度の調査によれば、「23478PeCDF」は濃度が高く、TEQ も大きいことが示されている。これに対して、「123478HxCDF」や「123678HxCDF」は、濃度は低く、TEQ も低い。また、他に「334455HxCB169」が「33445PeCB126」よりも関連が強い傾向が見られた。「かつての色素沈着」とは、「0.3」を超えており、「黒色黒色面皰」「ざ

瘡様皮疹」に対して「0.2」を超えており、「33445PeCB126」よりも大きな相関係数となっている。「33445HxCB169」の濃度とTEQは「33445PeCB126」よりも、かなり小さい。

慢性毒性としては、TEQとは違う基準が存在する可能性が示されたものと考えられる。

E. 参考文献

- 1) 油症診断基準（2004年9月29日補遺
- 2) 小栗一太、赤峰昭文、古江増隆編 油症研究30年の歩み. 九州大学出版会
- 3) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T, Kuwabara M: Overview of Yusho. Journal of Dermatological Science Supplement (2005) 1, S3-S10.

4) Kanagawa Y, Imamura T: Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood levels of PCDFs in patients with Yusho. Journal of Dermatological Science Supplement (2005) 1, S85-S93.

- 5) 今村知明、神奈川芳行. 「PCDFs 値を測定したカネミ油症患者(2001年78名、2002年279名)の臨床症状等との相関関係に関する研究」. 厚生労働科学研究平成15年度総括・分担研究報告書.
- 6) 飯田隆雄他、「油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査(2001年)」. 福岡医学雑誌 94 巻 5 号. P126-135 (2003.05)

表1-1 内科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378-T CDD	12378- PeCD D	12347- 8 HxC DD	12367- 8 HxC DD	12378- 9 HxC DD	12346- 78 Hp CDD	OCDD	2378-T CDF	PeCD F	23478- PeCD F	12347- 8 HxC DF	12367- 8 HxC DF	23467- 8 HxC DF	12378- 9 HxC DF	12346- 78 Hp CDF	12347- 89 Hp CDF	OCDF	3445-T CB, 81	3344-T CB, 77	33445- PeCB 126	33445- 5 HxC B, 169	PCB 濃度
飲酒有無	-0.03	-0.10	-0.04	-0.07	-0.04	-0.01	0.00	0.00	0.04	-0.14	-0.14	-0.13	0.04	0.00	-0.03	-0.01	-0.03	0.02	0.00	0.05	-0.04	0.06
喫煙有無	-0.18	-0.19	-0.25	-0.17	-0.17	-0.20	-0.19	-0.18	-0.11	-0.19	-0.16	-0.17	-0.20	-0.01	-0.12	-0.04	-0.03	-0.03	-0.14	-0.20	-0.14	-0.09
主訴の有無	0.10	0.16	0.09	0.02	0.00	0.06	0.02	0.02	0.06	0.11	0.10	0.11	-0.02	0.04	0.04	0.02	0.04	0.01	-0.02	0.11	0.12	0.02
S43年以前既往歴有無	0.13	0.02	0.08	-0.02	0.01	0.03	0.07	0.11	0.12	-0.01	-0.04	-0.02	0.06	0.05	-0.01	-0.03	0.01	0.15	0.14	0.26	0.02	0.06
S43以後既往歴有無	0.17	0.15	0.08	0.06	0.07	0.08	0.07	0.07	0.08	0.11	0.09	0.11	0.02	0.02	-0.03	0.01	0.01	0.08	0.12	0.24	0.16	0.13
全身倦怠感	0.01	0.10	0.06	0.08	0.07	0.06	0.03	0.06	0.04	0.08	0.07	0.06	-0.03	0.04	0.02	0.03	0.04	-0.06	-0.05	-0.02	0.02	-0.03
頭重頭痛	-0.03	0.05	0.01	0.08	0.07	-0.01	-0.05	0.07	0.05	0.09	0.11	0.09	-0.06	0.03	-0.02	0.02	0.01	0.05	-0.01	-0.08	-0.04	-0.05
咳嗽	0.04	0.07	0.10	0.06	0.14	0.04	0.00	0.06	0.06	0.02	0.01	0.00	0.01	0.03	-0.04	-0.02	0.00	0.08	0.04	0.03	-0.05	0.02
喀痰	0.03	0.05	0.05	0.06	0.08	-0.03	-0.06	0.03	0.05	0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.06	0.01	-0.03	0.03	0.05	0.00	0.00	-0.03	-0.01
腹痛	0.00	0.05	0.04	0.09	0.10	0.02	-0.01	0.04	0.03	0.03	0.05	0.03	-0.05	0.03	0.00	-0.01	0.01	-0.04	-0.09	-0.10	-0.08	-0.06
下痢	-0.12	-0.14	0.00	-0.07	0.00	0.00	-0.06	-0.05	-0.06	-0.11	-0.09	-0.12	-0.04	-0.03	-0.04	-0.01	-0.03	-0.04	-0.13	-0.15	-0.21	-0.16
便秘	0.07	0.12	0.04	0.09	0.13	0.01	-0.02	0.03	0.05	0.11	0.09	0.09	0.09	0.01	0.05	0.10	0.03	-0.03	0.01	0.02	0.04	0.01
四肢しびれ感	0.08	0.14	0.06	0.10	0.07	0.02	0.02	0.11	0.09	0.11	0.13	0.13	-0.06	-0.02	-0.02	-0.05	-0.01	0.04	-0.03	0.05	0.06	0.02
関節痛	0.14	0.21	0.12	0.15	0.14	0.07	0.03	0.04	0.08	0.18	0.16	0.15	0.00	0.01	0.05	0.09	0.07	0.04	0.03	0.10	0.11	0.08
栄養	0.05	0.08	0.07	0.05	0.11	0.02	-0.01	0.11	0.09	0.07	0.09	0.09	-0.01	-0.03	-0.01	-0.02	-0.01	0.02	0.01	0.01	-0.07	-0.07
心音	0.11	0.16	0.13	0.07	0.25	0.21	0.13	0.14	0.04	0.07	0.04	0.05	0.00	-0.01	-0.03	-0.01	-0.02	-0.01	0.10	0.05	0.06	0.07
呼吸音	0.05	0.03	0.03	-0.06	-0.04	-0.05	-0.06	0.04	0.10	-0.06	-0.05	-0.04	0.02	-0.01	0.03	-0.01	-0.01	-0.01	-0.02	0.01	0.00	-0.01
肝腫	0.02	0.00	0.07	0.03	0.06	0.06	0.14	0.01	0.02	0.01	0.00	0.00	0.04	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	-0.02	0.01	-0.01	-0.02	0.02

表1-2 皮膚科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378-T CDD	12378- PeCD D	12347- 8 HxC DD	12367- 8 HxC DD	12378- 9 HxC DD	12346- 78 Hp CDD	OCDD	2378-T CDF	PeCD F	23478- PeCD F	12347- 8 HxC DF	12367- 8 HxC DF	23467- 8 HxC DF	12378- 9 HxC DF	12346- 78 Hp CDF	12347- 89 Hp CDF	OCDF	3445-T CB, 81	3344-T CB, 77	33445- PeCB 126	33445- 5 HxC B, 169	PCB 濃度
最近の化膿傾向	-0.09	0.03	-0.10	0.09	-0.08	-0.07	-0.13	0.01	0.00	0.07	0.11	0.11	-0.10	0.14	-0.03	0.02	0.08	0.01	-0.11	0.12	0.11	-0.01
最近の粉りゅう再発傾向	-0.06	0.07	-0.12	0.15	-0.04	-0.07	-0.08	0.06	0.02	0.11	0.15	0.16	-0.09	0.01	0.02	0.00	-0.01	-0.06	-0.08	-0.11	0.14	0.08
かっつてのざ瘡様皮疹	0.13	0.18	0.06	0.07	-0.05	0.08	0.05	0.02	0.09	0.15	0.16	0.17	0.04	0.07	-0.06	0.01	0.08	0.06	0.07	0.20	0.27	0.13
かっつての色素沈着	0.10	0.21	-0.02	0.08	-0.08	0.00	0.00	0.04	0.09	0.20	0.19	0.21	-0.05	0.07	-0.06	-0.04	0.02	0.10	0.06	0.22	0.35	0.12
黒色面皰顔面	-0.01	0.12	-0.13	0.11	-0.06	-0.10	-0.08	0.07	0.08	0.12	0.15	0.15	-0.07	0.05	-0.03	-0.04	-0.01	0.05	0.03	0.02	0.28	0.18
黒色面皰耳介	-0.02	0.10	-0.10	0.12	-0.05	-0.10	-0.09	0.03	0.04	0.09	0.14	0.14	-0.06	0.02	0.00	-0.01	-0.01	-0.04	0.00	-0.06	0.16	0.08
黒色面皰躯幹	0.01	0.17	-0.10	0.26	-0.04	-0.08	-0.08	0.02	0.05	0.22	0.26	0.28	-0.07	-0.01	0.01	0.05	0.00	0.01	-0.03	-0.02	0.28	0.11
黒色面皰その他	0.02	0.21	-0.07	0.28	0.02	-0.06	-0.04	0.07	0.02	0.23	0.26	0.26	-0.08	0.02	0.04	0.02	-0.01	-0.05	-0.07	-0.05	0.26	0.13
ざ瘡様皮疹顔面	-0.05	-0.03	-0.16	0.03	-0.08	-0.09	-0.07	-0.04	-0.02	0.03	0.09	0.08	-0.08	0.03	-0.01	-0.01	0.02	-0.06	-0.09	-0.14	0.07	-0.10
ざ瘡様皮疹外陰部	-0.04	0.13	-0.08	0.21	-0.02	-0.06	-0.08	0.02	0.04	0.19	0.26	0.25	-0.06	0.00	0.05	0.01	-0.01	-0.05	-0.09	-0.10	0.22	0.01
ざ瘡様皮疹臀部	-0.09	-0.02	-0.11	0.07	-0.07	-0.07	-0.09	-0.04	-0.01	0.04	0.11	0.10	-0.06	0.00	0.02	0.03	-0.01	-0.03	-0.12	-0.11	0.09	-0.05
ざ瘡様皮疹膝部	-0.09	-0.01	-0.10	0.06	-0.07	-0.06	-0.08	-0.06	-0.02	0.04	0.10	0.11	-0.02	-0.02	-0.01	0.00	-0.01	-0.04	-0.08	-0.09	0.05	-0.06
ざ瘡様皮疹その他	-0.06	0.02	-0.07	0.05	-0.04	-0.08	-0.07	-0.02	-0.04	0.04	0.06	0.07	-0.03	-0.01	0.01	-0.01	-0.02	-0.03	-0.03	-0.07	0.06	-0.04
癬癩化顔面	-0.08	0.04	-0.13	0.08	-0.11	-0.09	-0.09	0.03	0.00	0.09	0.14	0.14	-0.05	-0.01	-0.03	-0.02	-0.01	-0.03	-0.06	-0.05	0.18	0.04
癬癩化躯幹	-0.05	0.01	-0.10	0.04	-0.11	-0.09	-0.08	-0.01	0.02	0.03	0.08	0.09	-0.04	-0.02	-0.01	0.01	0.00	0.06	-0.03	0.01	0.16	0.00
癬癩化その他	-0.08	-0.05	-0.07	0.05	0.01	-0.01	-0.02	0.03	-0.05	0.00	0.02	0.03	-0.10	0.00	0.00	-0.02	-0.03	-0.01	-0.05	-0.09	0.02	0.00
色素沈着顔面	-0.07	-0.02	-0.11	0.01	-0.02	-0.09	-0.08	0.01	-0.02	0.02	0.02	0.02	-0.09	0.03	-0.05	-0.02	0.01	-0.03	-0.08	-0.09	0.04	-0.03
色素沈着指爪	-0.07	0.01	-0.06	-0.01	0.02	-0.04	-0.03	-0.03	-0.04	-0.01	-0.01	0.00	-0.04	0.01	-0.02	-0.01	0.00	-0.01	-0.10	-0.04	0.03	-0.06
色素沈着趾爪	0.01	0.08	-0.02	0.08	0.00	-0.01	0.03	-0.01	-0.05	0.08	0.08	0.08	0.04	0.06	0.09	-0.02	0.04	-0.03	-0.03	-0.01	0.11	-0.02
色素沈着その他	-0.01	0.08	-0.03	0.10	0.03	-0.07	-0.03	-0.03	-0.01	0.08	0.11	0.12	-0.04	0.00	-0.01	-0.02	-0.02	-0.02	-0.04	-0.04	-0.02	-0.04
爪変形	0.07	0.12	-0.02	0.11	0.03	-0.03	0.02	-0.01	0.00	0.14	0.15	0.16	0.00	0.07	0.06	-0.02	0.01	-0.01	-0.02	0.10	0.15	0.08

表 1－3 眼科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378.T CDD	12378. PeCDD D	12347. HxCDD D	12367. HxCDD D	12378. HxCDD D	12346. HxCDD D	OCDD	2378.T CDF	PeCDF F	23478. PeCDF F	12347. HxCDF F	12367. HxCDF F	23467. HxCDF F	12378. HxCDF F	12346. HxCDF F	12347. HxCDF F	OCDF	3445.T CB.81	3444.T CB.77	33445. PeCB.1 26	33445. HxCB. 169	PCB濃 度
眼瞼過多	0.05	0.06	-0.02	0.00	-0.08	-0.06	-0.05	0.01	0.08	0.05	0.06	0.09	-0.02	0.00	0.00	-0.04	-0.03	-0.01	0.03	0.05	0.09	0.03
眼瞼浮腫	0.04	0.07	0.01	0.05	-0.01	-0.03	-0.02	0.08	0.01	0.03	0.04	0.05	0.01	-0.03	-0.02	0.01	-0.03	0.08	-0.02	0.08	0.06	0.10
眼瞼結膜色素沈着	0.08	0.11	0.03	0.09	0.06	0.01	-0.03	-0.01	-0.02	0.07	0.06	0.06	-0.07	-0.01	-0.01	-0.02	0.01	-0.02	-0.10	-0.03	0.08	0.05
瞼板腺囊胞形成	0.00	0.05	-0.08	0.07	-0.04	-0.10	-0.07	0.03	0.06	0.03	0.08	0.08	-0.04	0.02	0.00	-0.03	0.05	-0.03	-0.14	-0.04	0.07	0.05
瞼板腺テース様分泌物圧出	-0.04	0.00	-0.02	0.08	0.06	-0.01	0.03	0.12	0.05	0.03	0.02	0.02	-0.05	-0.02	0.01	-0.01	-0.03	-0.04	-0.03	-0.04	-0.01	0.04

表 1－4 歯科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378.T CDD	12378. PeCDD D	12347. HxCDD D	12367. HxCDD D	12378. HxCDD D	12346. HxCDD D	OCDD	2378.T CDF	PeCDF F	23478. PeCDF F	12347. HxCDF F	12367. HxCDF F	23467. HxCDF F	12378. HxCDF F	12346. HxCDF F	12347. HxCDF F	OCDF	3445.T CB.81	3444.T CB.77	33445. PeCB.1 26	33445. HxCB. 169	PCB濃 度
主訴有無	-0.01	0.01	0.02	0.04	0.01	0.00	0.00	0.07	0.01	0.04	0.02	0.01	-0.06	0.07	-0.04	-0.04	0.13	0.03	0.10	-0.01	-0.04	-0.02
主訴1 歯痛	-0.07	-0.05	0.00	0.03	0.02	0.01	-0.03	-0.02	-0.05	-0.01	-0.01	-0.02	-0.04	-0.03	-0.01	-0.03	-0.02	0.03	-0.02	0.03	-0.05	-0.06
主訴2 歯肉出血	0.00	0.00	0.01	-0.01	-0.01	0.02	0.01	0.01	0.04	-0.01	0.00	-0.01	0.03	0.01	0.00	-0.02	0.18	-0.03	-0.02	-0.01	-0.04	-0.06
主訴3 口臭	0.03	-0.03	0.04	-0.03	0.03	0.04	0.06	0.00	-0.02	0.05	0.05	-0.05	-0.01	-0.01	-0.03	-0.01	-0.01	-0.02	0.00	0.01	-0.07	-0.03
主訴4 歯肉腫脹	-0.07	-0.09	-0.07	-0.05	-0.07	-0.05	-0.06	-0.07	-0.03	-0.06	-0.07	-0.08	-0.02	-0.02	0.04	0.01	-0.02	-0.03	-0.04	-0.07	-0.06	-0.05
主訴5 歯牙根出露	-0.05	0.02	0.00	0.03	-0.03	-0.03	-0.06	-0.02	-0.02	0.04	0.04	0.03	-0.05	-0.01	-0.03	-0.01	0.01	-0.03	-0.07	-0.04	0.02	0.00
主訴6 色素沈着	-0.06	-0.07	-0.07	-0.04	-0.04	-0.06	-0.06	-0.04	-0.03	-0.05	-0.04	-0.05	-0.03	-0.01	-0.03	-0.01	-0.01	-0.01	-0.03	-0.09	-0.07	-0.06
主訴7 その他	0.07	0.09	0.05	0.07	0.06	0.03	0.05	0.16	0.09	0.09	0.06	0.06	-0.03	0.12	-0.04	-0.02	0.12	0.10	0.19	0.07	0.03	0.02
歯肉炎	0.00	-0.07	-0.09	-0.10	-0.07	-0.05	-0.03	-0.06	-0.02	-0.06	-0.07	-0.06	-0.02	-0.02	-0.01	0.12	-0.04	0.02	0.11	0.12	-0.03	-0.03
辺縁性歯周炎	-0.04	-0.03	-0.05	0.04	-0.04	-0.05	-0.02	0.02	-0.06	-0.01	-0.02	0.00	-0.02	-0.04	0.00	-0.03	-0.05	-0.06	0.06	0.01	-0.01	0.00
歯牙萌出異常	-0.02	-0.01	0.01	0.01	0.01	-0.01	-0.02	-0.03	-0.02	-0.02	-0.02	0.06	-0.01	0.04	0.00	-0.01	-0.01	-0.06	-0.05	-0.03	0.00	0.00
歯牙着色	-0.06	-0.07	-0.02	-0.03	-0.01	-0.05	-0.04	-0.01	0.01	-0.05	-0.06	-0.06	-0.04	-0.01	-0.02	-0.01	0.05	0.06	0.00	-0.01	-0.06	-0.03
咬合異常	-0.10	-0.16	-0.10	-0.11	-0.08	-0.07	-0.07	-0.07	-0.05	-0.10	-0.09	-0.10	-0.07	-0.01	-0.01	-0.02	-0.02	-0.04	-0.08	-0.13	-0.14	-0.16
その他	0.12	0.10	0.07	0.08	0.06	0.01	0.02	0.00	0.06	0.01	0.11	0.10	0.00	-0.02	0.08	0.00	-0.01	-0.04	-0.03	0.02	0.02	0.01
上歯肉色素沈着	-0.20	-0.16	-0.13	-0.09	-0.08	-0.08	-0.17	-0.11	-0.03	-0.11	-0.07	-0.10	-0.10	-0.02	0.01	-0.04	-0.01	-0.06	-0.15	-0.25	-0.19	-0.16
下歯肉色素沈着	-0.21	-0.16	-0.11	-0.08	-0.08	-0.05	-0.17	-0.11	-0.09	-0.11	-0.08	-0.11	-0.14	-0.02	-0.02	-0.04	0.02	-0.06	-0.16	-0.28	-0.19	-0.18
右頬粘膜色素沈着	0.02	0.04	-0.02	0.04	-0.02	-0.09	0.05	0.05	0.01	0.02	0.04	0.06	-0.07	0.13	-0.01	-0.02	0.10	-0.03	-0.08	-0.06	0.04	0.10
左頬粘膜色素沈着	0.07	0.06	0.00	0.03	-0.01	-0.07	-0.04	0.09	0.05	0.02	0.04	0.04	-0.07	0.12	-0.03	-0.02	0.10	0.07	0.02	0.04	0.06	0.12
口蓋粘膜色素沈着	0.04	0.12	-0.03	0.10	0.05	-0.07	0.02	0.10	-0.03	0.07	0.04	0.05	0.01	-0.01	-0.01	-0.02	-0.03	-0.01	-0.06	0.03	0.09	0.00
上口唇粘膜色素沈着	-0.02	-0.05	-0.02	-0.01	0.03	-0.05	-0.02	0.00	-0.03	-0.04	-0.04	-0.04	-0.02	-0.01	-0.03	-0.01	0.14	-0.01	-0.01	-0.05	-0.07	-0.03
下口唇粘膜色素沈着	0.06	0.00	0.00	-0.02	0.03	-0.02	0.00	0.04	0.03	-0.04	-0.03	-0.03	-0.01	-0.02	0.02	-0.02	0.15	0.00	0.06	0.06	-0.05	0.01

表 2－1 男性内科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378.T CDD	12378. PeCDD D	12347. HxCDD D	12367. HxCDD D	12378. HxCDD D	12346. HxCDD D	OCDD	2378.T CDF	PeCDF F	23478. PeCDF F	12347. HxCDF F	12367. HxCDF F	23467. HxCDF F	12378. HxCDF F	12346. HxCDF F	12347. HxCDF F	OCDF	3445.T CB.81	3444.T CB.77	33445. PeCB.1 26	33445. HxCB. 169	PCB濃 度
飲酒有無	0.12	0.10	0.05	0.07	0.09	0.11	0.16	0.10	0.13	-0.01	-0.02	-0.01	0.11	0.01	0.09	0.02	-0.06	0.02	0.01	0.13	0.07	0.13
喫煙有無	-0.20	-0.19	-0.30	-0.18	-0.24	-0.22	-0.18	-0.20	-0.15	-0.16	-0.12	-0.15	-0.32	0.05	-0.13	-0.12	-0.06	-0.04	-0.19	-0.26	-0.11	-0.11
主訴の有無	0.15	0.14	0.12	-0.10	0.06	0.13	0.05	-0.01	0.05	0.09	0.09	0.11	-0.01	-0.03	-0.07	-0.03	0.02	0.02	0.00	0.17	0.17	0.05
S43年以前既往歴有無	0.22	0.12	0.08	0.00	0.04	0.00	0.03	0.27	0.27	0.05	0.01	0.05	0.14	-0.02	0.01	-0.03	-0.07	0.29	0.20	0.30	0.10	0.05
S43以後既往歴有無	0.22	0.18	0.11	0.04	0.10	0.10	0.07	0.17	0.12	0.14	0.12	0.15	0.05	-0.06	-0.07	-0.04	0.06	0.10	0.16	0.27	0.23	0.07
全身倦怠感	0.00	0.06	0.08	0.08	0.07	0.10	0.07	0.00	0.03	0.07	0.08	0.07	0.01	-0.04	0.05	0.10	0.04	-0.08	-0.07	-0.03	0.00	-0.05
頭暈頭痛	-0.09	-0.08	0.06	0.05	0.08	0.01	-0.02	0.07	0.05	0.04	0.04	0.02	-0.03	-0.01	-0.07	0.02	0.04	0.09	0.04	-0.08	-0.11	-0.05
咳嗽	-0.04	0.04	0.10	0.15	0.09	0.00	-0.04	0.08	0.10	0.10	0.12	0.11	0.09	0.01	0.08	0.09	-0.05	0.05	-0.05	-0.06	-0.02	-0.02
喀痰	-0.03	0.05	0.07	0.10	0.06	-0.05	-0.09	0.03	0.09	0.10	0.10	0.08	0.02	-0.01	0.04	0.03	-0.06	0.03	-0.06	-0.04	-0.02	-0.02
腹痛	-0.02	0.01	0.05	0.12	0.11	-0.02	-0.02	0.05	0.02	0.05	0.04	0.01	0.03	0.04	0.11	0.00	-0.02	-0.06	-0.09	-0.10	-0.02	0.00
下痢	-0.14	-0.12	0.02	0.03	-0.03	-0.03	-0.07	-0.01	-0.08	0.03	0.05	0.02	0.03	0.06	-0.01	0.11	-0.01	-0.05	-0.14	-0.13	-0.14	-0.13
便秘	0.06	0.09	0.04	0.14	0.12	-0.02	-0.04	0.06	0.04	0.13	0.12	0.11	0.02	-0.07	-0.01	-0.02	-0.08	-0.03	0.03	0.01	0.03	0.02
四肢しびれ感	0.05	0.11	0.00	0.11	0.03	-0.02	-0.01	0.17	0.13	0.13	0.14	0.13	-0.02	-0.03	0.00	0.03	0.03	0.04	0.00	0.02	0.07	-0.01
関節痛	0.13	0.15	0.05	0.08	0.05	0.02	-0.02	0.07	0.10	0.14	0.12	0.10	-0.04	-0.06	-0.06	0.04	0.07	0.07	0.01	0.12	0.15	0.09
栄養	0.03	-0.06	0.06	-0.04	0.10	0.06	-0.02	0.02	0.05	-0.11	-0.06	-0.06	0.02	-0.04	0.01	0.05	-0.05	-0.05	-0.02	-0.02	-0.16	-0.11
心音	0.03	0.07	0.16	-0.04	0.08	0.17	0.04	-0.05	-0.02	-0.01	-0.02	-0.03	0.01	-0.01	-0.07	-0.02	-0.02	0.02	0.05	0.02	-0.05	-0.07
呼吸音	0.15	0.18	0.10	-0.03	-0.01	-0.03	-0.05	0.13	0.20	-0.02	-0.01	0.03	0.04	-0.02	0.10	-0.02	-0.03	-0.02	-0.03	0.03	0.05	0.00
肝臓	0.05	0.18	0.17	0.26	0.17	0.06	0.14	0.20	0.19	0.26	0.21	0.20	0.08	-0.02	0.07	-0.02	-0.02	-0.02	0.03	0.03	0.08	0.07

表 2－2 男性皮膚科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378.T CDD	12378. PeCDD	12347H xCDD	12367H xCDD	12378H xCDD	12346H xCDD	OCDD	2378.T CDF	PeCDF	23478. PeCDF	12347H xCDF	12367H xCDF	23467H xCDF	12378H xCDF	12346H xCDF	12347H xCDF	OCDF	3445.T CB.81	3344.T CB.77	33445. PeCB.1 26	33445H PeCB.1 69	PCB濃 度
最近の化膿傾向	-0.04	0.03	-0.02	0.03	-0.11	-0.01	-0.07	0.02	0.00	0.06	0.14	0.12	-0.06	0.12	-0.06	0.03	-0.01	0.05	-0.12	-0.08	0.11	-0.02
最近の粉じゅう再発傾向	0.01	0.04	-0.04	0.12	0.00	0.04	0.06	0.06	0.00	0.04	0.13	0.12	-0.06	0.06	0.02	-0.01	0.04	-0.05	-0.04	-0.09	0.10	0.04
かっつてのさ瘡様皮疹	0.18	0.19	0.13	-0.06	-0.09	0.11	0.03	0.03	0.06	0.07	0.11	0.13	0.09	0.03	-0.11	0.02	0.08	0.10	0.10	0.24	0.27	0.09
かっつての色素沈着	0.12	0.14	-0.02	-0.16	-0.17	0.04	-0.02	0.05	0.10	0.04	0.06	0.08	-0.09	-0.07	-0.16	-0.04	-0.04	0.17	0.07	0.30	0.32	0.04
黒色面皰腫	0.01	0.12	-0.14	0.03	-0.08	-0.09	0.06	0.08	0.08	0.19	0.19	-0.09	0.14	-0.07	-0.06	-0.07	0.07	0.01	0.02	0.28	0.12	0.02
黒色面皰腫耳介	0.00	0.08	-0.12	0.07	-0.05	-0.13	-0.10	0.03	0.00	0.08	0.16	0.16	0.08	0.08	0.03	-0.03	-0.07	0.06	-0.06	0.00	-0.09	0.12
黒色面皰腫頸部	0.09	0.12	-0.03	0.16	-0.01	-0.04	-0.04	0.06	0.04	0.20	0.20	0.29	-0.09	0.08	-0.04	0.06	0.05	0.04	0.01	0.02	0.25	0.08
黒色面皰腫その他	0.03	-0.03	-0.11	0.10	-0.03	-0.09	-0.06	0.04	-0.04	0.03	0.12	0.12	-0.10	0.01	0.02	0.03	-0.01	-0.04	-0.07	-0.06	0.11	0.05
ざ瘡様皮疹面皰腫	-0.08	-0.11	-0.19	-0.05	-0.18	-0.13	-0.15	-0.06	-0.08	-0.01	0.07	0.05	-0.12	-0.04	-0.07	-0.02	-0.02	-0.05	-0.08	-0.17	0.04	-0.14
ざ瘡様皮疹外耳部	-0.06	-0.05	-0.12	0.03	-0.10	-0.09	-0.08	-0.03	-0.04	0.03	0.16	0.15	-0.07	0.11	-0.02	0.03	0.01	-0.04	-0.07	0.09	0.09	-0.07
ざ瘡様皮疹背部	-0.09	-0.09	-0.09	-0.01	-0.10	-0.06	-0.09	-0.04	-0.06	-0.02	0.08	-0.02	-0.07	0.07	0.09	-0.01	0.03	0.00	-0.02	-0.10	-0.12	0.01
ざ瘡様皮疹足背	-0.08	-0.12	-0.07	-0.09	-0.12	0.01	-0.01	-0.08	-0.08	-0.09	-0.02	-0.02	-0.01	-0.01	-0.01	-0.02	0.01	-0.04	-0.07	-0.10	-0.06	-0.11
ざ瘡様皮疹その他	0.00	-0.02	-0.06	-0.02	-0.06	-0.07	-0.05	-0.02	-0.04	-0.03	0.05	0.06	-0.05	-0.01	0.00	-0.02	-0.02	-0.03	-0.01	-0.05	0.04	-0.04
膿痂状面皰腫	-0.06	-0.02	-0.13	-0.05	-0.14	-0.08	-0.10	-0.00	-0.05	-0.01	0.09	0.09	-0.08	0.10	-0.06	-0.04	0.03	-0.03	-0.06	-0.06	0.10	-0.04
膿痂状発疹	0.03	0.00	-0.04	0.04	0.09	-0.02	-0.04	0.03	-0.03	0.06	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.04	0.00	0.08	-0.01	-0.02	0.05	0.14	-0.04
色素沈着面皰腫	-0.01	0.01	0.04	0.14	0.00	0.08	0.06	0.05	0.04	0.11	-0.10	-0.10	-0.02	0.00	0.04	0.04	0.00	-0.02	-0.01	0.00	0.00	0.00
色素沈着面皰腫	-0.07	-0.04	-0.13	-0.02	-0.10	-0.10	-0.09	-0.01	-0.06	0.00	0.04	0.02	-0.10	0.02	-0.05	-0.03	-0.04	-0.02	-0.08	-0.09	0.07	0.01
色素沈着指爪	-0.05	-0.02	-0.04	-0.03	-0.03	-0.06	-0.06	-0.07	-0.06	-0.07	-0.03	-0.03	-0.06	0.01	0.02	-0.02	-0.04	0.02	-0.10	-0.06	0.02	-0.05
色素沈着趾爪	-0.02	-0.03	-0.10	-0.06	-0.06	-0.05	-0.06	-0.05	-0.04	-0.06	-0.06	-0.05	-0.04	0.01	0.00	-0.02	-0.02	0.04	-0.09	0.00	0.05	-0.03
色素沈着その他	-0.09	-0.06	-0.12	-0.07	-0.09	-0.11	-0.07	-0.04	-0.04	-0.04	-0.01	-0.02	-0.07	0.08	0.00	-0.02	-0.02	0.00	-0.03	-0.04	-0.07	-0.02
爪変形	0.02	0.09	-0.02	0.09	0.05	0.00	0.05	-0.05	-0.04	0.07	0.09	0.11	-0.07	0.12	-0.06	-0.03	-0.05	0.05	-0.09	0.07	0.14	0.01

表2-4 男性歯科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378.T CDD	12378. PeCDD	12347. 8-HxC DD	12367. 8-HxC DD	12378. 9-HxC DD	12346. 78-Hp CDD	OCDD	2378.T CDF	PeCDF	23478. PeCDF	12347. 8-HxC DF	12367. 8-HxC DF	12346. 78-Hp DF	12378. 9-HxC DF	12346. 78-Hp CDF	12347. 89-Hp CDF	OCDF	3445.T CB.81	3444.T CB.77	34445. PeCB.126	34445. 5-HxC B.169	PCB濃 度
主訴有無	-0.03	0.03	0.04	0.14	0.04	0.06	0.05	0.11	0.03	0.14	0.11	0.08	-0.04	-0.02	-0.06	-0.03	0.12	0.01	0.15	0.03	0.01	0.01
主訴1 歯痛	0.05	0.11	0.13	0.21	0.20	0.14	0.11	0.08	0.02	0.16	0.17	0.17	0.01	-0.03	0.01	0.00	-0.03	-0.01	0.12	0.02	0.03	0.06
主訴2 歯肉出血	-0.06	-0.03	-0.02	-0.03	-0.06	0.06	0.03	-0.04	0.02	-0.05	-0.01	-0.03	0.00	0.06	0.01	-0.03	0.26	-0.04	-0.07	-0.02	-0.05	-0.08
主訴3 歯揺	0.06	0.04	0.05	0.02	0.04	0.10	0.16	0.00	-0.02	-0.03	-0.03	-0.03	0.01	-0.01	0.01	-0.01	-0.01	-0.02	0.00	0.03	-0.01	-0.02
主訴4 歯肉腫痛	-0.06	-0.03	-0.03	0.03	-0.03	0.02	0.00	-0.04	-0.01	0.00	-0.04	-0.05	-0.03	-0.02	-0.06	0.02	-0.01	-0.03	0.04	-0.06	0.02	-0.05
主訴5 歯牙揺動感	-0.06	0.04	-0.07	0.01	-0.09	-0.05	-0.10	-0.06	-0.02	0.06	0.09	0.08	-0.07	-0.02	-0.06	-0.02	0.08	-0.03	-0.09	-0.03	0.10	0.02
主訴6 歯痛	-0.05	-0.12	-0.06	-0.07	-0.07	-0.07	-0.09	-0.04	-0.02	-0.04	-0.03	-0.05	-0.03	-0.01	-0.04	-0.01	-0.01	-0.01	-0.06	-0.07	-0.08	-0.06
主訴7 その他	0.00	-0.01	0.01	0.05	-0.02	-0.04	-0.04	0.16	0.06	0.12	0.05	0.04	-0.02	-0.04	-0.05	-0.01	0.02	0.07	0.16	0.07	0.00	0.04
歯肉炎	-0.04	-0.10	-0.17	-0.16	-0.17	-0.13	-0.13	-0.08	-0.05	-0.08	-0.07	-0.09	-0.13	0.02	-0.15	-0.02	-0.04	0.02	0.06	0.13	-0.01	-0.05
辺縁性歯周炎	-0.11	-0.05	-0.07	0.10	0.00	-0.02	0.04	0.04	-0.01	0.02	0.00	0.01	-0.02	-0.01	0.00	-0.02	-0.07	-0.08	0.11	-0.01	-0.04	-0.01
歯牙萌出異常	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
歯牙着色	-0.05	-0.06	-0.01	0.00	0.00	-0.05	-0.02	0.01	0.02	-0.03	-0.05	-0.05	-0.07	-0.02	0.00	-0.02	0.13	0.08	0.03	0.00	-0.07	0.03
咬合異常	-0.04	-0.16	-0.06	-0.10	-0.09	-0.09	-0.10	-0.02	-0.02	-0.09	-0.08	-0.10	-0.06	-0.02	0.04	-0.02	-0.03	-0.04	-0.05	-0.11	-0.14	-0.12
その他	0.10	0.19	0.11	0.10	0.06	-0.01	-0.01	-0.02	0.03	0.10	0.10	0.10	0.02	-0.02	0.02	0.08	0.03	-0.03	0.01	0.01	0.07	0.00
上歯肉色素沈着	-0.20	-0.19	-0.08	-0.05	-0.05	-0.05	-0.17	-0.11	-0.08	-0.05	-0.08	-0.10	-0.15	-0.06	0.01	-0.08	0.04	-0.07	-0.17	-0.24	-0.22	-0.17
下歯肉色素沈着	-0.19	-0.18	-0.08	-0.10	-0.11	-0.05	-0.18	-0.15	-0.14	-0.07	-0.09	-0.13	-0.18	-0.07	-0.01	-0.05	0.14	-0.10	-0.23	-0.23	-0.23	-0.22
右頬粘膜色素沈着	-0.02	0.09	-0.02	0.13	-0.01	-0.12	-0.07	0.02	-0.04	0.17	0.17	0.19	-0.11	0.01	0.00	-0.05	-0.06	-0.07	-0.13	-0.12	0.11	0.13
左頬粘膜色素沈着	0.03	0.14	-0.04	0.13	-0.05	-0.15	-0.09	0.12	0.06	0.23	0.21	0.22	-0.11	-0.04	-0.03	-0.05	-0.06	0.05	-0.02	0.00	0.18	0.14
口蓋粘膜色素沈着	0.07	0.11	0.02	0.18	0.16	-0.02	0.05	0.10	0.01	0.16	0.16	0.19	-0.03	0.10	0.01	-0.03	-0.03	-0.04	0.04	0.00	0.06	0.14
上唇粘膜色素沈着	0.04	0.02	-0.03	0.04	0.03	-0.02	0.03	0.02	-0.02	0.05	0.05	0.06	-0.03	-0.02	0.04	-0.02	0.39	-0.03	-0.03	-0.01	0.00	0.02
下唇粘膜色素沈着	0.07	0.06	-0.03	0.08	0.11	-0.06	-0.01	0.16	0.05	0.06	0.08	0.01	-0.02	0.11	-0.03	0.39	-0.02	0.06	0.04	-0.02	0.04	0.04

表3-1 女性内科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378.T CDD	12378. PeCDD	12347. 8-HxC DD	12367. 8-HxC DD	12378. 9-HxC DD	12346. 78-Hp CDD	OCDD	2378.T CDF	PeCDF	23478. PeCDF	12347. 8-HxC DF	12367. 8-HxC DF	12346. 78-Hp DF	12378. 9-HxC DF	12346. 78-Hp CDF	12347. 89-Hp CDF	OCDF	3445.T CB.81	3444.T CB.77	34445. PeCB.126	34445. 5-HxC B.169	PCB濃 度
飲酒有無	-0.04	0.01	-0.01	0.06	0.06	-0.01	-0.02	0.04	0.02	0.02	0.00	0.00	-0.03	0.04	-0.01	-0.03	-0.03	-0.08	-0.02	-0.09	-0.04	-0.09
喫煙有無	-0.03	0.00	-0.13	0.01	0.02	-0.12	-0.12	-0.12	-0.03	-0.05	-0.04	-0.04	-0.11	0.00	-0.04	-0.02	-0.03	-0.07	-0.11	-0.16	-0.09	-0.09
主訴の有無	0.03	0.14	0.05	0.03	-0.01	-0.03	0.01	0.04	0.07	0.07	0.07	0.07	0.03	0.06	0.09	0.04	0.05	0.00	-0.04	0.06	0.08	-0.01
S43年以前既往歴有無	0.09	0.00	0.09	-0.02	0.00	0.08	0.12	0.00	-0.01	-0.03	-0.06	-0.04	-0.01	0.07	-0.02	-0.04	0.06	-0.06	0.09	0.22	-0.01	0.07
S43以後既往歴有無	0.10	0.12	0.03	0.06	0.03	0.05	0.06	0.04	0.07	0.10	0.10	0.11	0.00	0.05	-0.01	0.03	-0.01	0.05	0.08	0.19	0.10	0.21
全身倦怠感	-0.02	0.06	0.01	0.03	0.02	0.01	-0.03	0.07	0.03	0.04	0.03	0.01	-0.08	0.06	-0.02	0.01	0.04	-0.03	-0.02	-0.02	0.01	-0.02
頭重頭痛	-0.05	0.01	-0.08	0.03	0.00	-0.08	-0.12	0.03	0.02	0.02	0.06	0.04	-0.09	0.03	-0.03	0.02	-0.01	0.03	-0.06	-0.08	-0.05	-0.07
咳嗽	0.07	0.06	0.09	0.01	0.15	0.05	0.00	0.03	0.01	-0.03	-0.04	-0.05	-0.05	0.04	-0.11	-0.05	0.03	0.13	0.10	0.11	-0.07	0.04
喀痰	0.11	0.11	0.07	0.08	0.13	0.00	-0.01	0.04	0.02	0.02	0.00	-0.01	-0.01	0.09	0.02	-0.05	0.08	0.09	0.05	0.04	-0.01	0.01
腹痛	0.00	0.05	0.02	0.06	0.08	0.04	-0.02	0.01	0.03	0.00	0.03	0.01	-0.10	0.03	-0.03	-0.04	0.02	-0.06	-0.11	-0.11	-0.08	-0.11
下痢	-0.07	-0.11	0.00	-0.08	0.06	0.05	-0.03	-0.08	-0.05	-0.13	-0.12	-0.14	-0.10	-0.05	-0.03	-0.04	-0.05	-0.03	-0.12	-0.17	-0.23	-0.22
便秘	0.03	0.06	0.00	0.01	0.09	-0.02	-0.05	0.01	0.06	0.05	0.04	0.04	0.13	0.02	0.05	0.14	0.08	-0.01	0.00	0.02	0.01	0.00
四肢しびれ感	0.08	0.13	0.09	0.07	0.06	0.04	0.02	0.06	0.06	0.09	0.12	0.12	-0.08	-0.02	-0.05	-0.07	0.03	0.06	-0.05	0.08	0.04	0.05
関節痛	0.10	0.18	0.13	0.14	0.15	0.07	0.03	0.00	0.06	0.15	0.13	0.12	0.03	0.02	0.08	0.10	0.07	0.02	0.05	0.08	0.05	0.08
寒熱	0.03	0.07	0.05	0.02	0.07	-0.02	-0.05	0.11	0.08	0.06	0.07	0.07	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	0.00	0.12	0.03	0.03	-0.06	-0.06
心悸	0.14	0.18	0.10	0.10	0.31	0.22	0.16	0.22	0.07	0.08	0.04	0.05	-0.01	-0.02	-0.02	-0.01	-0.02	0.01	0.14	0.08	0.10	0.19
呼吸音	-0.06	-0.06	-0.06	-0.05	-0.04	-0.06	-0.07	-0.04	-0.03	-0.05	-0.04	-0.04	-0.03	-0.01	-0.04	0.00	0.00	-0.01	-0.01	-0.04	-0.05	-0.04
肝腫	0.00	-0.08	0.02	-0.05	0.01	0.05	0.14	-0.07	-0.06	-0.06	-0.05	-0.05	0.01	-0.01	-0.05	-0.01	-0.01	-0.03	-0.01	-0.04	-0.07	-0.04

表3-2 女性皮膚科症状とダイオキシン異性体群の濃度との相関係数

	2378.T CDD	12378. PeCDD	12347. 8.HxC DD	12367. 8.HxC DD	12378. 9.HxC DD	12346. 78.Hp CDD	OCDD	2378.T CDF	PeCDF	23478. PeCDF	12347. 8.HxC DF	12367. 8.HxC DF	12346. 78.Hp DF	12378. 9.HxC DF	12346. 78.Hp CDF	12347. 89.Hp CDF	OCDF	3445.T CB.81	3444.T CB.77	34445. PeCB.126	34445. 5.HxC B.169	PCB濃 度
最近の色変化傾向	-0.13	0.07	-0.16	0.16	-0.05	-0.11	-0.17	0.02	0.01	0.11	0.16	0.16	-0.14	0.18	0.00	0.00	0.13	-0.06	-0.11	-0.18	0.12	-0.01
最近の粉けつ再発傾向	-0.09	0.14	-0.19	0.21	-0.05	-0.14	-0.18	0.03	0.03	0.19	0.21	0.24	-0.13	0.00	0.02	0.00	-0.04	-0.09	-0.13	-0.13	0.19	0.11
かつてのぶ瘡様皮疹	0.09	0.18	0.00	0.12	-0.04	0.04	0.05	0.03	0.12	0.19	0.20	0.21	-0.01	0.09	-0.03	0.00	0.08	0.02	0.04	0.16	0.27	0.18
かつての色素沈着	0.04	0.22	-0.05	0.17	-0.07	-0.06	-0.04	0.04	0.09	0.24	0.23	0.26	-0.01	0.10	-0.01	0.00	0.06	0.02	0.06	0.14	0.35	0.21
黒色面皰顔面	0.01	0.22	-0.11	0.25	-0.02	-0.09	-0.05	0.13	0.10	0.26	0.25	0.25	-0.05	0.04	0.03	0.00	0.04	-0.01	0.04	0.03	0.34	0.28
黒色面皰耳介	0.02	0.29	-0.03	0.33	0.02	-0.03	-0.03	0.11	0.15	0.28	0.34	0.33	-0.04	0.03	0.07	0.00	0.03	-0.02	-0.01	-0.02	0.31	0.10
黒色面皰頸部	-0.04	0.31	-0.16	0.42	-0.02	-0.10	-0.10	0.02	0.08	0.35	0.39	0.42	-0.05	-0.03	0.07	0.00	-0.03	-0.07	-0.08	-0.07	0.36	0.15
黒色面皰その他	0.01	0.38	-0.04	0.41	0.06	-0.04	-0.03	0.16	0.08	0.35	0.37	0.36	-0.07	0.02	0.05	0.00	-0.02	-0.06	-0.07	-0.04	0.38	0.22
ぶ瘡様皮疹顔面	0.01	0.06	-0.12	0.14	0.02	-0.04	0.03	-0.02	0.06	0.10	0.17	0.16	-0.02	0.07	0.06	0.00	0.06	-0.08	-0.10	-0.10	0.13	-0.04
ぶ瘡様皮疹外陰部	-0.06	0.21	-0.07	0.30	0.01	-0.05	-0.10	0.04	0.11	0.26	0.32	0.31	-0.05	-0.03	0.09	0.00	0.03	-0.06	-0.12	-0.12	0.29	0.09
ぶ瘡様皮疹頸部	-0.08	0.10	-0.12	0.21	-0.01	-0.06	-0.09	-0.03	0.06	0.15	0.23	0.23	-0.04	-0.02	0.09	0.00	-0.02	-0.06	-0.16	-0.11	0.22	0.06
ぶ瘡様皮疹頸部	-0.05	0.15	-0.12	0.26	0.01	-0.12	-0.12	-0.02	0.07	0.22	0.27	0.29	-0.04	-0.02	0.02	0.00	-0.02	-0.05	-0.10	-0.08	0.18	0.01
ぶ瘡様皮疹その他	-0.14	0.07	-0.09	0.14	-0.01	-0.11	-0.11	-0.03	-0.03	0.12	0.11	0.11	0.01	-0.02	0.03	0.00	-0.01	-0.04	-0.08	-0.13	0.09	-0.05
顔面化膿傾向	-0.08	0.16	-0.10	0.24	-0.06	-0.09	-0.06	0.10	0.07	0.24	0.27	0.27	-0.02	-0.04	0.02	0.00	-0.03	-0.05	-0.07	-0.05	0.30	0.17
顔面化膿勢	-0.11	0.07	-0.15	0.17	-0.09	-0.10	-0.07	-0.04	0.03	0.14	0.18	0.19	-0.04	-0.03	0.04	0.00	-0.03	-0.05	-0.07	-0.08	0.23	0.07
顔面化その他	-0.16	-0.05	-0.08	0.03	-0.03	0.00	-0.10	0.04	-0.05	0.01	0.02	0.02	-0.10	-0.02	-0.02	0.00	-0.02	-0.05	-0.09	-0.14	0.01	-0.04
色素沈着顔面	-0.07	-0.01	-0.10	0.04	0.03	-0.08	-0.07	0.07	0.03	0.04	0.03	0.03	-0.09	0.04	-0.04	0.00	0.04	-0.05	-0.08	-0.11	0.03	-0.08
色素沈着指爪	-0.09	0.01	-0.08	-0.01	0.03	-0.03	-0.02	-0.02	0.00	-0.01	-0.01	-0.03	0.01	-0.04	-0.00	0.01	-0.05	-0.10	-0.03	0.02	-0.06	-0.06
色素沈着趾爪	-0.01	0.06	-0.02	0.07	-0.03	-0.02	0.03	-0.02	-0.06	0.06	0.06	0.07	0.10	0.07	0.11	0.06	0.06	-0.09	-0.01	-0.03	0.10	-0.02
色素沈着その他	0.05	0.15	0.03	0.18	0.11	-0.05	-0.01	-0.02	0.02	0.13	0.16	0.18	-0.02	-0.01	-0.02	0.00	-0.01	-0.04	-0.06	-0.05	0.01	-0.06
爪変形	0.09	0.12	-0.04	0.11	-0.01	-0.07	-0.01	0.00	0.03	0.16	0.17	0.18	0.06	0.06	0.12	0.00	0.05	-0.09	0.03	0.12	0.15	0.06

表 4 ライスオイル中の濃度および TEQ 濃度

	濃度(ppb)	TEQ(ppb)
2,3,4,7,8-Penta-CDF	1,350	675
1,2,3,4,7,8-Hexa-CDF	890	89
1,2,3,6,7,8-Hexa-CDF	170	17
3,3',4,4'-Tetra-CB	11,500	5.75
3,3',4,4',5-Penta-CB	630	63
3,3',4,4',5,5'-Hexa-CB	27	0.27

分担研究報告書

油症患者のダイオキシン類血中濃度と健康状態との関連

ー 臨床試験「油症に対するコレスチミド（コレバイン）内服療法」の研究デザイン ー

分担研究者 徳 永 章 二 九州大学・大学院医学研究院・予防医学分野 助手

研究要旨

油症患者に対して高コレステロール血症治療薬コレスチミドがダイオキシン類血中濃度を低下させる可能性を探るため、臨床試験「油症に対するコレスチミド（コレバイン）内服療法」が行われる。この臨床試験の研究デザインを中心に研究コンセプトについて報告する。この試験では油症の特殊性により事前に投与者数を積極的に設定できない。限られた症例数で検出力を高めるため、クロスオーバー試験とした。実施可能な対象者数 50 を想定すると、個人内変動（測定誤差を含む）を考慮して、主要エンドポイントの 2,3,7,8-PeCDF、3,3',4,4',5-PeCB、及び、3,3',4,4',5,5'-HxCB の血液脂質中濃度が 10%低下すれば十分な検出力(>90%)で検出可能と推定された（ $\alpha < 0.05$ 、片側検定）。

A. 研究目的

近年、高コレステロール血症治療薬のコレスチミドが血中ダイオキシン類濃度を低下させるという報告がなされた。高井らの健常人(5名)における検討では、コレスチミド投薬前が $41.0 \pm 8.3\text{pgTEQ/g-fat}$ 、投薬後が $33.4 \pm 3.8\text{pgTEQ/g-fat}$ （投薬前の 81%）とダイオキシン類濃度が低下し、櫻井らの高コレステロール血症患者 10 例における検討では、6 ヶ月間の投薬で前値 $44.0 \pm 5.49\text{pgTEQ/g-fat}$ から、投薬後が $34.7 \pm 5.49\text{pgTEQ/g-fat}$ （投薬前の 79%）に低下したことが報告されている^{1,2)}。しかし、これらは対照群を設定していない小規模な試験の学会報告例で、治療効果の根拠としては極めてレベルが低く、その効果が油症患者に期待できるかも不明である。

このたび古江増隆主任研究者を中心として油症研究班で、油症患者に対し臨床試験「油症に対するコレスチミド（コレバイン）内服療法」が行われる事となった。本報告書では、その研究デザインの設定について報告する。

B. 試験デザイン

油症患者数は限定されているうえ、患者の感情を考慮すると参加の働きかけの程度に限界がある。少ない参加者数で効果の検証の可能性を高めるため、クロスオーバー・デザインを採用した。観察、投与の期間は、それぞれ 6 ヶ月である。観察／投薬の順は性・年齢で層化して第 3 者機関により無作為割付する。投与薬は商品名「コレバインミニ 83%」である。評価項目、患者選択基準、試験アウトラインの概要

を以下に示す。

【1】評価項目（エンドポイント）

1-1. 主要評価項目

2,3,4,7,8-PeCDF、3,3',4,4',5-PeCB、及び、3,3',4,4',5,5'-HxCB の血液脂質中濃度

1-2. 副次的評価項目

1) 末梢神経障害（しびれ、感覚低下、痛み）、皮膚症状（ざ瘡様皮疹、化膿傾向、色素沈着）、呼吸器症状（咳・痰）、全身倦怠感の重症度

2) QOL（SF-36）

3) 血液・尿の生化学的検査値

【2】患者選択基準

20 歳以上のコレステミドを経口投与可能で試験参加の文書による同意を得た油症認定患者。重篤な合併症を有する患者、妊娠中もしくは授乳中の患者を除く。

【3】試験アウトライン

以下の時間的順序で行う。

- 試験参加希望者の募集
- 患者選択基準の確認
- 書面によるインフォームドコンセントの取得
- 第3者機関による登録、割り付け
- ダイオキシン類血中濃度、臨床症状等の測定（1回目）
- 無投与、または、コレステミド投与
- ダイオキシン類血中濃度、臨床症状等の測定（2回目）
- コレステミド投与、または、無投与
- ダイオキシン類血中濃度や臨床症状等の測定（3回目）

（倫理面への配慮）

（1）研究等の対象とする個人の権利擁

護

油症については個人情報漏洩すると、社会的差別につながる恐れがある。1986 年以来、油症認定者を対象とした検診が毎年行なわれているが、個人情報の保護には極めて注意深く対処してきた。本試験においては、生化学調査や健康診断の結果は氏名が特定できない形でデータベース化され、コンピューター内の情報保護には暗号化を含む厳重な配慮がなされるなど、今まで以上に注意深く情報管理を徹底する。

（2）研究対象者に理解を求め同意を得る方法

全国油症治療研究班関係者が中心となり、各県職員の協力を得て、対象となる認定者に本調査への参加を依頼し、文書で参加承諾書を得る。

（3）研究等によって生ずる個人への不利益並びに危険性

臨床検査・採血においては、通常の油症健診で行われる検査や採血と同等であるため、特別な危険が生じる可能性は極めて小さいと考えるが、これまで以上に注意深く行う。コレステミドは一般的に安全性は高いとされるが、有害事象が発生する可能性は否定できないので、極めて注意深く試験を遂行する。投薬にあたっては、「コレバインをお飲みになる患者さんへ」の指導箋を手交し、その服用方法、注意事項について十分な注意を促す。もし不測の事態がおこれば、全国油症研究班の医師が即座に対応する。本研究の発表では統計的に処理された結果のみを示す。

C. 目標登録症例数設定の根拠

通常の臨床試験と異なり、油症という特殊な疾病に伴う種々の制約のため、事前に投与者数を積極的に設定できない。今後疾病者数が増加する事はなく、患者の感情を考慮すると参加の働きかけの程度に限界があるからである。本試験では実施可能な数として総数 50（観察／投薬群 25、投薬／観察群 25）を設定した。この対象者数で主要評価項目の低下をどの程度検出できるかの検討を以下のように行った。

【1】ダイオキシン類血液脂質中濃度の個人内変動

主要評価項目であるダイオキシン類血液脂質中濃度の個人内変動の値は 2001 年より 3 年間連続して測定値が得られた患者 51 人の測定値より推定した。ダイオキシン類血中レベルの分布は右に裾を引く強い片寄りがあったので、統計学的処理にあたっては対数変換を行った。変換に当たっては解釈の容易さを考慮し、10 を底とした。

個人内変動（SD）は 2,3,7,8-PeCDF、3,3',4,4',5-PeCB、3,3',4,4',5,5'-HxCB で、それぞれ 0.070、0.085、0.066 であった。これらは真数に変換すると、17%、22%、16%の変動に相当し、個人間変動の、それぞれ 11%、41%、21%にあたる。

【2】仮定と統計モデル

測定値の個人内変動（測定変動を含む）が独立で、季節変動を考慮する必要がなく、介入後のエンドポイントの低下がそ

の後も継続すると仮定し、変動効果モデル（random effects model）により比較する事を想定した³⁾。

主要エンドポイントの個人内変動を考慮して、血中脂肪内濃度低下の割合と、 α エラー、 β エラーの間の関連を、モンテカルロシミュレーションにより推定した。さらに、試験開始後 6 箇月または 12 箇月後の来院スケジュール通りに来院ができず、測定値が得られなかった場合がランダムに対象者の 10%または 20%生じると想定したシミュレーションも行った。シミュレーションには統計パッケージソフトの Stata Ver. 9.1 を用い、それぞれ 1000 回の試行を行った⁴⁾。

【3】対象者数、 α エラー、 β エラーの間の関連

表 1、2、3 にシミュレーションの結果を示す。この対象者数（全体で 50 例）であれば、個人内変動（測定誤差を含む）を考慮して、主要エンドポイントのダイオキシン類および PCB（2,3,7,8-PeCDF、3,3',4,4',5-PeCB、3,3',4,4',5,5'-HxCB）のいずれにおいても、血液脂質中濃度が 10% 低下すれば十分な検出力(>90%)で検出可能と推定された（ $\alpha < 0.05$ 、片側検定）。また、欠測値が 20%生じて、血液脂質中濃度の低下が 15%以上なら検出力 90%以上で検出可能と推定された（ $\alpha < 0.05$ 、片側検定）。

D. 考察

本試験ではクロスオーバー・デザインを採用した。クロスオーバー・デザインは臨床試験において、少ない症例数で高

い検出力で仮説を検定できるという利点がある。一方、薬剤の効果が短期間に期待できるものに限られ、キャリーオーバー効果（薬剤の効果が持ち越し）や季節変動が結果の評価を困難にすることが知られている⁵⁾。これまでの油症研究によれば油症患者の血中ダイオキシン濃度は極めて安定しており、季節による変動が結果に影響する可能性は低いものと思われる⁶⁾。今回の試験では、先行研究から6ヶ月の投与で効果が現れると期待でき、キャリーオーバー効果を仮定した統計モデルを採用する事から、クロスオーバー・デザインによりコレスチミドの効果を評価可能であると考ええる。

登録症例数は50人と少ないが、クロスオーバー・デザインの採用、適切な統計解析方法と統計モデルの適用、血中ダイオキシン類の測定が高精度である事から、コレスチミドが体内のダイオキシン類レベルを減少させる効果が10～15%あれば検出可能と推定された。症例数を増加させれば、さらに小さな効果も検出できるが、治療としての意義は小さくなる。50人は研究目的に、必要かつ十分な予定登録数と思われる。

今後も臨床試験立案の際は、研究デザインを統計学的に注意深く検討する事で試験の質の向上を支援したい。これは結果がポジティブでもネガティブでも科学的な根拠として評価されるような臨床試験を行う上で重要である。

E. 参考文献

1) 高井ら. (unpublished data)

- 2) 櫻井健一、齋藤 康、森 千里. ヒト体内に蓄積されたダイオキシン類の削減法の検討. 環境生命医学日本内分泌攪乱化学物質学会（第5回研究発表会要旨）. 2002.
- 3) Rabe-Hesketh S, Skrondal A. Multilevel and longitudinal modeling using Stata. Texas:Stata Press;2005.
- 4) StataCorp. Stata Statistical Software: Release 9.0. College Station, Texas:Stata Press;2005.
- 5) Senn S. Cross-over trials in clinical research. Chichester:Wiley;1993.
- 6) Tokunaga S, Iida T, Furue M, on behalf of the Study Group for Yusho. The concepts of the new criteria for Yusho poisoning. J Dermat Sci. 2005;1:S95-S104.

表 1 . 2,3,7,8-PeCDF 減少割合と α エラー、 β エラーとの関連

脱落割合 (%)	減少割合 (%)	α	β	α	β
0	5	0.005	0.782	0.05	0.542
		0.01	0.694	0.1	0.331
		0.025	0.575	0.15	0.239
		0.05	0.420	0.2	0.173
	10	0.005	0.237	0.05	0.086
		0.01	0.185	0.1	0.024
		0.025	0.101	0.15	0.014
		0.05	0.067	0.2	0.009
	15	0.005	0.040	0.05	0.003
		0.01	0.033	0.1	0.001
		0.025	0.033	0.15	0.001
		0.05	0.033	0.2	0.000
10	5	0.005	0.823	0.05	0.693
		0.01	0.802	0.1	0.359
		0.025	0.643	0.15	0.262
		0.05	0.541	0.2	0.212
	10	0.005	0.383	0.05	0.158
		0.01	0.357	0.1	0.055
		0.025	0.189	0.15	0.033
		0.05	0.110	0.2	0.025
	15	0.005	0.062	0.05	0.011
		0.01	0.056	0.1	0.002
		0.025	0.039	0.15	0.000
		0.05	0.037	0.2	0.000
20	5	0.005	0.885	0.05	0.933
		0.01	0.831	0.1	0.517
		0.025	0.746	0.15	0.376
		0.05	0.606	0.2	0.273
	10	0.005	0.489	0.05	0.933
		0.01	0.350	0.1	0.087
		0.025	0.222	0.15	0.047
		0.05	0.148	0.2	0.031
	15	0.005	0.125	0.05	0.933
		0.01	0.080	0.1	0.006
		0.025	0.058	0.15	0.003
		0.05	0.054	0.2	0.000

表 2 . 3,3',4,4',5-PeCB 減少割合と α エラー、 β エラーとの関連

脱落割合 (%)	減少割合 (%)	α	β	α	β
0	5	0.005	0.851	0.05	0.583
		0.01	0.749	0.1	0.376
		0.025	0.606	0.15	0.286
		0.05	0.500	0.2	0.212
	10	0.005	0.268	0.05	0.046
		0.01	0.178	0.1	0.018
		0.025	0.075	0.15	0.014
		0.05	0.046	0.2	0.009
	15	0.005	0.009	0.05	0.000
		0.01	0.003	0.1	0.000
		0.025	0.001	0.15	0.000
		0.05	0.001	0.2	0.000
10	5	0.005	0.845	0.05	0.568
		0.01	0.735	0.1	0.449
		0.025	0.658	0.15	0.348
		0.05	0.504	0.2	0.264
	10	0.005	0.342	0.05	0.067
		0.01	0.196	0.1	0.032
		0.025	0.136	0.15	0.022
		0.05	0.064	0.2	0.010
	15	0.005	0.019	0.05	0.000
		0.01	0.010	0.1	0.000
		0.025	0.007	0.15	0.000
		0.05	0.002	0.2	0.000
20	5	0.005	0.876	0.05	0.594
		0.01	0.857	0.1	0.435
		0.025	0.738	0.15	0.346
		0.05	0.620	0.2	0.269
	10	0.005	0.396	0.05	0.121
		0.01	0.364	0.1	0.065
		0.025	0.227	0.15	0.043
		0.05	0.133	0.2	0.032
	15	0.005	0.040	0.05	0.002
		0.01	0.029	0.1	0.001
		0.025	0.011	0.15	0.001
		0.05	0.005	0.2	0.000

表 3 . 3,3',4,4',5,5'-HxCB 減少割合と α エラー、 β エラーとの関連

脱落割合 (%)	減少割合 (%)	α	β	α	β
0	5	0.005	0.666	0.05	0.320
		0.01	0.591	0.1	0.210
		0.025	0.489	0.15	0.136
		0.05	0.395	0.2	0.105
	10	0.005	0.063	0.05	0.009
		0.01	0.044	0.1	0.001
		0.025	0.021	0.15	0.000
		0.05	0.011	0.2	0.000
	15	0.005	0.000	0.05	0.000
		0.01	0.000	0.1	0.000
		0.025	0.000	0.15	0.000
		0.05	0.000	0.2	0.000
10	5	0.005	0.763	0.05	0.422
		0.01	0.715	0.1	0.303
		0.025	0.555	0.15	0.225
		0.05	0.411	0.2	0.177
	10	0.005	0.100	0.05	0.016
		0.01	0.080	0.1	0.004
		0.025	0.033	0.15	0.003
		0.05	0.018	0.2	0.003
	15	0.005	0.002	0.05	0.000
		0.01	0.002	0.1	0.000
		0.025	0.001	0.15	0.000
		0.05	0.000	0.2	0.000
20	5	0.005	0.837	0.05	0.444
		0.01	0.788	0.1	0.303
		0.025	0.634	0.15	0.234
		0.05	0.464	0.2	0.169
	10	0.005	0.197	0.05	0.026
		0.01	0.140	0.1	0.014
		0.025	0.057	0.15	0.009
		0.05	0.022	0.2	0.005
	15	0.005	0.007	0.05	0.001
		0.01	0.004	0.1	0.001
		0.025	0.002	0.15	0.001
		0.05	0.002	0.2	0.000

分担研究報告書

油症一斉検診の全国集計結果及び油症患者データベースの構築

分担研究者	吉 村 健 清	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	片 岡 恭一郎	福岡県保健環境研究所	情報管理課 課長
	高 尾 佳 子	福岡県保健環境研究所	情報管理課 技師
	小野塚 大 介	福岡県保健環境研究所	情報管理課 主任技師
	梶 原 淳 睦	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員

研究要旨 当研究班では、検診受診者の検診電子データの維持管理及び「全国油症検診集計結果」報告を継続的に実施している。2006 年度のデータベースには 1986 年度から 2005 年度検診までの検診受診者 1153 人が登録された。2004 年度の全国油症検診集計結果、内科の自覚症状では関節痛、全身倦怠感、しびれ感、皮膚科では化膿傾向、眼科では眼脂過多、歯科では辺縁性歯周炎の訴えが多かった。油症特有の症状としては歯肉の色素沈着が約 20～30%認められた。血中 PCB 濃度は認定群の幾何平均値が 2.3ppb、未認定群の幾何平均値が 1.2ppb だった。PCQ 濃度は認定群の男の幾何平均値は 0.06ppb、女が 0.22ppb だった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は男が幾何平均値で 42pg/g-fat に対して女は 126 pg/g-fat であった。油症患者データベースに婦人科データ及び尿中マーカーデータを追加した。

A. 研究目的

1985 年度に全国油症治療研究班長（当時倉恒匡徳中村学園大学長）の命により、全国統一検診票が作成されたことに伴い、患者集団の健康度を把握するとともに、患者個人の健康管理に資するために、それまで各検診実施担当県のみでファイルされていた検診票を 1986 年度の統一検診票からは当研究班において、コンピュータを用いて一元管理することになった。

当研究班では、患者の検診データの維持管理及び各年度の検診データをもとにした「全国油症検診集計結果」報告を継続して行うとともに患者集団の臨床所見や血液データの変化を明らかにすることを目的としている。また、これまでは、統一検診票のみのデータベース化であったが、今年度は検診票以外のデータもデータベース化した。

今年度は(1) 2005 年度全国油症一斉検診データ及びダイオキシン類データの確定化、(2) 2004 年度全国油症検診集計結果の報告、(3) 油症患者データベースへの各種データの追加、(4) 油症データベースの機能追加の検討、を実施した。

B. 研究方法

(1) 2005 年度全国油症一斉検診及びダイオキシン類データの確定化

全国 11 の追跡班が毎年度実施する油症一斉検診の検診票は福岡県の油症追跡班事務局を経て当所に検診票の写しと電子媒体が届けられる。今年度は 2005 年度の検診票の写しと電子媒体とのデータ点検をした後、既登録データとの照合を行い、確定データとして保存する。また、ダイオキシン類デ

ータも検診受診者とのリンクを行い登録する。

(2) 2004 年度全国油症検診集計結果の報告

前年度に確定されたデータを基に、内科 28、皮膚科 21、眼科 5、歯科 21 血液・尿・生化学検査 39 項目について油症患者データベースを用いて検診データの集計を行う。

(3) 油症患者データベースへの各種データの追加

婦人科検診データ、尿中マーカーのデータベース化を実施する。

(4) 油症データベースの機能追加検討

グラフ作成機能、集計機能に関して基本イメージの検討を行う。

(倫理面への配慮)

この研究においては直接的な倫理面の配慮の必要性はないと考えられるが、個人情報保護については配慮している。すなわち、検診票類、磁気テープはキャビネットに保管し施錠するなど、個人情報漏洩しないように配慮している。

当該データの使用に当たっては主任研究者の同意を得るようにしている。また、当所の職員は地方自治体の職員であり、地方公務員法第 34 条により守秘義務がかせられている。

C. 研究結果及び考察

(1) 2005 年度全国油症一斉検診データの確定化

表 1 に 2005 年度の追跡班・認定区分別の受診者数を示す。2005 年度の受診者は 362 人で前年度の 330 人に比べ 32 人増加した。その内訳は認定群には増減無く、未認定群において 32 人増加した。

追跡班別では福岡県の受診者が最も多く 144 人 (前年度+11 人)、次いで長崎県の 111 人 (前年度+22 人)、広島県の 50 人 (前年

度-9 人) だった。

表 2 に年齢階級・認定区分別の受診者数を示す。認定群では 70 歳代が 94 人と最も多く、認定群全体の 37.6%を占めた。次いで 60 歳代 71 人の 28.4%だった。未認定群では 60 歳代の 25 人、70 歳代の 22 人がそれぞれ未認定群全体の 22.3%、19.6%を占めた。また、未認定群では認定群よりも若年層の受診者が多い傾向にあり、中毒物質を直接摂食する可能性の低い 1968 年 2 月 7 日以降の出生者 (37 歳以下) で、検診を受診した者は認定群で 1 人、未認定群で 15 人だった。

2005 年度受診者 362 人の入力データと検診票とのチェック後、エラー等の修正作業を経てデータベースに追加登録した。2005 年度の新規登録者は前年度の 23 人から 47 人に増加した。新規登録者の内訳は認定群が 5 人、未認定群が 42 人だった。追跡班別の内訳は千葉県、愛知県、山口各 1 人、大阪府、広島県各 2 人、福岡県 29 人、長崎県 11 人だった。したがって、前年度検診までの登録者 1106 人に 2005 年度新規登録者 47 人を加えた 1153 人の検診データがデータベースに登録された。

また、表 3 に示すように 2005 年度の検診受診者のうちダイオキシン類 (Lipid base) の測定を希望した 351 人についてデータを追加した。

2005 年度確定版油症患者データベースの CD-ROM を 11 追跡班に配布した。

(2) 2004 年度全国油症検診集計結果

図 1 に 1986 年から 2004 年度までの油症検診受診者の年次推移を示す。1986 年度の受診者総数 545 人から徐々に減少し、2001 年度は 262 人まで減少した。2002 年度から希望者には血中ダイオキシン類の測定が開始されたため 2002 年度には検診受診者が 393 人に増加した。以後、やや減少傾向に

ある。

2004 年度の検診受診者は認定患者 249 人、未認定患者 81 人の計 330 人だった(表 4)。

年齢階級別では、認定群は 70 歳代が 88 人と最も多く、認定群受診者の 35.3%を占めた。未認定群は 60 歳代が 21 人と最も多く、未認定群受診者の 25.9%を占めた(図 2)。

図 3 から図 5 に 2004 年度検診受診者の科別有所見率(項目ごとの+、+以上あるいは異常等の出現割合)を示す。内科所見の自覚症状では関節痛、全身倦怠感、しびれ感の訴えが多く有所見率は約 60~70%を示した。また、男よりも女の方に有所見が多かった。一方、他覚所見の有所見率は肝胆脾エコーの約 60%を除くといずれも 30%弱だった。他覚所見は女よりも男の方に有所見が多かった。

皮膚科所見では最近の化膿傾向の訴えが男女とも多く、認定群で約 20%だった。そのほかの皮膚所見では認定群の男の黒色面皰(顔面)が約 10%あるのに比べ女は約 5%だった。一方、女では爪変形や指、趾爪の色素沈着が約 12%あるのに比べ、男はそれぞれ約 7%、3%だった。眼科所見では眼脂過多の訴えが 10%弱あるほかは 3%以下の所見だった。歯科の口腔所見では認定群の男の辺縁性歯周炎の有所見が 50%と顕著だった。色素沈着所見では認定群の歯肉の有所見が男で約 32%、女で約 20%認められた。

図 6 に 2004 年度検診受診者の血中 PCB、PCQ 濃度を示す。血中 PCB 濃度は男女間で大きい差はなく、認定群の幾何平均値が 2.3ppb、未認定群の幾何平均値が 1.2ppb だった。2004 年度の受診者の PCQ 濃度は未認定群の男女間では差はなく幾何平均値で約 0.02ppb だった。一方、認定群では男の幾何平均値が 0.06ppb で、女は 0.22ppb だった。

図 7 は 2004 年度検診受診者の血中ダイオキシン類(2,3,4,7,8-PeCDF、TotalTEQ)濃度である。認定群での 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は男が幾何平均値で 42pg/g-fat に対して女は 126 pg/g-fat であった。

(3) 油症患者追跡検診データベースの構築
今年度実施したデータベースの構築については以下の通りである。

- ・婦人科検診票データについて

2005 年度に油症認定患者のうち連絡が取れた女性 605 人について油症相談員による婦人科疾患等のアンケート問診が実施された。その内問診に回答のあった 357 人について、データ照合作業を終了し、データベースに格納した。また、内科、皮膚科検診データと同様、閲覧可能なように表示用ユーザインターフェースの構築を行った。

- ・尿中マーカーデータについて

2005 年度に福岡県の検診を受診した者のなかで尿中ジアセチルスペルミンの検査に協力した 129 人について、データ照合作業を終了し、データベースに格納した。また、表示用ユーザインターフェースの構築を行った。

(4) 油症データベースの機能追加の検討

グラフ作成機能、集計機能追加について機能の必要性等を検討した結果、データをエクセル等のソフトにエクスポートして使用の方が利便性が高いので、油症患者データベースの中にグラフ機能、集計機能を構築することは見送られた。

表1 2005年度検診受診者数，追跡班・認定区分別

追跡班	認定			未認定			総数		
	2005年度 a	前年度 b	差 a-b	2005年度 a	前年度 b	差 a-b	2005年度 a	前年度 b	差 a-b
千葉県	2	2	-	1	-	1	3	2	1
関東以北	5	4	1	3	6	-3	8	10	-2
愛知県	2	1	1	1	-	1	3	1	2
大阪府	15	14	1	4	5	-1	19	19	-
島根県	1	2	-1	-	-	-	1	2	-1
広島県	39	43	-4	11	16	-5	50	59	-9
山口県	6	4	2	3	-	3	9	4	5
高知県	9	8	1	1	-	1	10	8	2
福岡県	93	103	-10	51	30	21	144	133	11
長崎県	74	66	8	37	23	14	111	89	22
鹿児島県	4	3	1	-	-	-	4	3	1
総数	250	250	-	112	80	32	362	330	32

表2 2005年度検診受診者数，年齢階級・認定区分別

年齢階級	認定		未認定		総数	
	人	%	人	%	人	%
0～9歳	-	0.0	1	0.9	1	0.3
10～19歳	-	0.0	1	0.9	1	0.3
20～29歳	-	0.0	3	2.7	3	0.8
30～39歳	3	1.2	15	13.4	18	5.0
40～49歳	21	8.4	20	17.9	41	11.3
50～59歳	34	13.6	17	15.2	51	14.1
60～69歳	71	28.4	25	22.3	96	26.5
70～79歳	94	37.6	22	19.6	116	32.0
80～89歳	26	10.4	8	7.1	34	9.4
90～99歳	1	0.4	-	0.0	1	0.3
総数	250	100.0	112	100.0	362	100.0

表3 2005年度ダイオキシン類測定者数，追跡班・認定区分別

追跡班	認定		未認定		総数	
	2005年度	前年度	2005年度	前年度	2005年度	前年度
千葉県	2	2	1	-	3	2
関東以北	5	6	3	6	8	12
愛知県	2	1	1	-	3	1
大阪府	15	13	4	5	19	18
島根県	1	2	-	-	1	2
広島県	32	43	11	13	43	56
山口県	6	4	3	5	9	9
高知県	9	8	1	-	10	8
福岡県	93	99	51	29	144	128
長崎県	73	63	36	16	109	79
鹿児島県	2	1	-	-	2	1
総数	240	242	111	74	351	316

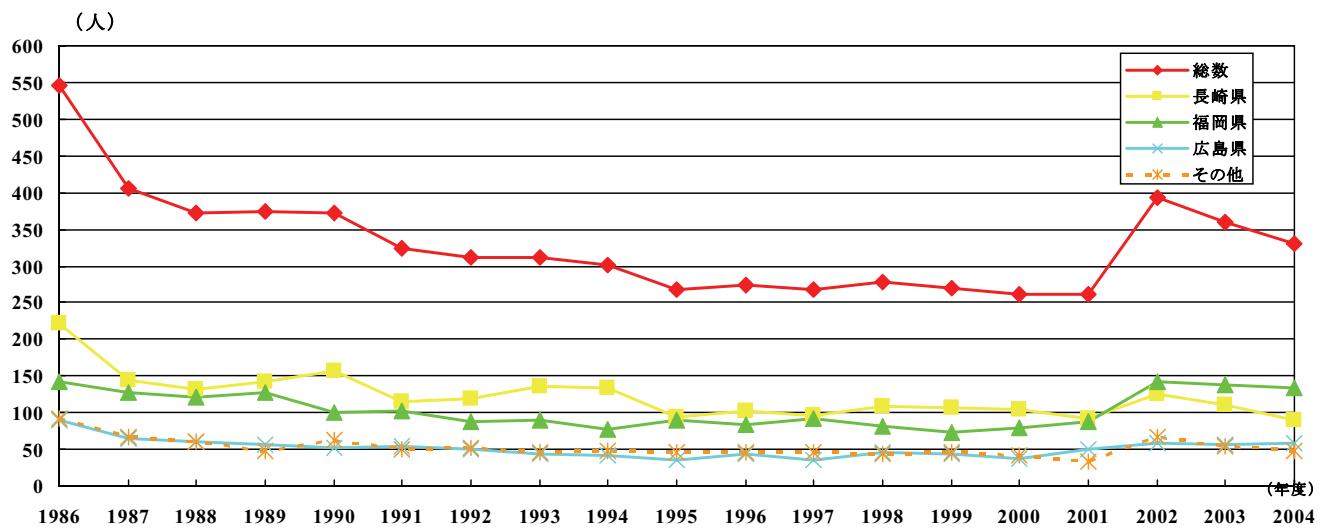


図 1 油症検診受診者の年次推移

表 4 2004 年度 油症検診受診者（認定区分、性別）

			性別		合計
			男	女	
受診者区分	認定	度数	124	125	249
		受診者区分の%	49.8%	50.2%	100.0%
		性別の%	80.5%	71.0%	75.5%
	未認定	度数	30	51	81
		受診者区分の%	37.0%	63.0%	100.0%
		性別の%	19.5%	29.0%	24.5%
合計	度数	154	176	330	
	受診者区分の%	46.7%	53.3%	100.0%	
	性別の%	100.0%	100.0%	100.0%	

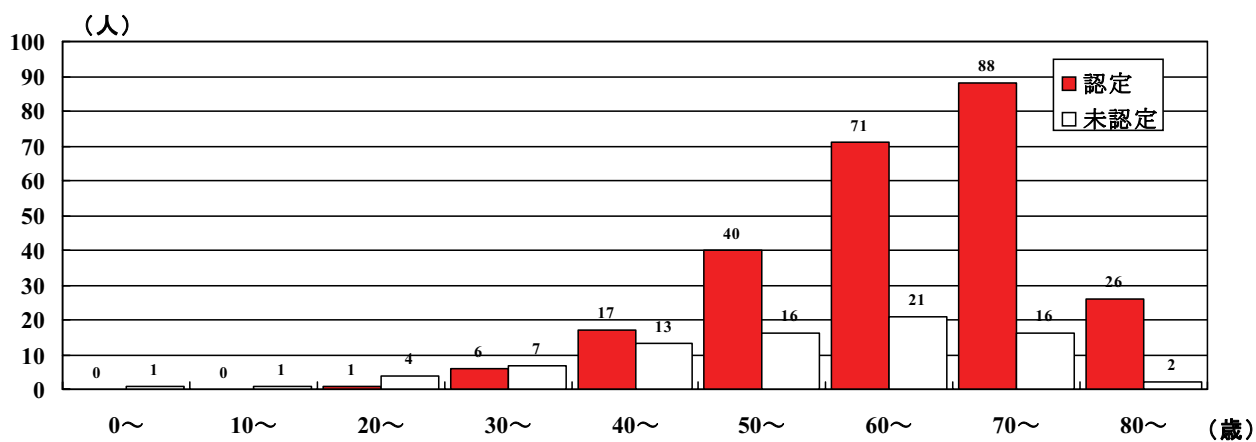


図2 2004年度 油症検診受診者（認定区分、年齢階級別）

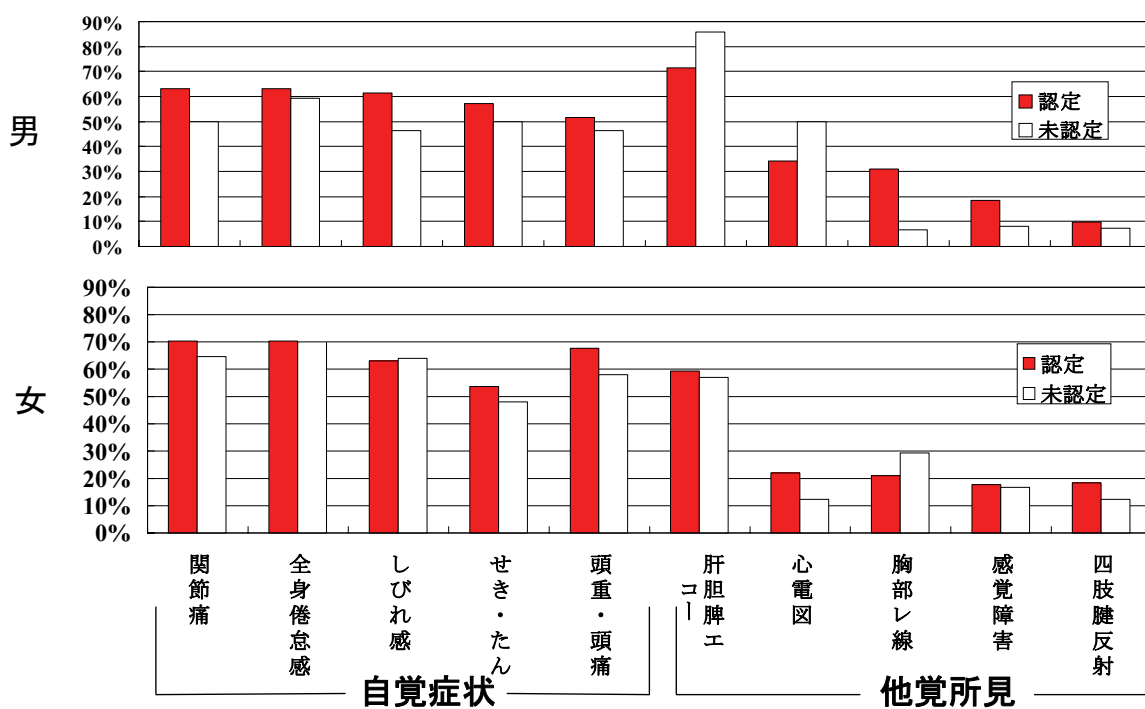


図3 2004年度検診受診者の有所見率*＜内科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

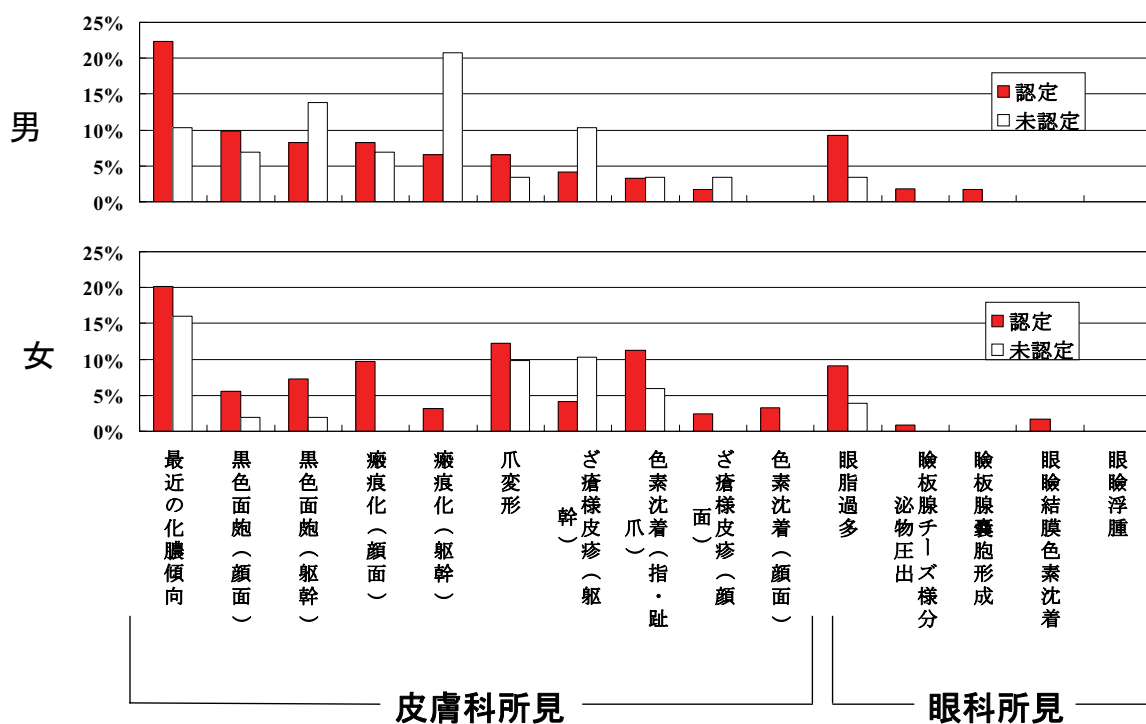


図4 2004年度検診受診者の有所見率*＜皮膚科・眼科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

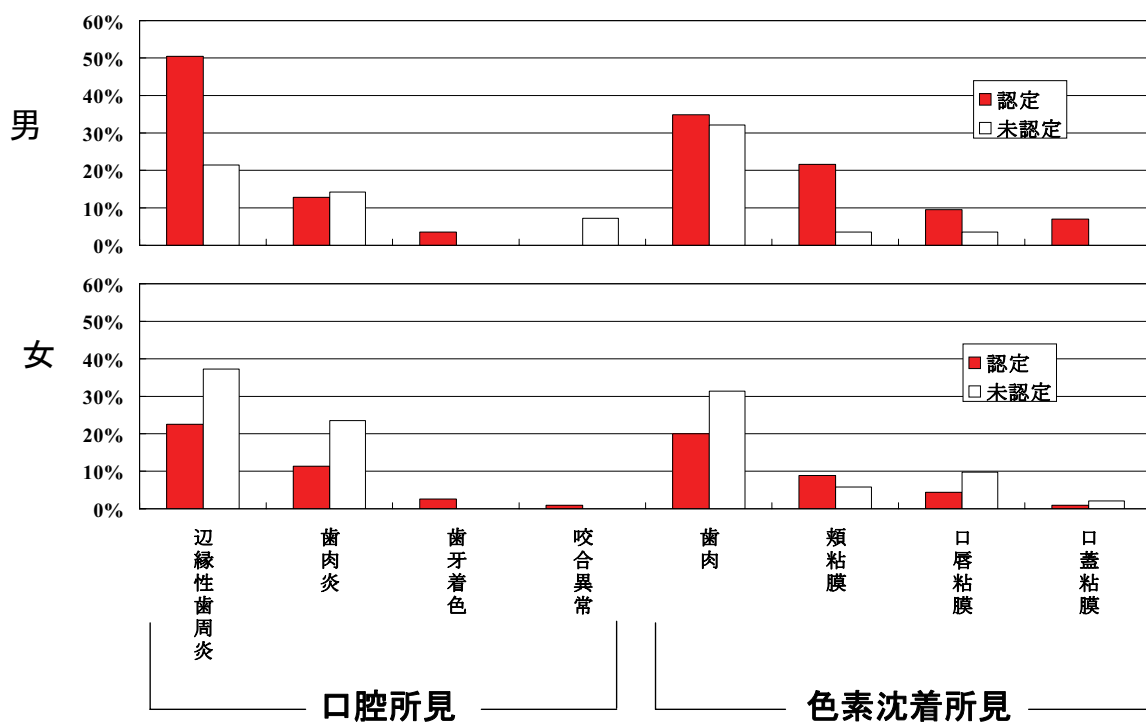
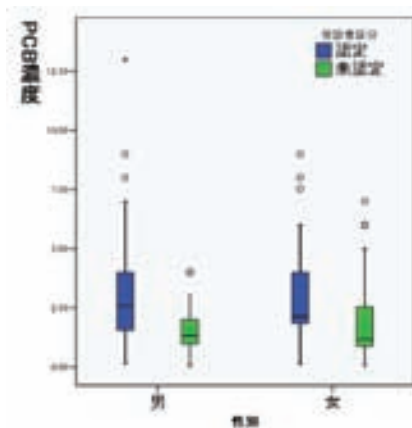


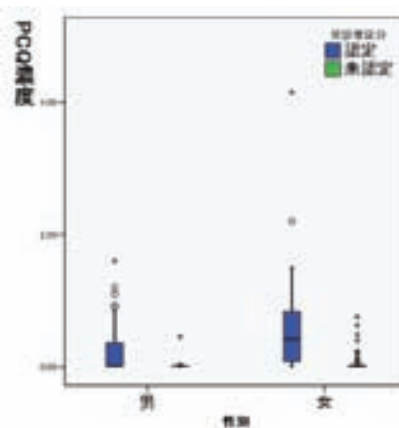
図5 2004年度検診受診者の有所見率*＜歯科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合



報告書

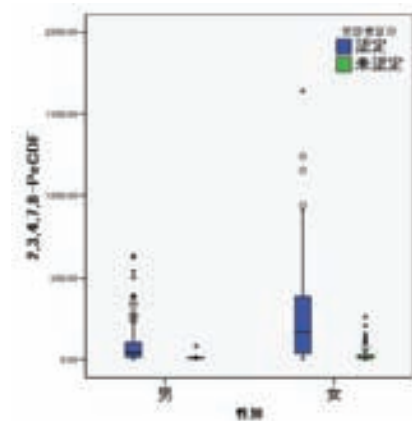
PCB濃度		平均値	度数	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	2.99	119	2.04	2.59	2.35	.13	13.00
	未認定	1.53	24	1.04	1.32	1.13	.08	4.00
	合計	2.75	143	1.99	2.10	2.07	.08	13.00
女	認定	2.80	108	1.75	2.14	2.26	.12	9.00
	未認定	1.93	40	1.77	1.16	1.25	.06	7.00
	合計	2.56	148	1.79	2.00	1.93	.06	9.00
合計	認定	2.90	227	1.91	2.42	2.30	.12	13.00
	未認定	1.78	64	1.54	1.18	1.20	.06	7.00
	合計	2.65	291	1.89	2.00	2.00	.06	13.00



報告書

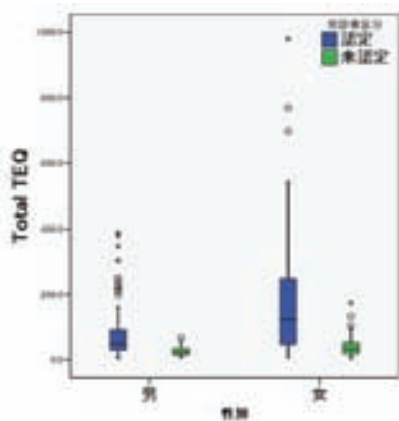
PCQ濃度		平均値	度数	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	.25	67	.36	.02	.06	.01	1.60
	未認定	.03	26	.09	.01	.01	.01	.46
	合計	.19	93	.32	.01	.04	.01	1.60
女	認定	.59	59	.68	.42	.22	.01	4.15
	未認定	.08	47	.17	.01	.02	.01	.76
	合計	.36	106	.58	.09	.08	.01	4.15
合計	認定	.41	126	.56	.24	.11	.01	4.15
	未認定	.06	73	.14	.01	.02	.01	.76
	合計	.28	199	.48	.01	.06	.01	4.15

図 6 2004 年度検診受診者の血中 PCB,PCQ 濃度



報告書

2,3,4,7,8-PeCDF		平均値	度数	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	92.90	114	129.80	41.29	42.39	4.09	636.17
	未認定	14.03	31	13.88	10.48	11.15	3.47	82.67
	合計	76.04	145	119.65	25.81	31.86	3.47	636.17
女	認定	272.84	118	295.46	170.40	126.27	2.93	1641.50
	未認定	35.65	53	53.89	14.14	18.15	1.89	263.16
	合計	199.33	171	270.32	78.16	69.22	1.89	1641.50
合計	認定	184.42	232	246.14	78.60	73.86	2.93	1641.50
	未認定	27.67	84	44.71	13.32	15.16	1.89	263.16
	合計	142.76	316	223.09	39.34	48.48	1.89	1641.50



報告書

Total TEQ		平均値	度数	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	75.80	114	76.61	48.95	51.24	5.60	389.70
	未認定	26.13	31	15.24	22.60	22.39	7.50	66.40
	合計	65.18	145	71.22	43.40	42.93	5.60	389.70
女	認定	177.77	118	172.35	124.75	110.35	6.80	980.30
	未認定	42.85	53	33.75	32.60	32.68	3.80	174.10
	合計	135.95	171	157.19	69.70	75.68	3.80	980.30
合計	認定	127.66	232	143.27	68.15	75.70	5.60	980.30
	未認定	36.68	84	29.38	28.75	28.42	3.80	174.10
	合計	103.48	316	130.00	50.25	58.34	3.80	980.30

図 7 2004 年度検診受診者の血中ダイオキシン類濃度

分担研究報告書

油症患者血液中の PCDF 類実態調査

分担研究者	吉村健清	福岡県保健環境研究所	所長	
研究協力者	梶原淳睦	福岡県保健環境研究所	生活化学課	専門研究員
	中川礼子	福岡県保健環境研究所	生活化学課	課長
	片岡恭一郎	福岡県保健環境研究所	情報管理課	課長
	松枝隆彦	福岡県保健環境研究所	計測技術課	専門研究員
	平川博仙	福岡県保健環境研究所	生活化学課	専門研究員
	堀 就英	福岡県保健環境研究所	生活化学課	研究員
	飛石和大	福岡県保健環境研究所	計測技術課	研究員
	芦塚由紀	福岡県保健環境研究所	生活化学課	主任技師
	安武大輔	福岡県保健環境研究所	計測技術課	主任技師
	小野塚大介	福岡県保健環境研究所	情報管理課	主任技師
	村田さつき	福岡県保健環境研究所	生活化学課	技師
	高尾佳子	福岡県保健環境研究所	情報管理課	技師
	戸高 尊	九州大学医学部	学術研究員	
	井上 英	厚生労働省	リサーチレジデント	
	飯田隆雄	北九州生活科学センター	理事長	

研究要旨 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確立し、油症一斉検診受診者の中で血中ダイオキシン類検査希望者（平成 14 年度 371 名、15 年度 343 名、16 年度 316 名、17 年度 351 名）の血中ダイオキシン類濃度を明らかにした。その結果、各年の検査希望者中の油症認定患者の各年の平均 Total TEQ はそれぞれ 136.4, 125.0, 126.1, 124.2 pg/g lipid であった。対照群として平成 16 年度に福岡県内の一般住民 127 名の血液中ダイオキシン類の調査を行った結果は、Total TEQ 37.4 pg/g lipid であり、受診認定者の血液中ダイオキシン類濃度は一般住民の約 3.3～3.6 倍高かった。平成 14 年から 17 年まで 4 年連続して油症一斉検診を受診した 138 名の連続受診者の血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の特徴は、年齢が高いほど高く、女性は同年代の男性よりも高い値を示した。経年変化は高濃度の群では緩やかな減少も認められるが、低濃度群ではほとんど変化していない。平成 18 年度の油症一斉健診の血中ダイオキシン類検査希望者（約 430 件）については現在、測定中である。

A. 研究目的

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。このうち 1984 年までに約 1,860 人が油症患者として認定された。その後、2004 年に血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 値が新たな診断基準に加えられ、2004-2006 年に

新たに 39 名の患者が認定されている。油症認定患者のうち 1,400 人程が生存しており福岡、長崎両県をはじめ関東以西の各都府県に居住している。油症患者診定委員会の資料作成および油症認定患者の治療と追跡調査のため毎年全国で油症一斉検診が行われ、平成 17 年度には 362 名が受診した。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、原因物質の体内濃度と症状の関係を追跡調査することが重要である。

本研究では、当所で開発した微量高感度のダイオキシン類分析法を用いて油症一斉健診の血中ダイオキシン類検査希望者の血中ダイオキシン類異性体別濃度を明らかにし、受診認定者と一般健常人の血中ダイオキシン類の濃度および組成を比較した。

また、平成 14 年から平成 17 年の油症一斉検診受診者（延べ 1381 名）のうち 4 年連続して受診した 138 名の油症認定患者の性別、年齢群別の血中ダイオキシン類濃度を算出し、経年変化を解析した。

さらに、精子の数や運動能等と血中ダイオキシン類濃度との関係解明の基礎資料を得るため、一般成人男子（123 件）の血中ダイオキシン類濃度を測定した。

B. 研究方法

（1）ダイオキシン類分析法及び信頼性確保

血中ダイオキシン類の測定は、平成 13 年に当所で開発した超高感度分析法^{1), 2)}で行った。油症健診に対応できる分析体制を構築するため、抽出、精製、及び検出測定の実行操作全般にわたって最新の機器と技術を導入し、様々な改善を行っている。一方、試料

の少量化、検査の高感度化に伴って、分析結果の信頼性を確保するため分析試料 22 件につき操作ブランク試験 1 件、内部精度管理としてコントロール血清 1 件の分析を行い分析データの信頼性を確保した。

（2）血中ダイオキシン類検査試料

血液試料は平成 13 年度に福岡県の油症一斉検診受診者 81 名、翌平成 14 年からは全国の油症一斉検診受診者を対象に平成 14 年度 371 名、平成 15 年度 343 名、平成 16 年度 316 名、平成 17 年度 351 名、合計延べ 1462 名の血中ダイオキシン類検査希望者から採取した。また、平成 17 年度は精子の数や運動能等と血中ダイオキシン類濃度との関係解明の基礎資料を得るため、一般成人男子 123 件について血中ダイオキシン類調査を実施した。血液はヘパリン入り真空採血管を用いて採血し、検査まで 4℃以下で冷蔵保存した。平成 18 年度調査（約 430 件）については現在、分析中である。

（3）油症患者血中ダイオキシン類濃度の解析

平成 14 年から平成 17 年の油症一斉検診受診者の内ダイオキシン類検査を希望した受診者延べ 1381 名のうち 4 年連続して検診を受診した連続受診者 138 名の血中ダイオキシン類濃度を性別、年齢群別に集計し経年変化を解析した。

（倫理面への配慮）

血中ダイオキシン類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究成果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は存在しない。

C. 結果及び考察

(1) ダイオキシン類分析結果及び信頼性確保

(1)-1. ブランク補正

平成 17 年度の油症ダイオキシン類検査では 18 ロットの分析を行い、そのつどブランク試験を行った。そのうち 2 回は OCDD および PCB#77 のブランク値が高かったため再精製を行った。ブランク値上昇の原因は機材搬入に伴う外部汚染の持ち込み、ASE 抽出機のチューブ汚染によることが判明し、速やかに汚染原因を除去した。ブランク試験結果と血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル³⁾の定量下限値と比較すると、2, 3, 7, 8-TCDD、1, 2, 3, 7, 8-PeCDD、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD、OCDD、2, 3, 7, 8-TCDF、1, 2, 3, 7, 8-PeCDF、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF、PCB#77 はブランク値が定量下限値の 40% 以上となっており、分析ロットごとにブランク補正を行った。

(1)-2. コントロール血清の分析

各分析ロットに対してコントロール血清（コンセーラ L）5g を分析した。表 1 にコントロール血清のダイオキシン類実測値を示した。主な異性体濃度の CV 値は約 10% 以下と良好な結果であった。従って、今年度も血中ダイオキシン類濃度の各分析ロット間の分析精度のばらつきは非常に小さく抑えることができた。

(1)-3. 油症一斉検診受診者の血中ダイオキシン類分析

表 2 に平成 13 年から 17 年までに実施した油症一斉検診血中ダイオキシン類濃度の調査結果を示す。また、平成 16 年度に福岡県で実施した一般住民の血中ダイオ

キシン類濃度も示した。各年の受診認定者の平均 Total TEQ は 136.4, 125.0, 126.1, 124.2 pg/g lipid であった。対照群の一般住民 127 名の Total TEQ は 37.4 pg/g lipid であり、受診認定者の血液中ダイオキシン類濃度は一般住民の約 3.3~3.6 倍高いことが判った。血中のダイオキシン類の化合物の種類別の構成を比較した図 1, 2 から分かるように受診認定者では一般住民と比べて、PCDF 類の濃度が高く、異性体別では 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF および 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF の 3 つの PCDF 同族体が特に高い。また、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の最大値は 4 年間を通して同一の患者であるが、1,771、1,890、1,953、1,642 および 1,673 pg/g lipid でほぼ一定の値であった。

(2) 油症一斉検診連続受診者の血中ダイオキシン類濃度の解析結果

平成 14 年から平成 17 年の 4 年連続受診者は 138 名（平均年齢 66.7 歳）であった。その性および年齢群別の内訳を表 3 に示した。男性 66 名（平均年齢 66.9 歳）、女性 72 名（平均年齢 66.5 歳）で、年齢群別では 70 歳代が 53 名で最も多く次いで 60 歳代 38 名、50 歳代 27 名の順であり、油症認定患者の年齢構成を反映しているものと思われる。男女別の Total TEQ の平均値は女性 (181.7 pg/g lipid) の方が男性 (75.9 pg/g lipid) の 2 倍以上高い値を示したが、女性の中に極端に血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の高い (>500 pg/g lipid) 方が 11 名存在し平均値を押し上げていた。男女各年齢群の平成 14 年度 (2002) から 17 年度 (2005) の血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の経年変化を図 3 に示した。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は年齢

が高いほど高く、女性は同年代の男性よりも高い値を示した。また、濃度の高い高年齢群は緩やかに減少しているもののその他の群ではほとんど変化していない。平成 14 年に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が低濃度群 (n=32、<30 pg/g lipid)、中濃度群 (n=19、30–50 pg/g lipid)、高濃度群 (n=87、>50pg/g lipid) であった油症患者の 3 群に分け平成 2002 年から 2005 年の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の年度推移を図 4 に示した。高濃度群で若干減少しているようにも見えるが、中・低濃度群ではほとんど減少していないと推測される。

(3) 一般成人男子の血中ダイオキシン類分析

聖マリアンナ医科大学泌尿器科で採血された一般成人男子(18–22 歳)の血中ダイオキシン類の平均 Total TEQ は 11.7 pg/g lipid であり、平成 16 年に福岡県で採血された 60 歳以上の一般住民の Total TEQ 37.4 pg/g lipid の 1/3 であった。また、1 ヶ月間に 3 回採血された 39 名の血中ダイオキシン類濃度の CV 値は 2–11%で、1 ヶ月という短い間では血中ダイオキシン類の濃度はほとんど変動がないことが判かった。今後、血中ダイオキシン類濃度と精子の数や運動能等との関係の解明が期待される。

D. まとめ

血液 5 g 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した^{1,2)}。さらに、分析データの信頼性を確保するためブランク試験、コントロール試験を実施し、分析法の改良を続けている。その結果、多数の再現性の高いデータを必要とするヒト汚染実態調査である油症のデータベ

ース構築に対応することができた。また、2004 年の血中ダイオキシン濃度を加えた改訂油症診断基準による未認定者の診断にも対応するものであり、平成 15 年から 17 年に新たに 39 名の患者が認定されている。

本分析法を用いて、平成 14 年度から 17 年度の油症一斉健診受診者の血中ダイオキシン類調査を全国的に実施した^{3,4),5),6)}。さらに対照群との厳密な比較を行なうため、患者と同年齢群の一般住民の調査を実施した結果、受診認定者の血中ダイオキシン類濃度の平均値は一般人の 3.3~3.6 倍であった。平成 14 年から 17 年の油症一斉健診受診者(延べ 1381 名)のうち 4 年連続して受診した 138 名の連続受診者の血中ダイオキシン類濃度の特徴は、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は年齢が高いほど高く、女性は同年代の男性よりも高い値を示した。濃度の高い高年齢群は緩やかに減少しているもののその他の群ではほとんど変化していない。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の高低で連続受診者を 3 群に分け 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の経年変化を見ると高濃度群で若干減少しているようにも思われるが、中・低濃度群ではほとんど変化していないと推測される。

E. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

F. 参考文献

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. 厚生省：血液中のダイオキシン類測定
暫定マニュアル．平成12年12月22日
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）．福岡医誌． 2003， 94，
148-157.
4. 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. September 6-10, 2004, Berlin
Germany
5. T. Iida, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori,
T. Matsueda, K. Tobiishi, R. Nakagawa,
J. Kajiwara, D. Onozuka, D. Yasutake,
T. Yoshimura, M. Furue : Follow-up survey
of Dioxins and Related Chemicals in the
Blood of Yusho Patients in 2003. 25th
International Symposium on Halogenated
Environmental Organic Pollutants and
POPs. August 6-10, 2005, Toronto Canada
6. T. Todaka, H. Hirakawa, J. Kajiwara, K.
Tobiishi, T. Iida, T. Yoshimura,
M. Furue : Follow-up survey of Dioxins
and Related Chemicals in the Blood of
Yusho Patients in 2002-2005. 26th
International Symposium on Halogenated
Persistent Organic Pollutants. August
20-25, 2006, Oslo Norway

表1 コントロール血清中PCDDs、PCDFs及びノンオルソPCB分析値の再現性

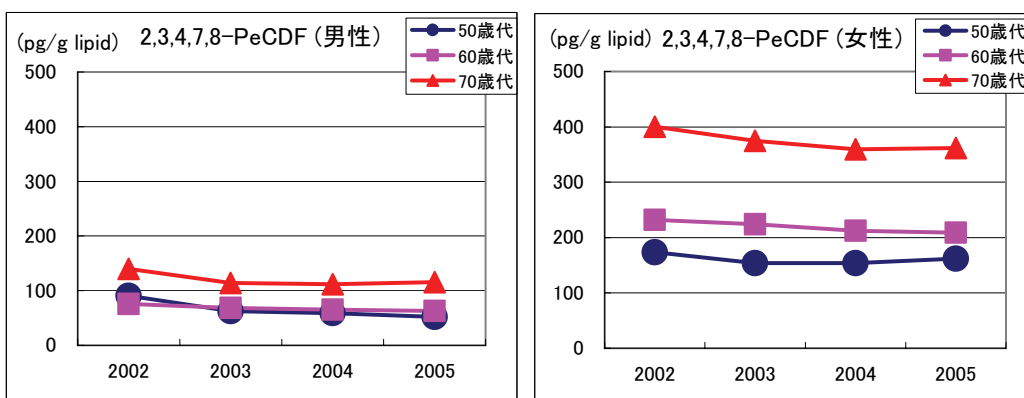
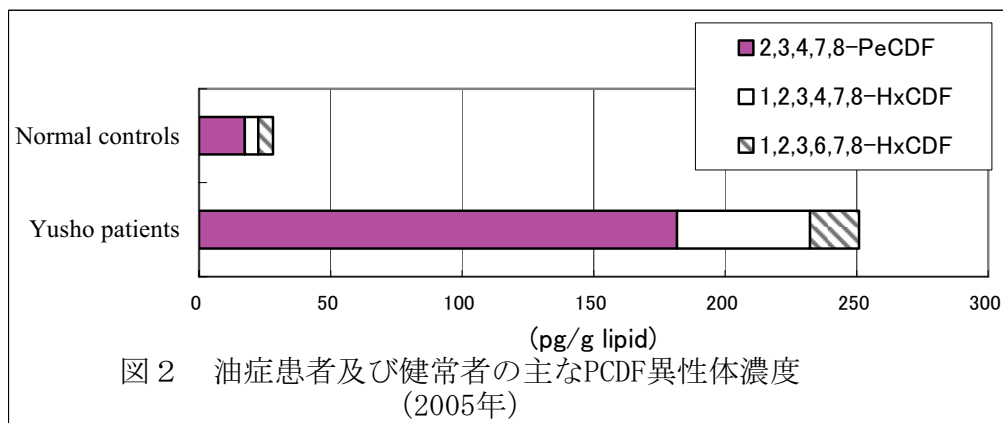
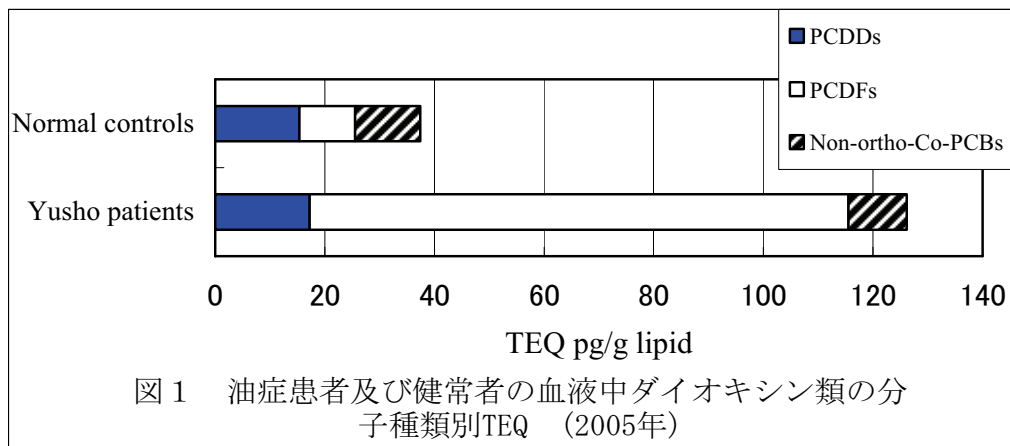
Lot.No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Mean	SD	Min.	Max.	CV
2,3,7,8-TCDD	1.9	2.2	2.3	2.1	0.5	1.2	1.8	2.0	1.7	2.4	2.4	1.9	0.57	0.5	2.4	31%
1,2,3,7,8-PeCDD	7.2	6.8	7.1	7.3	6.9	6.5	8.3	7.5	7.1	6.4	9.4	7.3	0.85	6.4	9.4	12%
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7.6	7.3	7.0	7.1	6.4	7.9	7.7	7.7	8.4	7.0	8.8	7.5	0.67	6.4	8.8	9%
1,2,3,6,7,8-HxCDD	53.3	58.7	59.6	52.0	60.4	60.5	54.6	53.8	57.7	54.3	55.3	56.4	3.06	52.0	60.5	5%
1,2,3,7,8,9-HxCDD	11.0	14.3	11.2	12.6	10.5	9.5	9.7	9.9	12.6	11.6	11.8	11.3	1.45	9.5	14.3	13%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	127.2	163.0	151.6	156.6	144.4	142.9	128.7	118.6	156.0	150.6	135.2	143.2	14.15	118.6	163.0	10%
OCDD	1370.0	1725.4	1704.9	1849.5	1724.1	1577.6	1507.0	1475.8	1476.8	1591.1	1495.3	1590.7	143.92	1370.0	1849.5	9%
2,3,7,8-TCDF	ND	2.5	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.6	1.8	0.68	1.1	2.5	39%
1,2,3,7,8-PeCDF	0.5	1.4	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.4	1.1	0.42	0.5	1.4	38%
2,3,4,7,8-PeCDF	5.0	4.7	4.4	4.2	4.9	5.0	5.0	4.8	4.5	4.9	6.2	4.9	0.51	4.2	6.2	10%
1,2,3,4,7,8-HxCDF	6.8	6.6	7.3	8.3	6.9	7.5	6.0	7.4	7.5	7.0	7.6	7.2	0.60	6.0	8.3	8%
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.1	7.3	7.1	6.6	7.2	6.9	6.6	7.3	7.3	7.0	6.8	6.9	0.38	6.1	7.3	5%
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.7	ND	ND	2.7		2.7	2.7	0%
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		ND		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	14.5	17.6	16.3	18.5	15.6	17.2	15.8	16.0	18.0	17.9	18.0	16.9	1.28	14.5	18.5	8%
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		ND		
OCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		ND		
344'5-TCB(#81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		ND		
33'44'-TCB(#77)	41.1	55.2	40.0	42.5	42.5	41.3	38.5	34.3	41.7	43.5	43.7	42.2	5.07	34.3	55.2	12%
33'44'5-PeCB(#126)	21.5	24.8	26.0	24.7	22.1	25.1	19.1	18.1	20.8	23.5	22.5	22.6	2.55	18.1	26.0	11%
33'44'55'-HxCB(169)	16.1	18.3	16.6	17.4	18.6	17.0	17.2	16.8	18.0	18.2	17.5	17.4	0.78	16.1	18.6	4%
Total PCDD	1578.3	1977.6	1943.6	2087.3	1953.2	1806.2	1717.8	1675.3	1720.4	1823.5	1718.2	1818.3	154.79	1578.3	2087.3	9%
Total PCDF	39.0	45.1	42.3	43.7	40.7	42.7	39.5	41.4	50.6	42.8	46.6	43.1	3.35	39.0	50.6	8%
Total PCDD/PCDF	1617.3	2022.7	1986.0	2131.0	1993.9	1848.9	1757.2	1716.7	1771.0	1866.3	1764.8	1861.4	155.19	1617.3	2131.0	8%
Total Non-ortho PCBs	83.6	103.3	87.7	89.6	88.1	88.4	46.3	44.9	85.5	90.2	88.7	81.5	18.44	44.9	103.3	23%
Total	1700.9	2126.1	2073.6	2220.6	2082.0	1937.3	1803.5	1761.6	1856.4	1956.5	1853.5	1942.9	165.43	1700.9	2220.6	9%
◆【WHO-98】◆																
T PCDDs-TEQ	17.7	18.8	18.8	18.4	16.7	17.1	18.7	18.0	18.4	17.8	20.9	18.3	1.10	16.7	20.9	6%
T PCDFs-TEQ	4.3	4.4	4.2	4.1	4.3	4.4	4.2	4.3	4.4	4.3	5.1	4.4	0.28	4.1	5.1	6%
T PCDDs/PCDFs-TEQ	22.0	23.2	23.0	22.5	21.1	21.5	22.9	22.3	22.8	22.1	26.1	22.7	1.29	21.1	26.1	6%
T Non-ortho PCBs-TEQ	2.3	2.7	2.8	2.6	2.4	2.7	2.1	2.0	2.3	2.5	2.4	2.4	0.26	2.0	2.8	11%
Total TEQ	24.4	25.9	25.8	25.1	23.5	24.2	25.0	24.2	25.1	24.6	28.5	25.1	1.32	23.5	28.5	5%
脂肪含量(%)	0.259	0.279	0.280	0.276	0.276	0.278	0.274	0.290	0.288	0.280	0.271	0.277	0.01	0.259	0.290	3%

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; Hp: hepta; ND: less than the determination limit; OCDD: octachlorodibenzo-p-dioxin; OCDF: octachlorodibenzofuran; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzo-p-dioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; Pe: penta; TCB: tetrachlorobiphenyl; TCDD: tetrachlorodibenzo-p-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.

表2 油症患者血中のPCDDs, PCDFs 及びノンオルゴブナールPCB濃度(2001-2005)

	Concentration (pg/g lipid)																	
	2001 (n = 78)						2002 (n = 279)						2003 (n = 269)					
	Mean			SD			Mean			SD			Mean			SD		
	Min.	Max.		Min.	Max.		Min.	Max.		Min.	Max.		Min.	Max.		Min.	Max.	
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.1	0.5	4.1	1.7	0.8	0.5	4.4	1.7	0.8	0.5	5.6	1.4	0.8	0.5	4.4	1.6	16.5
2,3,7,8-PeCDD	20.4	11.0	3.3	53.5	11.1	5.9	1.5	46.8	9.7	5.4	0.5	45.2	9.7	5.6	1.0	38.6	10.4	43.1
2,3,4,7,8-HxCDD	2.4	1.4	0.5	7.7	2.9	1.8	1.0	10.8	2.6	1.6	1.0	8.5	2.6	1.6	1.0	8.5	3.0	10.2
2,3,6,7,8-HxCDD	56.7	43.4	4.4	230.1	53.0	41.7	6.0	290.7	50.4	42.6	3.8	348.5	49.2	41.5	4.8	261.6	50.8	40.0
2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	2.3	1.0	11.0	5.1	3.8	1.0	41.0	3.9	2.7	1.0	17.9	4.3	3.1	1.0	19.3	4.8	3.2
2,3,4,6,7,8-HxCDD	26.6	20.7	5.4	143.6	63.4	53.7	10.8	556.3	38.6	22.9	8.5	167.2	49.8	25.9	13.8	195.6	46.8	30.2
2,3,4,6,7,8-HpCDD	66.7	75.0	13.7	622.63	87.2	72.8	17.2	915.68	76.3	43.8	14.7	370.6	71.6	37.0	18.0	2305.2	79.7	636.9
OCDD	1.8	2.5	0.5	14.4	1.4	0.9	0.5	6.3	1.2	0.7	0.5	4.9	1.6	0.5	0.5	9.7	3.0	3.8
2,3,7,8-TCDF	1.1	0.9	0.5	4.2	0.9	0.8	0.5	6.3	0.8	0.7	0.5	5.6	0.9	0.8	0.5	5.4	1.3	1.7
2,3,7,8-PeCDF	25.6	31.5	6.7	177.06	19.2	0.0	25.2	3.1	188.97	17.6	2.0	2.6	193.5	18.1	2.0	16.4	17.5	2.0
2,3,4,7,8-HxCDF	82.7	117.2	2.0	632.3	59.0	99.6	1.0	769.9	52.0	87.2	1.0	737.7	50.4	83.8	1.0	598.4	48.1	86.2
2,3,6,7,8-HxCDF	29.7	34.4	1.0	176.1	22.4	29.1	1.0	210.0	20.4	27.0	1.0	231.8	18.6	24.5	1.0	176.1	18.3	26.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	0.6	1.0	5.5	1.2	0.6
2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.9	2.3	1.0	10.8	3.2	4.0	1.0	39.8	2.8	2.6	1.0	22.8	2.7	3.1	1.0	32.0	2.7	2.7
2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.0	0.2	1.0	3.4	ND	ND
2,3,4,7,8,9-TCDF	2.0	0.0	2.0	2.0	0.4	2.0	0.4	2.0	9.1	2.0	0.2	5.6	2.3	2.5	2.0	37.9	2.1	1.0
2,3,4,7,8,9-TCB(81)	5.4	2.3	5.0	20.6	5.6	3.1	5.0	41.0	5.3	1.8	5.0	21.8	5.5	3.0	5.0	37.5	5.5	2.3
2,3,4,7,8-TCB(77)	7.8	4.7	5.0	28.5	11.0	7.2	5.0	46.1	8.6	6.4	5.0	71.8	11.0	8.2	5.0	69.7	11.0	20.5
2,3,3,4,4,4,5-PeCB(126)	84.4	58.5	17.8	319.5	103.1	71.7	5.0	560.9	98.1	65.3	11.2	531.7	92.3	70.4	5.0	591.8	94.6	64.4

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; Hp: hepta; ND: less than the determination limit; OCDD: octachlorodibenzo-p-dioxin; OCF: octachlorodibenzofurans; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzo-p-dioxin; TCDD: tetrachlorodibenzo-p-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.



▲: 70歳代、■: 60歳代、●: 50歳代

表 3 平成14-17年連続受診患者の性別・年齢別構成

	男性	女性	合計
50歳未満	5	3	8
50歳代	12	15	27
60歳代	16	22	38
70歳代	24	29	53
80歳以上	9	3	12
合計	66	72	138

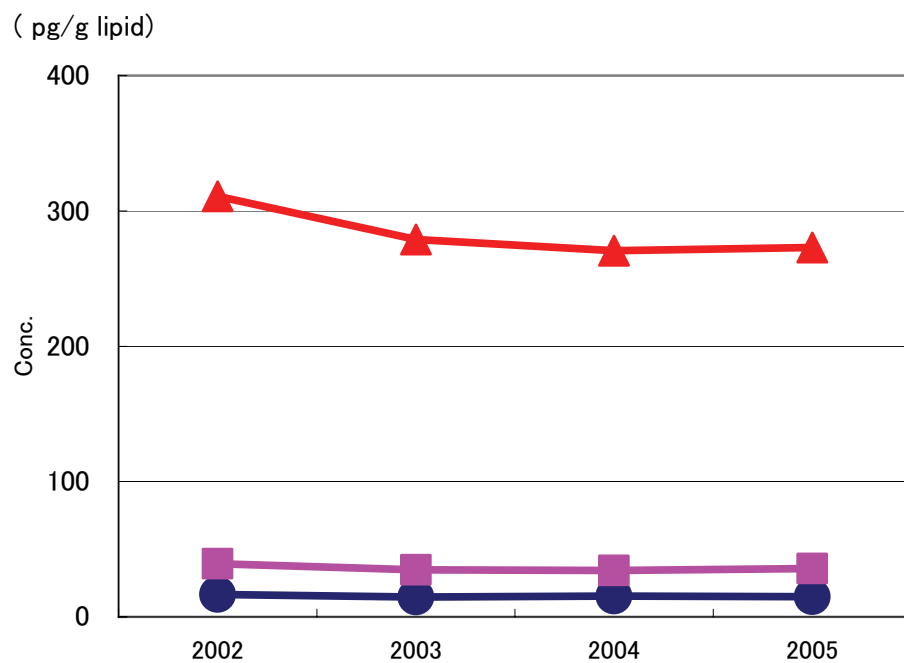


図 4 油症認定患者4年連続受診者(138名)の
2,3,4,7,8-PeCDF血中濃度経年変化

▲: 高濃度群(>50 pg/g lipid)、■: 中濃度群(30-50 pg/g lipid)、
●: 低濃度群(<30 pg/g lipid)

分担研究報告書

油症患者血液中 PCB 等追跡調査における分析法の改良およびその評価に関する研究

分担研究者	吉村健清	福岡県保健環境研究所	所長	
研究協力者	梶原淳睦	福岡県保健環境研究所	生活化学課	専門研究員
	中川礼子	福岡県保健環境研究所	生活化学課	課長
	片岡恭一郎	福岡県保健環境研究所	情報管理課	課長
	松枝隆彦	福岡県保健環境研究所	計測技術課	専門研究員
	平川博仙	福岡県保健環境研究所	生活化学課	専門研究員
	堀 就英	福岡県保健環境研究所	生活化学課	研究員
	飛石和大	福岡県保健環境研究所	計測技術課	研究員
	芦塚由紀	福岡県保健環境研究所	生活化学課	主任技師
	安武大輔	福岡県保健環境研究所	計測技術課	主任技師
	小野塚大介	福岡県保健環境研究所	情報管理課	主任技師
	村田さつき	福岡県保健環境研究所	生活化学課	技師
	高尾佳子	福岡県保健環境研究所	情報管理課	技師
	戸高 尊	九州大学医学部	学術研究員	
	井上 英	厚生労働省	リサーチレジデント	
	飯田隆雄	北九州生活科学センター	理事長	

研究要旨 油症診断基準に盛り込まれた「血中 PCB 濃度および性状」と「血中ダイオキシン類濃度」を系統的に分析する方法を検討した。その結果、血中から検出される約 70 種類の PCB 同族体をゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 及び高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析法 (HRGC/HRMS) により迅速・精密に分離分析できる分析法を開発した。さらに、この分析法により血液中のダイオキシン類と PCB 類が一回の抽出操作で精製され測定することが可能となった。この分析法を用いて平成 16、17 年度の福岡県の油症一斉検診受診者及び油症患者の年齢に一致させた一般人について個別に PCB 異性体の濃度を測定し、受診認定者と一般人の各異性体の濃度、存在比を比較した。また、血中のダイオキシン類と PCB 類濃度の相関を見ると、2,3,4,7,8-PeCDF と PCB#156 に正の相関が見られた。

A. 研究目的

「血中 PCB 濃度及び性状の異常」は油症診断基準の重要な所見のひとつである。「PCB の性状」とは、PCB のガスクロマトグラムピークパターン (GC パターン) を示しており、その異常は一般人の PCB GC パターンと異なる油症患者に特有の

GC パターンをさしている。GC パターン法は、油症患者では血中 PCB GC クロマトグラムパターンの PCB#118 を主成分とするピークが相対的に低く、PCB#156 を主成分とするピークが相対的に高いことに基づいており、PCB#153 を主成分とするピークを基準として、これに対する比を

取ること、油症患者と一般人の違いを非常に明確にすることができる。これまでに、PCB のパックドカラムによる GC パターン法が PCB#118 および PCB#156 の PCB#153 に対する相対比で置き換えられることを明らかにしてきた²⁾。すなわち、PCB#118、PCB#156 および PCB#153 の 3 つの PCB を分離定量することで、PCB 同族体パターン解析をより厳密に行うことができる。一方、我々は、全国の油症患者の血中ダイオキシン類 (PCDD : 7 種、PCDF : 10 種、ノンオルソ PCB : 4 種およびモノオルソ PCB : 8 種) を測定している^{3,4)}。これらの異なる PCB 分析 (モノオルソ PCB 分析と PCB 同族体パターンおよび総濃度分析) とダイオキシン類分析を統合的行なうことができれば効率的である。本来、正確な PCB 分析は PCB の同族体 (209 成分) の完全な分離分析を意味するが、完全な PCB の分離分析は最新の技術をもってしても非常に困難である。ヒト試料に検出される PCB は 70 種類程度に限られているので、一回の HRGC/HRMS による測定でダイオキシン類の一部である「モノオルソ PCB」と「PCB 同族体パターンおよび PCB 濃度」の分析に必要な PCB#153 を含む PCB 同族体の分析を統合的行うことは可能と考えられる。また、検診後できるだけ速やかにデータを確定するため、迅速で正確・精密な分析方法が必要である。

本研究では血中 PCB の HRGC/HRMS による異性体別分析方法の検討を行った。また試料クリーンアップ操作の効率化、迅速化を目的として多検体の自動連続精製が可能なゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を導入し、条件検討を行った。さらに、これらの検討結果をもとに、従来別個で行われていた血液中の「総 PCB 濃度および性状」測定、「モノオルソ PCB 濃度」測定及び「ダイオキシン類濃度」測定を一元化した系統的な分析法の確立を目的とした。本分析法を用いて、平成 16、17 年度の福岡県の油症一斉検診および油症患者の年齢に一致させた 60-70 代の一般人

についての血中 PCB 分析を行ったので報告する。

B. 研究方法

(1) 検査試料

油症一斉検診を受診した福岡県内の受診者のうち血液検査を行った受診者 (平成 16 年度 126 名、平成 17 年度 146 名) および油症患者の年齢に一致させた 60-70 代の一般人 (127 名) について血中 PCB 測定を実施した。血液はヘパリン入り真空採血管を用いて採血し、検査まで 4℃以下で冷蔵保存した。

(2) 試薬

n-ヘキサン、アセトン、ジクロロメタンはダイオキシン分析用 (関東化学 (株) 製) を用いた。n-ノナン、PCDD/DF 及び PCB 標準品は Wellington Laboratories 社製を用いた。

(3) 血液中 PCB 類分析法

血中 PCB 類の測定は、平成 15 年に当所で開発した血中 PCB 異性体分析法¹⁾を用いた。GPC システムは GL サイエンス (株) 製を、GPC カラムは MSpak GF-310 4D (内径 4.6mm、長さ 150mm、昭和電工 (株) 製) を用いた。測定に用いた HRGC/HRMS は HP6890 ガスクロマトグラフ (Agilent 社製)/質量分析計 Auto Spec Ultima (Micromass 社製) である。

(4) 分析試料の調製

血液 5g を正確に量り取り、クリーンアップスパイクとして ¹³C₁₂ ラベル標識の 2,3,7,8 位塩素置換体の PCDD/DF17 種類及びノンオルソ PCB 4 種類を各 50pg、さらに PCB の 3 から 10 塩素置換体 21 種類 (IUPAC#28、37、52、70、95、101、123、118、114、105、153、138、157、178、180、170、189、202、194、206、209) 各 500 pg を添加した。これを既報に従い精製を行った⁴⁾。活性炭カラムの第 1 画分 (10% (v/v) ジクロロメタン/n-ヘキサン画分) を減圧濃縮した後、ガラス製マイク

ロバイアルに移し、室温常圧下クリーンベンチ内で濃縮乾固した。アセトン 100 μ l を加えてミキサーで攪拌、この 50 μ l を GPC 精製に供した。精製後の試料にシリジスパイクとして $^{13}\text{C}_{12}$ ラベル標識の 2,3,3',5,5'-pentaCB (IUPAC#111) 250pg を添加し、全量 50 μ l として HRGC/HRMS 測定試料とした。

(倫理面への配慮)

血中 PCB 類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究成果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は存在しない。

C. 結果及び考察

1-1. 油症健診受診者の血中 PCB 類分析

表 1 に平成 16 年(2004)、平成 17 年(2005)に実施した福岡県の油症一斉検診受診者の血中 PCB 類分析結果及び平成 16 年に採血した一般人の血中 PCB 類分析結果を示した。各年の総 PCB 濃度は平成 16 年(2004)が 1.88ppb、平成 17 年(2005)が 1.93ppb で一般人の総 PCB 濃度 1.34ppb と比べ若干高い程度であるが、A パターンの 43 人の平均総 PCB 濃度は 2.59ppb で一般人の約 2 倍である。異性体別では PCB#74、PCB#188 は一般人に比べ低く、PCB#156、#157、#165、#189、#202 等が高い。

平成 16 年と平成 17 年の測定データを比較するため両年に連続して受診した福岡県の油症一斉検診受診者 77 名について変化を解析した。77 名のうち油症認定患者は 61 名、未認定者は 16 名であった。平成 16 年の PCB パターン分析の結果は認定患者では A パターン 35 名、B パターン 19 名、BC パターン 5 名、C パターン 15 名であり、未認定者は B パターンと BC パターンが 1 名ずつ、その他はすべて C パターンであった。平成 16 年から 17 年での PCB パターンの変化は B パターンの認定患者と、C パターンの未認定者が 1 名ずつ減り BC パターンに変わった。3 塩素

から 10 塩素の各 PCB 同族体の濃度変化を図 1 に示した。血中 PCB 類濃度は 3、4 塩素体は一般人のほうが高いが、5 塩素体以上は油症認定患者の方が高い。平成 16 年と 17 年の比較では平成 17 年のほうが若干高いがほぼ 10%程度の変化で測定誤差の範囲内と思われる。PCB パターン分析に必要な PCB#118、#153、#156 の濃度の比較を図 2 に示した。油症認定患者は一般人に比べ PCB#118 が低く、PCB#156 が高い特徴的なパターンを示した。各異性体濃度は平成 17 年の値が若干高いがほぼ同率で上昇しているため、PCB パターン分析には影響なかった。

血中 PCB 類異性体濃度とダイオキシン類濃度の関係を解析するため、図 3 に油症認定患者の血中 PCB#156 と 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の比較を示した。ライスオイル中に含まれていた PCB#156 と 2,3,4,7,8-PeCDF の血中濃度には正の相関が認められる。

D. まとめ

GPC 装置でクリーンアップ操作を行うことにより、血中 PCDD、PCDF およびノンオルソ PCB 分析と同時に、モノオルソ PCB 分析と PCB パターン並びに総濃度の分析が系統的行えるようになった。その結果、モノオルソ PCB を含むダイオキシン類、PCB 濃度および PCB パターンのすべての油症診定、追跡調査のデータを同時に確定することが出来るようになった。

一般人 127 名と福岡県の油症一斉検診受診者のうち血液検査を行った受診者(平成 16 年度 126 名、平成 17 年度 146 名)の血中 PCB 濃度を比較したところ、油症患者の年齢に一致させた 60-70 代の一般人の総 PCB 濃度レベルに対し油症患者の A パターンの総 PCB 濃度レベルは約 2 倍であった。PCB パターンはほとんど変化していない。PCB 同族体の存在比を比較すると油症患者は一般人に比べ PCB#118 が低く、PCB#156 が高い特徴的なパターンを示した。

血中 PCB 類異性体濃度とダイオキシン類濃度の関係を解析した結果、PCB#156 と 2,3,4,7,8-PeCDF の血中濃度には正の相関が認められた。

E. 知的財産権の出願・登録状況

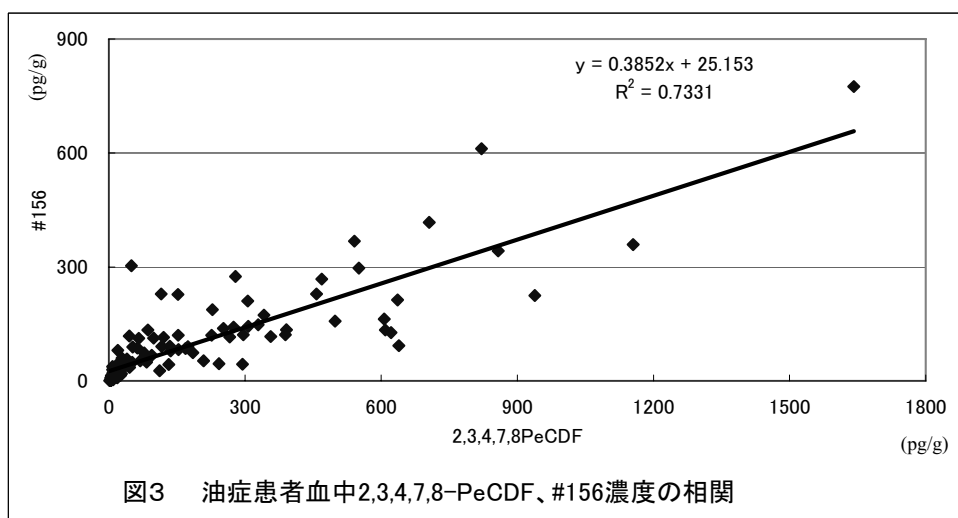
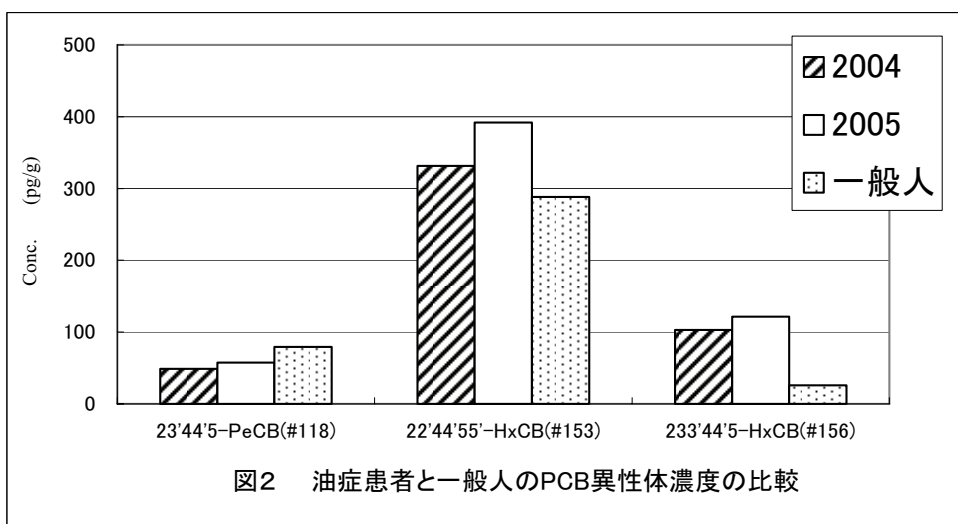
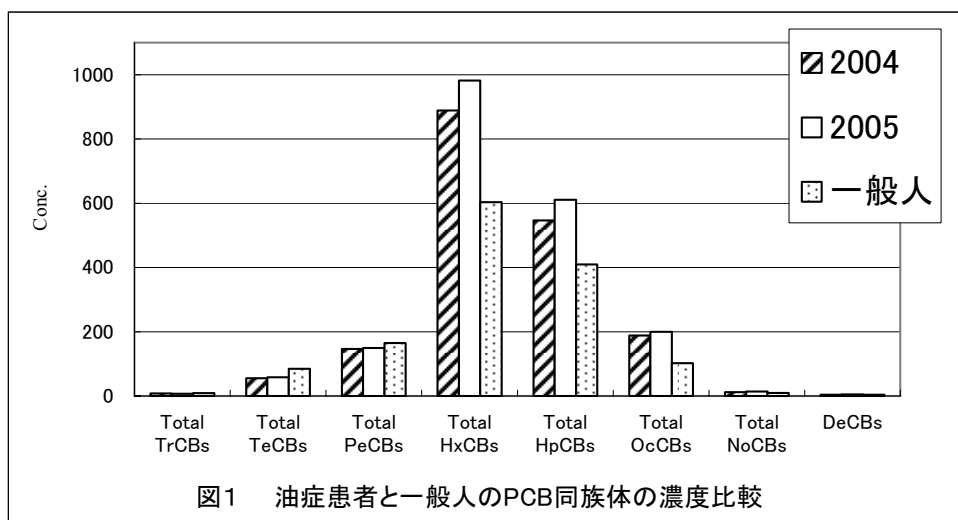
なし。

F. 参考文献

- 1) 堀 就英、飛石和大、芦塚由紀、中川礼子、戸高 尊、平川博仙、飯田隆雄：ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 及び高分解能ガスクロマトグラフィー／高分解能質量分析法 (HRGC/HRMS) による血中 PCB 異性体分析．福岡医誌 96：220-226, 2005.
- 2) 中川礼子、芦塚由紀、堀 就英、平川博仙、飛石和大、飯田隆雄：血中 PCB パターン判定における従来法と異性体分析法の同等性について．福岡医誌 94：144-147, 2003.
- 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)．福岡医誌 94:126-135, 2003.
- 4) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Iida T : New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Acta Med. 94 : 148-157, 2003.
- 5) 劔持堅志他：第 11 回環境化学討論会要旨集 P164-165, 箱根町, 2002 年 6 月 3 日～5 日.

表1 油症患者及び一般人の血中のPCB濃度 (pg/g)

	油症患者								一般人			
	2004 (n=99)				2005 (n=92)				2004 (n=127)			
	平均	標準偏差	最小	最大	平均	標準偏差	最小	最大	平均	標準偏差	最小	最大
245-TrCB(#29)	0.1	0.1	0.0	0.4	0.2	0.1	0.0	0.9	0.1	0.1	0.0	0.3
244'-TrCB(#28)	6.1	3.7	0.0	27.4	4.5	5.5	0.0	28.1	8.5	6.2	2.3	43.3
344'-TrCB(#37)	1.5	1.6	0.0	10.3	0.1	0.5	0.0	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0
22'55'-TeCB(#52)	4.4	2.2	1.5	16.5	3.4	7.2	0.0	58.9	4.1	2.6	1.3	16.1
22'45'-TeCB(#49)	1.1	0.4	0.4	3.0	1.7	2.4	0.1	16.5	1.0	0.4	0.3	2.3
22'44'-TeCB(#47)	2.2	0.7	1.0	4.9	2.8	3.4	0.1	22.5	1.9	0.6	0.8	4.6
22'35'-TeCB(#44)	1.7	0.7	0.7	7.5	2.7	4.1	0.5	27.8	1.5	0.5	0.3	3.3
23'46'-TeCB(#71)	0.8	0.4	0.0	3.8	0.1	0.4	0.0	3.3	0.6	0.2	0.0	1.2
234'5'-TeCB(#63)	0.3	0.2	0.1	1.1	0.2	0.2	0.0	1.0	0.5	0.3	0.1	2.0
244'5'-TeCB(#74)	35.0	33.7	0.0	200.8	31.8	35.5	0.0	180.5	63.4	36.4	12.1	235.0
23'4'5'-TeCB(#70)	1.0	0.4	0.2	3.5	1.4	3.0	0.0	21.4	0.8	0.3	0.2	2.2
23'44'-TeCB(#66)	5.0	4.7	1.0	40.5	5.6	4.5	0.0	26.8	7.7	6.6	1.4	40.2
233'4'-/2344'TeCBs(#56/60)	2.4	1.9	0.4	11.5	2.2	1.8	0.0	9.9	2.9	2.6	0.5	16.2
22'35'6'-PeCB(#95)	2.7	1.1	1.0	6.9	3.4	4.5	0.0	32.0	2.7	1.3	0.9	9.5
22'355'-PeCB(#92)	2.0	1.3	0.3	7.3	2.5	2.0	0.0	9.7	2.8	2.2	0.5	15.6
22'455'-PeCB(#101)	5.4	3.5	1.1	19.1	6.7	5.6	0.0	30.5	6.1	4.1	1.3	26.3
22'44'5'-PeCB(#99)	55.2	53.3	2.4	320.2	75.5	74.3	5.1	413.5	40.4	22.3	10.2	120.7
234'56'-PeCB(#117)	5.1	6.0	0.4	33.6	7.1	9.7	0.0	53.5	3.0	2.2	0.6	14.0
22'345'-PeCB(#87)	2.9	2.3	0.6	13.3	3.4	2.9	0.0	13.2	2.2	1.2	0.6	8.2
22'344'-PeCB(#85)	0.6	0.4	0.0	2.8	0.5	0.6	0.0	2.2	0.7	0.4	0.2	2.8
233'4'6'-PeCB(#110)	1.3	0.7	0.4	3.9	2.3	2.2	0.2	14.1	1.3	0.5	0.4	2.9
233'4'5'-PeCB(#107)	2.0	1.5	0.2	12.3	2.4	1.5	0.0	7.9	3.2	2.5	0.6	16.7
2'344'5'-PeCB(#123)	0.8	0.7	0.0	3.6	0.8	0.7	0.0	3.8	1.5	1.1	0.2	8.0
23'44'5'-PeCB(#118)	45.5	35.3	1.9	206.0	57.1	38.8	8.2	205.7	79.2	50.0	15.9	362.4
2344'5'-PeCB(#114)	7.3	7.2	0.0	45.0	5.1	7.2	0.0	50.4	5.5	2.8	1.6	16.6
233'44'-PeCB(#105)	9.7	7.7	0.6	53.5	12.0	8.1	2.1	40.7	16.6	11.9	3.0	77.8
22'355'6'-HxCB(#151)	3.3	2.8	0.4	21.4	4.3	4.2	0.5	31.2	4.0	2.9	0.8	18.2
22'33'56'-HxCB(#135)	1.3	0.9	0.2	5.9	1.6	1.3	0.0	8.0	1.5	0.9	0.4	6.3
22'34'56'-HxCB(#147)	1.6	1.1	0.0	6.4	1.5	1.5	0.0	7.3	1.6	1.0	0.1	6.1
22'344'6'-HxCB(#139)	2.5	1.9	0.3	11.4	3.5	2.3	0.3	10.9	2.6	1.5	0.4	9.5
22'33'56'-HxCB(#134)	0.1	0.1	0.0	0.4	0.0	0.1	0.0	0.7	0.1	0.1	0.0	0.5
233'5'6'-HxCB(#165)	32.8	34.8	0.0	204.0	4.6	20.6	0.0	130.8	0.0	0.0	0.0	0.0
22'34'55'-HxCB(#146)	56.1	39.1	3.1	244.9	75.8	54.5	5.0	332.7	44.5	21.2	15.2	152.9
22'33'46'-HxCB(#132)	0.9	0.6	0.1	3.6	0.8	0.9	0.0	4.4	0.9	0.6	0.0	3.7
22'44'55'-HxCB(#153)	334.0	204.3	18.2	1069.0	428.7	267.0	37.6	1481.2	288.1	130.0	93.5	879.2
22'3455'-HxCB(#141)	0.8	0.6	0.0	3.5	0.8	0.9	0.0	5.1	1.0	0.7	0.1	4.9
22'344'5'-HxCB(#137)	21.1	23.4	0.5	156.5	26.3	32.7	0.9	212.7	9.6	4.7	2.9	32.8
22'33'45'-HxCB(#130)	14.4	15.3	0.8	95.3	17.6	20.9	0.7	132.6	8.4	5.1	1.9	34.8
233'4'5'6'-HxCB(#164)	97.0	70.2	4.9	385.9	95.7	81.1	4.5	506.8	62.0	32.0	0.0	194.5
22'344'5'-HxCB(#138)	192.3	161.1	7.0	940.8	255.2	228.7	16.9	1413.4	131.6	64.4	40.9	421.3
22'33'44'-HxCB(#128)	2.1	1.7	0.2	14.0	2.8	1.9	0.6	9.1	2.8	1.7	0.4	9.2
23'44'55'-HxCB(#167)	9.4	6.6	0.4	31.5	12.9	8.1	1.1	38.3	11.8	5.9	3.4	46.7
233'44'5'-HxCB(#156)	107.8	126.0	1.7	775.1	142.1	168.2	1.4	888.9	25.7	12.7	8.9	91.8
233'44'5'-HxCB(#157)	29.5	35.0	0.3	212.2	40.2	48.4	0.4	261.9	6.5	3.0	2.3	21.3
22'33'566'-HpCB(#179)	0.6	0.4	0.1	2.5	0.5	0.6	0.0	3.4	0.7	0.4	0.1	3.0
22'33'55'6'-HpCB(#178)	20.0	10.9	0.9	59.3	24.4	12.2	2.3	73.0	19.9	9.6	7.4	62.0
22'344'5'6'-HpCB(#182)	90.9	49.9	6.0	253.4	113.0	57.0	11.2	350.4	89.9	43.9	31.9	276.0
22'344'5'6'-HpCB(#183)	23.4	15.1	1.9	71.3	31.1	19.1	2.5	101.2	19.8	10.0	6.5	58.9
22'344'5'6'-HpCB(#181)	1.3	1.8	0.0	10.0	1.7	2.4	0.0	13.3	0.2	0.2	0.0	0.8
22'33'4'56'-HpCB(#177)	21.2	13.3	2.1	61.7	24.9	15.8	1.7	88.9	18.5	9.7	5.1	60.0
22'33'455'-HpCB(#172)	15.8	11.7	0.7	66.7	19.0	14.8	0.9	92.0	9.5	4.7	3.4	31.3
22'344'55'-HpCB(#180)	260.9	159.1	10.5	833.0	316.6	200.6	24.0	1235.5	189.8	91.7	74.0	650.3
233'44'5'6'-HpCB(#191)	5.8	5.7	0.1	32.8	7.3	7.8	0.4	49.1	2.4	1.1	0.9	6.6
22'33'44'5'-HpCB(#170)	103.9	81.7	2.4	492.7	137.8	114.7	6.6	699.1	55.2	27.0	21.8	183.7
233'44'55'-HpCB(#189)	14.3	14.8	0.1	84.5	19.6	19.8	0.4	101.8	3.4	1.6	1.3	11.2
22'33'55'66'-OxCB(#202)	53.5	155.7	0.0	774.6	18.3	17.5	0.0	54.7	9.0	14.8	0.0	129.5
22'33'45'66'-OxCB(#200)	8.4	27.0	0.1	173.8	3.3	2.7	0.3	10.0	2.1	4.9	0.0	38.6
22'33'45**'-OxCB(#201/198)	39.4	22.1	0.5	95.3	69.0	38.3	5.5	239.1	32.2	17.1	12.4	131.0
22'344'55'6'-OxCB(#203)	37.4	23.6	0.5	126.8	59.0	40.8	3.1	273.5	25.0	12.8	8.9	90.8
22'33'44'56'-OxCB(#195)	10.2	7.5	0.5	43.8	14.3	11.9	1.2	77.8	5.8	3.0	1.9	20.9
22'33'44'55'-OxCB(#194)	40.8	24.7	1.0	130.7	53.9	34.2	4.0	216.2	27.4	15.3	8.6	129.3
233'44'55'6'-OxCB(#205)	1.8	1.5	0.2	9.1	3.1	2.9	0.3	18.1	1.0	0.4	0.3	2.7
22'33'455'66'-NoCB(#208)	2.9	1.5	0.1	6.5	3.1	1.7	0.5	9.7	2.5	1.2	0.4	7.4
22'33'44'566'-NoCB(#207)	1.4	0.8	0.1	4.0	1.4	0.9	0.3	5.8	1.1	0.6	0.2	3.2
22'33'44'55'6'-NoCB(#206)	8.8	5.2	0.2	29.2	10.4	6.7	1.3	40.2	6.3	2.8	2.2	19.8
22'33'44'55'66'-DeCB(#209)	4.1	1.9	0.2	11.1	5.2	2.0	1.1	11.7	4.4	1.8	1.6	12.1
Total TrCBs	7.7	4.0	0.0	28.8	6.8	5.6	0.1	28.9	8.6	6.2	2.4	43.5
Total TeCBs	53.8	37.7	10.6	224.4	57.7	45.5	5.2	213.2	84.4	46.3	18.2	317.9
Total PeCBs	140.5	93.7	11.3	449.5	161.6	103.2	0.7	610.9	165.2	96.0	41.2	676.9
Total HxCBs	907.6	677.8	39.9	4131.0	1167.3	928.1	161.8	5245.4	603.0	275.7	201.3	1908.4
Total HpCBs	558.1	345.9	25.2	1853.6	724.6	439.9	110.1	2689.7	409.4	195.7	159.2	1294.0
Total OcCBs	191.6	197.8	3.0	1043.1	208.5	130.8	22.1	857.3	102.6	57.7	37.8	416.0
Total NoCBs	13.1	7.4	0.4	39.0	14.9	9.0	2.3	55.7	9.9	4.4	2.8	29.1
DeCB	4.1	1.9	0.2	11.1	5.2	2.0	1.1	11.7	4.4	1.8	1.6	12.1
Total PCBs	1878.5	1208.7	116.2	6958.7	1935.5	1598.3	341.5	9566.9	1387.3	643.4	518.7	4600.7
脂肪含量 (%)	0.35	0.05	0.27	0.53	0.34	0.05	0.27	0.47	0.33	0.05	0.22	0.49



分担研究報告書

マイクロアレイを用いた環境化学物質代謝に関与する遺伝子多型判別法の評価

分担研究者

岸 玲子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授

研究協力者

坂 晋 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 研究員

研究の要旨

Cytochrome P450 (P450、CYP)、GSTP1、NAT2、PPAR γ 、AhR などは外来異物代謝に大きく関わっていることから、体内の環境化学物質には、体内の様々な外来異物代謝系分子の影響が考えられる。また、これまでに外来異物代謝系の様々な分子において、遺伝子多型がその活性に影響を及ぼすことが数多く知られていることから、これらの遺伝子型を迅速、簡便かつ安価に判定する方法を開発することは、非常に有益であると考え、我々は、CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、CYP2A6、CYP2C19、CYP2D6、その他の薬物代謝酵素や調整因子として、GSTP1、NAT2、AhR、PPAR γ の 10 遺伝子、28 アレルをスポットした試験版ガラスアレイと Multiplex-PCR 法を用いたマイクロアレイ法を開発した。本研究では、妊婦 380 人の DNA を用いて、このマイクロアレイ法の妥当性を検討した。その結果、マイクロアレイ法において CYP1A1 I462V、CYP1B1 L432V、GSTP1 I105V、AhR R554K 遺伝子多型について妥当性を得ることができた ((一致率、 κ 係数) が、それぞれ (0.98、0.95)、(0.97、0.92)、(0.89、0.74)、(0.94、0.90)) が、他のアレルについては、安定した発色を得るには至らなかった。そのため、今後、方法に改良を加えるなどして、精度を高めることが必要である。

A. 研究目的

Cytochrome P450 (P450、CYP) は、微生物から高等生物、哺乳動物に至るまで、多くの生物に存在している。ヒトをはじめとした動物では主に肝に存在するが、赤血球や精子など一部を除くほぼすべての臓器にも少量ながら存在することが知られている。CYP は、種々の生理活性物質の生合成や代謝の他に、多くの外来性異物代謝なども行っている。CYP には様々な分子種が存在し、巨大なスーパーファミリーを形成している。また、GSTP1 や NAT2 などは代謝の第 2 相反応を担い解毒に関

わる。さらに、PPAR、AhR などは、外来異物代謝系 CYP の分子種の調整因子であり、ダイオキシンや PCB 類、フタル酸エステルなどのリガンド受容体でもあることが知られている (1, 2)。しかし、これらの外来性異物代謝に関わる分子の遺伝子多型とダイオキシンや PCB 類などの環境化学物質の感受性についての報告は少ない。

体内の環境化学物質には、体内の様々な外来異物代謝系分子の影響が考えられること、また、これまでに外来異物代謝系の様々な分子において、遺伝子多型がその活

性に影響を及ぼすことが数多く知られていることから（3、4）、これらの遺伝子型を迅速、簡便安価に判定する方法を開発することは、非常に有益であると考え、我々は、CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、CYP2A6、CYP2C19、CYP2D6、その他の薬物代謝酵素や調整因子として、GSTP1、NAT2、AhR、PPAR γ の10遺伝子、28アレルをスッポトした試験版ガラスアレイと Multiplex-PCR 法を用いたマイクロアレイ法を開発し、妊婦 380 人の DNA を用いて、このマイクロアレイ法の妥当性を検討した。

B. 研究方法

1. 対象

本研究は、ヘルシンキ宣言に基づいて、札幌市内の産科において、インフォームドコンセントを得られた妊娠 23 週-35 週の妊婦 380 人を対象とした。対象者から、遺伝子多型を判定するために、血液を採取した。

（倫理面への配慮）

北海道大学医学研究科医の倫理委員会および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

2. マイクロアレイ法による遺伝子多型判定の妥当性評価

我々は、これまで P450 として CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、CYP2A6、CYP2C19、CYP2D6、その他の薬物代謝酵素や調整因子として、GSTP1、NAT2、AhR、PPAR γ の10遺伝子、28アレル（表 1）をスッポトした試験版ガラスアレイを開発した。対象者 380 人より抽出した DNA を鋳型として、Multiplex-PCR 法により、10 遺伝子、

28 アレルを増幅させ、ガラスアレイ上の DNA とハイブリダイズさせた。その後、ペルオキシダーゼにより発色させ、各遺伝子多型を判定した。このマイクロアレイ法の妥当性を、380 サンプルについて、遺伝子多型の判別としては信頼性の高い TaqMan 法ならびに Allelic discrimination 法を用いた結果から κ 統計量を計算し一致率の検定を行うことにより、検討した。

表 1 マイクロアレイ上の遺伝子とその機能

遺伝子	機能
<i>CYP1A1</i> (①I462V)	ベンツピレン代謝、肺がんリスク
<i>CYP1A2</i> (②-3860A>G)	変異により活性低下、TCDD により AhR 依存的に発現誘導
<i>CYP1B1</i> (③A119S, ④L432V)	TCDD により AhR 依存的に発現誘導
<i>CYP2A6</i> (⑤ <i>del</i> , ⑥ I471T)	ニトロソアミン→発ガン性ニトロソアミン、活性低下
<i>CYP2C19</i> (⑦636G>A, ⑧681G>A)	活性低下,(S)-mepheytin 代謝
<i>CYP2D6</i> (⑨P34S)	多くの薬物代謝に関わる。多型により活性低下
<i>GSTP1</i> (⑩I105V)	ダイオキシン類による第 2 相薬物代謝酵素
<i>NAT2</i> (⑪R197Q, ⑫G286E)	薬物代謝酵素
<i>AhR</i> (⑬R554K)	外来異物を受容し、P450 遺伝子発現誘導 (CYP1A,1B)
<i>PPARγ</i> (⑭P12A)	P450 遺伝子発現誘導 CYP4A、変異により機能低下

C. 研究結果

試験版ガラスアレイにスポットした 10 遺伝子、28 アレルのうち、CYP1A1 I462V、CYP1B1 L432V、GSTP1 I105V、AhR R554K については、安定した発色を得ることができたが、他のアレルについては安定した発色を得ることができなかった。

安定した発色を得ることができた CYP1A1 I462V、CYP1B1 L432V、GSTP1 I105V、AhR R554K について、今回の対象者である妊婦 380 人の多型頻度は表 2 のようであった。また、これらの判定結果について、信頼性の高い TaqMan 法での結果と比較することにより評価した。その結果、CYP1A1 I462V、CYP1B1 L432V、GSTP1 I105V、AhR R554K について、(一致率、 κ 係数) はそれぞれ (0.98、0.95)、(0.97、0.92)、(0.89、0.74)、(0.94、0.90) であった。(表 3)。

表 2 マイクロアレイ法の判定による妊婦 380 人における遺伝子多型

CYP1A1 I462V		CYP1B1 L432V	
I/I	233 (61.3%)	L/L	286 (75.2%)
I/V	132 (34.7%)	L/V	86 (22.6%)
V/V	15 (3.9%)	V/V	8 (2.1%)
Undetermined	—	Undetermined	—
GSTP1 I105V		AhR R554K	
I/I	274 (72.1%)	L/L	148 (38.9%)
I/V	96 (25.3%)	L/V	156 (41.1%)
V/V	4 (1.1%)	V/V	75 (19.7%)
Undetermined	6 (1.6%)	Undetermined	1 (0.3%)

表 3 マイクロアレイ法による結果の妥当性

遺伝子	一致率	κ 係数	<i>P</i>
CYP1A1 I462V	0.98	0.95	0.00
CYP1B1 L432V	0.97	0.92	0.00
GSTP1 I105V	0.89	0.74	0.00
AhR R554K	0.94	0.90	0.00

D. 考察

今回、CYP1A1 I462V、CYP1B1 L432V、GSTP1 I105V、AhR R554K については、マイクロアレイ法で安定した結果を得ることができた。これら 4 遺伝子 8 アレルほどの検出力であれば、遺伝子型を判定するための初期スクリーニングとして、十分活用できると考えられる。しかし、その他の遺伝子については、安定した発色はられなかった。特に、CYP2A6 I471T、NAT2 R197Q、NAT2 G286E、CYP2C19 681G>A については、発色そのものを得ることができなかった。そのため、遺伝子型を網羅的に判定するための初期スクリーニングとして、ガラスアレイ上にスポットするアレルは、CYP1A1 I462V、CYP1B1 L432V、GSTP1 I105V、AhR R554K で得られたような検出力と精度が必要であると考えられる。

本研究で CYP1A1 I462V、CYP1B1 L432V、GSTP1 I105V、AhR R554K 以外のアレルでは安定した発色を得ることができなかった原因として、PCR の正確性、ハイブリダイゼーションの条件などが原因として考えられる。今回行った multiplex PCR 法を利用したマイクロア

レイ法は、従来の PCR-RFLP 法と比較して、簡便に多くの遺伝子アレルの検出を行うことができるため、約 4000 個報告されている薬物代謝関連遺伝子の遺伝子多型を短時間で網羅的に判定するためには適した方法と考えられたが、本研究の結果から、網羅的に行うという点では、実用性が低いと考えられる。そのため、今後、方法に改良を加えるなどして、精度を高めることが必要である。現在マイクロアレイ法による遺伝子多型の解析として、Invader 法や Arrayed primer extension (APEX) 法が主流となっている。これらの方法は最終的に蛍光シグナルを検出することによって多型を判別することから、特殊な機器を必要としなくてはならない。しかし、APEX 法の原理である on chip で DNA サンプルの extension を検出する原理などを利用した方法に、最終的に本研究で用いた HRP 発色法を組み合わせることができれば、特殊な機器を必要とすることなく、より精度の高いマイクロアレイ法による遺伝子多型の判定を行うことができる可能性がある。

E. 参考文献

- 1) Chen G and Bunce NJ (2004) Interaction between halogenated aromatic compounds in the Ah receptor signal transduction pathway. *Environ. Toxicol.* 19: 480-489.
- 2) Lapinskas PJ, Brown S, Leesnitzer LM, Blanchard S, Swanson C, Cattley RC and Corton JC (2005) Role of PPARalpha in mediating the effects of phthalates and metabolites in the liver. *Toxicology* 207: 149-163.
- 3) Harper PA, Wong JMY Lam MSM and Okey AB (2002) Polymorphisms in the human AH receptor. *Chem. Biol. Interact.* 141: 161-187.
- 4) Wong JMY, Okey AB and Harper PA (2001) Human aryl hydrocarbon receptor polymorphisms that result in loss of CYP1A1 induction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288: 990-996.

F. 研究発表

1. 学会発表

坂 晋、近藤朋子、佐々木成子、加藤静恵、中島そのみ、前田信彦、飯田隆雄、西條泰明、佐田文宏、岸 玲子、「胎児期の化学物質暴露による次世代影響に関する前向きコホート研究－血液中ダイオキシン濃度とマイクロアレイを用いた遺伝子多型との関連」第 76 回日本衛生学会総会、山口県宇部市、2006 年 3 月

油症原因物質等の体外排泄促進に関する研究

分担研究者 長山 淳哉 九州大学医学部保健学科 助教授

研究要旨 カネミ患者の健康障害の改善には、現在でも患者体内に高濃度で残存する原因物質を積極的に体外へ排泄することが最も有効である。動物実験では食物繊維と葉緑素にダイオキシン類の体外排泄促進作用が示されている。そこでこの研究では食物繊維と葉緑素に富む栄養補助食品である玄米発酵食品ハイ・ゲンキ葉緑素入り (FBRA) にそのような作用が認められるかどうか、油症患者の協力により検討した。その結果、FBRA を 1 年目のみ摂取した A グループと 2 年目のみ摂取した B グループでそれぞれ FBRA の摂取により、カネミ油症の最も重要な原因物質である 2,3,4,7,8-PeCDF が 2.9% と 1.6%、1,2,3,4,7,8-HxCDF が 16.5% と 2.7%、1,2,3,6,7,8-HxCDF が 14.7% と 1.6% 血中濃度が低下し、これらの PCDFs 同族体の体外排泄が示された。そして、もともとの汚染レベルが高かった A グループのほうが B グループよりも FBRA による PCDFs 同族体の体外への排泄に効果があった。

A. 研究目的

カネミ油症の主原因物質はダイオキシン類の一種、PCDFs である。油症発症以来 38 年にわたって患者を苦しめているこの猛毒物質による健康障害を少しでも改善するための最善の方策は体外への積極的な排泄促進である。これまでの動物実験による知見では食物繊維や葉緑素がダイオキシン類を吸着し、消化管での吸収と再吸収を抑制し、体外への排泄を促進することが示唆されている^{1) 2) 3)}。そこで、この研究では食物繊維と葉緑素を比較的多量に含む栄養補助食品によるダイオキシン類の体外への排泄を血液の汚染レベルの変化にもとづく体内負荷量の変化を指標として調べた。

B. 研究方法

この研究で用いた食物繊維と葉緑素に富む栄養補助食品は株式会社玄米酵素(本社:北海道札幌市)が 30 年以上にわたって製造・販売している玄米発酵食品ハイ・ゲンキ葉緑素入り (以下 FBRA と略) である。

被験者は油症患者で、A グループは最初

の 1 年間、そして B グループは 2 年目の 1 年間 FBRA を摂取する。したがって、A グループは 2 年目の 1 年間、B グループは最初の 1 年間は自由に喫食した。

A グループは男性 3 名、女性 7 名で、平均年齢が 67.7 歳、B グループは男性 4 名、女性 4 名で、平均年齢が 64.1 歳であった。

この両グループについて、FBRA 摂取前の PCDFs 同族体による汚染レベルを調べるために 1 週間以内に 2 回の採血 (1 回当りの採血量は約 10ml) を行い、それらの濃度を平均して摂取前の各自の汚染レベルとした。

このようにして研究開始前の PCDFs による汚染レベルの判明した油症患者に対して、A グループでは最初の 1 年間、B グループは 2 年目の 1 年間、毎日毎食後 1 人当たり 2~3 包 (7.0~10.5g) の FBRA を食べていただいた。この他は A グループでも B グループでも毎日自由に喫食した。

FBRA の摂取開始 1 年後と 2 年後に、再び 1 週間以内に 2 回の採血を行い、それらの平均濃度を 1 年後および 2 年後の汚染レベルとした。これと摂取前のレベルを比

較することにより、FBRA による PCDFs の体外排泄促進効果を評価した。

C. 研究結果および考察

A グループと B グループの摂取前、1 年後および 2 年後の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF、1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF の血中平均濃度の変化は表 1 のようであった。

表 1 からわかるように、PCDFs の 3 種の同族体について、A グループのほうが平均濃度で B グループよりも 2 倍以上高い。つまり、最初の 1 年間 FBRA を摂取した、A グループのほうが B グループよりも PCDFs による汚染レベルの高い患者が多かった。

FBRA の摂取による PCDFs 各同族体の血中濃度の低下は次のようであった。() 内は各同族体の減少率である。

2, 3, 4, 7, 8-PeCDF では A グループ: 0.04 pg/g (2.9%)、B グループ: 0.009 pg/g (1.6%)。1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF では A グループ: 0.081 pg/g (16.5%)、B グループ: 0.004 pg/g (2.7%)。1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF では A グループ: 0.022 pg/g (14.7%)、B グループ: 0.001 pg/g (1.6%) であった。

このように、FBRA による PCDFs 同族体の血中濃度の低下は B グループよりも A グループで大きく、PCDFs による汚染レベルが高いほど、有効であるように思えた。

ここで、血液の脂肪含有率を 0.3% と仮定して、PCDFs 同族体の脂肪重量当りの平均濃度を算出すると、表 2 のようになる。

これらの脂肪重量当りの濃度で、体内の脂肪組織が各 PCDFs 同族体に汚染されていると考え、FBRA の摂取によりどの程度体内蓄積量が減少したのか考えてみる。まず、体重を 60kg、体脂肪率を 20% と仮定する。すると、体内には脂肪が 12kg 存在する。

FBRA 摂取前の A グループと B グループには、体内にそれぞれ 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF が 5436ng と 2280ng、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF が 1968ng と 588ng、1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF

が 600ng と 240ng 存在した。それが 1 年間 FBRA を摂取することにより、体内残留量は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF が 5280ng と 2244ng に、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF が 1644ng と 576ng に、そして 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF が 516ng と 240ng になった。これらの結果より、体内から A グループ、B グループそれぞれ 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF は 156ng (2.9%) と 36ng (1.6%)、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF は 324ng (16.5%) と 12ng (2.0%)、1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF は 84ng (14%) と 0ng 排泄されたことになる。

以上の結果から、FBRA は油症の主要原因物質であるこれら 3 種の PCDFs 同族体の体外への排泄を促進するが、体内汚染レベルの高い油症患者からの排泄がより有効と考えられた。

このような FBRA によるダイオキシン類の体外排泄促進は、これまでの我々の一般人を対象とした研究でも実証されている^{4) 5) 6) 7)}。

E. 参考文献

- 1) 森田邦正, 松枝隆彦, 飯田隆雄: ラットにおける Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins の糞中排泄に対する食物繊維の効果. *衛生化学* 43: 35-41, 1997.
- 2) 森田邦正, 松枝隆彦, 飯田隆雄: ラットにおける Polychlorinated dibenzo-p-dioxins の糞中排泄に対するクロレラ, スピルリナ及びクロロフィリンの効果. *衛生化学* 43: 42-47, 1997.
- 3) 森田邦正: 食物繊維による体内ダイオキシン類の排泄促進. *生活と環境* 43: 39-44, 1998.
- 4) Nagayama J., Takasuhga T., Tsuji H. and Iwasaki T.: Decrease in blood levels of dioxins after the one year intake of FBRA in Japanese. *Organohal. Comp.* 52: 293-296, 2001.
- 5) Nagayama J., Takasuhga T., Tsuji H., Umehara M., Sada T. and Iwasaki T.:

Active elimination of causative PCDFs/DDs congeners of Yusho by one year intake of FBRA in Japanese people.

Fukuoka Acta Med. 94: 118–125, 2003.

6) Takasuga T., Senthilkumar K., Takemori H., Ohi E., Tsuji H. and Nagayama J.: Impact of FEBRA (fermented brown rice with *Aspergillus oryzae*) intake and concentrations of PCDDs, PCDFs and PCBs in blood of humans from Japan. *Chemosphere* 57: 1409–1426, 2004.

7) Nagayama J., Takasuhga T., Tsuji H. and Iwasaki T.: Promotive excretion of causative agents of Yusho by one year intake of FBRA in Japanese people. *Fukuoka Acta Med.* 96: 241–248, 2005.

表 1. PCDFs 同族体の血中濃度の変化

同族体	血中濃度 (pg/g)*		
	摂取前	1 年後	2 年後
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF			
A グループ	1.36±1.71	1.32±1.68	1.31±1.67
B グループ	0.571±0.465	0.570±0.476	0.561±0.473
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF			
A グループ	0.491±0.734	0.410±0.609	0.423±0.648
B グループ	0.159±0.113	0.148±0.107	0.144±0.113
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF			
A グループ	0.150±0.195	0.128±0.159	0.133±0.174
B グループ	0.064±0.037	0.061±0.037	0.060±0.040

*：平均値±標準偏差

表 2. PCDFs 同族体の脂質重量当りの血中平均濃度の変化

同族体	血中平均濃度 (pg/g 脂肪)*		
	摂取前	1 年後	2 年後
2, 3, 4, 7, 8-PeCDF			
A グループ	453	440	437
B グループ	190	190	187
1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF			
A グループ	164	137	141
B グループ	53	49	48
1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF			
A グループ	50	43	44
B グループ	21	20	20

*：血液の脂肪含有率を 0.3%と仮定した。

分担研究報告書

食物成分 resveratrol による TCDD 誘発性脂肪肝軽減の試み

分担研究者 山田 英之 九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学専攻分野 教授
赤峰 昭文 九州大学大学院歯学研究院
口腔機能修復学講座 歯内疾患制御学研究分野 教授

研究協力者 石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学専攻分野 助教授
石田 卓巳 九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学専攻分野 助手
橋口 勇 九州大学大学院歯学研究院
口腔機能修復学講座 歯内疾患制御学研究分野 助手

研究要旨

当研究室では、昨年度の研究報告において、赤ワインやピーナッツの渋皮に多く含まれる植物ポリフェノールである resveratrol が、ダイオキシン類の毒性の一部を軽減することを明らかにした。本年度は、resveratrol の投与による 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性への影響を、特に誘発性脂肪肝および酸化ストレス発生を中心として検討した。その結果、TCDD と resveratrol を併用投与したマウスにおいて、TCDD 単独投与したマウスに比べ体重増加抑制の軽減、並びに肝トリグリセリド蓄積の軽減が観察された。一方、TCDD による酸化ストレスの発生、並びに肝障害に対しては顕著な改善効果は見られなかった。また、resveratrol 単回投与による影響を観察した結果、TCDD 誘発性脂肪肝に対する resveratrol の軽減効果において、酸化ストレスの関与は低いものである可能性が示された。本研究より、resveratrol の摂取は、ダイオキシン類の毒性の一部を軽減することが明らかとなった。今後は、油症患者への適応を考える上で、低用量の TCDD 曝露に対する resveratrol の効果、さらに、resveratrol による脂肪肝軽減機構の解明などが必要であると考えられる。

A. 研究目的

当研究室では、これまでに、ダイオキシン類の毒性を軽減する作用をもつ成分の探索を、主に食物成分に注目して行ってきた。その結果、赤ワインやピーナッツの渋皮に多く含まれる植物ポリフェノールである *trans*-resveratrol (resveratrol, Fig.

1) が、ダイオキシン類の一つである 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD, Fig. 1) の毒性の一部を軽減することを明らかにした(平成17年度分担研究報告書にて報告済み)。さらに、TCDD による脂肪肝を軽減する可能性があることも併せて報告している。油症患者に見られる高脂

血症や脂肪肝は、重篤な症状ではないものの、放置すると肝硬変や肝障害、さらに認知症リスクの増加など重篤な症状に発展する可能性を秘めている (1)。当研究室における昨年度の結果は、resveratrol が、この症状に対して有効な予防薬となりうる可能性を示したものであると考えられた。

以上のような背景のもと、本年度は、resveratrol の効果をさらに検証するため、resveratrol の長期間投与及び単回投与による TCDD 毒性への影響を、特に誘発性脂肪肝および酸化ストレス発生を中心として検討した。

B. 方法・結果

Resveratrol 長期間投与による TCDD 毒性への影響の検討

4 週齢 C57BL/6J 系雄性マウスを、1 群 8 匹として 1 週間程度馴化した。その後 resveratrol を経口投与し、その 90 分後に TCDD を単回経口投与した。Resveratrol、並びに TCDD の投与量は、昨年度と同一条件にするため、それぞれ 20 mg/kg、並びに 100 µg/kg とした。また、コントロール群として、resveratrol に対しては 0.2% Tween80/0.5% Methylcellulose 溶液を、TCDD に対しては corn oil をそれぞれ投与した。投与翌日より、同量の resveratrol を 1 日 1 回、28 日間連続経口投与し、各群 5 匹については、最終投与 30 分後に採血したのち、臓器の摘出を行った。摘出した肝臓については、1.15% KCl 溶液で 10% ホモジネー

トを調製し、その一部を 9,000xg で 20 分間遠心して上清を分取した。また、血液については、2,500 r.p.m. で 10 分間遠心し、その上清を分取した。いずれのサンプルも、使用するまで -80 °C に保存した。一方、残りの 3 匹については、肝臓を摘出したのち、脂肪滴観察のための肝切片の作製に用いた。

Fig. 2 に、各群の経日的体重変化を示す。図中 27 日目の矢印は、この日に TCDD 投与群のマウスが 1 匹死んだことを示している。検討の結果、TCDD 投与群に比べ併用群において、投与 16 日目以降には体重増加抑制が軽減される傾向にあった。次に、投与 28 日目における臓器重量を測定した結果、TCDD によって惹起される肝肥大、胸腺の萎縮に対して resveratrol の併用による軽減効果は認められなかった (Table 1)。さらに、各群の肝 9,000xg 上清における ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) 活性を測定した結果、TCDD 投与群で EROD 活性の顕著な上昇が観察されると共に、併用群では TCDD 投与群に比べ低値を示す傾向が観察された (Fig. 3)。以上の結果は、昨年度の結果とほぼ同じであった。各群 3 匹の肝臓より肝切片を作製し、oil red 染色にて脂肪滴の分布を観察した結果、control 群と resveratrol 投与群では、油滴 (写真中の赤色部分) はほとんど観察されなかった (Fig. 4)。これに対し、TCDD 投与群では、肝臓全体が赤く染まっており、油滴の蓄積、すなわち脂肪肝が発症しているものと推測された。一方、併用群においては、コントロール群や resveratrol 投与群に比べて油滴の蓄積が起こっているものの、

TCDD 投与群に比べその量が軽減していることが明らかとなった。しかし、肝トリグリセリド含量、並びに酸化ストレスの指標である チオバルビツール酸反応性物質 (TBARS) 値 を 測 定 し た と こ ろ、resveratrol の併用による軽減効果は認められなかった (Fig. 5 および 6)。以上の結果から、resveratrol の長期間併用は、TCDD 誘発性脂肪肝を軽減することが示唆されたが、これは単純な中性脂肪蓄積抑制では説明が難しいと考えられた。次に、脂肪肝の軽減が肝障害の軽減を引き起こしているか否か検討するため、血清中の Alanin amino transferase (ALT) 及び Aspartate amino transferase (AST) 活性を測定したが、いずれの指標とも、resveratrol による軽減効果は観察されなかった (Fig. 7)。

Resveratrol 単回投与による TCDD 毒性への影響の検討

次に、resveratrol 投与による肝臓での効果をより詳細に検討するため、resveratrol 単回投与実験を計画し、その日内変動を観察した。5 週齢 C57BL/6J 系雄性マウスを馴化後、TCDD を 100 µg/kg 単回経口投与し、その 5 日後に resveratrol を 20 mg/kg 経口投与した。コントロールとして、TCDD に対しては corn oil を、resveratrol に対しては 0.5% Methylcellulose/0.2% Tween80 溶液をそれぞれ投与した。resveratrol 投与後、その血中濃度がほぼ最大となることが報告されている投与 30 分後 (2)、もしくは

は、血中からほぼ消失すると予想される投与 3 時間後 (2) に、採血、並びに臓器の摘出を行った。摘出した 肝臓および血液は、長期間投与実験と同様の処理を行い、使用するまで -80 °C に保存した。

Fig. 8 および Table 2 には、最終投与 30 分後に採血及び臓器摘出を行った群 (以下、0.5 hr 処理群とする)、および、最終投与 3 時間後に採血及び臓器摘出を行った群 (以下、3 hr 処理群とする) における経日の体重変化および臓器重量を示している。Fig. 8 に示されるように、両時間処理群とも、各群の経日の体重変化に大きな差は見られなかった。また、これまでの報告と同様、TCDD 投与群において肝肥大および胸腺の萎縮が観察された (Table 2)。肝トリグリセリド含量と TBARS 値を測定した結果、肝トリグリセリド含量については、長期間投与実験の場合と同様、両時間処理群において TCDD 投与群と併用群との間に差は見られなかった (Fig. 9)。一方、TBARS 値については、3 hr 処理群において、併用群で TCDD 処理群に比べ有意な低下が観察された (Fig. 10)。前述の様に、resveratrol の血中濃度は投与後約 0.5 時間で最大となり、3 時間後にはほぼ 0 になることが報告されている (2)。従って、resveratrol の酸化ストレスに対する軽減効果は、血中濃度ピーク時から遅延して引き起こされ、しかも一過性である可能性が示唆された。また、両時間投与群において顕著な酸化ストレスの低下が見られなかったことから、resveratrol による TCDD 誘発性脂肪肝の軽減に、酸化ストレスの関与は低いと考えられた。

C. 考察

本研究では、昨年度の研究結果を基に、TCDD 毒性に対する resveratrol の軽減効果を、特に誘発性脂肪肝と酸化ストレスの発生に注目し検討した。その結果、resveratrol の長期間投与が TCDD による体重増加抑制を軽減する傾向にあると共に、TCDD による肝臓への脂肪滴蓄積を軽減することが明らかとなった (Fig. 2 および 4)。しかし、肝トリグリセリド含量および酸化ストレスについては、顕著な効果を観察することはできなかった (Fig. 5 および 6)。今回使用した肝トリグリセリド含量測定キットは、その測定原理として肝グリセロール含量を測定するものである。このため、グリセロールより加水分解された脂肪酸含量を反映するものではない。Resveratrol の併用による肝臓中の脂肪酸含量の変化については、異なる測定法による検討が必要であると考えられる。しかし、少なくとも、resveratrol は、酸化ストレスの低下以外の機構を介して TCDD 誘発性脂肪肝を軽減している可能性が考えられた。また、resveratrol は、TCDD による肝障害に対して軽減効果を示さなかった (Fig. 7)。これまでに、TCDD による肝障害と Cyp1a1 もしくは Cyp1a2 活性との間に何らかの関連性があるとする報告がなされている (3, 4)。また、昨年度および本年度の検討から、resveratrol の長期間投与は、TCDD による EROD 活性の上昇を 10% 前後低下させることが明らかとなっており

(Fig. 3)、resveratrol が、EROD 活性を直接的に低下させるという報告 (5, 6)とも一致している。このため、resveratrol の併用が TCDD による肝障害を軽減するという可能性が十分に予想されたが、本検討において観察することはできなかった。この原因は不明であるが、EROD 活性の低下率が肝障害の軽減を引き起こすには不十分であったこと、もしくは、resveratrol の体内からの消失速度が速いため作用発現時間が短かったことなどの要因が考えられる。次に、resveratrol の影響の日内変動を調べるため、resveratrol 単回投与実験を行った。その結果、resveratrol は TCDD 誘発性の酸化ストレスを僅かに軽減するものの、その効果と血中濃度との間に相関性は認められなかった (Fig. 10)。この結果は、resveratrol による TCDD 誘発性脂肪肝の軽減効果が、resveratrol 自身の抗酸化ストレス作用に起因するものではないことを示すものであり、長期間投与実験の結果と一致するものである。また、この結果から、resveratrol による TCDD 誘発性脂肪肝の軽減効果は、resveratrol 自身の性質によるものではなく、それにより惹起される二次的な要因によるものである可能性が考えられた。

本検討では肝臓への脂肪滴の蓄積を除いて、resveratrol による TCDD 毒性に対する顕著な軽減効果は見られなかった。しかし、今回用いた TCDD は比較的高用量であったため、毒性の方が強く発現してしまった可能性も否めない。今後、油症患者への適応を考える上で、低用量の TCDD 曝露に

対する resveratrol の効果の検討も有効であると考えられる。さらに、resveratrol による脂肪肝軽減機構の解明、もしくは、resveratrol の投与形態の変更など、今後とも更なる研究が必要であると考えられる。

D. 参考文献

- 1) Zuliani, G., Ble`A, Zanca, R., Munari, M. R., Zurio, A., Vavalle, C., Atti, A. R. and Fellin, R., Lipoprotein profile in older patients with vascular dementia and Alzheimer's disease. *BioMed. Centr. Geriatr.*, 1, 5 (2001).
- 2) Yu, C., Shin, Y. G., Chow, A., Li, A., Kosmeder, J. W., Lee, Y. S., Hirschelman, W. H., Pezzuto, J. M., Mehta, R. G. and Breemen, R. B., Human, rat, and mouse metabolism of resveratrol, *Pharm. Res.*, 19, 1907-1914 (2002).
- 3) Uno, S., Dalton, T. P., Sinclair, P. R., Gorman, A., Wang, B., Smith, A., Miller, M. L., Shertzer, H. G. and Nebert, D. W., Cypla1 (-/-) male mice: protection against high-dose TCDD-induced lethality and wasting syndrome, and resistance to intrahepatocyte lipid accumulation and uroporphyruria, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 196, 410-421 (2004).
- 4) Smith, A. G., Clothier, B., Carthew, P., Childs, N. L., Sinclair, P. R., Nebert, D. W. and Dalton, T. P., Protection of Cypla2 (-/-) null mouse against uroporphyruria and hepatic injury

exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 173, 89-98 (2001).

- 5) Ciolino, H. P. and Yeh, G. C., Inhibition of aryl hydrocarbon-induced cytochrome P-450 1A1 enzyme activity and CYP1A1 expression by resveratrol, *Mol. Pharmacol.*, 56, 760-770 (1999).
- 6) Chang, T. K. H., Chen, J. and Lee, W. B. K., Differential inhibition and inactivation of human CYP1 enzymes by trans-resveratrol: evidence for mechanism-based inactivation of CYP1A2, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 299, 874-882 (2001).

E. 研究発表

- 1) 日本薬学会第 127 年会（富山、2007 年 3 月）予定

Table 1. Effects of resveratrol on tissue weights of C57BL/6J mice treated with TCDD.

	Liver	Spleen	Thymis
	(% of body weight)		
Control (5)	5.18±0.13	0.268±0.012	0.176±0.010
Resveratrol (5)	5.14±0.10	0.239±0.007	0.153±0.008
TCDD (4)	8.59±0.15*	0.192±0.050	0.031±0.009*, ^a
TCDD+resveratrol (5)	8.58±0.50*	0.239±0.036	0.042±0.008*

The values represent the mean ± S.E. of 3-5 mice. The numbers of sample show in parenthesis. *, Significantly different from the control ($p<0.05$). ^a, n=3.

Table 2. Effects of resveratrol on tissue weights of C57BL/6J mice treated with TCDD.

	Liver	Spleen	Thymis
	(% of body weight)		
(A) 0.5 hr treatment group			
Control	5.25±0.05	0.257±0.005	0.223±0.021
Resveratrol	5.58±0.11	0.291±0.012	0.244±0.021
TCDD	7.47±0.17*	0.280±0.020	0.092±0.012*
TCDD+resveratrol	7.80±0.13*	0.285±0.007	0.096±0.006*
(B) 3 hr treatment group			
Control	5.29±0.20	0.276±0.013	0.260±0.017
Resveratrol	5.81±0.12	0.333±0.025	0.205±0.027
TCDD	6.92±0.12*	0.257±0.005	0.098±0.003*
TCDD+resveratrol	7.21±0.07*	0.256±0.009	0.102±0.009*

The values represent the mean ± S.E. of 4 mice. *, Significantly different from the control ($p<0.05$).

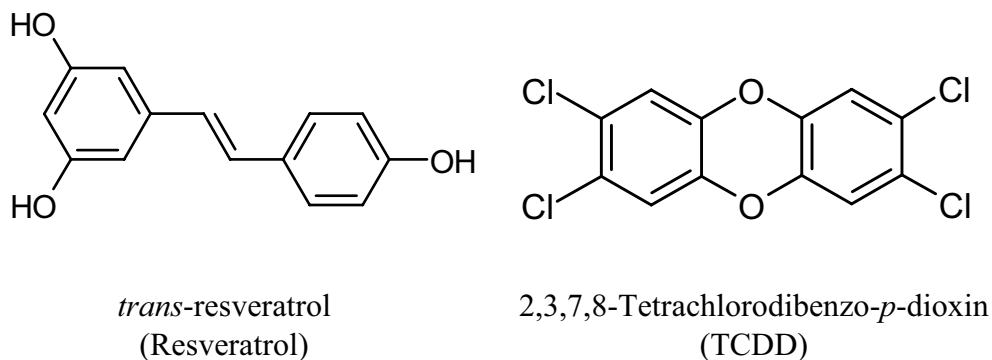


Fig. 1. Structures of resveratrol and TCDD

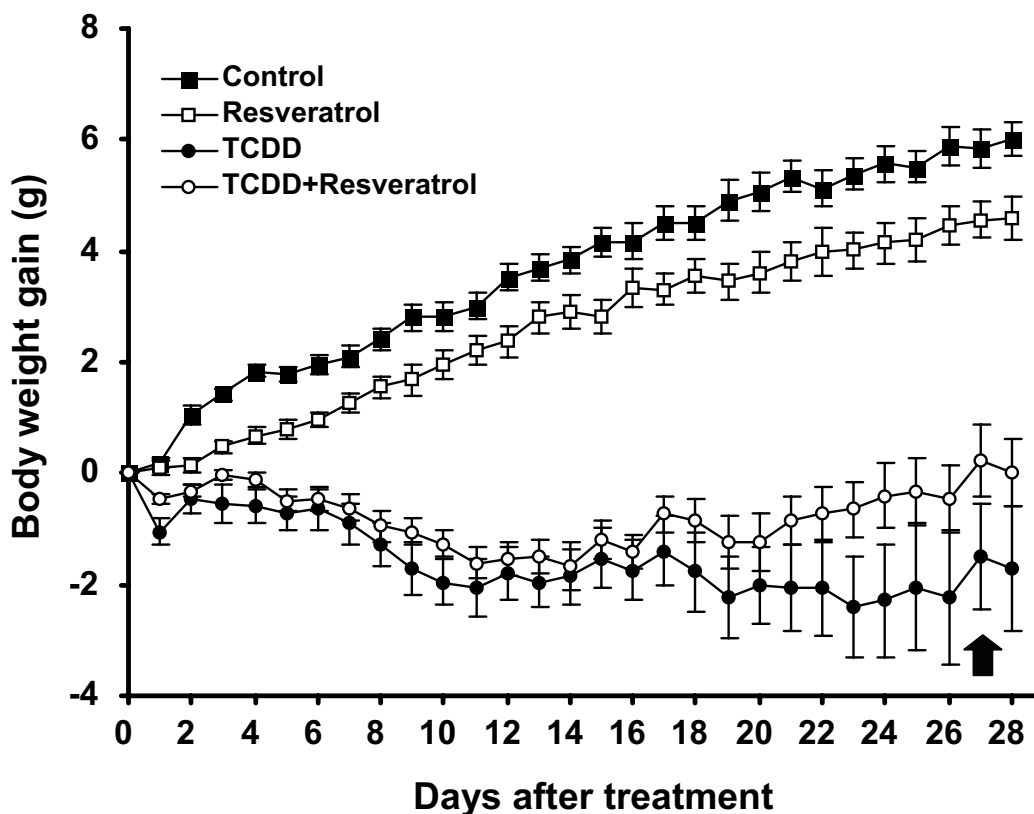


Fig. 2. Effects of resveratrol on body weight gain of C57BL/6J mice treated with TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. of 7-8 mice. The arrow represents the day when mouse died in the TCDD-treated group. The initial body weights (mean $\pm$ S.E.) of mice in control, resveratrol-treated, TCDD-treated and TCDD+resveratrol-treated mice were 18.9 ± 0.29 , 19.4 ± 0.20 , 20.2 ± 0.39 and 21.0 ± 0.33 g, respectively.

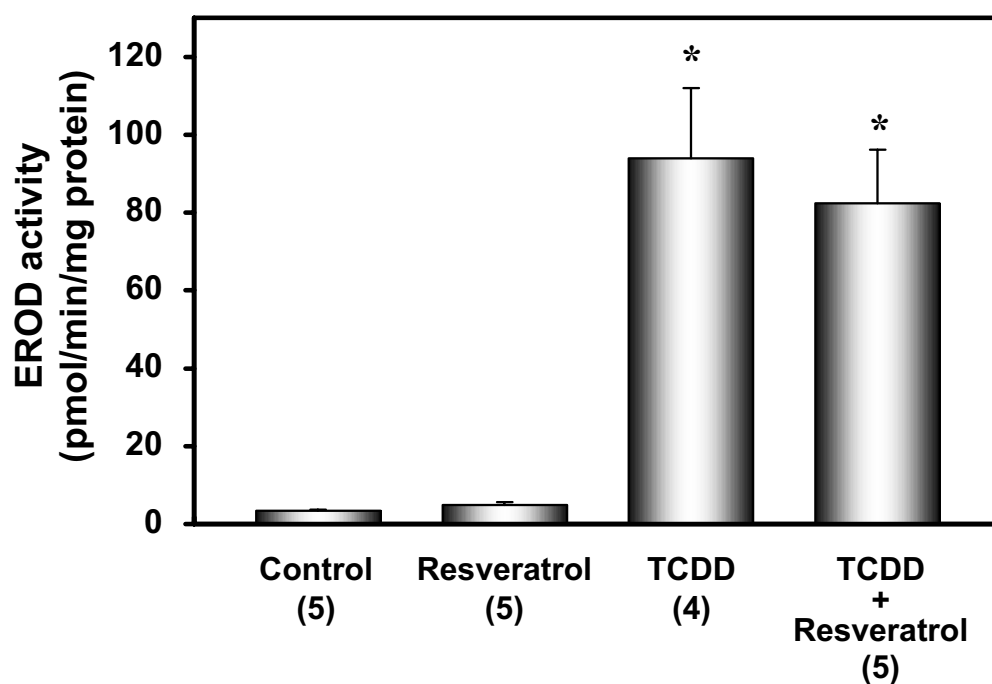


Fig. 3. Effects of resveratrol on hepatic EROD activity of C57BL/6J mice treated with TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. The numbers of sample show in parenthesis. Significantly different from control: *, $p < 0.05$.

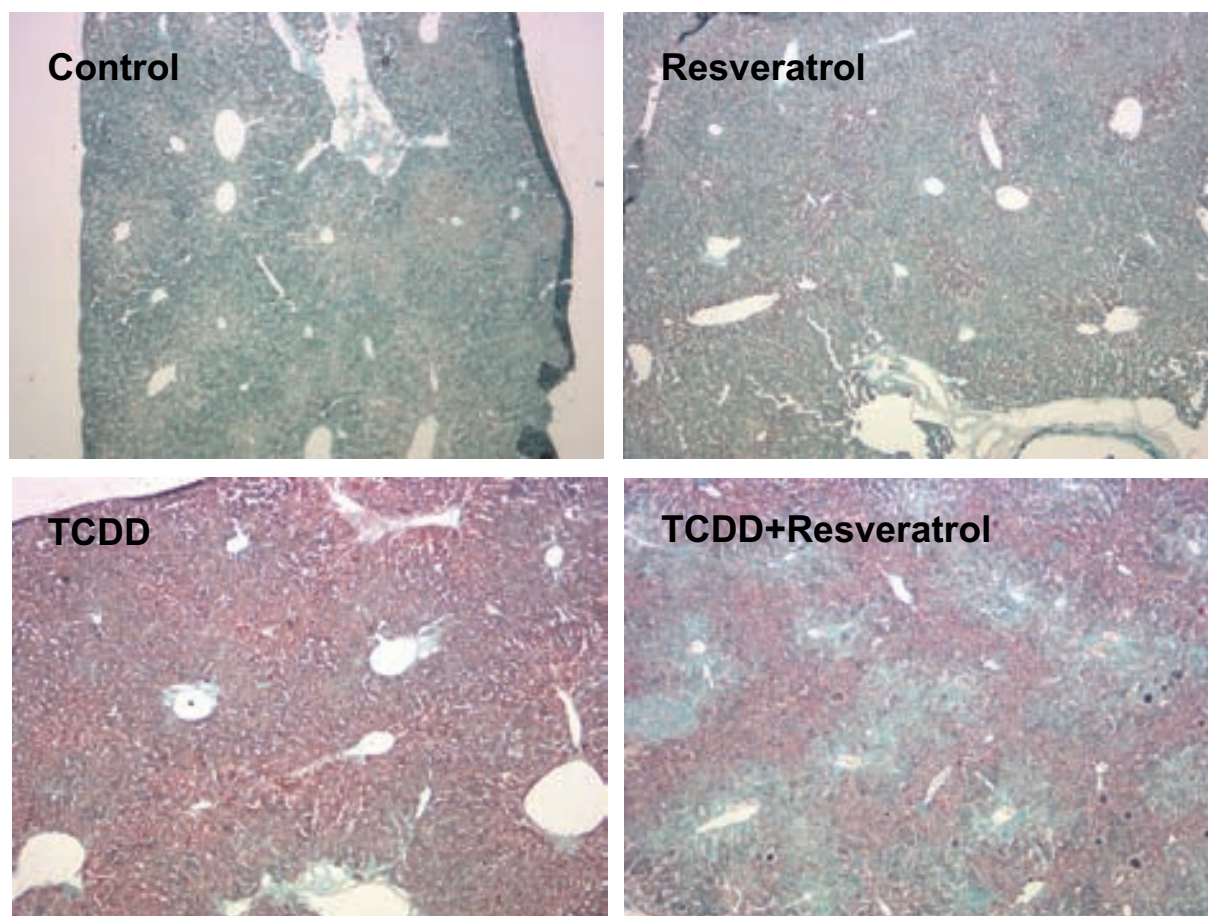


Fig. 4. Histological analysis of hepatic lipid from mice treated with resveratrol and TCDD.

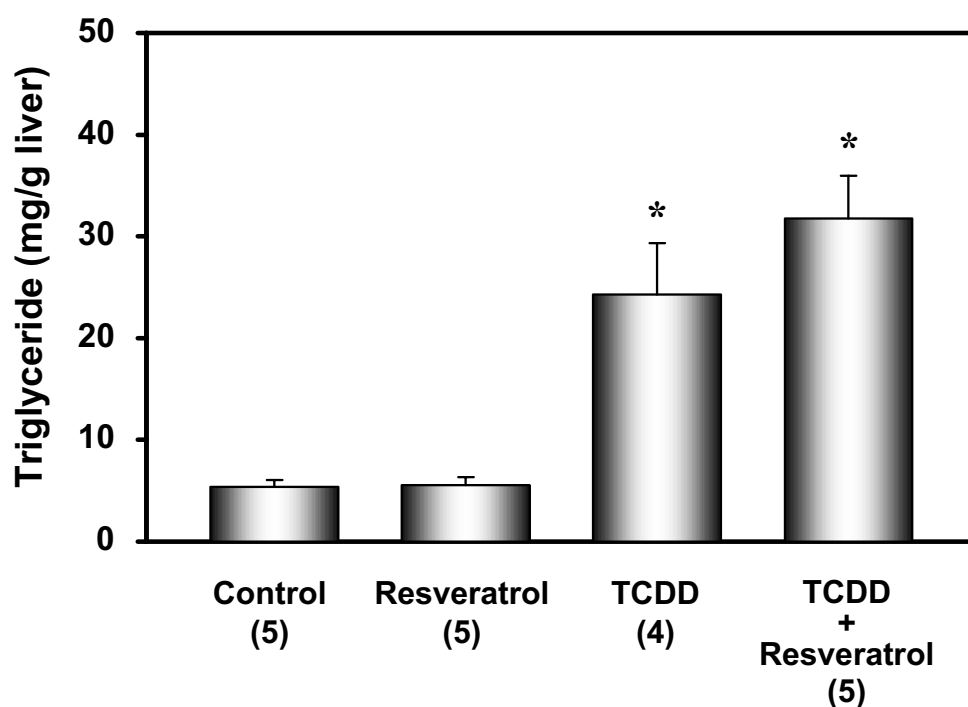


Fig. 5. Effects of resveratrol on hepatic triglyceride content of C57BL/6J mice treated with TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. The numbers of sample show in parenthesis. Significantly different from control: *, $p < 0.05$.

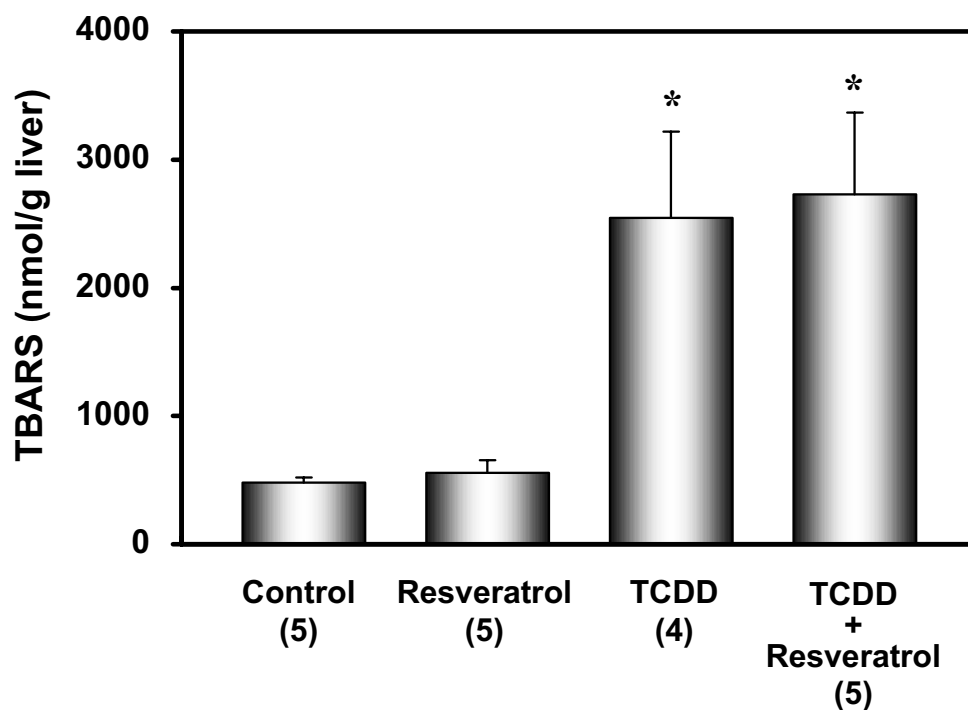


Fig. 6. Effects of resveratrol on hepatic TBARS content of C57BL/6J mice treated with TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. The numbers of sample show in parenthesis. Significantly different from control: *, $p < 0.05$.

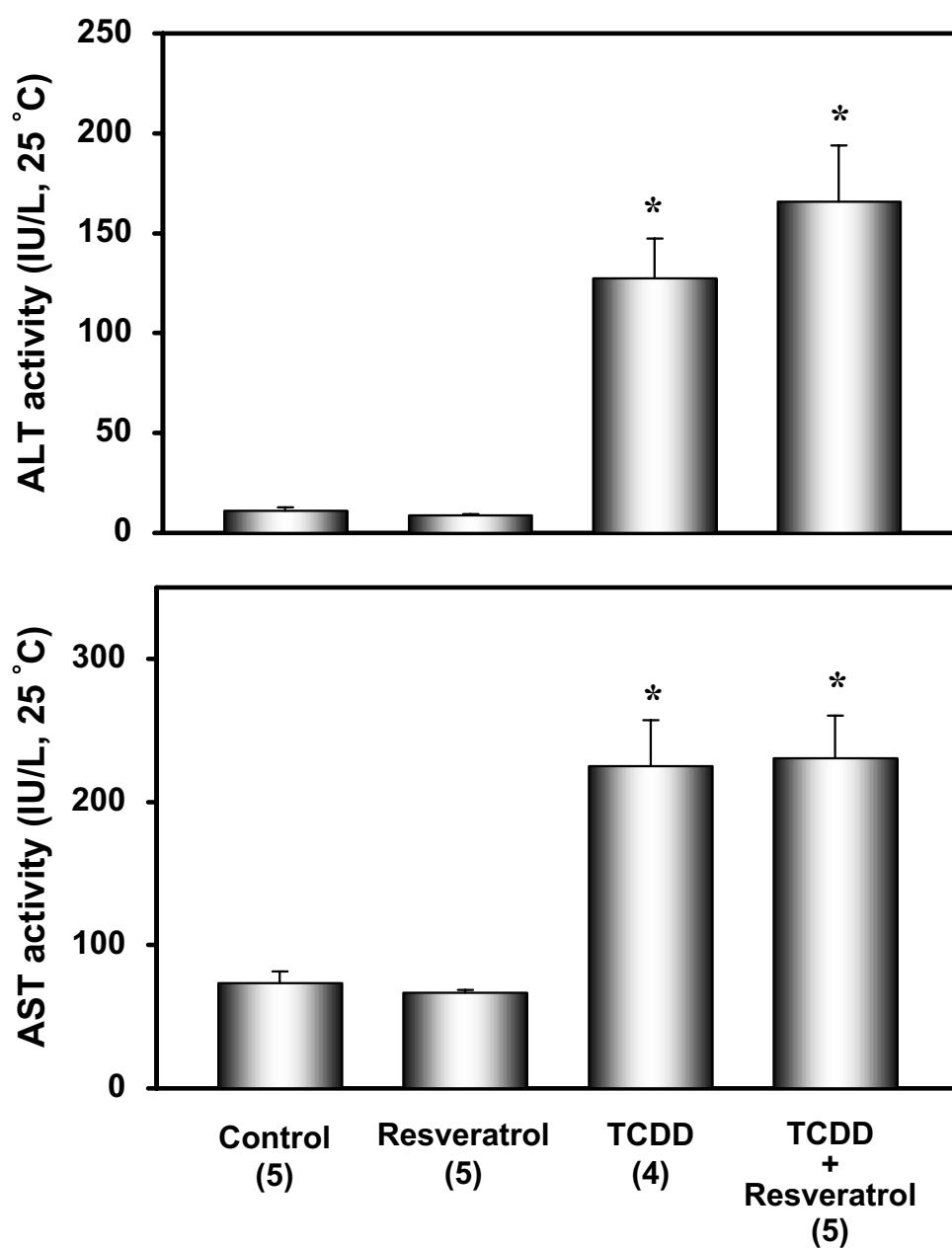


Fig. 7. Effects of resveratrol on serum ALT and AST activities of C57BL/6J mice treated with TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. The numbers of sample show in parenthesis. Significantly different from control: *, $p < 0.05$.

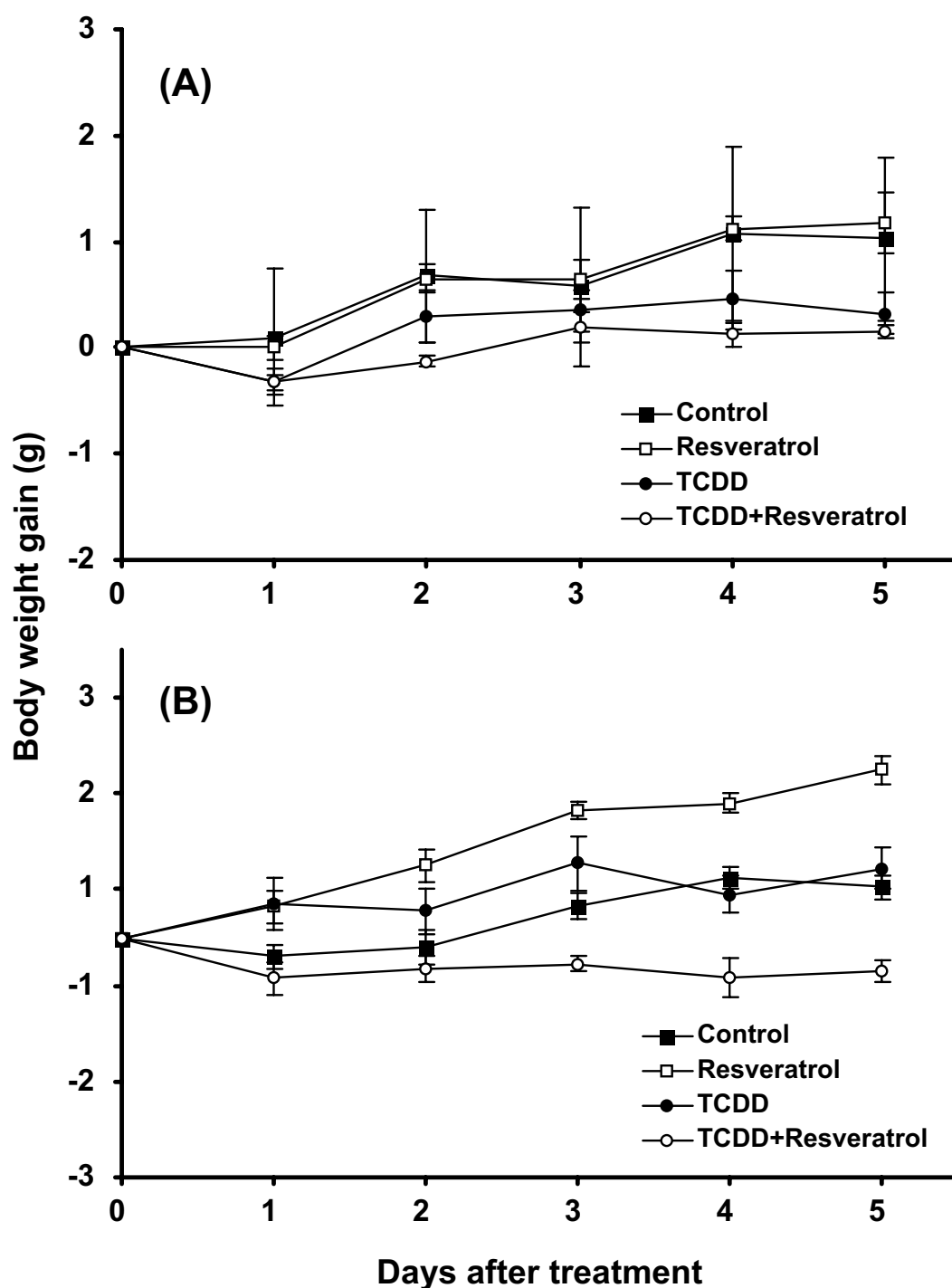


Fig. 8. Body weight gain of C57BL/6J mice treated with TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. of 4 mice. (A) 0.5 hr treatment group. The initial body weights (mean $\pm$ S.E.) of mice in control, resveratrol-treated, TCDD-treated and TCDD+resveratrol-treated mice were 19.6 ± 0.32 , 20.1 ± 0.51 , 20.3 ± 0.36 and 20.4 ± 0.37 g, respectively. (B) 3 hr treatment group. The initial body weights (mean $\pm$ S.E.) of mice in control, resveratrol-treated, TCDD-treated and TCDD+resveratrol-treated mice were 19.8 ± 0.37 , 19.6 ± 0.31 , 19.1 ± 0.36 and 19.7 ± 0.32 g, respectively.

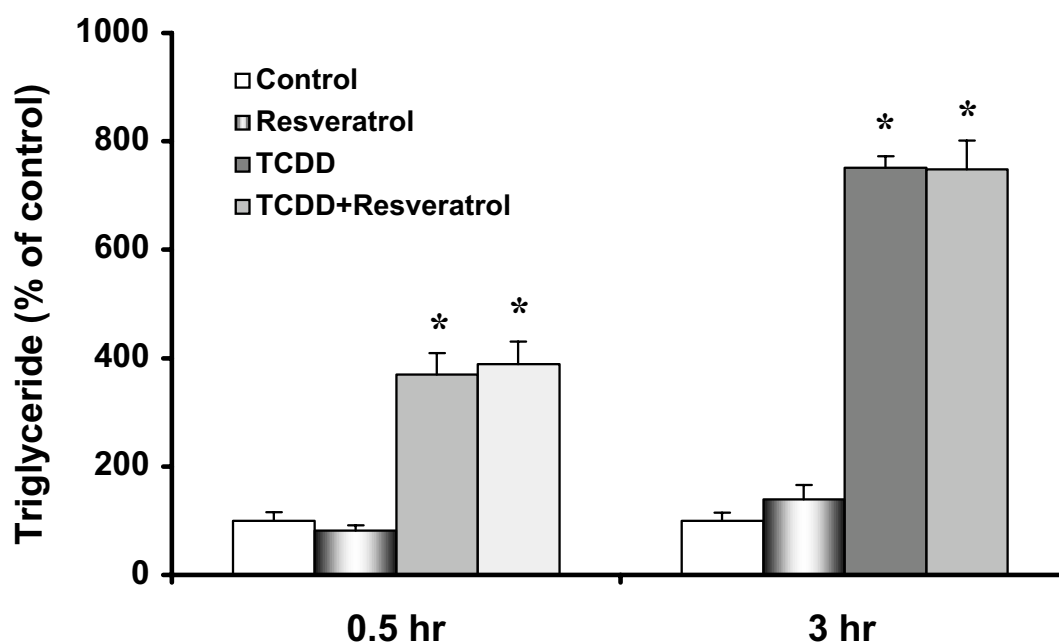


Fig. 9. Relative hepatic triglyceride contents of C57BL/6J mice after exposure to resveratrol and TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. of 4 mice. The control values of 0.5 and 3 hr treatment are 6.67 ± 1.04 and 3.62 ± 0.52 mg/g liver, respectively. Singnificantly different from the control; *, $p < 0.05$.

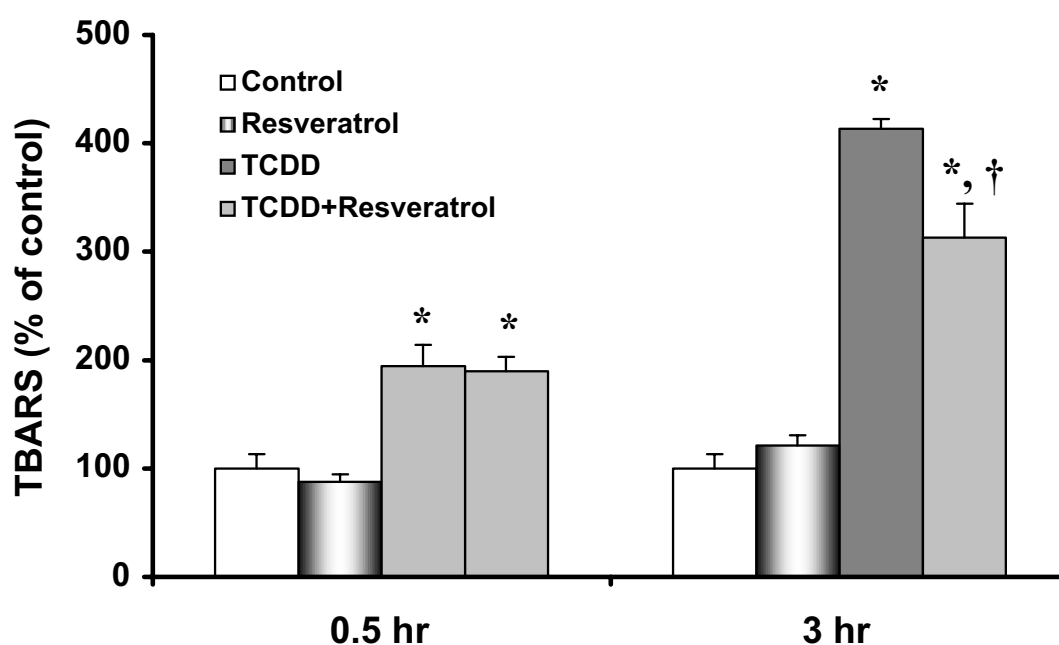


Fig. 10. Relative hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to resveratrol and TCDD. The values represent the mean $\pm$ S.E. of 4 mice. The control values of 0.5 and 3 hr treatment are 1132 ± 150 and 875 ± 115 nmol/g liver, respectively. Singnificantly different from the control; *, $p < 0.05$. Singnificantly different from the TCDD group; †, $p < 0.05$.

分担研究報告書

Proteasome 阻害剤が芳香族炭化水素レセプターを介したシグナル伝達に及ぼす影響

分担研究者	山田 英之	九州大学大学院薬学研究院	分子衛生薬学専攻分野	教授
研究協力者	石井 祐次	九州大学大学院薬学研究院	分子衛生薬学専攻分野	助教授
	石田 卓巳	九州大学大学院薬学研究院	分子衛生薬学専攻分野	助手

研究要旨

当研究室におけるこれまでの研究から、HSP70 誘導能と proteasome 阻害能をもつ N-acetyl-leucyl-leucyl-norleucinal (ALLN) により、AhR 依存的なタンパク質発現が抑制されることが明らかとなっている。AhR による遺伝子発現活性化は、ダイオキシン類の毒性発現において最も重要な要因の一つである。このため、この制御機構を明らかにすることは、その毒性発現機構の解明に新たな知見を与えると共に、ダイオキシン類中毒の治療法、もしくは予防法の開発に向けて重要な知見となると考えられる。以上のような背景のもと、本研究では、ALLN による AhR を介したシグナル伝達に対する影響の詳細を明らかにするため検討を行った。ヒト乳ガン細胞である T47D 細胞に AhR のリガンドである 3-methylcholanthrene (3MC) および ALLN を処理し、AhR の細胞内動態と発現量変動、並びに CYP1A/1B を標的とした転写活性化能を検討した。その結果、ALLN は AhR の発現量に変化を与えることなく、3MC による AhR の核内蓄積を促進することが明らかとなった。一方、ALLN は、CYP1A1 および 1B1 の mRNA の発現量に影響しないにもかかわらず、その活性指標である ethoxyresorufin O-deethylase 活性の AhR 依存的な増加を抑制することも明らかとなった。また、このような現象は、proteasome 阻害剤である lactacystin を処理した場合では観察されたが、HSP70 のシャペロン機能阻害剤 gentamicin では観察されなかった。以上の結果から、ALLN による AhR のシグナル伝達に対する影響は、proteasome 阻害作用に起因している可能性が示唆された。

A. 研究の目的

2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に代表されるダイオキシン類は、多岐に亘る毒性をもつことが知られている (1)。しかし、これらの毒性の発現機構は未だに不明な部分も多く、その解明ならびに健康障害に対する治療・予防法の開発が望まれている。これまでの研究から、ダイオキシン類の毒性発現には、

細胞の可溶性画分に存在する芳香族炭化水素レセプター (AhR ; aryl hydrocarbon receptor) が重要な役割を演じると考えられている (2, 3)。AhR は受容体型転写因子であり、通常は heat shock protein の一つである HSP90 や、その他のコシャペロンと結合し、不活性状態で存在している (4, 5)。これにダイオキシン類や多環芳香族炭化水素などの外因性リ

ガンドが結合すると、活性化され核内へ移行し、下流にコードされるタンパク質の発現を制御すると考えられている (6)。また、機能を果たした AhR については、細胞質へ排出され proteasome において分解されることも明らかとなっている (Fig. 1) (7, 8)。

当研究室ではこれまでに、heat shock protein 70 (HSP70) を誘導することが知られている抗胃潰瘍薬

geranylgeranylacetone (GGA) を前処理することにより、C57BL/6J マウスにおける TCDD の毒性の一部が軽減されることを明らかにしている (9)。さらに、その機構を明らかにするため、ルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイ法を用いて検討を行った結果、HSP70 誘導能と proteasome 阻害能をもつ

N-acetyl-leucyl-leucyl-norleucinal (ALLN) により、AhR 依存的なタンパク質発現が抑制されることが明らかとなった (平成 16 年度分担研究報告書にて報告済み)。AhR による遺伝子発現を安全にかつ確実に制御する方法を明らかにすることは、ダイオキシン類中毒の治療法、もしくは予防法の開発に向け重要な知見となると考えられる。以上のような背景のもと、本研究では、ALLN による AhR シグナル伝達に対する影響を詳細に明らかにするため検討を行った。

B. 方法・結果

ALLN 処理が AhR の発現量および細胞内動態に及ぼす影響

前述の様に、当研究室では、これまでの研究から、ALLN が AhR によるタンパク質発現活性化を抑制する可能性を示す結果を得ている。このような ALLN の性質は、ALLN

の HSP70 誘導能に起因する可能性が考えられたが、一方で ALLN は、タンパク質の分解に深く関与する proteasome の阻害剤でもある。このため、この作用が関与している可能性も否定できない。事実、AhR は、転写活性化後、proteasome により分解されることが知られており (7, 8)、その部分の機能障害が AhR による転写活性化の抑制に関与する可能性も十分に予想される。前述の用に、AhR による転写活性化には、その開始から終了までにいくつかのステップが存在する (リガンド結合→核内移行→転写調節領域への結合→核外移行→分解)。そこで、本研究では、AhR による転写活性化の抑制がどのステップで起きているのかを明らかにするため、AhR の細胞内局在および発現量に対する ALLN の影響について検討を行った。

ヒト乳癌由来 T47D 細胞に 12 時間 ALLN を処理した結果、これまでの結果と同様、20、40 および 80 $\mu\text{g/ml}$ のいずれの濃度においても顕著な HSP70 の誘導が認められた (Fig. 2)。そこで、細胞毒性を与えないことが確認されている 40 $\mu\text{g/ml}$ を ALLN の処理濃度と決定した。次に、AhR の細胞内動態を Immunofluorescence (IMF) 法を用いて解析した。細胞に AhR のリガンドである 3-methylcholanthrene (3MC) 1 μM および ALLN 40 $\mu\text{g/ml}$ を一定時間処理し (2～16 時間)、AhR と HSP70 の細胞内動態を蛍光顕微鏡にて観察した。その結果、3MC 単独処理では、処理時間 2～16 時間のいずれにおいても AhR の核内移行が観察された (Fig. 3A-D)。これに対し、ALLN を前処理した場合、3MC による AhR の核への集積は、ALLN 未処理時に比べ増加する傾向にあることが観察された (Fig. 3A-D)。この ALLN 併用による核集積の増加は、処理 8～16 時間でより顕著であった (Fig. 3C, D)。また、AhR の核内への蓄積の増加

は、ALLN 濃度を 80 $\mu\text{g/ml}$ に増加した場合でも同様であった（成績未掲載）。HSP70 の局在については、ALLN 処理による変化は見られなかった（Fig. 3E）。一方、proteasome 特異的阻害剤である lactacystin 1 μM を処理した場合、ALLN の場合と同様の効果が観察された（Fig. 3F）。以上の結果から、少なくとも細胞内局在を見る限り、ALLN 処理による AhR の核内蓄積は、proteasome 阻害効果に起因しており、HSP70 の誘導は直接的な因子ではない可能性が示唆された。次に、AhR の発現量に対する ALLN の影響を検討するため、細胞内における AhR 量をイムノブロット法にて定量した。その結果、whole cell lysate において、3MC 処理細胞では、総 AhR 量は検出できない程度まで低下していた（Fig. 4）。多くの細胞において、AhR はリガンド処理後 4 時間以内にその 80-90% が減少することが報告されている（10）。また、リガンド結合に伴う活性化シグナルの発動後も AhR の mRNA 量は変動しないことから（11）、リガンド結合後に AhR の細胞内発現量は分解の促進によって低下すると考えられている。これらの知見は、本研究で観察された結果とよく符合している。これに対し、ALLN を前処理した場合、ALLN の用量依存的に総 AhR の増加が観察された（Fig. 4）。また、ALLN のみの処理では総 AhR 量に顕著な変動が見られなかった（Fig. 5）。以上の結果は、ALLN が、AhR のリガンド依存的な分解を特異的に阻害している可能性を強く示唆している。一方、細胞質および核画分の AhR 量を解析した結果、ALLN の前処理により、3MC 単独処理と比べ AhR が核内に蓄積する傾向にあることも明らかとなった（Fig. 6B）。この結果も、我々の結果（Fig. 3）を支持するものであると考えられた。

Proteasome 阻害剤が AhR を介した遺伝子発現に及ぼす影響

以前の研究で観察された ALLN の AhR シグナル伝達に対する抑制作用は、AhR 応答配列だけを上流に持つ人工遺伝子系（luciferase reporter 系）を使用して得られたものであった。しかし、転写調節領域の機能は複雑であり、ALLN が他の上流エレメントを介して AhR シグナル伝達に影響を与える可能性も十分に考えられる。そこで、代表的な AhR 応答性遺伝子である cytochrome P450 (CYP) 1A/1B に着目し、これらの酵素活性および mRNA レベルに対する ALLN の影響について検討を行った。96 穴プレート上にて培養した T47D 細胞に ALLN 40 $\mu\text{g/ml}$ を 4 時間処理し、ALLN 40 $\mu\text{g/ml}$ と 3MC 1 μM を含む培地に置換して 2、4、8 および 12 時間培養した。培養後、96 穴プレート上にて CYP1A subfamily の活性指標である ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) 活性を測定した。その結果、3MC のみを処理した場合、多くの既報成果と合致していずれの処理時間でも顕著な EROD 活性の増加が見られた。これに対し、ALLN を併用した場合、3MC 依存的な EROD 活性の増加は顕著に抑制され、かつその抑制作用は時間依存的に増強された（Fig. 7）。EROD 活性測定時にのみ ALLN を添加しても、活性低下は観察されず（Fig. 8）、ALLN が CYP1A を直接阻害する単純な可能性は否定された。以上の結果から、ALLN は、T47D 細胞ゲノムに存在する AhR 応答性遺伝子のリガンド依存的な発現も抑制することが明らかとなった。さらに、ALLN 以外のタンパク質分解酵素阻害剤（Lactacystin および Leupeptin）について同様な検討を行った結果、proteasome 特異的阻害剤である lactacystin では、1 μM 処理において

ALLN と同様に 3MC 依存的な EROD 活性の増加を抑制した (Fig. 9)。これに対し、cysteine protease 阻害剤である leupeptin では抑制は観察されなかった。以上の結果から、ALLN による AhR 応答性遺伝子の発現抑制には proteasome 阻害が関与している可能性が示唆された。次に、この機構を明らかにするため、半定量的 RT-PCR 法を用いて CYP1A/1B mRNA 量を解析した。その結果、3MC 依存的な CYP1A1 および CYP1B1 mRNA の増加は、ALLN の併用により低下しなかった (Fig. 10B, D)。また、CYP1A2 mRNA 量は、有意な低下が認められたものの、その低下はわずかであり (Fig. 10C)、ALLN による EROD 活性低下 (Fig. 7) を説明するには至らなかった。また、AhR 応答性遺伝子として知られる Ah receptor repressor (AhRR)、NAD(P)H : quinone oxidoreductase (NQO1) および selenium-binding protein (SeBP) の mRNA 量の解析も行ったが、これらの場合、いずれにおいても 3MC による誘導が ALLN との併用により有意に低下していた (Fig. 11B)。以上の結果から、ALLN による AhR 応答性遺伝子発現の抑制は、ALLN が AhR シグナル伝達のうち転写活性化以降のステップに作用して出現したものであり、かつ、ALLN が発現を抑制する遺伝子には選択性があることが示唆された。

ALLN の AhR シグナリング抑制における HSP70 の役割

これまでの結果から、ALLN による AhR シグナル伝達の抑制は、HSP70 の細胞内分布とは無関係に (Fig. 3E)、proteasome 阻害を起点として (Fig. 3F)、転写以降の段階が抑制されることにより引き起こされる (Fig. 10) 可能性が示唆された。しかし、proteasome の阻害は、多くの場合結果とし

て HSP70 誘導を惹起することから (12)、ALLN の AhR 応答性遺伝子の発現低下に HSP70 の誘導が寄与する可能性も完全には否定できない。そこで、AhR シグナル伝達に対する HSP70 の影響をさらに検証するため、HSP70 のシャペロン機能に対する特異的な阻害剤である gentamicin (GM) を用いて検討を行った。GM による阻害作用は、HSP70 に特異的であると言われている (13)。事実、我々が行った予備検討においても、GM は、HSP70 による変性 luciferase の refolding 作用を特異的に阻害することが確認された (Fig. 12)。そこで、T47D 細胞に ALLN 40 $\mu\text{g/ml}$ と GM を 4 時間前処理し、その後、3MC 1 μM と ALLN および各濃度の GM を含む培地に置換して培養を継続し、12 時間後に EROD 活性を測定した。なお、GM が抗生物質として使用される際、至適濃度は 10–100 μM といわれており、今回使用した 0.2–2 mM は細胞に作用し得る十分な濃度であると考えられた。その結果、ALLN により、3MC による EROD 活性の増加は抑制されるが、GM を重複処理しても活性の回復は認められなかった (Fig. 13)。また、GM を 1 および 2 mM の濃度で単独処理した場合では、EROD の活性の増加が認められた (Fig. 13)。以上の結果から、ALLN による AhR 応答性遺伝子誘導の抑制は、HSP70 シャペロン機能に依存しない可能性が示唆された。

ALLN による AhR シグナル伝達の抑制機構の解析

前述の様に、AhR による CYP1A/1B 誘導に対する ALLN の影響は、mRNA レベルとタンパク質レベルで異なるものであった。このため、mRNA の翻訳段階における抑制がタンパク質レベルでの発現抑制を引き起こしている可能性が考えられた。そこで、これを検

証するため、以前当研究室で作製したルシフェラーゼ発現プラスミドを用いて検討を行った。T47D 細胞にルシフェラーゼ発現プラスミドをトランスフェクションし、先程と同様に ALLN、GM および 3MC を処理した後、 ^{35}S methionine を含む培地で 30 分培養した。その後、細胞を回収し、luciferase に対する抗体にて免疫沈降を行い、30 分間に合成された細胞内の ^{35}S ラベル化 luciferase を定量した。なお、内標準として β -tubulin も同様の方法で定量した。その結果、HSP70 阻害剤である GM の有無にかかわらず、新生 luciferase の発現量に変化は認められなかった (Fig. 14)。従って、ALLN による AhR 応答性遺伝子誘導の抑制において、mRNA の翻訳過程の関与は低いものである可能性が示唆された。

C. 考察

本研究では、ダイオキシン類の毒性発現機構の解明および毒性軽減法の確立のため、ALLN が AhR シグナル伝達に及ぼす影響について検討を行った。その結果、ALLN は、AhR の核内蓄積を促進させることが明らかとなった (Fig. 3 および 6)。このような AhR の核内への蓄積は、AhR による転写活性を促進させると考えられる。しかし、当研究室における検討結果はこれを支持せず、逆に AhR 応答性遺伝子の発現増加を抑制する結果となった (Fig. 7)。また、この機構について検討した結果、ALLN による proteasome 阻害作用が深く関与している可能性が示唆された (Fig. 3F)。今回使用した ALLN は、proteasome 以外に calpain や cystein protease の阻害作用をもつと言われている (14)。Calpain 阻害剤を用いた研究では、リガンドにより誘導された CYP1A1 の発現が、calpain 阻害剤により抑制されること、また同阻害剤は核に移行し

た AhR の細胞質への排出を促進することが報告されている (15)。従って、ALLN の calpain 阻害効果が AhR のシグナル伝達活性化の抑制に関与している可能性も予想された。しかし、AhR の核からの排出が ALLN により促進されない以上、この機構の寄与が大きいとは考え難かった。また、本研究において、proteasome 特異的阻害剤である lactacystin により、ALLN と同様な AhR の核内蓄積が観察された (Fig. 3F)。このことから、少なくとも AhR の核内蓄積の促進には、ALLN の proteasome 阻害作用が大きく寄与していると考えられた。次に、研究当初よりの作業仮説である HSP70 の誘導と AhR シグナル伝達との関連性について検討したが、HSP70 の細胞内動態およびシャペロン機能のいずれとも関連性は見出せなかった (Fig. 3E および 14)。これまでに、リガンド非存在下の AhR と HSP70 との相互作用は確認されていない (16, 17)。このため、リガンド存在下においても AhR と HSP70 が直接に相互作用する可能性は低いと考えられた。さらに、ALLN 処理により、3MC による EROD 活性の増加が抑制されることが認められたが (Fig. 7)、この現象は、proteasome 特異的阻害剤である lactacystin を処理した場合でも観察された (Fig. 9)。また、3MC による CYP1A1 および 1B1 mRNA の誘導は、ALLN によって抑制されなかった (Fig. 10)。このタンパク質と mRNA の発現量変動の矛盾は、CYP1A2、AhRR、NQO1 および SeBP では観察されなかったことから、ALLN による AhR 応答性遺伝子誘導の抑制には遺伝子選択性があることが示唆された。

本研究から、AhR の ubiquitin/proteasome 経路による制御・分解に、未同定の因子が存在することが示唆された。また、この部分の制御が、その上流に位置する AhR による転写活性化を制御する可能性も十分に予

想された。今後の研究でこの点が明らかに
なれば、新規の AhR シグナリング制御機構
の解明に繋がるのではないかと期待される。

D. 参考文献

- 1)Poland, A. and Knutson JC., Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 22, 517-554 (1982).
- 2)Poland, A., Glover, K. and Kende, AS., J. Biol. Chem., 251, 4936-4946 (1976).
- 3)Hankinson, O., Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 35, 307-340 (1995).
- 4)Whitelaw, ML., Gustafsson, JA. and Poellinger, L., Mol. Cell Biol., 14, 8343-8355 (1994).
- 5)Antonsson, C., Whitelaw, ML., McGuire, J., Gustafsson, JA. and Poellinger, L., Mol. Cell Biol., 15, 756-765 (1995).
- 6)Reyes, H., Reisz-Porszasz, S. and Hankinson, O., Science, 256, 1193-1195 (1992).
- 7)Pollenz, RS., Chem. Biol. Interact., 141, 41-61 (2002).
- 8)Davarionos, NA. and Pollenz, RS., J. Biol. Chem., 274, 28708-28715 (1999).
- 9)Ishida, T., Oshimo, T., Nishimura, A., Mutoh, J., Ishii, Y., Koga, N., Yamada, H., Hashiguchi, I., Akamine, A. and Oguri, K., Biol. Pharm. Bull., 27, 1397-1402 (2004).
- 10)Pollenz, RS., Mol. Pharmacol., 49, 391-398 (1996).
- 11)Giannone, JV., Li, W., Probst, M. and Okey, AB., Biochem. Pharmacol., 55, 489-497 (1998).
- 12)Bush, KT., Goldberg, AL. and Nigam, SK., J. Biol. Chem., 272, 9086-9092 (1997).
- 13)Miyazaki, T., Sagawa, R., Honma, T., Noguchi, S., Harada, T., Komatsuda, A.,

Ohtani, H., Wakui, H., Sawada, K., Otake, M., Watanabe, S., Jikei, M., Ogawa, N., Hamada, F. and Itoh, H., J. Biol. Chem., 279, 17295-17300 (2004).

14)Griscavage, J.M., Wilk, S. and Ignarro, L.J., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 93, 3308-3312 (1996).

15)Dale, YR. and Eltom, SE., Mol. Pharmacol., 70, 1481-1487 (2006).

16)de Moraes, SM., Giannone, JV. and Okey AB., J. Biol. Chem., 269, 12129-12136 (1994).

17)Shetty, PV., Wang, X. and Chan, WK., Arch. Biochem. Biophys., 429, 42-49 (2004).

E. 研究発表

- 1)日本薬学会第 127 年会（富山、2007 年 3 月）予定

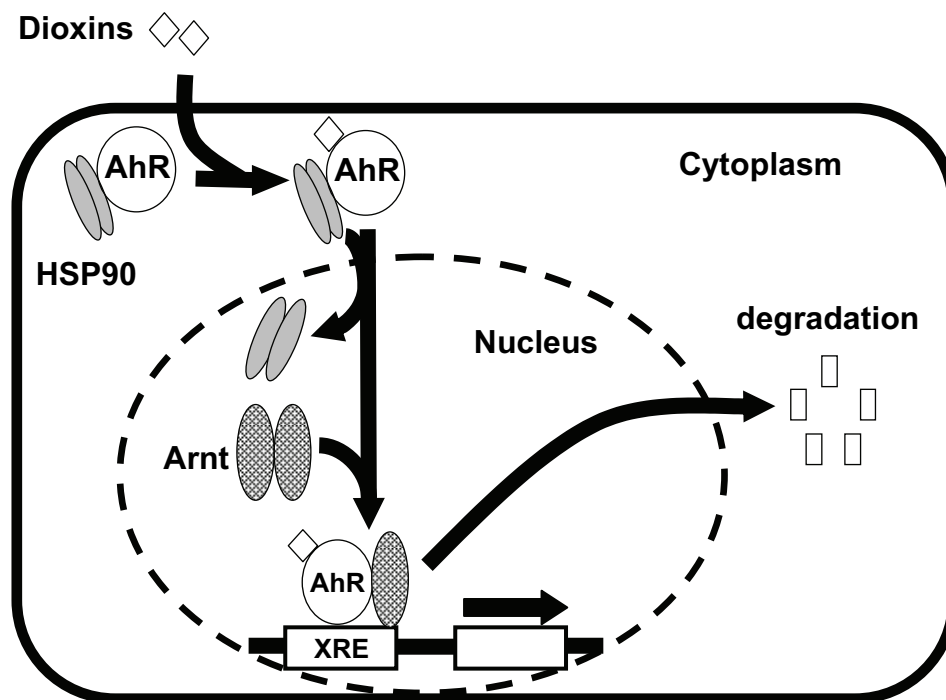


Fig. 1. Postulated mechanism of transcriptional activation by AhR system.

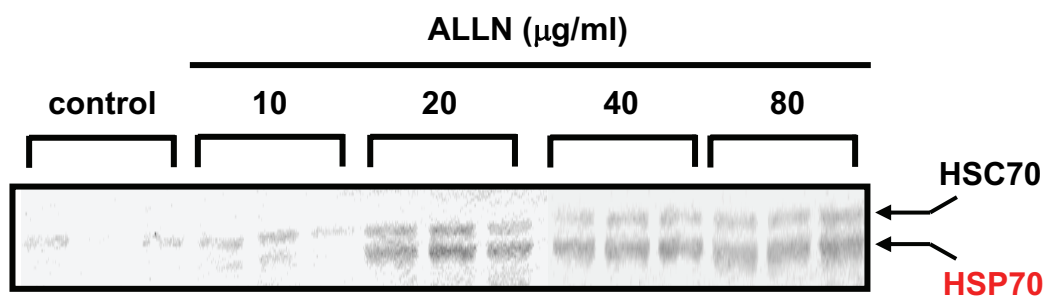


Fig. 2. Induction of HSP70 by ALLN in T47D cells. T47D cells were grown up to 90% confluence and treated with different concentrations of ALLN as indicated for 12h. After treatment, whole cell lysate (3 mg protein) was subjected to SDS-PAGE (10% gel) and immunoblotted with anti-HSP70 monoclonal antibody.

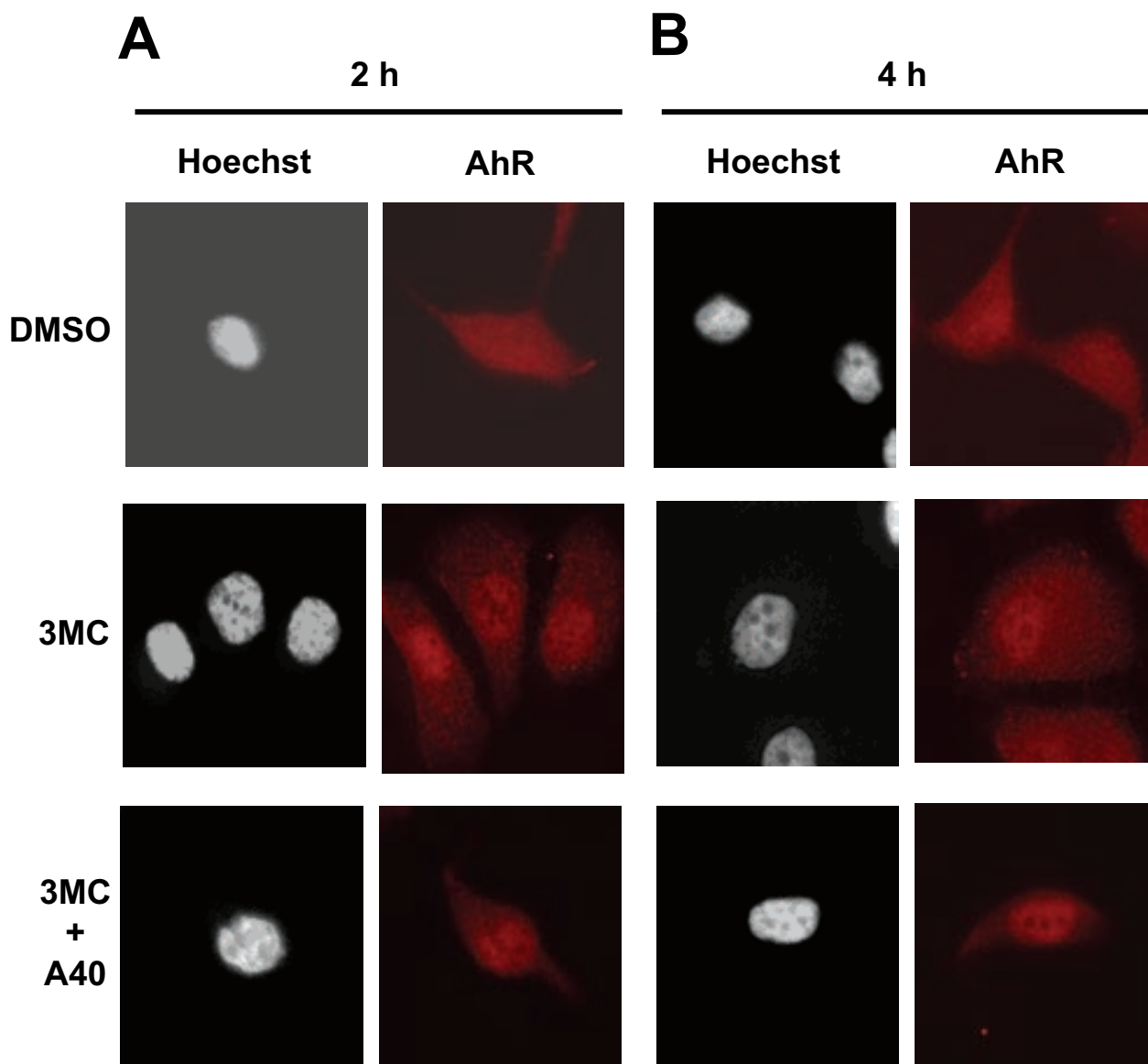


Fig. 3. The effect of proteasome inhibitors on the nuclear accumulation of AhR in T47D cells. T47D cells were treated with 1 μ M 3MC and either with 40 μ g/ml ALLN (A40) (panels A-E) or 1 μ M Lactacystin (Lac) (panel F) for a period indicated before fixation. For comparison, the cells were also treated with vehicle alone (DMSO) and AhR ligand alone (3MC). The distribution of AhR (A-D and F) and HSP70 (E) was observed immunocytochemical staining with each primary antibody followed by Cy3-conjugated secondary antibody. In panels of 'Hoechst', DNA was stained with 20 μ g/ml Hoechst 33242.

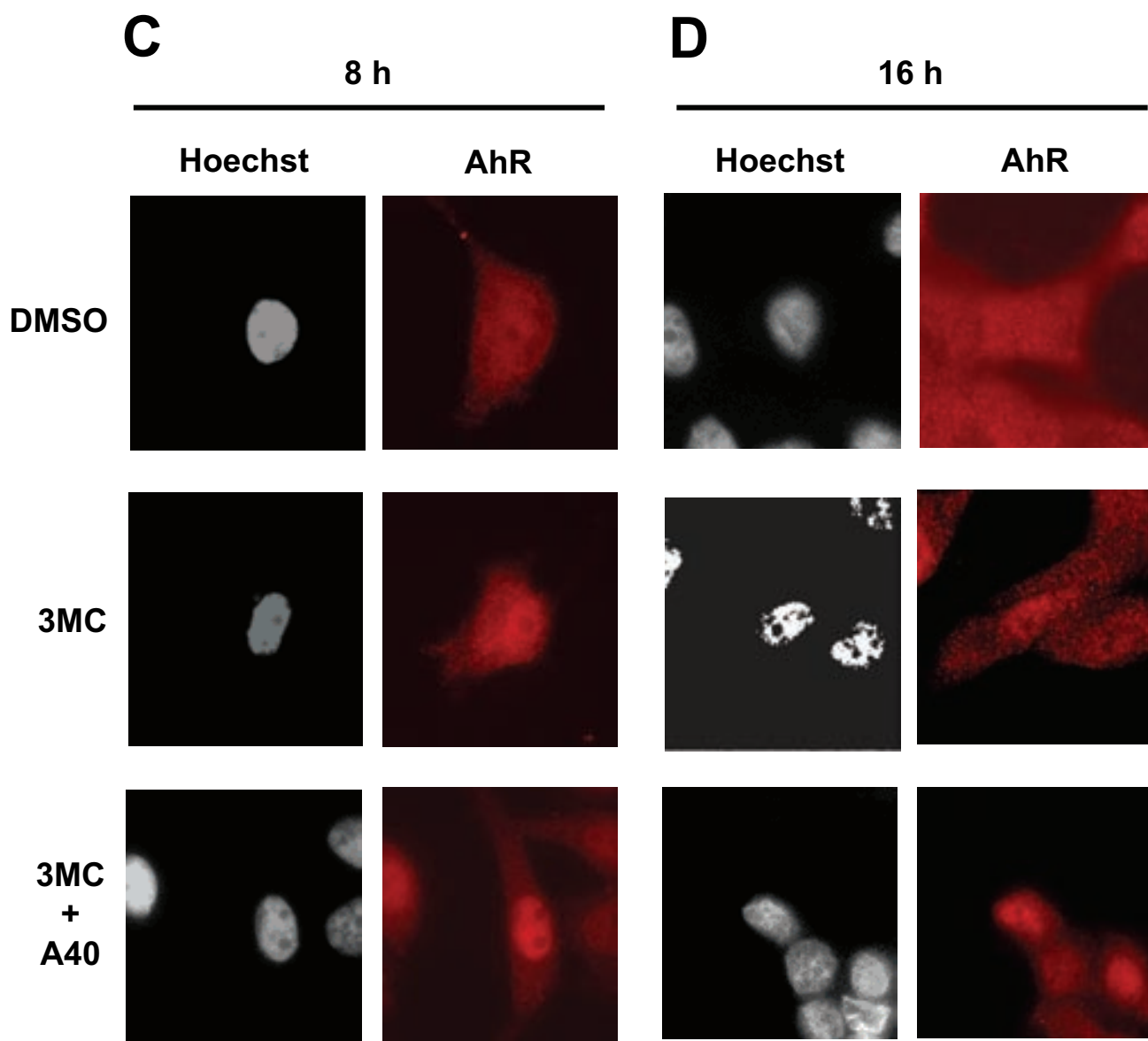


Fig. 3. continued.

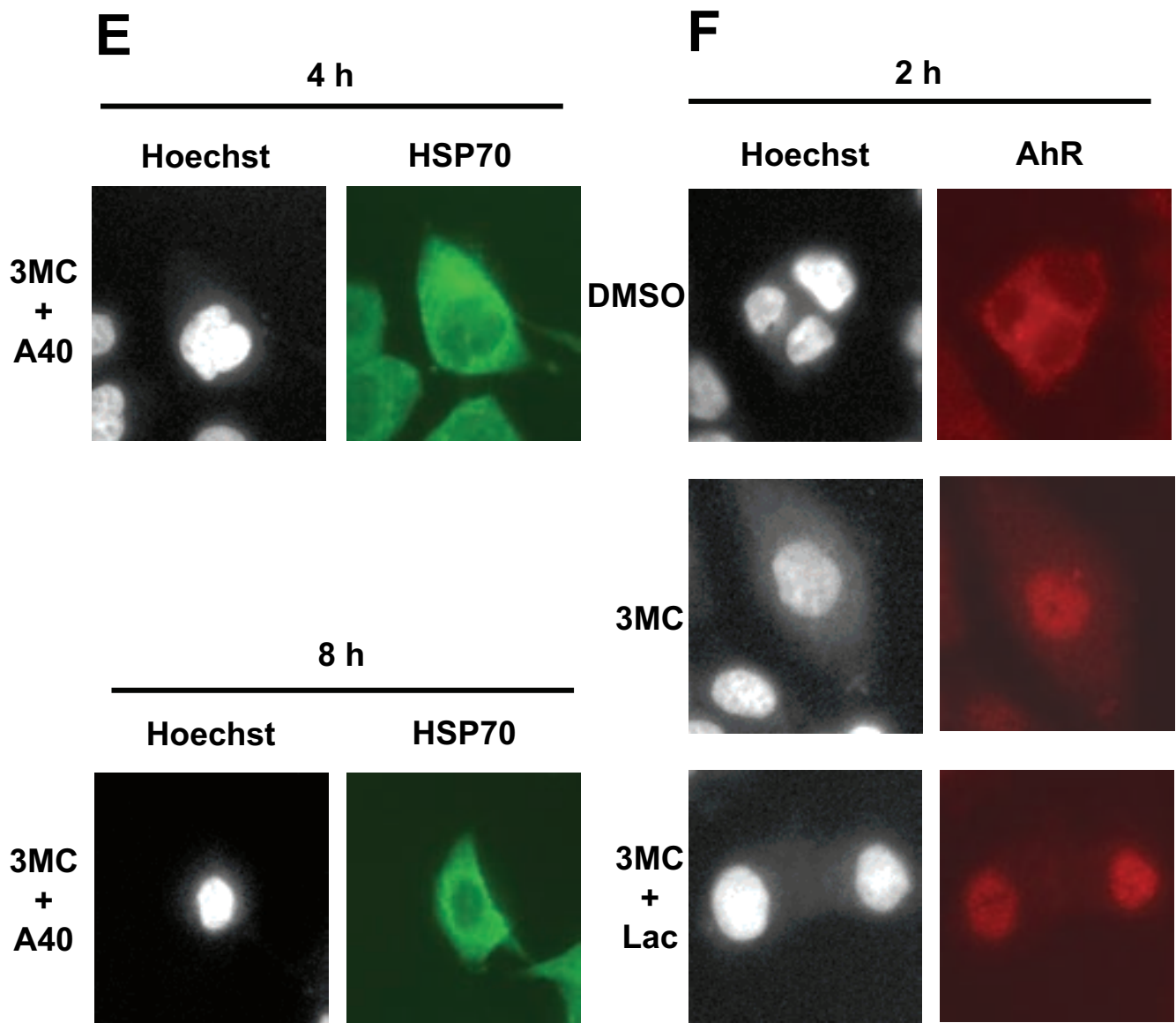


Fig. 3. Continued.

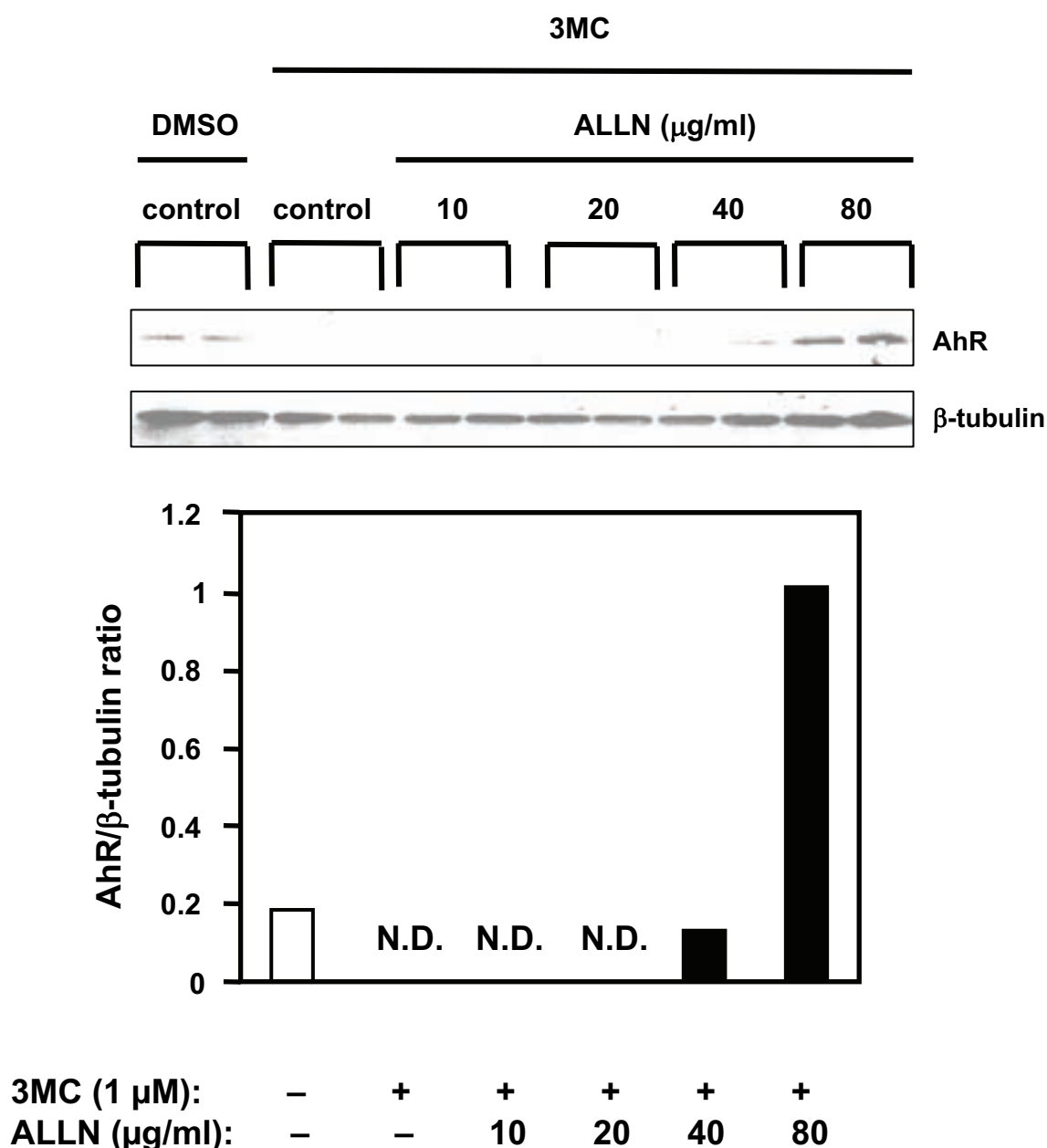


Fig. 4. Immunoblotting of total AhR in T47D cells treated with ALLN and 3MC. The T47D cells were pre-treated with ALLN the concentration of which is indicated in the figure for 4 h, and then cultured in the presence of the same concentration of ALLN and 1 μM 3MC for 12 h. After treatment, whole cell lysate (20 mg protein) was subjected to SDS-PAGE (7% gel) and immunoblotted using anti-AhR monoclonal antibody. β-tubulin was used as a loading control. The band intensity was quantified and normalized by β-tubulin level. Each bar of the lower figure represents the mean of two determinations. N.D.: not detected.

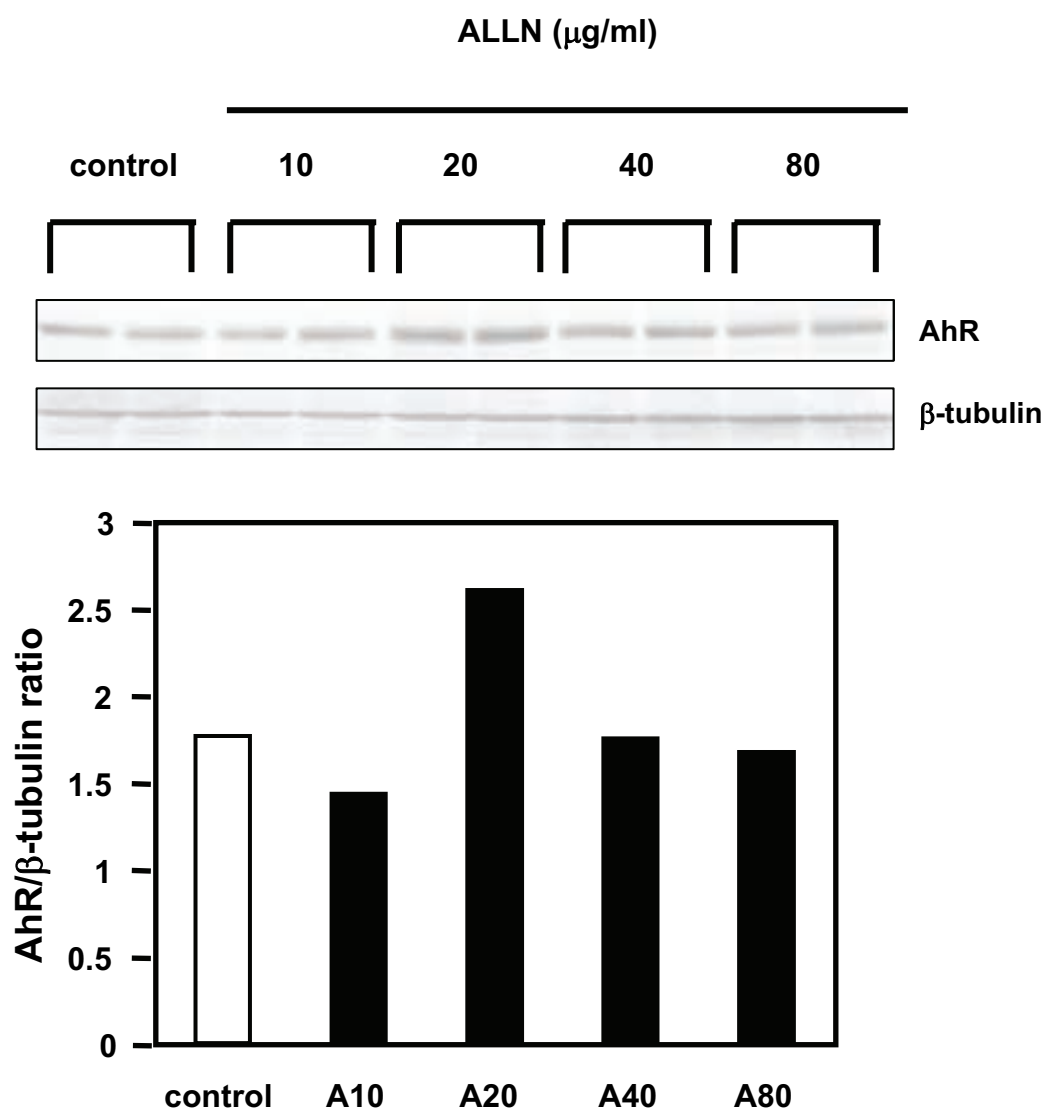


Fig. 5. Immunoblotting of total AhR in T47D cells treated with ALLN. T47D cells were treated for 12 h with ALLN the concentration of which is indicated in the figure (eg., A10 means ALLN 10 $\mu\text{g/ml}$). After treatment, whole cell lysate (20 mg protein) was subjected to SDS-PAGE (7% gel) and immunoblotted with anti-AhR monoclonal antibody. β -tubulin was used as a loading control. The band intensity was quantified and normalized by β -tubulin level. Each bar of the lower figure represents the mean of two determinations.

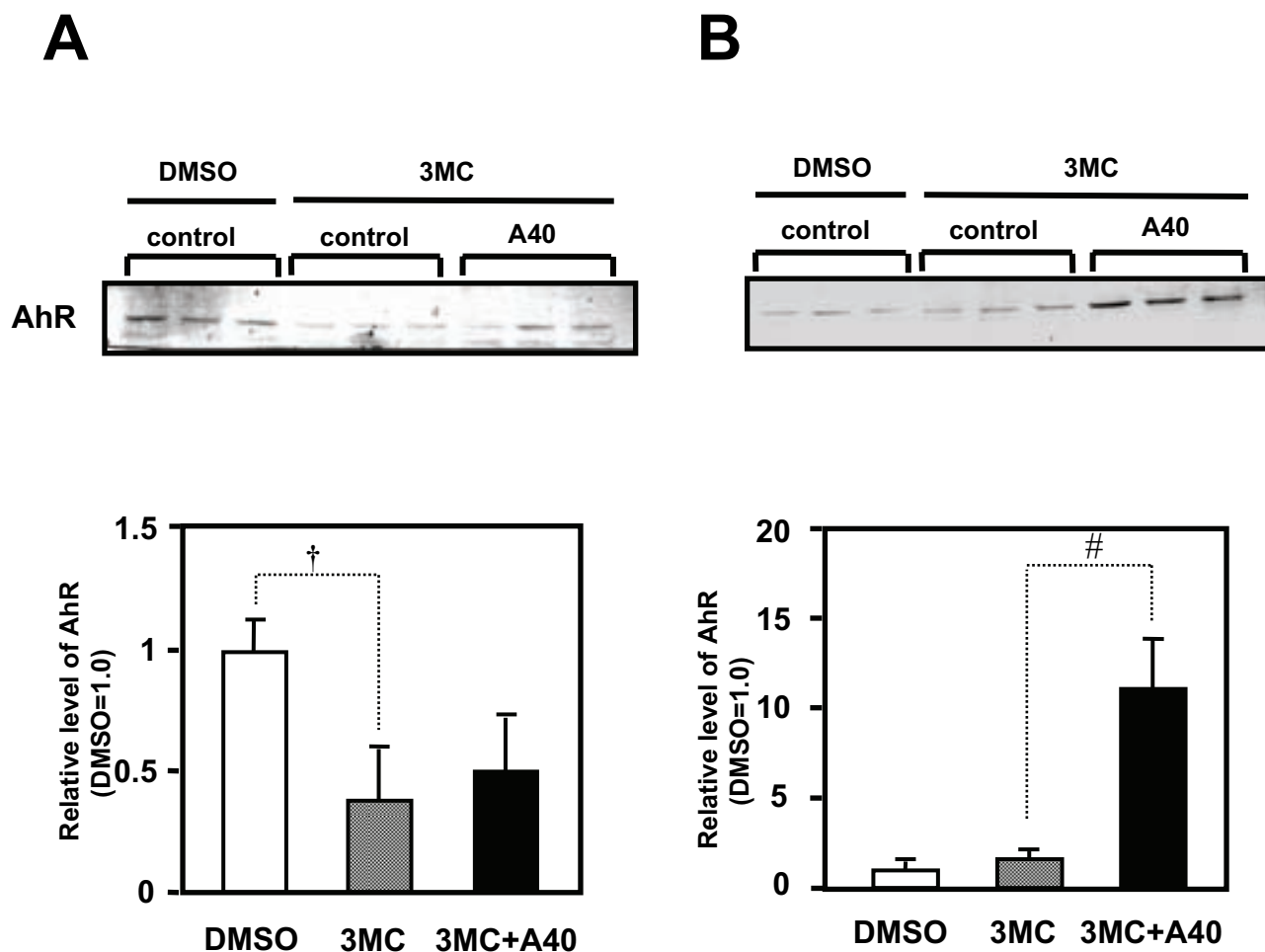


Fig. 6. Increase in the nuclear accumulation of AhR following the double treatment of T47D cells with 3MC and ALLN. The cells were pre-treated with 40 $\mu\text{g/ml}$ ALLN for 4 h, and then cultured in the presence of the same concentration of ALLN and 1 μM 3MC for 12 h. Cytosolic (A) and nuclear (B) fractions were subjected to SDS-PAGE (7% gel), and immunoblotted using anti-AhR monoclonal antibody. Each bar represents the mean $\pm$ S.E. of three determinations. †, # Significantly different between the pair indicated (†; $p<0.01$, #; $p<0.001$).

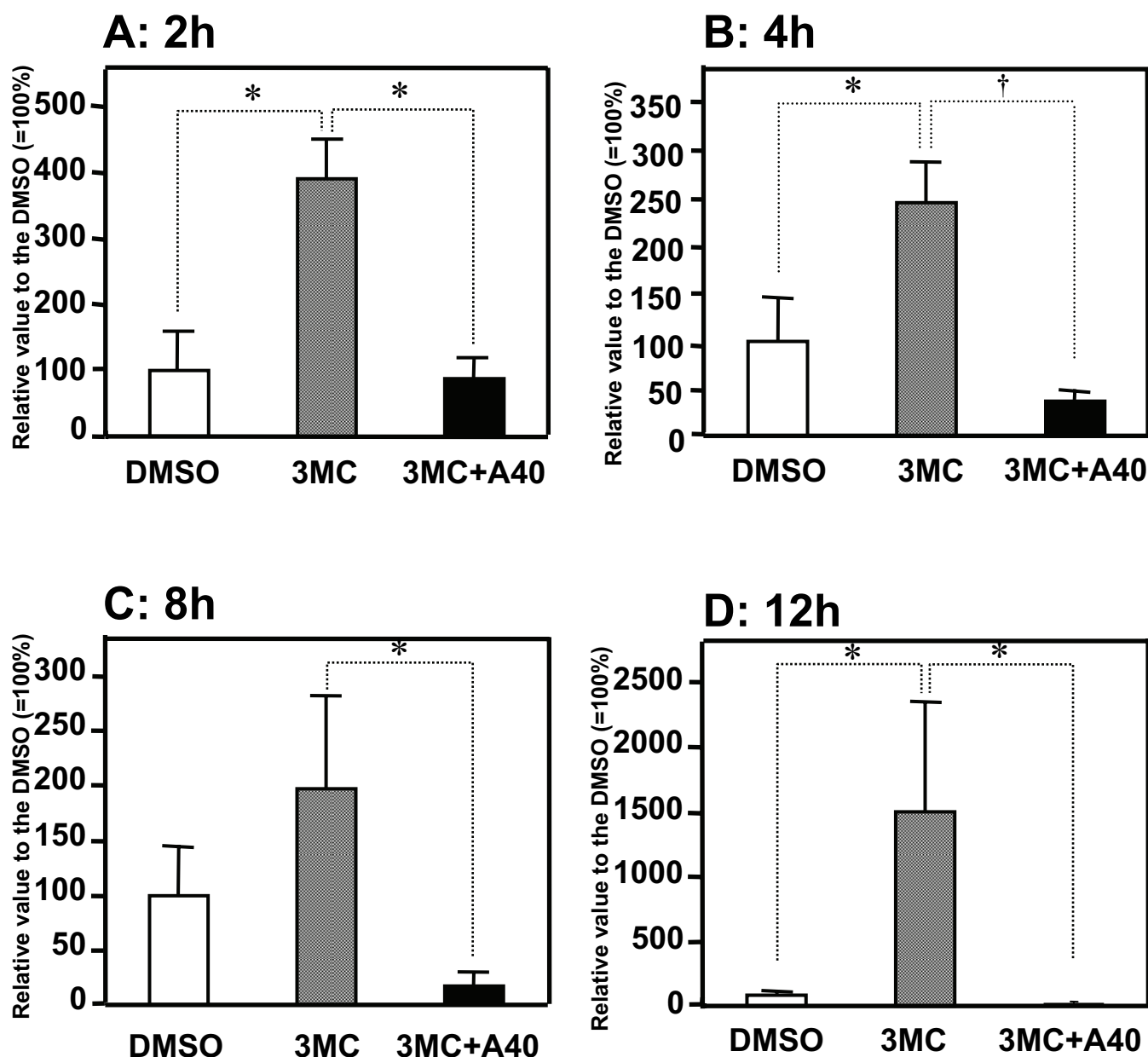


Fig. 7. The effect of ALLN on the 3MC-mediated increase of ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) activity, a maker of CYP1A, in T47D cells. T47D cells were pre-treated with 40 μ g/ml ALLN for 4h, and then cultured in the presence of the same concentration of ALLN and 1 μ M 3MC a period indicated and the activity of EROD was measured. Each bar represents the mean $\pm$ S.E. of three determinations. *, †: Significantly different between the pair indicated (*, $p < 0.05$; †, $p < 0.01$). The EROD activity of control (DMSO, panel A) was 5.8 fmol resorufin formed/min/well.

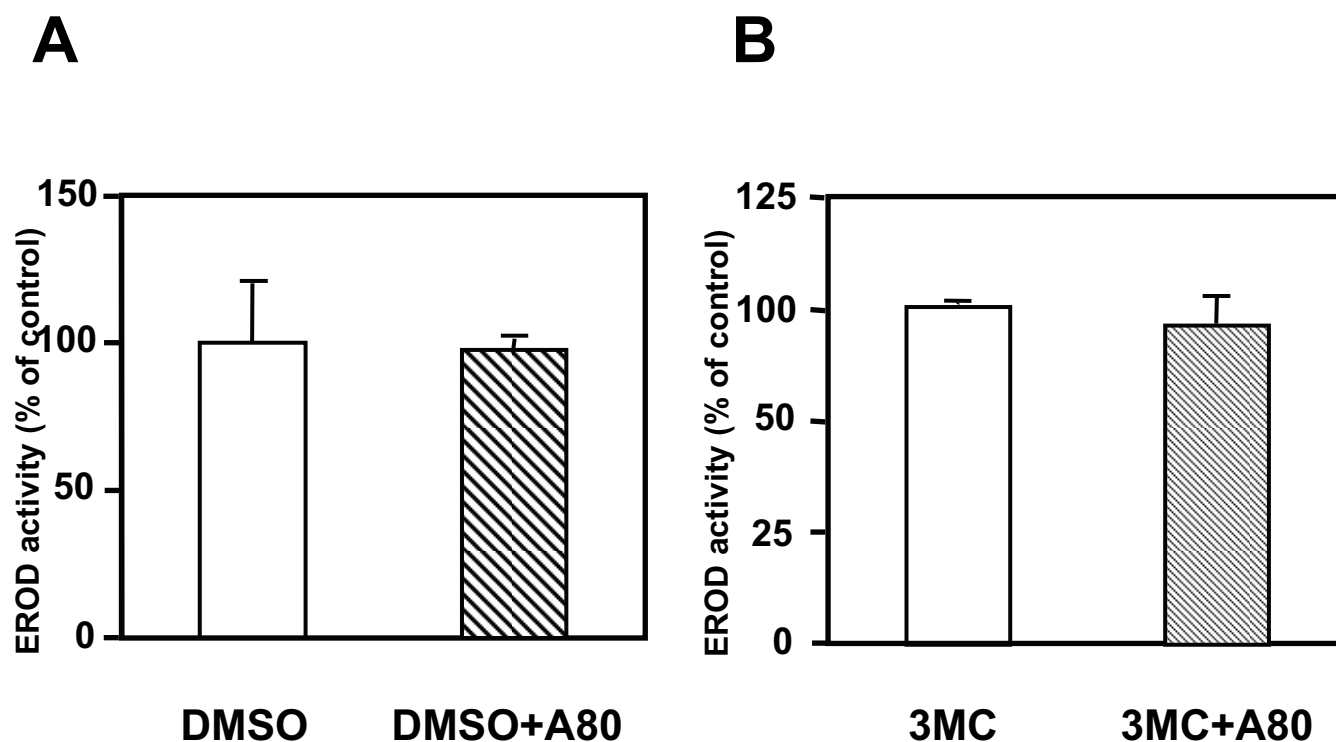


Fig. 8. The inhibitory effect of ALLN on CYP1A activity. T47D cells were treated with DMSO (A) or 1 μ M 3MC (B) for 2 h, and then washed with PBS. Subsequently, the cells were incubated for 0.5 h with 7-ethoxyresorufin in the presence of ALLN (80 μ g/ml). CYP1A activity was determined by measuring ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD). Each bar represents the mean $\pm$ S.E. of four determinations. The activities of DMSO- and 3MC-treated cells were 0.25 ± 0.01 and 1.83 ± 0.15 fmol resorufin formed/min/well, respectively.

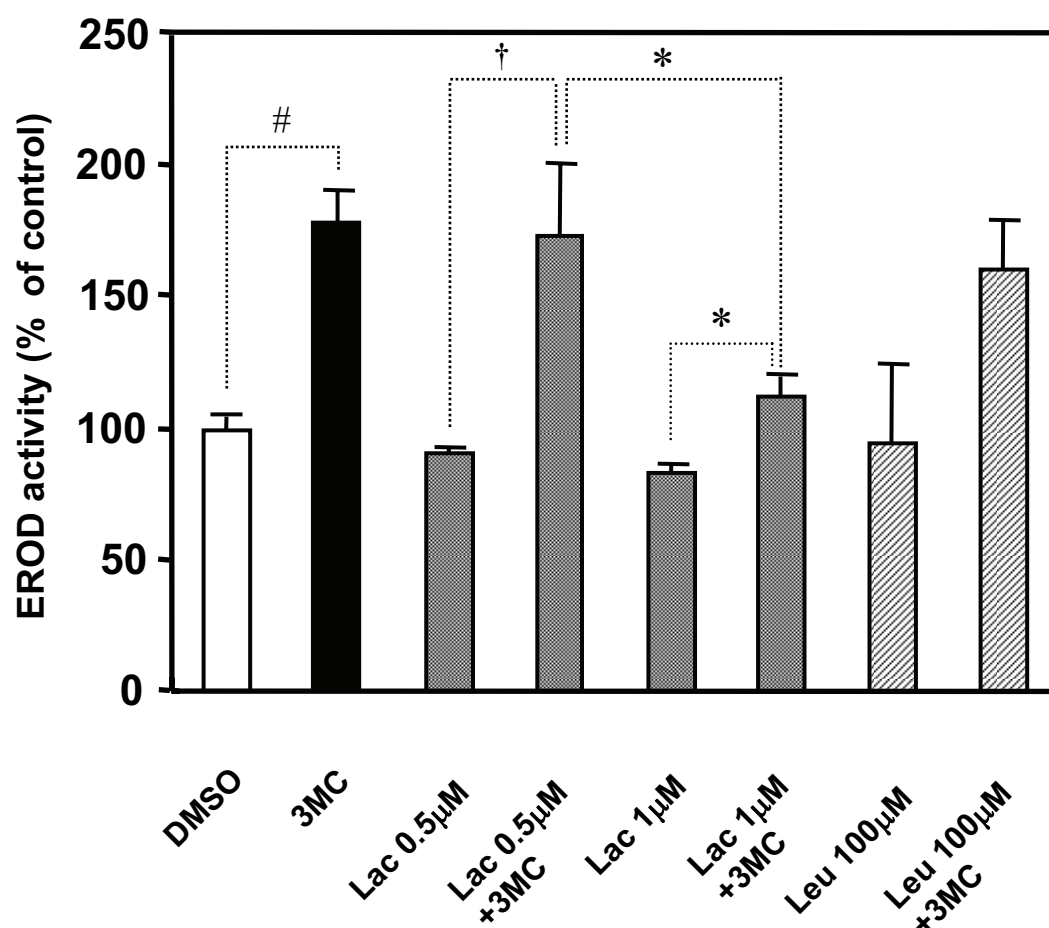


Fig. 9. The effect of lactacystin and leupeptin on the 3MC-mediated increase of EROD activity in T47D cells. T47D cells were pre-treated with lactacystin (Lac) or leupeptin (Leu) for 4h, and then cultured in the presence of the same concentration of these inhibitors and 1 µM 3MC for 2h, followed by the determination of EROD activity. Each bar represents the mean $\pm$ S.E. of triplicate assay. *, †, #: Significantly different between the pair indicated (*, $p<0.05$; †, $p<0.01$; #, $p<0.001$). The EROD activity in control (DMSO) was 0.03 fmol resorufin formed/min/well.

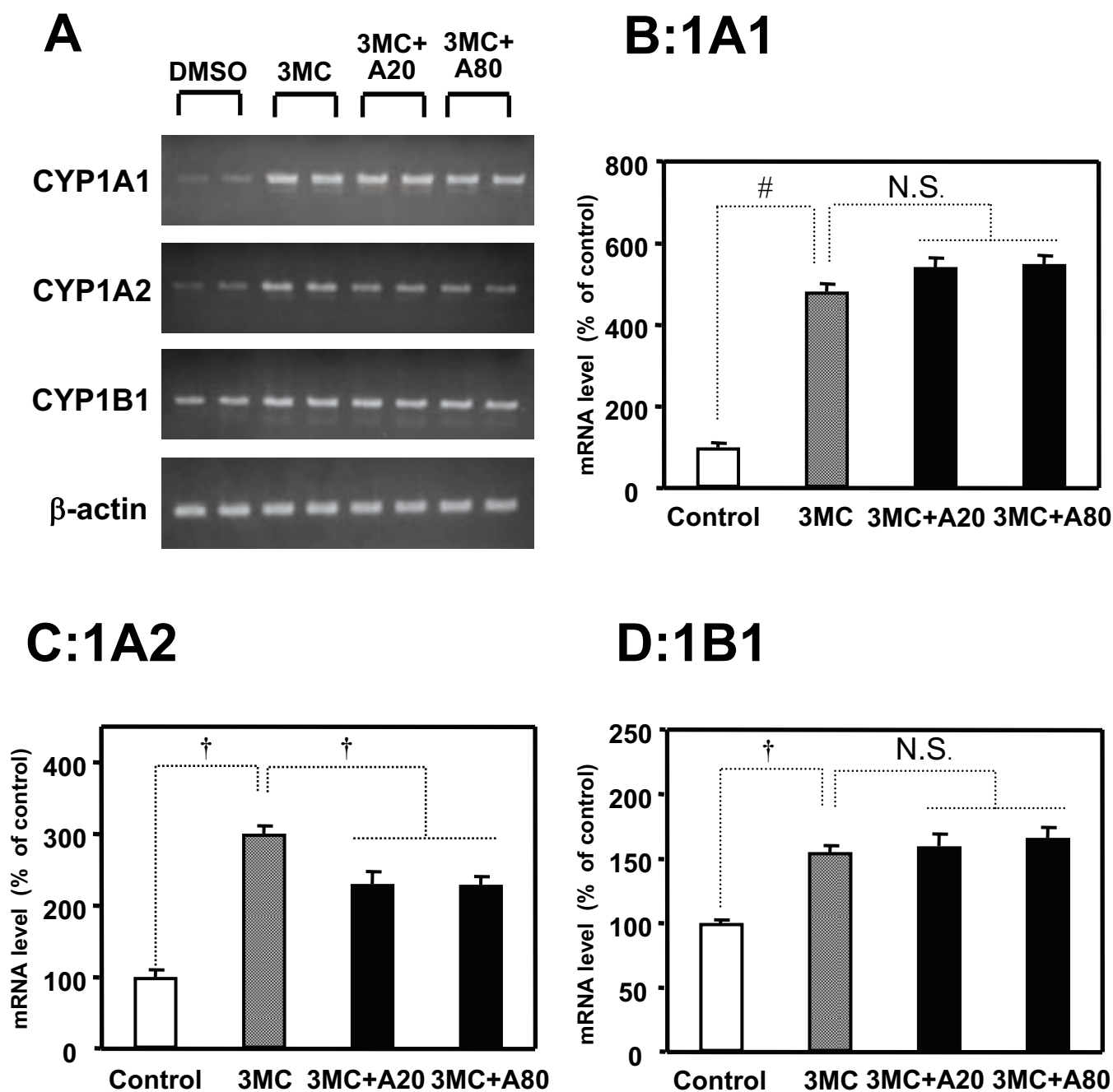


Fig. 10. Effects of ALLN on the expression of CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 mRNAs in T47D cells. Gel image of cDNA amplified (A) and quantitative representation of mRNA (B-D) are shown. In panels B-D, each figure shows the relative expression to the control (= 100%). The band intensity of each CYP mRNA was normalized by β-actin. In B, C and D, each bar represents the mean $\pm$ S.E. of four determinations. †, #: Significantly different between the pair indicated (†, $p < 0.01$; #, $p < 0.001$). N.S.: Not significant.

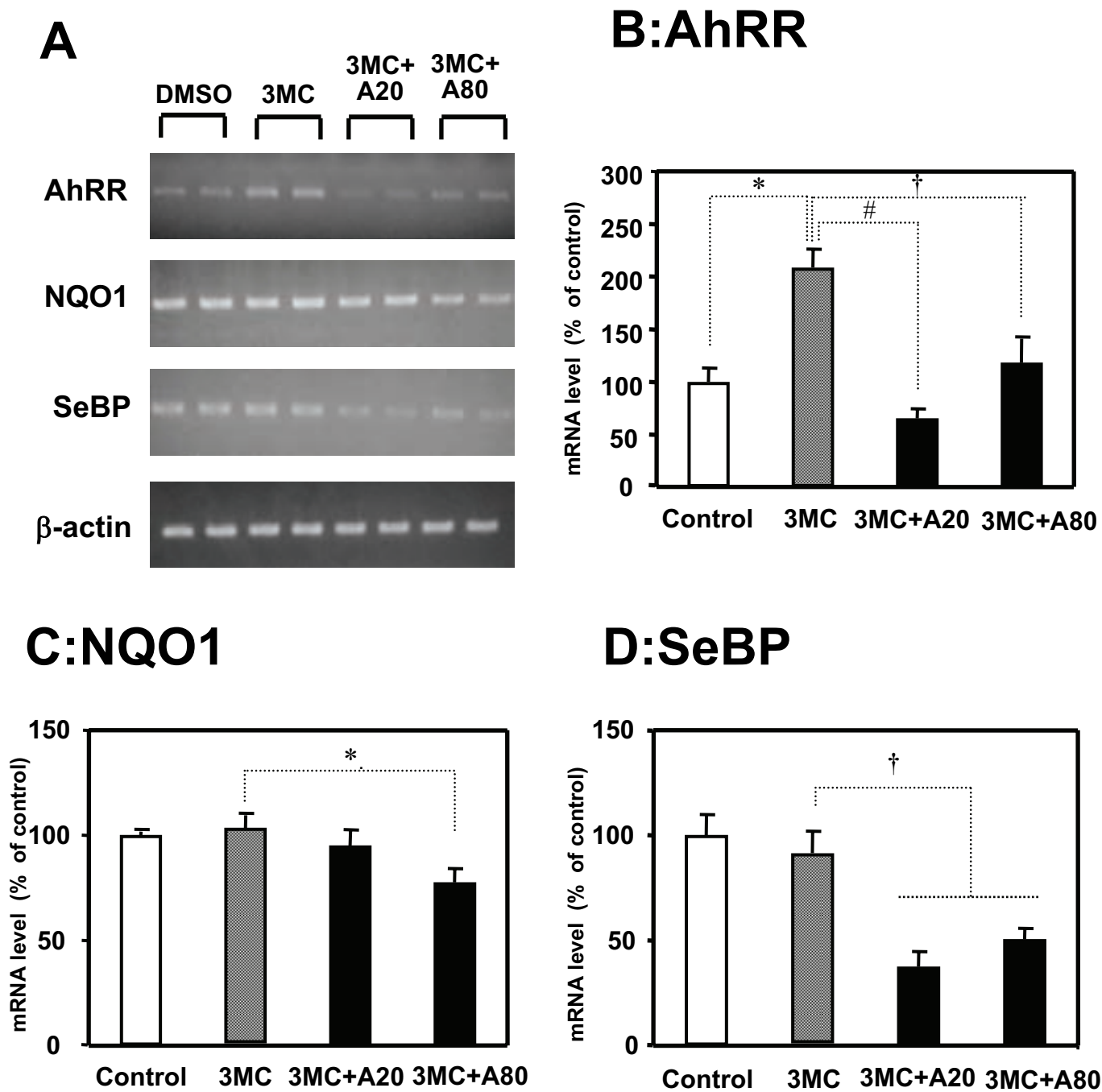


Fig. 11. Effects of ALLN on the expression of AhRR, NQO1 and SeBP mRNAs in T47D cells. Gel image of cDNA amplified (A) and quantitative representation of mRNA (B-D) are shown. In panels B-D, each figure shows the relative expression to the control (= 100%). The band intensity of each mRNA was normalized by β -actin. In B, C and D, each bar represents the mean $\pm$ S.E. of four determinations. *, †, #: Significantly different between the pair indicated (*, $p < 0.05$; †, $p < 0.01$; #, $p < 0.001$).

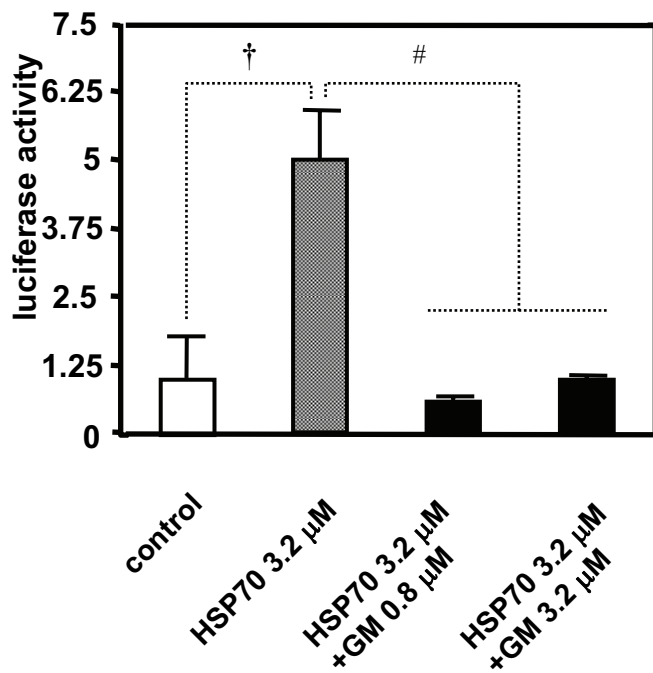
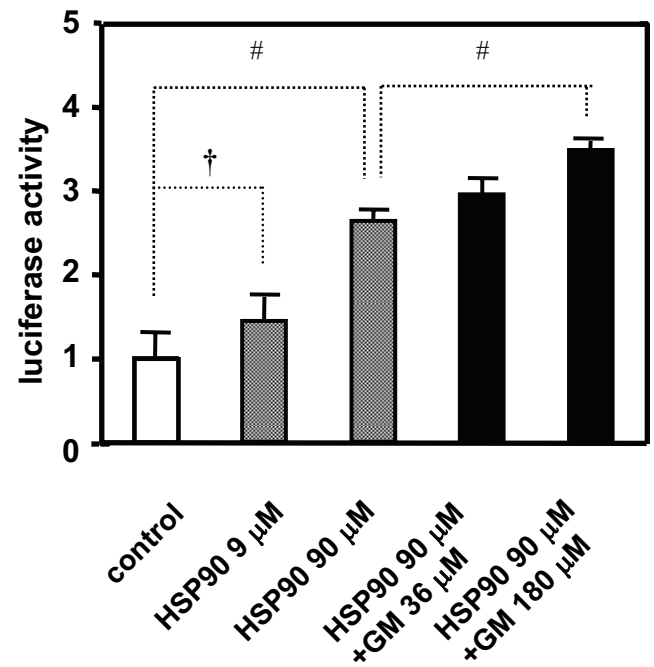
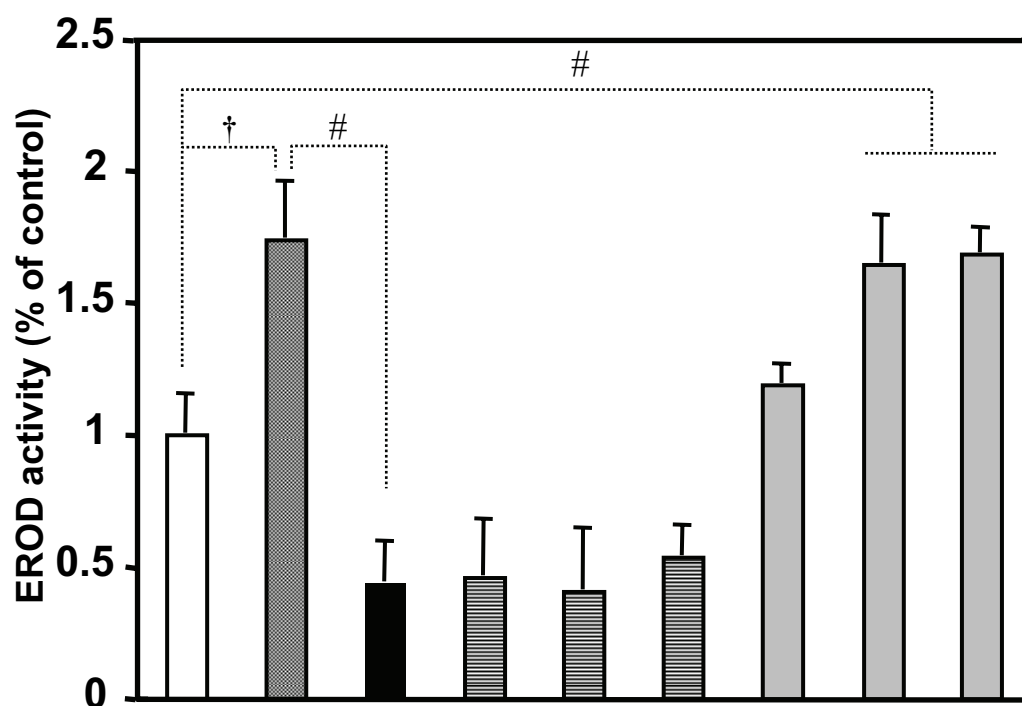
A**B**

Fig. 12. The inhibitory effect of GM on HSP70- and HSP90-mediated refolding of denatured firefly luciferase. Firefly luciferase denatured with 6M guanidine was incubated with HSP70 (A) and HSP90 (B) in the absence and presence of GM. Following incubation, refolding of luciferase was measured by estimating the restoration of the activity. Each bar represents the mean of triplicate assay. †, #: Significantly different between the pair indicated (†, $p < 0.01$; #, $p < 0.001$).



3MC (1 μ M) :	—	+	+	+	+	+	—	—	—
ALLN (40 μ g/ml) :	—	—	+	+	+	+	—	—	—
GM (mM) :	—	—	—	0.2	1	2	0.2	1	2

Fig. 13. Absence of the inhibitory effect of GM on the ALLN-produced reduction of CYP1A induction. T47D cells were pre-treated with 40 μ g/ml ALLN and GM for 4h, and then cultured in the presence of the same concentration of ALLN, GM and 1 μ M 3MC for 2 h, followed by the determination of ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) activity. Each bar represents the mean $\pm$ S.E. of triplicate assay. †, #: Significantly different between the pair indicated (†, $p < 0.01$; #, $p < 0.001$).

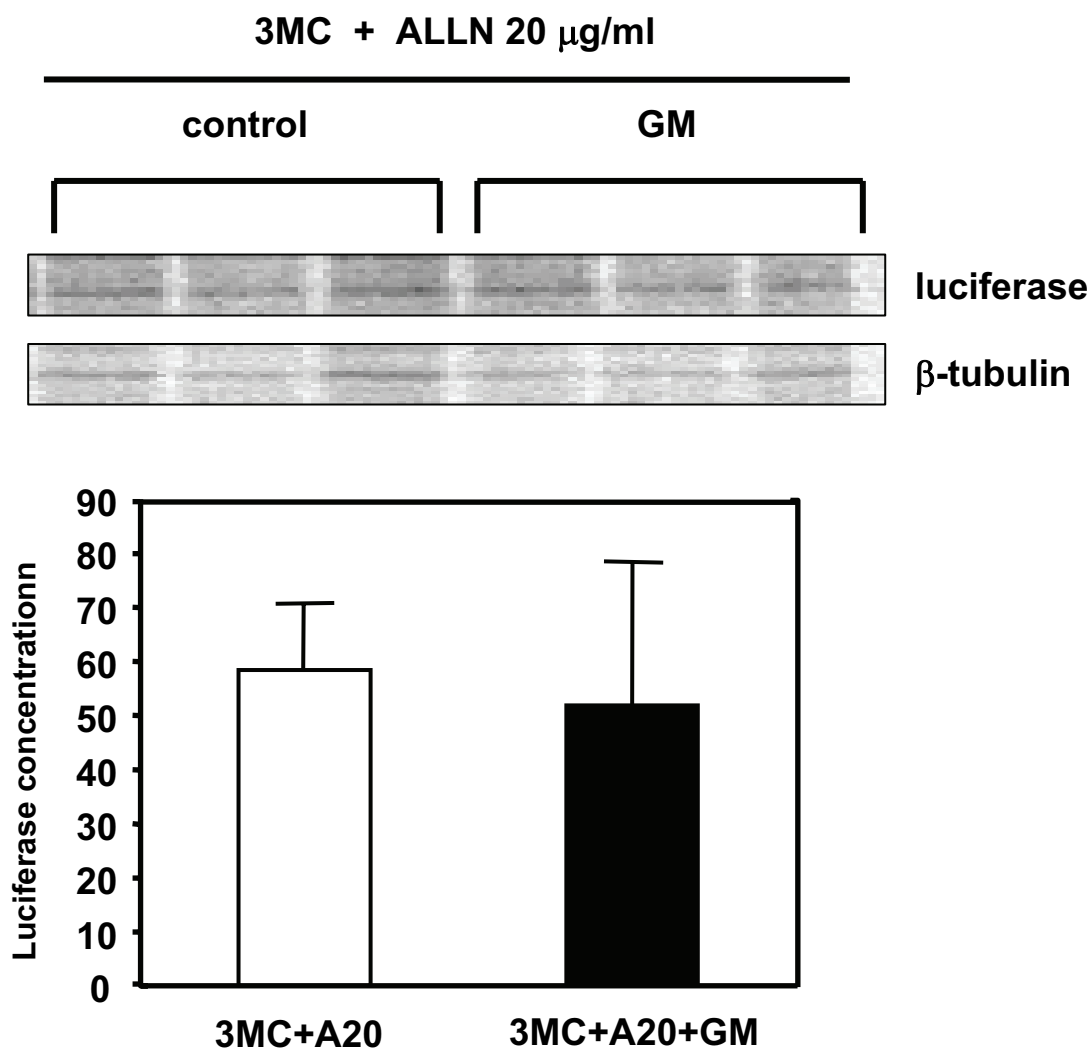


Fig. 14. The effect of GM on AhR-mediated expression of luciferase reporter gene. T47D cells were pre-treated with 20 μ g/ml ALLN and 0.2 mM GM for 4h, and then cultured in the presence of the same concentration of ALLN, GM and 1 μ M 3MC for 12 h. The cells were then labeled for 30 min with [^{35} S]methionine and the luciferase protein was immunoprecipitated with a polyclonal anti-luciferase antibody. The labeled luciferase protein in the precipitates was subjected to SDS-PAGE (10% gel), and the radioactivity incorporated was visualized by BAS-2500 IP Reader. For reference, β -tubulin labeled with [^{35} S]methionine was precipitated and analyzed in the same manner as luciferase. The band was quantified and normalized by β -tubulin level.

分担研究報告書

2,2',3,4',4,5',6-七塩素化ビフェニル(CB183)のin vitro代謝の動物種差

分担研究者 古賀 信幸 中村学園大学栄養科学部 教授

研究要旨 哺乳動物血液中で最も高濃度に存在する PCB 代謝物として 4-hydroxy (OH)-CB187 が、注目されている¹⁻³⁾。本代謝物の親 PCB としては CB187 と CB183 が考えられるが、昨年までに CB187 代謝を数種類の実験動物で検討したところ、主代謝物ではないがラットおよびモルモットで生成されることを確認した。そこで本研究では、CB183 から生成されるか否か明らかにするため、ラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)による in vitro 代謝を調べた。その結果、いずれの動物肝でも2種類の代謝物(M-1, M-2)が生成された。これらの代謝物の化学構造は、GC-MS および別途合成した標準品との比較から、それぞれ 3'-CH₃O-CB183 および 5-CH₃O-CB183 であると同定され、上記 4-OH-CB187 はいずれの動物肝 Ms によって、全く検出されなかった。また、M-1 と M-2 の生成活性はラットで最も高いこと、すべての動物で PB 前処理により生成が促進されることも明らかとなった。

以上の結果から、4-OH-CB187 の親 PCB は、CB187 であり、CB183 からは生成されないことが示唆された。

A. 研究目的

最近、4-hydroxy (OH)-CB187 が、哺乳動物血中で最も高濃度に存在する PCB 代謝物として注目されている¹⁻³⁾。本代謝物の親 PCB としては CB187 と CB183 が考えられるが、両 PCB の代謝経路はよくわかっていなかった。当研究室では、昨年までに動物肝ミクロゾーム(Ms)による CB187 の in vitro 代謝⁴⁾を検討したところ、①3種類の代謝物、すなわち 4'-OH-CB151 (M-1), 4'-OH-CB178 (M-2), 4-OH-CB187 (M-3)が生成されること、②ラットやハムスターに比べ、モルモットで最も高い代謝活性を示すこと、③フェノバルビタール(PB)誘導性チトクロム P450 (P450)の CYP2B が最も重要であることを、また④CB187 投与ラットおよびモルモットを用いた in vivo 代謝において、生成された 4-OH-CB187 は選択的に血中へと分布することを明らかにした。⁵⁾

一方、この4-OH-CB187はCB183からも、4,5-エポキシドの生成およびNIH転位を經由

して生成される可能性が考えられる。そこで本研究では、本代謝物がCB183から生成されるか否かを明らかにするため、動物肝MsによるCB183のin vitro代謝を調べた。

B. 研究方法

① 実験動物および薬物処理: 実験動物は Wistar 系雄性ラット(体重約 200 g)、Hartley 系雄性モルモット(体重約 280 g)および Golden syrian 雄性ハムスター(体重約 90 g)を用いた。肝 Ms の調製は、未処理、PB (80 mg/kg/day × 3)または 3-メチルコラントレン (MC) (20 mg/kg/day × 3)前処理の実験動物より肝を摘出し、常法により行った。

② CB183 代謝: CB183 を NADPH 存在下、好氣的に動物肝 Ms とともに HEPES 緩衝液 (pH 7.4)中で、37℃、60 分間インキュベート後、クロロホルム-メタノール(2:1)および *n*-ヘキサンで抽出後、メチル化し、GC-ECD および GC-MS で分析した。

(倫理面への配慮)

動物肝 Ms の調製に際し、動物の苦痛をできるだけ軽減するため、後頭部を強打して気絶させ、頸動脈からの脱血により死亡させた。

C. 研究結果

Fig. 1 には、GC-ECD の結果を示す。いずれの PB 前処理動物肝 Ms によっても CB183 から2種類の代謝物ピーク(M-1, M-2)が検出された。GC-MS の結果、これらの分子量はいずれも 422 であったことから、monoOH 体(メチル化体)であることが判明した(Table 1)。また、マスフラグメンテーションから、M-1(メチル化体)は meta 位にさらに M-2(メチル化体)は para 位に CH₃O 基を持つことが示唆された。別途、予想代謝物を合成して、GC-MS で保持時間およびマススペクトルを比較したところ、M-1(メチル化体)は 3'-CH₃O-CB183 と完全に一致した。一方、M-2(メチル化体)は 4-CH₃O-CB187 だけでなく、5-CH₃O-CB183 と一致した。そこで、次にこれらを GC 上で完全に分離するため、GC カラムの再検討を行った。その結果、当初 DB-1(30m 長)カラムで分離できなかった上記2種の合成標品は、SP2330(30m 長)カラムで完全に分離された(Table 2)。このカラムで M-2(メチル化体)を測定したところ、保持時間が 5-CH₃O-CB183 と完全に一致した。

ところで、肝 Ms による M-1 と M-2 の生成量には動物種差がみられた(Fig. 2)。すでに報告した CB187 代謝では、モルモットで活性が高かったが、今回の CB183 代謝ではラット > モルモット = ハムスターの順となった。また、両代謝物の生成は CB187 の場合と同様に、PB 前処理により促進されたが、誘導の程度

は CB183 代謝物の方が大きかった。さらに、M-1 と M-2 の生成比も動物間でかなり異なっており、モルモットで 1.77、ラットで 0.39、ハムスターで 0.22 であった。

D. 考察

これまで、CB183代謝物のM-1とM-2はそれぞれ3'-OH-CB183および4-OH-CB187と考えてきたが⁶⁾、今回、M-2につきGCカラムの再検討をしたところ、5-OH-CB183であることが判明した。このことから、ラット、モルモットおよびハムスターのいずれの動物肝においても、CB183からは3'-OH- および5-OH-CB183が生成されるのみで、4-OH-CB187は生成されないことが明らかとなった(Fig. 3)。

E. 参考文献

1. Å. Bergman, E. Klasson-Wehler and H. Kuroki, Environ. Health Perspect., **102**, 464-469 (1994).
2. G. M. Sandala, C. Sonne-Hansen, R. Dietz, D. C. Muir, K. Valters, E. R. Bennett, E. W. Born and R. J. Letcher, Sci. Total Environ., **331**, 125-141 (2004).
3. C. D. Sandau, P. Ayotte, E. Dewailly, J. Duffe and R. J. Norstrom, Environ. Health Perspec., **108**, 611-616 (2000)
4. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, and N. Koga, Xenobiotica, **35**, 319-330 (2005).
5. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, and N. Koga, Organohalogen Compounds, **67**, 2343-2345 (2005).
6. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, M. Ozaki, N. Koga, Organohalogen Compounds, **68**, 1733-1736 (2006).

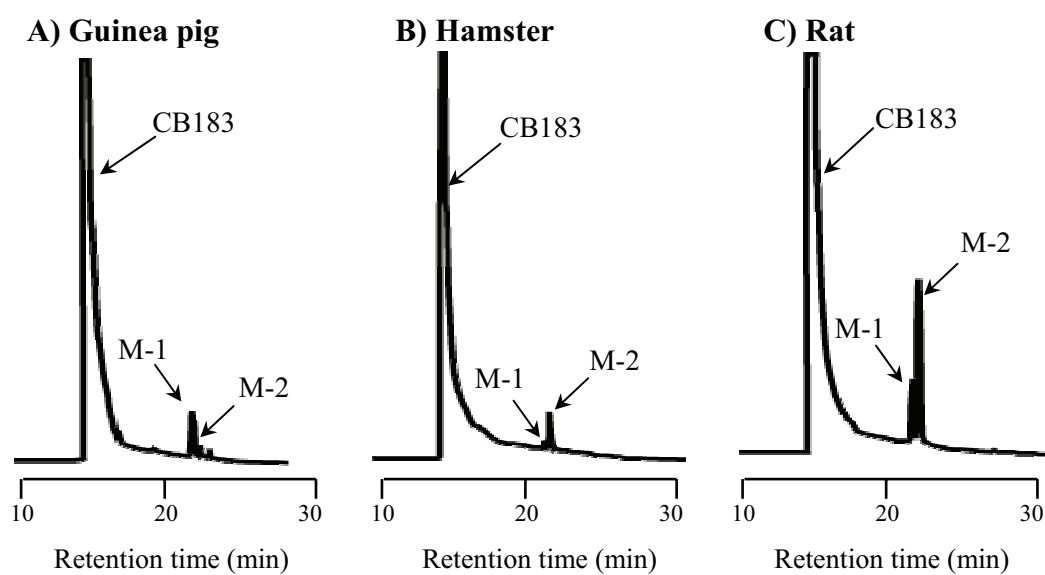


Fig. 1 GC-ECD chromatograms of the methylated derivatives of CB183 metabolites formed by liver microsomes of PB-treated rats (A), guinea pigs (B) and hamsters (C). DB-1 capillary column (30 m long) was used for GC-ECD.

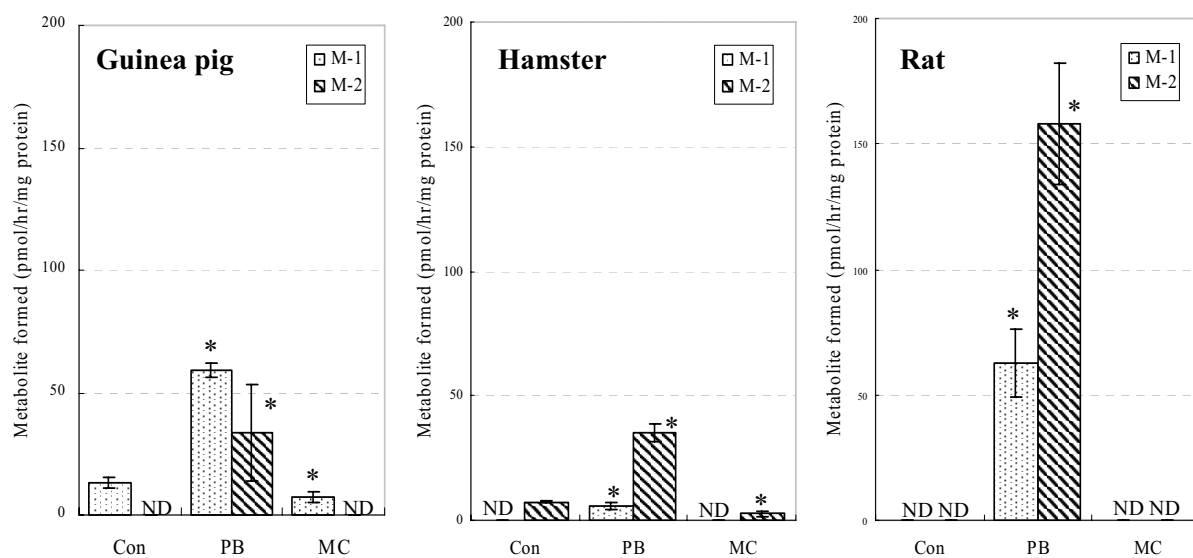


Fig. 2 Effects of P450 inducers on CB183 metabolism with liver microsomes of guinea pigs, hamsters and rats

Each column represents the mean $\pm$ S.D. (vertical bars) of four animals.

* Significantly different from untreated animals ($p < 0.05$).

Table 1 Mass spectral data and retention times of the methylated derivatives of two CB183 metabolites and its synthetic compounds in GC-MS

Compound	Molecular weight	Mass spectral data (relative abundance, %)						Retention time (min)
		[M ⁺]	[M ⁺ -15]	[M ⁺ -35]	[M ⁺ -43]	[M ⁺ -50]	[M ⁺ -113]	
M-1	422	100	2	-	38	9	58	17.07
M-2	422	100	26	-	47	24	61	17.15
3'-MeO-CB187	422	100	13	-	40	12	56	16.75
4'-MeO-CB178	422	100	28	-	41	-	74	16.93
3'-MeO-CB183	422	100	4	-	40	-	46	17.07
4'-MeO-CB175	422	100	26	-	39	-	40	17.13
5-MeO-CB183	422	100	28	-	42	23	42	17.15
4-MeO-CB187	422	100	22	-	47	-	54	17.15

DB-1 capillary column (30 m long) was used for GC-MS.

The oven temperature was programmed from 70°C (2 min) to 230°C at a rate of 20°C/min and then to 280°C at a rate of 4°C /min. The temperatures in the injection port and the detector were 250°C.

Table 2 Comparison of retention times of the methylated CB183 metabolite (M-2) and its corresponding compounds using various GC columns.

Compound	Retention time (min)			
	DB-1 (30 m)	DB-1 (60 m)	DB-5 (60 m)	SP-2330 (30 m)
<u>Standard</u>				
5-MeO-CB183	22.51	106.24	119.52	23.69
4-MeO-CB187	22.51	106.39	119.91	24.13
<u>CB183</u>				
M-2	22.51	106.22	119.50	23.69

The temperatures in the column oven, the injection port and the detector were 230°C, 250°C and 250°C, respectively.

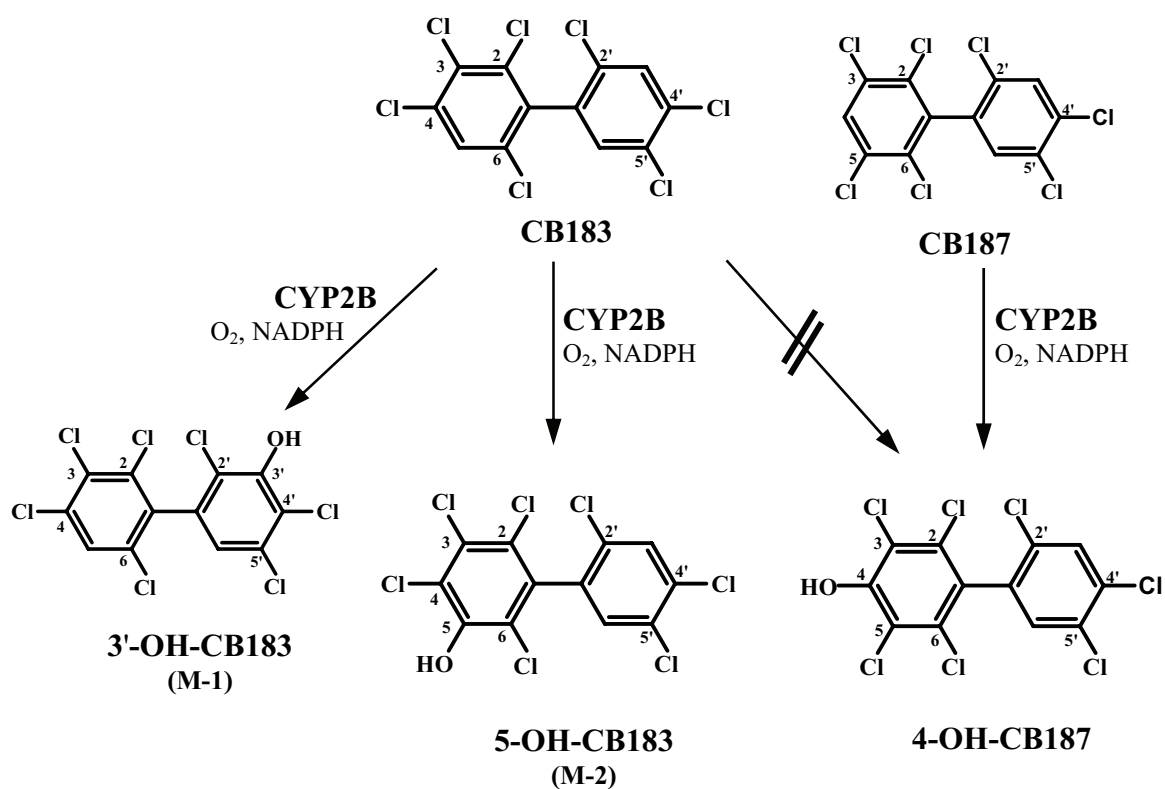


Fig. 3 Postulated metabolic pathways of CB183 in animal liver.

ダイオキシン曝露による気道上皮傷害の検討

分担研究者 中西洋一 九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設 教授

研究要旨 PCB/ダイオキシン類曝露による気道上皮細胞の傷害に関して検討を行った。*in vitro*の検討では TCDD 曝露により気道上皮細胞株に酸化ストレスが発生することが明らかになった。また抗酸化作用をもつといわれる (-)-epigallocatechin gallate や Vitamine E にても酸化ストレスは減弱した。*in vivo*での検討としてマウスへの腹腔へ TCDD の投与を行ったが今回の検討では酸化ストレスの発生は確認できなかった。

A. 研究目的

油症の呼吸器症状として慢性の咳、痰などいわゆる慢性気管支炎の症状が認められる。PCB/ダイオキシン類の曝露により気道上皮の傷害が起こるものと考えられる。気道上皮由来の細胞株を用いてダイオキシン類の曝露による細胞傷害の機構を明らかにするために今回の研究を行った。

B. 研究方法

酸化ストレスの計測(*in vitro*)：気道上皮由来の細胞株 A549 に TCDD を曝露し、細胞の酸化ストレスを測定した。酸化傷害の測定は DCF assay にて測定した。細胞に PCB/ダイオキシン類を 3 時間曝露した後に 10 μ M の H₂DCFDA にて 30 分培養し、FACS にて蛍光 (excitation 490nm emission 526nm) を測定した。

酸化ストレスの計測(*in vivo*)

0, 0.001, 0.01, 0.1 μ g TCDD/kg/日 の TCDD をマウス (C57B6 8 週齢) の腹腔内へ 7 日間投与した後に cytochrome c reduction assay (1) にて組織内の superoxide anion production を計測した。

C. 研究結果

A549 細胞に PCB/ダイオキシン類を曝露した後に酸化ストレスを検討した結果、コントロールと比較して酸化ストレスが増強した (図 1)。

抗酸化作用を有するとされる (-)-epigallocatechin gallate や Vitamine E を用いてダイオキシン類曝露による酸化ストレスを低減できるか否かの検討を行った。両者をダイオキシン類と共に曝露することにより酸化ストレスは低下した (図 2)。

マウスの実験系にて 7 日間の TCDD 投与後の検討では肺での酸化ストレスの発生は認めなかった (表 1)。

D. 考察

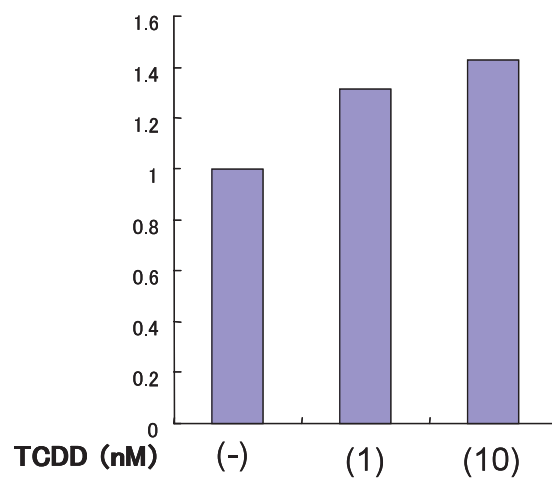
ダイオキシンの曝露により気道の上皮細胞において酸化ストレスが発生し、この酸化ストレスは抗酸化作用をもつ (-)-epigallocatechin gallate や Vitamine E を用いることによって減弱できることが細胞株を用いた実験で明らかになった。しかしながら今回の動物実験系では組織での酸化ストレスの発生は確認できなかった。

た。また組織学的にも気道炎症などの所見は認めなかった。投与量、期間などの問題があると考えられた。今後は組織の TCDD 濃度の測定などを行い、投与量の調節を行い、酸化ストレス、気道の炎症について再評価する必要があると考えられた。

参考文献

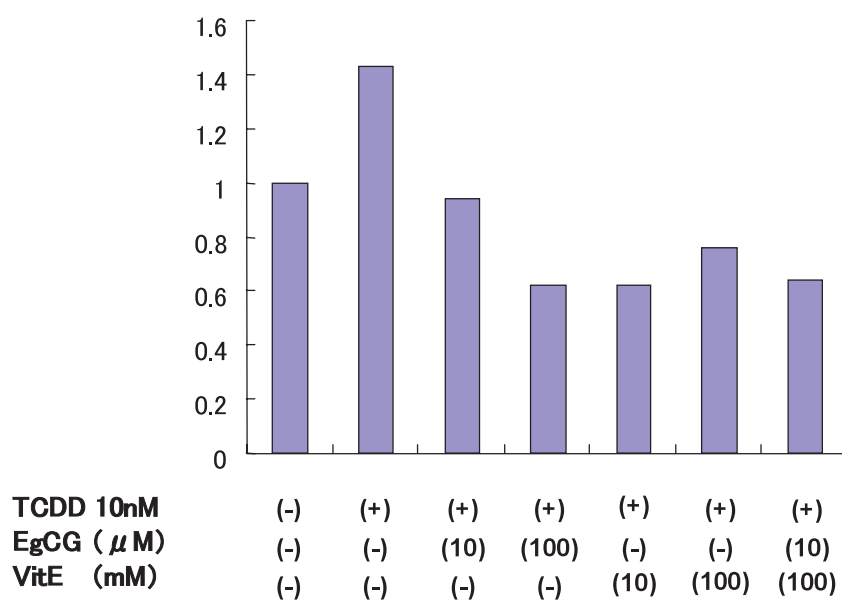
(1) Hossoun E et al. Induction of Oxidative stress in brain tissue of mice after subchronic exposure to 2,3,7,8-TCDD. *Toxicol Sci.* 42, 23-27, 1998

図1.



TCDDを各濃度でA549細胞に曝露し、酸化ストレスを計測した。Controlの蛍光強度を1としたダイオキシン類を曝露することにより酸化ストレスが発生した

図2.



抗酸化作用をもつEgCG、Vitamine Eの効果を検討した。両物質によりTCDDによる酸化ストレスの発生が抑制された。

表1.

Dose of TCDD	Cyt C reduction (nmoles cyt c reduced/min/mg Protein)
control	0.190±0.04
0.001 μ g/kg/day	0.183±0.043
0.01 μ g/kg/day	0.173±0.032
0.1 μ g/kg/day	0.186±0.021

各量を7日間連日腹腔内投与した後にCyt C reduction assayにて組織の酸化ストレスを検討した。今回の検討では差が認められなかった。n=3

研究成果の刊行に関する一覧表

(2006 年度分)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
上ノ土武、 柴田智子、 古江増隆	ダイオキシン 類と皮膚疾患	玉置邦彦	最新皮膚科学体系 2006-2007	中山書店	東京都、 日本	2006	293-302

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomoaki Imamura , Shinya Matsumoto, Yoshiyuki Kanagawa , Bunichi Tajima, Shiro Matsuya, Masutaka Furue and Hiroshi Oyama	A technique for identifying three diagnostic findings using association analysis	Medical and Biological Engineering and Computing	DOI:10.1 007/s115 17-006-0 121-6		in press (2006)
Takao Iida, Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Tsuguhide Hori, Kazuhiro Tobiishi, Takahiko Matsueda, Shaw Watanabe, Taketo Yamada	Concentration and distribution of dioxins and related compounds in human tissues	chemosphere			in press
Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Iida T, Yoshimura T and Furue M	Follow-up survey of dioxins concentrations in the blood of Yusho patients in 2002-2005	Organohalogen compounds	68	1605-1607	2006
Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Tsuguhide Hori, Kazuhiro Tobiishi, Takao Iida, Masutaka Furue	Concentration of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-ortho and mono-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients.	Chemosphere	66	1983-1989	2007
太田千穂, 原口浩一, 尾崎真理, 太岡樹子, 古賀信幸	2,2',3,4,4',5,5',6- 七塩素化ビフェニル (CB187)の主代謝物の合成	中村学園大学・中村 学園大学短期大学 部研究紀要	38	197-201	2006
Ohta C, Haraguchi K, Kato Y, Ozaki M, Koga N	In vitro metabolism of 2,2',3,4,4',5,5',6-h eptachlorobiphenyl(CB1 83) with liver microsomes from rats, guinea pigs and hamsters	Organohalogen compounds	68	1733-1736	2006
上ノ土武、柴田智子	ダイオキシン類が人体に 及ぼす影響油症を通じて 明らかになったこと	日皮会誌	116(13)	2174-2177	2006
柴田智子、上ノ土武、 古江増隆	環境ホルモンと皮膚疾患 ー油症をモデルにしてー	皮膚アレルギーフ ロンティア	4(3)	163-167	2006

