熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

平成19年度

平成19年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進究事業

熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

平成19年度　　総括・分担研究報告書

主任研究者　古江　増隆

平成20（2008）年3月

平成１９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１９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　（奈良県立医科大学健康政策医学講座 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　講師）

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 助教）

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　（九州大学大学院医学研究院保健学部門 准教授）

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　（長崎大学医歯薬学総合研究科保健学専攻 教授）

（五十音順）

研究協力者

旭　　正一　（産業医科大学皮膚科 名誉教授）
芦塚 由紀　（福岡県保健環境研究所生活化学課 研究員）
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　（（財）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 准教授）
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 助教）
今福 信一　（北九州市立医療センター皮膚科）
岩下 弥生　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野）
内　　博史　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野）
大八木 保政（九州大学大学院医学研究院神経内科 准教授）
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）
神田 哲郎　（長崎県離島医療権組合五島中央病院 院長）
北岡　　隆　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科眼科・視覚科学分野 教授）
吉良 潤一　（九州大学大学院医学研究院神経内科 教授）
桑原 正雄　（県立広島病院呼吸器内科 部長）
小池 創一　（東京大学大学院医学系研究科社会医学専攻医療情報経済分野 講師）
柴田 智子　（北九州市立医療センター皮膚科）
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 准教授）
宿輪 昌宏　（宿輪医院 院長）
新谷 依子　（福岡県保健環境研究所生活化学課 技師）
髙尾 佳子　（福岡県保健環境研究所情報管理課 主任技師）
千葉 貴人　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野）
津田 俊彦　（長崎県離島医療圏組合奈留病院 院長）
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　（長崎大学医歯薬学総合研究科保健学専攻 助教）
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 准助教）
平川 博仙　（福岡県保健環境研究所生活化学課 専門研究員）
吹譯 紀子　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野）
福士 純一　（九州大学病院整形外科 助教）
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 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）
山下 貴知男（五島市国民健康保険玉之浦診療所 所長）

（五十音順）

目　　次

Ⅰ．平成１９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１９年度分担研究報告

1. 熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・０９
分担研究者　赤峰 昭文
研究協力者　橋口　　勇

2. 油症患者における漢方療法臨床試験への臨床的考察・・・・・・・・・・・・・２３
分担研究者　古江 増隆，中山 樹一郎
研究協力者　吹譯 紀子，　内　　博史，今福 信一，柴田 智子，
桑原 正雄，　神田 哲郎，宿輪 昌宏，津田 俊彦，
山下 貴知男，旭　　正一，千葉 貴人，岩下 弥生

3. 骨組織におけるダイオキシン類の濃度測定・・・・・・・・・・・・・・・・・２５
分担研究者　岩本 幸英
研究協力者　福士 純一，吉村 健清，梶原 淳睦

4. 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・・・・２７
分担研究者　隈上 武志
研究協力者　北岡　　隆

5. 熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・２９
分担研究者　石橋 達朗

6. 油症患者における婦人科疾患に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・３０
分担研究者　月森 清巳

7. 油症患者にみられる末梢神経障害の再検討・・・・・・・・・・・・・・・・・３３
分担研究者　重藤 寛史
研究協力者　吉良 潤一，大八木 保政

8. 油症患者における免疫機能の検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・３７
分担研究者　辻　　博

9. 油症患者における内科的疾患の検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・４０
分担研究者　飯田 三雄
研究協力者　東　 晃一

10. 油症認定患者血清中の抗 SS-B 抗体の解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・４１
分担研究者　佐藤 伸一
研究協力者　清水 和宏，小川 文秀

11. 油症患者尿中 Hexanoyl-Lysine の検討・・・・・・・・・ ・・・・・・・・・・・４４
分担研究者　佐藤 伸一
研究協力者　清水 和宏，小川 文秀

12. カネミ油症検診者の血清 CK およびアルドラーゼ値の経年変化と
合併症について・・・・４７
分担研究者　吉村 俊朗
研究協力者　中野 治郎

13. 油症認定患者追跡調査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・５６
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

14. カネミ油症患者の症状と PeCDF の累積暴露量の関係に関する研究・・・・・・・５９
分担研究者　今村 知明
研究協力者　小池 創一，神奈川 芳行，松本 伸哉

15. 油症に対する漢方療法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・６５
分担研究者　徳永 章二

16. 油症の健康影響に関する疫学的研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・７３
分担研究者　吉村 健清
研究協力者　片岡 恭一郎，髙尾 佳子，小野塚 大介，梶原 淳睦

17. 油症認定患者血液中の PCDF 類実態調査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・８３
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，
新谷 依子，戸高　 尊，　飯田 隆雄

18. 油症検診以外の油症認定患者の生体試料中のダイオキシン類実態調査・・・・・９１
分担研究者　吉村 健清，長山 淳哉
研究協力者　梶原 淳睦，平川 博仙，　堀　 就英，飛石 和大，
安武 大輔，小野塚 大介，戸高　 尊，飯田 隆雄

19. 油症認定患者血液中 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・・・・９４
分担研究者　吉村 健清
研究協力者　梶原 淳睦，飯田 隆雄

20. 妊婦の喫煙状態、AhR 遺伝子多型と PCB・ダイオキシン類濃度との関連・・・・・９７
分担研究者　岸　 玲子

21. 油症原因物質等の体外排泄促進に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・１０３
分担研究者　長山 淳哉

22. Resveratrol によるダイオキシン類毒性軽減効果：
bioavailability 改善と毒性軽減効果への影響に関する検討・・・・１０８
分担研究者　山田 英之
研究協力者　石井 祐次，石田 卓巳

23. 食物成分 piperine によるダイオキシン類毒性軽減の試み・・・・・・・・・１１９
分担研究者　山田 英之
研究協力者　石井 祐次，石田 卓巳

24. ダイオキシンのステロイドホルモン合成障害機構の解明：
成獣への脳室内投与による週令依存性に関する検討・・・・１３３
分担研究者　山田 英之
研究協力者　石井 祐次，石田 卓巳

25. 2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル(CB146)の動物肝による
in vitro 代謝・・・・１３９
分担研究者　古賀 信幸

26. ダイオキシン曝露による気道上皮傷害の検討・・・・・・・・・・・・・・・１４７
分担研究者　中西 洋一

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・１５０

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、2007 年度も新たに６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。患者体内のダイオキシン類の正確な定量化が可能になったことにより、体内に残存するダイオキシン類の排泄方法や、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た。また 4 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チラミドの臨床試験を開始し、いまのところ大きな副作用はみられていない。基礎的研究では PCB/ダイオキシン類は arylhydrocarbon recepotor (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り、またポリフェノールの一種であるレスベラトロールはダイオキシン毒性を一部軽減し得るが、その代謝酵素の阻害剤である piperine と併用することによりレスベラトロールの毒性軽減効果を増強することが動物実験において明らかになった。高齢化や社会的偏見により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。加えて、年々徐々に症状は軽減していくものの、高齢化に伴い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。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。また油症新聞を創刊した。この研究においての究極的な目的は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 39 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り、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、検診に導入できるようになった。今後、より多くの患者のＰＣＤＦ濃度を測定し、検診項目、各検査との検討を行い、ＰＣＤＦが症状形成にいかに寄与したかを確認する必要がある。

数年前までは検診を受診する患者の数は年々減少し、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 19 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、患者に対して既往歴、症状、生活習慣の聞き取りまたは文書による調査を行う。

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．漢方療法およびコレスチミドの臨床試験を実施

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し、新たにコレスチミドによるダイオキ

シン排泄効果の臨床試験をスタートさせた。

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（アルドラーゼ、クレアチニン、など)、尿検査、神経学的検査から健康影響を調査する。

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．油症の次世代に及ぼす影響に関する検討を行う。

５．油症原因物質などの体外排泄促進に関する研究を行う。

６．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、生殖毒性を検討する。高残留性 PCB である 2,2’,3,4’,5,5’,6-六塩素化ビフェニルの代謝経路について検討する。

７．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軽減の有無を検討する。

Ｃ．結果および考察

１．油症患者検診結果

データーベースの構築に伴い、検診時にデーター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。今年度のデーターベースには 1986 年度から 2006 年度検診までの検診受診者 1222 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ところ、有意差をもって高血圧性変化及び網膜細動脈硬化性変化共に認定患者の方が高度であった。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 39 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。平成 18 年度は家族構成についての情報を聴取し、現在解析が進んでいる。平成 19 年度はアレルギー疾患の既往歴および食生活に関するアンケートを実施しており、油症と関連を検討する予定である。

３．コレスチミドによる臨床試験

ダイオキシン排泄促進効果が期待される

コレスチミドによる治験を開始している。現在福岡市および五島地方において 15 名に対し実施中であり、さらに北九州市、長崎市においても開始予定である。

４．油症に対する漢方療法

2005 年 11 月から漢方薬による油症の諸症状（全身、神経、皮膚、呼吸器症状）の軽減効果を確認する臨床試験を福岡市、長崎県および広島市において行った。患者が重要視する症状から最大２症状を選び、にきび様皮疹・面皰に対しては荊芥連翹湯、咳・痰に対して麦門冬湯、しびれに対して牛車腎気丸、全身倦怠感に対して補中益気湯を処方した。症状重症度は VAS (Visual Analogue Scale, 視覚尺度)により、QOL（生活の質）は SF-36 (NBS) により評価した。27 名が参加し、大きな副作用はなかった。麦門冬湯により呼吸器重症度が改善される可能性が示唆された。また、麦門冬湯は他の漢方薬に比べて QOL の一部をより改善する可能性がある。

５．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３号を発行した。

６．油症一斉検診結果の全国集計および油症患者データーベースの構築

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。2007 年に新たに油症と認定された 5 名を含めると、2007 年 12 月末現在における全認定患者は 1917 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 1383 名、死亡の確認がとれている者が 501 名、生死不明の者が 33 名であった。

また油症認定患者の血中ダイオキシン類濃度を評価する上で不可欠な高齢者の比較対照群について、一般住民の協力を得て採血を実施することができた。一般住民における血中ダイオキシン類の分析結果が得られた。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ーベース構築に対応することができた。

７．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

2007 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を検討した。

腹部超音波検査にて Bright liver、脂肪肝を 149 例中 47 例 (31.5%) に認めた。

油症患者において免疫グロブリンおよび各種自己抗体を測定し、油症原因物質の免疫機能に対する慢性的影響について検討したところ、血中 PCB 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に有意の相関を認めた。そして、抗核抗

体を血中 PCB 低濃度群に比べ血中 PCB 高濃度群に有意に高頻度に認めた。

骨や関節に関する愁訴は油症発生当時より存在し、アンケートにより現在でも７０％を超える油症患者が背中や関節の痛みを訴えている。血中ダイオキシン類濃度の増加と、関節痛や背中の痛みとの間に正の関連があることが判明した。現在人工関節手術時に切除した正常人および油症患者の余剰な骨片において、海綿骨中のダイオキシン類濃度を測定している。

末梢神経障害については、自覚的感覚異常は油症認定患者の 59.4%、非認定患者の 49.3% に認め、他覚的感覚異常は認定患者で 16.7%、非認定患者で 7.2%で認められた。

油症認定患者における酸化ストレスを評価するために、患者と正常健常人の尿を用いて初期脂質酸化ストレスの新しいマーカーである Hexanoyl-Lysine (HEL) を測定した。油症認定患者 57 名、健常人 51 名において尿 creatinine で補正した値を比較したが、有意差を認めなかった。

８．患者血液中 PCB/ダイオキシン類と検査項目、検診所見との相関

2005 年度の油症検診の所見を集計した。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、かつてのざ瘡様皮疹、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。血中 PCB 濃度は認定群の男の幾何平均値が 2.4ppb、女の幾何平均値が 2.1ppb だった。PCQ 濃度は認定群の男の幾何平均値が 0.12ppb、女が 0.15ppb だった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は男が幾何平均値で 43pg/g-fat に対して女は 124 pg/g-fat であった。PCB、ダイオキシン類濃度と臨床所見との関連性についての予備的な解析を行った結果、油症患者に高濃度に存在する 2,3,4,7,8-PeCDF においては、2002-2005 年時点での臨床症状とは正の関連性が認められなかったが、1975-1980 年当時のざ瘡様皮疹（外陰部）、色素沈着（趾爪）、眼瞼結膜色素沈着、眼板腺チーズ様分泌物との間に正の関連性が示唆された。

カネミ油症検診者において血清クレアチン・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が、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。回帰分析の結果、血清アルドラーゼに影響を及ぼす因子としては血中 PCB 濃度、GPT が有力であり、血中 PCB は負の因子として、GPT は正の因子として作用していた。

９．カネミ油症患者の症状と PeCDF の累積暴露量の関係に関する研究

過去の油症検診を受診し、PeCDF 値を測定した油症患者の体内負荷量及び累積暴露量を求め、内科検診、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診との関係に関して検討した。この累積暴露量の推計には半減期が必要となる。人での半減期についての知見はまだ十分には得られていないが、各患者の現在 PeCDF 濃度から半減期は複雑に変化するため、半減期を用いて摂取量の推定を行うことの問題点が明らかとなった。今回は、摂取量の推定と現在 PeCDF 濃度の比から、一律に半減期 4.0 年を求めこの半減期を用いて、発生当時の体内負荷量を推定し、累積暴露量を推定した。今回の分析の結果、色素沈着に関して、累積暴露量よりも PeCDF 濃度との関連が強い可能性があることが分かった。

１０．油症患者および、健常人体内のPCDF類実態調査

2002-2006年度の受診認定者の平均Total TEQは 136.4, 125.0, 126.1, 124.2, 122.2 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。油症患者では男女とも高年齢の方が濃度が高くなる傾向を示し、女性の方が男性より各年齢群で高い濃度を示した。

１１．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

各油症追跡班で行っている PCB 及び PCQ の分析法について実施状況を調査した。その結果、福岡県を除きパックドカラムGC／ECD 検出器を用いた分析法で行っていた。また、福岡、長崎、広島を除くと年間の検査件数が20検体以下であり効率的でないと考えられた。各追跡班ごとに行っているPCB,PCQの分析を福岡､長崎､広島はこれまで通り追跡班で行うが、その他の追跡班分は一括して分析を行うこと、分析データの信頼性を確保するため定期的に同一試料を配布しクロスチェックを行うことが妥当と思われる。

１２．油症患者および油症患者より出生した児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、油症暴露前と暴露後における月経に関する異常について検討を加えた。初経年齢(平均値 ± SD)は、子宮内曝露群(13.4 ± 1.2歳)、0-7歳時曝露群(13.0 ± 1.2歳)、8-14歳時曝露群(13.6 ± 1.5 歳)の順に早くなり、子宮内曝露群は 8-14 歳時曝露群と比して有意に(p=0.0095)早かった。

１３．妊婦の喫煙状態、AhR 遺伝子多型とPCB・ダイオキシン類濃度との関連

妊婦の喫煙状態と化学物質代謝に関与する *AhR* R554K 遺伝子多型と血中のダイオキシン類濃度との関連について調べた。出産前血中ニコチン値により妊婦を喫煙群42名、非喫煙群198名（低環境的喫煙曝露群 99 名、高環境的喫煙曝露 99 名）とした。その結果、RK/KK型においては低環境的喫煙曝露群と比較して、喫煙群では Total non-ortho PCBs 値、Total coplarnar PCBs値、Total PCDDs TEQ値、Total PCDFs TEQ値､Total PCDD/PCDFs TEQ値、Total non-ortho PCBs TEQ値、Total coplarnar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた（それぞれ $p<0.05$)。また､RR型で高環境的喫煙曝露群では、Total non-ortho PCBs 値、Total mono-ortho PCBs値､Total coplarnar値、Total 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ値、Total non-ortho PCBs TEQ値、Ｔｏｔａｌ ｍｏｎｏ－ｏｒｔｈｏ PCBs値、Total coplarnar PCBs TEQ値、Total TEQ値で有意な負の関連がみられた（それぞれ $p<0.05$)。妊婦の喫煙状況が血中のPCB･ダイオキシン類TEQ値に影響を与えることが明らかになった。

１４．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 PCB/ダイオキシン排泄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、カネミ油症の原因物質であるPCDFsが108ngと24ng、PCDDsが16ngと4ng、PCDFs/DDsが120ngと24ngそれぞれ体内残留量が低下し、PCDFs、PCDDsの排泄促進が示された。

１５．油症検診以外の油症患者の生体試料中のダイオキシン類実態調査

油症検診以外の油症患者の生体試料中のダイオキシン類実態調査として、油症患者が出産したときに残されたへその緒14例中のダイオキシン類濃度を測定した。分析の結果、油症患者のへその緒中のダイオキシン濃度は一般人に比べTotal TEQで約13倍高く、油症患者に特有に見られる2,3,4,7,8-PeCDF及び1,2,3,4,7,8-HxCDFの高濃度汚染が認められた。

１６．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

気道上皮由来の細胞株BEAS2Bにダイオキシン類（TCDD）を曝露の結果、細胞内のAryl Hydrocarbon receptor(AHR)、CYP1A1の蛋白発現レベルは亢進し,酸化ストレスも増強していることがわかった。AHRのアンタゴニストであるANFによりCYP1A1の発現を抑えることにより、酸化ストレスの発生は現弱した。抗酸化作用をもつVitamine Eにの併用により酸化ストレスは減弱したもののCYP1A1の発現には変化が認められなかった。

２） Resveratrolによるダイオキシン類毒性軽減効果：bioavailability改善と毒性軽減効果への影響に関する検討

マウスにおいて植物ポリフェノールである resveratrol の経口摂取が、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性を軽減する可能性が示されている。しかし、この軽減効果は顕著なものではなく、その原因は resveratrolの生物学的利用率（bioavailability）の低さにあると予想されている。そこでresveratrol の bioavailability 改善について検討を行った。その結果、代謝酵素の阻害剤である piperine を併用することにより、 TCDD のマウス体重増加抑制に対する resveratrol の軽減効果が増強される傾向が観察された。また、resveratrol を皮下投与した場合、TCDD処理マウスの体重増加抑制はコントロール群と同程度まで回復することが明らかとなった。また、TCDD による酵素誘導の指標である erhoxyresorufin *O*-deethylase 活性、並びに酸化的ストレスの指標であるチオバルビツール酸反応生成物量に関しても、resveratrol の皮下投与では経口投与時に比べ顕著に低下した。この場合、resveratrol 皮下投与時における血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積は、経口投与時に比べ約 4 倍増加した。以上より、resveratrol のbioavailability を改善することにより、ダイオキシン類毒性軽減効果を増強することができる可能性が強く示唆された。

３）ダイオキシンの精巣ステロイドに対する影響の解析

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 母体曝露時に胎仔脳下垂体において生合成される性腺刺激ホルモンの分泌量が低下し、胎仔精巣において、ステロイドホルモン合成酵素の発現量が顕著に低下すること、この TCDD による作用は胎仔特異的なものであり、成獣雄ラットへの TCDD 曝露では惹起されないことが明らかにされている。

TCDD 曝露による後世代影響の胎仔期特異性の原因を明らかにするため、TCDDを脳室内投与した成獣雄ラットの精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現量の変化を検討した。その結果、TCDDの直接的な脳への曝露にもかかわらず、成獣では精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現量に変化は認められなかった。また、脳下垂体より分泌される黄体形成ホルモンと濾胞刺激ホルモンの発現量も、TCDD による低下は観察されなかった。以上の結果から、TCDD による胎仔期特異的な後世代影響は、胎仔の脳自身の反応性に起因して発症する可能性が示唆された。

４）2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル(CB146)の動物肝によるin vitro代謝

4-水酸化(OH)-CB146 は PCB 代謝物のうち、哺乳動物血液中で、4-OH-CB187 に次いで、２番目に高濃度で検出されている。CB146 からの生成の有無を明らかにするため、ラット、モルモット、ハムスターおよびヒト肝ミクロゾームによる in vitro 代謝を調べた。その結果、３種類の一水酸化体（M-1、M-2 および M-3）が生成され、このうち、M-1 と M-2 はそれぞれ 3'-OH-CB146 と 4-OH-CB146 であることが明らかとなった。特に 4-OH-CB146（M-2）はラットで生成活性が高いこと、ラットに次いでヒト肝で高いことも明らかとなった。なお、4-OH-CB146 の生成はモルモットを除き、フェノバルビタールおよび3-メチルコラントレン前処理ラットおよびハムスター肝 Ms でほとんど増加しなかった。この結果は、4-OH-CB146 の生成にフェノバルビタール誘導性の P450、すなわち CYP2B 酵素があまり関与していないことを示唆している。一方、3'-OH-CB146 の生成はフェノバルビタール前処理ラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロソームのいずれでも著しく増加したことから、CYP2B 酵素の強い関与が示唆された。

D．結論

検診項目、検査項目と血液中 PCB, PCDF 濃度の相関を検討した結果、現在の症状、検査項目のうち多数の項目に相関を示し、さらに過去の症状において PCB, PCDF は強い相関を示していた。事件当時に体内に摂取された PCB 等の関連化学物質は、経年変化を経て徐々に排泄され、また患者の加齢に伴う身体的な変化も現れていることが考えられ、現在に至っては、一定の検診項目との強い関連性を見出すことが難しくなっていると考えられるにもかかわらず、39 年が経過した現在でも PCB、PCDF に有意に相関を持つ項目があることは驚きである。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、産科・婦人科,整形外科などの情報を得ることができた。次世代に対する影響も含めて、現在解析中である。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を検討しており、今年度はダイオキシン類の排泄の促進を目指して、コレスチミドによる臨床試験を開始した。現在のところ大きな副作用は認められず、今後、対象患者を拡大し、継続する予定である。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。

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　〃　准助教

研究要旨　平成 19 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ていた。しかし、平成 18 年度年の結果と比較するといずれも低下していた。

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 19 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 148 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

主訴としては、表 2 に示すように、歯周炎の症状が多く、色素沈着による審美障害はなかった。

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 1 本以上有する 142 名中 116 名（81.7%）と高い割合を示した（表 3）。また、3mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は、673 の総被検歯のうち 336 歯（49.9%）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 4、図 1）。一方、4mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は 59 歯で、総被検歯に占める割合は 8.8%と低かった。歯牙別では、上顎左側第一小臼歯が 60.2%と最も罹患率が高く、次いで下顎左側第一大臼歯、上顎右側第一大臼歯、下顎右側第一小臼歯、下顎右側中切歯と続き、最も罹患率の低い上顎左側中切歯でも約 43%と高い値を示した（表 4）。年齢別にみると、70 歳以上の患者を除き、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す傾向にあった（図 1）。歯種別の歯牙残存率をみると、全ての歯種において加齢と共に残存率の低下がみられたが、特に大臼歯においてはいずれの年齢層でも低い値を示した（図 2）。平成 19 年度の歯牙残存率と歯周ポケット発現率について平成 18 年度と比較すると、歯牙残存率はほとんど変化がみられない(図 3)のに対し、歯周ポケット発現率は全ての年齢層で低い値を示した(図 4)。

口腔粘膜に色素沈着を有する者の割合は 45.9%（男性 54.2%、女性 38.2%）であった。男女別にみると、50 歳代の患者

では男性、女性とも同程度の発現率を示したが、それ以外の年代では男性の方が高かった(図 5)。年齢別にみると、60 歳以上の高齢者では 33.7%の患者に色素沈着がみられたが、60 歳未満の患者では 66.1%と約 2 倍の発現率を示した。また、部位別では、歯肉の色素沈着が多く 148 名中 66 人(44. 6%)認められたのに対し、頬粘膜は 11 人 (7.4%)、口唇や口蓋粘膜ではそれぞれ 3 人 (2.0%)、1 人 (0.7%) に観察されたのみであった (図 6) 。色素沈着の発現率を平成 18 年度と比較すると、平成 19 年度においては 50 歳未満の患者における歯肉色素沈着発現率は高い値を示したものの、50 歳以上の年代ではほぼ同等あるいは低い値を示していた(図 7)。

D. 考察

3㎜以上の歯周ポケットを 1 歯でも有する者の割合は 81.7%と依然として高い値を示したが、平成 18 年の結果 (92.5%) よりも低かった。同様に、総被検歯に占める 3㎜ 以上の歯周ポケットを有する歯牙の割合も 49.9%と平成 18 年の結果 (69.4%) に比べて低い値を示した。年齢別にみると、70 歳以上の患者を除き、加齢と共に罹患率は上昇していた。70 歳以上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、70 歳未満の患者では歯牙残存率が約 80%以上であるが、70 歳以上の患者では歯牙残存率が 60%未満と急激に低下していた。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、上顎左側第一小臼歯が最も高い値を示した。また、下顎右側第一小臼歯の罹患率も大臼歯の罹患率とほぼ同程度であった。小臼歯が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、各年代に共通して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、その結果咬合性外傷が生じ歯槽骨の吸収を惹起したのかもしれない。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 4㎜ 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。 平成 18 年度の歯周ポケット罹患率と比較すると、今回、全ての年齢層で罹患率の低下が認められた。歯牙残存率に関しては、平成 18 年度も平成 19 年度もほぼ同程度であったことから、歯牙の喪失による罹患率の一時的な減少によるものではなく、歯周組織の改善が生じた結果であることが示唆された。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。 平成 18 年度の発現率 (平均 52.8%、男性 60.4%、女性 47.1%) に比べると、男性ならびに女性の両者とも発現率が低下していた。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いることが報告されている[3)4)]ことから、歯周組織においても色素沈着の減少が生じているのかもしれない。しかし、歯肉色素沈着については平成 5 年度までは経年的な減少が観察されたが、その後発現率が上昇していたこと[5)]から、今後の更なる観察が必要と思われる。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.

3)本房昭三、堀　嘉昭、利谷昭治　他:1989、1990 年度の福岡県油症年次検診における皮膚症状,　福岡医誌　82:345-350,1991.

4)向野利彦、大西克尚:油症患者の眼症状,福岡医誌　82：342-344,1991.

5) 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（第六報）、福岡医誌　98:170-175, 2007.

表１．油症患者の年代別受診者数

年代＼性別	男性	女性	計
30 ～ 39	4 (4)	3 (3)	7 (7)
40 ～ 49	16 (16)	9 (9)	25 (25)
50 ～ 59	12 (11)	12 (12)	24 (23)
60 ～ 69	14 (14)	24 (24)	38 (38)
70 ～ 79	21 (19)	22 (20)	43 (39)
80 ～ 89	5 (4)	6 (6)	11 (10)
計	72 (68)	76 (74)	148(142)

（ ）：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. 主訴の内訳

主訴*	男性（名）	女性（名）	計（名）
歯肉腫脹	8	3	11
歯肉出血	8	2	10
歯痛	2	8	10
歯牙挺出感	5	4	9
義歯不適	3	1	4
歯牙動揺	3	0	3
その他	8	9	16

＊重複回答有り。

表3. ３ｍｍ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)
性別 / 年齢	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	
30 ～ 39	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	7
40 ～ 49	0	2	2	3	5	0	1	2	3	0	3	2	2	0	25
50 ～ 59	1	1	3	5	0	1	1	2	0	0	4	3	2	0	23
60 ～ 69	2	2	4	2	2	6	0	7	4	3	2	1	0	3	38
70 ～ 79	5	8	6	7	1	1	5	1	1	2	0	1	1	0	39
80 ～ 89	0	2	2	2	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	10
計（名）	9	17	17	19	10	9	7	13	8	5	11	8	6	3	142

表４．部位別の３㎜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	28	28	34	35	29	27	181
	総被検歯数	47	54	50	58	61	45	315
	%	59.6	51.9	68.0	60.3	47.5	60.0	57.5
女性	罹患歯数	22	22	34	27	25	25	155
	総被検歯数	52	62	63	65	64	52	358
	%	42.3	35.5	54.0	41.5	39.1	48.1	43.3
計	罹患歯数	50	50	68	62	54	52	336
	総被検歯数	99	116	113	123	125	97	673
	%	50.5	43.1	60.2	50.4	43.2	53.6	49.9

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

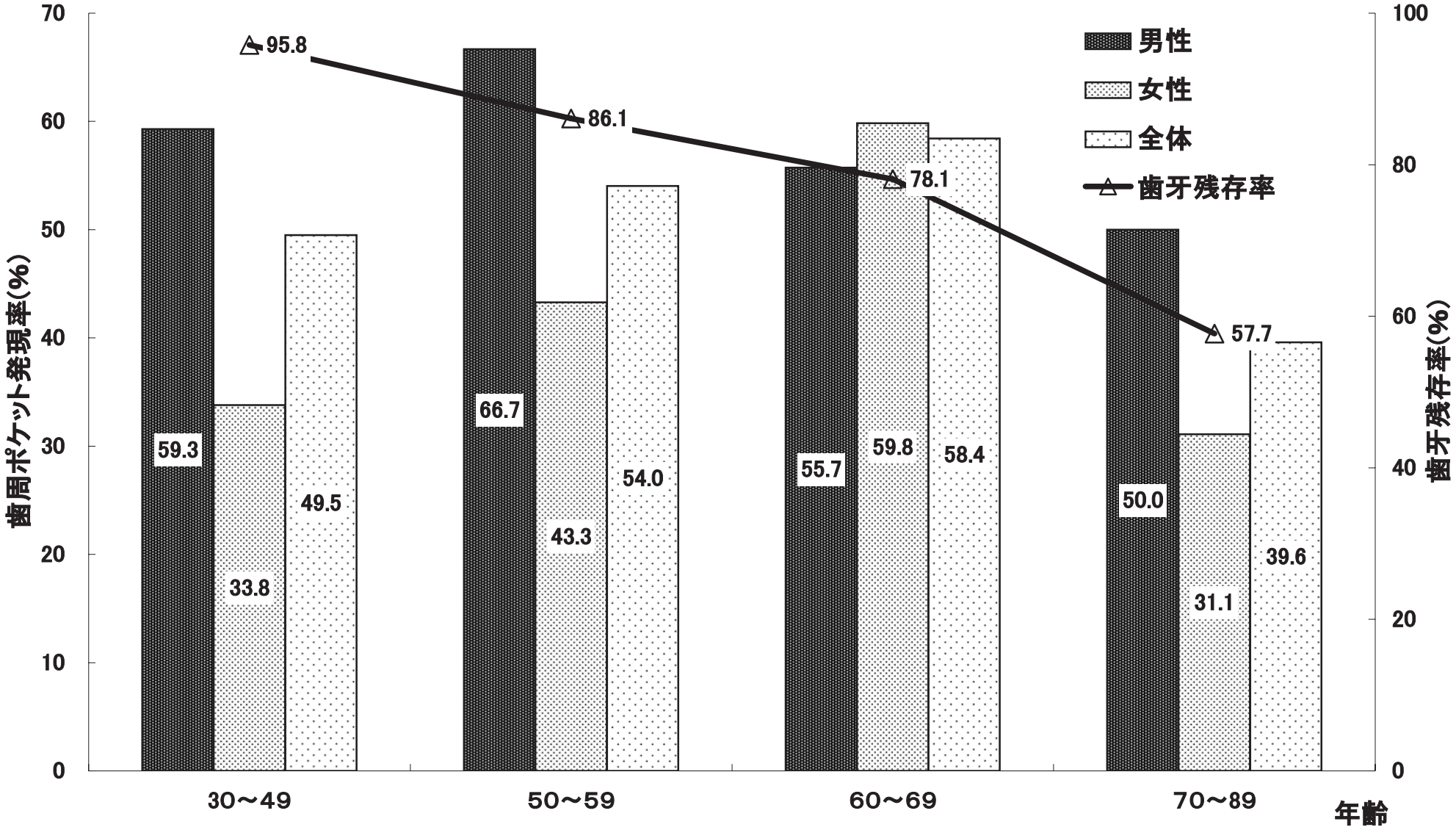


図１・年齢別にみた歯周ポケット発現率と歯牙残存率

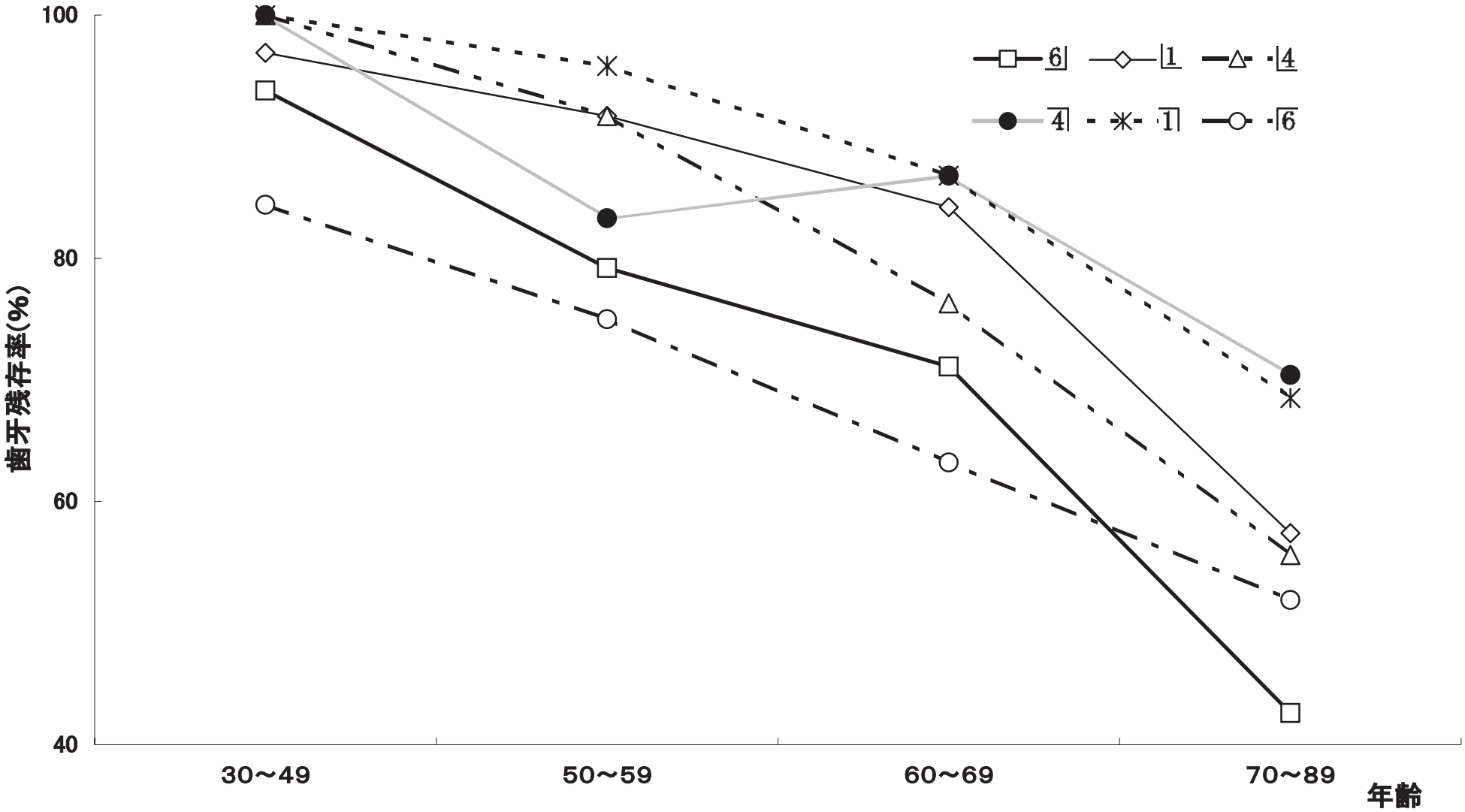


図２・歯種別、年齢別にみた歯牙残存率

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

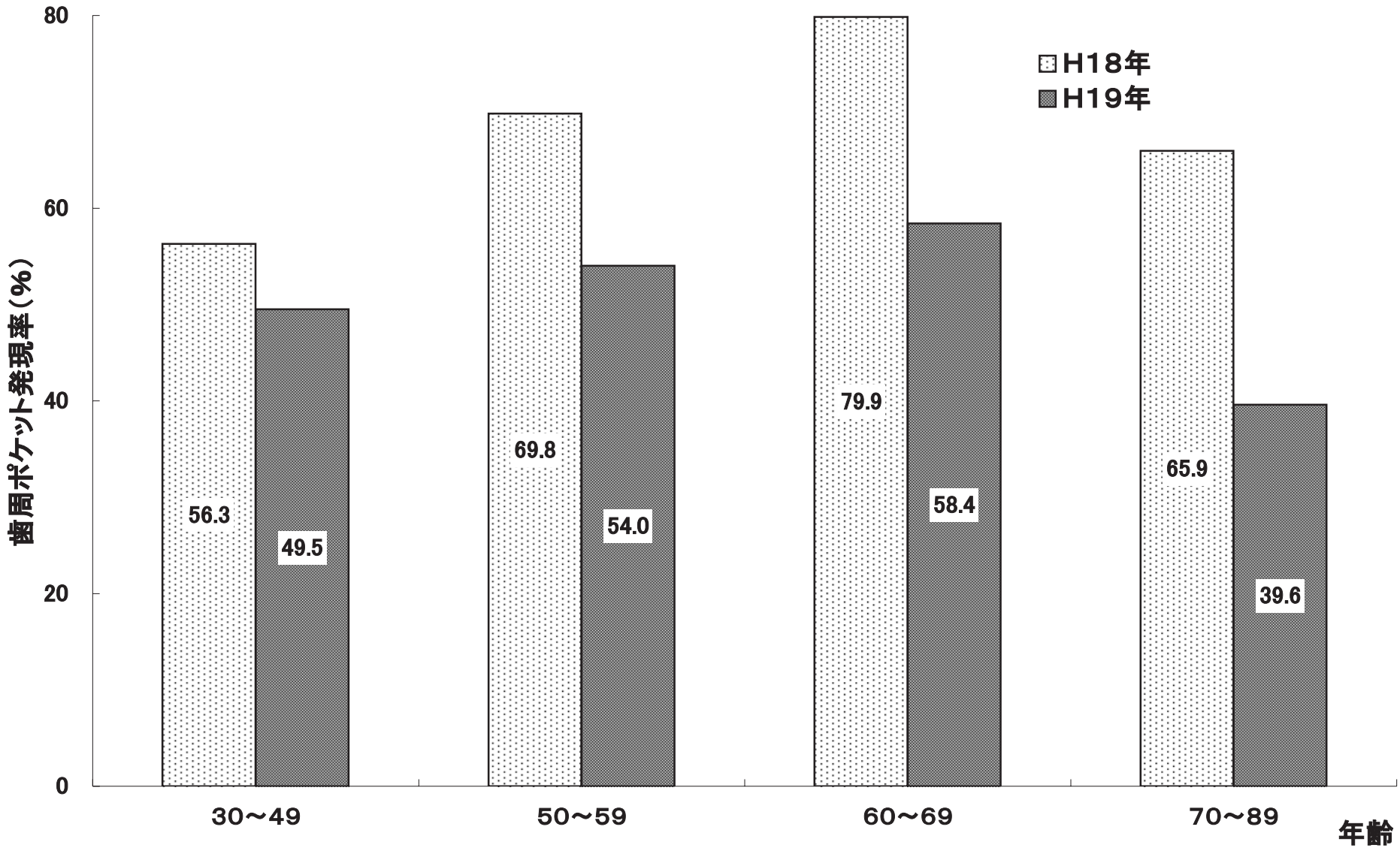


図３・平成１８年、平成１９年における年齢別の歯周ポケット発現率

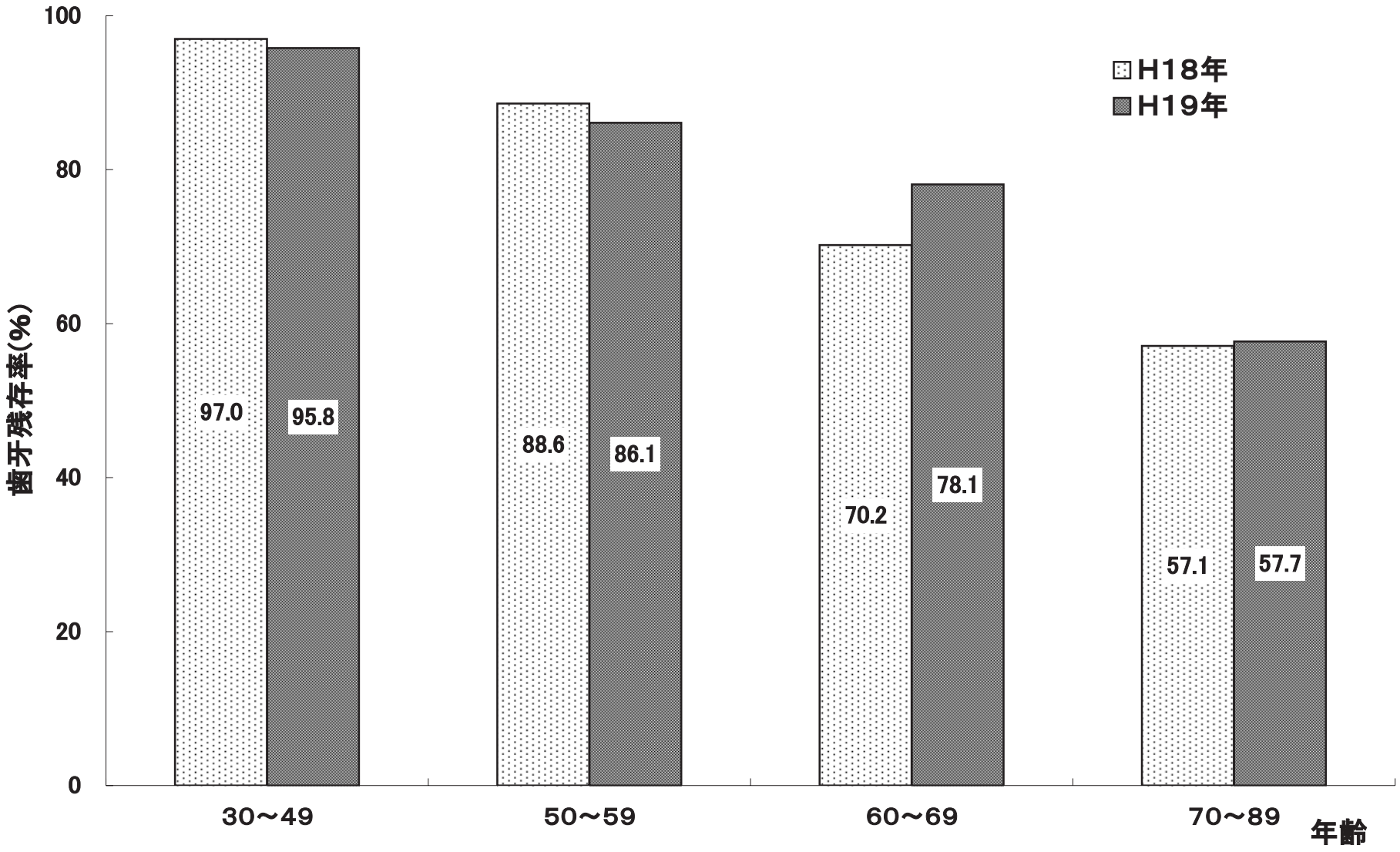


図４・平成１８年、平成１９年における年齢別の歯牙残存率

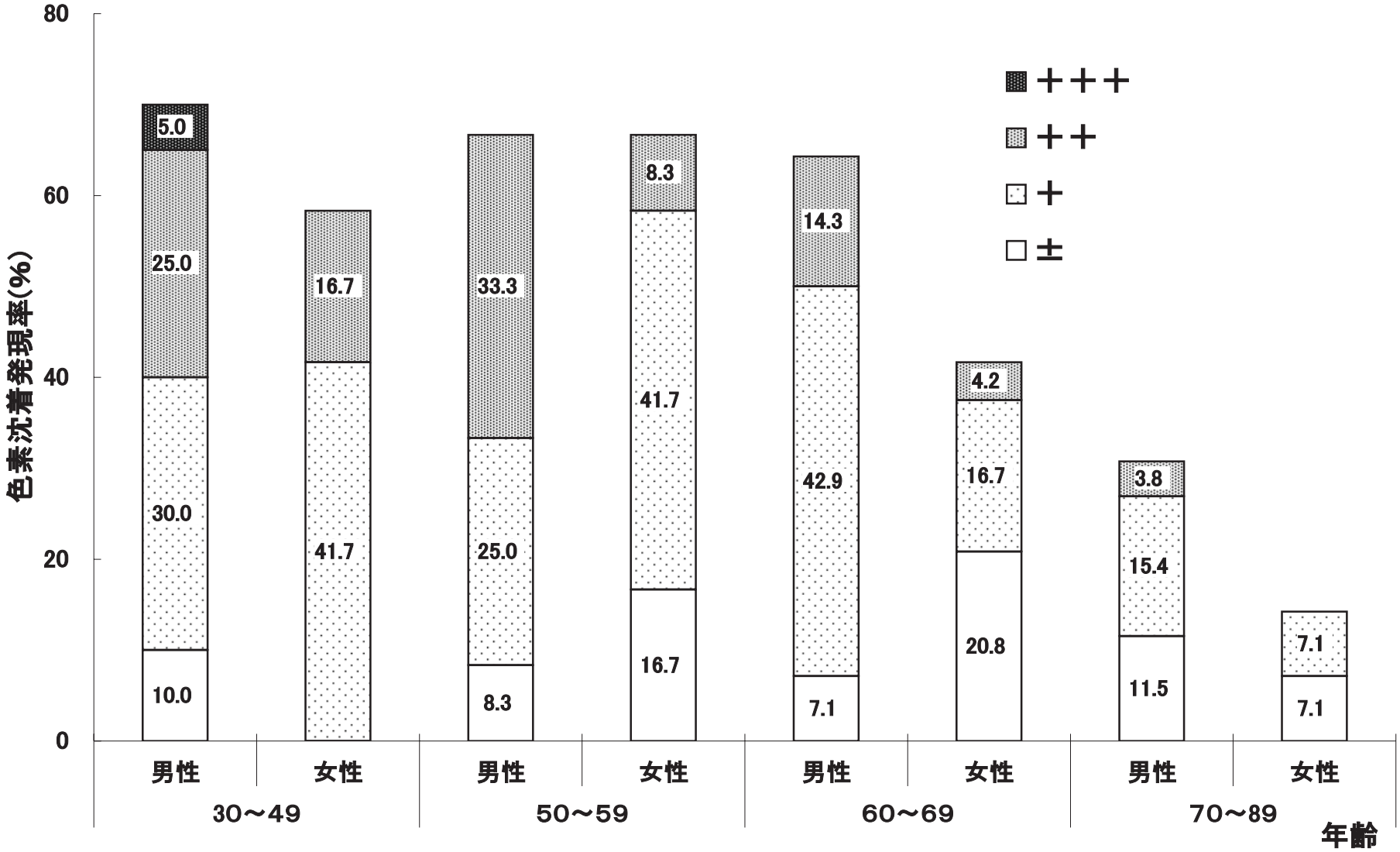


図５・年齢別・性別にみた色素沈着発現率

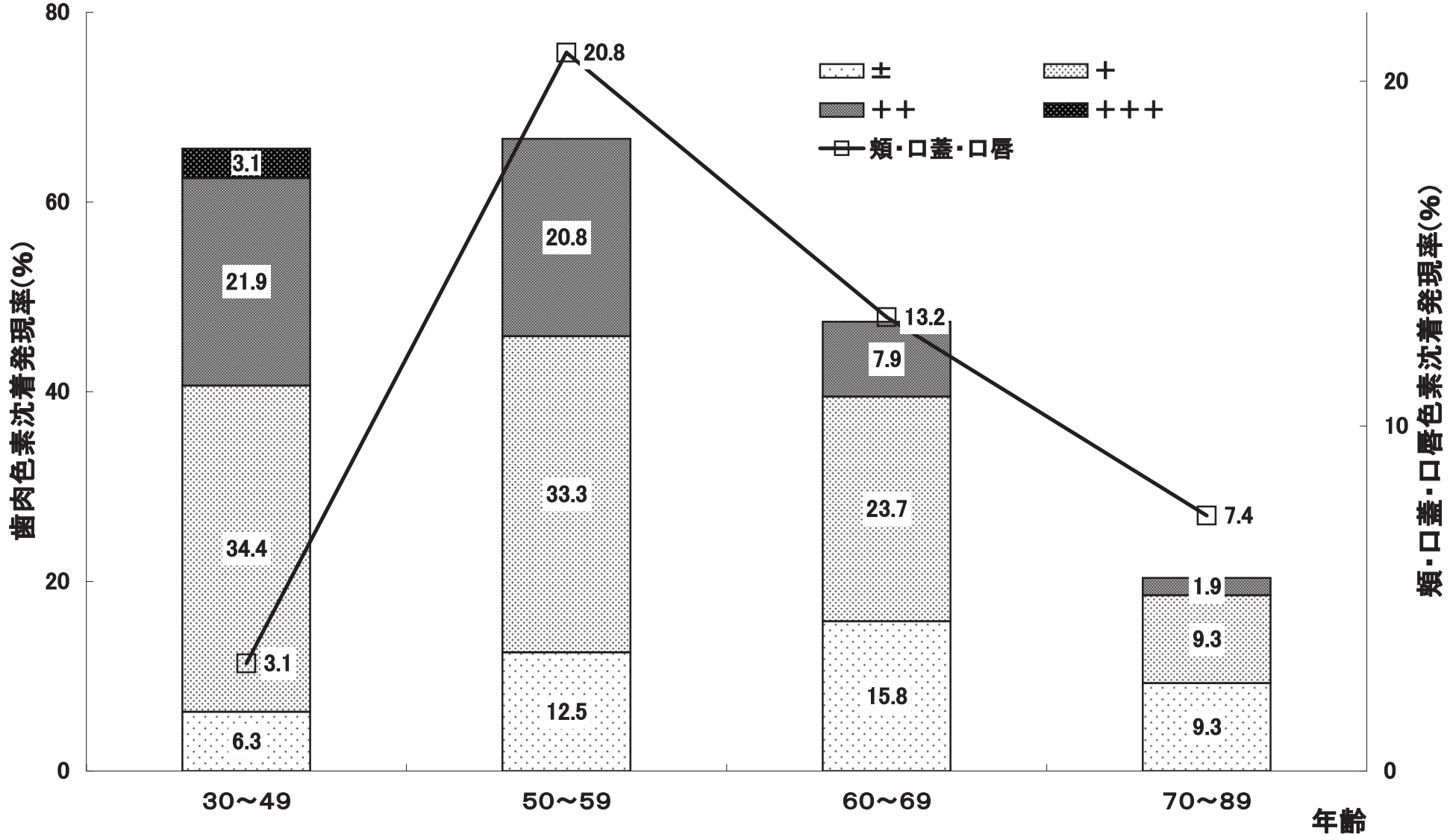


図6・年齢別にみた色素沈着発現率

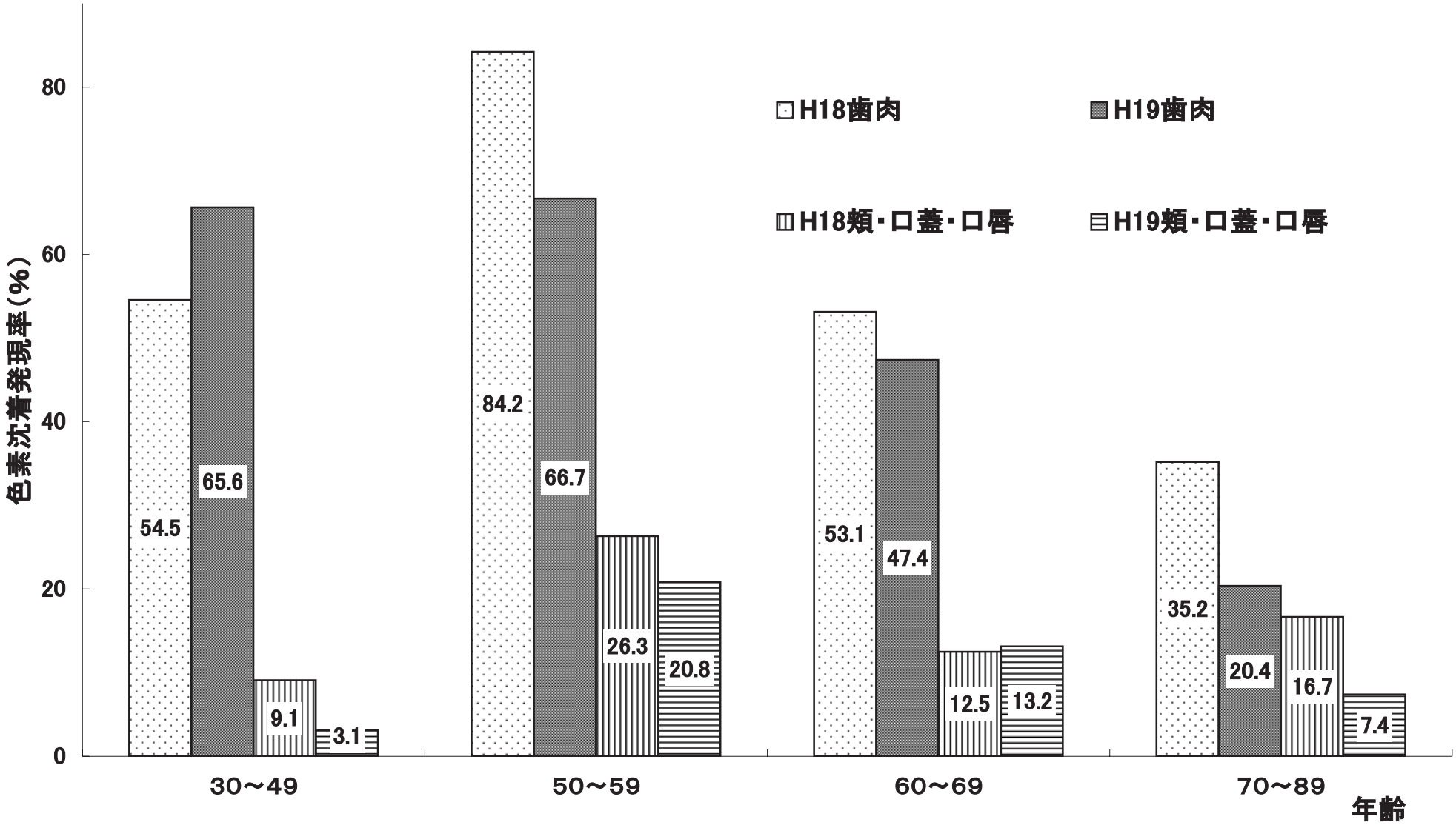


図7・平成１８年、平成１９年における色素沈着発現率

分担研究報告書

油症患者における漢方療法臨床試験への臨床的考察

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	吹譯紀子	九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野
	内　博史	九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野
	今福信一	北九州市立医療センター皮膚科
	柴田智子	北九州市立医療センター皮膚科
	桑原正雄	県立広島病病院呼吸器内科　部長
	神田哲郎	長崎県離島医療圏組合五島中央病院　院長
	宿輪昌宏	宿輪医院　院長
	津田俊彦	長崎県離島医療圏組合奈留病院　院長
	山下貴知男	五島市国民健康保険玉之浦診療所　所長
	旭　正一	産業医科大学皮膚科　名誉教授
	千葉貴人	九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野
	岩下弥生	九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

研究要旨　平成 16 年 10 月より、油症による諸症状の改善効果の有無を検討するために漢方療法の試験を開始した。試験終了例について大まかな傾向を報告する。

A．研究の背景

油症患者は全身倦怠感などの全身症状、痰や咳などの呼吸器症状、しびれや頭重などの神経症状、痤瘡様皮疹、面皰、嚢腫などの皮膚症状など油症特有の症状を発症し、いまだに多くの患者が苦しんでいる。

しかしながら、油症に関連する諸症状を軽減させる薬剤あるいはＰＣＢやダイオキシン類の血中濃度を低下させる薬剤は現在までのところ開発されていない。

当研究班では、2005 年 10 月より油症認定患者における症状（全身倦怠感、末梢神経障害、皮膚症状、呼吸器症状）、QOL の改善に対する漢方薬の効果について検討する試験を開始した。2007 年 10 月までに 27 例の試験が終了した。試験計画と終了例における臨床的フォローの概略を報告する。

B．研究の方法

油症特有の４つの諸症状それぞれに対応した漢方薬を試験薬として選択した。全身倦怠感に対しては補中益気湯（ほちゅうえっきとう）、末梢神経障害に対しては牛車腎気丸（ゴシャジンキガン）、皮膚症状に対しては荊芥連翹湯（けいがいれんぎょうとう）、呼吸器症状に対しては麦門冬湯（ばくもんどうとう）を内服した。試験では、最も強い２つの症状に対応する漢方薬を選択し、どちらか１方を前半６ヶ月間内服、もう１方を後半６ヶ月間内服するクロスオーバー方式を採用した。試験開始時、6 ヵ月後、12 ヵ月後に４症状の自覚的程度を VAS(Visual analog scale)、QOL を SF-36 を用いて評価した。

VAS は、症状の自覚的な程度を患者本人が記入する測定方法であり、スコアが高い程症状が強い。SF-36 は、健康関連 QOL を測定するための、科学的な信頼性・妥当性を持つ尺度であり、健康状態を測る質問紙として世界中で最も普及している。

（倫理面での配慮）

個人情報の保護については検体の匿名化を行うなどして、被験者のプライバシーに配慮した。

C．研究結果と考察

臨床試験参加希望者は全部で 85 名であったが、全身状態、既往歴、年齢などを考慮し組み入れに不適と判断されたもの、最終的に試験同意を得られなかったものなどを除外し、27 名が本試験に参加した。１）油症という限られた被験者を対象としており、しかも広いエリアに居住されていること、２）発生後 40 年を経過して、被験者の多くは高齢となっていること、３）漢方療法であるため 1 年間という長期試験であったこと、などが本試験の困難さであったと痛感している。

一方、27 名の被験者は本試験の重要さを十分に理解していただき、1 年間という長期の臨床試験に快く参加していただいた。油症治療研究班を代表して、本臨床試験にご協力いただいたすべての方々に心から感謝の意を表したい。

ＰＣＢやダイオキシン類による健康被害の症状を軽減させる薬剤はないかどうかを検討しようとする世界で初めての試みを無事に終了できたことは、全国油症治療研究班にとって大きな励みとなった。今後も有効薬剤を開発するために、新たな臨床試験に取り組んでいきたい。

本臨床試験の結果については、分担研究者の徳永章二が本報告集の別項に詳述しているので参照願いたい。せきやたんなどの呼吸器症状に対して、麦門冬湯が、その他の漢方薬に比べて有意に臨床症状を低下させたという結果は、大きな成果であった。

分担研究報告書

骨組織におけるダイオキシン類の濃度測定

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　助教
吉村健清　福岡県保健環境研究所　所長
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　油症認定患者へのアンケート結果から、血中ダイオキシン類濃度の増加と、関節痛や背中の痛みとの間に正の関連があることが判明した。しかしながら、正常人、油症患者を含めて骨組織中ダイオキシン類濃度については全くデータがない。そこで、整形外科手術の際に得られる余剰な骨片において、海綿骨中のダイオキシン類濃度を測定し、血中ダイオキシン類濃度と比較することを試みた。これまで6検体よりダイオキシン類の抽出を完了し、現在測定中である。

A. 研究目的

昨年度に施行した油症認定患者へのアンケート結果の解析から、血中ダイオキシン類濃度の増加と、関節痛や背中の痛みとの間に正の関連があることが判明した。ダイオキシン類を培養骨芽細胞に作用させると、骨形成が抑制されることが報告されている。しかし、生体の骨組織中に、ダイオキシン類がどの程度存在するかは明らかでない。そこで、人工関節手術時に切除した余剰な骨片において、海綿骨中のダイオキシン類濃度を測定し、年令、性別、末梢血ダイオキシン類濃度との関連などを検討し、基礎的データを構築したいと考えた。

B. 研究方法

対象：九州大学病院にて人工関節置換手術を予定される患者のうち、50－79歳までの男女約50名を対象に予定した。

研究のスケジュール：以下の手順で行った。

1）研究の説明：この疫学研究について、担当者から説明を行う。

2）参加意思の確認：この研究への文書同意を得る。

3）資料採取：手術時の余剰骨片 2gおよび末梢血 10ml を採取する。

4）解析：資料を匿名化し、福岡県保健環境研究所にてダイオキシン類濃度を測定する。

5）診療データの使用：骨粗鬆症が疑われる患者に対する診療の一環として骨密度など骨粗鬆症マーカーの測

定を行った場合は、その結果も解析対象とする。

骨組織のダイオキシン類の抽出：余剰骨片より得られた海綿骨を細切し凍結乾燥させた後、脂肪を抽出した。濃縮乾燥を行い、血液からの抽出法に準じて、ダイオキシン類の抽出精製を行った。

（倫理面への配慮）

ダイオキシン類への暴露歴のない術後患者に対し、術後経過観察以外の目的で血液を採取することについて、文書を用いて説明し同意を得た。また個人情報の保護については検体の匿名化を行い、漏洩がないよう努めた。

C. 結果

ダイオキシン類暴露のない整形外科患者５名、および多発骨壊死を呈した油症認定患者１名より海綿骨を採取し、ダイオキシンの抽出を完了した。現在、福岡県保健環境研究所にて測定を行っている。

D. 考察

骨や関節に関する愁訴は油症発生当時より存在し、現在でも７０％を超える油症患者が背中や関節の痛みを訴えている。アンケート調査の結果からは、骨粗鬆症や変形性関節症、変形性脊椎症といった疾患合併の可能性が推測されるが、その実態は明らかではない。

ダイオキシン類が骨組織へおよぼす影響として、骨芽細胞のアリルハイドロカーボン受容体に作用し、分化成熟過程を抑制することが報告されている。骨組織、なかでも海綿骨は脂肪が非常に豊富であり、ダイオキシン類は脂質に親和性が高い。海綿骨にダイオキシン類が集積すれば、骨芽細胞を抑制し、骨量減少を生じる可能性が考えられる。今後、順次検体の処理を進めていき、ダイオキシン類の骨への蓄積について検討を予定している。

本年度の油症検診では骨密度の測定が追加され、骨粗鬆症の合併について検討が開始された。その他の骨関節疾患合併についても、整形外科医による診察を行うことで実態を把握し、血中および骨組織中ダイオキシン類濃度との関連について検討する必要があると考える。

分担研究報告書

油症患者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・視覚科学分野　教授

研究要旨　２００７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、共に認定患者が有意に高度であった（各々、p=0.022、p=0.015）。

Ａ．研究目的

油症事件が発生して 40 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９８名、未認定患者５９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 67.3±12.5 歳、未認定患者で 57.7±15.9 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 0.63±0.69、未認定患者で 0.39±0.53 で有意に認定患者が高かった（p=0.022）。

網膜細動脈硬化性変化のスコアは認定患者で 0.83±0.68、未認定患者で 0.56±0.68 で有意差に認定患者が高かった（p=0.015）。

高血圧症の既往歴を持つ者は、認定患者で 41.8%、未認定患者で 30.5%であった。

血清総コレステロール濃度は認定患者で 204.2±34.4mg/dl、未認定患者で 200.7±41.5 mg/dl で有意差はなかった（p=0.583）。

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 109.9±71.8 mg/dl で有意差はなかった（p=0.446）。

Ｄ．考察

昨年度に比べると認定患者で１２名、未認定患者で１１名の受診患者が増加した。これは昨今、新聞やテレビ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があると考えられた。

一昨年度、昨年度とも、高血圧性変化及び網膜細動脈硬化性変化に有意差はなかったものの、認定患者のほうが高い傾向にあった。今年度は有意差をもって高血圧性

変化及び網膜細動脈硬化性変化共に認定患者の方が高度であった（各々、p=0.022、p=0.015）。これは、認定患者及び未認定患者共に受診者が増加し、各々の傾向がより顕著化されたためと思われる。

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 40 年経過した現在、血清総コレステロール濃度も血清中性脂肪濃度も、認定患者と未認定患者の間に有意差はなかった。しかし、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有意に高度であったことは、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と思われる。もちろん、カネミ油症の原因物質であると考えられている PCB、PCDF が網膜細動脈硬化性変化に直接影響を及ぼしている可能性もあり、今後も、さらなる検討が必要である。

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 19 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、患者の眼症状を把握し、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19年度の油症検診が9月6日久留米会場、9月8日福岡会場、9月20日北九州会場､9月22日福岡会場で行われた。受診者はそれぞれ19名、66名、65名、51名で、合計は201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201名は昨年の162名に比べると増加し、200名を超えた。

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きている。油症患者の眼科領域における臨床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が多く見られた。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に関する研究

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

研究要旨　油症患者および油症患者より出生した児の初経年齢について検討した。初経年齢(平均値 ± SD)は、子宮内曝露群(12.4 ± 1.2 歳)、0-7 歳時曝露群(13.0 ± 1.2 歳)、8-14 歳時曝露群(13.6 ± 1.5 歳)の順に早くなり、子宮内曝露群は 8-14 歳時曝露群と比して有意に(p=0.0095)早かった。各群の平均初経年齢を全国平均初経年齢と比較すると、8-14 歳時曝露群では約 1 年遅く、0-7 歳時曝露群では約 6 ヶ月遅く、子宮内曝露群はほぼ同じであった。今後、血中ダイオキシン類濃度と初経年齢との関連について検討することが必要であると考える。

A．研究目的

油症曝露による生殖現象に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、油症患者および油症患者より出生した児の初経年齢について検討した。

B．研究方法

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 名のなかで、油症曝露(1968 年)以降に初経となった 111 例を解析の対象とした。初経年齢の解析にあたり、早い例では 8 歳より初経が開始すること、曝露時に既に初経年齢が遅れるリスクを有する例（たとえば、油症曝露時に 14 歳で初経となっていない症例）によるバイアスを除外するために、曝露時の年齢によって 8-14 歳(42 例)、0-7 歳(54 例)および子宮内曝露(油症患者より出生した児)(15 例)の 3 群に分類した。これら各群における初経年齢、早発月経(10 歳未満での月経発来)および遅発月経(15 歳以上での月経発来)の頻度について解析した。

統計学的解析には、連続変数には一元配置分散分析法、Bonferroni t 検定を、カテゴリ変数には Fisher 検定を用いた。

(倫理面への配慮)

データ解析にあたっては、連結不可能な匿名化データとして処理するなど、研究対象者へ倫理的な問題が生じないよう配慮した。

C．研究結果

対象群の臨床背景と平均初経年齢を表１に示す。8-14 歳時曝露群、0-7 歳時曝露群および子宮内曝露群における月経が開始した年(初経年)の平均値は各々1970 年、1976 年、1983 年であった。油症曝露から初経までの期間の平均値は、8-14 歳時曝露群 3.4 年、0-7 歳時曝露群 8.8 年、子宮内曝露群 16 年であった。初経年齢(平均値 ± SD)は、子宮内曝露群(12.4 ± 1.2 歳)、0-7 歳時曝露群(13.0 ± 1.2 歳)、8-14 歳時曝露群(13.6 ± 1.5 歳)の順に早くなり、子宮内曝露群は 8-14 歳時曝露群と比して有意に(p=0.0095)早かった。他の群間に有意差はなかった。

初経年齢の頻度を表２に示す。早発月経は対象群に認めなかった。遅発月経の頻度は 8-14 歳時曝露群 21.4%、0-7 歳時曝露群 7.4%、子宮内曝露群 0%であったが、3 群間に有意差を認めなかった。

D．考察

polychlorinated biphenyls (PCBs)およびダイオキシン類は女性の性成熟過程に影響を及ぼす可能性があることが動物実験で示されている。ラットを用いた検討では、子宮内あるいは母乳による PCBs 曝露を受けた雌仔の膣口(vaginal opening)の形成および性周期(estrous cyclicity)の開始が遅れることが報告されている[1,2]。ヒトにおけるダイオキシン類と性成熟との関連については、1973 年に Michigan で発生した polybrominated biphenyls (PBBs)曝露における検討では、PBBs の血中濃度が高い母親から出生した児の初経年齢は早くなることが報告されている[3]。一方、台湾で発生した油症(Yucheng) における検討では、出生後に曝露した児の初経年齢は曝露していない児と有意差がないことを報告している[4]。また、Seveso で発生した 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- *p*-dioxin (TCDD) 曝露における検討では、TCDD 血中濃度と初経年齢には有意な相関がないと報告している[5]。このように、PCBs およびダイオキシン類がヒト女性の性成熟過程に及ぼす影響については明らかになっていないのが現状である。

今回、油症曝露が生殖現象に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、油症女性患者における性成熟の指標として初経年齢を用いて検討した。平均初経年齢は、子宮内曝露群 12.4 歳、0-7 歳時曝露群 13.0 歳、8-14 歳時曝露群 13.6 歳の順に早くなり、子宮内曝露群は 8-14 歳時曝露群と比して有意に早かった。わが国における平均初経年齢の推移については、日野林によると[6] 1961 年 13 歳 2.6 ヶ月、1992 年 12 歳 3.7 ヶ月と年々低年齢化してきている。各群における月経が開始した年の平均値に近い時期に行われた全国調査による平均初経年齢と比較すると、8-14 歳時曝露群では全国平均 12 歳 7.6 ヶ月(1972 年)より約 1 年遅く、0-7 歳時曝露群では全国平均 12 歳 6.0 ヶ月(1977 年)より約 6 ヶ月遅く、子宮内曝露群は全国平均 12 歳 6.5 ヶ月(1982 年)とほぼ同じであった。これらの成績から、油症曝露では初経年齢が遅くなる可能性はあるが、油症患者より出生した児の初経年齢には油症曝露の影響はないことが示唆された。今後、血中ダイオキシン類濃度と初経年齢との関連について検討することが必要であると考える。

E．参考文献

1. Muto T, Imano N, Nakaaki K, Takahashi H, Hano H, Wakui S, Furusato M. Estrous cyclicity and ovarian follicles in female rats after prenatal exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. Toxicol Lett. 2003;143:271-7.
2. Sager DB, Girard DM. Long-term effects on reproductive parameters in female rats after translactational exposure to PCBs. Environ Res. 1994;66:52-76.
3. Blanck HM, Marcus M, Tolbert PE, Rubin C, Henderson AK, Hertzberg VS, Zhang RH, Cameron L. Age at menarche and Tanner stage in girls exposed *in utero* and postnatally to polybrominated biphenyl. Epidemiology. 2000;11:641-7.
4. 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.
5. Warner M, Samuels S, Mocarelli P, Gerthoux PM, Needham L, Patterson DG Jr, Eskenazi B. Serum dioxin concentrations and age at menarche. Environ Health Perspect. 2004;112:1289-92.
6. 日野林俊彦．初経年齢―第８回全国初潮調査より―．Hormone frontier in gynecology. 1994;1:21-5.

表１．臨床背景と平均初経年齢

	暴露時年齢		
	8－14 歳	0-7 歳	子宮内
症例数	42	54	15
出生年（西暦年）	1953-1960	1960-1967	1968-1977
調査時年齢（歳）*	47.2 ± 1.8	41.2 ± 2.2	33.4 ± 2.8
	(45-51)	(37-44)	(27-36)
初経年（西暦年）*	1970.4	1975.9	1983
	(1967-1976)	(1971-1980)	(1979-1987)
暴露から初経までの年	3.4 ± 2.0	8.8 ± 2.3	16.0 ± 2.5
数（年）*	(1-9)	(5-13)	(12-20)
初経年齢（歳）*	13.6 ± 1.5	13.0 ± 1.2	12.4 ± 1.2
	(11-20)	(10-16)	(10-14)

* データは mean ± SD (range)で示す。

表２．初経年齢の頻度

	暴露時年齢		
初経年齢	8-4 歳	0-7 歳	子宮内
＜10	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
10	0 (0%)	1 (1.5%)	1 (6.7%)
11	1 (2.4%)	4 (7.4%)	2 (13.3%)
12	7 (16.7%)	14 (25.9%)	5 (33.3%)
13	15 (35.7%)	17 (31.5%)	4 (26.7%)
14	10 (23.8%)	14 (25.9%)	3 (20%)
>14	9 (21.4%)	4 (7.4%)	0 (0%)
計	42	54	15

データは症例数(%)で示す。

分担研究報告書

油症患者にみられる末梢神経障害の再検討

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　講師
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　准教授

研究要旨　目的：油症患者の末梢神経障害の特徴と、障害の検出に適した検査を検証するために、PCB, PCDF, Dioxin と末梢神経障害に関し文献的に検索する。また、これまで油症患者で記録されてきた神経所見に関し、経時変化や加齢の影響、自覚的感覚異常、他覚的感覚異常の違いを検証する。方法： PCB,PCDF,dioxin, neuropathy をキーワードとして文献検索。末梢神経障害に関しての要点を検証した。また、当施設から以前報告された発症 36 年以上経過した油症患者の自覚的異常感覚、他覚的異常感覚、腱反射低下・消失に関して、油症認定患者、非認定患者、対象にわけて抽出し検討した。結果：ヒトに生じた末梢神経障害に関する報告は 17 件と少なかった。油症のように慢性的に毒物混入物を摂食した場合は末梢神経障害の出現頻度が高かった。他覚的感覚異常は認定患者で 16.7%、非認定患者で 7.2%、対象群で 4.4%存在し、いずれも自覚的感覚異常の出現率より低く、特に非認定患者で低かった。腱反射の低下・消失は認定患者、非認定患者、対象のいずれの群においても、他覚的感覚異常よりも高率に認められた。結論：感覚異常は径の細い神経線維が伝導する感覚であり従来の方法では評価するのが難しい。感覚誘発電位の波形から、その感覚神経にどれくらいの割合で太い神経線維と細い神経線維が存在するかをシミュレーションする方法が考案されており、臨床の場で使用可能となれば、非侵襲的・客観的に自覚的感覚異常をもたらす末梢神経障害を評価できると期待される。

A. 研究目的

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。昨年度は油症患者の末梢神経障害の経時変化について、患者の自覚症状、他覚的神経所見の両面から検討した。油症患者の発症当初の神経所見では 39.1%に下肢末端のジンジン感や不快感が主訴として存在し、客観的な神経所見では 21.7%に四肢遠位の感覚異常・低下、34.8%にアキレス腱反射低下がみられていた。自覚的感覚異常は 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 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 11 年後 34.6%、33 年後 17.4%と経時的に減少した[1) 2) 3) 4)]。今年度の研究では、油症患者の末梢神経障害の特徴と、障害の検出に適した検査を検証するために PCB (polychlorinated biphenyl)、 PCDF (polychlorinated dibenzofuran)あるいは dioxin における末梢神経障害(Neuropathy)を文献的に検索した。また、これまで記録されてきた神経所見に関し、経時変化や加齢の影響、自覚的感覚異常、他覚的感覚異常の違いをふまえ、認定患者のみならず非認定患者にも今後必要とされる検査を検証した。

B. 研究方法

Pub Med にて PCB, PCDF, dioxin, neuropathy をキーワードとして検索。ヒト対象の研究の発表年、著者、中毒経路、末梢神経障害に関

しての要点を検証した。また、当施設から報告した発症 36 年以上経過した油症患者の自覚的異常感覚、他覚的異常感覚、腱反射低下・消失に関して、油症認定患者、非認定患者にわけて抽出した[4]。

（倫理面での配慮）

個人情報は原則的に検証の対象としていないが、個人のプライバシーが侵害されぬよう配慮した。

C. 研究結果

1. Neuropathy, PCB, PCDF, dioxin をキーワードとした文献検索

PCB と neuropathy で 10 文献、PCDF と Neuropathy で文献なし。Dioxin と neuropathy で 22 文献が抽出され、これらの中でヒトが暴露することによって生じた末梢神経障害に関する報告は 17 件であった（表１）[5-21]。日本、台湾、韓国、ドイツ、イタリア、アメリカ合衆国から報告があり、中毒経路は混入物摂食、職業における慢性暴露、工場事故による急性暴露、戦争における枯葉剤への暴露であった。末梢神経障害は発症しないという報告[8]から 9 割以上で発症するという報告[16]まであり、発症するか否かには暴露時の毒物濃度が重要であるという結論もあった[6]。一旦出現した末梢神経障害は発症後に徐々に改善するという報告がある一方、暴露後８年経ても進行するという報告もあった。感覚神経障害が主であるが運動神経障害も存在した[18]。神経伝導速度検査まで行っている報告は少なかったが[6, 7, 15, 18, 20, 21]、その中でも感覚神経障害に加え運動神経障害も存在するという結果が示されていた。

2. 自覚的異常感覚、他覚的感覚異常、腱反射低下・消失の出現率。

自覚的感覚異常は油症認定患者の 59.4%、非認定患者の 49.3% に認め、対象群の 8.0% に比べ圧倒的に多かった。一方、他覚的感覚異常は認定患者で 16.7%、非認定患者で 7.2%、対象群で 4.4%存在し、いずれも自覚的感覚異常の出現率より低く、特に非認定患者で低かった。腱反射の低下・消失は認定患者、非認定患者、対象のいずれの群においても、他覚的感覚異常よりも高率に認められた（表２）[4]。

D. 考察

Neuropathy, PCB, PCDF, dioxin をキーワードとした文献の中でヒトを対象とした報告は 17 件と少なかった。Pub med の検索範囲に入ってない雑誌に発表されているものも多数あることに加え、Dioxin と intoxication を検索した場合は 161 件、PCB と intoxication の検索では 127 件の文献が検索されることを考えると、臨床症状としての末梢神経障害が検討項目としてあまり挙げられていない可能性も考えられた。末梢神経障害の出現は暴露時の濃度が重要であることは一つの重要な見解であり、暴露濃度が低い職業での慢性暴露や、暴露時間の短い工場事故による暴露では末梢神経障害の出現は少ない一方で、油症のように慢性的に混入物を摂食した場合は末梢神経障害の出現頻度が高かった。

自覚的感覚異常は油症認定患者の６割、非認定患者の５割と高率に認められた。下肢遠位の異常感覚の訴えは、実際に油症患者の健康診断を行っていても感じることであるが、それを他覚的に評価するのはむつかしい。爪楊枝や筆、指先で痛覚・触覚・温度覚を評価する方法は診察者間で差を生じる可能性がある。非認定患者で他覚的感覚異常が、認定患者の半分以下しかない点は、このようなばらつきが影響している可能性も否定できない。この点、アキレス腱反射は、習熟した医師ならば安定して減弱・低下を判断することができるので、他覚的・客観的判定のよい指標となるが、反射を形成しているのは直径の太い神経線維であり、痛覚や温度覚を伝導する細い神経線維の機能を反映することはむつかしい。

細い神経線維を評価するには、特別な装置を用いて痛み刺激をする方法や、実際に足首外側を走る「ひ腹神経」を生検して神経束中に直径の異なる神経がどのような割合で存在するかを調べる必要があり、前者は実際の健康診断の場においては困難であるし、後者は神経の摘出による感覚脱失を伴う。しかし最近、神経伝導速度検査で得られた感覚誘発電位の波形から、その感覚神経にどれくらいの割合で太い神経と細い神経が存在するかをシミュレーションする方法が考案されており、そこでは感覚神経活動電位のピークが出現した後の陽性波の電位や形態が解析の参考になるとされている（図、矢印）[22]。実現可能ならば今後、感覚異常の原因としての直径の細い神経の評価が、ほぼ非侵襲的に可能になり、期待されるところである。

E. 結論

Neuropathy, PCB, PCDF, dioxin をキーワードとした文献の中でヒトを対象とした報告は17件と少なかった。油症のように慢性的に混入物を摂食した場合は末梢神経障害の出現頻度が高かった。客観的評価のできる腱反射を形成しているのは太い神経線維であるが、下肢遠位の異常感覚は細い神経線維が伝導する感覚であり従来の方法では評価するのが難しい。感覚誘発電位の波形から、その感覚神経にどれくらいの割合で太い神経と細い神経が存在するかをシミュレーションする方法が考案されており、臨床の場で使用可能となれば、非侵襲的・客観的に自覚的感覚異常をもたらす末梢神経障害を評価できると期待される。

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） Kim JS, Ind Health 41：149-157, 2003
6） Michalek JE, et al：Neurotoxicology 22：479-490, 2001
7） Thömke F, et al：Acta Neurol Scand 100：1-5, 1999
8） Sweeney MH, et al：Teratog Carcinog Mutagen 17：241-247, 1998
9） Altenkirch H, et al：Neurotoxicology 17：639-643, 1996
10） Goetz CG, et al：Neurology 44：801-809, 1994
11） Sweeney MH, et al：Am J Ind Med 23：845-858：1993
12） Bertazzi PA：Sci Total Environ 106：5-20, 1991
13） Nakagawa R, et al：Fukuoka Igaku Zasshi 82：280-294, 1991
14） Fitzgerald EF, et al：Arch Environ Health 44：214-221, 1989
15） Barbieri S, et al：Neuroepidemiology 7：29-37, 1988
16） Klawans HL：Mov Disord 2：255-261, 1987
17） Webb KB, et al：Am J Prev Med 2：103-108, 1986
18） Chia LG, et al：J Neurol Neurosurg Psychiatry 48：894-901, 1985
19） Chia LG, et al：Prog Clin Biol Res 137：117-126, 1984
20） Filippini G, et al：Scand J Work Environ Health 7：257-262, 1981
21） Murai Y, et al：Neurology 21：1173-1176, 1971
22） Hayami T, et al：ConfProc IEEE Eng Med Biol Soc 1：2396-2399, 2007

G. 研究発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

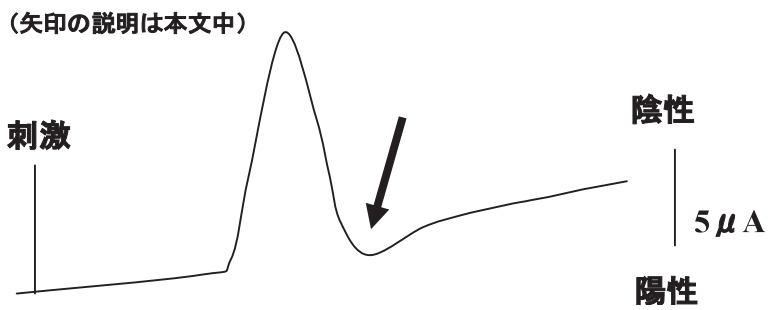
表1　Neuropathy and (PCB or PCDF or Dioxin) の報告

報告年	筆頭著者	中毒経路	Neuropathy に関する要点
2003	Kim JS	枯葉剤 (Agent orange)	Neuropathy を生じるオッズ率= 2.39
2001	Michalek JE	枯葉剤 (Agent orange)	高濃度で Neuropathy を生じる
1999	Thomke F	職業暴露	感覚異常および運動神経複合電位低下
1998	Sweeney MH	職業暴露	neuropathy との相関なし
1996	Altenkirch H	職業暴露	neuropathy 8 年後も進行
1994	Goetz CG	枯葉剤 (Agent orange)	現症状では相関なしあるいは解析不能
1993	Sweeney MH	職業暴露	長期経過後の濃度と Neuropathy の相関なし
1993	Bertazzi PA	工場事故 (Seveso)	Neuropathy は reversible である
1991	Nakagawa R	摂食 (Yusho)	皮下脂肪 PCDFs 濃度と臨床症状相関
1989	Fitzgerald EF	変電所火事 (NY)	Neuropathy あるが有意差なし
1988	Barbieri S	工場事故 (Seveso)	主訴なくとも臨床・検査にて異常あり
1987	Klawans HL	職業暴露	45 人中 43 人に neuropathy
1986	Webb KB	総合・総説	高濃度で neuropathy 出現　DM との鑑別困難
1985	Chia LG	摂食	神経伝導速度低下するが徐々に改善
1984	Chia LG	摂食	Neuropathy 2/3, SCV 低下 1/2, MCV 低下 1/3
1981	Filippini G	工場事故 (Meda)	neuropathy の発生 3 倍
1971	Murai Y	摂食	主として感覚神経障害

表2　神経所見と認定・非認定患者における自覚的感覚異常と神経所見

	認定患者 719 人	非認定患者 278 人	対照群 137 人
自覚的感覚異常	427 人 (59.4%)	137 人 (49.3%)	11 人 (8.0%)
他覚的感覚異常	120 人 (16.7%)	20 人 (7.2%)	6 人 (4.4%)
腱反射低下・消失	125 人 (17.4%)	33 人 (12.0%)	20 人 (14.6%)

図　感覚神経活動電位のシェーマ



分担研究報告書

油症患者における免疫機能の検討

分担研究者　辻　博　　北九州津屋崎病院内科　部長

研究要旨　2007 年度福岡県油症一斉検診の受診者 201 例について免疫グロブリンおよびリウマチ因子、抗核抗体、抗 DNA 抗体の自己抗体と血中 PCB 濃度との関連について検討した。血中 PCB 濃度と免疫グロブリン IgA、リウマチ因子との間に有意の相関を認め、血中 PCB 低濃度群に比べ高濃度群に抗核抗体の出現を有意に高頻度に認めた。さらに、129 例について免疫グロブリンおよび各種自己抗体と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との関連について検討し、同様に免疫グロブリン IgA、リウマチ因子との間に有意の相関を認め、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に抗核抗体の出現を有意に高頻度に認めた。

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]。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、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[2]。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[3]。2001 年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され、油症患者では現在においても未だ血中 PCDF 濃度が高値であり、PCDF の体内残留が推測される。

最近、PCB、ダイオキシン類が内分泌撹乱物質として正常なホルモン作用を撹乱し、生殖機能の阻害、悪性腫瘍の発生、免疫能の低下等を引き起こす可能性が指摘されている。油症における免疫機能影響については、1996 年福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認め油症患者における免疫機能の障害が推測された[4]。そして、1997 年度福岡県油症一斉検診において、免疫グロブリンの上昇およびリウマチ因子、抗核抗体の高率な出現を認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された[5]。

今回我々は、油症患者において免疫グロブリンおよび各種自己抗体を測定し、油症原因物質の免疫機能に対する慢性的影響について検討した。

B．方法

2007 年度福岡県油症一斉検診の受診者中、免疫グロブリンおよびリウマチ因子、抗核抗体、抗 DNA 抗体の自己抗体の測定に同意が得られた 201 例を対象者とした。免疫グロブリン immunoglobulin A (IgA)、immunogloburin G (IgG)、immunogloburin M (IgM)は免疫比濁法(Turbidimetric Immunoassay, TIA)で、リウマチ因子はラテックス凝集法(Latex

agglutination test, LA）で、抗核抗体は蛍光抗体法（Fluorescent Antibody technique, FA）で、抗 DNA 抗体は radio immunoassay（RIA）硫安塩析法で測定した。血中 PCB 濃度は 2007 年度福岡県油症一斉検診において測定した 201 例の測定値を用い、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran（PeCDF）濃度は 2007 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2006 年度 112 例、2005 年度 15 例、2004 年度 2 例の計 129 例の測定値を用い、免疫グロブリンおよび各種自己抗体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。また、異常値の出現頻度の比較は χ^2 検定で行なった。

C．結果

2007 年度福岡県油症一斉検診を受診し、免疫グロブリンおよびリウマチ因子、抗核抗体、抗 DNA 抗体の自己抗体の測定に同意が得られた 201 例の内訳は油症患者 149 例、未認定患者 32 例、観察 2 例、初回受診者 18 例で、平均年齢は 60.5±16.0（6－90）歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関（r=0.5617, P＜0.001）を、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と年齢の間に有意の正の相関（r=0.3587, P＜0.001）を認めた。

2007 年度福岡県油症一斉検診の受診者 201 例について血中 PCB 濃度と免疫グロブリンおよびリウマチ因子の相関について検討した。血中 PCB 濃度と免疫グロブリン IgG 値（r=0.0852）および IgM 値（r=－0.0526）の間に相関をみなかったが、血中 PCB 濃度と IgA 値の間に有意の相関を認めた（r=0.1898, P＜0.01）。また、血中 PCB 濃度とリウマチ因子値の間に有意の相関を認めた（r=0.1756, P＜0.05）。そして、血中 PCB 濃度 1.5 ppb 未満の 110 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上の 91 例を血中 PCB 高濃度群として、両群間の抗核抗体および抗 DNA 抗体出現の頻度について検討を行なった。血中 PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 0.81±0.41 ppb、血中 PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 2.68±1.26 ppb であった。抗核抗体を血中 PCB 低濃度群 60 例（54.5%）に対し血中 PCB 高濃度群 63 例（69.2%）に認め、有意に高頻度であった（P＜0.05）。抗核抗体を認めた 123 例の力価の内訳は 40 倍が 77 例、80 倍が 34 例、160 倍が 10 例、1280 倍以上が 2 例であり、低力価のものが多かった。抗 DNA 抗体は血中 PCB 高濃度群に 1 例認めたのみで血中 PCB 低濃度群にはみられなかった。

2007 年度福岡県油症一斉検診の受診者 201 例中、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が測定された 129 例について血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と免疫グロブリンおよびリウマチ因子の相関について検討した。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と免疫グロブリン IgG 値（r=0.0996）および IgM 値（r=－0.0972）の間に相関をみなかったが、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と IgA 値の間に有意の相関を認めた（r=0.2665, P＜0.005）。また、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度とリウマチ因子値の間に有意の相関を認めた（r=0.1939, P＜0.05）。そして、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 未満の 57 例を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 以上の 72 例を高濃度群として両群間の抗核抗体および抗 DNA 抗体の出現頻度について検討を行なった。低濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PECDF 濃度は 15.0±7.5 pg/g lipids、高濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 284.0±241.1 pg/g lipids であった。抗核抗体を低濃度群 33 例（57.9%）に対し高濃度群 56 例（77.8%）に認め、有意に高頻度であっ

た（P＜0.05）。抗 DNA 抗体は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群に１例認めるのみであった。

D．考察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されている。油症発症 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査において、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を高濃度群の 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た[4]。そして、1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか１分画以上の上昇を 40.0%に、自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9%に、抗核抗体を 45.6%と高率に認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された[5]。

今回の検討では、血中 PCB 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に有意の相関を認めた。そして、抗核抗体を血中 PCB 低濃度群に比べ血中 PCB 高濃度群に有意に高頻度に認めた。さらに、免疫グロブリンおよび各種自己抗体と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との関連についても、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に有意の相関を認め、抗核抗体を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に有意に高頻度に認めた。油症における免疫グロブリン IgA、リウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現に PCB および PeCDF が関与している可能性が考えられる。

E．参考文献

１．Masuda Y, Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance : A Review. Amer J Ind Med 5 : 31-44, 1984.

２．Gonzalez FJ, Liu SY, Yano M : Regulation of cytochrome P450 genes : molecular mechanism . Pharmacogenetics 3 : 51-57, 1993.

３．増田義人，山口早苗，黒木広明，原口浩一：最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニール異性体. 福岡医学雑誌 76 : 150-152, 1985.

４．辻　博, 佐藤薫, 下野淳哉, 東晃一, 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.

５．辻　博，平橋高明，緒方久修，藤島正敏：油症患者における免疫機能の検討. 福岡医誌 90 : 147-149, 1999.

分担研究報告書

油症患者における内科的疾患の検討

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

研究要旨　油症患者の身体所見、臨床検査値、腹部超音波検査所見より、油症発生39年後の脂質代謝異常、糖代謝異常、高血圧などの生活習慣病罹患の実態を調査し、油症患者における内科的疾患（とくにメタボリック・シンドローム）を把握する。

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、油症発生後38年後の2006年の検討でも、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、腹部超音波検査にてbright liver（BL）、脂肪肝を118例中85例（72%）に認めた。

今回われわれは2007年度一斉検診時の身体所見、臨床検査所見より、油症患者の脂質代謝異常、耐糖能異常、高血圧などの生活習慣病罹患の実態を調査し、油症患者における内科的疾患（とくにメタボリック・シンドローム）の把握につとめた。油症認定患者の非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）に関しては、各種サイトカイン、酸化ストレスを検索した。

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149例を対象者とした。

C．研究結果及び考察

2007年度福岡県油症一斉検診を受診した油症認定患者は149例（男性65例、女性84例）であった。

腹部超音波検査にてBL、脂肪肝を149例中47例（31.5%）に認めた。

現在NAFLD関連サイトカイン（アディポネクチン）を測定中である。

D．考察

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≧220mg/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39年の検討でも、多くの検査所見は軽快しているが、なおも油症認定患者149例中47例（31.5%）にBL、脂肪肝を認めた。

われわれは油症認定患者における脂肪肝（bright liver）と血清脂質値の異常、インスリン抵抗性の関連性を明らかにしてきた。非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）は肝臓におけるメタボリックシンドロームの表現形である。また、近年耐糖能異常は脂肪肝症例における肝線維化・発癌のリスクファクターである可能性が示唆されている。

油症認定患者のNAFLDに関して、NAFLD関連サイトカインの検討を継続したい。

E．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

分担研究報告書

油症認定患者血清中の抗 SS-B 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　准教授
	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 40 年近く経った現在慢性の酸化ストレス状態と考えられる。酸化ストレスによる修飾は自己抗体の出現を懸念させる。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-B を選択し抗 SS-B 抗体の出現頻度を油症患者血清にて検討した。油症患者血中抗 SS-B 抗体値は 7.4 ± 0.6 (Index)、健常人では 6.1 ± 0.5 (Index)で両者間に有意差を認めなかった。また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

1968 年の事件発生から 40 年近くを経た現在において激烈な症状を呈する患者はほとんど見られなくなった。しかしながら良好なＱＯＬを維持するための保健指導、健康相談の重要性は年々増してきている。近年、新たな油症認定基準として Polychlorinated dibenzofurans (PCDF)が追加されたが、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依然重要視されている。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長期間さらされてきた事になる。事実我々は油症患者尿中において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)-B を選択しそれに対する自己抗体である抗 SS-B 抗体の発現頻度を油症患者血清にて検討した。

B. 研究方法

①対象：2007 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 56 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 20 名を対照とした。

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

③統計的処理：Mann-Whitney's U test 及び分割表分析にて検討した。

C． 研究結果

平均年齢は油症患者 70.1 ± 1.7 歳、健常人 70.9 ± 1.3 歳で有意差を認めな

かった。油症患者血中抗 SS-B 抗体値は 7.4 ± 0.6 (Index)、健常人では 6.1 ± 0.5 (Index)で有意差は認めなかった(図 1)。また、抗 SS-B 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 2)。

D. 考察

抗 SS-B 抗体は 5SrRNA やウイルス由来 RNA が結合した RNA-蛋白複合体と結合し、対応する SSB 抗原蛋白は 50kDa とされている。臨床的にはその名前の如く抗 SS-B 抗体はシェーグレン症候群に特異性が高く、SLE にも認められる事が多い。[3)]今回我々は油症が慢性酸化ストレスである事より、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をたてた。よってアポトーシスにより発現される頻度が高いと報告されている自己抗原として SS-B を選択し、抗 SS-B 抗体の出現頻度を油症患者血清にて検討した。結果として油症患者において抗 SS-B 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る事はできなかった。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患者尿中 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-B 抗体は疾患特異性が高いため現在は乾燥症状がはっきりしないが後に乾燥症状が出現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重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., 27: 195-197, 2007

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 1.

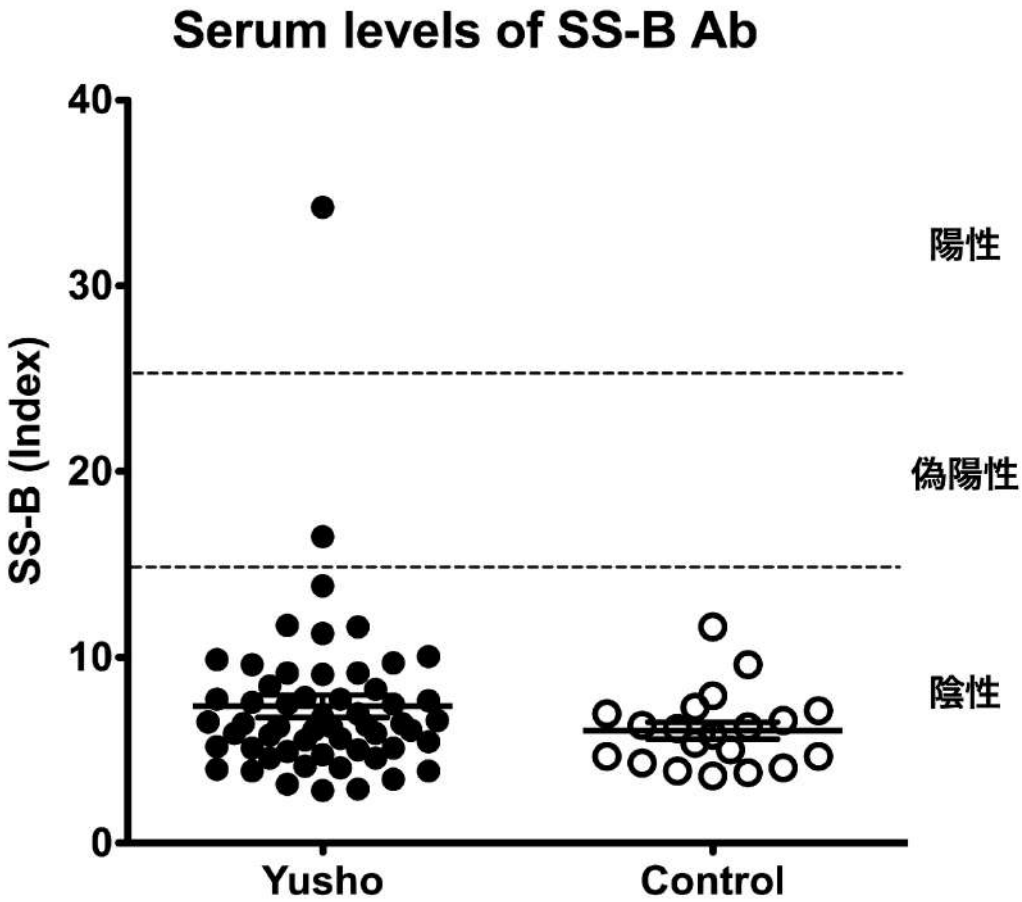


図2.

SS-B 陽性率における比較

Count				
		Group		
		健常人	油症患者	合計
SS-B	陰性	20	54	74
	陽性	0	2	2
	合計	20	56	76

分担研究報告書

油症患者尿中 Hexanoyl-Lysine 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　准教授
	小川文秀	長崎大学医学部皮膚科　講師

研究要旨

PCB はその代謝過程で superoxide を発生する。高 PCB 血症である油症は酸化ストレスであり、その酸化ストレスを評価するために油症認定患者と正常健常人の尿を用いて初期脂質酸化ストレスの新しいマーカーである Hexanoyl-Lysine (HEL)を測定した。油症認定患者 57 名、健常人 51 名において尿 creatinine で補正した値はそれぞれ 67.3±12.5 nmol/g creatinine、66.6±5.2 nmol/g creatinine を示し有意差を認めなかった。

A.　研究目的

1968 年のカネミ油症事件発生後 35 年以上経過し、初期に認められた激しい症状はほとんど認められなくなっている。油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB) 、Polychlorinated quaterphenyls (PCQ)及び Polychlorinated dibenzofurans (PCDF)を含む dioxin 類の混在している事がわかっていた。近年血中 dioxin 類の微量濃度測定が可能になった事により油症患者認定の新たな認定基準として PCB、PCQ 以外に血中 PCDF 値が追加されている。[1] PCB はその代謝過程において superoxide を産生する事が報告されており [2]、血中 PCB 高値を示す油症患者は酸化ストレスを長期間受け続けていることになる。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、油症が酸化ストレスである事を証明している。[3]今回は脂質過酸化の初期段階を捉えるとされている Hexanoyl-Lysine (HEL)をマーカーとして選択し尿中の HEL 値を測定する事により油症患者の酸化ストレスの状況を評価すべく検討した。

B.　研究方法

①対象 : 2007 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認定患者 57 名を対象とし、検診時に採尿を行い、凍結保存し HEL 測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人 51 名を対照とした。

②尿中 HEL 値測定 : 尿中 HEL 値はヘキサノイルリジン(HEL)測定キット(日研ザイル(株)日本老化研究所)を用いて測定した。また尿の濃縮条件による HEL 値のみかけ上の上昇を補正するため尿 Creatinine も測定した。。

③統計的処理 : 測定した HEL 値は尿 creatinine で除して Mann-Whitney's U test にて比較検討した。

C．　研究結果

長崎、玉之浦より油症患者 57 名、健常

人 51 名の平均年齢は各々68.9±1.5 及び 66.5±1.4 才で有意差を認めなかった。尿中 HEL/Creatinine 値は各々 67.3 ± 12.5 nmol/g creatinine 及び 66.6±5.2 nmol/g cratinine で、有意差を認めなかった。(図)

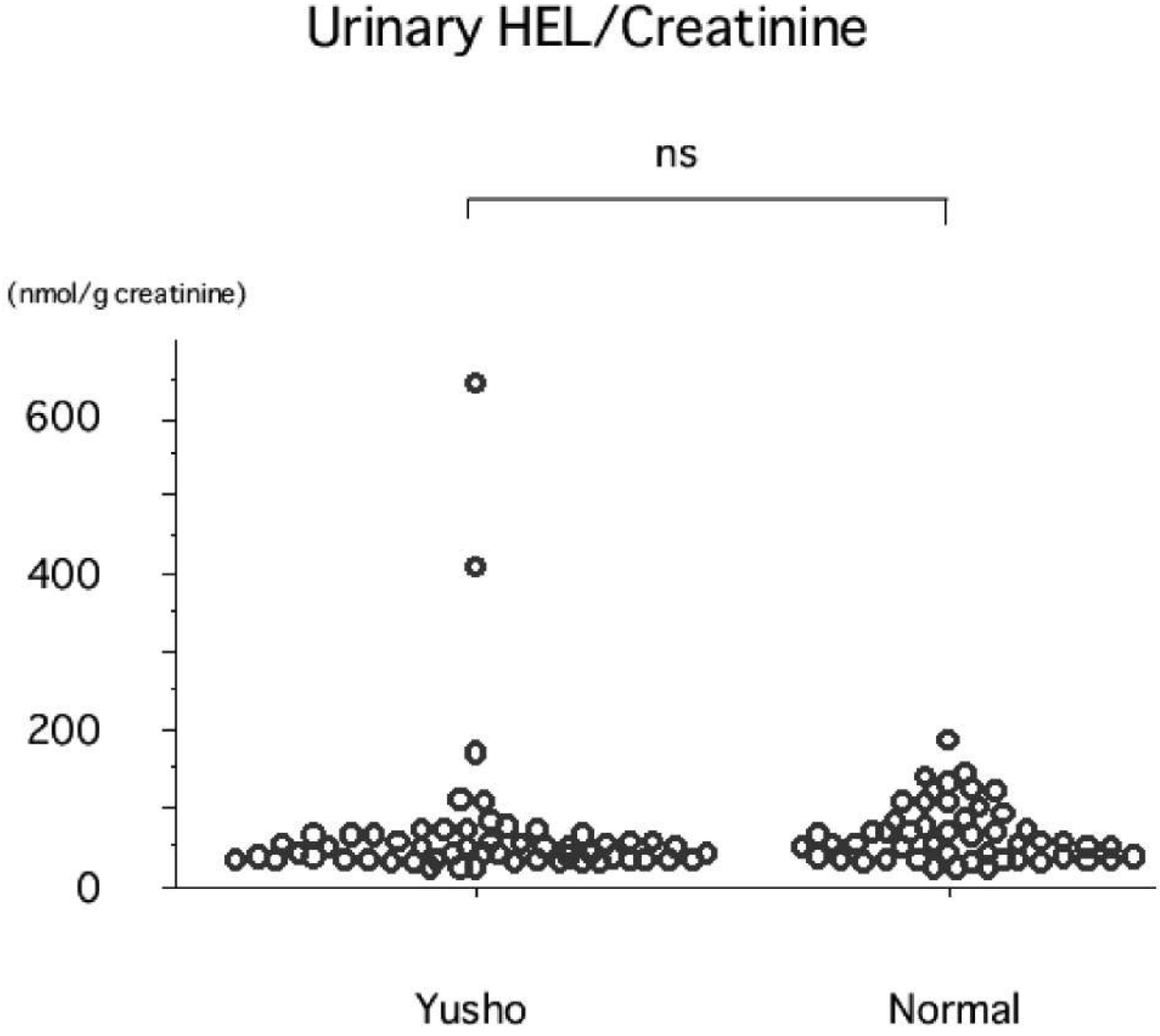
D. 考察

HEL は加藤、大沢らによりその生成と存在が生化学的、免疫学的に確認された物質で、[4]リノール酸ヒドロペルオキシドとリジン残基との反応によって生じる脂質・リジン付加体である。現在この物質は脂質過酸化 の初期段階を捉える新たな酸化ストレスバイオマーカーと期待されている。我々はすでに脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane の油症尿中における有意な高値を確認し、油症が酸化ストレスであることを報告している。[3]

昨年我々は HEL の血中における有意な高値を油症患者において確認し報告している。今回は尿中の HEL を測定し、尿中 creatinine で補正した値を統計的に比較検討したが正常対照との間に有意差を認めることができなかった。一方の脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane は尿中での高値は確認できているが血中での高値は確認できておらず HEL と逆のパターンとなっている。同じ脂質酸化ストレスのマーカーでも測定材料によって評価が分かれる事は興味ある結果である。HEL は初期酸化をとらえるマーカーとされており高 PCB 血症である油症以外の酸化ストレスによる影響を敏感にとらえ油症における酸化ストレスを尿では描出できていない可能性も否定できない。昨年と今回の結果より HEL は血中における測定が油症患者にとって有用と考えられ、今後は血中の HEL と尿中の 8-Isoprostane の測定組み合わせにより更なる酸化ストレスの検討を油症患者で行っていきたい。

E. 文献

1) 油症の健診と治療の手引き 2004 全国油症治療研究班・追跡調査班
2) 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
3) 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., 27: 195-197, 2007
4) Kato Y. et al. Formation of Ne-(hexanoyl) lysine in protein exposed to lipid hydroperoxide. J Biol. Chem. 274 (29): 20406-20414, 1999



(n=57)
(67.3±12.5)

(n=51)
(66.6±5.2)

（図）

分担研究報告

カネミ油症検診者の血清CKおよびアルドラーゼ値の経年変化と合併症について

分担研究者　吉村 俊朗　　長崎大学医歯薬学総合研究科保健学専攻　教授
研究協力者　中野 治郎　　長崎大学医歯薬学総合研究科保健学専攻　助教

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。2000 年から 2006 年までのカネミ油症検診者データーを用い、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。血清アルドラーゼは GOT、GPT と正の相関を認めたが、血清クレアチン・キナーゼとの相関はなかった。回帰分析の結果、血清アルドラーゼに影響を及ぼす因子としては血中 PCB 濃度、GPT が有力であり、血中 PCB は負の因子として、GPT は正の因子として作用していた。

血清アルドラーゼは糖代謝酵素であることから、カネミ油症でしばしば見られる易疲労感などの症状の原因はアルドラーゼ異常にある可能性も考えられる。

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。

昨年まで、過去のカネミ油症検診者データーを用い、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。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は BUN 等は相関が認められていて、血清 CK の上昇は、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[1) 2) 3) 4) 5)]。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[6)]、今年度は血清 ALD と血清 CK の異常率の経年変化とカネミ油症検診者の血液を 2000 年から 2006 年の期間, 調査し、血清 ALD と血液 PCBs、PCQ、PCDFs 濃度との関係を検討したので報告する。

B．研究と方法

1). 対象

調査 1.　血清 ALD と血清 CK 異常率の年次推移

1995 年～2006 年までのカネミ油症検診者データ全てを使用し、血清 ALD と血清 CK の異常率を各年度ごとに算出した。

調査２.　血清 ALD と血中 PCBs、PCQ、PCDFs 濃度、TEQ

2000 年からの 7 年間、血清 ALD を 4 回以上測定した 93 名（男性 30 名、女性 63 名）を分析対象とした。　そして、血清 ALD に基づき以下の４群に分類し、各群の血清 CK、血中 PCBs、PCQ、PCDFs 濃度、TEQ を比較検討した。血清 ALD の正常範囲は 1.9～4.7 U/l である。

正常群：毎回血清 ALD が正常であった検診者

一時低下群（低頻度）：１回のみ、血清 ALD が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、血清 ALD が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

調査 3. 血清 ALD の低下に対する因子の検索

2000 年～2006 年のカネミ油症検診者の中で血清 ALD を 1 回以上測定した 230 名を対象とし、７年間の中央値をデータとして採用した。そして、血清 ALD の低下に対する因子を見出す目的に、血清 ALD と PCB、PCQ、CK、T.Chol、LDH、Hct、BUN、ChE、GOT、GPT の相関、ならびにそれぞれの寄与率を重回帰分析を用いて検討した。

Ｃ．結果

１，血清 ALD と血清 CK 異常率の年次推移

2000 年から 2006 年まで述べ、753 名の検診者が対象となった。2000 年は 60％で、血清 ALD の低下を認めているが、2006 年では 10％と漸減してきている（図１）。また、血清 CK 値も 1995 年 21％に血清ＣＫの上昇を認めていたが、2006 年には 7.5％と血清ＣＫの異常率の低下を認めている（図２）。

２，血清 ALD と血中 PCBs、PCQ、PCDFs 濃度、TEQ

2000 年から 2006 年までの 7 年間、血清 ALD の測定状況をみると、1 回のみ受診は 93 名（38.9%）、2 回が 28 名（11.7%）、3 回 24 名（10.0%）、4 回 27 名（11.3%）、５回１９名（7.9%）、6 回 28 名（11.7%）、7 回 20 名（8.3%）で、7 年間で平均 3 回の受診状況である（図３）。また、受診年齢は 70 から 75 歳が最も多くなった（図４）。対象となった 93 名のうち、血清 ALD の異常を認めなかったのは、30.1％で、１回のみ低下していた低頻度一時低下群は 25.8%、２回以上低下していた高頻度一時低下群は 40.9％、毎回の測定で低下していた群は 3.2%であった（表１）。低下群、高頻度低下群、低頻度低下群、正常群で血清ＣＫを比較したが、差を認めなかった（図５）。低下群、高頻度低下群、低頻度低下群、正常群で血清 PCB と PCQ 濃度を比較すると血清 ALD 低下群及び高頻度低下群で有意に正常群に比較して、血清 PCB の高値を認めた。血清 PCQ 濃度には差を認めなかった（図６）。また、血液 PCDFs 濃度、TEQ でも、有意差を認めなかった（図７）。

３，血清 ALD の低下に対する因子の検索

血清 ALD と血中 PCB、血中 PCQ、血清 CK、総コレステロール（T.Chol）、LDH、Hct、BUN、ChE、GOT、GPT の相関、ならびにそれぞれの寄与率を重回帰分析を用いて検討した。その結果、採用された因子としては、血中 PCB 濃度と GPT となった（図８，表２）。血中 PCB 濃度と血清 ALD は負の相関関係があり、血清 GPT は正の相関を示した。

Ｄ．考案

カネミ油症検診者の血清ＣＫ上昇および血清ALDの異常率は、年々低下してきている。また、カネミ検診受診者は、過去７年間で、38.9%の受診者が１回のみしか受診していない。また、毎年受診している検診者は8.3%（20名）であった。血中PCBはアルドラーゼ低下群で高い値を示した。そして、回帰分析の結果、血清ALD値へ影響を与える因子として、血中PCB濃度が負の因子として作用し、血清GPTが正の因子として作用していた。

ALDは六炭糖であるフルクトース1,6ビスリン酸（FDP）を開環縮合させる反応に関与したり、肝臓においてフルクトース1-リン酸（F1P）を可逆的に触媒する酵素である。糖代謝において重要な役割を演じている分子量約16万の酵素でA,B,Cの３種類のアイソザイムからなる[6]。全ての細胞

に存在しているが、特に筋肉、肝臓、脳に多く存在する。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[7]。A型（筋型）はフルクトース1,6ビスリン酸(FDP)に対して高い親和性を持ち、解糖系からエネルギー産生を行っている。B型（肝型）はFDPとF1P共に同等に親和性を持ち、等しく触媒する。FDPとF1Pを共に基質にすることは糖の新生に有益である。C型はA型とB型の中間的な性質で脳・脊髄などの神経細胞に多く含まれる。血清ALDは、通常、活性測定条件に用いられている測定条件は、FDPを基質としてUV法にて測定されている。従って、筋組織に多いA型の酵素活性測定に適した条件である[8]。血清ALDの年齢による差では、成人においては、20～39歳、40～59歳、60～70歳の3群間の平均値と標準偏差に男女ともに有意差を認めていない[9]。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。

したがって、ここで測定した血清ALDは、A型の酵素活性が主であると、推定される。しかし、回帰分析の結果からは血清CKとの相関はなく、むしろ肝酵素であるGPTとの正の相関が認められ、血清ALDへの影響は肝型の影響があると推定された。PCB126はFDPとF1Pを基質としたALD活性を阻害する[10,11]。従来、臨床では血清ALDは、進行性筋ジストロフィー症、多発筋炎などの筋疾患、甲状腺機能低下症に伴う筋疾患、肝疾患[7]、白血病などの悪性腫瘍の際、高値を呈する疾患に注目されてきた[12]。血清ALDが低下する疾患としては、遺伝性果糖不耐症[13]、Tay-Sacks病などがあり、発生頻度は極めて少ない。また、エストロゲンの投与で血清ALDは低下する[14]。B型のALDが欠損する遺伝性果糖不耐症では、高尿酸血症、低血糖、易刺激性、発育障害、意識障害などの慢性期症状が知られている。カネミ油症検診者では、発症初期には、全身倦怠感、食欲不振、微熱感、頭重感などの症状が報告されているが[15]、様々な愁訴を説明できないかどうか今後詳細に観察していく必要がある。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。

Ｅ．結論

血清 ALD は GOT、GPT と正の相関を認めたが、血清 CK との相関は明らかではない。回帰分析の結果、血清 ALD に影響を及ぼす因子としては血中 PCB 濃度、GPT が有力であった。

ALD は糖代謝酵素であることから、カネミ油症でしばしば見られる易疲労感などの症状の原因は ALD 異常にある可能性も考えられる。

文献

1) 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.

2) 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.

3) 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ＣＫ上昇の意義－ラット筋細胞膜の freeze fracture 法による変化－，福岡医誌 92：123-234，2001.

4) 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.

5)吉村俊朗，中野治郎、片岡英樹：カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ，福岡医誌 98:143-148，2007.

6)Salvatore F,Izzo P, Paolella G:Aldolase gene and protein families;structure, expression and pathophysiology, in Horizons in Biochemistry and Biophysics, vol.8, ed by Blasi F, New York,John Wiley & Sons, 611-665,1986

7)Asaka M and Alpert E.: Subunit-specific radioimmunoassay for aldolase A, B, and C subunits: clinical significance. Ann N Y Acad Sci. 417:359-67, 1983

8)菅野剛史　アルドラーゼ　内科 61(6):1015-1016,1988

9)椎名晋一，保崎清人，LinSoon Poh：正常値・異常値 酵素(3) アルドラーゼ。綜合臨床 34（増刊 ）:1838-1841,1985.

10)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. Toxicology116,193-199,1997

11)Kato H, Ishii Y, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N,Oguri K:Significant suppression of aldolase B, carbonic anhydroase Ⅲ and alcohol dehydrogenase in liver cytosol of rats treated with highly toxic coplanar PCB. JPN. Toxicol.Environ.Health 43,20,1997.

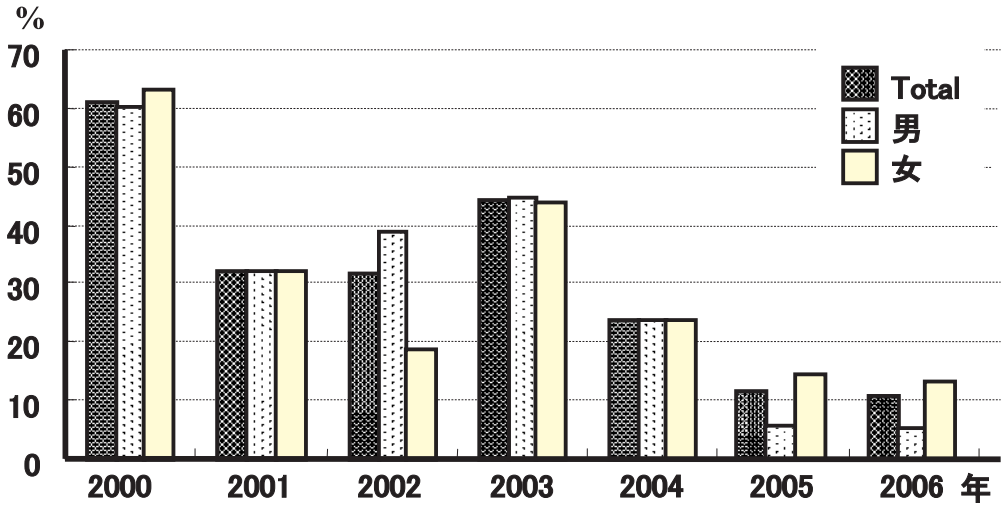
12) Sibley JA and Fleisher GA,:The clinical significance of serum aldolase. Staff Meet. Mayo Clin.29:591-604,1954.

13) Chambers RA and Pratt RT:Idiosyncrasy to fructose. Lancet 2:340,1956

14)渡邊修、納光宏：Ⅴ.酵素　3.アルドラーゼ　総合臨床 40:278-282,1991.

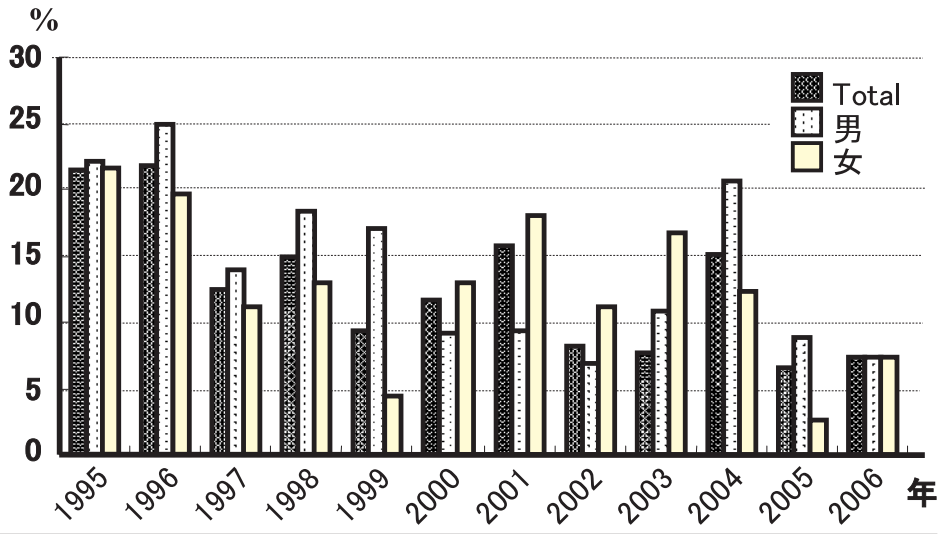
15)奥村恂:内科的症状と所見.小栗一太，赤峰昭文，古江増隆（編）：油症研究－30 年の歩み－初版，pp.165-181，九州大学出版会，福岡，2000.

図1、血清ALD異常率の年次推移



Total	n=103	90	119	106	88	110	137
男	n= 73	62	77	38	29	34	55
女	n= 30	28	42	68	59	76	82

図2, CK異常率の年次推移



Total	n= 84	101	97	107	107	103	89	122	104	86	110	137
男	n= 27	40	43	38	41	33	28	44	37	29	34	55
女	n= 57	61	54	69	66	70	61	78	67	57	76	82

表1，血清ADL値に基づく分類 （7年分）

	人数	性別		地区別		
		男性	女性	長崎	玉之浦	奈留
正常群	28名（30.1%）	8名	20名	16名	9名	3名
一時低下群（低頻度）	24名（25.8%）	5名	19名	7名	13名	4名
一時低下群（高頻度）	38名（40.9%）	15名	23名	6名	16名	16名
低下群	3名（3.2%）	2名	1名	0名	3名	0名
合計	93名（100.0%）	30名	63名	29名	41名	23名

図3，血清ALD測定回数の分布
（2000年～2006年）

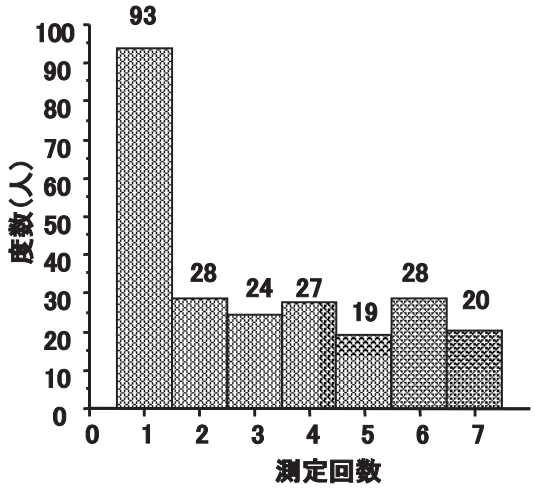


図4，年齢の分布
（2000年～2006年）

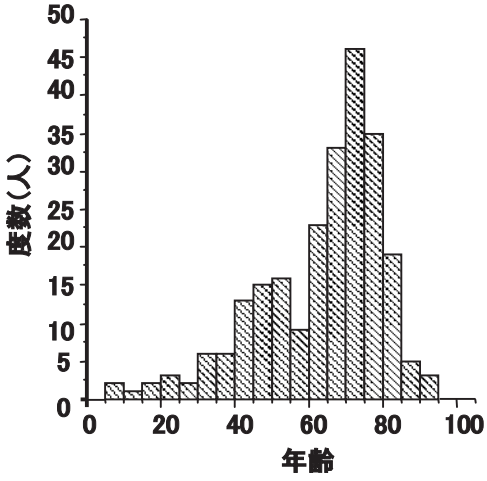
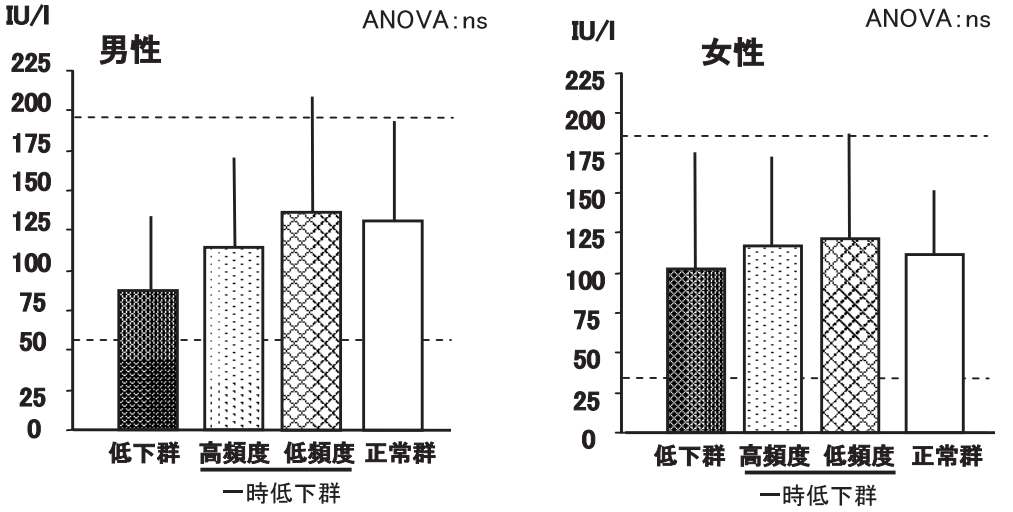


図5、各群の血清CK
（血清ALDによる分類）

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.

図６，各群の血中PCB 、PCQ 濃度
（血清ALDによる分類）

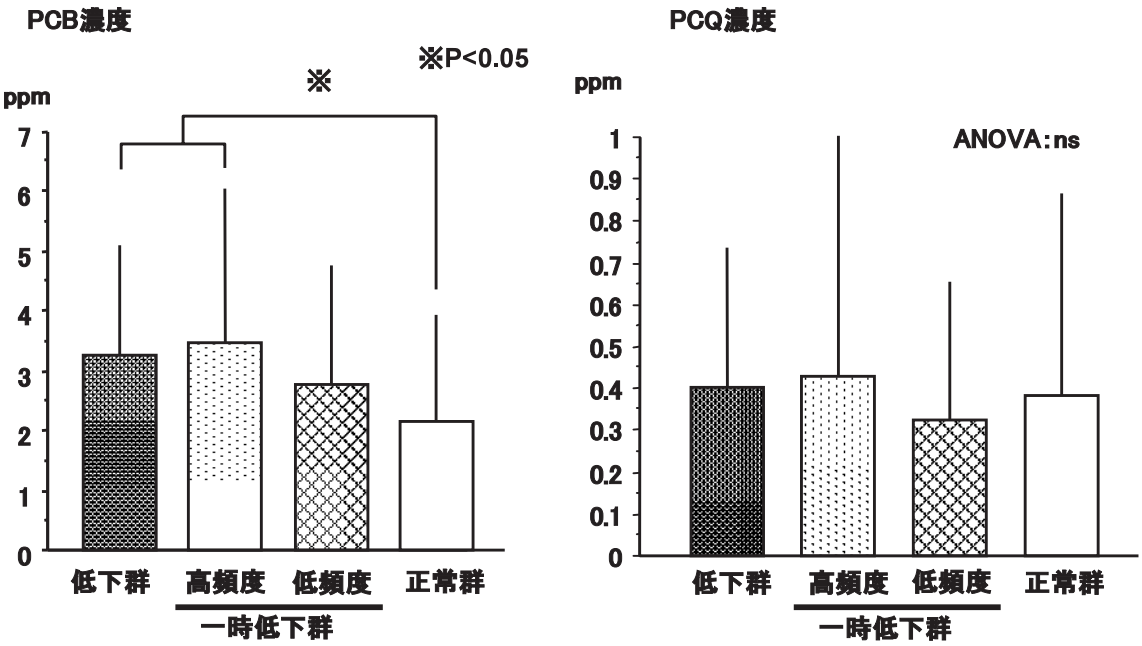


図7，各群の血中PCDFs 濃度・TEQ
（血清ALDによる分類）

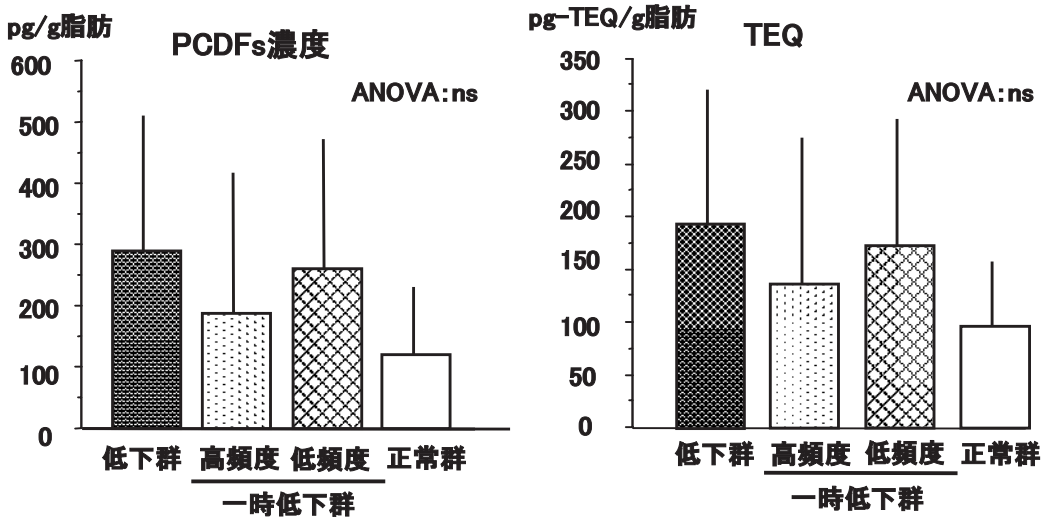


図8，血清ALD吐血中PCB濃度、血清CK,GOT,GPTの相関

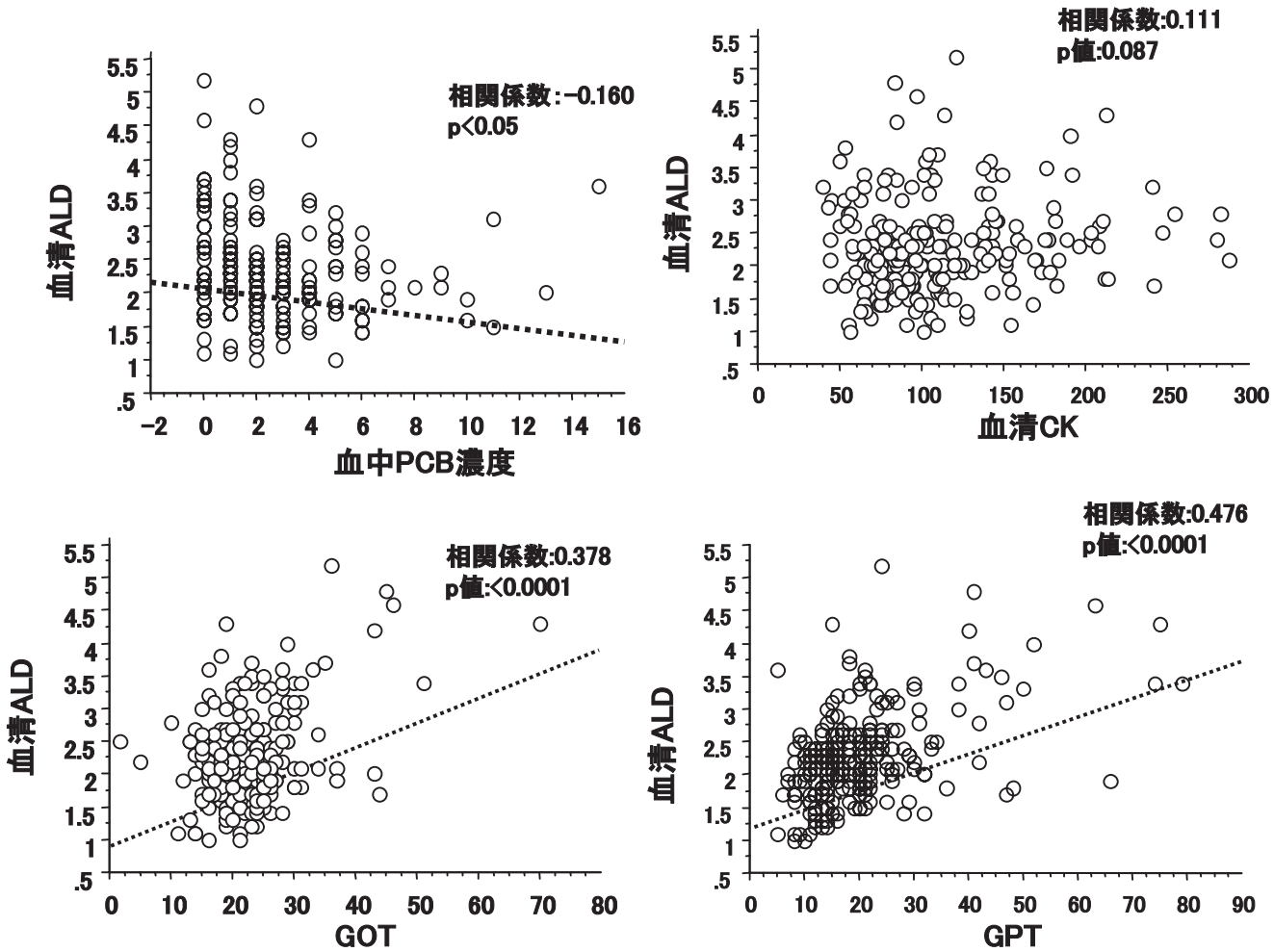


表2、採用された因子

	回帰係数	標準誤差	標準回帰係数	t値	p値
切片	1.839	0.096	1.839	19.226	<0.0001
GPT	0.030	0.004	0.497	8.425	<0.0001
PCB	−0.043	0.017	−0.150	−2.535	0.0120

相関係数0.527　R2乗 0.277 自由度調整R2乗 0.270 RMS残差 0.611

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
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および死因を調査し、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、2007 年に新たに油症と認定された 6 名を含めると、2007 年 12 月末現在における全認定患者は 1918 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 1384 名、死亡の確認がとれている者が 501 名、生死不明の者が 33 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および死因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分担研究者の調査情報、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 2007 年 5 月末現在までに認定された油症患者は 1912 名であった。

さらに 2007 年 6 月以降、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、6 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

2007 年 5 月末現在における認定患者 1912 名のうち、これまでの調査期間中に生存確認がとれていた 243 市区町村計 1374 名について、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および戸籍の附票（いずれも除票含む）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。また、生死不明であった 63 名についても、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、生存情報の確認を行った。

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公文書による申請を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、平成１５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、2007年に新たに油症と認定された6名を含めると、2007年12月末現在における全認定患者は1918名であった。

（２）認定患者の生死確認について

2007年5月末までの認定患者名簿では、認定患者数は1912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1374名、死亡の確認がとれていた者が475名、生死不明の者が63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、2007年5月末現在において生死状況が不明であった 243 市区町村計 1374 名について住民票抄本および戸籍の附票（いずれも除票含む）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。また、生死不明であった 63 名についても関係機関等から新たな情報を入手することができた。

以上のことから、2007 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1384 名、死亡の確認がとれている者が501名、生死不明の者が33名であった（表1、図1、図2）。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。

表1 油症認定患者における生死確認状況

	1996年12月末	2006年5月末	2007年5月末	2007年12月末
生存者	1453名	1250名	1374名	1384名
死亡者	307名	468名	475名	501名
不明者	61名	180名	63名	33名
総数	1821名*	1898名	1912名	1918名

*1983年3月末までの認定患者（追跡対象者）

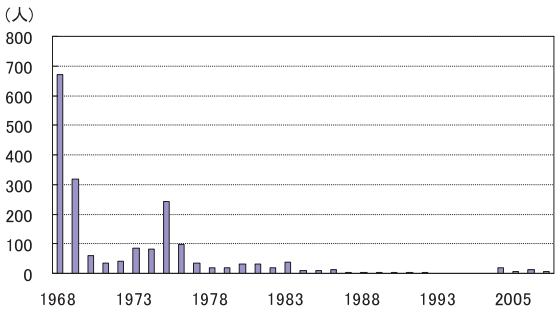


図1 油症認定患者数の認定年別推移

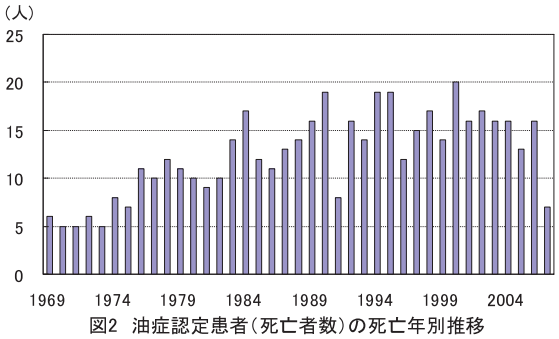


図2 油症認定患者（死亡者数）の死亡年別推移

今回、従来の認定患者に加えて、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、油症検診情報、住民票抄本および戸籍の附票（いずれも除票含む）による公的情報等を追加し、追跡情報を最新のものとした。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、2007年に新たに油症と認定された5名を含めると、2007年12月末現在における全認定患者は1918名であった。このうち、生存の確認がとれている者が1384名、死亡の確認がとれている者が501名、生死不明の者が33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PeCDFの累積暴露量の関係に関する研究

分担研究者　今村　知明　　奈良県立医科大学　健康政策医学講座　教授
研究協力者　小池　創一　　東京大学大学院医学系研究科　講師
（社会医学専攻医療情報経済分野）
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）
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体内負荷量及び累積暴露量を求め、内科検診、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診との関係に関して検討した。この累積暴露量の推計には半減期が必要となるが、半減期に関してもいくつかの推定が存在し、動物実験などから一般的には６年から７年程度と言われているが、人での半減期についての知見はまだ十分には得られていない。仮に半減期を 6.5 年と推定し、摂取量の推定を元に、現在の PeCDF 血中濃度を推定すると、推定値は、現在の PeCDF 濃度よりも大きな値を示すことになる。これは、摂取直後においては、かなりの速度で減少しており、各患者の現在PeCDF濃度から半減期は複雑に変化するため、半減期を用いて摂取量の推定を行うことの問題点が明らかとなった。これは、耐容１日摂取量(TDI)を求める数式を用いて半減期を逆算した場合も同様である。今回は、摂取量の推定と現在 PeCDF 濃度の比から、一律に半減期 4.0 年を求めこの半減期を用いて、発生当時の体内負荷量を推定し、累積暴露量を推定した。今回の分析の結果、色素沈着に関して、累積暴露量よりも PeCDF 濃度との関連が強い可能性があることが分かった。

Ａ．研究目的

化学物質による慢性毒性がどのように現れるかは、1 日当たりの曝露量よりも、血中濃度や体内に存在する量（体内負荷量）に依存している。PeCDFの累積的な体内存在量を求め、身体の各症状や検査結果との関連性について検証した。

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、事件発生当時 20 歳以上の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、363名を対象とした。

事件発生時における PeCDF の摂取量の推定はなされている。また、半減期に関してもいくつかの推定が存在し、動物実験などから一般的には６年から７年程度と言われているが、人での半減期についての知見はまだ十分には得られていない。たとえば、一般的にわれる半減期から、仮に半減期を6.5年と推定し、摂取量の推定を元に、現在のPeCDF血中濃度を推定した（表１）。この推定値は、現在のPeCDF濃度よりも大きな値を示している。増田らは、摂取直後においては、かなりの速度で減少していることを示した。各患者の現在PeCDF濃度から半減期は複雑に変化するため、半減期を用いて摂取量の推定を行うことは難しい。今回は、摂取量の推定と現在PeCDF濃度の比から、一律に半減期4.0年を求めこの半

減期を用いて、発生当時の体内負荷量を推定し、累積暴露量を推定した。

また、各患者の 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、推定累積暴露量と現在の PeCDF 濃度を目的変数として線形回帰を用いて分析した。

B.2 分析手法

次の手順により分析を行なった。

（１）推定摂取量と現在の血中 PeCDF 濃度から体内負荷量を推定し、それらの比から半減期を推定

（２）現在の PeCDF 濃度を元に前項で求めた半減期を用いて、事件発生当時まで遡って、累積暴露量を推定

（３）各患者データの代表値算出

（４）線形回帰分析を用いて、累積暴露量と代表検査項目の関係を分析

PeCDF は親油性が高く、体内の脂肪に偏在する。2001 年より血液脂肪中の PeCDF が計測されており、体脂肪量が分かれば、患者内の総 PeCDF 量が推定できる。今回、各患者の検診期間を通した平均体重に対して、男性 15%、女性 25%という体脂肪率を仮定し、各患者の脂肪量を推定し、PeCDF の総量の推定を行った。半減期として、PeCDF 推定摂取量と現在の血中濃度から求めた体内負荷量の平均値との比から半減期 4.0 年を求め、この半減期を用いて、各患者の現在の血中 PeCDF 濃度から体内負荷量を求め、発生当初まで遡って、累積暴露量の推定を行った。

また、症状に関して、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。

症状は 330 名以上が受診している項目を対象とした。これらの症状の中から主成分分析を用いて、45 個の主成分を抽出し、各主成分を代表する症状を求めた。

推定累積暴露量を従属変数とし、代表症状を独立変数として線形回帰を用いて分析を行った。更に、現在の PeCDF 濃度を従属変数として、線形回帰を用いて分析を行った。

Ｃ．研究結果

C.1　現在 PeCDF 濃度から半減期 4.0 年で推定した累積暴露量と代表症状との関係

独立変数として、血色素量、ベータリポ蛋白、ざ瘡様皮疹(その他)、爪変形、喫煙有無、アミラーゼ、歯牙挺出感が選択された。血色素量が最も強い変数として選択された。血色素量は、全身倦怠感等を代表している。主成分と比較した場合に、血色素量のほうが強かったために、代表として使用した。

C.2　現在 PeCDF 濃度と代表症状との関係

独立変数として、血色素量、ベータリポ蛋白、ざ瘡様皮疹(その他)、主訴５（歯牙挺出感)、喫煙有無、爪変形、アミラーゼ、口蓋粘膜色素沈着が選択された。

Ｄ．考察

現在言われている PeCDF の半減期である６年から７年前後の半減期を用いて、当時の暴露量を減少させていくと現在の PeCDF 濃度よりもかなり大きな値を示す。また、ここ６年ほどの PeCDF の推移から半減期を求めても、半減期は大変長く、減少の程度が低くなり、暴露当時の濃度に近くなるようにはとてもではないが推計できない。半減期を求める数式に関して定式化されたものはなく、WHO が提唱した耐容１日摂取量(TDI)を求める数式がもっとも近い数式として考えられるが、一般人の平衡状態に近い範囲内での使用が想定されており、油症などのような一時的な大きな暴露量に対して半減期を求めると半減期が１０００年以上となり、このような一時的な大量の暴露に対して数式としては使用できない。今回は、推定暴露量と現在の血中濃度を前提に半減期を求めた。この半減期を用いて各患者での累積暴露量を推定した。

推定累積暴露量と現在の PeCDF 濃度を

比べると、ほぼ同じ変数が採用されているが、色素沈着は、現在の PeCDF 濃度の結果に現われている。累積暴露量の推定が、現在の PeCDF 濃度を起点としているため、共通項が多く現れたためと考えられる。この中で、色素沈着は現在濃度だけに変数として採用されている。これは、色素沈着が PeCDF 濃度に依存している可能性を示していると考えられる。

増田ら[3]は半減期の推移に関して検討を行っており、半減期は一定ではなく、摂取当初に多くが排泄され、現在の排泄速度はかなり低下している可能性を示している。増田らのしめしたように、半減期は一定ではなく、現在の PeCDF 濃度から過去に遡って行うことは難しい。各患者の状況を加味し、過去に遡って詳細に暴露量の推定が可能になれば慢性症状に関して詳細な分析が可能になるものと考えられる。

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) 増田義人、吉村健清、梶原淳睦：油症発生より 38 年間の患者血液中 PCBs、PCDFs の濃度変遷：福岡医誌 98（５）：182－195，200

表 1. 推定摂取量と現在 PeCDF 濃度

PCDFs推定総摂取量	TEQ	0.62	mg
脂肪内 PCDFs濃度 患者の脂肪量を 10kg と仮定	TEQ	62	ng/g
脂肪内 23478F 濃度 23478F は TEQ として 65%を占める	TEQ	40.3	ng/g
脂肪内 23478F 濃度 23478F の TEQ 値 0.5		80.6	ng/g
2001-3 年の対象認定患者の PeCDF 濃度(299 名)		212	pg/g
35 年間の濃度比		380	
半減期		4	年

表 2. 代表症状

No	症状項目
1	喫煙有無
2	43年以降既往歴有無
3	頭重頭痛
4	下痢
5	収縮期血圧
6	心音
7	呼吸音
8	最近の化膿傾向
9	かつての色素沈着
10	ざ瘡様皮疹(その他)
11	色素沈着(顔面)
12	色素沈着(指爪)
13	爪変形
14	眼瞼浮腫
15	主訴有無
16	主訴3(排膿)
17	主訴5(歯牙挺出感)
18	歯肉炎
19	辺縁性歯周炎
20	上歯肉性状4(線状)
21	上歯肉性状6(嶋嶼状)
22	下歯肉色素沈着
23	下歯肉性状4(線状)
24	下歯肉性状6(嶋嶼状)
25	右頬性状6(嶋嶼状)
26	左頬性状(びまん性)
27	左頬性状4(線状)
28	口蓋粘膜色素沈着
29	口蓋性状2(斑点状)
30	口唇性状2(斑点状)
31	上口唇性状3(帯状)
32	下口唇粘膜色素沈着
33	下口唇性状4(線状)
34	尿ｳﾛﾋﾞﾘﾉｰｹﾞﾝ
35	尿pH
36	赤血球数
37	血色素量
38	直接ﾋﾞﾘﾙﾋﾞﾝ
39	ｺﾚｽﾃﾛｰﾙ
40	ﾍﾞｰﾀﾘﾎﾟ蛋白
41	尿素窒素
42	ｸﾚｱﾁﾆﾝ
43	K
44	Ca
45	ｱﾐﾗｰｾﾞ

表３．推定摂取量から半減期 4.0 年で推定した累積暴露量と代表症状との関係

	非標準化係数		標準化係数		有意確率
	B	標準誤差	ﾍﾞｰﾀ	B	標準誤差
(定数)	4.4259	2.1583		2.0506	0.0413
P22_血色素量	−0.4442	0.1300	−0.2078	−3.4165	0.0007
P46_ﾍﾞｰﾀﾘﾎﾟ蛋白	0.0050	0.0017	0.1741	2.9960	0.0030
P18_ざ瘡様皮疹その他	2.6468	0.9034	0.1660	2.9299	0.0037
P26_爪変形	0.7612	0.2648	0.1624	2.8743	0.0044
P8喫煙有無	−0.7039	0.2509	−0.1658	−2.8054	0.0054
P54_ｱﾐﾗｰｾﾞ	−0.0098	0.0040	−0.1407	−2.4443	0.0152
P11主訴5_歯牙挺出感	6.9784	2.9937	0.1323	2.3310	0.0205

表４．現在 PeCDF 濃度と代表症状との関係

	非標準化係数		標準化係数		有意確率
	B	標準誤差	ﾍﾞｰﾀ	B	標準誤差
(定数)	252.2902	192.5229		1.3104	0.1912
P22_血色素量	−34.6687	10.9196	−0.1944	−3.1749	0.0017
P46_ﾍﾞｰﾀﾘﾎﾟ蛋白	0.3884	0.1415	0.1607	2.7441	0.0065
P18_ざ瘡様皮疹その他	221.6666	75.8620	0.1667	2.9220	0.0038
P11主訴5_歯牙挺出感	709.2585	251.3252	0.1612	2.8221	0.0051
P8喫煙有無	−58.7931	21.1532	−0.1660	−2.7794	0.0058
P26_爪変形	53.1162	22.2422	0.1359	2.3881	0.0177
P54_ｱﾐﾗｰｾﾞ	−0.6847	0.3368	−0.1177	−2.0329	0.0431
P89口蓋粘膜色素沈着	106.0908	53.2726	0.1139	1.9915	0.0475

分担研究報告書

油症に対する漢方療法

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　助教

研究要旨

油症患者に対して漢方薬が主症状（皮膚、呼吸器、神経、全身の各症状）に有効であるかを検討した。患者が重要視する症状から最大２症状を選び、にきび様皮疹・面皰に対しては荊芥連翹湯、咳・痰に対して麦門冬湯、しびれに対して牛車腎気丸、全身倦怠感に対して補中益気湯を処方した。症状重症度は VAS（Visual Analogue Scale, 視覚尺度)により、QOL（生活の質）は SF-36（NBS）により評価した。処方薬の前後の症状重症度と SF-36 の変化量を比較して有効性を検討した。患者２７名に投与し、補中益気湯、荊芥連翹湯、牛車腎気丸、麦門冬湯が、それぞれ、14、13、13、12 例処方された。その結果、麦門冬湯により呼吸器重症度が改善される可能性が示唆された。また、麦門冬湯は他の漢方薬に比べて QOL の一部をより改善する可能性がある。今後、有効性と安全性をさらに検討する。

A．研究目的

油症の主症状(皮膚症状､呼吸器症状、神経症状、全身症状）に有効であると考えられる漢方方剤を組み合わせて投与し、その有効性と安全性を検討した。現在までにデータが得られた症状の重症度、及び、QOL（生活の質）についての解析結果を報告する。

B．研究方法

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、Williams 法を応用した以下のデザインを採用した。患者が重要視する症状から最大２症状を選び、にきび様皮疹・面皰に対しては荊芥連翹湯（けいがいれんぎょうとう）、咳・痰に対して麦門冬湯（ばくもんとうとう）、しびれに対して牛車腎気丸（ごしゃじんきがん）、全身倦怠感に対して補中益気湯（ほちゅうえっきとう）を処方した。患者に１つの漢方方剤を６ヶ月間内服、次の６ヶ月は別の漢方方剤を処方した。各症状の推移、QOL 等を治療前、6 ヵ月後、1 年後に測定した。投薬の種類と順序は性・年齢（70 歳未満／以上）・居住地（福岡／長崎／広島）で層化し、最小化法により割り付けた。

【1】評価項目（エンドポイント）

1-1. 主要評価項目

VAS（Visual Analogue Scale, 視覚尺度)により評価した油症患者の下記合併症の重症度

１）末梢神経障害（しびれ、感覚低下、痛み）

２）皮膚症状（ざ瘡様皮疹、化膿傾向、色素沈着）

３）呼吸器症状（咳・痰）

４）全身倦怠感

1-2. 副次的評価項目

1) QOL（生活の質）を示すＳＦ-36 (NBS)

2) 一般臨床検査値など。

【2】患者選択基準

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】目標登録症例数と統計解析

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。本試験では最大 100 名を目標として被験者を募集した。統計解析は各評価項目で投与前の値を調整した共分散分析を統計パッケージソフトの Stata Ver. 10 を用いて行った[1)]。両側検定で $P < 0.05$ の時に統計学的に有意と判定した。

（倫理面への配慮）

【1】個人情報管理

臨床研究において一般に個人情報の保護は重要であるが、特に一部の油症患者では個人情報の漏洩が社会的な差別につながる恐れがある。本試験においては、統計解析に当たり匿名化情報のみをデータベース化し、統計処理した。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た。研究の発表にあたっては統計的に処理された結果のみを示し、個人の特定にあたる情報は公表しない。

【2】研究対象者に理解を求めた方法

説明会を実施し、参加に当たってはインフォームドコンセントを取得した。

【3】研究等によって生じ得る不利益への配慮

使用した漢方薬は既に一般人への安全性が審査され、市販されているものである。採血検査は通常の油症健診で行われる範囲内であるので、特別な危険が生じる可能性は極めて小さい。しかし、試験は注意深く慎重に行なった。不測の事態がおこれば、全国油症治療研究班の医師が対応する体制を取った。

C．結果

漢方薬を投与した患者は２７名であった。対象者の特性を表１に示す。男性が約 60%を占めた。平均年齢は 69 歳であった。表２に投与した漢方薬を投与１回目と２回目別に示した。合計して、補中益気湯、荊芥連翹湯、牛車腎気丸、麦門冬湯はそれぞれ、14 例、13 例、13 例、12 例処方された。図１に症状重症度 VAS を測定日に対してプロットした。

表３に症状重症度 VAS の投与前後の変化量を示した。呼吸器症状は麦門冬湯を処方した群が、その他の漢方薬を処方した群より症状重症度 VAS が低下した。その差は -8.87 (95%信頼区間: -16.54～-1.21) と、統計学的に有意であった ($P = 0.02$)。倦怠感重症度は補中益気湯を処方した群の方が低下したが、その差は統計学的に有意でなかった ($P = 0.35$)。皮膚症状、神経症状の変化はいずれも有意でなかった。

表４に各 SF-36 について漢方薬投与前後の変化量を処方薬別に示す。漢方薬

投与前後の変化量における処方薬間の違いは「活力」のみ統計学的に有意であった（P＜0.01)。各処方薬投与前後の差を、他の漢方薬を処方した群と比較したところ、麦門冬湯を投与した場合の変化量は、他の漢方薬を処方した場合に比べて統計学的に有意に高かった（P＜0.05)。一方、補中益気湯を処方した場合は、他の漢方薬処方時に比べ有意に低かった。他のSF-36 については処方前後の変化量は、処方した漢方薬間に統計学的に有意な差が見られなかった。

D．考察

本試験では参加者を増やす事が困難で、被験者数は少ない。また、患者の希望を尊重するため、1 試験で一人あたり 2 症状について効果を調べるデザインを取った。そのため、統計学的検出力が低く、結果の解釈も困難である。

このような制約があるものの、麦門冬湯により呼吸器重症度が改善される可能性が示唆された。また、麦門冬湯は他の漢方薬に比べて QOL の一部をより改善する可能性がある。一方、補中益気湯は他の漢方薬より QOL を下げる可能性がある点は注意すべきであろう。

本報告書では現在までに得られた主要エンドポイントと QOL の解析結果を報告した。今後、他の副次エンドポイント、及び、有害事象についても解析し、漢方薬の有効性と安全性について検討する。

E．参考文献

1） StataCorp. Stata Statistical Software: Release 10.0. College Station, Texas:Stata Press;2007.

表１．対象者の特性

	人数（%）
性	
男性	16 (59.3)
女性	11 (40.7)
居住地	
福岡	10 (37.0)
長崎	8 (29.6)
広島	9 (33.3)

平均（ＳＤ）	最小-最大
年齢	
69.4 (7.9)	51 - 86

表２．投与した漢方薬

		漢方薬（投薬２回目）					
		補中益気湯	荊芥蓮翹湯	牛車腎気丸	麦門冬湯湯	（中断）	合計
漢方薬	補中益気湯	0	1	3	0	1	5
（投与１回目）	荊芥蓮翹湯	4	0	1	3	0	8
	牛車腎気丸	4	0	0	3	1	8
	麦門冬湯	1	4	1	0	0	6
	合計	9	5	5	6	2	27

表 3．症状重症度 VAS の変化量

		症状重症度 VAS					
	対象症状に	処方薬投与群		処方薬投与群以外		対象薬投与群とそれ以外の差 ＊	
対象症状	処方した漢方薬	N	平均値¶ (SD)	N	平均値¶ (SD)	平均値 (95% 信頼区間)	P
倦怠感	補中益気湯	14	-8.43 (17.38)	38	-0.08 (18.89)	-5.07 (-15.97 ～ 5.82)	0.35
皮膚症状	荊芥蓮翹湯	13	3.54 (24.22)	39	-1.56 (9.07)	7.63 (-1.87 ～ 17.13)	0.11
神経症状	牛車腎気丸	13	0.85 (25.42)	39	-1.31 (21.02)	3.10 (-9.86 ～ 16.07)	0.63
呼吸器症状	麦門冬湯	11§	-10.91 (14.69)	40	-0.18 (9.40)	-8.87 (-16.54 ～ -1.21)	0.02

＊ 投与前 VAS 値で調整した投与後 VAS 値の群間差。共分散分析による解析のため平均値の単純な差と異なる。

¶ 投与前後の VAS 変化量の差（投与後－投与前）。§欠損値１例。

表４．SF-36 の変化

SF-36 (NBS)	処方した漢方薬	N	Mean (SD) ¶		P §
身体機能	補中益気湯	14	-8.93 (20.02)		0.07
	荊芥蓮翹湯	13	3.46 (14.63)		
	牛車腎気丸	13	4.62 (15.20)		
	麦門冬湯	12	2.18 (8.89)		
日常役割機能（身体）	補中益気湯	14	-2.23 (25.67)		0.52
	荊芥蓮翹湯	13	6.25 (20.73)		
	牛車腎気丸	13	-1.92 (19.83)		
	麦門冬湯	12	2.08 (16.06)		
身体の痛み	補中益気湯	14	-0.36 (20.12)		0.82
	荊芥蓮翹湯	13	0.92 (23.68)		
	牛車腎気丸	13	3.23 (22.32)		
	麦門冬湯	12	2.33 (18.50)		
全体的健康感	補中益気湯	14	-0.07 (17.78)		0.43
	荊芥蓮翹湯	13	-3.46 (9.53)		
	牛車腎気丸	13	0.31 (10.02)		
	麦門冬湯	12	3.17 (10.47)		
活力	補中益気湯	14	-9.38 (22.30)	＊	<0.01
	荊芥蓮翹湯	13	-2.88 (8.31)		
	牛車腎気丸	13	2.40 (9.73)		
	麦門冬湯	12	9.38 (11.46)	＊	
社会生活機能	補中益気湯	14	-5.36 (24.86)		0.26
	荊芥蓮翹湯	13	0.96 (14.84)		
	牛車腎気丸	13	1.92 (20.31)		
	麦門冬湯	12	10.42 (12.87)		
日常役割機能（精神）	補中益気湯	14	0.60 (33.88)		0.92
	荊芥蓮翹湯	13	0.00 (20.69)		
	牛車腎気丸	13	5.13 (20.28)		
	麦門冬湯	12	-0.69 (15.27)		
心の健康	補中益気湯	14	-3.57 (19.56)		0.36
	荊芥蓮翹湯	13	-3.08 (10.90)		
	牛車腎気丸	13	6.15 (16.85)		
	麦門冬湯	12	0.83 (9.96)		

¶ 投与前後の変化量（投与後－投与前）、§ SF-36 変化量の投与漢方薬間における違い（共分散分析）、＊P<0.05 （注目した漢方薬投与群とそれ以外の群との間における SF-36 の投与前後変化量の差。Bonferroni 法による多重比較。）

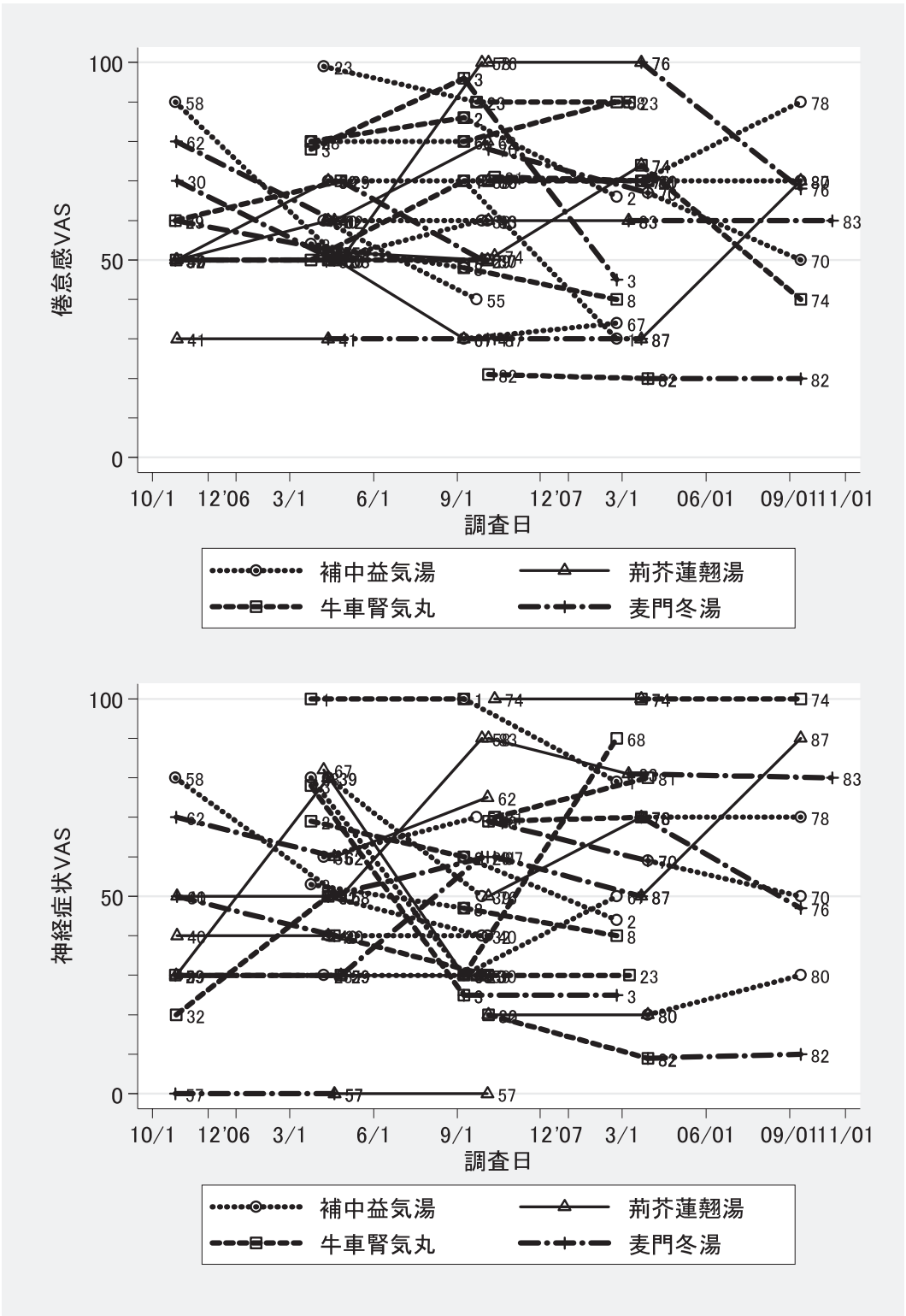


図１．症状重症度 VAS の変化（その１）
各プロット横の数字は対象者識別番号

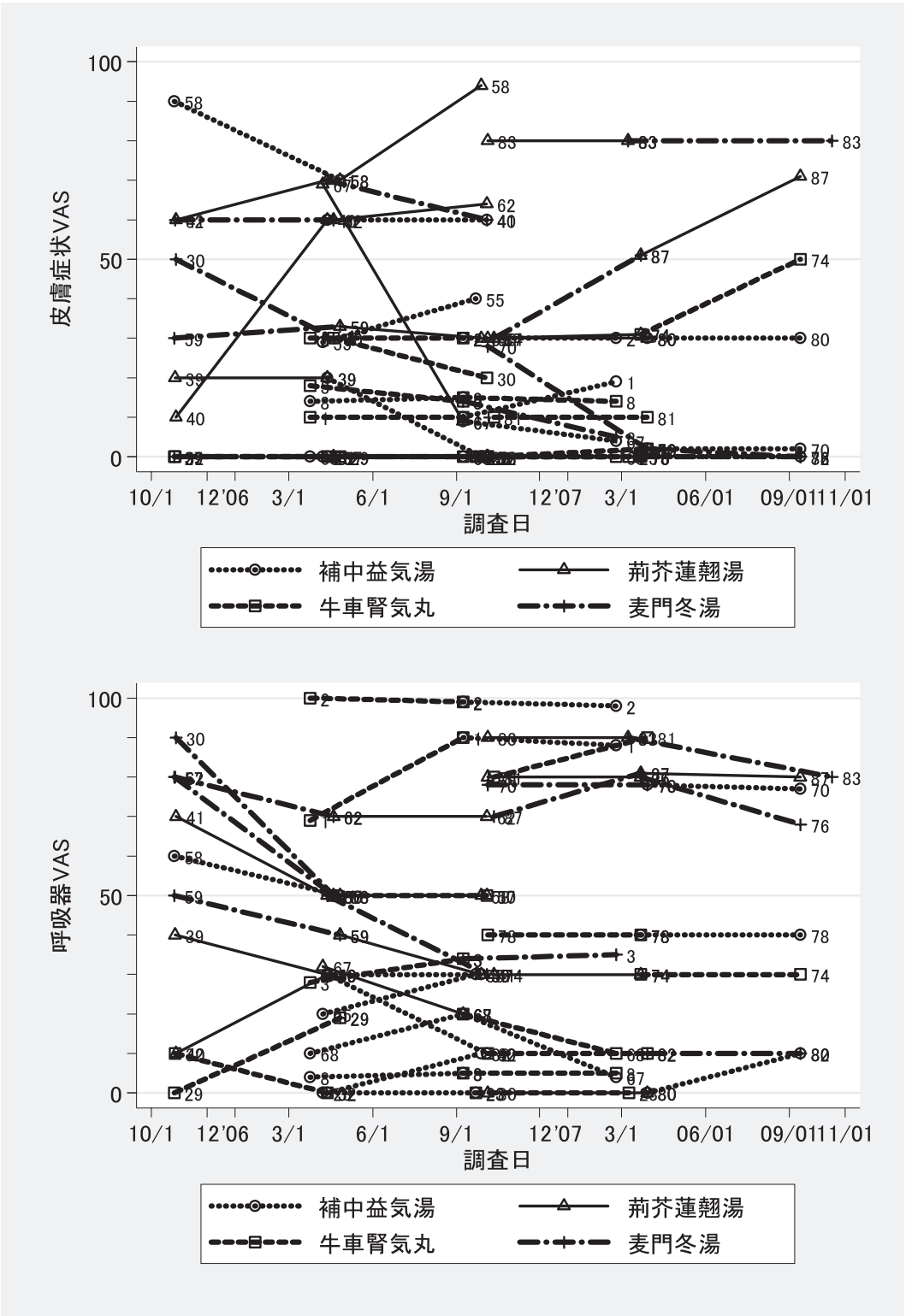


図１．症状重症度 VAS の変化（その２）
各プロット横の数字は対象者識別番号

分担報告書

油症の健康影響に関する疫学的研究

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　片　岡　恭一郎　福岡県保健環境研究所　情報管理課　課長
髙　尾　佳　子　福岡県保健環境研究所　情報管理課　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
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。2007 年度のデータベースには 1986 年度から 2006 年度検診までの検診受診者 1222 人が登録された。2005 年度の一斉検診受診者の所見を集計した結果、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、かつてのざ瘡様皮疹、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 18～26%認められた。血中 PCB 濃度は認定群の男の幾何平均値が 2.4ppb、女の幾何平均値が 2.1ppb だった。PCQ 濃度は認定群の男の幾何平均値が 0.12ppb、女が 0.15ppb だった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は男が幾何平均値で 43pg/g-fat に対して女は 124 pg/g-fat であった。PCB、ダイオキシン類濃度と臨床所見との関連性についての予備的な解析を行った。その結果、油症患者に高濃度に存在する 2,3,4,7,8-PeCDF においては、2002-2005 年時点での臨床症状とは正の関連性が認められなかったが、1975-1980 年当時のざ瘡様皮疹（外陰部）、色素沈着（趾爪）、眼瞼結膜色素沈着、眼板腺チーズ様分泌物との間に正の関連性が示唆された。

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に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) 2006 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) 2005 年度全国油症検診集計結果の報告、(3) PCB、ダイオキシン類濃度と臨床所見との関連性についての予備的な解析、
(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) 2006 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

今年度は 2006 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) 2005 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) PCB、ダイオキシン類濃度と臨床所見との関連性についての予備的な解析

2002-2005 年の 4 年連続でダイオキシン類の測定をした 66 人のうち、1975-1980 年の福岡県班の検診を受診した者 22 人を解析対象として、血液中 PCB、ダイオキシン類濃度（PCB、2,3,4,7,8-PeCDF 等 5 種類）と臨床症状（内科、皮膚科所見等 36 項目）との関連性について検討した。

解析対象者 22 人のダイオキシン類濃度の中央値で 2 群に分け、この 2 群の各臨床症状の有所見（＋以上）の頻度に差があるかどうかをフィッシャーの直接確率法により比較した。解析ソフトは SPSS15.0J を用いた。

(4) 油症データベースの機能追加検討

データの収集、活用の面から必要な機能を洗い出し、順次システム構築を行う。

また、2007 年度検診より追加された骨密度検査、アレルギー検査のデータ追加及び参照機能の追加構築中である。

油症データベースの登録者は、1986 年以降の検診受診者である。一斉検診の検診データを継続的に収集登録し、検診現場でのコミュニケーションを支援している。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、統一検診票以外のデータもデータベース化する必要が出てきたので、ここで扱う油症データベースについての考え方を以下に示す。

全国油症治療研究班全体では、主なデータソースとして 3 つのものが存在する。それは、

① 検診関係データ。
② 認定患者データ。
③ 研究のために各研究者が収集している個別データ。

である。ここで扱う油症データベースは①の検診関係データである。

それぞれのデータについての取扱については以下のように整理する。

① 検診関係データ

・全国油症一斉検診の検診現場において、全国油症治療研究班長が収集するデータについては、検診関係データとして管理する。
・情報収集者とともにデータ定義書（項目個別の意味等詳細をまとめたもの）を作成（更新）する。
・検診受診者別に参照可能な形でデータベース化する。
・データを利用したい研究者は全国油症治療研究班事務局を通して、データ利用依頼票を提出する。

② 認定患者データ

・①の情報とは別に管理者を定め、独立して管理する。

③ 研究のために各研究者が収集している個別データ

・①としては取り扱わないが、データの散逸を防ぐ為に、保管の依頼があれば保管を行う。
・保管を行う場合には、①のデータベースとは別に保管する。
・データを利用する場合に、誤った利用を防ぐために、データ説明票を添付して搬入してもらう。

・データを利用したい研究者は全国油症治療研究班事務局を通して、データ利用依頼票を提出する。

（倫理面への配慮）

この研究に用いる個人情報の保護については配慮している。すなわち、検診票類、電子媒体はキャビネットに保管し施錠するなど、個人情報が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) 2006 年度全国油症一斉検診データの確定化

表 1 に 2006 年度の追跡班・認定区分別の受診者数を示す。2006 年度の受診者は 432 人で前年度の 362 人に比べ 70 人増加した。その内訳は認定群は 57 人増加し、未認定群は 13 人増加した。

追跡班別では福岡県の受診者が最も多く 161 人（前年度+17 人）、次いで長崎県の 139 人（前年度+28 人）、広島県の 54 人（前年度+4 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 113 人と最も多く、認定群全体の 36.8%を占めた。次いで 60 歳代 77 人の 25.1%だった。未認定群では 50 歳代、60 歳代及び 70 歳代がそれぞれ 22 人であり、合わせると未認定群全体の 52.8%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（38 歳以下）で、検診を受診した者は認定群で 5 人、未認定群で 35 人だった。

2006 年度受診者 432 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。2006 年度の新規登録者は前年度の 47 人から 69 人に増加した。新規登録者の内訳は認定群が 19 人、未認定群が 50 人だった。追跡班別の内訳は関東以北 2 人、愛知県 9 人、広島、山口各 3 人、福岡県 24 人、長崎県 28 人だった。したがって、前年度検診までの登録者 1153 人に 2006 年度新規登録者 69 人を加えた 1222 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 2006 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 424 人についてデータを追加した。

2006 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) 2005 年度全国油症検診集計結果

図 1 に 1986 年から 2005 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、やや減少傾向にあったが、2005 年度は増加に転じた。

2005 年度の検診受診者は認定患者 247 人、未認定患者 115 人の計 362 人だった（表 4）。

年齢階級別では、認定群は 70 歳代が 93 人と最も多く、認定群受診者の 37.7%を占めた。未認定群は 60 歳代が 26 人と最も多く、未認定群受診者の 22.6%を占めた（図 2）。

図 3 から図 5 に 2005 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%を除くと約 10%～30%程度だった。他覚所見は女よりも男の方に有所見が多かった。

皮膚科所見では認定群のかつてのざ瘡様皮疹は男で 47%、女で 63%の訴えだったが、2005 年度の検診時において、ざ瘡様皮疹（顔面）がみとめられたのは 5%程度だった。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 4%だった。眼科所見では眼脂過多の訴えが男だは約 10%、女で約 20%あったが、ほかの所見は 5%以下だった。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 45%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 26%、女で約 18%認められた。

図 6 に 2005 年度検診受診者の血中 PCB、PCQ 濃度を示す。血中 PCB 濃度は、認定群の男の幾何平均値が 2.4ppb、女の幾何平均値が 2.1ppb だった。2004 年度の受診者の PCQ 濃度は幾何平均値で男は 0.12ppb、女は 0.15ppb だった。

図 7 は 2005 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 濃度は男の幾何平均値が 43pg/g-fat に対して女は 124 pg/g-fat であった。

(3) PCB、ダイオキシン類濃度と臨床所見との関連性についての予備的な解析

図 8 に 2002-2005 年のダイオキシン類濃度と 1975-1980 年当時の臨床症状、2002-2005 年の臨床症状との関連性の検定結果を示す（p 値はフィッシャーの直接法による片側有意確率）。油症患者に高濃度に存在する 2,3,4,7,8-PeCDF は 2002-2005 年時点での臨床症状とは正の関連性が認められなかったが、1975-1980 年当時のざ瘡様皮疹（外陰部）、色素沈着（趾爪）、眼瞼結膜色素沈着、眼板腺チーズ様分泌物との間に正の関連性（相対的に濃度の高い群に有所見の割合が多い）が示唆された。逆に自覚症状である頭痛・頭重とは 2002-2005 年において負の関連性が示唆された。2,3,4,7,8-PeCDF 以外のダイオキシン類濃度と臨床症状との間でも関連性が示唆されるものが認められた（1,2,3,7,8,9-HxCDF は化膿傾向、黒色面胞、瘢痕化との正の関連性が示唆された）。今後、連続測定者にこだわらず、対象者を拡大すること、解析するダイオキシン異性体の検討及び解析方法の検討を進める予定である。

(4) 油症データベースの機能追加の検討

今年度は福岡県、長崎県の検診において、骨密度検査、アレルギー検査が行われた。検診に付随して行われた検査であるため、データベースに参照画面を追加するための検討を行った。昨年度の婦人科及び尿中マーカー検査結果に続いての、検査項目の増加で、データベースの操作性の低下が懸念されるため、表示方法等の全体的な見直しを行った。次回検診時までに構築予定である。また、検診データベースの利用が進み、使用者から検索機能の充実や印刷機能、データエクスポート機能が求められていたため、機能追加の検討を行った。これについても次回検診時までに構築する予定である。

D．参考文献

高尾佳子，小野塚大介，片岡恭一郎，戸高尊，平川博仙，梶原淳睦，吉村健清；油症患者血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の 4 年間の傾向. 福岡医学雑誌. 98, 149-152, 2007.

表1　2006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		
	2006年度 a	前年度 b	差 a-b	2006年度 a	前年度 b	差 a-b	2006年度 a	前年度 b	差 a-b
千葉県	2	2	-	2	1	1	4	3	1
関東以北	6	5	1	5	3	2	11	8	3
愛知県	2	2	-	12	1	11	14	3	11
大阪府	16	15	1	2	4	-2	18	19	-1
島根県	2	1	1	-	-	-	2	1	1
広島県	43	39	4	11	11	-	54	50	4
山口県	10	6	4	3	3	-	13	9	4
高知県	10	9	1	2	1	1	12	10	2
福岡県	119	93	26	42	51	-9	161	144	17
長崎県	93	74	19	46	37	9	139	111	28
鹿児島県	4	4	-	-	-	-	4	4	-
総数	307	250	57	125	112	13	432	362	70

表2　2006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	4	3.2	4	0.9
10～19歳	-	0.0	7	5.6	7	1.6
20～29歳	-	0.0	9	7.2	9	2.1
30～39歳	5	1.6	16	12.8	21	4.9
40～49歳	30	9.8	19	15.2	49	11.3
50～59歳	46	15.0	22	17.6	68	15.7
60～69歳	77	25.1	22	17.6	99	22.9
70～79歳	113	36.8	22	17.6	135	31.3
80～89歳	33	10.7	4	3.2	37	8.6
90～99歳	3	1.0	-	0.0	3	0.7
総数	307	100.0	125	100.0	432	100.0

表3　2006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	
	2006年度	前年度	2006年度	前年度	2006年度	前年度
千葉県	2	2	2	1	4	3
関東以北	6	5	5	3	11	8
愛知県	2	2	12	1	14	3
大阪府	16	15	2	4	18	19
島根県	2	1	-	-	2	1
広島県	39	32	11	11	50	43
山口県	10	6	3	3	13	9
高知県	10	9	2	1	12	10
福岡県	119	93	42	51	161	144
長崎県	92	73	45	36	137	109
鹿児島県	2	2	-	-	2	2
総数	300	240	124	111	424	351

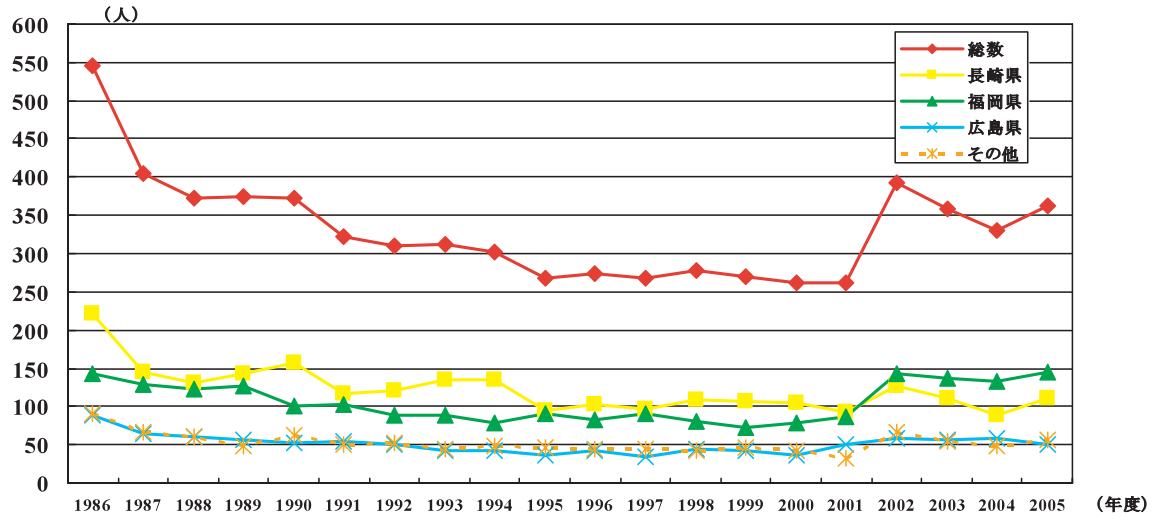


図１　油症検診受診者の年次推移

表４　2005 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	114	133	247
			46.2%	53.8%	100.0%
	未認定	度数	44	71	115
			38.3%	61.7%	100.0%
合計		度数	158	204	362
			43.6%	56.4%	100.0%

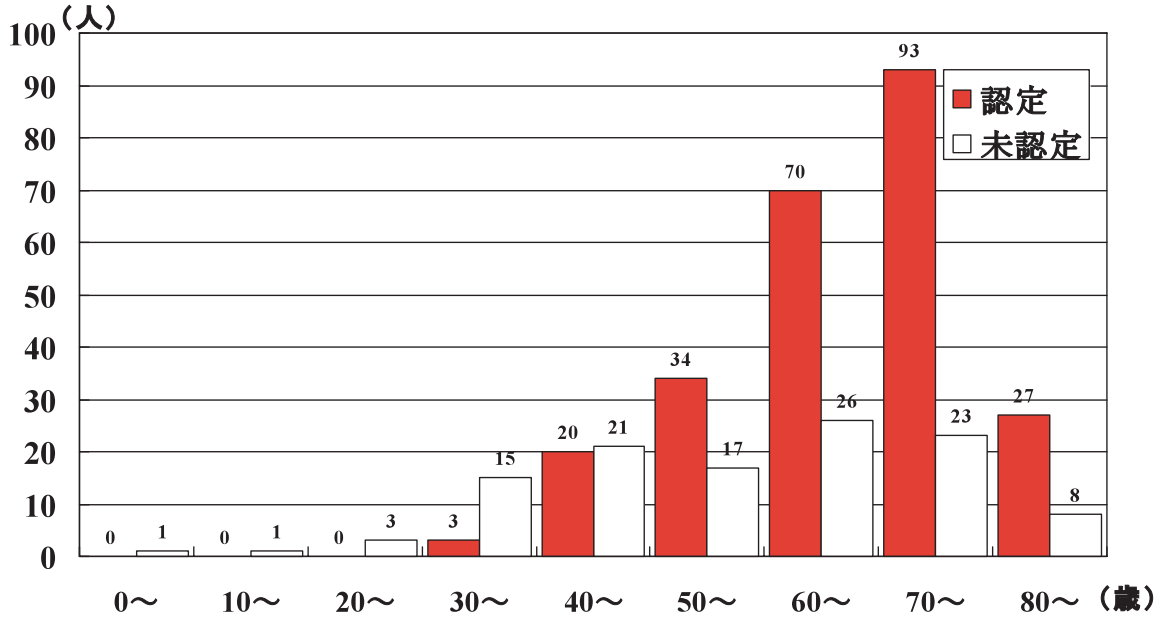


図 2　2005 年度 油症検診受診者（認定区分、年齢階級別）

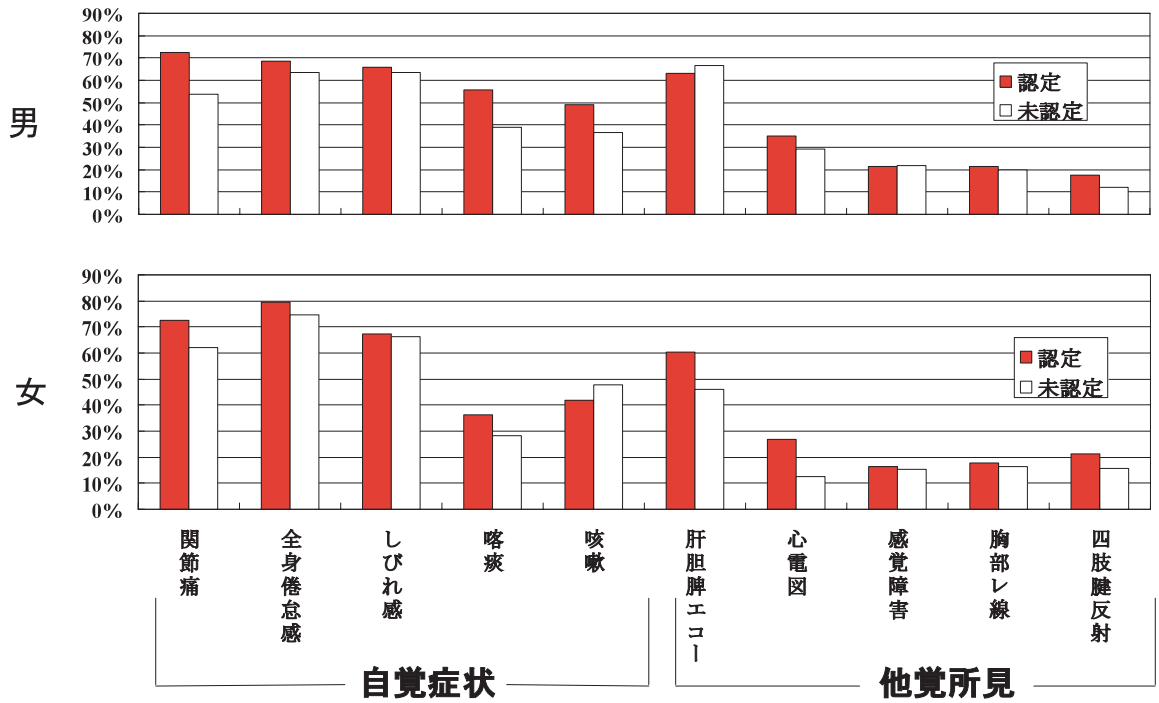


図 3　2005 年度検診受診者の有所見率*＜内科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

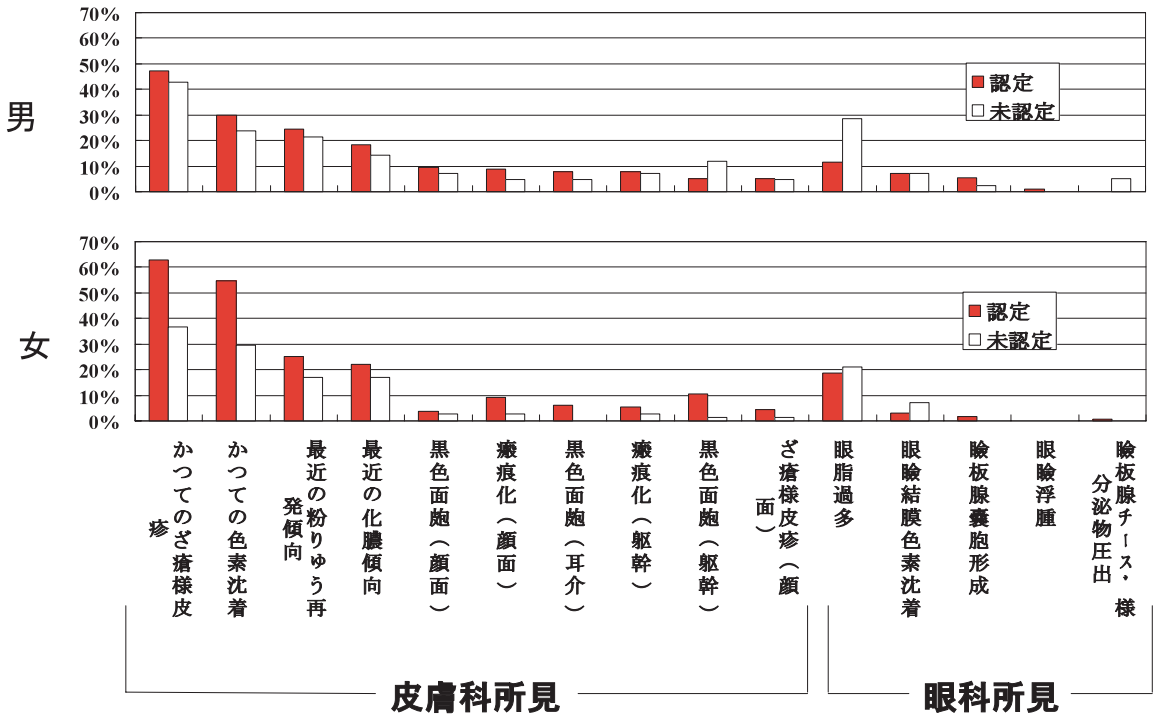


図 4　2005 年度検診受診者の有所見率*＜皮膚科・眼科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

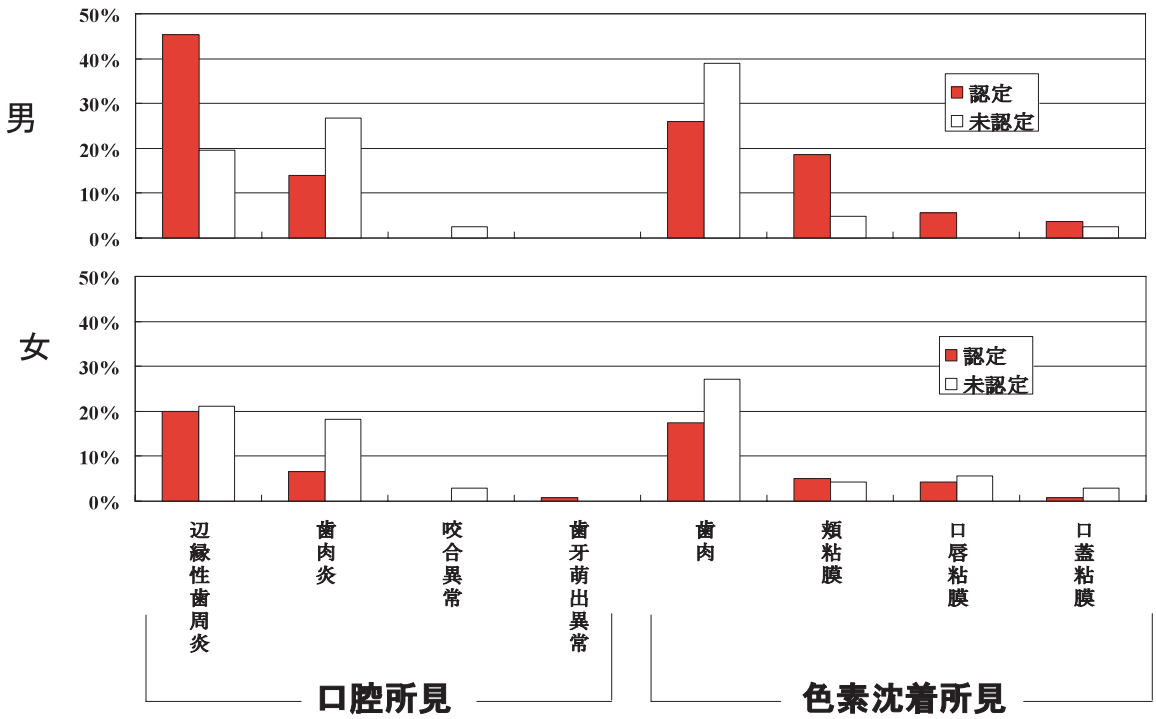
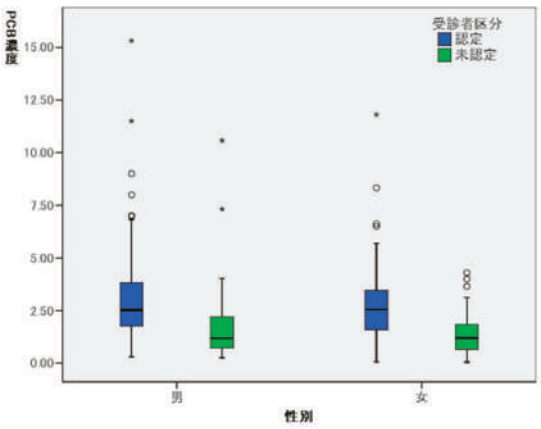
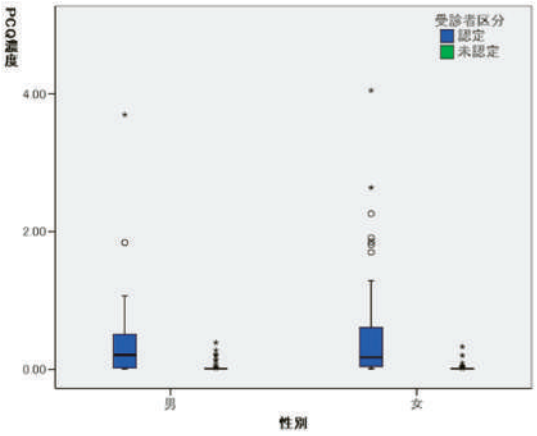


図 5　2005 年度検診受診者の有所見率*＜歯科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合





PCB濃度

性別	受診者区分	度数	平均値	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	111	3.04	2.22	2.53	2.43	.30	15.32
	未認定	41	1.88	1.94	1.18	1.32	.26	10.57
	合計	152	2.73	2.20	2.07	2.06	.26	15.32
女	認定	122	2.66	1.64	2.55	2.16	.06	11.80
	未認定	62	1.41	1.01	1.19	1.04	.05	4.30
	合計	184	2.24	1.57	1.94	1.69	.05	11.80
合計	認定	233	2.84	1.94	2.53	2.29	.06	15.32
	未認定	103	1.60	1.46	1.18	1.14	.05	10.57
	合計	336	2.46	1.90	2.00	1.85	.05	15.32

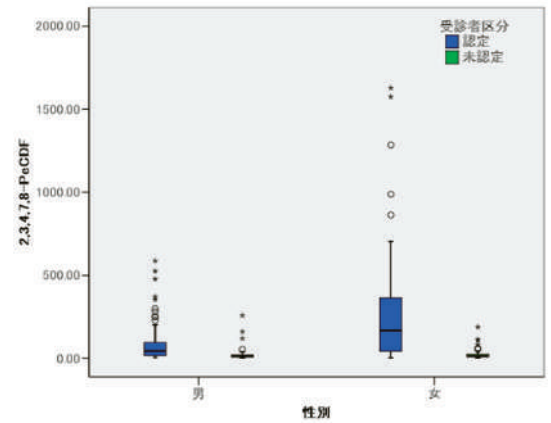
(ppb)

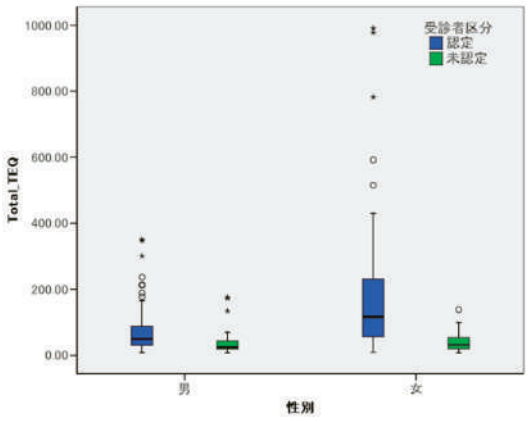
PCQ濃度

性別	受診者区分	度数	平均値	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	45	.40	.63	.21	.12	.01	3.70
	未認定	42	.04	.08	.01	.02	.01	.39
	合計	87	.23	.49	.02	.05	.01	3.70
女	認定	68	.50	.74	.18	.15	.01	4.05
	未認定	71	.02	.05	.01	.01	.01	.33
	合計	139	.25	.57	.01	.04	.01	4.05
合計	認定	113	.46	.70	.19	.14	.01	4.05
	未認定	113	.03	.06	.01	.01	.01	.39
	合計	226	.24	.54	.01	.04	.01	4.05

(ppb)

図 6　2005 年度検診受診者の血中 PCB,PCQ濃度





2,3,4,7,8-PeCDF

性別	受診者区分	度数	平均値	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	107	81.96	108.06	44.95	42.84	4.72	587.02
	未認定	44	26.46	45.96	13.20	14.88	2.78	259.51
	合計	151	65.79	97.45	27.47	31.48	2.78	587.02
女	認定	130	250.92	284.53	168.55	123.86	3.17	1628.54
	未認定	70	23.58	29.24	14.18	15.57	2.23	189.30
	合計	200	171.35	254.15	49.18	59.94	2.23	1628.54
合計	認定	237	174.64	237.90	83.20	76.69	3.17	1628.54
	未認定	114	24.69	36.44	14.09	15.30	2.23	259.51
	合計	351	125.94	208.65	36.61	45.44	2.23	1628.54

(pg/g lipid)

Total_TEQ

性別	受診者区分	度数	平均値	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	107	70.00	64.58	49.40	50.97	8.66	351.14
	未認定	44	38.17	37.61	24.58	28.32	7.41	175.72
	合計	151	60.72	59.69	44.80	42.95	7.41	351.14
女	認定	130	168.54	168.29	116.44	110.64	9.26	991.19
	未認定	70	37.98	23.93	31.81	31.43	7.38	138.33
	合計	200	122.84	149.85	64.34	71.23	7.38	991.19
合計	認定	237	124.05	140.60	69.74	77.98	8.66	991.19
	未認定	114	38.05	29.80	30.07	30.19	7.38	175.72
	合計	351	96.12	123.46	53.47	57.30	7.38	991.19

(pg-TEQ/g lipid)

図 7　2005 年度検診受診者の血中ダイオキシン類濃度

番号	解析に用いた臨床症状の種類		2,3,4,7,8-PeCDF		1,2,3,4,7,8-HxCDD		1,2,3,7,8,9-HxCDF		3,3',4,4',5-PeCB		PCB	
			1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年
1	内科	全身倦怠感								p=0.032 ↑		
2		頭痛・頭重	p=0.091 ↓	p=0.032 ↓								p=0.032 ↓
3		咳漱										
4		喀痰										
5		腹痛										
6		末梢神経症状				p=0.043 ↑				p=0.006 ↑		
7		関節部異常				p=0.099 ↑						
8		月経異常	p=0.063 ↑									
9		栄養										
10		心音										
11		呼吸音										
12		肝腫										
13		脾腫										
14		浮腫										
15		リンパ節肥大										

番号	解析に用いた臨床症状の種類		2,3,4,7,8-PeCDF		1,2,3,4,7,8-HxCDD		1,2,3,7,8,9-HxCDF		3,3',4,4',5-PeCB		PCB	
			1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年
16	皮膚科	化膿傾向					p=0.048 ↑		p=0.091 ↑			
17		黒色面胞					p=0.029 ↑		p=0.045 ↑	p=0.018 ↑		
18		ざ瘡様皮疹(顔面)										
19		ざ瘡様皮疹(外陰部)	p=0.045 ↑								p=0.045 ↑	
20		ざ瘡様皮疹(臀部)										
21		ざ瘡様皮疹(躯幹)										
22		瘢痕化					p=0.043 ↑				p=0.074 ↑	
23		色素沈着(顔面)					p=0.078 ↑					
24		色素沈着(指爪)										
25		色素沈着(趾爪)	p=0.032 ↑		p=0.059 ↓						p=0.002 ↑	
26		爪変形										

番号	解析に用いた臨床症状の種類		2,3,4,7,8-PeCDF		1,2,3,4,7,8-HxCDD		1,2,3,7,8,9-HxCDF		3,3',4,4',5-PeCB		PCB	
			1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年	1975-1980年	2002-2005年
27	眼科	眼脂過多				p=0.078 ↑						
28		眼瞼浮腫										
29		眼瞼結膜色素沈着	p=0.004 ↑		p=0.082 ↓						p=0.004 ↑	
30		眼板腺のう胞形成										
31		眼板腺チーズ様分泌物	p=0.040 ↑								P=0.040 ↑	
32	歯科	歯牙異常										
33		上歯肉色素沈着										p=0.068 ↓
34		下歯肉色素沈着										p=0.018 ↓
35		頬粘膜色沈										
36		口唇粘膜色沈	p=0.074 ↓									

図８　PCB、ダイオキシン類濃度と臨床症状との関連性

↑：有意な正の関連性、↓：有意な負の関連性

分担研究報告書

油症認定患者血液中の 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　研究員
	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　主任技師
	高尾佳子	福岡県保健環境研究所	情報管理課　主任技師
	新谷依子	福岡県保健環境研究所	生活化学課　技師
	戸高　尊	九州大学医学部	学術研究員
	飯田隆雄	（財）北九州生活科学センター	理事長

研究要旨

油症患者診定および治療の基礎資料作成のため、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(2002 年)－平成 18 年度（2006 年）：総数 1806 件）の血中ダイオキシン類濃度を明らかにした。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 122.2～136.4 pg/g lipid であった。対照群として 2004 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、受診油症認定患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。2001 年から 2006 年までの 6 年間の検査希望者中の油症認定患者の検体総数は 1405 件であるが、受診油症認定患者の実数は 468 名で、全油症認定患者（1912 名）の約 24%であった。内訳は男性 211 名、女性 257 名、平均年齢は 66.2 歳、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 160pg/g lipid であった。さらに受診油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布を解析した。

A．研究目的

油症は昭和 43 年（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。このうち昭和 59 年（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、平成 16 年（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、2006 年度には過去最多の 425 名(内認定患者 300 名) が血中ダイオキシン検査を希望した。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[1),2)]を用いて油症一斉検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、各年の受診油症認定患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、2001 年から 2006 年までの 6 年間の油症認定患者の検査総数 1405 件を解析し、油症患者の血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度分布の解析を試みた。

さらに、油症認定患者の漢方薬治療の血中ダイオキシン類濃度の関係解明の基礎資料を得るため、治験参加者 (53 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 年度(2001 年)に当所で開発した超高感度分析法[1),2)]で行った。油症検診に対応できる分析体制を構築するため、抽出、精製、及び検出測定の分析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 2001 年度に福岡県の油症一斉検診受診者のうち血中ダイオキシン類検査の希望者 81 名(油症認定患者 78 名)、2002 年度からは全国の油症一斉検診受診者を対象に 2002 年度 371 名(279 名)、2003 年度 343 名(269 名)、2004 年度 316 名(242 名)、2005 年度 351 名(237 名)、2006 年度 425 名(300 名)、合計延べ 1887 名 (1405 名) の血中ダイオキシン類検査希望者から採取した。

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 19 年度 (2007 年) 調査 (約 240 件) については現在、分析中である。

（３）油症認定患者血中ダイオキシン類濃度の解析

2001 年度から 2006 年度までの 6 年間に血中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者の検体総数は 1405 名分であるが複数回受診した油症認定患者が存在するため実数は 468 名であった。これら血中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の血中ダイオキシン類濃度を性別、年齢群別に集計し解析した。男女の内訳は男性 211 名、女性 257 名であった。患者の年齢は 2006 年時点での年齢を用い分類した。血液中ダイオキシン類濃度は、経年変化を解析したところ 4 年程度の短期間ではほとんど変化しなかった[3)]ので、1 度しか分析していない場合はその濃度を、複数回測定している場合は平均濃度をその油症認定患者の血中ダイオキシン濃度として解

析した。

（４）漢方薬による治療試験の血中ダイオキシン類濃度の分析

2006 年度は漢方薬による治療試験の基礎資料を得るため、油症認定患者 18 名について治験中６ヶ月ごとに 3 回延べ 53 件(1 名は 2 回目の採血で脱落)の血中ダイオキシン類調査を実施した。

(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

2006 年度の油症ダイオキシン類検査では 20 ロットの分析を行い、そのつどブランク試験を行った。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[4]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 2001 年度から 2006 年度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各年度の分析結果[5),6),7),8)]を示す。また、2004 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。2001 年度は福岡県のみのデータであるので、2002-2006 年度のデータで比較すると受診認定者の平均 Total TEQ は 136.4, 125.0, 126.1, 124.2, 122.2 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、受診油症認定患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すると受診油症認定患者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 、 1,2,3,6,7,8-HxCDF の 3 つの PCDF 同族体が特に高い値を示した。

（２）油症一斉検診受診者の血中ダイオキシン類濃度の解析

2001 年度から 2006 年度までの 6 年間に血中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者 468 名の平均年齢は 66.2 歳（28-94 歳）であり、39 歳以下、40 歳代、50 歳代、60 歳代、70 歳代、80 歳以上の各年齢群の構成比もほぼ同様であった。男女別各年齢群の 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値、標準偏差、レンジ、中央値を表 3 に示した。男女とも高年齢の方が濃度が高く

なる傾向を示し、女性の方が男性より各年齢群で高い濃度を示した。

6年間に血中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者 468 名の受診地域別の内訳は福岡 182 名、長崎 148 名、広島 65 名、高知 11 名、その他の地域 62 名であった。

2001 年から 2006 年までの 6 年間に血中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者 468 名は全油症認定患者（1912 名）の約 24%であり、2006 年までに追跡調査で生存が確認された油症認定患者 1374 名の約 34%に相当する。従って油症認定患者の約 3 割の血中ダイオキシン濃度を明らかにしたことになる。2007 年の「カネミ油症事件関係仮払金返還債権の免除についての特例に関する法律」制定以来、油症に対する関心が高まり、これまで検診に参加しなかった油症認定患者が検診に参加することが期待できる。今後も、未受診者の検診を進め、油症患者全体のダイオキシン類汚染の実態を明らかにする必要がある。

（3）漢方薬による治療試験の血中ダイオキシン類濃度の分析

漢方薬による治療試験の基礎資料を得るため、油症認定患者 18 名について治験中6ヶ月ごとに 3 回採血を行い、延べ 53 件(1名は2回目の採血で脱落)の血中ダイオキシン類調査を実施した。漢方薬等の治療効果と血中ダイオキシン類濃度との関係について解析が進められており、今後の成果が期待される。

D．まとめ

血液5ｇからダイオキシン類を迅速かつ正確に測定できる分析方法を確立した[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油症未認定者の診断にも対応するものであり、2004 年から2006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、2002 年度から 2006 年度の油症一斉検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、受診油症認定患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。2001 年から 2006 年までの 6 年間に血中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者の検体総数は 1405 名分であるが複数回受診した油症認定患者が存在するため実数は468名であった。これら血中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の血中ダイオキシン類濃度を性別、年齢群別に集計し解析した結果、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は160pg/g lipid であり、男女とも高年齢の方が濃度が高くなる傾向を示し、女性の方が男性より各年齢群で高い濃度を示した。これまでの分析の結果、油症認定患者の約3割の血中ダイオキシン濃度を明らかにしたことになる。今後も、未受診者の検診を進め、油症患者全体のダイオキシン類汚染の実態を明らかにする必要がある。

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. J.Kajiwara, T.Todaka, H.Hirakawa,H.Hori, S.Inoue, K.Tobiishi, R.Nakagawa, D.Onozuka, Y.Takao, T.Yoshimura, and M.Furue: TIME TREND OF CONCENTRATIONS OF DIOXIN LIKE PCBs, PCDFs, AND PCDDs IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS. 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants. September 3-7, 2007, Tokyo Japan
4. 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
5. 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.
6. 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
7. 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
8. 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	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Mean	SD	Min.	Max.	CV
脂肪含量	0.288	0.292	0.266	0.278	0.285	0.288	0.282	0.288	0.276	0.295	0.299	0.263	0.296	0.278	0.275	0.289	0.280	0.270	0.304	0.281	0.284	0.011	0.263	0.304	3.8%
2,3,7,8−TCDD	2.0	2.1	2.1	1.9	1.6	1.6	1.9	2.3	2.3	1.8	1.8	2.0	1.5	1.6	1.9	2.1	1.3	1.8	2.1	1.3	1.8	0.30	1.3	2.3	16.2%
1,2,3,7,8−PeCDD	8.2	9.0	7.3	7.8	7.6	8.0	8.5	8.2	8.3	8.9	6.3	7.0	7.6	7.9	7.7	7.1	8.4	7.0	8.2	8.1	7.9	0.68	6.3	9.0	8.6%
1,2,3,4,7,8−HxCDD	8.0	7.2	9.0	8.1	7.6	9.1	8.2	8.2	8.3	8.5	8.2	8.3	8.9	8.9	9.7	8.5	9.7	8.8	9.3	7.0	8.5	0.73	7.0	9.7	8.6%
1,2,3,6,7,8−HxCDD	57.6	57.1	63.6	52.0	55.3	61.1	58.5	55.3	58.1	55.7	56.5	52.5	56.8	59.9	57.1	55.0	59.8	57.6	54.4	55.2	57.0	2.79	52.0	63.6	4.9%
1,2,3,7,8,9−HxCDD	10.3	10.6	10.2	9.7	9.8	11.4	10.4	14.0	12.4	11.2	10.8	11.9	12.3	11.6	12.2	11.1	13.8	11.2	11.0	11.0	11.3	1.16	9.7	14.0	10.2%
1,2,3,4,6,7,8−HpCDD	136.3	129.2	126.5	139.0	128.3	151.6	139.3	160.9	158.5	147.4	146.1	148.8	144.2	156.1	153.9	154.4	190.5	200.5	172.5	154.1	151.9	18.99	126.5	200.5	12.5%
OCDD	1606.6	1572.0	1574.9	1742.0	1740.0	2027.6	1685.2	1856.5	1560.7	1821.9	1708.7	1798.3	1654.2	1754.7	1780.2	1651.7	1807.6	1760.6	1618.0	1556.6	1713.9	119.80	1556.6	2027.6	7.0%
2,3,7,8−TCDF	ND	ND	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	1.1	ND	ND	1.4	ND	0.6	0.28	ND	1.4	44.4%
1,2,3,7,8−PeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	ND	1.1	ND	ND	ND	1.2	ND	ND	ND	1.3	1.0	ND	0.7	0.29	ND	1.3	43.7%
2,3,4,7,8−PeCDF	5.9	5.5	5.6	5.9	5.5	6.4	4.6	5.7	6.1	4.7	5.8	7.0	5.3	5.7	5.5	5.6	6.0	5.6	5.5	5.7	5.7	0.53	4.6	7.0	9.3%
1,2,3,4,7,8−HxCDF	7.4	7.2	8.1	7.1	6.9	8.3	7.6	7.1	7.7	7.0	7.4	8.1	7.5	7.6	8.0	6.4	7.6	7.1	7.3	7.0	7.4	0.47	6.4	8.3	6.3%
1,2,3,6,7,8−HxCDF	5.9	7.6	7.6	7.1	7.1	7.0	7.6	7.5	7.7	7.3	7.5	7.7	7.7	7.1	7.4	6.5	7.6	6.3	7.0	7.5	7.2	0.50	5.9	7.7	6.9%
2,3,4,6,7,8−HxCDF	ND	ND	2.0	ND	ND	2.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	0.32	ND	2.0	28.6%
1,2,3,7,8,9−HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND					
1,2,3,4,6,7,8−HpCDF	16.6	16.5	17.0	18.2	15.5	18.6	16.8	18.7	17.3	17.5	17.0	18.7	16.4	16.0	17.1	15.9	15.1	15.5	15.1	15.9	16.8	1.14	15.1	18.7	6.8%
1,2,3,4,7,8,9−HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND					
OCDF	ND	ND	ND	4.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.4	ND	ND	2.2	0.71	ND	4.4	31.7%
344'5−TCB(#81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND					
33'4'4'−TCB(#77)	41.7	41.1	40.7	43.2	41.0	ND	42.0	41.4	43.8	41.8	41.6	49.0	44.2	42.6	43.4	54.2	44.4	44.3	39.4	42.6	41.4	9.16	ND	54.2	22.1%
33'44'5−PenCB(#126)	20.3	23.0	19.5	23.4	23.1	24.2	21.2	20.5	23.5	22.6	23.7	23.3	23.8	21.7	24.4	21.4	22.9	23.5	21.3	24.4	22.6	1.46	19.5	24.4	6.5%
33'44'55'−HxCB(169)	16.8	17.6	19.6	20.7	22.0	22.5	21.8	20.0	21.8	20.2	20.5	22.5	20.4	20.3	20.9	18.2	19.0	18.6	16.0	19.9	20.0	1.82	16.0	22.5	9.1%
Total PCDD	1829.0	1787.0	1793.6	1960.5	1950.2	2270.3	1912.0	2105.3	1808.5	2055.5	1938.5	2028.8	1885.5	2000.6	2022.8	1889.8	2091.1	2047.6	1875.5	1793.3	1952.3	127.01	1787.0	2270.3	6.5%
Total PCDF	41.7	42.8	46.0	46.5	41.0	47.4	42.5	45.6	44.7	43.1	43.7	47.6	42.9	43.1	44.6	41.0	42.3	43.7	42.2	42.0	43.7	2.00	41.0	47.6	4.6%
Total Non−ortho PCBs	83.8	86.7	84.8	92.3	91.0	56.7	89.9	86.9	94.1	89.5	90.7	99.8	93.4	89.6	93.7	98.9	91.3	91.4	81.7	91.9	88.9	8.80	56.7	99.8	9.9%
Total	1954.5	1916.5	1924.4	2099.3	2082.2	2374.4	2044.5	2237.8	1947.3	2188.2	2072.9	2176.1	2021.9	2133.2	2161.1	2029.7	2224.7	2182.6	1999.5	1927.3	2084.9	124.51	1916.5	2374.4	6.0%
◆【WHO−98】◆																									
T PCDDs−98TEQ	19.3	20.0	19.1	18.2	17.9	19.5	19.7	20.1	20.2	20.0	17.3	17.9	18.5	19.2	19.3	18.4	20.1	18.7	19.6	18.4	19.1	0.85	17.3	20.2	4.5%
T PCDFs−98TEQ	4.7	4.7	5.0	4.9	4.6	5.3	4.3	4.8	5.0	4.3	4.8	5.6	4.6	4.8	4.8	4.6	5.0	4.6	4.7	4.8	4.8	0.30	4.3	5.6	6.4%
T Non−ortho PCBs−98TEQ	2.2	2.5	2.1	2.6	2.5	2.6	2.3	2.3	2.6	2.5	2.6	2.6	2.6	2.4	2.7	2.3	2.5	2.5	2.3	2.6	2.5	0.15	2.1	2.7	6.3%
Total 98TEQ	26.3	27.1	26.3	25.6	25.0	27.4	26.3	27.1	27.8	26.7	24.8	26.0	25.7	26.4	26.7	25.3	27.6	25.9	26.6	25.8	26.3	0.84	24.8	27.8	3.2%
◆【WHO-05】◆																									
T PCDDs-05TEQ	19.7	20.3	19.5	18.5	18.3	19.9	20.0	20.4	20.5	20.3	17.7	18.3	18.8	19.6	19.6	18.7	20.5	19.1	19.9	18.7	19.4	0.85	17.7	20.5	4.4%
T PCDFs-05TEQ	3.5	3.6	3.9	3.7	3.5	4.0	3.3	3.6	3.8	3.3	3.7	4.2	3.5	3.6	3.7	3.5	3.7	3.5	3.6	3.6	3.6	0.21	3.3	4.2	5.7%
T Non-ortho PCBs-05TEQ	2.5	2.8	2.5	3.0	3.0	3.1	2.8	2.7	3.0	2.9	3.0	3.0	3.0	2.8	3.1	2.7	2.9	2.9	2.6	3.1	2.9	0.18	2.5	3.1	6.1%
Total I-05TEQ	25.7	26.7	25.9	25.2	24.7	27.0	26.1	26.7	27.3	26.5	24.3	25.5	25.4	26.0	26.4	24.9	27.1	25.5	26.2	25.4	25.9	0.83	24.3	27.3	3.2%

(pg/g lipid)

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: octachlorodibenzofurans; 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　油症認定患者血中のPCDDs, PCDFs 及びノンオルソコプラナーPCB濃度（2001-2006）

	Concentration (pg/g lipid)																				
	Yusho patients																		Normal controls		
	2001 (n = 78)			2002 (n = 279)			2003 (n = 269)			2004 (n = 242)			2005 (n =237)			2006 (n =300)			2004 (n = 127)		
Congeners	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.1	ND-4.1	1.7	0.8	ND-4.4	1.7	0.8	ND-5.6	1.4	0.8	ND-4.4	1.6	1.4	ND-17	1.8	1.0	ND-6.7	1.9	0.8	ND-4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	20	11.0	3.3-54	11	5.9	1.5-47	9.7	5.4	ND-45	9.7	5.6	ND-39	10.4	6.0	ND-43	11	6.0	ND-43	9.0	3.4	3.2-20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.4	1.8	ND-7.7	2.9	1.8	ND-11	2.6	1.6	ND-8.5	2.6	1.6	ND-8.5	3.0	1.9	ND-10	3.3	1.9	ND-12	3.6	1.9	ND-13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	57	43.4	4.4-230	53	41.7	6.0-290	50	42.6	3.8-350	49	41.5	4.8-260	50.8	40.8	4.0-270	50	41.5	3.9-310	28	11.0	7.3-70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	2.3	ND-11	5.1	3.8	ND-41	3.9	2.7	ND-18	4.3	3.1	ND-23	4.8	3.2	ND-24	5.2	3.3	ND-24	4.5	2.8	ND-16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	27	20.7	5.4-140	63	53.7	11-560	39	22.9	8.5-170	50	25.9	14-200	46.8	30.2	8.1-320	52	29.9	13-290	78	55.4	18-470
OCDD	670	750.5	140-6200	880	728.2	170-9200	760	438.9	150-3700	720	370.3	180-2300	797.4	636.9	230-7900	840	467.6	230-4000	1200	938.3	180-7600
Total PCDD	780	766	180-6400	1000	782	210-9800	870	470	180-3900	830	407	210-2500	914.8	673.1	290-8300	960	506.2	270-4200	1300	1003	210-8200
2,3,7,8-TCDF	1.8	2.5	ND-14	1.4	0.9	ND-6.3	1.2	0.7	ND-4.9	1.8	1.6	ND-9.7	3.0	3.8	ND-25	2.2	1.9	ND-13	1.0	0.7	ND-4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	0.9	ND-4.2	0.9	0.8	ND-6.3	0.8	0.7	ND-5.6	0.9	0.8	ND-5.4	1.3	1.7	ND-13	1.2	1.2	ND-9.6	0.7	0.5	ND-4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	260	315.3	6.7-1800	190	252.1	3.1-1900	180	240.2	2.6-2000	180	241.7	2.9-1600	175.1	240.1	3.2-1700	169	226.6	3.3-1800	17	7.7	6.0-63
1,2,3,4,7,8-HxCDF	83	117.2	2.0-630	59	99.6	ND-770	52	87.2	ND-740	50	83.8	ND-600	48.1	86.2	ND-700	45	77.0	ND-580	5.0	2.7	ND-20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	30	34.4	ND-180	22	29.1	ND-210	20	27.0	ND-230	19	24.5	ND-180	18.3	26.1	ND-250	18	22.7	ND-180	5.7	2.6	ND-16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND			ND			ND			1.2	0.6	ND-5.5	1.2	0.6	ND-5.3	1.2	0.8	ND-9.8	1.2	0.8	ND-5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND			ND			ND			ND			ND			ND			ND		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.9	2.3	ND-11	3.2	4.0	ND-40	2.8	2.6	ND-230	2.7	3.1	ND-32	2.7	2.7	ND-22	2.8	3.1	ND-29	2.2	2.1	ND-14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND			ND			ND			1.0	0.2	ND-3.4	ND			1.0	0.1	ND-2.2	ND		
OCDF	ND			2.0	0.4	ND-9.1	2.0	0.2	ND-5.6	2.3	2.5	ND-38	2.1	1.0	ND-18	2.0	0.5	ND-9.5	2.1	1.4	ND-18
Total PCDF	380	461	18-2600	280	375	13-2700	260	352	12-2900	260	348	12-2400	253.7	353.7	13-2600	240	325.8	12-2600	37	14	15-86
3,4,4',5-TCB(81)	5.4	2.3	ND-21	5.6	3.1	ND-41	5.3	1.8	ND-22	5.5	3.0	ND-38	5.5	2.3	ND-25	5.5	2.6	ND-35	5.6	2.3	ND-24
3,3',4,4'-TCB(77)	7.8	4.7	ND-29	11	7.2	ND-46	8.6	6.4	ND-72	11	8.2	ND-70	11.0	20.5	ND-160	6.9	4.5	ND-32	8.4	4.8	ND-31
3,3',4,4',5-PeCB(126)	84	58.5	18-320	100	71.7	ND-560	98	65.3	11-530	92	70.4	ND-590	94.6	64.4	ND-420	99	73.3	13-520	110	80.5	17-520
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	210	166.0	31-960	200	154.5	13-1100	180	139.2	13-1100	140	98.5	ND-770	155.4	113.2	12-860	180	131.7	15-1100	64	27.0	16-190
Total Non-ortho PCBs	310	168	66-1000	320	186	28-1200	300	168	37-1200	240	138	26-960	266.6	147.6	36-1000	290	166.6	42-1200	190	106	59-740
Total	1500	921	370-6800	1600	948	310-10000	1400	703	290-4900	1300	645	240-4000	1435.0	837.1	340-8600	1500	730.3	350-5200	1700	1045	290-850
◆【WHO-98】◆																					
PCDDs-TEQ	28.9	14.0	5.7-70	19.5	10.4	3.3-78	17.6	9.9	2.2-82	17.3	10.1	2.4-67	18.4	10.7	3.5-74	19.3	10.7	4.0-80	15.3	5.7	ND-34
PCDFs-TEQ	139.8	171.8	4.1-970	104.6	137.9	2.1-1000	95.8	131.1	1.8-1100	98.3	131.3	2.0-900	94.8	131.2	2.1-910	91.3	123.0	2.1-970	10.2	4.3	3.5-34
Non-ortho PCBs-TEQ	10.5	5.8	2.2-33	12.3	7.7	0.6-59	11.7	6.9	1.4-56	10.6	7.3	0.6-62	11.0	6.8	0.8-44	11.6	7.7	1.6-54	11.9	8.2	2.0-54
Total TEQ	179.3	180.5	14-1000	136.4	148.3	7.0-1100	125.0	141.2	5.5-1200	126.1	140.7	5.6-980	124.2	141.5	8.7-1000	122.2	133.6	8.0-1100	37.4	15.9	12-100
Lipid (%)	0.35	0.07	0.20-0.56	0.34	0.06	0.21-0.56	0.36	0.06	0.24-0.64	0.35	0.05	0.23-0.53	0.34	0.04	0.26-0.48	0.34	0.04	0.24-0.47	0.33	0.05	0.22-0.49
Age (years)	65.3	11.2	33-84	63.6	12.6	30-88	65.7	11.7	32-89	65.5	11.8	26-90	67.0	11.4	36-91	61.7	12.0	33-94	68.1	5.4	60-86

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: octachlorodibenzofurans; 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3　油症認定患者の血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の分布

	全体(n=468)					女性(n=257)					男性(n=211)				
	人数	Mean	SD	Range	Med	人数	Mean	SD	Range	Med	人数	Mean	SD	Range	Med
39歳以下	21	12	7.3	3.2-32	8.4	10	15	8.4	6.2-32	13	11	8.8	4.7	3.2-20	7.6
40歳代	44	27	34.3	3.0-150	14	25	36	42.2	3.0-150	15	19	15	14.0	4.5-66	10
50歳代	70	120	204.2	4.5-1400	57	40	190	251.0	8.0-1400	140	30	36	30.5	4.5-120	29
60歳代	107	190	199.9	6.3-1000	130	64	250	217.8	8.9-1000	180	43	100	127.6	6.3-640	50
70歳代	157	200	239.0	6.1-1800	110	81	290	286.9	10-1800	250	76	120	128.3	6.1-560	66
80歳以上	69	200	272.2	8.0-1300	59	37	300	331.1	16-1300	120	32	75	72.1	8.0-280	41
合計	468	160	221.8	3.0-1800	65	257	230	265.1	3.0-1800	130	211	82	107.8	3.2-640	41

(pg/g lipid)

分担研究報告書

油症検診以外の油症認定患者の生体試料中のダイオキシン類実態調査

分担研究者	吉村健清	福岡県保健環境研究所	所長	
	長山淳哉	九州大学医学部保健学科	准教授	
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
	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
	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
	戸高　尊	九州大学医学部	学術研究員	
	飯田隆雄	（財）北九州生活科学センター	理事長	

研究要旨

油症検診以外の油症認定患者の生体試料中のダイオキシン類実態調査として、油症認定患者が出産したときに残されたへその緒中のダイオキシン類濃度を測定した。へその緒中のダイオキシン類濃度の測定は過去の生体内のダイオキシン濃度の推定、次世代への影響の解析の基礎資料になると思われる。分析の結果、油症認定患者のへその緒中のダイオキシン濃度は一般人に比べ Total TEQ で約 13 倍高く、油症認定患者に特有に見られる 2,3,4,7,8-PeCDF 及び 1,2,3,4,7,8-HxCDF の高濃度汚染が認められた。

A．研究目的

ダイオキシン類は内分泌かく乱物質として知られており、ヒト体内、特に母体中に蓄積されたダイオキシン類の一部は胎盤を通し胎児に移行することからその影響に関心が持たれている。一方、1968 年に発生した油症事件はポリ塩化ビフェニール（PCB）及びダイオキシン類による人体汚染事例であり、39 年経過した現在も油症認定患者の体内には高濃度のダイオキシン類が残留している。2006 年に保存さい帯、すなわち“へその緒”中から PCB の検出が報告され[1]、油症患者の母親が出産したときに残されたへその緒中に高濃度の PCB が検出されたことが報告された[2), 3)]。そこで油症認定患者及び一般人の母親が出産したときに残されたへその緒中のダイオキシン類濃度を測定し、出産当時の母親および胎児の汚染レベルの解明のための基礎資料を得ることを目的とした。

B．研究方法

油症認定患者の母親 9 名から生まれた 14 名の子供(1970 年から 1993 年の出産)のへその緒と対象として一般人の母親 10 名から生まれた 12 名の子供（1973 年から 1996 年の出産）のへその緒中のダイオキシン類（PCDDs 7 種、PCDFs 10 種、ノンオルソ Co-PCBs 4 種、モノオルソ Co-PCBs 8 種類）濃度を測定し、異性体ごとの濃度を明らか

にした。

へその緒は乳鉢で磨り潰した後、内標準を添加し高速溶媒抽出器（ASE）でダイオキシン類を抽出した。さらに硫酸処理し、硝酸銀シリカゲルカラム及び活性炭カラムを直結して精製した。ダイオキシン画分を濃縮し、溶媒除去大量試料注入装置（SCLV）を装着した高分解能 GC/MS で測定した。

（倫理面への配慮）

検体の採取は、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

表 1 に油症認定患者と一般人のへその緒中ダイオキシン濃度を示した。今回測定した保存さい帯中の PCDDs、PCDFs、ノンオルソ Co-PCBs 、モノオルソ Co-PCBs 及び Total TEQ(WHO05)の平均値はそれぞれ油症認定患者のへその緒が 0.68、5.8、0.07、0.07 及び 6.7pg-TEQ/g であり、一般人のへその緒は 0.40、0.09、0.02、0.02 及び 0.53pg-TEQ/g であった。油症認定患者は一般人に比べTotal TEQ で約13倍高く、PCDFs 濃度が高いことが分かった（図１）。さらに、一般人に比べ油症認定患者に特有に見られる 2,3,4,7,8-PeCDF 及び 1,2,3,4,7,8-HxCDF の高濃度汚染が認められた（図２）。

油症診定基準に用いられる 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は油症認定患者のへその緒中の平均濃度は 13pg/g(ND～48pg/g)であるが、一般人のへその緒からは検出できなかった。油症認定患者の母親 9 名のうち、2002-2006 年の血液中ダイオキシン類濃度の判明している 5 名の母親の血液とへその緒中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を比較すると、母親の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高濃度の場合にへその緒中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度も高いことが推察された。

D．まとめ

過去の油症認定患者の生体内のダイオキシン濃度の推定、次世代への影響の解析の資料とするため油症認定患者のへその緒中のダイオキシン濃度を測定した。その結果、油症認定患者のへその緒中のダイオキシン濃度は一般人に比べ Total TEQ で約 13 倍高く、油症認定患者に特有に見られる 2,3,4,7,8-PeCDF 及び 1,2,3,4,7,8-HxCDF の高濃度汚染が認められた。さらに母親の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高濃度の場合にへその緒中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度も高いことが推察された。

E. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

F．参考文献

1. T.Otake et.al: Environmental Health and Preventive Medicine. 11, 65-68, (2006)

2. 青笹修他：日本内分泌かく乱物質学会第 9 回研究発表会要旨集 P76-77, 東京都, 2006 年 11 月 11-12 日

3. 青笹修他：第 16 回環境化学討論会要旨集 P76-77, 北九州市, 2007 年 6 月 20-22 日

表１　油症認定患者及び一般人のへその緒中ダイオキシン濃度

	Yusho Patients (n=14)					Normal Control (n=15)				
	Mean	Median	SD	Min	Max	Mean	Median	SD	Min	Max
PCDDs	0.68	0.12	1.00	ND	3.4	0.40	0.02	1.2	ND	4.7
PCDFs	5.8	4.4	6.56	ND	20	0.09	ND	0.33	ND	1.3
PCDDs+PCDFs	6.5	5.1	7.08	ND	22	0.49	0.02	1.2	ND	4.7
Non-*ortho* PCBs	0.07	0.01	0.12	ND	0.45	0.02	ND	0.05	ND	0.19
Mono-*ortho* PCBs	0.07	0.04	0.07	0.01	0.20	0.02	0.01	0.02	0.00	0.09
Coplanar PCBs	0.14	0.05	0.19	0.01	0.65	0.04	0.01	0.07	0.00	0.28
Total	6.7	5.2	7.23	0.02	22	0.53	0.04	1.2	0.01	4.7

(pg-TEQ / g dry weight , TEF: WHO2005)

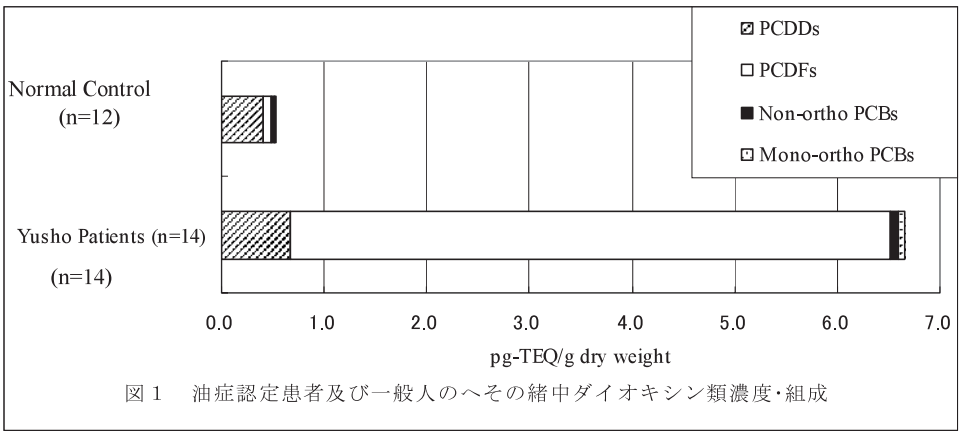


図１　油症認定患者及び一般人のへその緒中ダイオキシン類濃度･組成

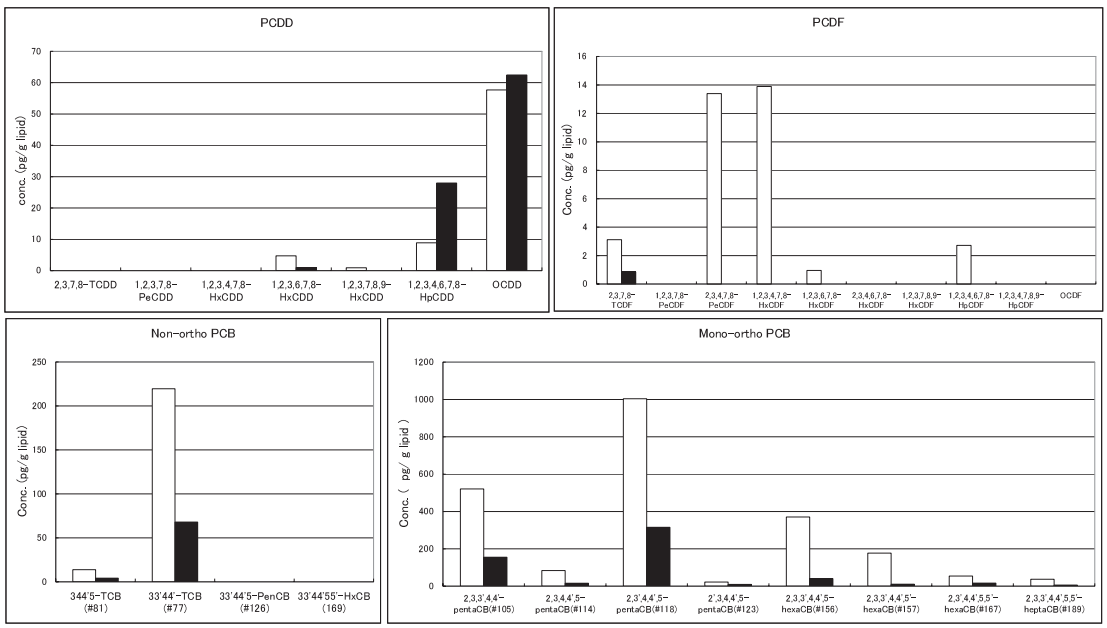


図２　油症認定患者及び一般人のへその緒中ダイオキシン類個別異性体濃度の比較

分担研究報告書

油症認定患者血液中 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
　　飯田隆雄　　（財）北九州生活科学センター　理事長

研究要旨

油症追跡調査の PCB 及び PCQ の分析法は機器が整備されて長い年月が経過し精度の維持が困難になってきた。このため近年開発された分析法への移行が課題となっている。本研究では各油症追跡班で行っている PCB 及び PCQ の分析法について実施状況を調査し、今後の分析法及び精度管理のあり方を検討した。その結果、各追跡班ごとに行っている PCB,PCQ の分析を福岡、長崎、広島はこれまで通り追跡班で行うが、その他の追跡班分は一括して分析を行うこと、分析データの信頼性を確保するため定期的に同一試料を配布しクロスチェックを行うことが妥当と思われる。

A. 研究目的

「血中 PCB 濃度及び性状の異常」は油症診断基準の所見のひとつである。「血中 PCB 濃度」は一般人でも高い場合があるため「血中 PCB の性状」の異常が重要である。「PCB の性状」とは、PCB のパックドカラムガスクロマトグラムピークパターン（GC パターン）のことであり、その異常とは油症認定患者の PCB GC パターンが一般人とは異なる特有の GC パターンを示すことをさしている。具体的には油症認定患者では血中 PCB GC パターンのピーク１が相対的に低く、ピーク５が相対的に高いことに基づいており、最も濃度の高いピーク２を基準として、これに対する比を取ることで、油症認定患者と一般人の違いを非常に明確にすることができる。

PCB 及び PCQ の分析は PCB のパックドカラムによる GC／ECD 検出器による分析法が行われてきたが、PCB のパックドカラムによる GC パターン法のピーク１、ピーク２およびピーク５の比が、それぞれのピークを構成する主成分の PCB＃１１８、PCB#153 および PCB#156 の相対比で置き換えられることが明らかになった[1)]。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。福岡県では 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実施している[2)]。

従来のパックドカラム GC／ECD 検出器の分析法は多くの油症追跡班で実施されているが機器が整備された後、長い年月が経過し機器の精度維持が困難になってきた。また、正確で高感度な近年開発された分析法への移行が課題となっている。本研究では各油症追跡班で行っている PCB 及び PCQ の分析法について実施状況を検討し、今後の分析法及び精度管理のあり方を検討した。

B. 研究方法

油症追跡班の行政担当者を通じ、分析担当者に PCB 及び PCQ の分析法について実施状況及び問題点に関するアンケートを配布し、今後の精度管理のあり方を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究はPCB及びPCQの分析方法の調査を目的としたもので、個人情報等は対象としていない。

C. 結果及び考察

各追跡班の PCB 及び PCQ の分析法は福岡県を除き従来のパックドカラム GC／ECD 検出器を用いた分析法で行っていた。分析方法を変更しない方がデータの継続性が維持されるが、老朽化した機器を更新できないことや検査員の移動に対し技術の継承に困難を生じていた。また、福岡、長崎、広島を除くと年間の検査件数が 20 検体以下であり効率的でない。既に、一部の追跡班では福岡県で PCB 及び PCQ の分析を行っていた。福岡、長崎、広島は分析体制も充実しており、データの継続性を維持するためにも分析を続けることが望ましいと思われる。その他の追跡班の検体は合計で 70 件程度であり、一ヶ所の分析機関に委託し分析することが妥当と思われる。

福岡県ではPCB、PCQの分析を福岡県、福岡市、北九州市及び第一薬科大学で実施しているが、毎年、データの相互比較のため同一試料を陽性コントロールとして分析するクロスチェックを行っている。しかし、追跡班間で最近は精度管理のためのクロスチェックは行われていない。今後、安定的に正確なデータを得るには定期的なクロスチェックの実施が必要と思われた。

D. まとめ

油症追跡班の PCB 及び PCQ の分析法について実施状況を調査し、今後の分析法及び精度管理のあり方を検討した。その結果、データの継続性を考慮し、各追跡班ごとに行っていた PCB,PCQ の分析を福岡、長崎、広島はこれまで通り追跡班で行い、その他の追跡班分は分析機関に委託し一括して分析すること、分析データの信頼性を確保するため同一試料を配布しクロスチェックを行うことが妥当と思われる。

E. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

F. 参考文献

1)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.

2)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.

PCB、PCQ分析機関（2006年）

追跡班	分析機関	2006年検体数
関東以北班	福岡県保健環境研究所	10
千葉県	千葉県衛生研究所	4
愛知県	愛知県衛生研究所 （PCQは福岡県で実施）	12
大阪府	福岡県保健環境研究所	18
島根県	福岡県保健環境研究所	2
山口県	山口県環境保健センター	13
高知県	高知県衛生研究所	12
鹿児島県	鹿児島県環境保健センター	2
広島県	広島県立総合技術研究所保健環境センター	50
長崎県	長崎県環境保健研究センター	140
福岡県	福岡県保健環境研究所	57
	福岡市保健環境研究所	34
	北九州市環境科学研究所	38
	第一薬科大学	33

PCB、PCQ分析機関（改正案）

追跡班	分析機関	2006年検体数
関東以北班		
千葉県		
愛知県		
大阪府	一括して実施	73
島根県		
山口県		
高知県		
鹿児島県		
広島県	広島県立総合技術研究所保健環境センター	50
長崎県	長崎県環境保健研究センター	140
福岡県	福岡県保健環境研究所	57
	福岡市保健環境研究所	34
	北九州市環境科学研究所	38
	第一薬科大学	33

分担研究報告書

妊婦の喫煙状態、AhR 遺伝子多型とPCB・ダイオキシン類濃度との関連

分担研究者　岸　玲子　北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野　教授

研究要旨

妊婦の喫煙によって、母と胎児へ悪影響を及ぼすことが知られている。代謝酵素の遺伝子多型とその活性については多くの報告があるものの、このような遺伝子多型とPCB やダイオキシン類濃度との関連についての報告は数少ない。そこで、低曝露レベルと考えられる一般集団の妊婦を対象にして、喫煙状態と化学物質代謝に関与する *AhR* R554K 遺伝子多型と血中のダイオキシン類濃度との関連について調べた。本研究における非喫煙者と喫煙者のカットオフ値を 15 ng/mL とし、喫煙群 42 名、非喫煙群 198 名となった。また、非喫煙群(198 名)を 2 分位し、それぞれ低環境的喫煙曝露群(99 名)、高環境的喫煙曝露とした。その結果、RK/KK 型で低環境的喫煙曝露群と比較して、RK/KK 型で喫煙群では、Total non-ortho、 PCBs 値、Total coplarnar PCBs 値、Total PCDDs TEQ 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total coplarnar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた(それぞれ $p < 0.05$)。また、RR 型で高環境的喫煙曝露群では、Total non-ortho PCBs 値、Total mono-ortho PCBs 値、Total coplarnar値、Total 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total mono－ortho PCBs 値、Total coplarnar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた(それぞれ $p < 0.05$)。この結果は、喫煙によって、母から胎児へのダイオキシンの移行が亢進する可能性を示唆しているが、今後、臍帯血や児の出生アウトカムなどの胎児側からの母の喫煙による影響に関する検討が必要である。

A. 研究目的

妊婦の喫煙によって、母と胎児へ悪影響を及ぼすことが知られている(1)。タバコの煙には、ニコチン、多環芳香族炭化水素(PAHs)などをはじめとした 4000 以上もの化学物質を含んでいる。Ah レセプターは、PAHs や TCDD などの受容体として知られ、CYP1A1 や CYP1B1、GST などを誘導する(2, 3, 4)。

代謝酵素の遺伝子多型とその活性については多くの報告があるものの、このような遺伝子多型と PCB やダイオキシン類濃度との関連についての報告は数少ない。

そこで、低曝露レベルと考えられる一般集団の妊婦を対象にして、喫煙状態(喫煙、受動喫煙、非喫煙)と化学物質代謝に関与する *AhR* R554K 遺伝子多型と血中ダイオキシン類濃度との関連について調べた。

B. 研究方法

対象者は 2002-2004 年に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 週の妊婦である。出産前における血中ダイオキシン類の測定を実施した254 名のうち、異常値を示したもの(1 名)、血清コチニン値不明者 12 名、遺伝子多型不明者 2 名を除外した 240 名を解析対象者とした。出産前に採血した血液を用いて、血中ダイオキシン類を測定した。また、血清コチニン値を Cozart EIA cotinine Kit (Cozart)を用いた ELISA 法により 2 回測定を行い、平均値を測定値として使用した。本研究における非喫煙者と喫煙者のカットオフ値を 15 ng/mL とし、喫煙群 42 名、非喫煙群 198 名となった。また、非喫煙群(198 名)を 2 分位し、それぞれ低環境的喫煙曝露群(99 名)、高環境的喫煙曝露群(99 名)とした。

（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。

C. 研究結果

対象者の基本属性ならびに各遺伝子多型の頻度はそれぞれ表1のようになった。

喫煙、各遺伝子多型と血中 PCB・ダイオキシン類値との関連をそれぞれ調べた（表2）。低環境的喫煙曝露群と比較して、高環境的喫煙曝露群では、Total non-ortho PCBs 値、Total 値、Total PCDDs TEQ 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total TEQ 値について、それぞれ有意に負の関連がみられた（それぞれ $p < 0.05$）。また、低環境的喫煙曝露群と比較して、喫煙群では、Total PCDFs 値、Total non-ortho PCBs 値、Total coplarnar PCBs 値、Total 値、Total coplarnar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた（それぞれ $p < 0.05$）。また、AhR R554K 遺伝子多型との関連について調べた結果、各ダイオキシン類濃度との有意な関連はみられなかった。

次に、各遺伝子型（RR or RK/KK）における喫煙状態と血中ダイオキシン類濃度との関連を調べた（表3）。RK/KK 型で低環境的喫煙曝露群と比較して、RK/KK 型で喫煙群では、Total non-ortho、 PCBs 値、Total coplarnar PCBs 値、Total PCDDs TEQ 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total coplarnar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた（それぞれ $p < 0.05$）。また、RR 型で高環境的喫煙曝露群では、Total non-ortho PCBs 値、Total mono-ortho PCBs 値、Total coplarnar値、Total 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total mono－ortho PCBs 値、Total coplarnar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた（それぞれ $p < 0.05$）。しかし、RK/KK 型で高環境的喫煙曝露群、RR 型の低環境的喫煙曝露群ならびに喫煙群では有意な関連はみられなかった。

D. 考察

本研究の結果から、妊婦の喫煙状況が血中の PCB・ダイオキシン類 TEQ 値に影響を与えることが明らかになった。本研究では、喫煙により妊婦の喫煙状況が Total PCDDs や Total non-ortho PCBs などの血中ダイオキシン類の低下がみられたが、Choi AL らの報告における対象集団においても、非喫煙群と比較して喫煙群において、Total PCB 値が有意に低いことが示されている（5）。これらの結果の原因は不明であるが、喫煙による PCB・ダイオキシン類代謝系の亢進、血中タンパク質の影響などが考えられる。また、喫煙により血中 PCB・ダイオキシン類濃度が低下することによる健康影響についても明らかではないが、近年、喫煙群の母親より出生した新生児の血中 PCB 濃度は、受動喫煙群、非喫煙群の母親より出生した新生児と比較して、有意に高いことが報告されていることから、妊婦の喫煙による PCB・ダイオキシン類の胎児への蓄積性が懸念される（6）。そのため、今後、胎児側からの母の喫煙による影響に関する検討が必要である。

さらに、本研究では、*AhR* R554K 多型が RR 型の場合、RK 型では影響がみられなかった高環境的喫煙曝露群において、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total mono－ortho PCBs 値、Total coplarnar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値が低下していることが示された。このことから、*AhR* R554K が RR 型の場合、能動的喫煙だけでなく、環境からの喫煙曝露により血中ダイオキシン類濃度への影響がみられることが明らかになった。しかし、同じ RR 型でも喫煙群の場合、血中ダイオキシン類濃度との有意な関連はみられなかった。これは、RR 型で喫煙群の数が 7 名であり、他の群の人数と比較して少ないためであると考えられる。その

ため、喫煙と血中ダイオキシン類濃度との関連について、サンプルサイズを大きくした、さらなる解析が必要であると考えられる。また、AhR 遺伝子以外の代謝系に関与する遺伝子による感受性についても検討する必要がある。

E. 結論

AhR R554K 多型と喫煙による血中 PCB TEQ 値への負の複合影響が明らかになった。また、この複合影響には、能動的喫煙だけではなく、環境的喫煙による影響も認められた。

F. 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

参考文献

1) Cnattingius S (2004) The epidemiology of smoking during pregnancy: smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy ouytcomes. Nicotine Tov. Res. 6: S125-S140.

2) Antilla S, Tuominen P, Hirvonen A, Nurminen M, Karjalainen A, Hankinson O and Elovaara E (2001) CYP1A1 levels in lung tissue of tobacco smokers and polymorphisms of CYP1A1 and aromatic hydrocarbon receptor. Pharmacogenetics 11: 501-509.

3) Harper PA, Wong JMY, Lam MSM and Okey AB (2002) Polymorphisms in the human AH receptor. Chem. Biol. Interact. 141: 161-187.

4) Lin P, Hu SW and Chang TH (2003) Correlation between gene expression of aryl hydrocarbon receptor (*AhR*), hydrocarbon receptor nuclear translocator (*Arnt*), cytochromes P4501A1 (*CYP1A1*) and 1B1(*CYP1B1*), and inducibility of *CYP1A1* and *CYP1B1* in human lymphocytes. Toxicol. Sci. 71: 20-26.

5) Choi AL, Levy JI, Dockery DW, Ryan LM, Tolbert PE, Altshul LM and Korrick SA (2006) Does living near a Superfund site contribute to higher polychlorinated biphenyl (PCB) exposure? Environ. Health Perspect. 114: 1092-1098.

6) Lackmann GM, Angerer J and Tollner U (2000) Parental smoking and neonatal serum levels of polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene. Pediatr. Res. 47: 598-601.

表１　対象者の基本属性

属性	計 (n = 240)	低環境的喫煙曝露群 (n = 99)	高環境的喫煙曝露群 (n = 99)	喫煙群 (n = 42)	*P*-value
Serum Cotinine Concentration, ng/mL	1.69 (0.05-389.41)	0.80 (0.05-1.36)a	2.17 (1.38-7.59)a	76.89 (16.68-389.41)a	**< 0.001*****
Maternal Age, mean ± SD, year	30.61 ± 4.47	30.97 ± 4.53	30.71 ± 4.28	29.52 ± 4.70	0.206
BMI, mean ± SD, kg/m2	21.41 ± 3.48	21.48 ± 3.51	21.16 ± 3.31	21.82 ± 3.80	0.570
Parity, n (%)					
0	121 (50.6)	45 (45.5)	53 (54.1)	23 (54.8)	
≧1	118 (49.4)	54 (54.5)	45 (45.9)	19 (45.2)	0.404
Educational Levels, n (%)					
≦ 9 (years)	4 (1.7)	1 (1.0)	1 (1.0)	2 (4.8)	
10-12	94 (39.2)	29 (29.3)	42 (42.4)	23 (54.8)	
13-16	138 (57.5)	67 (67.7)	55 (55.6)	16 (38.1)	
≧17	4 (1.7)	2 (2.0)	1 (1.0)	1 (2.4)	**0.038***
Economic Status; Annual Income, n (%)					
< 3,000,000 (yen)	41 (17.1)	15 (15.2)	13 (13.1)	13 (31.0)	
3,000,000-5,000,000	117 (48.8)	43 (42.4)	58 (58.6)	17 (40.5)	
5,000,000-7,000,000	52 (21.7)	23 (23.2)	20 (20.2)	9 (21.4)	
7,000,000-10,000,000	24 (10.0)	15 (15.2)	6 (6.1)	3 (7.1)	
≧10,000,000	6 (2.5)	4 (4.0)	2 (2.0)	0 (0.0)	**0.042***
Alcohol Intake during Pregnancy, g/day	1.39 (0.36-51.83)[b]	1.19 (0.36-51.83)[a, b]	1.16 (0.36-19.18)[a, b]	2.10 (0.46-14.76)[a, b]	0.350
Caffeine Intake during Pregnancy, mg/day	112.38 (2.00-542.50)	98.50 (3.00-420.25)a	108.50 (2.00-425.50)a	157.38 (17.00-542.50)a	**0.004****
AhR R554K, n (%)					
Arg/Arg	72 (30.0)	37 (37.4)	28 (28.3)	7 (16.7)	
Arg/Lys	120 (50.0)	40 (40.4)	55 (55.6)	25 (59.5)	
Lys/Lys	48 (20.0)	22 (22.2)	16 (16.2)	10 (23.8)	0.065
Arg/Lys + Lys/Lys	168 (70.0)	62 (62.6)	71 (71.7)	35 (83.3)	

[a]; Median (min-max), Kruskal-Wallis test was conducted to estimate associations.

[b]; 28 low environmental smokers ,32 high environmentak smokers and 18 smokers.

表 2　喫煙ならびに *AhR* 遺伝子多型と血中ダイオキシン類濃度との関連

	喫煙状態					*AhR* Polymorphism		
	低環境的喫煙曝露群 (n = 99)	高環境的喫煙曝露群 (n = 99)		喫煙群 (n = 42)		Arg/Lys + Lys/Lys (n = 168)	Arg/Arg (n = 72)	
(pg/g lipid)		β (SD)	*P*-value	β (SD)	*P*-value		β (SD)	*P*-value
Total PCDDs	Ref.	-0.087 (0.054)	0.109	-0.102 (0.071)	0.155	Ref.	-0.030 (0.054)	0.577
Total PCDFs	Ref.	-0.096 (0.051)	0.061	-0.135 (0.067)	**0.045***	Ref.	-0.008 (0.051)	0.869
Total PCDD/DFs	Ref.	-0.088 (0.054)	0.102	-0.104 (0.070)	0.142	Ref.	-0.031 (0.054)	0.565
Total non-ortho PCBs	Ref.	-0.136 (0.058)	**0.020***	-0.249 (0.076)	**0.001****	Ref.	-0.019 (0.059)	0.744
Total mono-ortho PCBs	Ref.	-0.057 (0.060)	0.349	-0.134 (0.079)	0.094	Ref.	-0.071 (0.060)	0.236
Total coplarnar-ortho PCBs	Ref.	-0.068 (0.065)	0.294	-0.205 (0.085)	**0.017***	Ref.	-0.081 (0.065)	0.216
Total	Ref.	-0.190 (0.082)	**0.021***	-0.261 (0.108)	**0.016***	Ref.	-0.065 (0.083)	0.433
Total PCDDs TEQ	Ref.	-0.103 (0.051)	**0.045***	-0.130 (0.067)	0.055	Ref.	-0.016 (0.053)	0.761
Total PCDFs TEQ	Ref.	-0.122 (0.054)	**0.024***	-0.138 (0.070)	0.051	Ref.	-0.016 (0.054)	0.773
Total PCDD/DFs TEQ	Ref.	-0.103 (0.051)	**0.045***	-0.130 (0.067)	0.055	Ref.	-0.017 (0.051)	0.743
Total non-ortho PCBs TEQ	Ref.	-0.165 (0.078)	**0.034***	-0.382 (0.102)	**< 0.001*****	Ref.	-0.064 (0.079)	0.423
Total mono-ortho PCBs TEQ	Ref.	-0.057 (0.060)	0.349	-0.134 (0.079)	0.094	Ref.	-0.071 (0.060)	0.236
Total coplarnar-ortho PCBs TEQ	Ref.	-0.116 (0.067)	0.085	-0.277 (0.088)	**0.002****	Ref.	-0.068 (0.068)	0.32
Total TEQ	Ref.	-0.105 (0.053)	**0.048***	-0.179 (0.069)	**0.010****	Ref.	-0.033 (0.053)	0.536

Logarithm of each Dioxin values and serum cotinine were used for multiple regression analysis.
Adjusted for maternal age, BMI before pregnancy, parity and educational level

表３　喫煙と *AhR* 遺伝子多型の組み合わせと血中ダイオキシン類濃度との関連

AhR 遺伝子多型	Arg/Lys + Lys/Lys					Arg/Arg					
喫煙状態	低環境的喫煙曝露群 (n = 62)	高環境的喫煙曝露群 (n = 71)		喫煙群 (n = 35)		低環境的喫煙曝露群 (n = 37)		高環境的喫煙曝露群 (n = 28)		喫煙群 (n = 7)	
(pg/g lipid)		β (SD)	*P*-value	β (SD)	*P*-value	β (SD)	*P*-value	β (SD)	*P*-value	β (SD)	*P*-value
Total PCDDs	Ref.	-0.098 (0.067)	0.144	-0.123 (0.082)	0.135	-0.058 (0.079)	0.459	-0.136 (0.087)	0.120	-0.123 (0.152)	0.418
Total PCDFs	Ref.	-0.088 (0.063)	0.160	-0.134 (0.077)	0.081	-0.011 (0.074)	0.877	-0.129 (0.082)	0.116	-0.158 (0143)	0.271
Total PCDD/DFs	Ref.	-0.098 (0.066)	0.136	-0.125 (0.081)	0.124	-0.059 (0.078)	0.449	-0.138 (0.086)	0.111	-0.126 (0.150)	0.402
Total non-ortho PCBs	Ref.	-0.087 (0.071)	0.218	-0.235 (0.087)	**0.007****	-0.020 (0.084)	0.794	-0.227 (0.093)	**0.015***	-0.259 (0.162)	0.111
Total mono-ortho PCBs	Ref.	-0.029 (0.074)	0.689	-0.164 (0.090)	0.071	-0.059 (0.087)	0.495	-0.198 (0.096)	**0.041***	0.097 (0.0168	0.566
Total coplarnar-ortho PCBs	Ref.	-0.026 (0.079)	0.741	-0.224 (0.097)	**0.022***	-0.050 (0.093)	0.59	-0.235 (0.103)	**0.024***	-0.199 (0.180)	0.271
Total	Ref.	-0.151 (0.100)	**0.134**	-0.240 (0.123)	0.052	-0.024 (0.18)	0.839	-0.318 (0.131)	**0.016***	-0.398 (0,229)	0.083
Total PCDDs TEQ	Ref.	-0.108 (0.065)	0.097	-0.181 (0.079)	**0.024***	-0.072 (0.076)	0.345	-0.157 (0.085)	0.064	-0.011 (0.148)	0.943
Total PCDFs TEQ	Ref.	-0.113 (0.066)	0.087	-0.160 (0.081)	**0.048***	-0.030 (0.078)	0.698	-0.182 (0.086)	**0.036***	-0.087 (0.150)	0.564
Total PCDD/DFs TEQ	Ref.	-0.108 (0.062)	0.086	-0.175 (0.077)	**0.023***	-0.059 (0.074)	0.427	-0.165 (0.082)	**0.045***	-0.027 (0.143)	0.851
Total non-ortho PCBs TEQ	Ref.	-0.082 (0.094)	0.385	-0.373 (0.116)	**0.001****	-0.073 (0.111)	0.948	-0.359 (0.123)	**0.004****	-0.375 (0.215)	0.083
Total mono-ortho PCBs TEQ	Ref.	-0.029 (0.074)	0.689	-0.164 (0.090)	0.071	-0.059 (0.087)	0.495	-0.198 (0.096)	**0.041***	-0.097 (0.168)	0.566
Total coplarnar-ortho PCBs TEQ	Ref.	-0.052 (0.082)	0.522	-0.282 (0.100)	**0.005****	-0.015 (0.096)	0.875	-0.291 (0.107)	**0.007****	-0.260 (0.186)	0.165
Total TEQ	Ref.	-0.088 (0.064)	0.172	-0.213 (0.079)	**0.008****	-0.046 (0.076)	0.548	-0.203 (0.084)	**0.017***	-0.101 (0.147)	0.492

Logarithm of each Dioxin values and serum cotinine were used for multiple regression analysis.
Adjusted for maternal age, BMI before pregnancy, parity and educational level

分担研究報告書

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　九州大学大学院医学研究院保健学部門　准教授

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、カネミ油症の原因物質である PCDFs が 108ng と 24ng、PCDDs が 16ng と 4ng、PCDFs/DDs が 120ng と 24ng それぞれ体内残留量が低下し、PCDFs、PCDDs の排泄促進が示された。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 によるダイオキシン類の排泄に、より促進的な効果が認められた。

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 PCDFs と PCDDs である。油症発症以来 40 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、PCDDs 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 と PCDDs 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 と PCDDs 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PCDFs、PCDDsおよびPCDFsとPCDDsを合計したPCDFs/DDsの血中平均濃度の変化は表1のようであった。数値はすべてTEQ換算値である。

表1からわかるように、PCDFsとPCDDs、PCDFs/DDs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倍前後高い。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グループよりもダイオキシン類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、PCDDs、PCDFs/DDsの血中濃度の低下は次のようであった。

PCDFsではAグループ：0.027 pg/g、Bグループ：0.005 pg/g。PCDDsではAグループ：0.004 pg/g、Bグループ：0.001 pg/g。PCDFs/DDsではAグループ：0.032 pg/g、Bグループ：0.007 pg/gであった。

このように、FBRAによるダイオキシン類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、ダイオキシン類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、ダイオキシン類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、体内の脂肪組織がダイオキシン類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。体重を60kg、体脂肪率を20%と仮定すると、体内には脂肪が12kg存在する。

表3に示されているように、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PCDFsが2988ngと1236ng、PCDDsが420ngと280ng、PCDFs/DDsが3408ngと1524ng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PCDFsが2880ngと1212ngに、PCDDsが404ngと276ngに、そしてPCDFs/DDsが3288ngと1488ng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 PCDFsは108ngと24ng、PCDDsは16ngと4ng、PCDFs/DDsは120ngと24ng排泄されたことになる。

以上の結果から、FBRAは油症の主原因物質であるこれらPCDFsとPCDDsおよびPCDFs/DDs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で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示されている[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 concent- rations of PCDDs, PCDFs and PCBs in blood of humans from Japan. *Chemosphere* 57: 1409-1426, 2004.
7) Nagayama J., Takasuga 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 および PCDDs の血中濃度の変化

ダイオキシン類	血中濃度(pg-TEQ/g)*		
	摂取前	1 年後	2 年後
PCDFs			
A グループ	0.747±0.952	0.720±0.921	0.712±0.919
B グループ	0.310±0.248	0.308±0.253	0.303±0.253
PCDDs			
A グループ	0.105±0.065	0.101±0.060	0.100±0.062
B グループ	0.072±0.014	0.070±0.014	0.069±0.014
PCDFs/DDs			
A グループ	0.853±1.02	0.821±0.979	0.812±0.979
B グループ	0.382±0.251	0.379±0.262	0.372±0.261

*：平均値±標準偏差

表 2. PCDFs および PCDDs の脂質重量当りの血中平均濃度の変化

ダイオキシン類	血中平均濃度(pg-TEQ/g 脂肪)*		
	摂取前	1 年後	2 年後
PCDFs			
A グループ	249	240	237
B グループ	103	103	101
PCDDs			
A グループ	35.0	33.7	33.3
B グループ	24.0	23.3	23.0
PCDFs/DDs			
A グループ	284	274	271
B グループ	127	126	124

*：血液の脂肪含有率を 0.3%と仮定した。

表 3. PCDFs および PCDDs の体内残留量の変化

ダイオキシン類	体内残留量(ng/人)*		
	摂取前	1 年後	2 年後
PCDFs			
A グループ	2988	2880	2844
B グループ	1236	1236	1212
PCDDs			
A グループ	420	404	400
B グループ	288	280	276
PCDFs/DDs			
A グループ	3408	3288	3252
B グループ	1524	1512	1488

*：体重を 60kg、体脂肪率を 20%と仮定した。

分担研究報告書

Resveratrol によるダイオキシン類毒性軽減効果：bioavailability 改善と毒性軽減効果への影響に関する検討

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　准教授
　　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　助教

研究要旨　当研究室におけるこれまでの検討から、植物ポリフェノールである resveratrol の摂取が、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性の一部である体重増加抑制、並びに脂肪肝の惹起を軽減する可能性が示されている。しかし、この軽減効果は顕著なものではなく、その原因は resveratrol の生物学的利用率（bioavailability）の低さにあると予想された。そこで本研究では、resveratrol の bioavailability 改善と、それに伴う TCDD 毒性軽減効果への影響について検討を行った。その結果、代謝酵素の阻害剤である piperine を併用することにより、TCDD のマウス体重増加抑制に対する resveratrol の軽減効果が増強される傾向が観察された。さらに、resveratrol を皮下投与した場合、TCDD 処理マウスの体重増加抑制はコントロール群と同程度まで回復することが明らかとなった。また、TCDD による酵素誘導の指標である erhoxyresorufin *O*-deethylase 活性、並びに酸化的ストレスの指標であるチオバルビツール酸反応生成物量に関しても、resveratrol の皮下投与では経口投与時に比べ顕著に低下した。この場合、resveratrol　皮下投与時における血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積は、経口投与時に比べ約 4 倍増加した。本研究より、resveratrol の bioavailability を改善することにより、ダイオキシン類毒性軽減効果を増強することができる可能性が強く示唆された。今後は、経皮吸収法などによるより一層の bioavailability の改善と患者への負担の軽い投与法の開発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、ダイオキシン類による中毒症状の予防法の開発を目的として、日々の摂取が容易であり安全性が高いと考えられる食物成分に注目し検討を行ってきた。その結果、赤ワインやピーナッツの渋皮に多く含まれている植物ポリフェノールである trans-resveratrol (resverastrol) が、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) による体重増加抑制作用、並びに脂肪肝の惹起を軽減する可能性があることを明らかにした（平成 18 年度、並びに平成 19 年度分担研究報告書にて報告済み）。また、この機構について検討

した結果、TCDD による芳香族炭化水素受容体（aryl hydrocarbon receptor: AhR）を介したタンパク質誘導、並びに酸化的ストレスの惹起に対して、僅かではあるものの効果があることを明らかにしている。これまでの検討で明らかにした resveratrol の毒性軽減作用は、その傾向が認められるものの顕著ではなかった。この原因の一つとして、resveratrol のバイオアベイラビリティの低さが考えられる。事実、resveratrol を経口投与した場合、その血中濃度は数分以内に最高濃度に達したのち、1~2 時間後にほとんど消失することが明らかとなっている（1-3）。従って、resveratrol の生物学的利用率（bioavailability）を改善することにより、ダイオキシン類中毒症状に対する軽減効果を増強できるのではないかと期待された。

以上のような背景のもと、本年度は、ダイオキシン類中毒症状に対する resveratrol の軽減効果増強を目的として、resveratrol の bioavailavility 改善が TCDD 毒性に及ぼす影響を検討した。

B. 方法・結果

Resveratrol 経口投与における血中濃度の推移および piperin との併用における resveratrol の TCDD 毒性への効果

これまでの研究から、resveratrol は、生体内において主にグルクロン酸抱合反応、並びに硫酸抱合反応によって代謝されることが明らかにされている（1）。そこで、黒胡椒の辛味成分であり、グルクロン酸抱合反応の阻害剤であることが知られている piperin を併用し、resveratrol の経口投与時における bioavailability の改善とそれに伴う TCDD 毒性軽減効果への影響を観察した。

Piperine の影響をみる前に、基礎的情報入手の目的で、マウスにおける resveratrol 経口投与時における血中濃度の推移を測定した。5 週令の C57BL/6J 系雄性マウスに resveratrol 20 mg/kg を経口投与し、一定時間後に血液を採取した。採取した血液（約 0.1% EDTA 含有）を 2,000 r.p.m. で 15 分間遠心したのち、その上清を血漿サンプルとして使用するまで -80 ˚C に保存した。血漿中 resveratrol の抽出は、血漿 50 μL に内標準物質である 7-ethoxycoumarin (10 μg/mL) を 10 μL 添加し、酢酸エチルを 100 μL 加え攪拌したのち、遠心にて分離した上清 90 μL を分取した。この抽出操作を 3 回行ったのち、窒素ガスにて酢酸エチルを留去し、その残渣をメタノール 100 μL に溶解して HPLC 定量用のサンプルとした。分析の結果、投与約 5 分後に resveratrol 血中濃度は最高値に達し、1 時間以内にそのほとんどが消失した（Fig. 1）。

次に、piperin 併用時の resveratrol の TCDD 毒性軽減効果について検討した。5 週令の C57BL/6J 系雄性マウスに piperin 20 mg/kg を経口投与し、その 5 分後に resveratrol 20 mg/kg を経口投与した。その後、resveratrol の血中濃度が最高となると予想される 90 分後に、TCDD 100 μg/kg を経口投与した。一方、コントロール群には、piperin と resveratrol の溶媒である

0.2% Tween 80/0.5% methylcellurose 溶液、並びに TCDD の溶媒である corn oil を同量経口投与した。投与翌日より、同量の piperin と resveratrol を初日と同様のスケジュールで 1 日 1 回、5 日間経口投与し、最終投与 30 分後に臓器を摘出して臓器重量を測定した。その結果、投与 1 日目より、resveratrol と piperin の併用群では、TCDD による体重増加抑制が軽減されることが明らかとなった（Fig. 2; TCDD + piperine + resveratrol vs. TCDD）。一方、TCDD による肝肥大、並びに胸腺に萎縮に対しては、piperine と resveratrol の併用による軽減効果は観察されなかった（Table 1）。

皮下投与 resveratrol の TCDD 毒性への影響

Resveratrol の bioavailability の改善を図る場合、経口投与は腸管からの吸収率や初回通過代謝の問題があり、不利と予想される。このため、先の結果でも、bioavailability 改善効果が不十分であった可能性が考えられる。そこで、さらなる bioavailability の改善を目的として、皮下投与法を用いて検討を行った。

まず、resveratrol 皮下投与による bioavailability の改善を確認するため、投与後の血中濃度の推移を測定した。その結果、皮下投与の場合、投与 20 分ほどで血中濃度が最高に達したのち、24 時間後においても、最高濃度の 10 分の 1 程を維持することが明らかとなった（Fig. 3）。皮下投与における最高血中濃度は、経口投与のそれとほぼ同程度であった（経口投与 C_{max} = 3073.7 ng/mL; 皮下投与 C_{max} = 4837.0 ng/mL）。また、投与 2 時間までにおける血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve: AUC）を比較した場合、皮下投与では経口投与の約 4 倍に増加した。以上の結果より、皮下投与では、resveratrol の bioavailability が改善されることが明らかとなったので、次に TCDD 毒性に対する効果を検討した。5 週令の C57BL/6J 系雄性マウスに resveratrol 225 mg/kg を皮下投与し、その後、resveratrol の血中濃度が最高となると予想される 90 分後に、TCDD 100 μg/kg を経口投与した。一方、コントロール群には、resveratrol の溶媒であるプロピレングリコール、並びに TCDD の溶媒である corn oil を同量投与した。投与翌日より、同量の resveratrol を 1 日 1 回、5 日間皮下投与し、最終投与 30 分後に臓器を摘出して臓器重量を測定した。Fig. 4 には、投与期間中の体重変化を示している。TCDD 処理群では、既報と同様、投与初日から体重の抑制が観察された。これに対し、resveratrol を皮下投与した場合、体重増加がほぼコントロールレベルまで改善されることが明らかとなった。一方、投与 5 日目における臓器重量を測定した結果、脾臓では、resveratrol の併用により TCDD による萎縮の軽減傾向が認められた。しかし、肝臓肥大、並びに胸腺の萎縮に対する影響は認められなかった（Table 2）。次に、resveratrol による TCDD 毒性軽減の機構を模索するため、AhR 依存的なタンパク質誘導の指標である ethoxyresirufin *O*-deethylase

(EROD) 活性、並びに酸化的ストレスの指標であるチオバルビツール酸反応生成物量（thiobarbitric acid reactive substance content: TBARS）を測定した。その結果、resveratrol の皮下投与により、EROD 活性値、並びに TBARS 値は、TCDD 処理群に比べそれぞれ約 25%、並びに約 34% 低下することが明らかとなった（Fig. 5 および 6）。

Resveratrol 経皮吸収に関する予備的検討

これまでの研究から、resveratrol の bioavailability 改善に伴い、TCDD 毒性に対する軽減効果が増強される、ないしその傾向にあることが明らかとなった。しかし、油症患者への適用を考えた場合、piperin との併用による経口投与や 24 時間毎の皮下投与は、患者への負担が大きいと予想される。そこで、これらの問題を解消する一手段として、resveratrol の経皮吸収法を用い、resveratrol の bioavailability 改善の可能性について検討した。

Rresveratrol をエタノール（60 mg resveratrol/mL ethanol）、DMSO（165.8 mg resveratrol/mL DMSO）、もしくはプロピレングリコール（135.4 mg resveratrol/mL propylene glycol）に溶解したのち、基材に混和し軟膏剤を調製した。次に、5 週令の C57BL/6J 雄性マウスをペントバルビターールで麻酔し、バリカンで剃毛した背部約 6 cm^2 に調製した resveratrol 軟膏剤 0.3 g を塗布した。塗布後、マウスをケージに戻して飼育し、血液を採取して resveratrol の血中濃度を定量した。

一般的な脂溶性基材である流動パラフィン・白色ワセリン混合基材を用いた予備検討から、経皮的に resveratrol を投与した場合、投与後 5 時間後から 48 時間後において高い血中濃度を維持していた（データ未掲載）。そこで、流動パラフィン・白色ワセリン混合基材に加え、脂肪アルコール・プロピレングリコール混合基材（FAPG 基材）、さらに、カテキン類の経皮吸収に関する研究 (4)での実積を有する、米国 PCCA 社製 Lipodermal base® を用いて塗布後、5 時間後の血中濃度を測定した。その結果、流動パラフィン・白色ワセリン混合基材、並びに Lipodermal base® に比べ、FAPG を使用した場合、resveratrol の血中濃度が顕著に増加することが明らかとなった（Fig. 7）。さらに、吸収促進剤としてオレイン酸の添加を添加した FAPG においても検討を行ったが、改善効果は認められなかった。

（倫理面への配慮）

本研究における動物実験は全て、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認を受けたのち実施した。

C. 考察

本研究では、ダイオキシン類の中毒症状に対する予防法の開発を目的として、食用植物成分である resveratrol に注目し検討を行った。今回の検討では、resveratrol の bioavailability 改善を目的として、piperin との併用、および皮下投与による検討を行い、TCDD 毒性に対する効果を検証した。

その結果、TCDD による体重増加抑制に対する resveratrol の軽減作用は、piperine との併用、もしくは皮下投与により、単独経口投与時に比べ増強されることが明らかとなった（Fig. 2 および 4）。

今回、piperin との併用による resveratrol の経口投与実験において、resveratrol の血中濃度の推移を明らかにすることはできなかった。これに関連して、ラットへの piperin と curcumin の併用処理実験では、curcumin の AUC および最高血中濃度が、curcumin 単独処理に比べそれぞれ約 1.5 倍および 1.3 倍増加することが明らかにされている（5）。従って、resveratrol においても、piperin との併用により、その bioavailability は経口投与に比べ改善されたものと予想される。一方、皮下投与の場合、経口投与に比べ、投与 2 時間後における AUC は約 4 倍まで増加し、また、最高血中濃度はほぼ同程度であった（Fig. 1 および 3）。この結果から、resveratrol の bioavailability の増加によって、ダイオキシン類毒性に対する軽減作用も増強されることが強く示唆された。

Resveratrol 皮下投与時における TCDD 毒性軽減効果増強の機構について検討するため、EROD 活性、並びに TBARS 値を測定した結果、それぞれ TCDD 処理群に比べ有意に低下することが明らかとなった（Fig. 5 および 6）。Resveratrol 経口投与時では、TCDD 処理群に比べ EROD 活性値の低下は約 10%に止まり、TBARS 値は変化しない（平成 18 年度分担研究報告書に掲載済み）。これらは、resveratrol の投与期間や投与量が異なるため、単純には比較できない。しかし、ダイオキシン類の毒性のほとんどは AhR との結合、並びにそれに伴う機能性タンパク質の発現変動を起点としていると考えられており、さらに、酸化的ストレスの惹起も毒性の主要因の一つと考えられている。このため、resveratrol の bioavailability 改善がこれらの指標の抑制を増強することと、毒性軽減効果の増強とは矛盾なく解釈できる。一方、resveratrol 皮下投与時におけるこれらの指標は、コントロールレベルまで低下しないにもかかわらず（Fig. 5 および 6）、TCDD による体重増加抑制はコントロールレベルまで改善された（Fig. 4）。この違いについては、理由を明らかにすることはできなかった。このことから、resveratrol は、AhR への競合作用、および酸化的ストレスの低下に加え、未知の要因に対して作用する可能性も考えられる。このため、resveratrol による毒性軽減機構の開明には、ダイオキシン類による毒性発現機構の解明も含めて検討する必要があると考えられる。

皮下投与により resveratrol の bioavailavility が増加した要因については、初回通過効果の軽減と投与の徐放化に加え、投与量の増加も関与していると考えられる。事実、皮下投与における resveratrol の投与量は、225 mg/kg であり、経口投与の約 11 倍にあたる。このような違いはあるが、本研究では、経口投与以外の resveratrol 投与法は、その bioavailability 改善に十分有効である可能性を確認できた。しかし、これを直ちに実用化するのは、1 日 1 回の皮下投与が患者への負担を増

大させると共に、投与時に苦痛を与えるものと予想される。これら問題を解決する手段として、経皮吸収への展開は有効であると考えられる。また、resveratrol の bioavailability の改善率と、TCDD 毒性軽減効果との間の関連性についてはほとんど明らかになっていない。この点についても、今後明らかにするべき課題であると考えられる。

約 40 年前に発生したカネミ油症事件における油症患者の血中ダイオキシンレベルは、健常人に比べ未だ高い値を示しており（6）、影響の長期化が危惧されている。このため、安全かつ有効な予防法の開発は急務であり、その目的を達成するためにも、resveratrol をはじめとした食物成分による毒性軽減法の開発に関する研究は有用であると考えられる。

D. 参考文献

1) Yu, C., Shin, Y. G., Chow, A., Li, Y., Kosmeder, J. W., Lee, Y. S., Hirschelman, W. H., Pezzuto, J. M., Mehta, R. G. and van Breemen, R. B., Human, rat, and mouse metabolism od resveratrol. Pharm. Res., 19, 1907-1914 (2002).

2) Marier, J.-F., Vachon, P., Gritsas, A., Zhang, J., Moreau, J.-P. and Ducharme, M. P., Metabolism and Disposition of resveratrol in rats: Extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model. J. Pharmacol. Exp. Ther., 302, 369-373 (2002).

3) Safe, S., Verschoyle, R. D., Boocock, D., Jones, D. J. L., Wisher, N., Ruparelia, K. C., Potter, G. A., Farmer, P. B., Steward, W. P. and Gescher, A. J., Pharmacokinetics in mice and growth-inhibitory properties of the putative cancer chemopreventive agent resveratrol and the synthetic analogue trans 3,4,5,4'-tetramethoxystilbene. Br. J. Cancer, 90, 736-744 (2004).

4) Lambert, J. D., Kim, D. H., Zheng, R. and Yang, C. S., Transdermal delivery of (-)-epigallocatechin-3-gallate, a green tea polyphenol, in mice. J. Pharm. Pharmacol., 58, 599-604 (2005).

5) Guido, S., David, J., Thangam, J., Majeed, M., Rajendran, R. and Srinivas, P. S. S. R, Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. Planta Med., 64, 353-356 (1998).

6) Furue, M., Uenotsuti, T., Urabe, K., Ishikawa, T. and Kuwabara, M., Overview of Yusho. J. Dermatol. Sci., Suppl. 1, S3-S10 (2005).

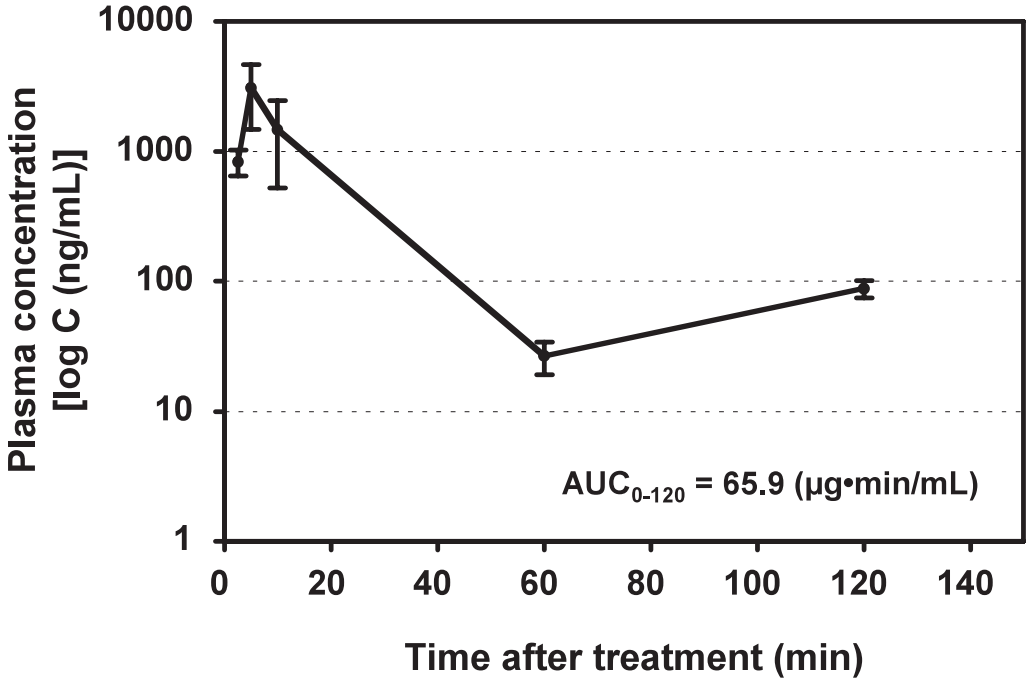


Fig. 1. Plasma concentration of resveratrol after its oral administration.

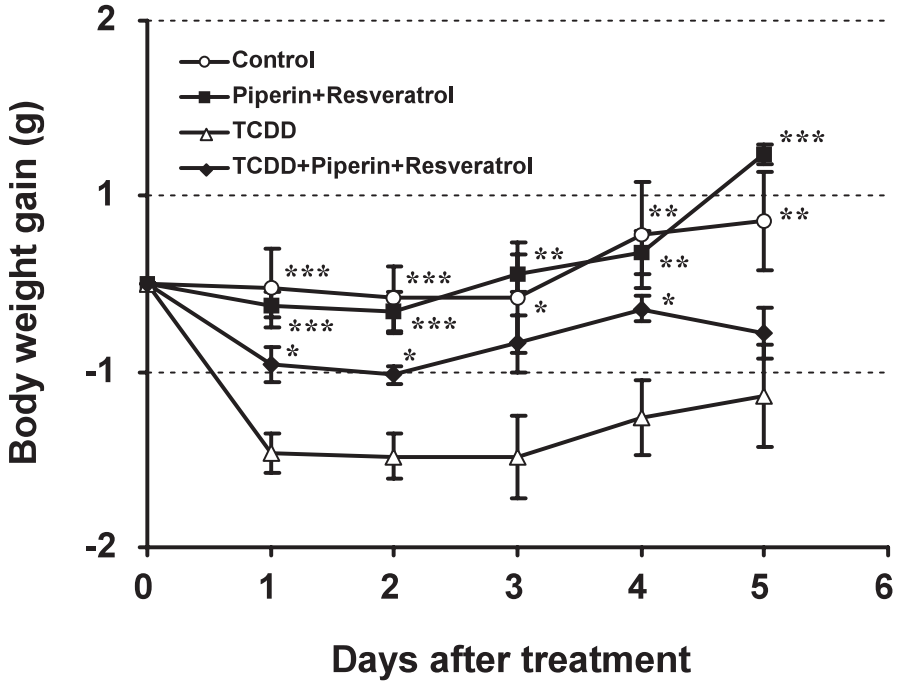


Fig. 2. Effect of piperine and resveratrol on wasting syndrome induced by TCDD in C57BL/6J mice. The values represent the mean ± S.E. of 5 mice. The initial body weights of mice in control, piperine+resveratrol-treated, TCDD-treated and TCDD+piperine+resveratrol-treated groups were 22.08 ± 0.31, 20.66 ± 0.22, 22.08 ± 0.36 and 21.88 ± 0.13 g, respectively. Significant differences from TCDD-treated group: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

Table 1. Effect of piperine and resveratrol on the tissue weight changes induced by TCDD in C57BL/6J mice.

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.68 ± 0.09	0.27 ± 0.00	0.19 ± 0.01
Piperine+Resveratrol	4.85 ± 0.11***	0.24 ± 0.01*	0.18 ± 0.01
TCDD	7.46 ± 0.04***	0.25 ± 0.01	0.08 ± 0.01***
TCDD+ Piperine+Resveratrol	6.85 ± 0.12***	0.26 ± 0.01	0.08 ± 0.00***

The values represent the mean ± S.E. of 5 mice. Significant difference from control group: *, $p<0.05$; ***, $p<0.001$.

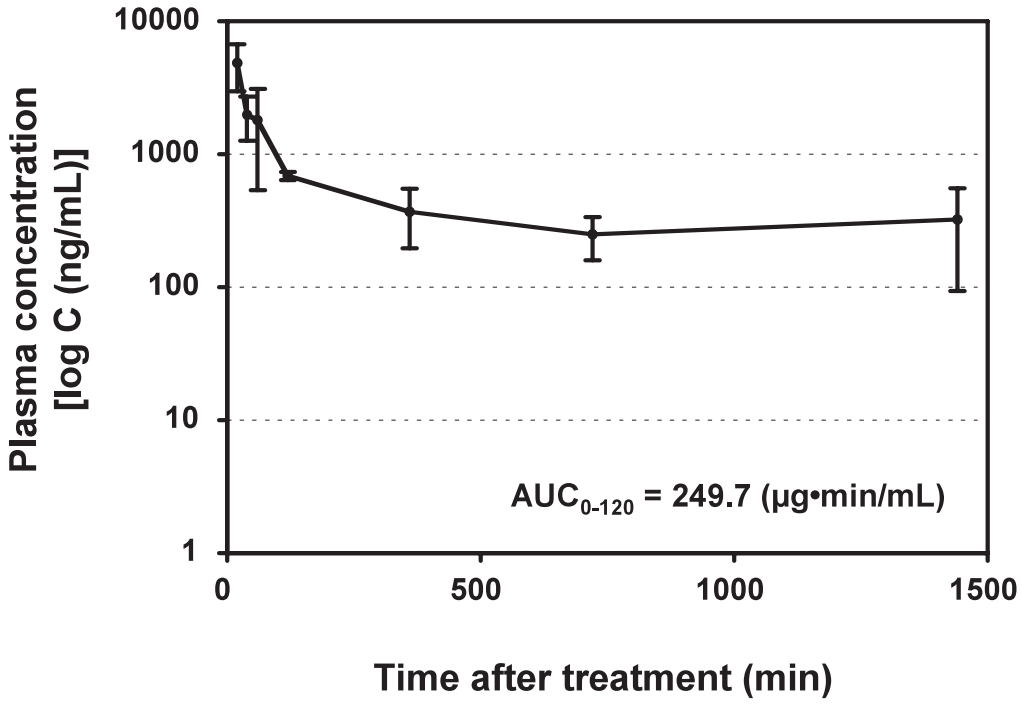


Fig. 3. Plasma concentration of resveratrol after its subcutaneous injection.

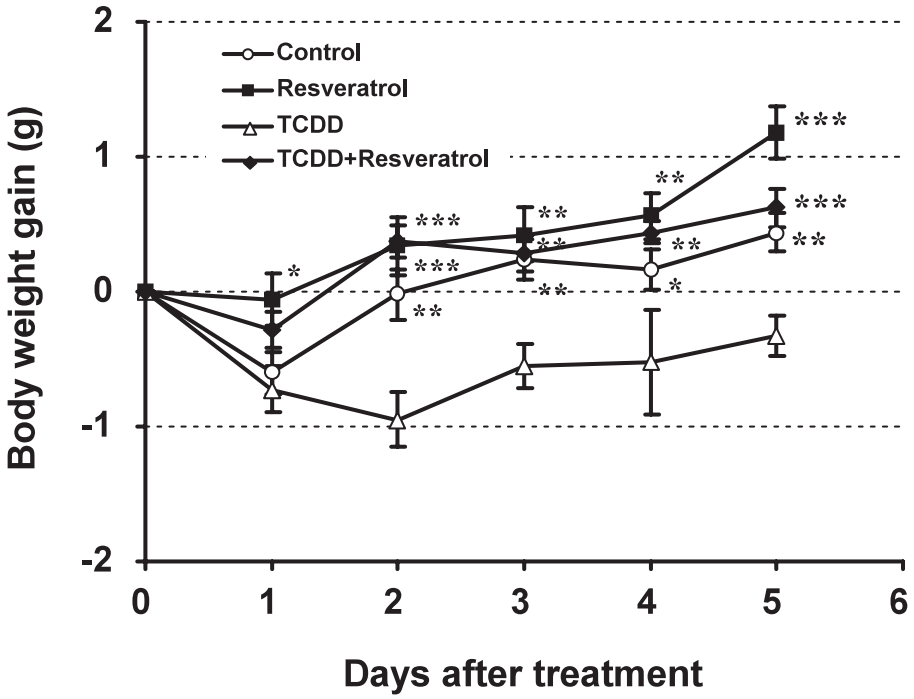


Fig. 4. Effect of subcutaneous injection of resveratrol on wasting syndrome induced by TCDD in C57BL/6J mice. The values represent the mean ± S.E. of 4 or 5 mice. The initial body weights of mice in control, resveratrol-treated, TCDD-treated and TCDD+resveratrol-treated groups were 21.92 ± 0.24, 22.06 ± 0.28, 20.90 ± 0.51 and 21.08 ± 0.26 g, respectively. Significant differences from TCDD-treated group: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

Table 2. Effect of subcutaneous injection of resveratrol on changes of the tissue weights induced by TCDD of C57BL/6J mice.

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.90 ± 0.11	0.324 ± 0.01	0.232 ± 0.01
Resveratrol	6.20 ± 0.04	0.367 ± 0.01	0.214 ± 0.01
TCDD	7.11 ± 0.07***	0.263 ± 0.01*	0.088 ± 0.01***
TCDD + Resveratrol	6.78 ± 0.32 **	0.294 ± 0.03	0.080 ± 0.01***

The values represent the mean ± S.E. of 4 or 5 mice. Significant difference from control group: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

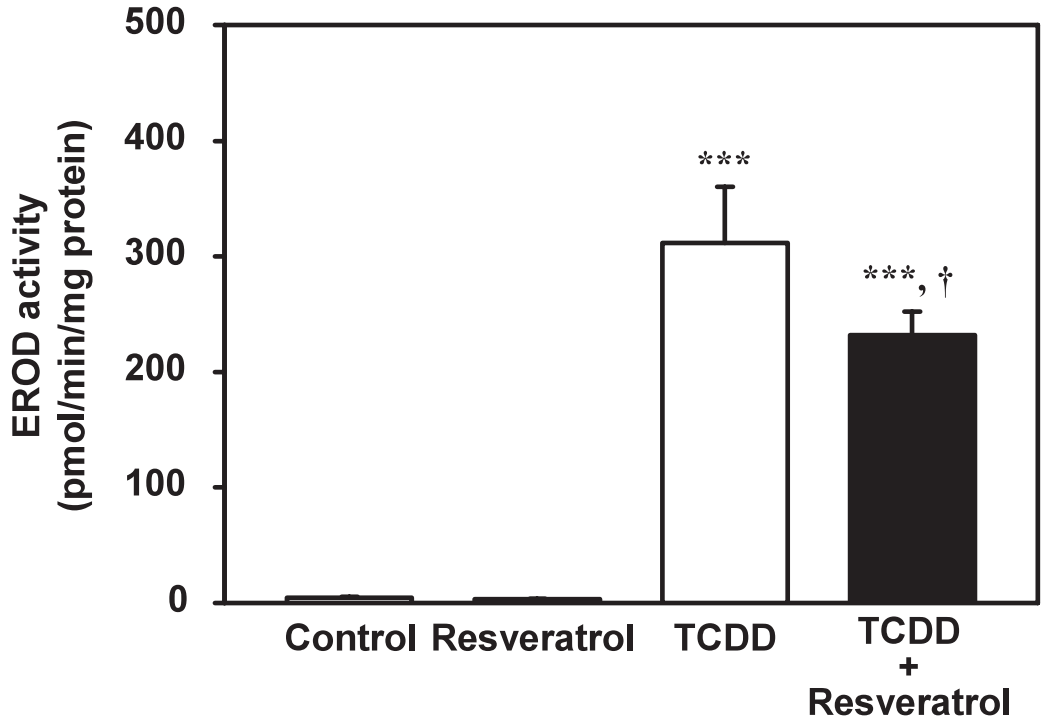


Fig. 5. EROD activity of hepatic 9,000xg supernatant from C57BL/6J mice after exposure to resveratrol and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 4 or 5 mice. Significant difference from control group: ***, $p<0.05$. Significant difference from TCDD-treated group: †, $p<0.05$.

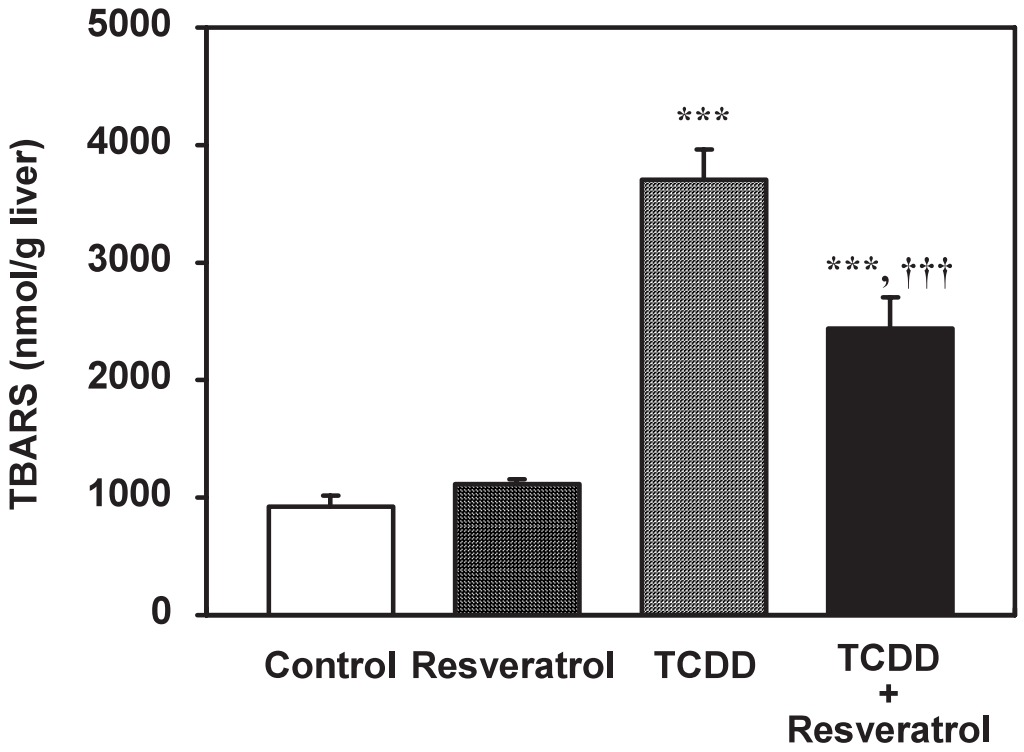


Fig. 6. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 4 or 5 mice. Significant different from control: ***, $p<0.001$. Significant different from TCDD-treated group: †††, $p<0.001$.

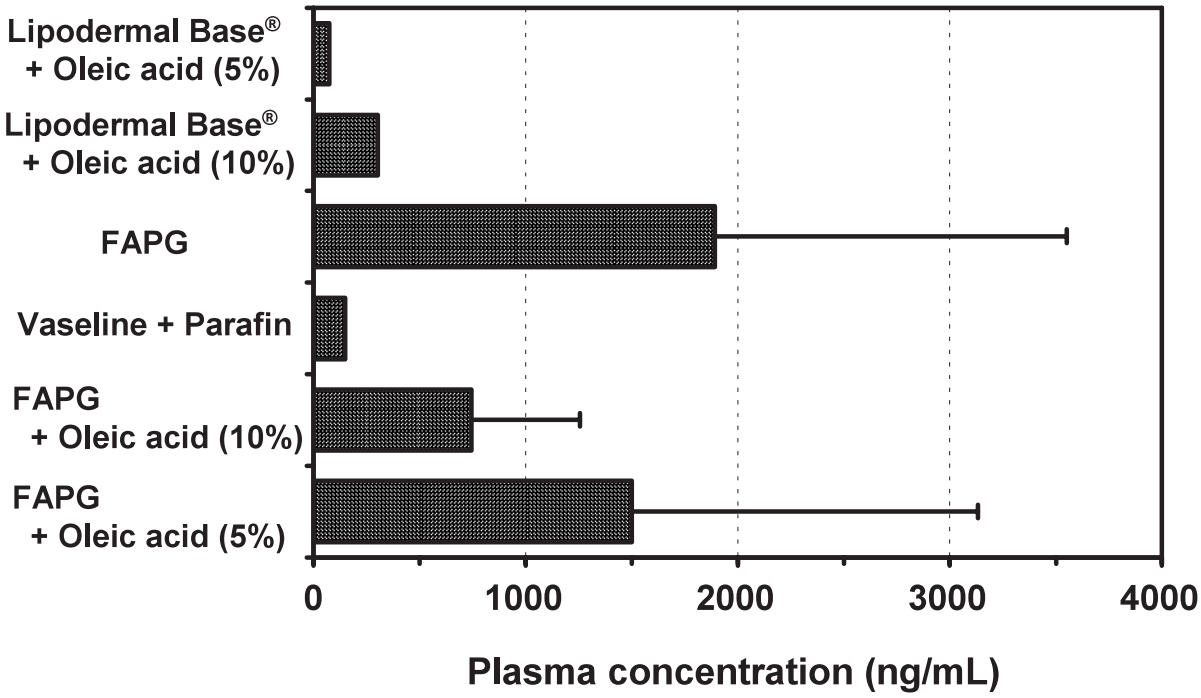


Fig. 7. Effects of various basements on transdermal absorption of resveratrol.

分担研究報告書

食物成分 piperine によるダイオキシン類毒性軽減の試み

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
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　准教授
　　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　助教

研究要旨　当研究室では、ダイオキシン類の中毒症状に対する有効な予防法の開発を目的として、黒胡椒の辛味成分である piperine に注目し、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性に対する効果を検討した。その結果、piperine 自体は、高用量をマウスに与えた場合、体重増加抑制、並びに脾臓や胸腺の重量低下が観察された。しかし、このような影響が現れない用量では、TCDD による体重増加抑制および脂肪肝の誘発を軽減することが明らかとなった。また、piperine の作用機構について検討を行った結果、TCDD により増加する酸化的ストレスの軽減を通じて発揮されている可能性が示された。一方、piperine と curcumin を併用して curcumin の最高血中濃度、およびその維持時間を改善した場合、curcumin による酸化的ストレス除去能、および遊離脂肪酸代謝能が減弱することが明らかとなった。本研究より、piperine は、ダイオキシン類の中毒症状に対して有効であると考えられた。しかし、他の有効成分と併用した場合、その効果を減弱化させる可能性も示された。

A. 研究目的

当研究室では、ダイオキシン類の毒性軽減を目的として、主に日常的な摂取が可能な食物成分に注目し、有効成分の探索とその評価を行ってきた（1）。本研究では、その研究の一環として、黒胡椒の辛味成分である piperine に注目し検討を行った。Piperine は、*in vitro* におけるダイオキシン類毒性バイオアッセイ法を用いたスクリーニングの結果から、芳香族炭化水素受容体（aryl hydrocarbon receptor: AhR）に対してアンタゴニスト様作用を示すことが示唆されている（2）。現時点では、*in vivo* における piperine のダイオキシン類毒性に対する効果を検証した報告はなされていない。しかし、ダイオキシン類の毒性のほとんどが AhR を介して発揮されると考えられていることから、piperine の AhR に対する作用は、ダイオキシン類毒性に対して有効であると予想される。また、piperine は、生体内における代謝反応であるグルクロン酸抱合反応の阻害、並びにそれに伴う生物学的利用能増強作用をもつことも報告されている（3,4）。事実、ウコンの主要成分である curcumin と piperine を併用した場合、ラットとヒトに

おいて curcumin の吸収促進、並びに血中濃度の上昇が報告されている（5）。curcumin については、以前、当研究室における検討から、ダイオキシン類の毒性の一部を軽減する可能性が示唆されている（1）。このことから、curcumin と piperine を併用することにより、curcumin の効果の増強が期待された。

以上のような背景のもと、本研究では、上記の仮説を検証するため、ダイオキシン類の中でも最強の急性毒性を示す 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) を用いて、その毒性に対する piperine 自身の効果、並びに curcumin と piperine の併用による効果を検討した。

B. 方法・結果

Piperine の毒性に関する検討

先ず、piperine 自身の生体への影響を明らかにするため、検討を行った。3 週令の C57BL/6J 系雄性マウスを 1 週間馴化し、各群 5 匹として、piperine を 15、30 および 45 mg /kg の用量で 1 日 1 回連続経口投与した。また、コントロール群（0 mg/kg 投与群）として、溶媒である 0.5% methylcellulose 溶液を他の群と同量となるように経口投与した。投与翌日より同量の piperine を 14 日間経口投与し、最終投与 24 時間後に臓器を摘出して重量を測定した。肝臓については、1.15% KCl で灌流し、10% ホモジネートを調製したのち、その一部を使用時まで -80 ˚C に保存した。また、残りについては、9,000 x g で 20 分間遠心したのち、その上清を -80 ˚C で保存した。また、ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) 活性、並びにチオバルビツール酸反応性物質（TBARS）値の測定は、Burke らの方法（6）、並びに Ohkawa らの方法（7）に従い、それぞれ 9,000 x g 上清、並びにホモジネートを用いて行った。

Fig. 1 に各群における経日的体重変化を示す。Piperine 15 および 30 mg/kg 投与群では、コントロール群と比べ差は認められなかった。これに対し、piperine 45 mg/kg 投与群では、投与 10 日目前後より、コントロール群に比べ有意な体重増加抑制が観察された。また、投与 14 日目における臓器重量を測定した結果、piperine 45 mg/kg 投与群では、脾臓と胸腺重量の有意な低下が観察された（Table 1）。次に、ダイオキシン類の毒性発現の主要機構と考えられている AhR を介した酵素誘導、並びに酸化的ストレス惹起に対する piperine 自身の影響を観察するため、EROD 活性と TBARS 値を測定した。その結果、piperine 30 および 45 mg/kg 投与群において、EROD 活性の有意な増加が観察された（Fig. 2）。これに対し、TBARS 値に差は認められなかった（Fig. 3）。

以上の結果から、piperine 自身は、30 mg/kg 以上の投与量で、予想に反して AhR に対するアゴニスト様作用を示し、かつ 45 mg/kg の投与量では、体重増加抑制、並びに脾臓や胸腺の萎縮を惹起することが確認された。以上の結果を考慮し、TCDD 毒性軽減の検討では、piperine の投与量を 20 mg/kg として検討を行うこと

とした。

Piperine の TCDD 毒性に対する影響

次に、piperine による TCDD 毒性への影響について検討するため、5 週令の C57BL/6J 系雄性マウスに piperine を 20 mg/kg 経口投与し、その 90 分後に TCDD を 100 μg/kg 単回経口投与した。また、piperine 投与の対照群には、0.5% methylcellulose 溶液を、また TCDD 投与の対照群には、corn oil をそれぞれ同量投与した。投与翌日より、同量の piperine あるいは溶媒のみを 1 日 1 回、28 日間連続経口投与し、最終投与 24 時間後に臓器を摘出した。肝 EROD 活性と TBARS 値は、前述の実験と同様に測定した。肝臓のトリグリセリド含量および遊離脂肪酸含量は、肝ホモジネートよりイソプロパノールにて抽出したのち、市販のキット（トリグリセライド E-テストワコー、および NEFA C-テストワコー、和光純薬工業株式会社）を用いて測定した。

Fig. 4 に、投与期間中の体重変化を測定した結果を示す。コントロール群と piperine 投与群では、飼育日数に伴う体重の増加が観察されたのに対し、TCDD 処理群では、投与初日より体重の抑制が観察された。一方、piperine の併用群（TCDD+piperine）では、投与 17 日目まで TCDD 処理群とほぼ同様の推移を示したものの、それ以降、僅かではあるが TCDD 処理群に比べ体重増加抑制の軽減が認められた。さらに、最終投与後における臓器重量を測定した結果、piperine の併用は、TCDD による脾臓の萎縮を軽減することが明らかとなった（Table 2）。一方、肝肥大と胸腺の萎縮に対しては、piperine は効果を示さなかった。次に、TCDD により惹起される脂肪肝に対する効果を検討するため、肝臓におけるトリグリセリド含量および遊離脂肪酸含量を測定した。その結果、両指標は TCDD 投与によって増加するが、piperine はこのうちの遊離脂肪酸量の増加を有意に抑制した（Fig. 5 および 6）。次に、piperine による効果が発揮される機構を推察するため、EROD 活性と TBARS 値を測定した。その結果、piperine は、EROD 活性に対しては影響を示さなかったが、TBARS 値に対しては、TCDD による値の上昇を低下させる傾向が観察された（Fig. 7 および 8）。

Piperine と curcumin の併用による TCDD 毒性への影響

次に、piperine による他の食物成分の作用への影響を検証するため、piperine と curcumin の併用による TCDD 毒性への影響を検討した。5 週令の C57BL/6J 系雄性マウスを 3 日間馴化し、piperine 20 mg/kg と curcumin 100 mg/kg を 5 分間の間隔を空けて経口投与したのち、60 分後に TCDD を 100 μg/kg 経口投与した。コントロール群には、piperine および curcumin の溶媒である 5% gum arabic/0.5% Tween 80/0.9% saline 溶液および TCDD の溶媒である corn oil を、それぞれ同量経口投与した。投与翌日より、1 日 1 回、同量の piperine と curcumin を、

必ず piperine、curcumin の順番となるように 28 日間経口投与し、最終投与 60 分後に臓器を摘出した。摘出した臓器の処置、並びに各指標の測定方法については、前述の実験と同様に行った。

Fig. 9 には、実験期間中における経日的体重変化を示す。以前の当研究室での結果と同様、curcumin の併用により、TCDD による体重増加抑制の軽減傾向が観察された。しかし、piperine と curcumin を併用しても、体重増加抑制の軽減傾向は、curcumin のみの処理と大差なかった。同様に、TCDD による肝肥大と胸腺の萎縮に対しても、curcumin の併用および piperine と curcumin の併用は回復効果を示さなかった（Table 3）。次に、EROD 活性と TBARS 値についても検討を行った結果、EROD 活性について影響は見られなかったものの、TBARS 値においては、curcumin 自身が、TCDD による TBARS 値の上昇をコントロールレベルにまで回復させることが明らかとなった。しかし、piperine を併用すると、その curcumin の効果が却って減弱される傾向が明らかとなった（Fig. 10 および 11）。

（倫理面への配慮）

本研究における動物実験は全て、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認を受けたのち実施した。

C. 考察

本年度は、TCDD 中毒症状に対する新たな有効成分の探索を目的として、食物成分である piperine に注目し検討を行った。その結果、この物質は TCDD による体重増加抑制、並びに脂肪肝の惹起に対して効果がある可能性が示唆された（Fig. 4, 5 および 6）。特に、TCDD 誘発性脂肪肝に対しては、大きな効果が期待できるものと予想された。また、この piperine による毒性軽減の機構について検討を行った結果、piperine は、TCDD による酸化的ストレスの惹起を軽減する傾向が明らかとなった（Fig. 8）。しかし、この軽減は微弱であり、これだけで piperine の効果を説明するのは不十分であると思われた。このため、piperine による TCDD 毒性の軽減機構には、酸化的ストレスの軽減は関与するものの、それ以外の要因の寄与が大きい可能性が示唆された。一方、piperine と curcumin を同時に投与した場合、TCDD による体重増加抑制は、curcumin 単独に比べ軽減される傾向にあることが明らかとなった（Fig. 9）。しかし、TCDD による酸化的ストレスの惹起に対しては、curcumin 自身に効果があったものの、piperine を同時投与することで、curcumin の効果が減弱される傾向が示された（Fig. 11）。また、この効果は、TCDD の有無に関わらず観察されたことから、piperine と curcumin の同時投与によって生じる現象であると予想された。一般に、食物中や医薬品中の有効成分は、その作用を発揮するためには、ある程度の血中濃度が維持される必要があり、また、高い血中濃度を長時間維持することにより、効果を増強することができると考えられる。今回得られた結果は、このような一般的概念とは矛盾

する結果となった。すなわち、piperine はグルクロン酸抱合の抑制剤として、curcumine の代謝反応を抑制するにもかかわらず（3,4）、curcumine の効果を増強せず、むしろ却って減弱させる効果を示した。この様な結果が得られた理由について、本検討で明らかにすることはできなかったが、一つの可能性として、curcumin による抗酸化的ストレス作用や遊離脂肪酸代謝促進作用は、curcumin 自身ではなく、その代謝物によって引き起こされるため、piperine による代謝低下が、そのまま作用の減弱化に繋がったことが予想される。また、piperine により、curcumin の体内分布に変化が生じ、curcumin の肝臓における効果が低下した可能性も否定できない。しかし、本検討で得られた結果は、有効と考えられる食物成分同士の飲み合わせを考える上で、問題点を提起することとなった。

最近、多くの食物成分がサプリメントの形で消費者の手に渡っている。Piperine に関しても、それ自身の効果を期待して単体のサプリメントとして販売されているものや、他の栄養成分の bioavailability を上昇させる成分として配合されたものが販売されている。本検討の結果から、piperine はダイオキシン類毒性の一部に対して有効である可能性が示唆された。しかし、高用量の摂取が生体に対して悪影響を及ぼす可能性も明らかになったと共に、他の成分との同時摂取が、かえって効果を減弱化させてしまう可能性も示唆された。ダイオキシン類中毒の予防薬としての適応を考えた場合、今後は、これらの問題を考慮した上で検討を進めていく必要があると思われた。

D. 参考文献

1) Ishii, Y., Ishida, T., Mutoh, J., Yamada, H. and Oguri, K., Possible candidates for the compound which is expected to attenuate dioxin toxicity. Fukuoka Igaku Zasshi, 96, 204-213 (2005).

2) Amakura, Y., Tsutsumi, T., Yoshida, T. and Maitani, T., Screening of the inhibitory effect of vagetable constituents on the aryl hydrocarbon receptor-mediated activity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Biol. Pharm. Bull., 26, 1754-1760 (2003).

3) Atal, C. K., Dubey, R. K. and Singh, J., Biochemical basic of enhanced drug bioavailability by piperine: evidence that piperine is a potent inhibitor of drug metabolism. J. Pharmacol. Exp. Ther., 232, 258-262 (1985).

4) Singh, J., Dubey, R. K. and Atal, C. K., Piperine-mediated inhibition of glucuronidation activity in isolated epithelial cells of the guinea-pig small-intestine: evidence that piperine lowers the endogeneous UDP-glucuronic acid content. J. Pharmacol. Exp. Ther., 236, 488-493 (1986).

5) Guido, S., David, J., Thangam, J., Majeed, M., Rajendran, R. and Srinivas, P. S. S. R., Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. Planta Med., 64, 353-356 (1998).

6) Burke, M. D. and Mayer, R. T., Inherent specificities of purified cytochrome P-450 and

P-448 toward biphenyl hydroxylation and ethoxyresorufin deethylation. Drug Metab. Dispos., 3, 245-253 (1975).
7) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem., 95, 351-358 (1978).

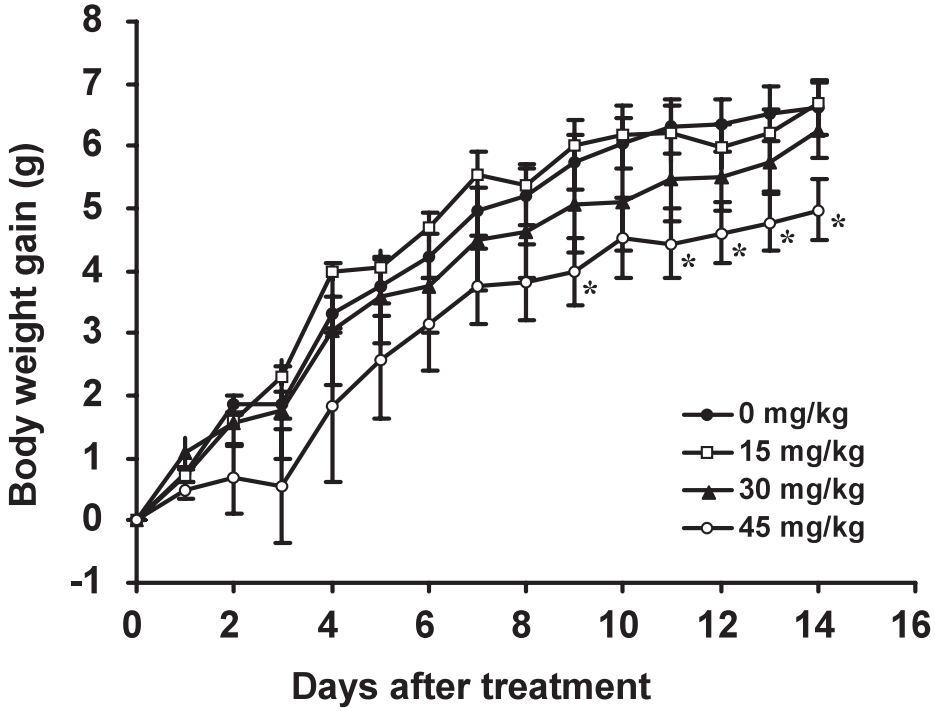


Fig. 1. Effects of piperine on body weight gain in C57BL/6J mice. The values represent the mean ± S.E. of 5 mice. The initial body weights of mice in control, 15 mg/kg piperine, 30 mg/kg piperine and 45 mg/kg piperine-treated mice were 14.72 ± 1.53, 15.06 ± 0.84, 14.60 ± 0.41 and 15.12 ± 0.27 g, respectively. Significant difference from the control group; *, $p<0.05$.

Table 1. Effect of piperine on the tissue weights of C57BL/6J mice.

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.71 ± 0.34	0.31 ± 0.01	0.30 ± 0.02
15 mg/kg piperine	5.45 ± 0.32	0.31 ± 0.02	0.25 ± 0.01*
30 mg/kg piperine	5.72 ± 0.07	0.29 ± 0.03	0.24 ± 0.02
45 mg/kg piperine	5.81 ± 0.10	0.23 ± 0.01***	0.19 ± 0.01***

The values represent the mean ± S.E. of 5 mice. Significant difference from control (0 mg/kg piperine): *, $p<0.05$; ***, $p<0.001$.

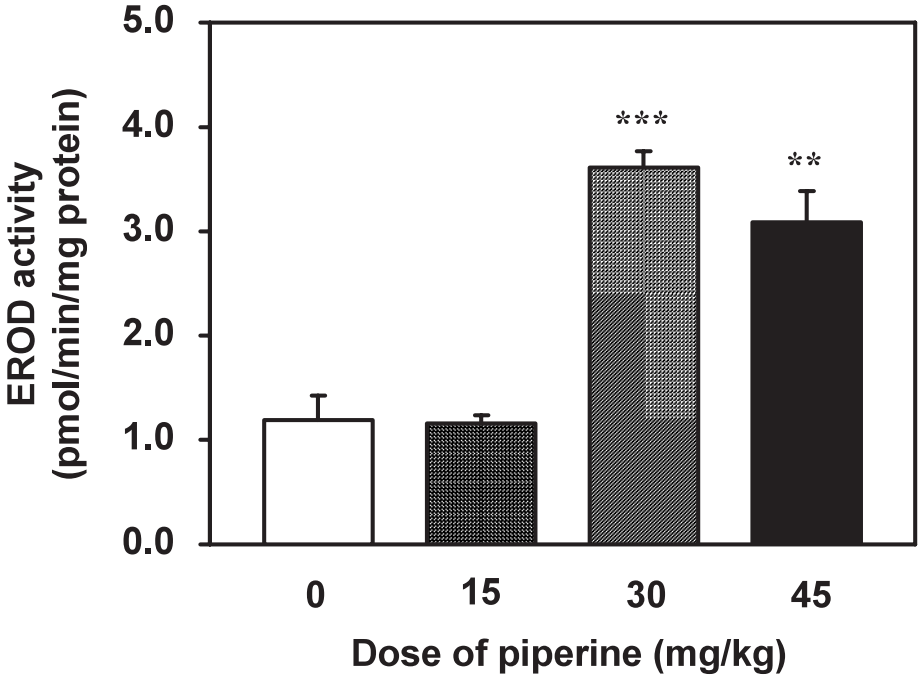


Fig. 2. EROD activity of liver microsomes for C57BL/6J mice after exposure to piperine. The values represent the mean ± S.E. of 5 mice. Significant difference from control (0 mg/kg piperine): **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

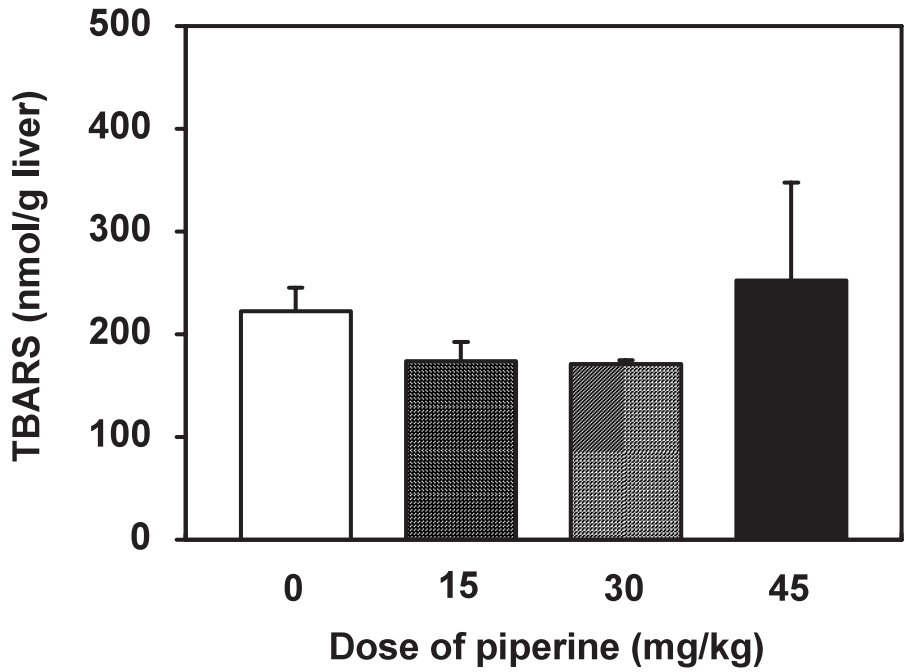


Fig. 3. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine. The values represent the mean ± S.E. of 5 mice.

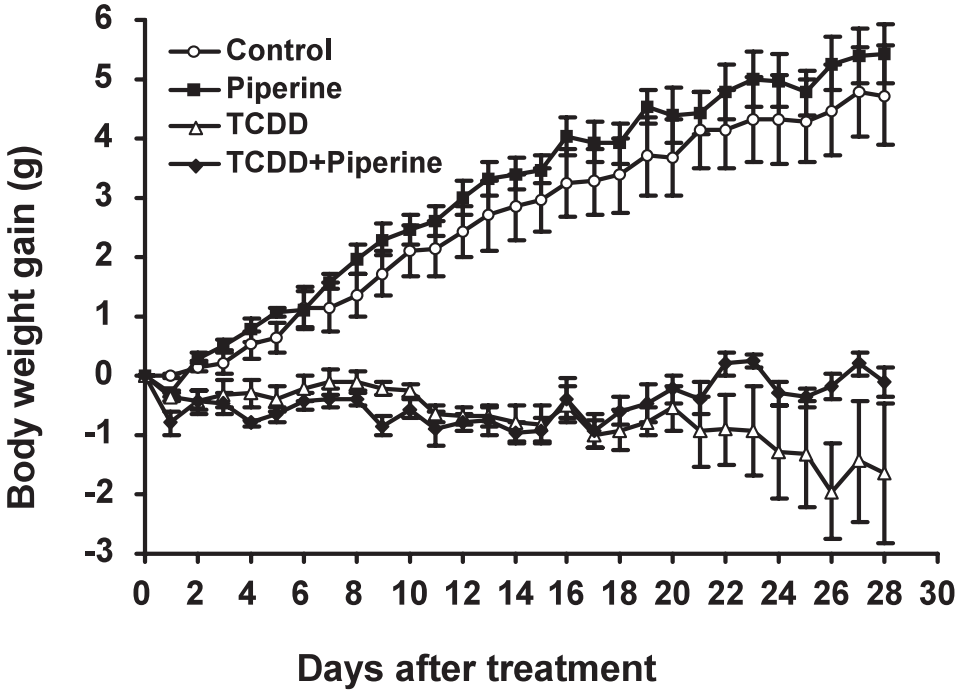


Fig. 4. Effect of piperine and TCDD on body weight gain in C57BL/6J mice. The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. The initial body weights of mice in control, piperine-treated, TCDD-treated and TCDD+piperine-treated groups were 19.92 ± 0.29, 19.86 ± 0.16, 19.70 ± 0.24 and 19.74 ± 0.38 g, respectively.

Table 2. Effect of piperine and TCDD on the tissue weights of C57BL/6J mice.

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.17 ± 0.11	0.25 ± 0.01	0.17 ± 0.02
Piperine	5.08 ± 0.10	0.25 ± 0.01	0.13 ± 0.01*
TCDD	7.90 ± 0.36***	0.21 ± 0.01**	0.03 ± 0.01***
TCDD + Piperine	8.20 ± 0.24***	0.23 ± 0.02	0.04 ± 0.01***

The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant difference from control group: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

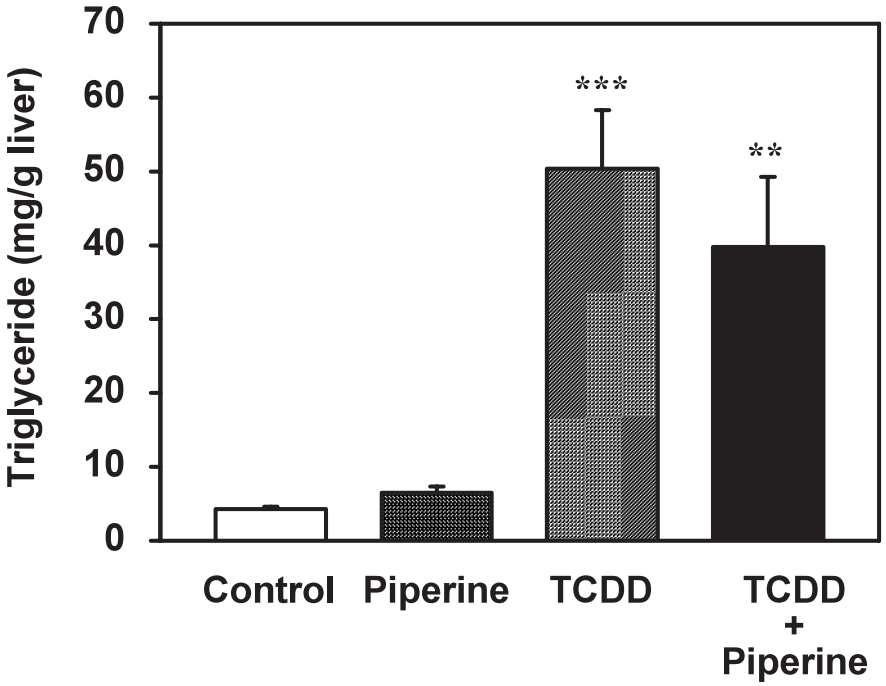


Fig. 5. Hepatic triglyceride contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 3 mice. Significant difference from control group: **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

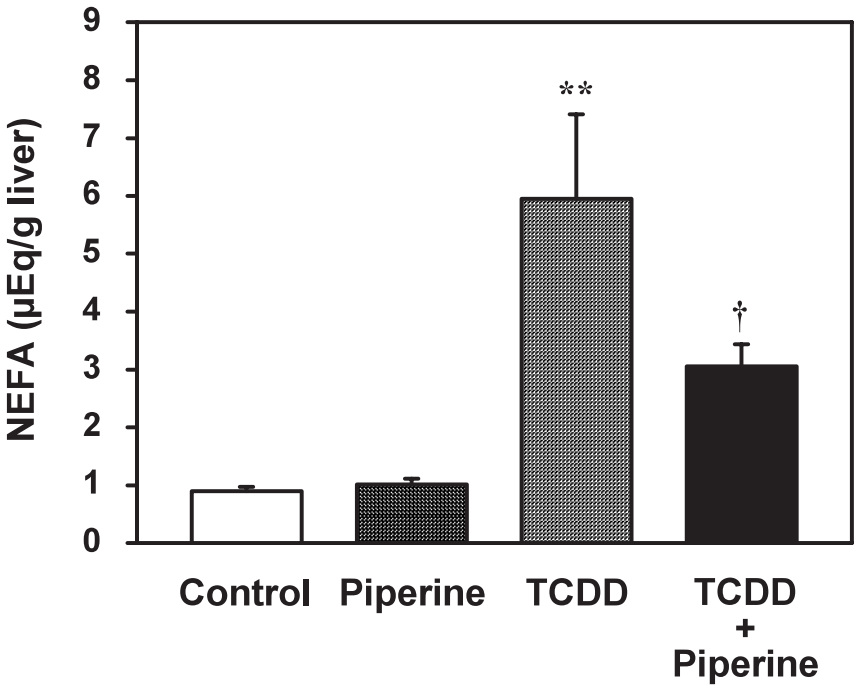


Fig. 6. Hepatic non-esterified fatty acid (NEFA) contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 3 mice. Significant difference from control group: **, $p<0.01$; from TCDD-treated group: †, $p<0.05$.

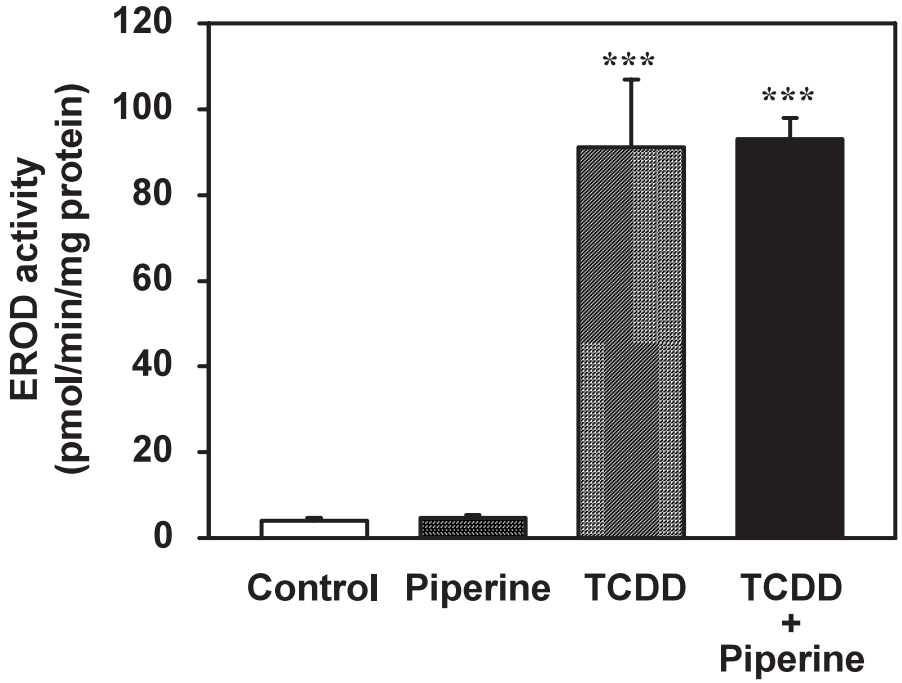


Fig. 7. EROD activity of liver microsomes for C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant difference from control group: ***, $p<0.05$.

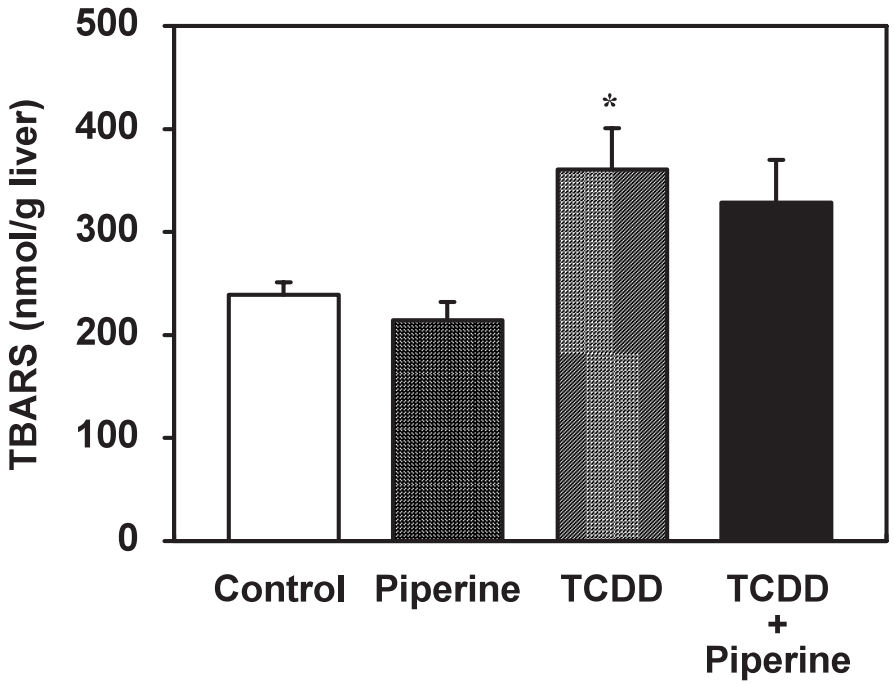


Fig. 8. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to piperine and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant different from control: *, $p<0.05$.

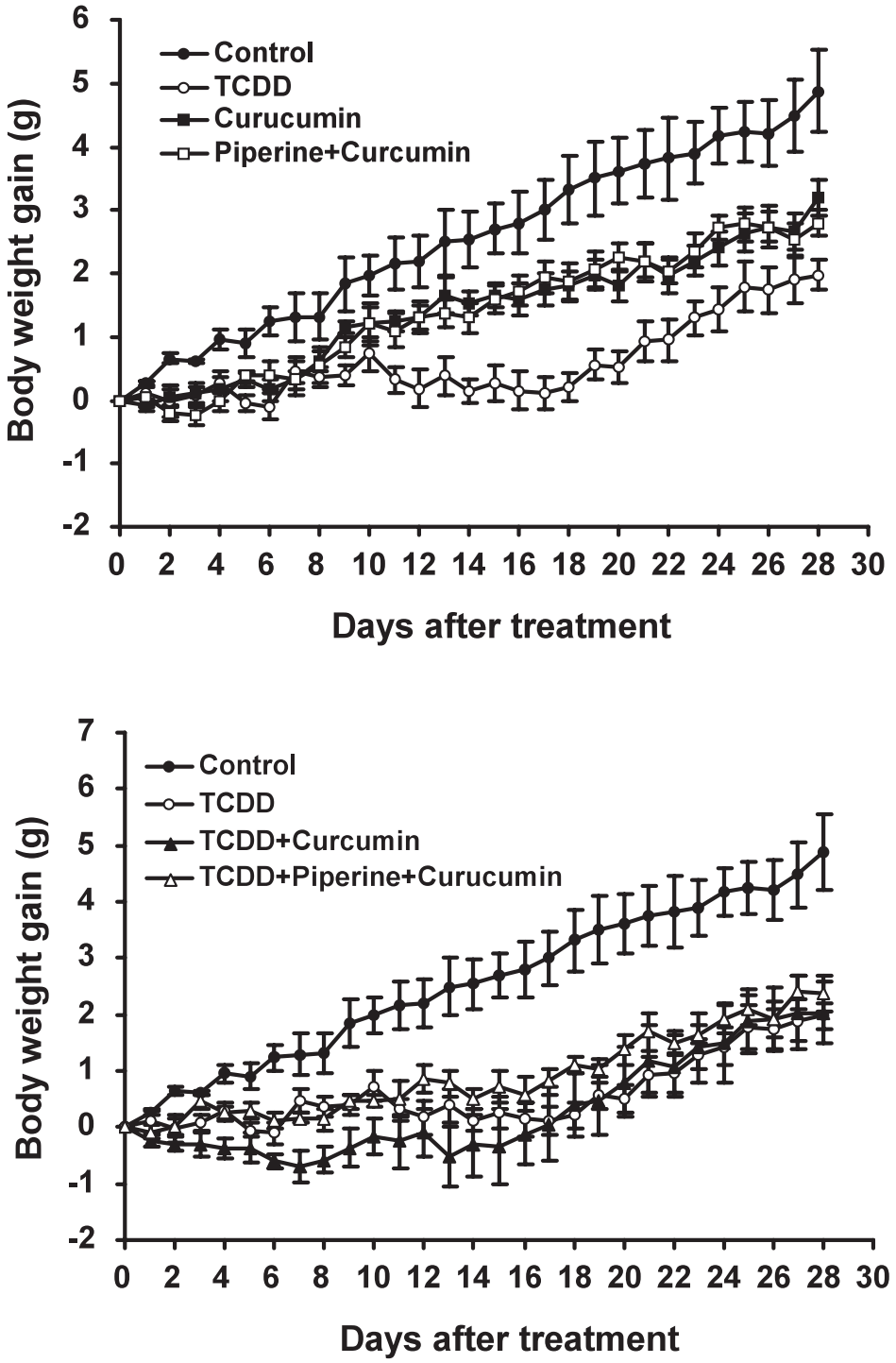


Fig. 9. Effects of curcumin, piperine and TCDD on body weight gain in C57Bl/6J mice. The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. The initial body weights of mice in control, TCDD-treated, curcumin-treated, TCDD+curcumin-treated, piperine+curcumin-treated and TCDD+piperine+curcumin-treated group were 19.4 ± 0.23, 18.8 ± 0.33, 18.8 ± 0.29, 19.7 ± 0.51, 19.9 ± 0.47 and 18.7 ± 0.44 g, respectively.

Table 3. Effect of curcumin, piperine and TCDD on the tissue weights of C57BL/6J mice.

	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	4.90 ± 0.16	0.26 ± 0.01	0.19 ± 0.01
TCDD	6.80 ± 0.25**	0.26 ± 0.02	0.05 ± 0.01**
Curcumin	5.07 ± 0.07	0.24 ± 0.01	0.18 ± 0.01
TCDD + Curcumin	6.40 ± 0.28**	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.00**
Piperine + Curcumin	4.55 ± 0.12	0.24 ± 0.01	0.15 ± 0.02
TCDD + Piperine + Curcumin	6.52 ± 0.26**	0.25 ± 0.02	0.06 ± 0.01**

The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant difference from control group: **, $p<0.01$.

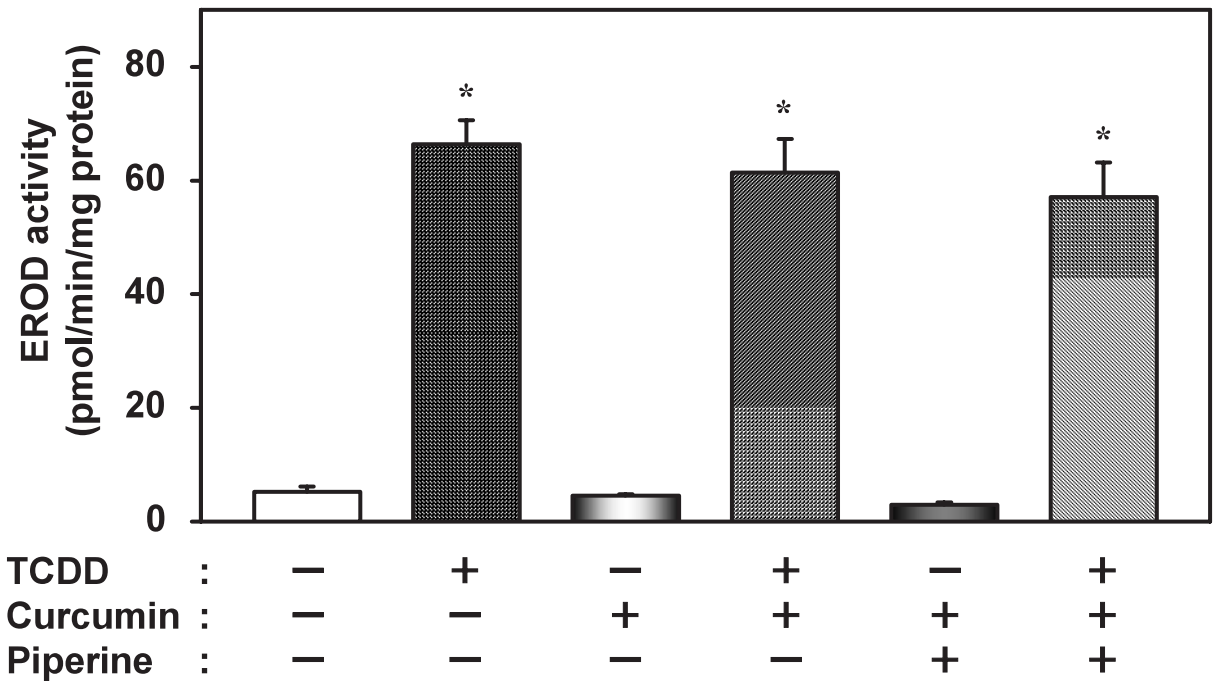


Fig. 10. EROD activity in liver microsomes of C57BL/6J mice after exposure to curcumin, piperine and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant differences from control group: *, $p<0.05$.

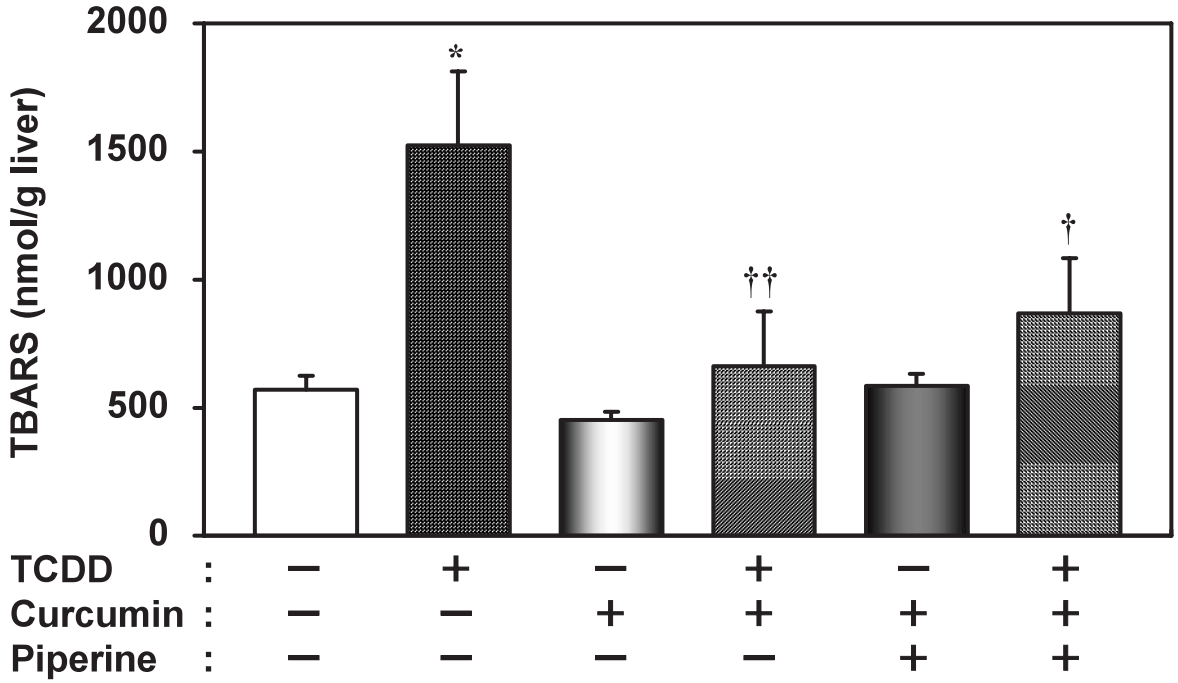


Fig. 11. Hepatic TBARS contents of C57BL/6J mice after exposure to curcumin, piperine and TCDD. The values represent the mean ± S.E. of 5 or 6 mice. Significant differences from control group: *, $p<0.05$. Significant differences from TCDD-treated group: †, $p<0.05$; ††, $p<0.01$.

分担研究報告書

ダイオキシンのステロイドホルモン合成障害機構の解明：成獣への脳室内投与による週令依存性に関する検討

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　准教授
　　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　助教

研究要旨　ダイオキシン類による後世代影響は、その感受性の高さ、並びに影響の大きさから社会的な関心を集めている。当研究室における検討から、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 母体曝露時の胎仔精巣において、ステロイドホルモン合成酵素の発現量が顕著に低下することが明らかにされている。さらに、この発現量の低下が、脳下垂体において生合成される性腺刺激ホルモンの分泌量の低下より引き起こされることも明らかとなっている。この TCDD による作用は胎仔特異的なものであり、成獣雄ラットへの TCDD 曝露では惹起されない。本研究では、TCDD 曝露による後世代影響の胎仔期特異性の原因を明らかにするため、TCDD を脳室内投与した成獣雄ラットの精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現量の変化を検討した。その結果、TCDD の直接的な脳への曝露にもかかわらず、成獣では精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現量に変化は認められなかった。また、脳下垂体より分泌される黄体形成ホルモンと濾胞刺激ホルモンの発現量も、TCDD による低下は観察されなかった。以上の結果から、TCDD による胎仔期特異的な後世代影響は、TCDD の脳内移行率、もしくは曝露量に依存的な機構によるものではなく、胎仔の脳自身の反応性に起因して発症する可能性が示唆された。

A. 研究目的

当研究室では、ダイオキシン類による後世代影響の発症機構を解明するため、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) をモデル化合物として検討を行っている。これまでに、胎仔期における母体への TCDD の曝露が、胎仔精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現を低下させることを明らかにした（1,2）。また、この TCDD における影響の作用部位が、精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現を制御する上位因子である黄体形成ホルモン（luteinizing hormone: LH）の分泌量低下にあることも明らかにしている（1）。一方、成獣雄ラットに TCDD を経口投与した場合、精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現量は変化しない（1）。さらに、ラットの場合、胎仔に

おけるダイオキシン類の脳への蓄積率は、成獣よりも高いことが報告されている（3,4）。これらの事実から考えた場合、TCDD による後世代影響が胎仔期特異的である要因として、胎仔脳への TCDD の移行率、もしくは曝露量の大きさが深く関与している可能性が挙げられる。また、これが事実であれば、成獣ラットの脳に直接高用量の TCDD を投与することにより、胎仔と同様の現象を再現できるのではないかと予想された。以上のような背景のもと、本研究では、ダイオキシン類による後世代影響発症機構の解明を目的として、成獣ラットへの TCDD の脳室内直接投与を行い、精巣におけるステロイドホルモン合成酵素への影響を検討した。

B. 方法・結果

TCDD 脳室内投与によるラット精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現変動

ステロイドホルモンは、産生臓器において細胞質に存在するコレステロールを原料として生合成される。この合成には、cytochrome P450 (Cyp) を始めとする様々な機能性タンパク質が関与する（Fig. 1）。当研究室におけるこれまでの検討から、TCDD 母体曝露時における胎仔精巣において、steroidogenic acute regulatory protein (StAR)、CYP11A1、CYP11B1, CYP17 並びに 3β-hydroxysteroid dehydrogenase の発現量がコントロールに比べ有意に低下することが明らかとなっている。そこで、本研究では、この中からステロイドホルモン生合成の律速段階を司る StAR に注目し、成獣ラットへの TCDD 脳室内投与による影響を検討した。

7 週令の Wistar 系雄性ラットに TCDD (10 μg/kg) を脳室内投与し、その 5 日後に目的の臓器を摘出した。脳室内投与については、実験動物用脳定位固定装置（アイテック株式会社製）を用い、ペントバルビタール麻酔下で行った。コントロール群には、溶媒である corn oil を同量投与し、同様の処理を行った。摘出した臓器よりそれぞれ mRNA を抽出し、逆転写反応を行い cDNA を調製した。

Fig. 2 に、精巣における StAR の mRNA 量を半定量的 RT-PCR 法を用いて定量した結果を示す。これまでの検討から、TCDD 母体曝露時の胎仔精巣において、StAR mRNA 量は、コントロールの 40% 程度にまで低下することが明らかとなっている。これに対し、成獣雄ラットへの TCDD の脳室内投与では、精巣 StAR mRNA 量に変動は認められなかった。

TCDD 脳室内投与による下垂体性腺刺激ホルモンの発現変動

胎仔精巣におけるステロイドホルモン生合成酵素の発現の上位因子は、脳下垂体より分泌される性腺刺激ホルモンであると考えられている。事実、当研究室におけるこれまでの検討から、TCDD 母体曝露時における胎仔精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現低下は、脳下垂体での LH β-subunit の合成低下に起因することが明らかとなっている。先の検討から、ラ

ット成獣に対する TCDD の脳室内投与は、精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現量に影響を与えなかった。そこで、その原因を明らかにするため、TCDD の脳室内投与が下垂体の性腺刺激ホルモンの発現量に及ぼす影響について検討した。

先の検討と同様の方法にて処理したラット成獣より下垂体を摘出し、同様の方法で cDNA を調製した。これをサンプルとして、特異的な primer を用いて LH、並びに濾胞刺激ホルモン（follicle-stimulating hormone: FSH）のそれぞれの β-subunit の mRNA 量を定量した。この検討の前に、TCDD の脳下垂体への移行を確認する目的で、CYP1A1 mRNA 量を定量した。その結果、TCDD 処理群では、顕著な mRNA 量の増加が認められた（Fig. 3）。CYP1A1 は、ダイオキシン類依存的に誘導されることが知られている薬物代謝酵素の一つであり、ダイオキシン類曝露の指標の一つである。従って、本検討で用いた脳室内投与法により、下垂体は TCDD に曝露されていることが確認された。次に、LH と FSH の β-subunit の mRNA 量を定量した。その結果、いずれについても、TCDD 処理群とコントロール群との間に差は認められなかった（Fig. 4）。以上の結果から、TCDD 曝露胎仔の脳下垂体において観察される性腺刺激ホルモンの発現量の低下は、胎仔の脳特異的な現象であり、成獣ラット脳の下垂体への TCDD 曝露では惹起されないことが明らかとなった。

（倫理面への配慮）

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認を受けたのち実施した。

C. 考察

TCDD による影響の中でも、性行動異常等に見られる後世代影響は、その影響の大きさから、発症機構の解明、および予防法の開発が重要な研究課題となっている。その発症機構については不明な点も多いが、当研究室における検討から、胎仔脳への影響が深く関与していると考えられる。本研究では、TCDD の脳への曝露量が後世代影響発症の主要因であると考え、成獣ラットへの TCDD 脳室内直接投与による影響を観察した。その結果、成獣ラットの精巣におけるステロイドホルモン合成酵素、並びに下垂体における性腺刺激ホルモンの発現量は、TCDD 処理により変化しなかった（Fig. 2 および 4）。これらの結果から、少なくとも成獣の脳への TCDD の曝露では性ステロイド合成系への悪影響は惹起されない可能性が示唆された。

これまでの報告から、母体に TCDD が曝露された場合、胎仔への移行率は投与量の 0.062％程度であると報告されている（3,4）。さらに、このうち脳内に移行する量は、曝露量の 13％程との報告があることから（3,4）、胎仔脳内に移行する量は極微量（母体曝露量の 0.008％程度）であると予想される。当研究室における検討から、TCDD 母体曝露による胎仔ステロイドホルモン合成酵素の発現低下は、TCDD 1 μg/kg 以下の用量では惹起されな

かった（1）。TCDD 1 μg/kg が母体に曝露された場合、上記の比率から胎仔の脳における TCDD の曝露量は、極めて微量であると予想される。本検討で用いた TCDD の用量（10 μg/kg）はこれに対して非常に高い用量であることから、脳室内投与における TCDD の曝露量が不十分であったとは考えにくい。また、脳室内投与後の下垂体において、CYP1A1 mRNA が顕著に増加していたことから（Fig. 3）、TCDD は、下垂体まで到達し、作用を発揮したと考えられる。以上より、胎仔特異的な TCDD の後世代影響は、TCDD の脳内への移行率、もしくは曝露量が要因ではなく、胎仔の脳自身の TCDD への反応性が要因である可能性が考えられる。

脳に関する研究は現在でも活発になされているが、未解明な点も多い。特に、胎仔期における脳機能の発達、もしくは外的因子に対する応答性については、成獣におけるそれとは異なっていると予想されているものの、詳細については未だ不明である。本研究より、TCDD に対する胎仔脳での性腺刺激ホルモン分泌の低下は、曝露量ではなく脳自身の反応性に起因する可能性が示唆された。このため、今後は、脳の発達、並びに環境応答機構も視野に入れ研究を展開する必要があると考えられる。

D. 参考文献

1) Mutoh, J., Taketoh, J., Okamura, K., Kagawa, T., Ishida, T., Ishii, Y. and Yamada, H., Fetal pituitary gonadotropin as an initial target of dioxin in its impairment of cholesterol transportation and steroidogenesis in rats. Endocrinology, 147, 927-936 (2005).

2) Taketoh, J., Mutoh, J., Takeda, T., Ogishima, T., Takeda, S., Ishii, Y., Ishida, T. and Yamada, H., Suppression of fetal testicular cytochrome *P450 17* by maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin: A mechanism involving an initial effect on gonadotropin synthesis in the pituitary. Life Sci., 80, 1259-1267 (2007).

3) Pohjanvirta, R., Vartiainen, T., Unsi-Rauva, A., Monkkonen, J. and Tuomisto, J., Tissue distribution, metabolism, and excretion of ^{14}C-TCDD in a TCDD-susceptible and a TCDD-resistant rat strain. Pharmacol. Toxicol., 66, 93-100 (1990).

4) Hurst, C. H., DeVito, M. J., Setzer, R. W. and Birnbaum, L. S., Acute administration of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in pregnant Long Evans rats: association of measured tissue concentrations with developmental effects. Toxicol. Sci., 53, 411-220 (2000).

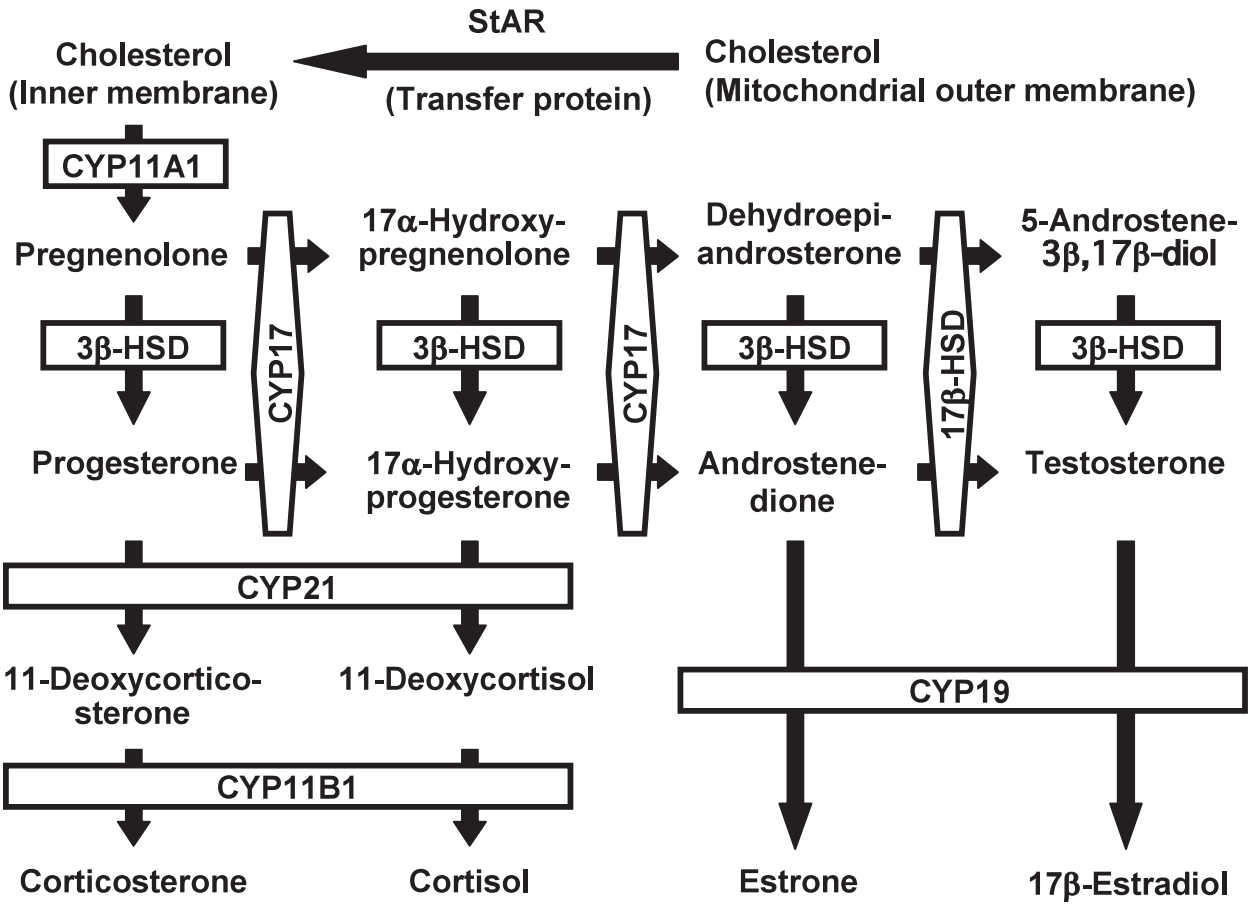


Fig. 1. The pathways of steroidogenesis

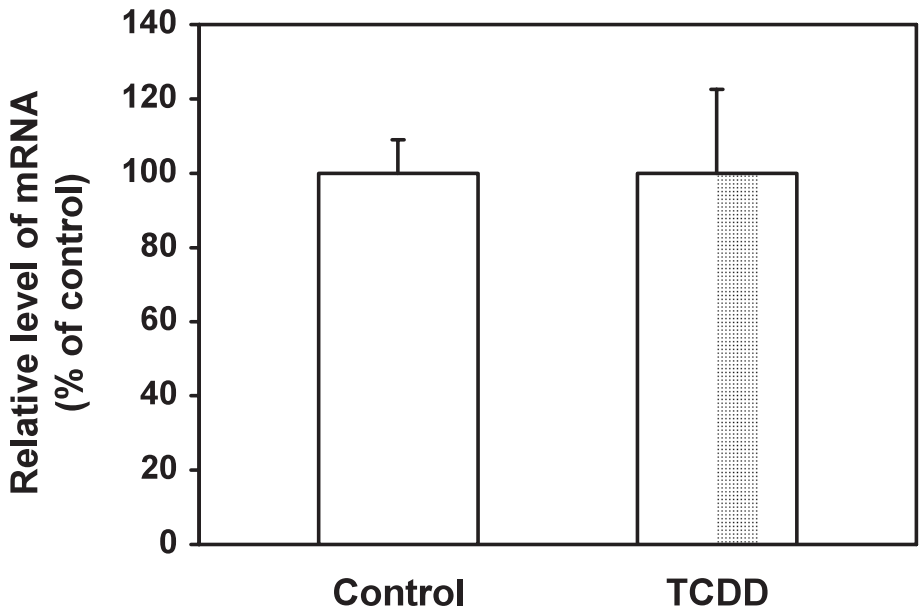


Fig. 2. Change in the expression of testicular StAR mRNA in rat treated with intraventricular injection of TCDD (10 μg/kg).
The values represent the mean ± S.E. of 4 mice. The expression levels of the mRNA were normalized by β-actin used as a standard mRNA.

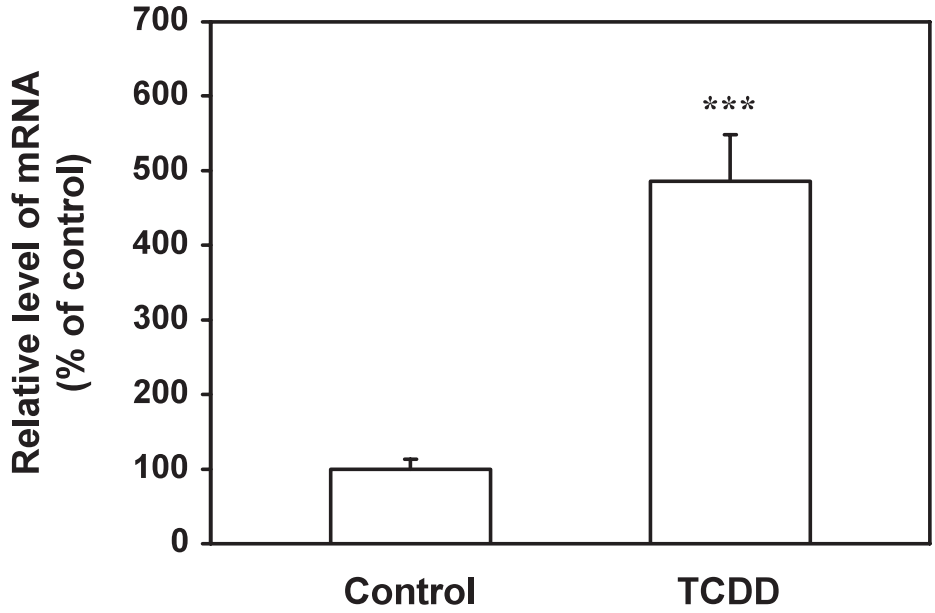


Fig. 3. Induction of pituitary CYP1A1 mRNA in rat treated with intraventricular injection of TCDD (10 μg/kg). The values represent the mean ± S.E. of 4 or 5 mice. The expression levels of the mRNA were normalized by β-actin used as a standard mRNA. Significant different from control: *, $p<0.001$.

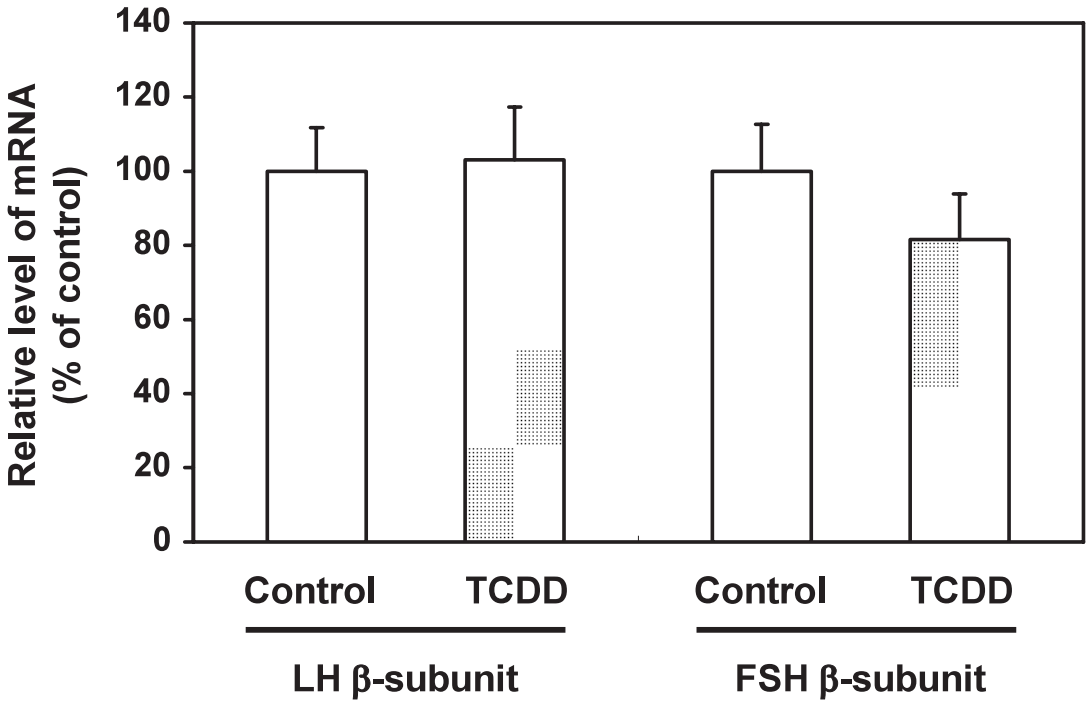


Fig. 4. Change in the expression of pituitary LH and FSH β-subunit mRNAs in rat treated with intraventricular injection of TCDD (10 μg/kg). The values represent the mean ± S.E. of 4 or 5 mice. The expression levels of the mRNA were normalized by β-actin used as a standard mRNA.

分 担 研 究 報 告 書

2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル(CB146)の動物肝によるin vitro代謝

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

4-水酸化(OH)-CB146はPCB代謝物のうち、哺乳動物血液中で、4-OH-CB187に次いで、2番目に高濃度で検出されている。本代謝物の親PCBとしてCB146、CB138およびCB153が考えられることから、本研究ではまず、CB146からの生成の有無を明らかにするため、ラット、モルモット、ハムスターおよびヒト肝ミクロゾーム(Ms)によるin vitro代謝を調べた。その結果、3種類の一水酸化体(M-1、M-2およびM-3)が生成され、このうち、M-1とM-2はそれぞれ3'-OH-CB146と4-OH-CB146であることが明らかとなった。特に4-OH-CB146 (M-2)はラットで生成活性が高いこと、驚いたことにラットに次いでヒト肝で高いことも明らかとなった。なお、4-OH-CB146の生成はモルモットを除き、PBおよびMC前処理ラットおよびハムスター肝Msでほとんど増加しなかった。この結果は、4-OH-CB146の生成にPB誘導性のP450、すなわちCYP2B酵素があまり関与していないことを示唆している。一方、3'-OH-CB146の生成はPB前処理ラット、モルモットおよびハムスター肝Msのいずれでも著しく増加したことから、CYP2B酵素の強い関与が示唆された。

A. 研究目的

ヒトを含む哺乳動物の血中に、PCB 代謝物である4-水酸化(OH)体が高濃度で検出されている [1-5]。最も多いのは、4-OH-CB187で、次いで 4-OH-CB146 および 4-OH-CB107 である。当研究室では、まず 4-OH-CB187 の親 PCB を明らかにするため、CB187 と CB183 の代謝について検討したところ、4-OH-CB187 は CB187 から生成されるが [6,7]、CB183 からは全く生成されないことが明らかとなった [8]。一方、4-OH-CB146 は、CB146 からだけでなく、CB138 や CB153 からも 4,5-エポキシドの生成および NIH 転位を経由して生成される可能性がある。本研究では、2番目に多く検出される 4-OH-CB146 が、CB146 から生成されるか否かについてラット、モルモット、ハムスターおよびヒト肝ミクロゾーム(Ms)を用いて検討した。

B. 研究方法

① CB146 の合成:2,4,5-トリクロロアニリンおよび 1,2,4-トリクロロベンゼンをテトラクロロエチレンで溶かし、亜硝酸イソアミルを加え、油浴中で、110℃、24 時間反応させた。反応残渣は、n-ヘキサンで溶解後、アルミナおよびシリカゲルカラムに付した。次に、CB146 を含む画分を濃縮後、HPLC に付して精製した(保持時間 39.6min;純度 99%)。HPLC 条件:カラム、YMC-Pack ODS (250×20mm I.D.);溶離液、100%アセトニトリル;流速、4.0ml/min;検出波長、254nm。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 200g)、Hartley 系雄性モルモット(体重約 280g)および Golden syrian 雄性ハムスター(体重約 90g)を用いた。動物肝 Ms の調製は、未処理、フェノバルビタール(PB、80 mg/kg/day×3、ip)および 3-メチルコラントレン(MC、20 mg/kg/day×3、ip)前処理の各動物より肝を摘出し、常法により行った。ヒト肝 Ms(9名分)は BD Gentest 社から購入した。代謝活性: 40μM CB146 を、動物肝 Ms、NADPH 生成系、6mM $MgCl_2$、100mM

HEPES 緩衝液(pH 7.4)とともに、37℃で 1 時間インキュベートした後、クロロホルム-メタノール(2:1)および n-ヘキサンで3回抽出し、さらにジアゾメタンでメチル化後、GC-ECD および GC-MS により測定した。代謝物の定量は CB146 未変化体の検量線を用いて行った。

(倫理面への配慮)

「中村学園大学における動物実験のための指針」に従い、動物肝 Ms の調製に際しては、動物の苦痛をできるだけ軽減するため、軽くエーテル麻酔後さらに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、CB146 をラット、モルモットおよびヒト肝 Ms とともに 37℃で 60 分間インキュベートして得られた代謝物の GC クロマトグラムを示す。未処理動物肝 Ms の場合、モルモットでのみ保持時間 16.11min、16.74min および 17.23min に 3 本の代謝物ピークが検出された。これらをそれぞれ M-1、M-2 および M-3 とした。なお、未処理ラットでは M-2 のみが検出されたが、未処理ハムスターでは代謝物ピークは全く見られなかった。一方、ヒト肝 Ms の場合、個人差が多少あるものの、M-2 と M-3 はほとんどのヒトで生成された。男性5名のうち2名はさらに M-1 も生成した。

次に、これら代謝物を定量するとともに、実験動物では P450 誘導剤前処理の効果も調べた(**Table 1**)。まず、未処理モルモットの場合、M-1、M-2 および M-3 はそれぞれ 28.2、1.3 および 4.7pmol/hr/mg protein であった。また、未処理ラットでの M-2 は 24.2pmol/hr/mg protein であった。次に、PB 前処理の場合、モルモットでは、M-1 と M-2 はそれぞれ未処理の 4.2 倍と 5.6倍に増加したが、M-3 は全く検出されなかった。一方、ラットおよびハムスターでは M-1 が新たに著しく増加し、その生成量はラットとハムスターで、それぞれ 51.7 と 31.9 pmol/hr/mg protein であった。なお、ラットの M-2 は未処理の 1.2 倍にすぎなかった。さらに、MC 前処理の場合、モルモットでは、未処理と比べ M-2 が 5.1 倍、M-3 が 3.9 倍に増加したが、M-1 はほとんど変化なかった。また、ラットでは、M-2 は未処理の約 50%にまで激減した。ハムスターでは未処理と同様に、代謝物は全く検出されなかった。

次に男性5名と女性4名の肝 Ms を用いて代謝を調べたところ、M-2 と M-3 が主代謝物であった。これらの生成速度はそれぞれ、男性で 8.0 と 4.2 pmol/hr/mg protein、女性では 8.9 と 4.0 であり、特に大きな性差および個人差は観察されなかった(**Table 2**)。ただし、M-1 は、女性では全く生成されず、男性でも5名中2名しか生成されなかった。

次に、これらの代謝物の化学構造を明らかにするため、予想代謝物として 4-MeO-CB146 、3-MeO-CB153 、4'-MeO-CB133 および 3'-MeO-CB146 を別途合成し、GC-MS におけるマスフラグメンテーションと GC-ECD における保持時間を比較した。その結果、**Table 3** に示すように、3種の代謝物(メチル化体)はいずれも分子量 388 を有していることから、一水酸化体であることが明らかとなった。このうち、M-1(メチル化体)と M-2(メチル化体)はそれぞれ 3'-MeO-CB146 と 4-MeO-CB146 の GC 保持時間と完全に一致するとともに、マスフラグメンテーションもほとんど一致した。ただし、M-3 については一致するものがなく、現在のところ不明である。

D. 考察

本研究により、4-OH-CB146 (M-2)は CB146から生成されることが初めて明らかとなった。特にラットで生成活性が高いこと、驚

いたことにラットに次いでヒト肝で高いことも明らかとなった。この結果は、ヒト血清中に本代謝物が高濃度存在しうることを示唆している。さらに、PB前処理した実験動物肝Msでは、3'-OH-CB146(M-1)の生成が著しく増加していたが、これはPB誘導性のP450(CYP2B)がこの生成に関与していることを示している。なお、モルモット肝とヒト肝で生成されたM-3の化学構造については、現在検討中である。

E. 参考文献

1. Å. Bergman, E. Klasson-Wehler and H. Kuroki, *Environ. Health Perspect.*, **102**, 464-469 (1994).
2. C. D. Sandau, P. Ayotte, E. Dewailly, J. Duffe and R. J. Norstrom, *Environ. Health Perspec.*, **108**, 611-616 (2000).
3. B. Fängström, M. Athanasiadou, P. Grandjean, P. Weihe, Å. Bergman, *Environ. Health Perspec.*, **110**, 895-899 (2002).
4. 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).
5. J. S. Park, L. Linderholm, M. J. Charles, M. Athanasiadou, J. Petrik, A. Kocan, B. Drobna, T. Trnovec, A. Bergman, I. Hertz-Picciotto, *Environ. Health Perspect.*, **115**, 20-27 (2007).
6. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, and N. Koga, *Xenobiotica*, **35**, 319-330 (2005).
7. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, and N. Koga, *Organohalogen Compounds*, **67**, 2343-2345 (2005).
8. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, M. Matsuoka, T. Endo and N. Koga, *Organohalogen Compounds*, **69**, 1761-1764 (2007).

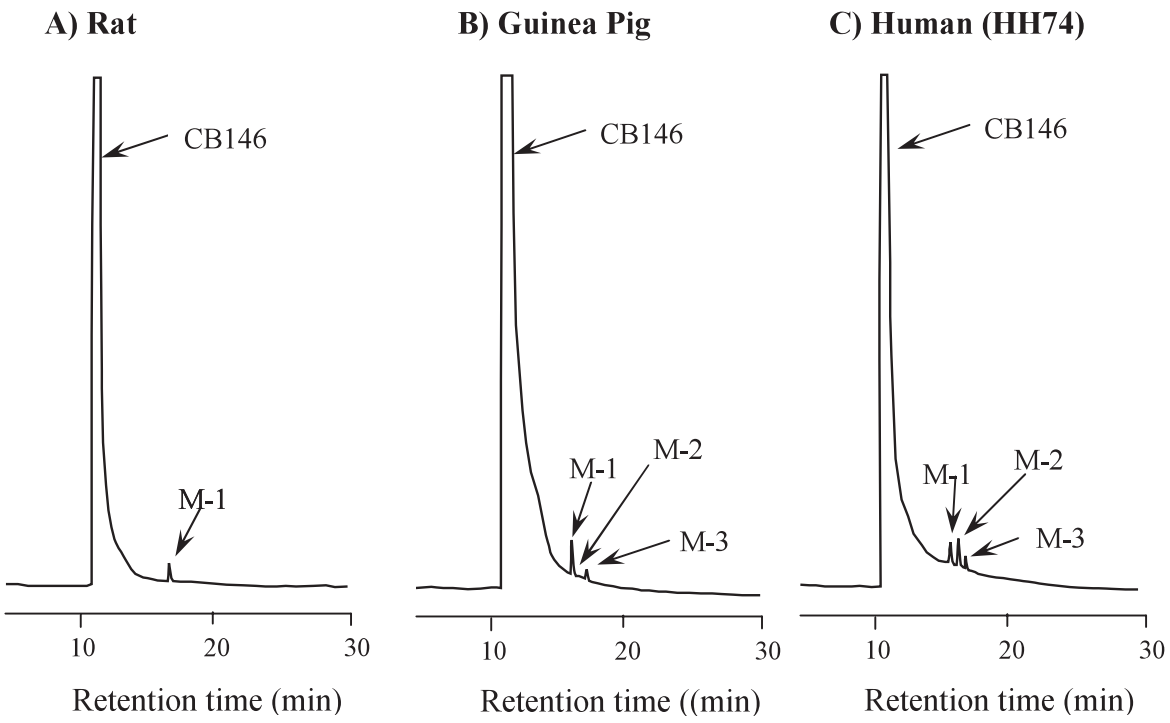


Fig. 1　GC-ECD chromatograms of the methylated derivatives of CB146 metabolites formed by liver microsomes of unreated rats (A), untreated guinea pigs (B) and human HH 74 (C).
The column used for GC-ECD was a DB-1 capillary column (30 m long).

Table 1 Effects of P450 inducers on CB146 metabolism with liver microsomes of rats, guinea pigs and hamsters

Treatment	Metabolite formed (pmol/hr/mg protein) M-1	M-2	M-3
Rat			
Untreated	N.D.	24.2 ± 2.3 (1.00)	N.D.
PB-treated	51.7 ± 8.6*	28.0 ± 3.4 (1.16)	N.D.
MC-treated	N.D.	12.7 ± 5.6* (0.52)	N.D.
Guinea pig			
Untreated	28.2 ± 5.4 (1.00)	1.3 ± 1.6 (1.00)	4.7 ± 5.8 (1.00)
PB-treated	117.0 ± 13.2* (4.15)	7.1 ± 1.8* (5.62)	N.D.
MC-treated	26.1 ± 14.6 (0.93)	6.4 ± 5.2 (5.12)	18.2 ± 3.2* (3.85)
Hamster			
Untreated	N.D.	N.D.	N.D.
PB-treated	31.9 ± 5.5*	N.D.	N.D.
MC-treated	N.D.	N.D.	N.D.

N.D., not detected.

Each value represents the mean ± S.D. of four animals and those in parentheses are the relative ratio of untreated animals.

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

Table 2 *In vitro* metabolism of CB146 by liver microsomes prepared from nine humans.

No.	Sex	Metabolite formed (pmol/hr/mg protein)		
		M-1	M-2	M-3
HG32	♂	N.D.	5.4	N.D.
HG64	♂	3.0	7.7	3.1
HG74	♂	N.D.	11.0	8.9
HH74	♂	5.6	6.3	3.6
HH81	♂	N.D.	9.6	5.5
Ave. ± S.D.	♂	1.7 ± 2.5	8.0 ± 2.5	4.2 ± 3.3
HH77	♀	N.D.	9.5	5.1
HH91	♀	N.D.	8.3	2.7
HH101	♀	N.D.	10.9	4.2
HK37	♀	N.D.	6.9	4.3
Ave. ± S.D.	♀	N.D.	8.9 ± 1.7	4.0 ± 1.0

N.D., not detected.

Table 3 Mass spectral data and retention times of the methylated derivatives of three CB146 metabolites and its synthetic compounds in GC-MS

Compound	Molecular weight [M^+-113]	Mass spectral data (relative abundance, %) [M^+]	[M^+-15]	[M^+-43]		Retention time (min) [M^+-50] in GC-ECD
M-1	388	100	9	26	10	41	16.11
M-2	388	100	32	22	-	48	16.75
M-3	388	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	17.23
6-MeO-CB146	388	100	-	-	134	39	14.14
3'-MeO-CB146	388	100	8	37	12	37	16.11
4'-MeO-CB133	388	100	36	33	-	40	16.27
3-MeO-CB153	388	100	7	45	13	42	16.67
4-MeO-CB146	388	100	44	36	-	46	16.75

N.D., not determined.

CB133, 2,2',3,3',5,5'-hexaCB; CB153, 2,2',4,4',5,5'-hexaCB.

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

The oven temperature in GC-MS 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. The oven temperature used in GC-ECD was 230˚C.

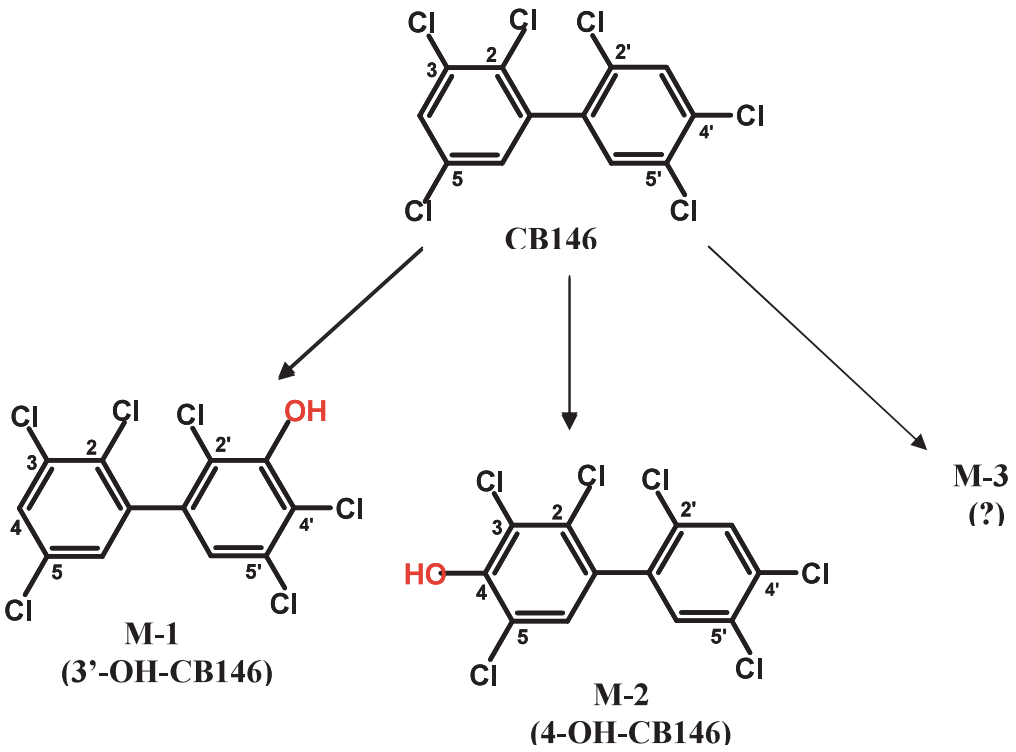


Fig. 2　Postulated metabolic pathways of CB146 in animal and human liver.

分担研究報告書

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細胞内分子動態について検討を行った。TCDD 曝露により気道上皮細胞株の Aryl Hydrocarbon Receptor、CYP1A1 の発現の亢進が認められ、酸化ストレスが発生することが明らかになった。CYP1A1 の発現を抑えることにより、酸化ストレスの発生は現弱した。また抗酸化作用をもつ Vitamine E にの併用により酸化ストレスは減弱したものの CYP1A1 の発現には変化が認められなかった。

A.　研究目的

PCB/ダイオキシン類の曝露により様々な症状が惹起される。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/ ダイオキシン類の毒性として酸化ストレスの関与が考えられている。今回我々は気道上皮細胞の酸化ストレス障害の分子機序を明らかにするために検討を行った

B.　研究方法

細胞内分子の定量：気道上皮由来の細胞株 (BEAS2B) に TCDD を曝露し Aryl Hydrocarbon Rceptor(AHR)、CYP1A1 の蛋白発現レベルを Western blotting にて検討した。

酸化ストレスの計測：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(1)。細胞に PCB/ダイオキシン類を３時間曝露した後に 10 μM の H2DCFDA にて 30 分培養し、FACS にて蛍光（excitation 490nm emission 526nm）を測定した。

C.　研究結果

BEAS2B 細胞へのダイオキシン類 (TCDD) を曝露の結果、細胞内の Aryl Hydrocarbon receptor、CYP1A1 の蛋白発現レベルは亢進し(図 1A),酸化ストレスも増強していることがわかった(図 2)。AHR のアンタゴニストである ANF を併用すると CYP1A1 の誘導はおこらず（図 1B）酸化ストレスも発生しなかった。

抗酸化作用を有するとされる Vitmine 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なった。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が(図 2)、CYP1A1 の発現レベルには変化が無かった（図 1C)。

D.　考察

ダイオキシンの曝露により AHR から CYP1A1 の発現が誘導されること、酸化ストレスが発生することが明らかになった。この酸化ストレスは AHR-CYP1A1 の系を抑制することによって減弱できることも明らかになった。抗酸化作用をもつとされる Vitamin E もダイオキシンによる

酸化ストレスの発生を抑制するが、これはAHR-CYP1A1の系は抑制されていなかった。Sidorova らの報告によるとベンツピレンと Vitamin E の併用でラットの肝臓のCYP1A1発現量は変化ないものの活性が落ちるとされており、蛋白への翻訳後に作用していることが示唆されている(2)。今回の結果からダイオキシン類の細胞傷害性の軽減に関していくつかのアプローチがあることが示唆された。

参考文献

(1) Jakubowski W et al. Estimination of oxidative stress in Saccharomyces cervisae with fluorescent probes. *Int J Biochem Cell Biol*. 29, 1297-1301,1997

(2) Sidorova YA and Grishanova AY. Inhibitory effect of alpha-tocopherol on benzo(a)pyrene-induced CYP1A1 in rat river, *Bull Exp Biol Med*, 140,517-520, 2005

図1.

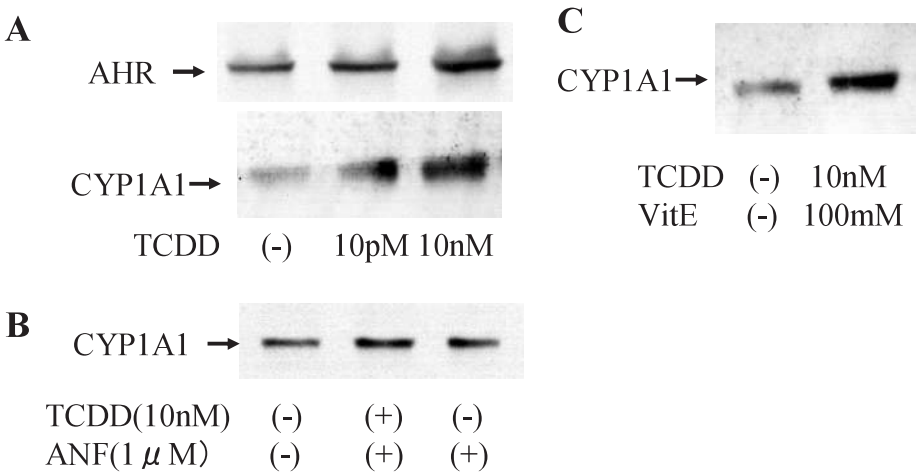
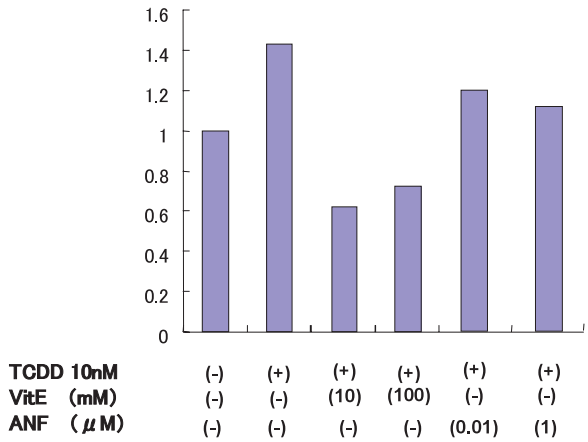


図1A. 気道上皮細胞BEAS2BにTCDD曝露後24時間の蛋白の発現レベルを検討した。
図1B.AHRのアンタゴニストであるANFを併用するとCYP1A1の発現亢進がみとめられなかった。
図1C.VitEとTCDDをともに曝露した場合CYP1A1の発現レベルの低下は認められなかった。

図2.



TCDDを気道上皮細胞（BEAS2B）に曝露し24時間後の酸化ストレスをDCFassayにて計測した。Controlの蛍光強度を1とした。

研究成果の刊行に関する一覧表

（2007 年度分）

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
古江増隆	序言	福岡医学雑誌	98(5)	127-128	2007
神奈川芳行，松本伸哉，田島文一，上ノ土武，柴田智子，古江増隆，今村知明	2001～2003 年度に血中 PCDFs 濃度を測定した油症患者の平均値と現在残留する症状等の比較	福岡医学雑誌	98(5)	129-135	2007
柴田智子，徳永章二，古江増隆	尿中ジアセチルスペルミンと油症に関する検討	福岡医学雑誌	98(5)	136-140	2007
清水和宏，小川文秀，佐藤伸一	油症認定患者血中 Total Antioxidant Power の検討	福岡医学雑誌	98(5)	141-142	2007
吉村俊朗，中野治郎，片岡英樹	カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ	福岡医学雑誌	98(5)	143-148	2007
高尾佳子，小野塚大介，片岡恭一郎，戸高尊，平川博仙，梶原淳睦，吉村健清	油症患者血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の 4 年間の傾向	福岡医学雑誌	98(5)	149-152	2007
松本伸哉，神奈川芳行，田島文一，上ノ土武，柴田智子，古江増隆，今村知明	カネミ油症患者における，ダイオキシン濃度と，最近及び過去の臨床症状の関係	福岡医学雑誌	98(5)	153-159	2007
徳永章二，柴田智子，古江増隆	油症患者の既往歴頻度と血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルとの関連	福岡医学雑誌	98(5)	160-165	2007
辻博，池田正春	油症における性腺機能の検討	福岡医学雑誌	98(5)	166-169	2007
橋口勇，吉嶺嘉人，前田英史，後藤康治，石河真幸，藤井慎介，友清淳，福山宏，奥村英彦，赤峰昭文	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(第六報)	福岡医学雑誌	98(5)	170-175	2007
堀就英，安武大輔，戸高尊，平川博仙，井上英，梶原淳睦，中川礼子，芦塚由紀，飯田隆雄，吉村健清	福岡県油症検診(2006 年度)受診者における血液 PCB 濃度と性状	福岡医学雑誌	98(5)	176-181	2007
増田義人，吉村健清，梶原淳睦，John Jake Ryan	油症発生より 38 年間の患者血液中 PCBs,PCDFs の濃度変遷	福岡医学雑誌	98(5)	182-195	2007
松枝隆彦，梶原淳睦，岩本眞二，飯田隆雄，伊津野知佳，吉村健清	油症認定患者と一般人におけるダイオキシン類の血中残留性と暴露経路の関連性について	福岡医学雑誌	98(5)	196-202	2007

武藤純平，石田卓巳，石井祐次，山田英之	ダイオキシン類母体曝露がマウス胎仔精巣の性ステロイドホルモン生合成系発現に及ぼす影響	福岡医学雑誌	98(5)	203-207	2007
Susumu BAN, Tomoko KONDO, Mayumi ISHIZUKA, Seiko SASAKI, Kanae KONISSHI1, Noriaki WASHINO, Syoichi FUJITA, Reiko KISHI	Using Microarray Analysis to Evaluate Genetic Polymorphisms Involved in the Metabolism of Environmental Chemicals	福岡医学雑誌	98(5)	208-214	2007
Junya NAGAYAMA, Hironori HIRAKAWA, Junboku KAJIWARA, Takao IIDA, Takashi TODAKA, Takeshi UENOTSUCHI, Satoko SHIBATA, Hiroshi TSUJI, Teruaki IWASAKI.	Excretion of Causative PCDFs Congeners of Yusho by One Year Intake of FBRA in Patients with Yusho	福岡医学雑誌	98(5)	215-221	2007
Takashi TODAKA, Hironori HIRAKAWA, Jumboku KAJIWARA, Tsuguhide HORI, Kazuhiro TOBUSHI, Daisuke ONOZUKA, Takao IIDA, Takesumi YOSHIMURA, Masutaka FURUE	Dioxin Concentration in the Blood of Patients Collected during Medical Check-up for Yusho in 2004-2005	福岡医学雑誌	98(5)	222-231	2007
芦塚由紀，中川礼子，平川博仙，堀就英，梶原淳睦，飯田隆雄，吉村健清	2005 年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析	福岡医学雑誌	98(5)	232-235	2007
太田千穂，杢岡樹子，原口浩一，加藤善久，遠藤哲也，古賀信幸	2,2',4,5,5'-五塩素化ビフェニル(CB101)のラット，ハムスターおよびモルモット肝ミクロゾームによる代謝	福岡医学雑誌	98(5)	236-244	2007
Imamura T, Kanagawa Y, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S, Furue M	Relationship between clinical features and blood levels of pentachlorodibenzofuran in patients with Yusho	Environ Toxicol	22(2)	124-131	2007
Imamura T, Kanagawa T, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S, Furue M	Epidemiological aspects of Yusho ; Clinical features and blood levels of pentachlorodibenzofuran in Yusho patients	DIOXIN 2007 Organohalogen Compounds	69	87-90	2007
Imamura T, Ide H, Yasunaga H:	History of public health crises in Japan	J Public Health Policy	28(2)	221-237	2007
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	45(1)	51-59	2007

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	67	S263-S271	2007
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
Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Inoue S, Tobiishi K, Onozuka D, Takao Y, Nakagawa R, Iida T, Yoshimura T, Furue M	TIME TREND OF CONCENTRATIONS OF DIOXIN LIKE PCBs, PCDFs, AND PCDDs IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS	Organohalogen Compounds	69	91-93	2007
Masuda Y, Yoshimura T, Kajiwara J, Ryan JJ	TRANSITION OF PCB AND PCDF CONCENTRATIONS IN YUSHO PATIENTS FOR 38 YEARS	Organohalogen Compounds	69	94-97	2007
Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimura T, Furue M	DIOXIN CONCENTRATION IN THE BLOOD OF PATIENTS COLLECTED DURING MEDICAL CHECK-UP FOR YUSHO IN 2006.	Organohalogen Compounds	69	2129-2132	2007
Hori T, Inoue S, Yasutake D, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Nakagawa R, Ashizuka Y, Iida T, Yoshimura T, Furue M	PCBs CONCENTRATIONS IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS: 2006 YUSHO ANNUAL INSPECTION IN FUKUOKA, JAPAN	Organohalogen Compounds	69	2137-2140	2007
Koga N, Ohta C, Haraguchi K, Matsuoka M, Kato Y, Endo T	The formation of a catechol metabolite of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans	Organohalogen Compounds	69	1757-1760	2007
Ohta C, Haraguchi K, Kato Y, Matsuoka M, Endo T, Koga N,	The distribution of metabolites of 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl (CB183) in rats and guinea pigs	Organohalogen Compounds	69	1761-1764	2007
Y. Kato, S. Ikushiro, R. Takiguchi, K. Haraguchi, N. Koga, S. Uchida, T. Sakaki, S. Yamada, J. Kanno, and M. Degawa	A novel mechanism for polychlorinated biphenyls-induced decrease in serum thyroxine level in rats	Drug Metab Dispos	35(10)	1949-1955	2007
Shimizu K, Ogawa F, Thiele JJ, Bae S, Sato S.	Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning with polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan	J Appl Toxicol	27(2)	195-197	2007
内博史, 吹譯紀子, 柴田智子, 古江増隆	ダイオキシンと皮膚	アレルギーの臨床	27(12)	938-944	2007