平成20年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

# 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究

平成18～20年度　総 合 研 究 報 告 書
平成20年度　　総括・分担研究報告書

研究代表者　古江　増隆

平成21（2009）年3月

平成１８～２０年度　総 合 研 究 報 告 書

平成２０年度　　総括・分担研究報告書

平成１８・１９年度

熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

平成２０年度

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究

# 平成２０年度研究班構成員氏名

研究代表者

古江 増隆　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授）

研究分担者

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）

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）

内　博史　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 准教授）

越智 博文　（九州大学病院神経内科 講師）

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）

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）

月森 清巳　（九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学 准教授）

辻　博　（北九州津屋崎病院内科 部長）

徳永 章二　（九州大学病院医療情報部 助教）

中西 洋一　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 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）

松本 主之　（九州大学大学院医学研究院病態機能内科学 助教）

宮田 秀明　（摂南大学薬学部 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

青笹 治　（摂南大学薬学部 助教）
赤羽 学　（奈良県立医科大学健康政策医学講座 講師）
穐山 雄一郎（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教）
旭　正一　（産業医科大学 名誉教授）
芦塚 由紀　（福岡県保健環境研究所生活化学課 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）
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）
太田 千穂　（中村学園大学栄養科学部 助教）
大八木 保政（九州大学大学院医学研究院神経内科 准教授）
小野塚 大介（福岡県保健環境研究所企画情報管理課 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企画情報管理課 課長）
神奈川 芳行（東京大学大学院医学系研究科 大学院生）
金澤 文子　（北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 研究員）
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）
小池 創一　（東京大学医学部附属病院企画情報運営部 准教授）
小西 香苗　（北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 大学院生）
佐々木 成子（北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 研究員）
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）
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企画情報管理課 主任技師）
高原 正和　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 助教）
千々和 勝己（福岡県保健環境研究所保健科学部 部長）
千葉 貴人　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 特任助教）
辻　学　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野）
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水質課 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）
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）
堀川 和美　（福岡県保健環境研究所病理細菌課 課長）
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）
三苫 千景　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教）
安武 大輔　（福岡県保健環境研究所計測技術課 主任技師）
湯浅 資之　（北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 助教）
吉岡 英治　（北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 助教）
吉冨 秀亮　（福岡県保健環境研究所生活化学課 技師）
鷲野 考揚　（北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野 大学院生）

（五十音順）

# 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）

# 平成１８年度研究班構成員氏名

主任研究者

古江 増隆　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授）

分担研究者

赤峰 昭文　（九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯内疾患制御学研究分野 教授）

飯田 三雄　（九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野 教授）

石橋 達朗　（九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授）

今村 知明　（東京大学医学部附属病院企画情報運営部 助教授）

岩本 幸英　（九州大学大学院医学研究院整形外科学分野 教授）

岸　 玲子　（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授）

隈上 武志　（長崎大学医学部歯学部附属病院眼科 講師）

古賀 信幸　（中村学園大学栄養科学部 教授）

佐藤 伸一　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学分野 教授）

重藤 寛史　（九州大学大学院医学研究院神経内科　助手）

月森 清巳　（九州大学病院周産母子センター 講師）

辻　 博　（北九州津屋崎病院内科 部長）

徳永 章二　（九州大学大学院医学研究院予防医学分野 助手）

中西 洋一　（九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設 教授）

中山 樹一郎（福岡大学医学部皮膚科 教授）

長山 淳哉　（九州大学医学部保健学科 助教授）

増崎 英明　（長崎大学医学部産科婦人科学 教授）

山田 英之　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学専攻分野 教授）

吉村 健清　（福岡県保健環境研究所 所長）

吉村 俊朗　（長崎大学医学部保健学科 教授）

（五十音順）

研究協力者

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

（五十音順）

# 目　　次


**Ⅰ．平成１８～２０年度総合研究報告書**

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……０１
研究代表者　古江 増隆

**Ⅱ．平成２０年度総括研究報告書**

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……１８
研究代表者　古江 増隆

**Ⅲ．平成２０年度分担研究報告書**

01. 油症の健康影響に関する疫学的研究……３１
研究分担者　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

02. 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……４０
研究分担者　石橋 達朗

03. 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……４１
研究分担者　隈上 武志
研究協力者　北岡　　隆

04. 油症検診における油症患者の皮膚症状の推移……４３
研究分担者　古江 増隆，中山 樹一郎
研究協力者　三苫 千景，旭　　正一，内　　博史，千葉 貴人

05. 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……４８
研究分担者　赤峰 昭文
研究協力者　橋口　　勇

06. 油症患者における骨密度の評価……５９
研究分担者　岩本 幸英
研究協力者　福士 純一，徳永 章二

07. 油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と血清 IgE 値に関する研究……６３
研究分担者　内　　博史
研究協力者　千葉 貴人

08. 油症認定患者追跡調査……６９
研究分担者　吉村 健清
研究協力者　小野塚 大介

09. 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……７３
研究分担者　吉村 健清
研究協力者　梶原 淳睦，中川 礼子，飯田 隆雄

10. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査……７６
研究分担者　吉村 健清
研究協力者　梶原 淳睦，中川 礼子，平川 博仙，堀　　就英，
芦塚 由紀，新谷 依子，吉富 秀亮，飛石 和大，
安武 大輔，片岡 恭一郎，小野塚 大介，高尾 佳子，
堀川 和美，千々和 勝己，戸高　　尊，飯田 隆雄

11. 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
内科合併症について……８５
研究分担者　吉村 俊朗
研究協力者　中野 治郎

12. 油症患者における末梢血リンパ球亜集団の検討……９６
研究分担者　辻　　博

13. 油症認定患者における抗酸化酵素 peroxiredoxin Ⅰ (Prx Ⅰ)
に対する自己抗体の検討……１００
研究分担者　佐藤 伸一
研究協力者　穐山 雄一郎，清水 和宏

14. 油症患者血中カルボニル化蛋白の検討……１０４
研究分担者　佐藤 伸一
研究協力者　清水 和宏，穐山 雄一郎

15. 油症患者にみられる末梢神経障害の評価……１０７
研究分担者　越智 博文
研究協力者　吉良 潤一，大八木 保政

16. 油症患者における婦人科疾患に関する研究……１１１
研究分担者　月森 清巳

17. 油症患者におけるヘリコバクター・ピロリ感染率の検討……１１４
研究分担者　松本 主之
研究協力者　東　晃一

18. 油症についての疫学・統計学的研究……１１６
研究分担者　徳永 章二

19. 胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重に与える影響
― 妊娠中の喫煙の関与について ―……１２０
研究分担者　岸　玲子
研究協力者　湯浅 資之，吉岡 英治，佐々木 成子，金澤 文子
鷲野 考揚，小西 香苗

20. 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……１２６
研究分担者　吉村 健清，長山 淳哉
研究協力者　梶原 淳睦，中川 礼子，平川 博仙，堀　就英，
飛石 和大，安武 大輔，小野塚 大介，吉富 秀亮，
戸高　尊，飯田 隆雄

21. 保存さい帯（へその緒）を利用した油症被害者の PCB 汚染評価
に関する研究……１３０
研究分担者　宮田 秀明
研究協力者　青笹　治

22. 胎児性油症の原因物質に関する研究……１４６
研究分担者　長山 淳哉

23. 現在の患者ごとの排出速度を考慮した PeCDF 排出モデルに関する研究……１４９
研究分担者　今村 知明
研究協力者　小池 創一，松本 伸哉，神奈川 芳行，赤羽　学

24. 油症の各患者の血中 PeCDF 濃度の半減期のバリエーションに関する研究……１５３
研究分担者　今村 知明
研究協力者　小池 創一，松本 伸哉，神奈川 芳行，赤羽　学

25. ダイオキシンの aryl hydrocarbon receptor signaling を介した
ケモカイン・サイトカインの産生について：ヒト表皮細胞への
benzo(a)pyrene 投与による IL-8 産生の検討……１６２
研究分担者　古江 増隆
研究協力者　辻　学，高原 正和

26. 2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル(CB149)の動物肝ミクロゾーム
による代謝……１６７
研究分担者　古賀 信幸
研究協力者　太田 千穂

27. PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害モデル作成に関する研究……１７４
研究分担者　中西 洋一

28. Cholebine によるダイオキシン排泄促進……１７７
研究分担者　山田 英之，古江 増隆
研究協力者　石井 祐次，石田 卓巳

29. ダイオキシン後世代影響の抗酸化物質による軽減……１８８
研究分担者　山田 英之，
研究協力者　石井 祐次，石田 卓巳

30. 食物成分 resveratrol によるダイオキシン中毒症状軽減の試み：
投与経路の違いに基づいた血中 resveratrol 濃度の経時的変化……１９５
研究分担者　山田 英之
研究協力者　石井 祐次，石田 卓巳

**Ⅳ．研究成果の刊行に関する一覧表**……２０１

総合研究報告書

# 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と その治療法の開発等に関する研究

研究代表者　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**　油症はpolychlorinated biphenyl (PCB)とpolychlorinated dibenzofuran (PCDF)の混合中毒であり、発生後40年経過した。2002年度の全国検診時より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2006年度に14名、2007年度に6名、2008年度に6名を新たに油症患者と認定でき、全認定患者は1,924名になった(2008年12月末現在)。油症患者の一斉検診で今なお継続する症状を把握し、症状とダイオキシン類濃度や各種検査項目との相関について解析し、ダイオキシン類の生体への影響を検討した。また、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を開発するために基礎的研究を行った。

2008年度の油症患者データベースには、1986-2007年度までの検診受診者1,316人が登録された。未認定患者を含めた検診受診者数は、検診でダイオキシン類濃度測定を開始してから増加傾向にある。内科の自覚症状では関節痛、全身倦怠感、しびれ感の訴えが多かった。眼科検診では、眼脂過多の自覚症状が多いが、症状は軽快している患者が多い。長崎の眼科検診にて2006、2007年に網膜血管の高血圧性、網膜細動脈硬化性変化を検査した。いずれも認定患者の方が高度で、2004年と2008年の結果を比較すると、動脈硬化性変化は有意に悪化していた。歯科検診では認定患者の歯周炎ならびに口腔内色素沈着の罹患率は健常者に対して高い割合を示していた。皮膚科検診では20－30%の患者にざ瘡や面皰など油症特有の症状が残存していた。全科とも患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による影響が伴っており注意深い観察を要する。患者の高齢化に伴い、油症検診項目を適時改正している。2008年度の全国一斉検診から、IgE、AFPやCEAの腫瘍マーカーの測定、骨密度検査を開始した。なお、2007年度の福岡県と長崎県油症検診での骨密度検査では、60才以降の女性受診者の55%にYAM70%未満の骨密度低下を認めた。油症認定患者の追跡調査を行い、主要死因別（悪性新生物、心疾患、脳血管疾患）の死亡リスクについて、全国平均と比較して評価をした結果、男女とも肝癌、男性の全癌と肺癌で高い値がみられた。

油症相談員による患者の健康相談の他、聞き取りによる健康実態調査を行った。2005年は癌などの既往歴、骨粗鬆症や関節障害の有無、2006年は家族構成の情報聴取、2007年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聴取した。その結果、血液ダイオキシン類濃度と骨粗鬆症に関連した愁訴（身長の低下や関節痛など）との間に正の相関が見られた。アトピー性皮膚炎の生涯有病率は平均8.8%で、2007年度検診を受診した油症認定患者と未認定患者の血

清 IgE 値には有意差は認められなかった。

油症の諸症状を軽減するための臨床試験を行った。2005 年度に、複数の漢方薬による臨床試験を行った結果、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。2007 年度に、体内に残存するダイオキシン類の排泄を促進するためにコレスチラミドの臨床試験を開始した。福岡市、北九州市、長崎・五島地区で 2007 年に 15 名、2008 年に 17 名の登録が得られ現在行っている。2009 年度はざ瘡の治療薬としてアダパレンの外用による臨床試験を開始する予定である。

福岡県、長崎県油症患者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。油症発生後の 10 年間は油症発生の 10 年前に比べ、人工中絶、自然流産、早産・死産、自然流産・死産の割合が、それぞれ、5.6 倍、2.2 倍、5 倍、2.2 倍程度上昇していた。また初経年齢については、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。

2002（平成 14 年）-2006（平成 18 年）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 だった。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の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。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 8 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。

基礎的研究では、気道上皮由来の培養細胞を用いた研究で、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になった。ヒト表皮細胞を用いた研究にて、排気ガスやタバコ煙中に含まれるダイオキシン類のベンゾピレンが AhR を介して炎症性サイトカイン・ケモカインである IL-8 の産生を促進する知見が得られた。実験動物を用いた研究にて、PeCDF を経口投与したラットにコレバインを投与したところ、初回吸収が抑制され、糞中排泄が促進された。また、植物ポリフェノールである resveratrol が、ダイオキシン中毒症状の一部に対し有効で、その効果は、その生物学的利用率（bioavailability）の改善に伴って増強される可能性が示された。resveratrol の臨床応用を目指す研究の一環として、ラットを用いて経口、皮下および経皮投与における resveratrol の bioavailability を比較・検討したところ、血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve extrapolated infinity, $AUC_{inf}$）、平均滞留時間と半減期は、いずれも経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で増加する傾向が認められた。
2,3,7,8-tetrachlorodinezo-*p*-dioxin（TCDD）母体曝露によって惹起される胎児精巣ステロイドホルモン合成酵素と胎児脳下垂体における性腺刺激ホルモン mRNA 発現低下はα-リポ酸の併用にて回復した。

最後に 2008 年 5 月 8 日、油症の治療法開発の推進および発症機序の解明に向けた研究を推進する研究診療拠点として、九州大学病院油症ダイオキシン診療研究センター（以下　油症センター）が開設された。研究を通じて明らかになった様々な事実について論文化したものは、日本語、英語でホームページに掲載している。患者への広報のため、パンフレットや油症新聞も発行している。

## Ａ．研究目的

PCB と PCDF の混合中毒である油症が発生して 40 年が経過した。油症は人類が経口的に 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。ダイオキシン類曝露後、長期間経過した場合の人体への影響については明確になっておらず、今後も検診を継続し、油症患者の症状を注意深く把握し、検討する必要がある。

近年、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、二極化の傾向にある。患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による変化や老年期障害が加わっており、その評価は難しい。2002 年、全国一斉検診にて生体内に微量に存在する PCDF の測定が始まって 6 年が経過した。油症患者の PCB、PCDF 濃度とその値の推移、症状、検診検査項目との相関について引き続き解析、検討を行い、これらの化学物質が油症の症状形成にいかに寄与したかを確認する。

また、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開発するために、ダイオキシン類の患者生体内での半減期、代謝動態に対する解析や、基礎的研究も継続する。

（倫理面に対する配慮）

研究によって知りえた事実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。

## Ｂ．研究方法

<u>Ⅰ.班長が担当する研究</u>

１．班の総括と研究班会議開催

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

患者の症状の変遷と高齢化にあわせて検診科目、検診項目を見直す。

７.コレスチミドやアダパレンの臨床試験

油症患者油症患者の様々な症状を軽減するために臨床試験を行う。

<u>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</u>

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、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法などを用いて、統計学的に解析し、経年変化の傾向について調査する。

２．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。患者の症状、検査結果と血中ダイオキシン類濃度との相関について分析、検討する。

３.油症の次世代に及ぼす影響に関する検討を行う。

４．油症原因物質などの体外排泄促進に関する研究を行う。

５.油症発症機構に関する基礎的研究を行

う。

## C．結果および考察

### １．油症患者検診結果

油症患者データベースは検診時に用い、患者の健康増進指導に活用している。2008 年度の油症患者データベースには 1986 年度から 2007 年度検診までの検診受診者 1316 人が登録された。内科の自覚症状では関節痛、全身倦怠感、しびれ感の訴えが多かった。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。長崎県での眼科検診で網膜血管の高血圧性変化と動脈硬化性変化を 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、高血圧性変化と網膜細動脈硬化性変化共に認定患者の方が高度である傾向が見られた。また、2004 年と 2008 年の結果を比較検討したところ、高血圧性変化は不変だったが、動脈硬化性変化は有意に悪化していた（p=0.0004）。皮膚症状は徐々に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ざ瘡や面皰など油症特有の症状が認められている。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。また、2007 年度福岡県と長崎県油症検診の受診者 357 名に対して、骨密度を測定した。男性では 83%の患者で正常な骨密度であったが、女性では 58%に骨密度の低下を伴い、特に 60 才以降では 55%の受診者に YAM70%未満の骨密度低下を認めた。

患者の高齢化とともに、油症特有の症状に、加齢に伴う症状が加わる傾向にある。今後、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

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を把握し、高齢化に伴い健康に対する不安を抱く認定患者の健康相談を行うために、2002 年に開始された油症相談員事業を継続している。油症相談員による聞き取り、もしくは文書にて患者の健康実態調査を行っている。2005 年度は癌など疾患の罹患状況、骨粗鬆症や関節障害の有無、2006 年度は家族構成についての情報聴取、2007 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行った。2007 年度に行った、油症認定患者 731 名を対象にアトピー性皮膚炎有病率に関するアンケート調査の結果を解析した。回答した 638 名におけるアトピー性皮膚炎の生涯有病率は平均 8.8%であった。一方，2007 年度検診を受診した油症認定患者 83 名と未認定患者 98 名での血清 IgE 値には有意差は認められなかった。

### ３．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た。パンフレット、ホームページ、あるいは直接書面にて研究内容を患者に伝達した。さらに患者への情報提供のために、油症新聞を定期的に発行した。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は、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。

### ４．油症認定患者追跡調査および油症一斉検診結果の集計およびデータベースの構築

2006年度に14名、2007年度に6名、2008年度に6名を新たに油症患者と認定でき、全認定患者は1,924名になった（2008年12月末現在)。生存状況および死因の追跡調査は、油症患者の居住地、または居住していたとされる地域の行政機関の協力を得て実施している。なお、2007年12月末現在における全認定患者1918名中、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。

油症患者における主要死因別（悪性新生物、心疾患、脳血管疾患）の死亡リスクについて、全国平均と比較して評価を行った。その結果、肝がんのSMRは、男女ともにそれぞれ高い傾向がみられた（男：1.67（95% CI：0.99-2.63)、女：1.87（95% CI：0.81-3.69))。また、男性の全がんおよび肺がんのSMRは、有意に高い値がみられた(全がん：1.26 (95% CI：1.03-1.53)、肺がん：1.56（95% CI：1.03-2.27)。その他の主要死因については、顕著な傾向は特にみられなかった。

油症一斉検診受診者の検診電子データの維持管理及び「全国油症検診集計結果」報告を継続的に実施している。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。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。

## ５．油症患者の臨床症状を軽減するための臨床試験

### １）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で行った。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った。

### ２）コレスチミド（コレバイン）内服療法

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た。2007年福岡市および五島地方において15名に対し実施した。2008年から2009年にかけてさらに福岡市、北九州市、長崎市・五島地区においてそれぞれ4名、5名、8名の計17名の登録が得られ、2009年1月現在実施中である。

### ３）アダパレン外用療法

ざ瘡に対する外用治療薬であるアダパレンの臨床試験を2009年度に開始する予定である。

## ６．検診時の血液検査、尿検査、腹部超音波検査など検査項目の解析

油症検診における身体所見、臨床検査値、腹部超音波検査所見より、油症患者の脂質・糖代謝異常、高血圧症などの実態を検討した。2006年度の福岡県油症検診受診者119例（男性48例､女性71例､平均年齢66.8±11.6歳）の結果を検討した。Body mass index (BMI)は、平均22.79±3.15 $kg/m^{-2}$だった。腹部超音波検査にてbright liver(BL)を118例中85例(72%)認めた。血液生化学検査では、総コレステロールの上昇を47例（39.5%)、中性脂肪の上昇を25例（21.0%)、HDLコレステ

ロールの低下を 10 例（8.4%）、βリポ蛋白の増加を 16 例（13.4%）、リポ蛋白(a)の増加を 8 例（6.7%）に認めた。また、中性脂肪、βリポ蛋白と BMI は正の相関を、HDL コレステロールと BMI は負の相関を認めた。腹部超音波検査で BL を認める群と認めない群を比較すると、認める群では BMI、中性脂肪、βリポ蛋白、コリンエステラーゼ、尿酸が有意に高かった。2007 年度の福岡油症検診を受診した認定患者 149 例（男性 65 例、女性 84 例）中、腹部超音波検査にて BL は 47 例（31.5%）に認めた。

2006 年度福岡県油症検診を受診した女性 94 例について女性ホルモン値と血液中 PCB、PCDF 濃度との関連について検討した。血中 PCB 濃度とエストラジオール値の間に負の相関を有意に認め、この相関は 50 歳以上の閉経後の女性についても認められた。血中総 PCDF 濃度とプロラクチン、エストラジオール、プロゲステロンの間の相関について検討したところ、エストラジオール値は血中総 PCDF 低濃度群に比べ高濃度群において有意に低下していた。

2007 年度福岡県油症検診受診者 201 名の抗核抗体、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。血中 PCB および 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た。抗核抗体は、血中 PCB および 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群において有意に高頻度に認めた。

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。

2005 年度に福岡県一斉検診に参加した患者 85 名に対し、尿中ジアセチルスペルミンを測定し、血中ダイオキシン類、PCB 値やその他の生化学的検査値との相関関係について検討したが、いずれも統計学的に有意ではなかった。

## ７．油症患者における末梢血リンパ球亜集団の検討

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 156 例について末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran（PeCDF）濃度および血中 PCB 濃度との関連について検討した。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間には相関を認めず、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度油症患者と高濃度油症患者の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞に差をみなかった。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかったが、血中 PCB 低濃度油症患者に比べ血中 PCB 高濃度油症患者において helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の上昇を認めた。

## ８．油症患者の骨・関節病変の臨床的研究

油症患者 1257 名を対象に、骨・関節障害の実態について、アンケート形式による調査を行った。回答した 705 名について、骨粗鬆症に関連した愁訴（身長の低下や背中の曲がり、転倒による骨折など）と関節痛の有無について検討した。血中ダイオキシン類レベルが測定されている油症認定患者 307 名を対象に、有訴割合とダイオキシン類レベルの関連について解析したところ、骨粗鬆症の愁訴や関節痛の訴えとダイオキシン類と正の相関が得られた。

2007 年度福岡県および長崎県油症一斉検診の受診者 357 名を対象に、骨密度を測定した。骨密度は非利き腕の橈骨遠位端を二重Ｘ線吸収法（DXA）にて測定した。若年成人（20-44 才）の平均骨密度（YAM）に対する評価としてＴスコアを、同一年齢の平均骨密度に対する評価としてＺス

コアを用いた。
Ｔスコア＝（骨密度/YAM）x100
Ｚスコア=（骨密度-同一年齢の平均骨密度）/同一年齢の平均骨密度の標準偏差。
その結果、男性では83%の患者で正常な骨密度であったが、女性では58%に骨密度の低下を伴い、特に60才以降では55%の受診者にYAM70%未満の骨密度低下を認めた。

９．油症患者にみられる末梢神経障害の評価

油症患者で報告されてきた末梢神経障害について（1968年、1980年、2002年調査)、経時的に自覚的感覚異常と他覚的異常という観点から再検討し、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴を考察した。また患者の訴える感覚異常を、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴を考慮した上で主観的に評価する方法とともに、客観的に評価する方法を検索した。
1968年調査では、自覚的感覚異常が39.1%に存在し、その頻度は調査を重ねるごとに46.2%、59.4%と増加した。一方、再現性の高い他覚的検査であるアキレス腱反射検査で異常を認めた割合は、34.8%から34.6%、17.4%と経時的に減少した。油症患者では、客観的評価の難しい小径神経線維の障害が主体であると推察され、その障害は改善することなく持続している可能性がある。1968年調査で自覚的感覚異常を認めた患者の89%に他覚的異常神経症候（感覚異常、アキレス腱反射低下）あるいは末梢神経伝導速度の遅延を認めた。また、自覚症状のない43%の患者にも他覚的異常神経症候あるいは末梢神経伝導速度の遅延を認めた。他覚的異常神経症候が出現した後に、自覚症状が顕在化する一群が存在する可能性があり、自覚的感覚障害の性状を経時的に観察できる指標の確立が必要である。

１０．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

１）流産、早産のリスクの解析

2005年に行った婦人科問診調査にて回答が得られた287名のうち、1958年以降の妊娠・分娩214例を対象として人工妊娠中絶、自然流産、早産、死産の割合について解析した。その結果、妊娠・分娩した時期を10年区切りで比較すると、油症発生後の10年間は油症発生の10年前に比べ、人工中絶、自然流産、早産・死産、自然流産・死産の割合が、それぞれ、5.6倍、2.2倍、5倍、2.2倍程度上昇していた。

２）月経異常の解析

2005年に行った婦人科問診調査にて回答が得られた287名のうち、1968年油症発生以降に初経となった111例を解析の対象とした。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。

３）閉経年齢の解析

2005年度に行った婦人科問診調査のなかで回答が得られた287名うち、油症曝露(1968年)時年齢が40歳未満の191例を解析の対象とした。油症患者の閉経年齢について検討した。自然閉経年齢(平均値 ± SD)は、0-19歳時曝露群(47.7± 6.2歳)、20-29歳時曝露群(49.6 ± 3.0歳)、30-39歳時曝露群(50.3 ± 4.2歳)で、各群間に有意な差はなかった。早発閉経（40歳未満に閉経）は0-19歳時曝露群2例(3.5%)、20-29歳時曝露群1例(2.0%)、30-39歳時曝露群1例(1.4%)に認められた。

１１．油症患者血液中PCBなど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。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ため、2008年度からPCB,PCQの分析は福岡、長崎、広島班ではこれまで通り追跡班で行い、その他の追跡班分は福岡県で一括して分析するように変更した。また、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、健常人体内のPCDF類実態調査

2002（平成14年）-2006（平成18年）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。

平成19年度（2007年）は受診者のうち未認定者と油症認定者のうち過去3年以内に受診歴の無い認定者の血中ダイオキシン濃度を測定した。2007年度の油症認定患者の平均Total TEQは60.7 pg/g lipidで2002－2006年のTotal TEQの平均値（122.2～136.4 pg/g lipid）の約1/2であった。2001年から2007年までの7年間の検査希望者中の油症認定患者の検体総数は1501件であるが、受診認定患者の実数は531名で、全認定患者（1912名）の約28%であった。内訳は男性243名、女性288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。さらに受診認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布は受診認定患者約50%が2,3,4,7,8-PeCDF濃度50pg/g lipid以上であった。

１３．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

１）2005年度の油症検診における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。

２）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。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。

１４．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。

１５．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血中ダイオキシン類濃度との解析

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血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を中心に統計学的に解析した。2005 年に行った婦人科問診調査回答者から 104 名を解析対象とした。油症時に 5 歳以上、0-4 歳、油症後に出生の３群間で初経年齢平均値に違いが見られたが、初経年齢を生年で調整するとその違いは統計的な有意水準の境界域にとどまった（p = 0.05)。血中ダイオキシンレベルが測定され、初経年齢との解析対象となったのは 25 名であった。油症発生時と初経年齢時の推定血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を、
2,3,4,7,8-PeCDF、
3,3',4,4',5-PeCB(CB-126)、
3,3',4,4',5,5'-HxCB(CB-169) の３異性体について解析したが、統計学的に有意な関連は認められなかった。

１６．妊婦の喫煙状態が血中ダイオキシン類濃度に及ぼす影響に関する研究

１）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。

２）胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重に与える影響　－　妊娠中の喫煙の関与について　－

喫煙が母体血中ダイオキシン類濃度に与える影響を検討し、胎児期ダイオキシン類曝露と出生体重との関連に与える、喫煙の交互作用の検討を行った。交絡因子で調整した重回帰分析の結果では、Total non-ortho PCBs、Total non-ortho PCBs TEQ、Total coplanar PCBs TEQ において有意に喫煙群の母体血中濃度が非喫煙群より低い傾向であった。妊娠中の母親の喫煙により、ダイオキシン類とりわけ Coplanar-PCB 類の代謝が促進されている可能性が示唆された。また、喫煙習慣別に母体血中ダイオキシン類濃度が児の出生体重へ与える影響を、重回帰分析にて検討を行った結果、非喫煙群に比べ喫煙群は、出生体重がより減少する傾向が PCDD 類及び PCDF 類濃度において認められ、とりわけ 1,2,3,7,8-PeCDD、
2,3,4,7,8-PeCDF において顕著にみられた。一方、Coplanar-PCB 類においてはそ

のような傾向はみられなかった。ダイオキシン類の出生体重への影響が喫煙によって修飾されている可能性が示唆された。

１７．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

１）油症患者の母親 12 名から生まれた 18 名の子供(1948 年から 1995 年の出産)のへその緒、油症未認定の母親 3 名方生まれた 5 名の子供(1973 年から 2002 年の出産)及び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。

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 8 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。また、出生年とダイオキシン濃度の関係を解析すると油症発生 13 年以内（1970-1981 年）に出生した児のへその緒中に高濃度のダイオキシン類が検出された。

２）油症被害者 3 名および一般健常者 11 名の女性が出産した時の保存さい帯（へその緒）28 試料を対象として、ダイオキシン様 PCB（DL-PCB）を分析し、その分析値を基準にして、出産当時の油症被害者における両化合物による汚染評価を検討した。その結果、油症発症当時の 1968～70 年代においては油症被害者および一般健常者の汚染濃度は極めて高く、それ以降は経時的に減少する経年変化が認められた。しかし、両化合物の汚染濃度や組成は、油症被害者と一般健常者との間で有意的な差異は認められなかった。

１８．胎児性油症の原因物質に関する研究

カネミ油症中毒事件発生後 2 年～5 年で出生した 2 名の黒い新生児を含む 6 名の胎児性油症患者と同時期に誕生した 5 名の健常児の保存臍帯を用いて、PCDFs、PCDDs、ダイオキシン様 PCBs および PCBs の濃度を分析・定量した。その結果、胎児性油症の 90％は PCDFs が原因の PCDFs 中毒であることが明らかになった。また、PCDDs とダイオキシン様 PCBs の毒性もそれぞれ 8％と 2％寄与していることが判明した。

１９．PeCDF の体外排出速度と半減期に関する研究

１）現在の油症患者ごとの排出速度を考慮した PeCDF 排出モデルに関する研究

2001 年度～2006 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では、患者ごとに半減期が異なっていた。半減期のバリエーションの研究により PeCDF の半減期が患者ごとに異なることがみつかった。特に、200 pg/g 以上の患者では、半減期が 7 年程度の患者と、半減期が無限大、つまり減少していない患者群がいる可能性が示された。このような状況は、今までの研究成果だけでは説明がつかない。これらの現象について、数理モデルを組立て、可能性を見つけ出すことを目的とした。

各患者が二つの吸収機構を有するモデルを想定した数理モデルを組み立て、シミュレーションを実施した。今回想定したモデルは次の二つの吸収機構を有すると仮定した。

（１）吸収能力は低いが、吸収能力の限界が存在しない吸収機構

（２）吸収能力は高いが、吸収能力の限界が存在する吸収機構

これらの二つの吸収機構を想定したことにより、現在の血中濃度の状況を適切に表現可能であると考えられた。これらの二つ吸収機構が存在する可能性を示し

たものと考える。これらの吸収機構のうち、（１）の機構は、純粋に浸透圧に主要因とする機構が想定でき、（２）は特定の化合物を選択的に回収する機構が想定できるものと考える。

２）油症の各患者の血中 PeCDF 濃度の半減期のバリエーションに関する研究

油症患者の PeCDF 濃度を 2 を底とする対数に変換したものを従属変数とし、計測年を独立変数として、線形回帰分析が行われた。この線形回帰分析でえられた 1 次の係数は、半減期の逆数である。

PeCDF の半減期は、患者間で非常に大きなばらつきがあった。特に、油症患者の診断基準の一つである PeCDF 濃度 50pg/g 以上の患者群には、既存の報告と同等の半減期 7 年程度を示す患者群と、PeCDF 濃度が減っていない患者群の 2 群が存在した。

これまでの研究は、PeCDF の半減期が約 7 年と報告している。しかし、本研究は、PeCDF 濃度が減少する群と PeCDF 濃度が高濃度で維持されている群の 2 群が存在することを示した。つまり、これまでに提唱されているような濃度に依存した PeCDF の排出モデルのみでは説明ができない患者群が存在することを示している。ゆえに、我々の研究は、ヒトにおける PeCDF の排出を説明するためには、さらに複雑なモデルが必要なことを示唆している。

２０．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。

２１．油症認定患者における酸化ストレスの評価

PCB の代謝過程で superoxide が発生することが報告され、実際に高 PCB 血症である油症認定患者において酸化ストレスが亢進していることも報告されている。しかし油症認定患者における酸化ストレスの原因解明には至っていない。

１）油症認定患者血清中の SS-A 抗体、SS-B 抗体と血中 Catalase 活性の検討

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長崎・玉之浦地区油症検診において、2006 年に同意の得られた油症患者 57 名の SS-A 抗体、および 2007 年は 56 名の SS-B 抗体の血清中の出現頻度を検討した。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。

２）油症認定患者血中 Catalase 活性の検討

油症患者と正常健常人の血清を用いて scavenger enzyme である catalase の活性を測定した。2006 年玉之浦地区油症検診受診者のうち同意の得られた油症患者 45 名および年齢をあわせた健常人 35 名の血中 catalase 活性は各々31.9±5.7 nmol/min/ml、26.0±2.3 nmol/min/ml で対照群と油症患者の間に有意差を認めなかった。

３）油症認定患者の尿中 Hexanoyl-Lysine (HEL)の検討

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 HEL を測定した。2007 年の玉之浦地区油症検診受診者のうち同意の得られた認定患者 57 名と健常人 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。

４）油症認定患者における抗酸化酵素 peroxiredoxin Ⅰ（Prx Ⅰ）に対する自己抗体の検討

2008 年 7 月に施行された長崎県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 56 名及び年齢をあわせた健常人 36 名を対象とした。抗酸化酵素である Prx Ⅰ に対する自己抗体が油症認定患者に発現していないか油症認定患者と健常人の血清を用い検討を行った。その結果、油症認定患者 56 名、健常人 36 名において抗 Prx Ⅰ 抗体価はそれぞれ 0.592±0.160、0.601±0.152 であり有意差を認めなかった。

５）油症患者血中カルボニル化蛋白の検討

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の亢進により蛋白は種々の酸化修飾をうける。その中でも蛋白質のカルボニル化修飾は酸化損傷生成物の一つであり油症認定患者と正常健常人の血清を用いて血中カルボニル化蛋白を測定した。2008 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 55 名を対象とし、検診時に採血を行い、血清を分離後凍結保存しカルボニル化蛋白測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人 22 名を対照とした。油症認定患者 55 名、健常人 22 名においてカルボニル化蛋白値はそれぞれ 1.087±0.015 nmol/mg、0.845±0.091 nmol/mg を示し有意差を認めなかった。

２２．油症発症機構と PCB／ダイオキシン類の毒性軽減に関する基礎的検討

１） ダイオキシン曝露による気道上皮傷害の検討

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

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 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）PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害モデル作成に関する研究

PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害の機序解明のため、動物モデルの作成を検討した。

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)をコーンオイルで溶解し、C57Bl/6 マウス雌、６週齢に以下の２通りの経路で投与した。（１）TCDD 100 μg/kg あるいは 200 μg/kg を day1 から day5 までマウスに経口摂取させた。コーンオイルのみを経口摂取した群をコントロールとした。Day 7 に肺を取り出し、HE 染色組織標本を作製、評価した。（２）TCDD 15 μg/kg を day1 から day5 までマウスに腹腔内投与した。コントロール群はコーンオイル

のみを腹腔内投与した。day6 に BAL 液を回収して炎症細胞数、細胞分画について測定した。またに肺を取り出し、HE 染色組織標本を作製して評価した。

経口投与モデルでは、TCDD 100 μg/kg 群(n=4)あるいは 200 μg/kg 群(n=4)においてコントロール群(n=4)と比較し、肺組織所見に有意差は認めなかった。腹腔内投与モデルでは、TCDD 投与群とコントロール群の間で BAL 液中の炎症細胞数と細胞分画に有意差はみられなかった。TCDD 群７匹中１匹の肺組織所見で、肺胞隔壁肥厚、肺胞出血が認められたが、のこり６匹では異常所見がなく、コントロール群との比較で有意差は認められなかった。

３）ダイオキシンの aryl hydrocarbon receptor signaling を介したケモカイン・サイトカインの産生

喫煙者の血中濃度と報告される 40 nM の benzo(a)pyrne(BaP)をヒト表皮細胞に投与したところ、コントロールと比較して有意な IL-8 の産生量の増加が認められた。IL-8 の産生量は、BaP の用量依存性の増加が認められた。また、aryl hydrocarbon receptor (AhR)の選択的な antagonist である resveratrol を BaP と同時に投与したところ、IL-8 の産生量が減少したことから、ヒト表皮細胞における BaP による IL-8 の産生は、AhR signaling を介していることが示唆された。

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

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

５）Cholebine によるダイオキシン排泄促進

Cholebine のダイオキシン排泄促進作用について検討を行った。5 週令の Wistar 系雄性ラットに $^{14}$C-2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF, 2.9 MBq/mg) を 0.5 mg/kg body weight/3 mL corn oil 経口投与し、cholebine 含有飼料を与え 1 週間飼育した。その結果、cholebine 摂取 1 日目において、PenCDF の糞中排泄量が対照群

に比べ約 15% 増加した。2 日目以降については、有意差は認められるもののその差はいずれも 1% 以下であった。一方、臓器中の PenCDF 残存量については、脳を除いて、cholebine により 20～30% の低下が観察された。次に、観察期間を 28 日間に延長し、同様の検討を行った。その結果、糞中排泄促進効果については短期処理実験の結果と同様であったが、臓器中の PenCDF 残存量は、脳を除き、cholebine による軽減効果は認められなかった。さらに、cholebine は、PenCDF と直接結合せず、胆汁酸などの因子を介して結合し、糞中排泄を促進している可能性が考えられた。以上の結果から、cholebine はダイオキシンの初回吸収は効果的に抑制するが、ラットを用いた本検討からみる限り、再吸収に関しては顕著な抑制効果を示さなかった。

6）ダイオキシン後世代影響の抗酸化物質による軽減

ダイオキシン後世代影響を軽減する物質の探索を目的として、2,3,7,8-tetrachlorodinezo-*p*-dioxin (TCDD) 母体曝露によって惹起される胎児ステロイドホルモン合成酵素発現低下に対する抗酸化物質の影響を観察した。妊娠 15 日目の Wistar 系ラットに抗酸化物質を尾静脈内投与し、そののち TCDD を経口投与した。その翌日より妊娠 20 日目まで初回と同用量の抗酸化物質を尾静脈内投与し、胎児の精巣と脳下垂体におけるステロイドホルモン合成関連タンパク質の mRNA 量を定量した。その結果、TCDD 母体曝露による胎児精巣のステロイドホルモン合成酵素 mRNA の低下は、α-リポ酸 (LA) の併用によりほぼ完全に回復することが明らかとなった。また、胎児脳下垂体における性腺刺激ホルモン mRNA の発現低下も、LA を併用することによりコントロールレベルまで回復した。一方、LA 以外の抗酸化物質では、同様の回復効果は認められなかった。以上の結果から、LA は胎児の性腺刺激ホルモンの回復を介してステロイドホルモン合成系の障害を消去するものと考えられ、これは抗酸化的ストレス作用以外の機構を介して惹起される可能性が示された。

7）食物成分 resveratrol によるダイオキシン中毒症状軽減の試み：

resveratrol の投与による 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性への影響を、特に誘発性脂肪肝および酸化的ストレス発生を中心として検討した。その結果、TCDD とレスベラトロール を併用投与したマウスにおいて、TCDD 単独投与したマウスに比べ体重増加抑制の軽減、並びに肝トリグリセリド蓄積の軽減が観察された。一方、TCDD による酸化的ストレスの発生、並びに肝障害に対しては顕著な改善効果は見られなかった。また、resveratrol 単回投与による影響を観察した結果、TCDD 誘発性脂肪肝に対する resveratrol の軽減効果において、酸化的ストレスの関与は低いものである可能性が示された。

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。

resveratrol の臨床応用を目指す基礎研究の一環として、resveratrol の経口、皮下および経皮投与における bioavailability を比較・検討した。Wistar 系雄性ラットに resveratrol を投与した場合、血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve extrapolated infinity, $AUC_{inf}$）は、経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で増加する傾向が認められた。また、平均滞留時間と半減期についても、同様の傾向が認められた。ダイオキシン中毒症状に対する resveratrol の適用には、さらなる吸収効率の改善は必要不可欠であるが、経皮吸収法は有望な手段の一つであると考えられた。

８）食物成分 piperine によるダイオキシン類毒性軽減の試み

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-diosin(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、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になった。また、piperine の作用機構について検討した結果、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になった。この研究にて、piperine はダイオキシン類の中毒症状に有効であると考えられたが、他の有効成分と併用した場合、その効果を減弱させる可能性も示唆された。

９）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。

１０）2,2',3,4',4,5',6-七塩素化ビフェニル(CB183)のin vitro代謝の動物種差

本代謝物の親 PCB としては CB187 と CB183 が考えられるが、昨年までに CB187 代謝を数種類の実験動物で検討したところ、主代謝物ではないがラットおよびモルモットで生成されることを確認した。そこで本研究では、CB183 から生成されるか否か明らかにするため、ラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム

(Ms)による in vitro 代謝を調べた。その結果、いずれの動物肝でも２種類の代謝物（M-1, M-2）が生成された。これらの代謝物の化学構造は、GC-MS および別途合成した標準品との比較から、それぞれ 3’-$CH_3O$-CB183 および 5-$CH_3O$-CB183 であると同定され、上記 4-OH-CB187 はいずれの動物肝 Ms によって、全く検出されなかった。また、M-1 と M-2 の生成活性はラットで最も高いこと、すべての動物で PB 前処理により生成が促進されることも明らかとなった。

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

１１）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。

１２）2,2’,3,4’,5’,6-六塩素化ビフェニル(CB149)の動物肝ミクロゾームによる代謝

ヒト血液中には、CB153 や CB138 などの未変化体に加え、PCB 代謝物として 4-hydroxy(OH)-CB187 や 4-OH-CB146 などが高濃度で検出されている。最近、ヒト血液中から新たに 4,5-diOH-CB149 が検出されたことから、本研究では、この代謝物の母化合物を明らかにするため、CB149 の in vitro 代謝をラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)を用いて調べた。その結果、主代謝物として２種類の OH 体(M-1、M-2)と、１種類の diOH 体(M-3)が生成された。さらに、GC-MS により別途合成した標品と比較した結果、M-1、M-2 および M-3 はそれぞれ 5-OH 体、4-OH 体および 4,5-diOH 体であることが明らかとなった。主代謝物の M-1 および M-3 の生成は、ラットで最も多く、ハムスター、モルモットの順であった。また、両代謝物の生成は、PB 前処理により、促進され、特にラットでは未処理の数 100 倍以上であった。なお、M-2 は M-1 に比べ、非常に少ないものの PB 前処理のラットとハムスターで生成された。以上の結果より、ヒト血中で検出された 4,5-diOH-CB149 は CB149 から少なくとも 5-OH 体を経由して生成されることが確認された。また、CB149 代謝には PB 誘導性の P450、すなわち CYP2B 酵素が強く関与することが明らかになった。

## D．結論

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 2006 年度に 14 名、2007 年度に 6 名、2008 年度に 6 名を新たに油症患者と認定でき、全認定患者は 1,924 名になった(2008 年 12 月末現在)。油症検診では全科とも患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による影響が

伴っており注意深い観察を要する。油症相談員による患者の健康相談の他、聞き取りや文書により、癌などの既往歴、骨粗鬆症や関節障害の有無、家族構成の情報聴取、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聴取でき、患者の健康実態の調査も進んでいる。検診でダイオキシン類濃度を測定することができるようになり6年が経過した現在、油症患者に今なお残存する症状とダイオキシン類濃度、各種検査項目との相関について解析し、ダイオキシン類の長期にわたる生体への影響が解明されつつある。また、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を開発するための基礎的研究にて、新たな知見が得られている。

**E．健康危険情報**

なし

総括研究報告書

# 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究

研究代表者　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**　油症はpolychlorinated biphenyl (PCB)とpolychlorinated dibenzofuran (PCDF)の混合中毒である。発生して40年経過するが、今なお様々な症状に悩まされている患者が多い。2002年度の全国検診から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。2008年に新たに油症と認定された6名を含めた全認定患者は1,924名になった（2008年12月末現在)。油症検診で油症患者の症状、血液中のダイオキシン類濃度、検査項目を把握しその関連性を解析した。油症患者の様々な症状を軽減するために、2007年4月に、体内に残存するダイオキシン類の排泄を促進するコレスチラミドの臨床試験を開始した。2008年度は福岡市、北九州市、長崎・五島地区で計17名の新たな登録が得られ、現在行っている。また，ダイオキシン類の排泄を促進し、症状を緩和する方法を開発するために、基礎的研究を行った。

2008年度の油症患者データベースには1986年度から2007年度検診までの検診受診者1,316人が登録された。患者の高齢化に伴い油症検診項目の改正を行っており、2008年度の検診から新たにIgE、CEAやAFPの腫瘍マーカー、骨密度測定を追加した。2007年は受診者のうち未認定者と油症認定者のうち過去3年以内に受診歴の無い認定者の血中ダイオキシン濃度を測定した。

皮膚科、眼科検診にて患者の臨床症状は徐々に軽快している傾向がみられるが、2008年度の福岡県歯科検診で、歯周炎ならびに口腔内色素沈着の罹患率は今なお、健常者に対して高い割合を示し2007年度より増加していた。油症患者の網膜血管の高血圧性変化及び動脈硬化性変化をScheie分類を用いて評価し、2004年と2008年の結果を比較検討した。高血圧性変化は不変で、動脈硬化性変化は有意に悪化した（p=0.0004)。2007年度福岡県および長崎県油症一斉検診の受診者357名に対して骨密度を測定したところ、女性では58%に骨密度の低下を伴い、特に60才以降では55%の受診者にYAM70%未満の骨密度低下を認めた。油症患者における末梢神経障害の特徴と1968年、1980年、2002年と経年的な変化を検討したところ、自覚的感覚異常は39.1%、46.2%、59.4%と増加しており、他覚的検査のアキレス腱反射の異常は34.8%、34.6%、17.4%と減少していた。ただし、油症患者では客観的評価の難しい小径神経線維が障害されている可能性があり指標の確立が必要である。全科とも患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による影響が伴っており注意深い観察を要する。

2005年から、油症相談員による聞き取りもしくは文書にて油症患者の健康実態調査を行っている。2007年度、油症認定患者731名を対象にアトピー性皮膚

炎有病率に関するアンケート調査を行った。回答した638名におけるアトピー性皮膚炎の生涯有病率は平均8.8%であった。一方、2007年度検診を受診した油症認定患者83名と未認定患者98名での血清IgE値には有意差は認められなかった。油症患者の主要死因別（悪性新生物、心疾患、脳血管疾患）の死亡リスクについて、全国平均と比較して評価を行った。肝がんのSMRは、男女ともにそれぞれ高い傾向がみられた（男：1.67（95% CI：0.99-2.63)、女：1.87（95% CI：0.81-3.69))。また、男性の全がんおよび肺がんのSMRは、有意に高い値がみられた。妊娠中の母親の喫煙により、ダイオキシン類とりわけCoplanar-PCB類の代謝が促進されている可能性が示唆された。非喫煙群に比べ喫煙群は、出生体重がより減少する傾向がPCDD類及びPCDF類濃度において認められ、とりわけ1,2,3,7,8-PeCDD、2,3,4,7,8-PeCDFにおいて顕著にみられた。

患者生体内における PeCDFの半減期は、患者間で非常に大きなばらつきがあった。特に、油症患者の診断基準の一つであるPeCDF濃度50 pg/g以上の患者群には、既存の報告と同等の半減期7年程度を示す患者群と、PeCDF濃度が減っていない患者群の2群が存在した。

基礎的研究では、ヒト表皮細胞を用いて排気ガスやタバコ煙中に含まれるダイオキシン類のベンゾピレンがaryl hydrocarbon recepotor（AhR）を介して炎症性サイトカイン・ケモカインであるIL-8の産生を促進する知見が得られた。ヒト血中で検出された4,5-diOH-CB149はCB149から少なくとも5-OH体を経由して生成されることが確認された。また、CB149代謝にはPB誘導性のP450、すなわちCYP2B酵素が強く関与することが明らかになった。PeCDFを経口投与したラットにコレバインを投与したところ、初回吸収を抑制し、糞中排泄が促進された。2,3,7,8-tetrachlorodinezo-*p*-dioxin（TCDD）母体曝露によって惹起される胎児精巣ステロイドホルモン合成酵素と胎児脳下垂体における性腺刺激ホルモンmRNA発現低下はα-リポ酸の併用にて回復した。また、これまでの研究で、植物ポリフェノールである resveratrol が、ダイオキシン中毒症状の一部に対し有効で、その効果は、その生物学的利用率（bioavailability）の改善に伴って増強される可能性が示されている。臨床応用を目指す基礎研究の一環として、ラットを用いてresveratrol 経口、皮下および経皮投与における bioavailabilityを比較・検討したところ、血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve extrapolated infinity, $AUC_{inf}$)、平均滞留時間と半減期は、いずれも経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で増加する傾向が認められた。

最後に、2008年5月8日、油症の治療法開発の推進および発症機序の解明に向けた研究を推進する研究診療拠点として、九州大学病院油症ダイオキシン診療研究センター（以下　油症センター）が開設された。患者と地域医療機関との診療連携も図りたい。なお、本研究を通じて明らかになった様々な事実について論文化したものは、日本語、英語でホームページに掲載する。患者広報のためのパンフレット作成、定期的な油症新聞も発行を継続する。

## A．研究目的

PCBとPCDFの混合中毒である油症が発生して40年が経過した。油症は人類が経口的に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。ダイオキシン類曝露後、長期間経過した場合の人体への影響については明確になっておらず、今後も検診を継続し、油症患者の症状を注意深く把握し、検討する必要がある。

近年、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、二極化の傾向にある。患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による変化や老年期障害が加わっており、その評価は難しい。2002年、全国一斉検診にて生体内に微量に存在するPCDFの測定が始まって6年が経過した。油症患者のPCB、PCDF濃度とその値の推移、症状、検診検査項目との相関について引き続き解析、検討を行い、これらの化学物質が油症の症状形成にいかに寄与したかを確認する。

また、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開発するために、ダイオキシン類の患者生体内での半減期、代謝動態に対する解析や、基礎的研究も継続する。

（倫理面に対する配慮）
研究によって知りえた事実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。

**B．研究方法**

<u>I. 班長が担当する研究</u>

１．班の総括と2008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
患者の症状の変遷と高齢化にあわせて検診科目、検診項目を見直す。
７.コレスチミドやアダパレンの臨床試験
油症患者油症患者の様々な症状を軽減するために臨床試験は必要である。2007年度から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行っている。また、ざ瘡の治療薬であるアダパレン外用剤の臨床試験を新たに開始する。

<u>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</u>

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、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法などを用いて、統計学的に解析し、経年変化の傾向について調査する。
２．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。患者の症状、検査結果と血中ダイオキシン類濃度との相関について分析、検討する。
３．油症の次世代に及ぼす影響に関する検討を行う。
４．油症原因物質などの体外排泄促進に関する研究を行う。

５．油症発症機構に関する基礎的研究として、ダイオキシン類が免疫反応に及ぼす影響を検討する。

## Ｃ．結果および考察

### １．油症患者検診結果

2008 年度の油症患者データベースには 1986 年度から 2007 年度検診までの検診受診者 1316 人が登録された。データベースは検診時に用い、患者の健康増進指導に非常に有用である。2006 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 23～32%認められた。血中 PCB 濃度は認定群の男の幾何平均値が 2.21ppb、女の幾何平均値が 1.91ppb だった。PCQ 濃度は認定群の男の幾何平均値が 0.15ppb、女が 0.19ppb だった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は男が幾何平均値で 47.92pg/g-fat に対して女は 113.87 pg/g-fat であった。過去の臨床症状と現在のダイオキシン類濃度との関連性についてロジスティック回帰分析を行った。その結果、内科所見では
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF や
3,3',4,4',5-PeCB(#126)との関連が示唆された。皮膚科所見及び眼科所見の症状については油症患者特有の
2,3,4,7,8-PeCDF との関連が示唆された。

2008 年度の福岡県油症検診における眼科受診者は 212 名で、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。

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 2008 年度に油症検診の眼科部門を受診した 212 名のうち、認定患者で 2004 年度にも受診していた 49 名を研究対象とした。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 分類を用いて評価し、2004 年と 2008 年の結果を比較検討した。高血圧性変化は不変であった。動脈硬化性変化は有意に悪化した
（p=0.0004）。動脈硬化悪化群は不変群に比較し年齢が高い傾向にあった
（p=0.0699）。動脈硬化悪化群において血清総コレステロール濃度（p=0.2934）と血清中性脂肪濃度（p=0.0861）が、有意差はないものの上昇傾向にあった。

2005-2007 年度の皮膚科検診における皮膚症状の推移を解析した。ここ 3 年間では、60-70%の患者に皮膚症状を認めない。しかし、10-20%の患者に面疱やざ瘡様皮疹を認め、治療を要する状態である。

2008 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すと共に、2007 年度の結果と比較するといずれも増加していた。

2007 年度福岡県および長崎県油症一斉検診の受診者 357 名を対象に、骨密度を測定した。骨密度は非利き腕の橈骨遠位端を二重Ｘ線吸収法（DXA）にて測定し、機材には福岡県は ALOKA DCS-600EX、長崎県は東洋メディック DTX-200 を用いた。若年成人（20-44 才）の平均骨密度（YAM）に対する評価としてＴスコアを、同一年齢の平均骨密度に対する評価としてＺスコアを用いた。
Ｔスコア＝（骨密度/YAM）x100
Ｚスコア=（骨密度-同一年齢の平均骨密度）/同一年齢の平均骨密度の標準偏差。
その結果、男性では 83%の患者で正常な

骨密度であったが、女性では58%に骨密度の低下を伴い、特に60才以降では55%の受診者にYAM70%未満の骨密度低下を認めた。

２．油症相談員制度およびアンケート調査

2002年に導入した油症相談員事業により、患者の健康相談に乗ると同時に、検診を受診していない患者の健康状態や近況も把握できるようになった。2005年度から油症相談員による患者の健康実態調査を行っている。2005年度は癌など疾患の罹患状況、骨粗しょう症や関節障害の有無、2006年度は家族構成についての情報聴取、2007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行った。2007年度に行った、油症認定患者731名を対象にアトピー性皮膚炎有病率に関するアンケート調査の結果を解析した。回答した638名におけるアトピー性皮膚炎の生涯有病率は平均8.8%であった。一方、2007年度検診を受診した油症認定患者83名と未認定患者98名での血清IgE値には有意差は認められなかった。

３．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、パンフレットの配布、ホームページの開設、油症新聞の定期的発行を行い、患者に情報を伝達した。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。

４．油症認定患者追跡調査

2008年に新たに油症と認定された6名を含めた全認定患者は、1,924名であった（2008年12月末現在）。このうち、2007年12月末現在における認定患者1,918名を分析対象とし、油症患者の生存状況および死因を調査した。また、油症患者における主要死因別（悪性新生物、心疾患、脳血管疾患）の死亡リスクについて、全国平均と比較して評価を行った。その結果、肝がんのSMRは、男女ともにそれぞれ高い傾向がみられた（男：1.67（95% CI: 0.99-2.63)、女：1.87（95% CI: 0.81-3.69))。また、男性の全がんおよび肺がんのSMRは、有意に高い値がみられた(全がん：1.26（95% CI: 1.03-1.53)、肺がん：1.56（95% CI: 1.03-2.27)。その他の主要死因については、顕著な傾向は特にみられなかった。なお、生存確認および死因調査はさらに継続中である。

５．油症患者の臨床症状を軽減するための臨床試験

１）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実施している。2007年度は福岡市および五島地方において15名に対し実施したが、2008年度は福岡市、北九州市、長崎・五島地区において新たに18名の登録が得られ現在行っている。

２）アダパレンによる臨床試験

ざ瘡に対する外用治療薬であるアダパレンの臨床試験を2009年度に開始する予定である。

６．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

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。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、検討した結果、2008 年から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北九州生活科学センターに委託し一括して分析するよう変更した。分析データの信頼性を確保するため同一試料を各分析機関に配布しクロスチェックを定期的に行う。

７．油症患者血液中の PCDF 類実態調査

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。平成 19 年度（2007 年）は受診者のうち未認定者と油症認定者のうち過去 3 年以内に受診歴の無い認定者の血中ダイオキシン濃度を測定した。2007 年度の油症認定患者の平均 Total TEQ は 60.7 pg/g lipid であった。2001 年から 2007 年までの 7 年間の検査希望者中の油症認定患者の検体総数は 1501 件であるが、受診認定患者の実数は 531 名で、全認定患者（1912 名）の約 28%であった。内訳は男性 243 名、女性 288 名、平均年齢は 66.2 歳、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 160 pg/g lipid であった。しかし、受診認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布は受診認定患者約 50%が 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 50 pg/g lipid 以下であった。

８．検診時の血液検査、尿検査、骨代謝など検査項目の解析

１）カネミ油症検診者の血清クレアチン・キナーゼおよびアルドラーゼ値の経年変化と内科合併症について

1995 年～2007 年までの長崎県カネミ油症検診者データ全てを使用し、血清クレアチン・キナーゼおよびアルドラーゼ値の異常率を各年度ごとに算出した。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認められたが、その頻度は、徐々に低下していた。

また、カネミ油症検診者での骨密度の変化、骨吸収の指標となるⅠ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド（NTX）と骨形成の指標となる骨型アルカリフォスファターゼ（BAP）を測定し、カネミ油症検診者での骨密度と骨代謝の影響を検討した。DXA で橈骨遠位端の骨密度、血清 NTX および BAP、血清 Ca、血清 P を測定し、血液 PCB 濃度、血液 PCQ 濃度、血液 PCDF 濃度との関係を検討した。その結果、男性において、PCB 血液濃度が高いと骨密度の低下、および、骨代謝の亢進（NTX の上昇、BAP の上昇）、血清 P の高値が観察された。閉経以後の女性では、血液 PCB 濃度との骨密度の低下の関係は、明らかではないが、血液 PCB 濃度が高いと血清 BAP は低下していた。影響は軽度だが、PCB は骨密度および骨代謝に影響を及ぼすと考えられた。

２）油症患者における末梢血リンパ球亜集団の検討

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 156 例について末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran（PeCDF）濃度および血中 PCB 濃度との関連について検討した。血中

2,3,4,7,8-PeCDF濃度とCD4陽性細胞、CD8陽性細胞およびCD20陽性細胞の間には相関を認めず、血中2,3,4,7,8-PeCDF低濃度油症患者と高濃度油症患者のCD4陽性細胞、CD8陽性細胞およびCD20陽性細胞に差をみなかった。血中PCB濃度とCD4陽性細胞、CD8陽性細胞およびCD20陽性細胞の間に相関をみなかったが、血中PCB低濃度油症患者に比べ血中PCB高濃度油症患者においてhelper/inducer T細胞を示すCD4陽性細胞の上昇を認めた。

３）血中PCBs、PCQ濃度と骨代謝マーカーの関係

2007年の長崎県カネミ油症検診者のうち、骨密度・代謝に関連する項目が測定できた163名(男性：56人、年齢中央値63歳（33歳から86歳）；女性：107人、年齢中央値69歳（37歳から85歳））を対象として検討した。なお、血中PCB、PCQ濃度については、過去測定値（1995～2007）の平均値を採用した。

男性において、PCB血液濃度が高いと骨密度の低下、および、骨代謝の亢進（NTXの上昇、BAPの上昇）、血清Pの高値が観察された。閉経以後の女性では、血液PCB濃度との骨密度の低下の関係は、明らかではないが、血液PCB濃度が高いと血清BAPは低下していた。影響は軽度だが、PCBは骨密度および骨代謝に影響を及ぼすと考えられた。

４）油症認定患者における抗酸化酵素peroxiredoxin I（Prx I）に対する自己抗体の検討

2008年7月に施行された長崎県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56名及び年齢をあわせた健常人36名を対象とした。PCBの代謝過程でsuperoxideが発生することが報告され、実際に高PCB血症である油症認定患者において酸化ストレスが亢進していることも報告されている。しかし油症認定患者における酸化ストレスの原因解明には至っていない。今回我々は、抗酸化酵素であるPrx Iに対する自己抗体が油症認定患者に発現していないか油症認定患者と健常人の血清を用い検討を行った。その結果、油症認定患者56名、健常人36名において抗Prx I抗体価はそれぞれ0.592±0.160、0.601±0.152であり有意差を認めなかった。

５）油症患者血中カルボニル化蛋白の検討

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、酸化ストレスの亢進により蛋白は種々の酸化修飾をうける。その中でも蛋白質のカルボニル化修飾は酸化損傷生成物の一つであり油症認定患者と正常健常人の血清を用いて血中カルボニル化蛋白を測定した。2008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55名を対象とし、検診時に採血を行い、血清を分離後凍結保存しカルボニル化蛋白測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人22名を対照とした。油症認定患者55名、健常人22名においてカルボニル化蛋白値はそれぞれ1.087±0.015 nmol/mg、0.845±0.091 nmol/mgを示し有意差を認めなかった。

９．油症患者にみられる末梢神経障害の評価

油症患者における末梢神経障害の特徴を明らかにし、その程度と質を評価する新たな主観的評価法と客観的検査法を模索し、その有用性を検討する。これまでに油症患者で報告されてきた末梢神経障害について（1968年、1980年、2002年調査)、経時的に自覚的感覚異常と他覚的異常という観点から再検討し、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴を考察した。

また患者の訴える感覚異常を、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴を考慮した上で主観的に評価する方法とともに、客観的に評価する方法を検索した。
1968年調査では、自覚的感覚異常が39.1%に存在し、その頻度は調査を重ねるごとに46.2%、59.4%と増加した。一方、再現性の高い他覚的検査であるアキレス腱反射検査で異常を認めた割合は、34.8%から34.6%、17.4%と経時的に減少した。油症患者では、客観的評価の難しい小径神経線維の障害が主体であると推察され、その障害は改善することなく持続している可能性がある。1968年調査で自覚的感覚異常を認めた患者の89%に他覚的異常神経症候（感覚異常、アキレス腱反射低下）あるいは末梢神経伝導速度の遅延を認めた。また、自覚症状のない43%の患者にも他覚的異常神経症候あるいは末梢神経伝導速度の遅延を認めた。他覚的異常神経症候が出現した後に、自覚症状が顕在化する一群が存在する可能性があり、自覚的感覚障害の性状を経時的に観察できる指標の確立が必要である。

油症患者では、客観的評価の難しい小径神経線維が障害されている可能性があり、小径神経線維の知覚機能を反映する電流知覚閾値測定による評価が有用である可能性がある。一方、自覚症状のない他覚的異常のみを呈する患者も存在することから、自覚症状について「視覚的アナログスケール」や「数値的評価スケール」を用いた経時的観察が重要であると考えられる。

## １０．油症患者における婦人科疾患に関する研究

2005年度に行った婦人科問診調査のなかで、本人回答が得られた287名のなかで、油症曝露(1968年)時年齢が40歳未満の191例を解析の対象とした。油症患者の閉経年齢について検討した。

自然閉経年齢(平均値 ± SD)は、0-19歳時曝露群(47.7± 6.2歳)、20-29歳時曝露群(49.6 ± 3.0歳)、30-39歳時曝露群(50.3 ± 4.2歳)で、各群間に有意な差はなかった。早発閉経（40歳未満に閉経）は0-19歳時曝露群2例(3.5%)、20-29歳時曝露群1例(2.0%)、30-39歳時曝露群1例(1.4%)に認められた。今後、血中ダイオキシン類濃度と閉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。

## １１．油症患者におけるヘリコバクター・ピロリ感染率の検討

油症患者におけるHelicobacter pyloriの研究を開始するにあたって、その基礎的データを文献的に検討した.今回集積された文献データでは、ダイオキシンおよび関連物質が胃癌の発生に関与する可能性を支持するものが多くみられた。一方、PCBやPCDFなどのH.pyloriの制菌作用に関しては未だ不明である。胃癌発症の観点から油症患者においてH.pylori感染感染を検討することの意義が確認できた。

## １２．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血中ダイオキシン類濃度との解析

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血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を中心に統計学的に解析した。2005年に行った婦人科問診調査回答者から104名を解析対象とした。油症時に5歳以上、0-4歳、油症後に出生の３群間で初経年齢平均値に違いが見られたが、初経年齢を生年で調整するとその違いは統計的な有意水準の境界域にとどまった（$p = 0.05$)。血中ダイオキシンレベルが測定され、初経年齢との解析対象となったのは25名であった。油症発生時と初経年齢時の推定血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を、

2,3,4,7,8-PeCDF、
3,3',4,4',5-PeCB(CB-126)、
3,3',4,4',5,5'-HxCB(CB-169) の３異性体について解析したが、統計学的に有意な関連は認められなかった。

１３．胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重に与える影響　－　妊娠中の喫煙の関与について　－

ダイオキシン類の胎児期曝露による次世代影響が懸念されている。これまで我々は、低用量における胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重へ与える影響を明らかにしてきた。今回我々は、喫煙が母体血中ダイオキシン類濃度に与える影響を検討し、胎児期ダイオキシン類曝露と出生体重との関連に与える、喫煙の交互作用の検討を行った。交絡因子で調整した重回帰分析の結果では、Total non-ortho PCBs、Total non-ortho PCBs TEQ、Total coplanar PCBs TEQ において有意に喫煙群の母体血中濃度が非喫煙群より低い傾向であった。妊娠中の母親の喫煙により、ダイオキシン類とりわけ Coplanar-PCB 類の代謝が促進されている可能性が示唆された。また、喫煙習慣別に母体血中ダイオキシン類濃度が児の出生体重へ与える影響を、重回帰分析にて検討を行った結果、非喫煙群に比べ喫煙群は、出生体重がより減少する傾向が PCDD 類及び PCDF 類濃度において認められ、とりわけ 1,2,3,7,8-PeCDD、2,3,4,7,8-PeCDF において顕著にみられた。一方、Coplanar-PCB 類においてはそのような傾向はみられなかった。ダイオキシン類の出生体重への影響が喫煙によって修飾されている可能性が示唆された。

１４．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

１）油症患者の母親 12 名から生まれた 18 名の子供(1948 年から 1995 年の出産)のへその緒、油症未認定の母親 3 名から生まれた 5 名の子供(1973 年から 2002 年の出産)及び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。

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 8 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。また、出生年とダイオキシン濃度の関係を解析すると油症発生 13 年以内（1970-1981 年）に出生した児のへその緒中に高濃度のダイオキシン類が検出された。

２）油症被害者 3 名および一般健常者 11 名の女性が出産した時の保存さい帯（へその緒）28 試料を対象として、ダイオキシン様 PCB（DL-PCB）を分析し、その分析値を基準にして、出産当時の油症被害者における両化合物による汚染評価を検討した。その結果、油症発症当時の 1968～70 年代においては油症被害者および一般健常者の汚染濃度は極めて高く、それ以降は経時的に減少する経年変化が認められた。しかし、両化合物の汚染濃度や組成は、油症被害者と一般健常者との間で有意的な差異は認められなかった。

１５．胎児性油症の原因物質に関する研究

カネミ油症中毒事件発生後２年～5 年で出生した２名の黒い新生児を含む６名の胎児性油症患者と同時期に誕生した 5 名の健常児の保存臍帯を用いて、PCDFs、PCDDs、

ダイオキシン様PCBsおよびPCBsの濃度を分析・定量した。その結果、胎児性油症の90%はPCDFsが原因のPCDFs中毒であることが明らかになった。また、PCDDsとダイオキシン様PCBsの毒性もそれぞれ8%と2%寄与していることが判明した。

## １６．PeCDFの体外排出速度と半減期に関する研究

### １）現在の患者ごとの排出速度を考慮したPeCDF排出モデルに関する研究

2001年度～2006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では、患者ごとに半減期が異なっていた。半減期のバリエーションの研究によりPeCDFの半減期が患者ごとに異なることがみつかった。特に、200 pg/g以上の患者では、半減期が7年程度の患者と、半減期が無限大、つまり減少していない患者群がいる可能性が示された。このような状況は、今までの研究成果だけでは説明がつかない。これらの現象について、数理モデルを組立て、可能性を見つけ出すことを目的とした。

各患者が二つの吸収機構を有するモデルを想定した数理モデルを組み立て、シミュレーションを実施した。今回想定したモデルは次の二つの吸収機構を有すると仮定した。

（１）吸収能力は低いが、吸収能力の限界が存在しない吸収機構

（２）吸収能力は高いが、吸収能力の限界が存在する吸収機構

これらの二つの吸収機構を想定したことにより、現在の血中濃度の状況を適切に表現可能であると考えられた。これらの二つ吸収機構が存在する可能性を示したものと考える。これらの吸収機構のうち、（１）の機構は、純粋に浸透圧に主要因とする機構が想定でき、（２）は特定の化合物を選択的に回収する機構が想定できるものと考える。

### ２）油症の各患者の血中PeCDF濃度の半減期のバリエーションに関する研究

油症患者のPeCDF濃度を2を底とする対数に変換したものを従属変数とし、計測年を独立変数として、線形回帰分析が行われた。この線形回帰分析でえられた1次の係数は、半減期の逆数である。

PeCDFの半減期は、患者間で非常に大きなばらつきがあった。特に、油症患者の診断基準の一つであるPeCDF濃度50pg/g以上の患者群には、既存の報告と同等の半減期7年程度を示す患者群と、PeCDF濃度が減っていない患者群の2群が存在した。

これまでの研究は、PeCDFの半減期が約７年と報告している。しかし、本研究は、PeCDF濃度が減少する群とPeCDF濃度が高濃度で維持されている群の2群が存在することを示した。つまり、これまでに提唱されているような濃度に依存したPeCDFの排出モデルのみでは説明ができない患者群が存在することを示している。ゆえに、我々の研究は、ヒトにおけるPeCDFの排出を説明するためには、さらに複雑なモデルが必要なことを示唆している。

## １７．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）ダイオキシンのaryl hydrocarbon receptor signalingを介したケモカイン・サイトカインの産生について

ディーゼル排気ガスやタバコの煙中に含まれるbenzo(a)pyrne(BaP)投与にてヒト培養表皮細胞のIL-8産生について検討した。喫煙者の血中濃度と報告される40 nMのBaPをヒト表皮細胞に投与したところ、コントロールと比較して有意なIL-8の産生量の増加が認められた。IL-8の産生量

は、BaP の用量依存性の増加が認められた。また、aryl hydrocarbon receptor (AhR) の選択的な antagonist である resveratrol を BaP と同時に投与したところ、IL-8 の産生量が減少したことから、ヒト表皮細胞における BaP による IL-8 の産生は、AhR signaling を介していることが示唆された。

２）2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル(CB149)の動物肝ミクロゾームによる代謝

ヒト血液中には、CB153 や CB138 などの未変化体に加え、PCB 代謝物として 4-hydroxy (OH)-CB187 や 4-OH-CB146 などが高濃度で検出されている。最近、ヒト血液中から新たに 4,5-diOH-CB149 が検出されたことから、本研究では、この代謝物の母化合物を明らかにするため、CB149 の in vitro 代謝をラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)を用いて調べた。その結果、主代謝物として２種類の OH 体(M-1、M-2)と、１種類の diOH 体(M-3)が生成された。さらに、GC-MS により別途合成した標品と比較した結果、M-1、M-2 および M-3 はそれぞれ 5-OH 体、4-OH 体および 4,5-diOH 体であることが明らかとなった。主代謝物の M-1 および M-3 の生成は、ラットで最も多く、ハムスター、モルモットの順であった。また、両代謝物の生成は、PB 前処理により、促進され、特にラットでは未処理の数 100 倍以上であった。なお、M-2 は M-1 に比べ、非常に少ないものの PB 前処理のラットとハムスターで生成された。以上の結果より、ヒト血中で検出された 4,5-diOH-CB149 は CB149 から少なくとも 5-OH 体を経由して生成されることが確認された。また、CB149 代謝には PB 誘導性の P450、すなわち CYP2B 酵素が強く関与することが明らかになった。

３）PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害モデル作成に関する研究

PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害の機序解明のため、動物モデルの作成を検討した 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)をコーンオイルで溶解し、C57Bl/6 マウス雌、6 週齢に以下の 2 通りの経路で投与した。（１）TCDD 100 μg/kg あるいは 200 μg/kg を day1 から day5 までマウスに経口摂取させた。コーンオイルのみを経口摂取した群をコントロールとした。Day 7 に肺を取り出し、HE 染色組織標本を作製、評価した。（２）TCDD 15 μg/kg を day1 から day5 までマウスに腹腔内投与した。コントロール群はコーンオイルのみを腹腔内投与した。day6 に BAL 液を回収して炎症細胞数、細胞分画について測定した。またに肺を取り出し、HE 染色組織標本を作製して評価した。

経口投与モデルでは、TCDD 100 μg/kg 群(n=4)あるいは 200 μg/kg 群(n=4)においてコントロール群(n=4)と比較し、肺組織所見に有意差は認めなかった。腹腔内投与モデルでは、TCDD 投与群とコントロール群の間で BAL 液中の炎症細胞数と細胞分画に有意差はみられなかった。TCDD 群 7 匹中 1 匹の肺組織所見で、肺胞隔壁肥厚、肺胞出血が認められたが、のこり 6 匹では異常所見がなく、コントロール群との比較で有意差は認められなかった。

４）Cholebine によるダイオキシン排泄促進

Cholebine のダイオキシン排泄促進作用について検討を行った。5 週令の Wistar 系雄性ラットに $^{14}$C-2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF, 2.9 MBq/mg) を 0.5 mg/kg body weight/3 mL corn oil 経口投与し、cholebine 含有飼料を与え 1 週間飼育した。その結果、cholebine 摂取 1 日日において、PenCDF の糞中排泄量が対照群に比べ約 15% 増加した。2 日目以降につ

いては、有意差は認められるもののその差はいずれも 1% 以下であった。一方、臓器中の PenCDF 残存量については、脳を除いて、cholebine により 20〜30% の低下が観察された。次に、観察期間を 28 日間に延長し、同様の検討を行った。その結果、糞中排泄促進効果については短期処理実験の結果と同様であったが、臓器中の PenCDF 残存量は、脳を除き、cholebine による軽減効果は認められなかった。さらに、cholebine は、PenCDF と直接結合せず、胆汁酸などの因子を介して結合し、糞中排泄を促進している可能性が考えられた。以上の結果から、cholebine はダイオキシンの初回吸収は効果的に抑制するが、ラットを用いた本検討からみる限り、再吸収に関しては顕著な抑制効果を示さなかった。

５）ダイオキシン後世代影響の抗酸化物質による軽減

ダイオキシン後世代影響を軽減する物質の探索を目的として、2,3,7,8-tetrachlorodinezo-*p*-dioxin (TCDD) 母体曝露によって惹起される胎児ステロイドホルモン合成酵素発現低下に対する抗酸化物質の影響を観察した。妊娠 15 日目の Wistar 系ラットに抗酸化物質を尾静脈内投与し、そののち TCDD を経口投与した。その翌日より妊娠 20 日目まで初回と同用量の抗酸化物質を尾静脈内投与し、胎児の精巣と脳下垂体におけるステロイドホルモン合成関連タンパク質の mRNA 量を定量した。その結果、TCDD 母体曝露による胎児精巣のステロイドホルモン合成酵素 mRNA の低下は、α-リポ酸 (LA) の併用によりほぼ完全に回復することが明らかとなった。また、胎児脳下垂体における性腺刺激ホルモン mRNA の発現低下も、LA を併用することによりコントロールレベルまで回復した。一方、LA 以外の抗酸化物質では、同様の回復効果は認められなかった。以上の結果から、LA は胎児の性腺刺激ホルモンの回復を介してステロイドホルモン合成系の障害を消去するものと考えられ、これは抗酸化的ストレス作用以外の機構を介して惹起される可能性が示された。

６）食物成分 resveratrol によるダイオキシン中毒症状軽減の試み：投与経路の違いに基づいた血中 resveratrol 濃度の経時的変化

これまでの研究から、植物ポリフェノールである resveratrol が、ダイオキシン中毒症状の一部に対し有効である可能性が明らかとなっている。また、resveratrol の効果は、その生物学的利用率 (bioavailability) の改善に伴って増強される可能性も示された。本研究では、ダイオキシン中毒症状に対する resveratrol の臨床応用を目指す基礎研究の一環として、resveratrol の経口、皮下および経皮投与における bioavailability を比較・検討した。Wistar 系雄性ラットに resveratrol を投与した場合、血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積 (area under the curve extrapolated infinity, $AUC_{inf}$) は、経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で増加する傾向が認められた。また、平均滞留時間と半減期についても、同様の傾向が認められた。ダイオキシン中毒症状に対する resveratrol の適用には、さらなる吸収効率の改善は必要不可欠であるが、経皮吸収法は有望な手段の一つであると考えられた。

## D．結論

2004 年から、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF を診断基準に加え、今年度も新たに 6 名が油症患者と認定された。油症相談員の導入により、検診を受診していない患者を含めた患者の聞き取り調査も行うことが

できるようになった。アレルギー疾患、婦人科疾患の既往歴など健康実態調査を行い、次世代に対する影響も含めて、現在解析中である。今年度も患者の協力が得られ、ダイオキシン類の排泄を促進するコレスチミドによる臨床試験を継続した。生体内のダイオキシン類濃度が正確に測定できるようになった今、油症患者に今なお残存する症状とダイオキシン類濃度、各種検査項目との相関について解析し、ダイオキシン類の長期にわたる生体への影響を検討した。また、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を開発するために基礎的研究を行った。

**E．健康危険情報**

なし

分担研究報告書

# 油症の健康影響に関する疫学的研究

研究分担者　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　企画情報管理課　課長
髙　尾　佳　子　福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　主任技師
小野塚　大　介　福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　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。2008 年度のデータベースには 1986 年度から 2007 年度検診までの検診受診者 1316 人が登録された。2006 年度の全国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 23～32%認められた。血中 PCB 濃度は認定群の男の幾何平均値が 2.21ppb、女の幾何平均値が 1.91ppb だった。PCQ 濃度は認定群の男の幾何平均値が 0.15ppb、女が 0.19ppb だった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は男が幾何平均値で 47.92pg/g-lipid に対して女は 113.87 pg/g-lipid であった。油症データベースの機能として、新たな検査項目の追加、検索機能の強化、エクスポート機能、家系図作成機能等の検討を行った。

## 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）により、全国一斉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 年度の一斉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。

今年度は(1) 2007 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) 2006 年度全国油症検診集計結果の報告、
(3) 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) 2007 年度全国油症一斉検診及びダイオキシン類データの確定化

全国 11 の追跡班が毎年度実施する油症一斉検診の検診票は福岡県の油症追跡班事務局を経て当所に検診票の写しと電子媒体が届けられる。今年度は 2007 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) 2006 年度全国油症検診集計結果の報告

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

(3) 油症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。

検診票の変更に伴う機能追加としては、2007 年度検診から追加された骨密度検査、アレルギー検査は検査票の検査項目として正式に検診票へ追加されたため、検査票の項目として参照可能にする。

利便性の向上を目的とした機能強化としては、検診現場等での作業の効率化を図るため、検索機能を強化する。また、印刷機能として、ラベル作成機能を追加する。

データの可用性に重点を置いた機能追加としては、検診票の電子データ化と検診データベースとの連携機能を追加する。

データ解析の強化として、エクスポート機能を追加する。また、収集された家族データを解析に使用可能にするため、家系データの登録、参照機能を追加する。

(4)データ管理

油症検診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、一斉検診票のみのデータベース化であったが、一斉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 油症解明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。

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 油症解明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。

①及び②の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) 2007 年度全国油症一斉検診データの確定化

表 1 に 2007 年度の追跡班・認定区分別の受診者数を示す。2007 年度の受診者は 522 人で前年度の 432 人に比べ 90 人増加した。その内訳は、認定群は 67 人、未認定群は 23 人だった。

追跡班別では福岡県の受診者が最も多く 196 人（前年度+35 人）、次いで長崎県の 169 人（前年度+30 人）、広島県の 60 人（前年度+6 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 120 人と最も多く、認定群全体の 32.1%を占めた。次いで 60 歳代 86 人の 23.0%だった。未認定群では 70 歳代が 35 人と最も多く、未認定群全体の 23.6%を占めた。次いで 50 歳代 30 人の 20.3%だった。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、中毒物質を直接摂取する可能性の低い 1968 年 10 月 14 日以降の出生者で、検診を受診した者は認定群で 9 人、未認定群で 27 人だった。

2007 年度受診者 522 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。2007 年度の新規登録者は前年度の 69 人から 94 人に増加した。新規登録者の内訳は認定群が 48 人、未認定群が 46 人だった。追跡班別の内訳は関東以北 1 人、愛知県 3 人、大阪府 5 人、広島、山口各 4 人、福岡県 46 人、長崎県 31 人だった。したがって、前年度検診までの登録者 1222 人に 2007 年度新規登録者 94 人を加えた 1316 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 2007 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 244 人についてデータを追加した。

2007 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) 2006 年度全国油症検診集計結果

図 1 に 1986 年から 2006 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。

2006 年度の検診受診者は認定患者 307 人、未認定患者 125 人の計 432 人だった（表 4）。

年齢階級別では、認定群は 70 歳代が 113 人と最も多く、認定群受診者の 36.8%を占めた。未認定群は 50 歳代、60 歳代、70 歳代が各 22 人で、それぞれ未認定群受診者の 17.6%を占めた（図 2）。

図 3 から図 5 に 2006 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全身倦怠感、関節痛、しびれ感の訴えが多く有所見率は約 60～70%を示した。一方、他覚所見の有所見率は肝胆脾エコーの約 50%を除くと約 10%～30%程度だった。

皮膚科所見では認定群のかつてのざ瘡様皮疹は男で 48%、女で 64%の訴えだったが、2006 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%以下だった。

眼科所見では眼脂過多の訴えが男は約 13%、女で約 11%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 55%と顕著だった。色素沈着所見では認定群の歯肉の有所見が男で約 32%、女で約 23%認められた。

図 6 に 2006 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 2.21ppb、女の幾何平均値が 1.91ppb だった。認定群の PCQ 濃度は幾何平均値で男は 0.15ppb、女は 0.19ppb だった。

図 7 は 2006 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 47.92pg/g-lipid に対して女は 113.87 pg/g-lipid であった。

(4) 油症データベースの機能追加の検討

2007 年度検診においては福岡県、長崎県で、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め、データベースに参照画面を追加した。2008 年度検診から全国的に実施することとなり、検査票の検査項目として正式に検診票へ追加されたため、来年度は参照画面の変更を行う予定である。

検診データベースの利便性の向上を目指し、検索機能の充実や印刷機能追加を行った。検索機能としては、これまでも ID、ﾌﾘｶﾞﾅ、氏名での検索は行えたが、より詳細に絞り込みが行えるように、受診者区分、検診受診の有無、追跡班で検索が行えるようにした。検診データベースには、一斉検診のデータ以外も含まれているため、検診受診者と未受診者を明確に区別できるよう追加した。検索機能については、今年度送付した検診データベースで既に利用できるようになっている。印刷機能としては、シール台紙に個人の情報が印字できるようにした。しかし、この機能については、個人情報の取り扱いとなるため、情報セキュリティ対策の検討の必要性及び運用上のルール作りが必要であるため、現在は保健環境研究所担当者のみの利用に留めている。

検診票の電子データ化については、福岡県分から開始し、延べ約 2400 人分、約 12000 枚の検診票を電子データ化したところである。過去の検診票の写しが劣化していることもあり、1 枚 1 枚確認しながらの作業となるため、来年度以降も継続して進めていく予定である。

データ解析強化として行ったデータエクスポート機能の追加については、定型及び検診票ごとの形でエクセルファイルへエクスポートができるようにした。エクスポート機能については、個人情報を含んだ形でデータがエクスポートできるため、情報漏えいの危険性や運用上様々な問題が懸念されるため、現在は保健環境研究所担当者のみの利用に留めている。また、家族情報については、家系図データとして検診データベース中に情報を登録できるようにした。現在は、集められた家族情報について精査を行っており、順次登録を進めていく予定である。

表1　2007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 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2007年度 a | 前年度 b | 差 a-b | 2007年度 a | 前年度 b | 差 a-b | 2007年度 a | 前年度 b | 差 a-b |
| 千葉県 | 2 | 2 | − | 2 | 2 | − | 4 | 4 | − |
| 関東以北 | 10 | 6 | 4 | 7 | 5 | 2 | 17 | 11 | 6 |
| 愛知県 | 8 | 2 | 6 | 6 | 12 | −6 | 14 | 14 | − |
| 大阪府 | 23 | 16 | 7 | 4 | 2 | 2 | 27 | 18 | 9 |
| 島根県 | 3 | 2 | 1 | − | − | − | 3 | 2 | 1 |
| 広島県 | 45 | 43 | 2 | 15 | 11 | 4 | 60 | 54 | 6 |
| 山口県 | 15 | 10 | 5 | 2 | 3 | −1 | 17 | 13 | 4 |
| 高知県 | 9 | 10 | −1 | 2 | 2 | − | 11 | 12 | −1 |
| 福岡県 | 148 | 119 | 29 | 48 | 42 | 6 | 196 | 161 | 35 |
| 長崎県 | 107 | 93 | 14 | 62 | 46 | 16 | 169 | 139 | 30 |
| 鹿児島県 | 4 | 4 | − | − | − | − | 4 | 4 | − |
| 総数 | 374 | 307 | 67 | 148 | 125 | 23 | 522 | 432 | 90 |

表2　2007年度検診受診者数，年齢階級・認定区分別

| 年齢階級 | 認定 | | 未認定 | | 総数 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 人 | % | 人 | % | 人 | % |
| 0〜 9歳 | − | 0.0 | 1 | 0.7 | 1 | 0.2 |
| 10〜19歳 | − | 0.0 | 4 | 2.7 | 4 | 0.8 |
| 20〜29歳 | − | 0.0 | 4 | 2.7 | 4 | 0.8 |
| 30〜39歳 | 10 | 2.7 | 21 | 14.2 | 31 | 5.9 |
| 40〜49歳 | 56 | 15.0 | 19 | 12.8 | 75 | 14.4 |
| 50〜59歳 | 58 | 15.5 | 30 | 20.3 | 88 | 16.9 |
| 60〜69歳 | 86 | 23.0 | 24 | 16.2 | 110 | 21.1 |
| 70〜79歳 | 120 | 32.1 | 35 | 23.6 | 155 | 29.7 |
| 80〜89歳 | 42 | 11.2 | 10 | 6.8 | 52 | 10.0 |
| 90〜99歳 | 2 | 0.5 | − | 0.0 | 2 | 0.4 |
| 総数 | 374 | 100.0 | 148 | 100.0 | 522 | 100.0 |

表3　2007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 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2007年度 | 前年度 | 2007年度 | 前年度 | 2007年度 | 前年度 |
| 千葉県 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 |
| 関東以北 | 5 | 6 | 7 | 5 | 12 | 11 |
| 愛知県 | 3 | 2 | 6 | 12 | 9 | 14 |
| 大阪府 | 5 | 16 | 4 | 2 | 9 | 18 |
| 島根県 | 1 | 2 | − | − | 1 | 2 |
| 広島県 | 5 | 39 | 15 | 11 | 20 | 50 |
| 山口県 | 3 | 10 | 2 | 3 | 5 | 13 |
| 高知県 | − | 10 | 2 | 2 | 2 | 12 |
| 福岡県 | 48 | 119 | 47 | 42 | 95 | 161 |
| 長崎県 | 24 | 92 | 62 | 45 | 86 | 137 |
| 鹿児島県 | 1 | 2 | − | − | 1 | 2 |
| 総数 | 97 | 300 | 147 | 124 | 244 | 424 |

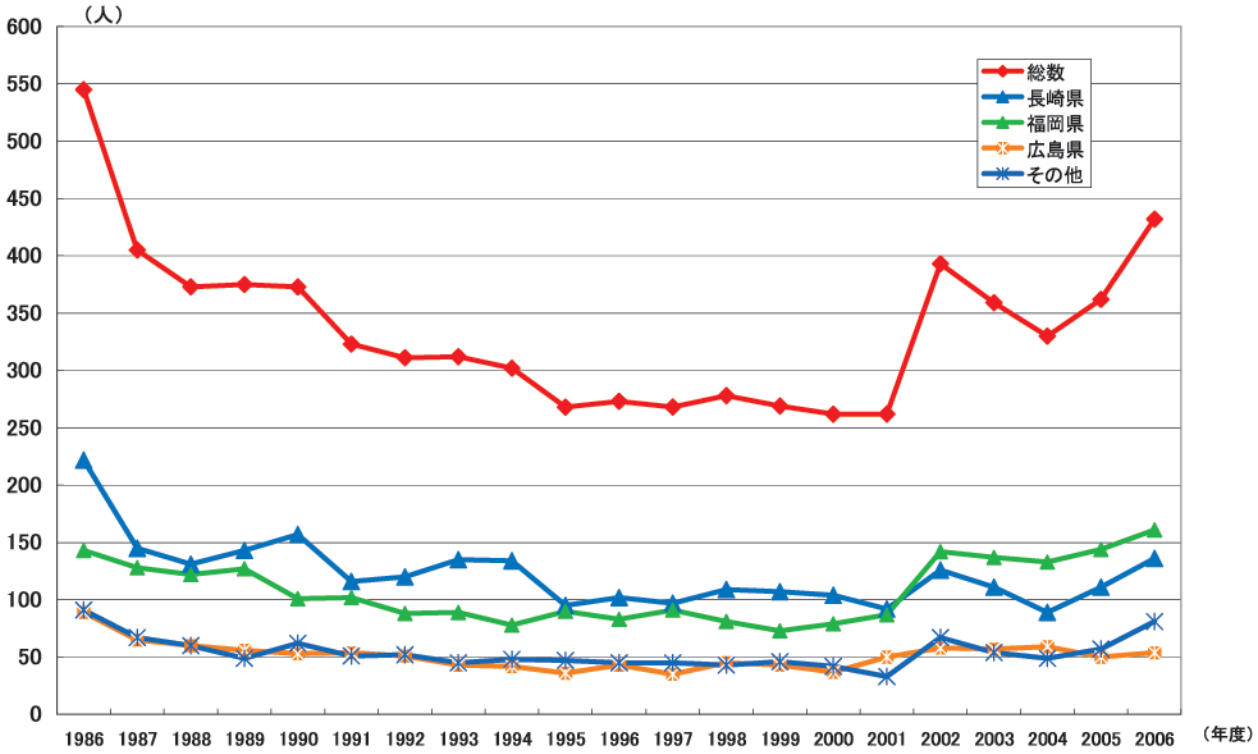



図１　油症検診受診者の年次推移

表４　2006 年度 油症検診受診者（認定区分、性別）

| | | 性別 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 男 | 女 | 合計 |
| 受診者区分 | 認定　度数 | 141 | 166 | 307 |
| | | 45.9% | 54.1% | 100.0% |
| | 未認定　度数 | 55 | 70 | 125 |
| | | 44.0% | 56.0% | 100.0% |
| 合計 | 度数 | 196 | 236 | 432 |
| | | 45.4% | 54.6% | 100.0% |

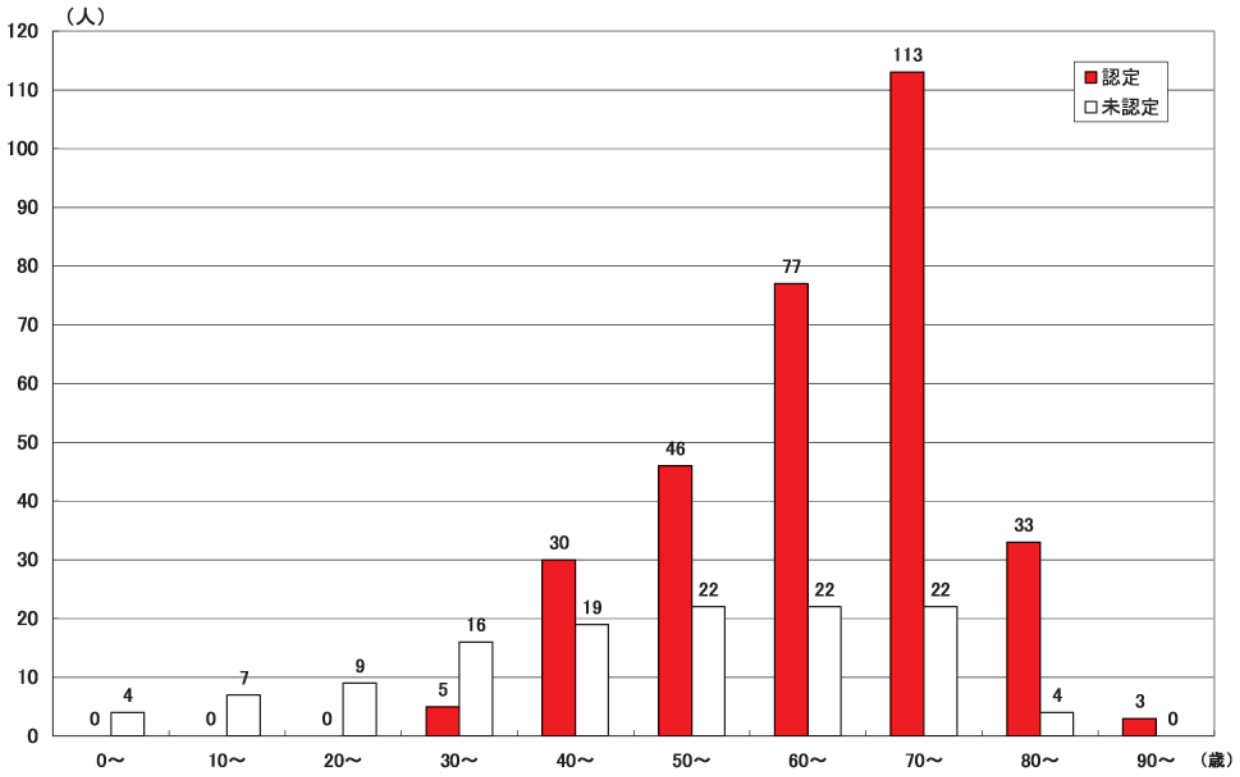



図 2　2006 年度 油症検診受診者（認定区分、年齢階級別）

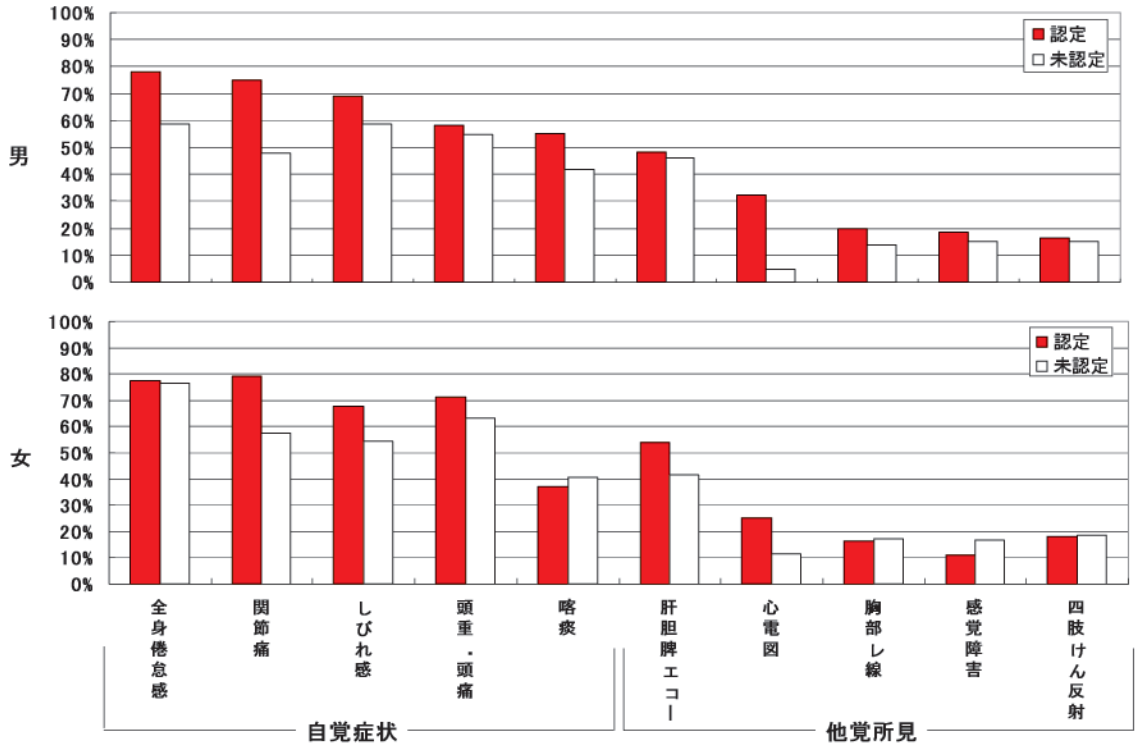



図 3　2006 年度検診受診者の有所見率*＜内科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

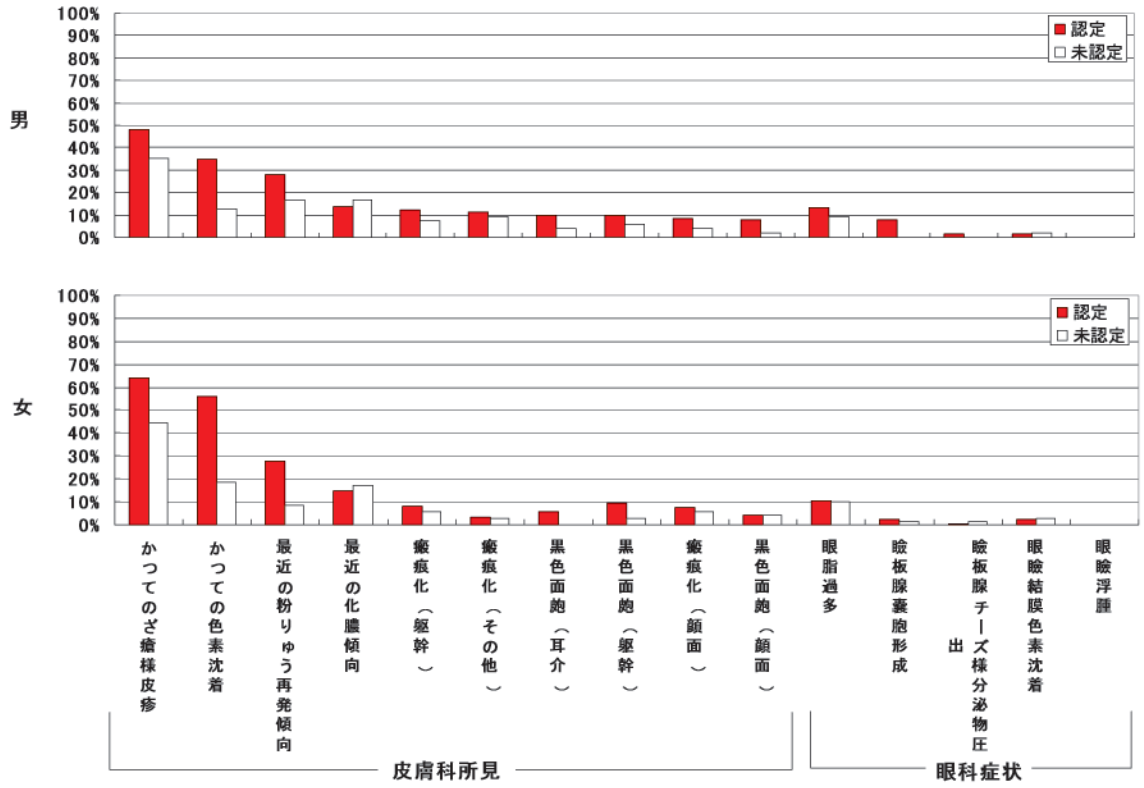



図 4　2006 年度検診受診者の有所見率*＜皮膚科・眼科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

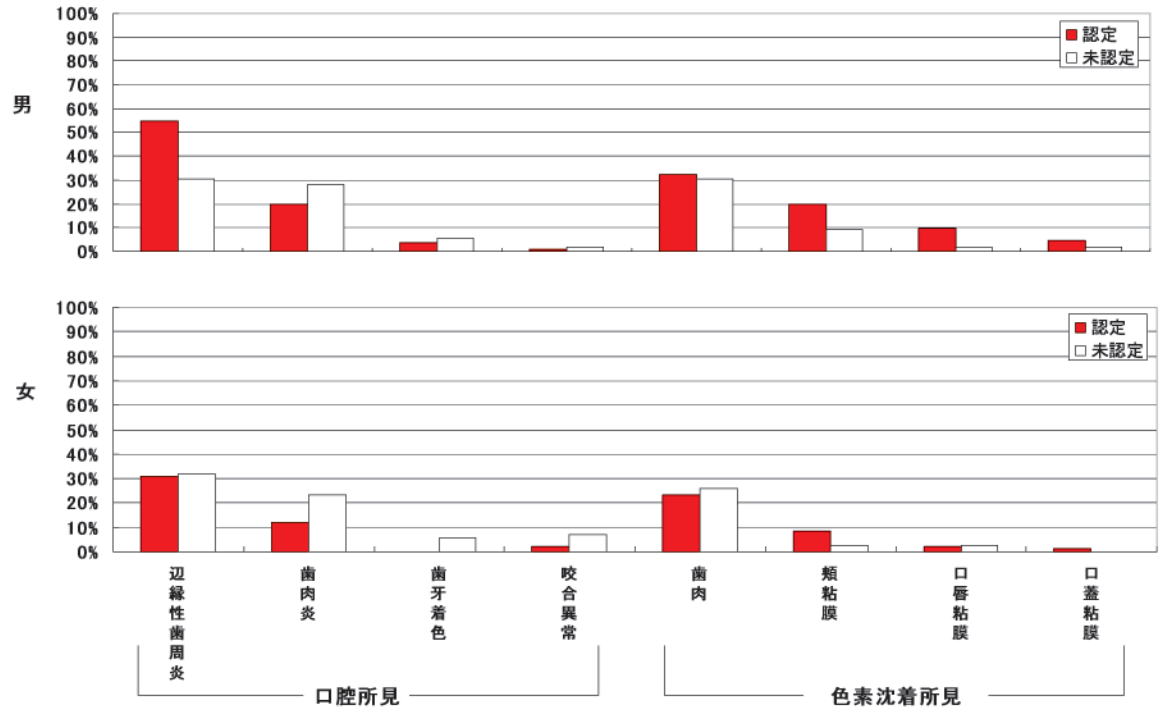
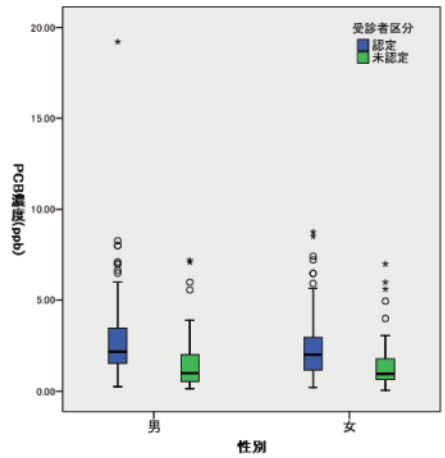
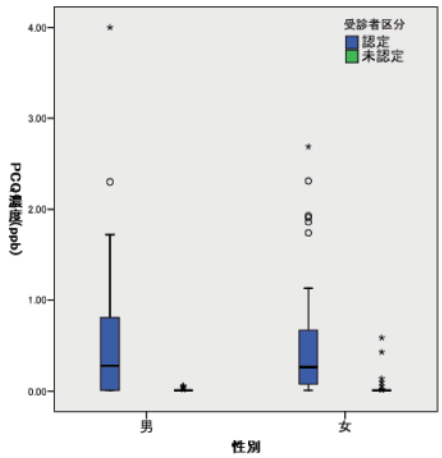



図 5　2006 年度検診受診者の有所見率*＜歯科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合



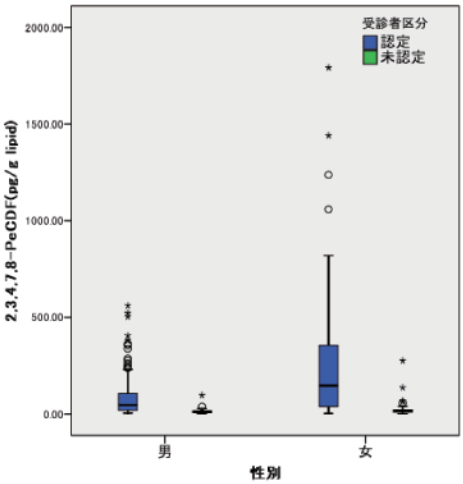

PCB濃度(ppb)

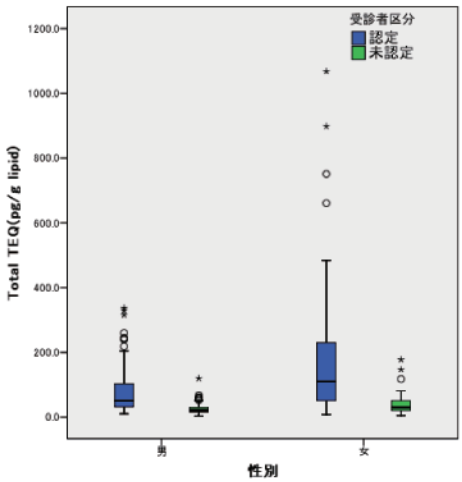
| 性別 | 受診者区分 | 人数 | 平均値 | 標準偏差 | 中央値 | 幾何平均 | 最小値 | 最大値 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 男 | 認定 | 135 | 2.78 | 2.23 | 2.17 | 2.21 | 0.25 | 19.20 |
| | 未認定 | 45 | 1.61 | 1.78 | 1.00 | 0.98 | 0.15 | 7.20 |
| | 合計 | 180 | 2.49 | 2.18 | 2.00 | 1.80 | 0.15 | 19.20 |
| 女 | 認定 | 155 | 2.35 | 1.58 | 2.00 | 1.91 | 0.21 | 8.74 |
| | 未認定 | 58 | 1.47 | 1.44 | 0.96 | 1.01 | 0.05 | 7.00 |
| | 合計 | 213 | 2.11 | 1.59 | 1.69 | 1.61 | 0.05 | 8.74 |
| 合計 | 認定 | 290 | 2.55 | 1.92 | 2.10 | 2.05 | 0.21 | 19.20 |
| | 未認定 | 103 | 1.53 | 1.59 | 1.00 | 0.99 | 0.05 | 7.20 |
| | 合計 | 393 | 2.28 | 1.89 | 1.86 | 1.69 | 0.05 | 19.20 |

PCQ濃度(ppb)

| 性別 | 受診者区分 | 人数 | 平均値 | 標準偏差 | 中央値 | 幾何平均 | 最小値 | 最大値 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 男 | 認定 | 58 | 0.52 | 0.69 | 0.28 | 0.15 | 0.01 | 4.00 |
| | 未認定 | 53 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.06 |
| | 合計 | 111 | 0.28 | 0.56 | 0.01 | 0.04 | 0.01 | 4.00 |
| 女 | 認定 | 82 | 0.48 | 0.56 | 0.26 | 0.19 | 0.01 | 2.69 |
| | 未認定 | 70 | 0.03 | 0.09 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.59 |
| | 合計 | 152 | 0.27 | 0.47 | 0.01 | 0.05 | 0.01 | 2.69 |
| 合計 | 認定 | 140 | 0.49 | 0.61 | 0.28 | 0.17 | 0.01 | 4.00 |
| | 未認定 | 123 | 0.02 | 0.07 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.59 |
| | 合計 | 263 | 0.27 | 0.51 | 0.01 | 0.05 | 0.01 | 4.00 |

図 6　2006 年度検診受診者の血中 PCB,PCQ濃度




2,3,4,7,8-PeCDF(pg/g lipid)

| 性別 | 受診者区分 | 人数 | 平均値 | 標準偏差 | 中央値 | 幾何平均 | 最小値 | 最大値 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 男 | 認定 | 136 | 89.46 | 110.34 | 46.72 | 47.92 | 4.64 | 561.12 |
| | 未認定 | 55 | 14.65 | 13.76 | 11.84 | 11.29 | 1.07 | 97.77 |
| | 合計 | 191 | 67.92 | 99.29 | 25.86 | 31.60 | 1.07 | 561.12 |
| 女 | 認定 | 164 | 234.88 | 272.90 | 147.04 | 113.87 | 3.30 | 1792.22 |
| | 未認定 | 69 | 22.77 | 36.57 | 15.69 | 14.45 | 1.70 | 276.35 |
| | 合計 | 233 | 172.07 | 249.27 | 53.65 | 61.79 | 1.70 | 1792.22 |
| 合計 | 認定 | 300 | 168.96 | 226.62 | 74.54 | 76.92 | 3.30 | 1792.22 |
| | 未認定 | 124 | 19.17 | 28.96 | 13.98 | 12.95 | 1.07 | 276.35 |
| | 合計 | 424 | 125.15 | 202.97 | 36.09 | 45.68 | 1.07 | 1792.22 |

Total TEQ(pg/g lipid)

| 性別 | 受診者区分 | 人数 | 平均値 | 標準偏差 | 中央値 | 幾何平均 | 最小値 | 最大値 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 男 | 認定 | 136 | 76.15 | 66.16 | 51.43 | 56.06 | 10.27 | 337.15 |
| | 未認定 | 55 | 28.02 | 19.99 | 21.57 | 22.82 | 3.60 | 119.86 |
| | 合計 | 191 | 62.29 | 60.84 | 43.80 | 43.28 | 3.60 | 337.15 |
| 女 | 認定 | 164 | 160.36 | 160.85 | 110.36 | 103.49 | 8.01 | 1067.82 |
| | 未認定 | 69 | 39.16 | 30.45 | 30.08 | 30.61 | 5.14 | 177.93 |
| | 合計 | 233 | 124.47 | 146.71 | 66.31 | 72.15 | 5.14 | 1067.82 |
| 合計 | 認定 | 300 | 122.18 | 133.58 | 68.51 | 78.38 | 8.01 | 1067.82 |
| | 未認定 | 124 | 34.22 | 26.81 | 26.85 | 26.87 | 3.60 | 177.93 |
| | 合計 | 424 | 96.46 | 120.11 | 51.71 | 57.31 | 3.60 | 1067.82 |

図 7　2006 年度検診受診者の血中ダイオキシン類濃度

分担研究報告書

# 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と治療法の開発等に関する研究

研究分担者　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 20 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 20 年度の油症検診が 9 月 4 日久留米会場、9 月 6 日福岡会場、9 月 10 日北九州会場、9 月 13 日福岡会場、9 月 18 日北九州会場で行われた。受診者はそれぞれ 33 名、62 名、31 名、53 名、33 名で、合計は 212 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

今年の受診者は 212 名で、昨年と同様に 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

研究分担者　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**　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分類を用いて評価し、２００４年と２００８年の結果を比較検討した。高血圧性変化は不変であった。動脈硬化性変化は有意に悪化した（p=0.0004）。動脈硬化悪化群は不変群に比較し年齢が高い傾向にあった（p=0.0699）。動脈硬化悪化群において血清総コレステロール濃度（p=0.2934）と血清中性脂肪濃度（p=0.0861）が、有意差はないものの上昇傾向にあった。

## Ａ．研究目的

油症事件が発生して40年以上が経過し、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、認定患者において２００４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、２００８年度の結果と比較検討した。

## 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２００８年度に油症検診の眼科部門を受診した２１２名のうち、認定患者で２００４年度にも受診していた４９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、２００４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67.9±10.9歳、男性15名、女性34名であった。高血圧症の既往歴を持つ者は59.2%、高脂血症または高コレステロール血症で加療されているものは12.2%であった。

高血圧性変化の平均スコアは２００４年度で0.86±0.68、２００８年度で0.86±0.68で変化がなかった（p=1.000）。

網膜細動脈硬化性変化の平均スコアは２００４年度で0.86±0.68、２００８年度で1.02±0.63で有意に２００８年度が高かった（p=0.0004）。２００４年度と２００８年度を比較して網膜細動脈硬化性変化のスコアが不変であったものは25名（以下、不変群とする）、悪化したものは24名（以下、悪化群とする）であった。不変群の平均年齢は69.2±12.3歳、悪化群は74.8±8.7歳であり、有意差はなかったが悪化群の方が高年齢であった（p=0.0699）。

血清総コレステロール濃度については不変群の２００４年度で208.6±34.6mg/dl、２００８年度は204.2±32.7mg/dlで有意差はなかった（p=0.4580）。悪化群の２００４年度で186.7±32.1mg/dl、２００８年度は193.0±32.3mg/dlで有意差はなかった（p=0.2934）。

血清中性脂肪濃度は不変群の２００４

年度で 120.7±46.6 mg/dl、２００８年度は 122.0±55.5 mg/dl で有意差はなかった（p=0.8885）。悪化群の２００４年度で 86.3±44.1 mg/dl、２００８年度は 104.1±62.5 mg/dl で有意差はなかった（p=0.0861）ものの上昇していた。

## D．考察

高血圧性の変化は２００４年度と２００８年度で変化がなかった。これは、高血圧で加療されているものが 59.2%と６割近くあり、認定患者全体の血圧コントロールが良好であったためと思われた。

一方、網膜細動脈硬化性変化は約半数が悪化していた。最も影響があったのは年齢と思われ、高齢になるほど動脈硬化が亢進することを示唆している。

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、網膜細動脈硬化性変化の悪化群が不変群よりも、コレステロール及び中性脂肪が低い傾向にあった。しかし、２００４年度と２００８年度を比較すると、不変群ではコレステロールも中性脂肪も変化がなかったのに対し、悪化群ではコレステロールも中性脂肪も上昇傾向にあった。このことは、動脈硬化性変化を予防するうえで、コレステロールや中性脂肪の定点値も重要であるが、経時的変化も参考にすべきことを示唆している。

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

# 油症検診における油症患者の皮膚症状の推移


研究分担者　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　三苫千景　九州大学病院油症ダイオキシン診療研究センター　助教
旭　正一　産業医科大学　名誉教授
内　博史　九州大学病院油症ダイオキシン診療研究センター　准教授
千葉貴人　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　特任助教



**研究要旨**　2005年－2007年度　3年間の福岡県油症検診での油症患者の皮膚症状を追跡調査した。


## A．研究目的

油症発生40年が経過し、患者の高齢化とともに、加齢変化に伴う皮膚症状が加わり、油症による皮膚症状の評価は容易でない。このような状況下、一斉検診を行い、油症による皮膚症状を抽出し、評価することは体内に長期間残存しているPCBやダイオキシン類が皮膚症状に与える影響を調べる上で重要なことである。

## B．研究方法

2005-2007年度の福岡県（福岡市、北九州市、久留米市もしくは大牟田市）油症一斉検診時に、皮膚科検診を受診した患者を対象とした。皮膚科検診項目は問診4項目（最近の化膿傾向、最近の粉瘤再発傾向、かつてのざ瘡様皮疹、かつての色素沈着）と他覚所見5項目（黒色面疱、ざ瘡様皮疹、瘢痕形成、色素沈着、爪変形）である。検診表の記載をもとに、皮膚症状を皮膚重症度と重症度得点数の2つにスコア化し、その推移を検討した。

皮膚重症度は皮膚症状の性質を評価する方法で、1969年から使用し、1971年に利谷および北村らにより一部改変された（表1）。重症度0は皮膚症状がほとんどない、Iは主として色素沈着（皮膚、粘膜とも）のみ、IIは面疱の形成あり、IIIはざ瘡様皮疹をも伴う、IVはI-IIIの皮膚症状が広範かつ高度で化膿傾向の高いものと分類している。さらに、それぞれの中間に該当する症状を0I、I II、II III、III IVとして評価した。

皮膚重症度得点数は1976年から使用し、皮膚症状の性質とそれらの占める面積の両者を評価している。

（倫理面への配慮）
本研究は疫学的調査であり、個人名などの情報を明らかにすることはない。

## C．結果と考察

### 1．福岡県油症検診皮膚科受診者数

2005年は受診者数145名で、うち認定患者は91名、未認定患者は30名（初診24名）だった。2006年は受診者数161名、うち認定患者は118名、未認定患者は43名（認定保留者25名、初診18名）だった。2007年は受診者数200名、うち認定患者は148名、未認定患者は52名（認定保留者31名、初診31名）だった。福岡県一斉検診にて皮膚科検診受診者数は

年々増加している。

**２．皮膚症状の推移（表１、2）**

2005-2007 年の福岡県油症皮膚科検診受診者のうち認定患者の皮膚重症度と重症度得点数の推移を表 1 と表 2 に示す。最近 3 年間では、60-70%の患者は重症度は 0/0I、重症度得点数は０・１でほとんど皮膚症状を認めない。しかし、油症発生 40 年経過した現在でも、約 1%の患者は重症度 IV で全身に皮疹を認めている。また、10-20%の患者に面疱やざ瘡様皮疹を認め、治療を要する状態である。

**３．2007 年度検診での皮膚重症度と重症度得点数と血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との相関（表 3）**

2007 年度福岡県油症一斉検診を受診した患者の中で、皮膚科検診と血液ダイオキシン類濃度の測定をともに受けた方を対象として、皮膚重症度と重症度得点数別の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF（以下 PeCDF）濃度について解析をおこなった。対象患者は認定患者が 48 名（うち女性 21 名）、未認定患者は 24 名（うち女性 16 名）だった。

表 3A に認定患者個々のデータを示す。PeCDF が 50 pg/g lipid 以上だったのは認定患者 10 名、未認定患者 1 名、100 pg/g lipid 以上だったのは認定患者 6 名、未認定患者 0 名だった。なお、PeCDF 濃度が 150 pg/g lipid 以上の高値だったのは認定患者 2 名で、1 名は 812.4444 pg/g lipid で重症度 II III、重症度得点数 7、1 名は 626.6685 pg/g lipid で重症度 IV、重症度得点数 9 で、今なお皮膚症状が重症かつ広範囲に及ぶ状態だった。

次に、皮膚重症度と重症度得点数別の血液中 PeCDF 濃度を解析した。各群の濃度の平均値、最大、最小値、標準偏差を表３B、C に示す。

皮膚重症度については、認定患者の 73%がほとんど皮疹を認めない 0/0I 群で PeCDF の平均値は 48.34553±39.28938 pg/g lipid だった。未認定患者の 91%が 0/0I 群で PeCDF の平均値は 15.91667±15.00175 pg/g lipid だった。患者数が少なく、同じ重症度でも PeCDF 濃度のばらつきが大きく、重症度と PeCDF との間に明らかな傾向はなかった。

皮膚重症度得点数については、認定患者の 69%が０・１に分類され、PeCDF の平均値は 32.09136±35.33553 pg/g lipid だった。未認定患者の 70%が０・１に分類され、PeCDF の平均値は 18.34304±47.12628 pg/g lipid だった。重症度得点数 6 以上の患者は認定患者 2 名で、いずれも PeCDF 濃度が 600 pg/g lipid 以上の高値を示した。

**Ｄ．結論**

油症患者の皮膚症状は、症状のほとんどない患者と今なお症状を認める約 30%の患者との 2 極化を認めている。今後も引き続き推移を検証する必要がある。なお、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 600 pg/g lipid 以上の患者 2 名は、今なお皮膚症状が重症かつ広範囲に及ぶ状態だった。

**Ｅ．参考文献**

なし

## 表1　福岡県油症検診受診認定患者の皮膚重症度の推移

| 年度 | 1993 | | 1997 | | 2005 | | 2006 | | 2007 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 重症度 | 例数 | % | 例数 | % | 例数 | % | 例数 | % | 例数 | % |
| 0 | 41 | 58.8 | 34 | 54 | 43 | 64.8 | 68 | 68.6 | 66 | 72.9 |
| 0 I | 7 | | 13 | | 16 | | 13 | | 42 | |
| I | 4 | 7.0 | 9 | 18.4 | 3 | 3.3 | 6 | 5.1 | 2 | 4.1 |
| I II | 2 | | 7 | | 0 | | 0 | | 4 | |
| II | 0 | 24.4 | 12 | 23.0 | 11 | 15.4 | 7 | 11.9 | 8 | 10.8 |
| II III | 21 | | 8 | | 3 | | 7 | | 8 | |
| III | 8 | 12.8 | 3 | 4.6 | 10 | 16.5 | 5 | 11.9 | 14 | 11.5 |
| III IV | 3 | | 1 | | 5 | | 9 | | 3 | |
| IV | 0 | | 0 | | 0 | | 3 | 2.5 | 1 | 0.7 |
| 計 | 86 | | 87 | | 91 | | 118 | | 148 | |

油症皮膚科重症度（利谷および北村、1971）
重症度
0　皮膚症状がほとんどない、
I　主として色素沈着（皮膚、粘膜とも）のみ
I I　面疱の形成あり、
III　ざ疱様皮疹もあり、
IV　I-IIIの皮膚症状が広範かつ高度で化膿傾向の高いもの

## 表2　福岡県油症検診受診認定患者の皮膚重症度得点数の推移

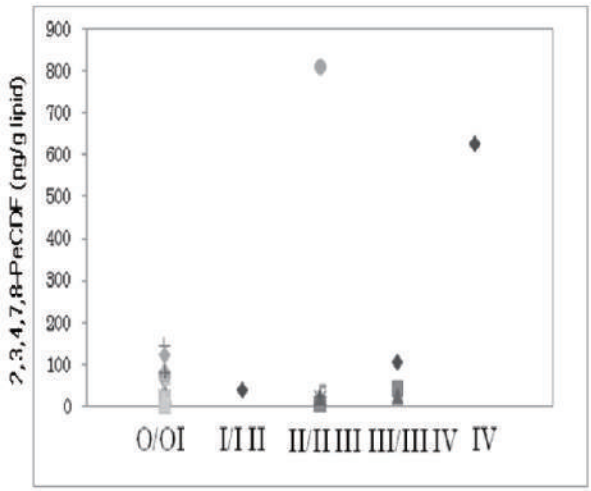
皮膚重症度得点数＝皮膚症状の性質と面積を同時に評価

| | 1993 | | 2003 | | 2004 | | 2005 | | 2006 | | 2007 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 得点数 | 例数 | % | 例数 | % | 例数 | % | 例数 | % | 例数 | % | 例数 | % |
| 0・1 | 51 | 59.3 | 55 | 49.1 | 59 | 59.0 | 44 | 48.4 | 81 | 68.6 | 90 | 60.8 |
| 2・3 | 21 | 24.4 | 40 | 35.7 | 19 | 19.0 | 29 | 35.2 | 29 | 24.6 | 32 | 21.6 |
| 4・5 | 7 | 8.1 | 11 | 9.8 | 19 | 19.0 | 12 | 13.2 | 6 | 5.1 | 16 | 10.8 |
| 6・7 | 4 | 4.7 | 5 | 4.5 | 3 | 3.0 | 2 | 2.2 | 0 | 0.0 | 7 | 4.7 |
| 8・9 | 3 | 3.5 | 1 | 0.9 | 0 | | 1 | 1.1 | 2 | 1.7 | 3 | 2.0 |
| 10－13 | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | |
| 14－ | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | | 0 | |
| 計 | 86 | | 112 | | 100 | | 91 | | 118 | | 148 | |

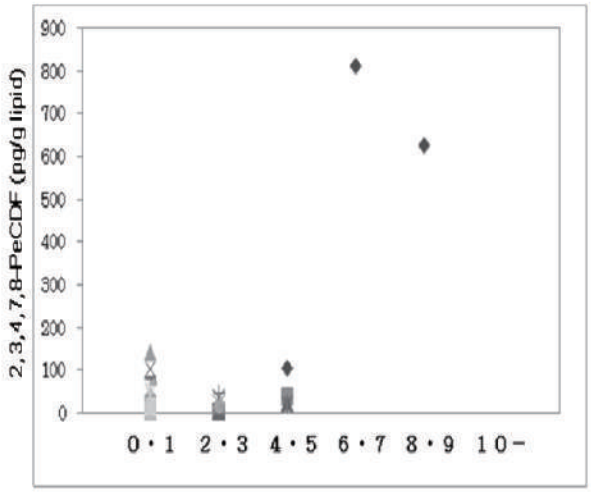
## 表 3. 皮膚症状と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度

### A. 認定患者の皮膚症状と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度

皮膚重症度




皮膚重症度得点数




### B. 皮膚重症度と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度

認定患者

| | | 2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 重症度 | 患者数(女性) | 平均値 | 最大値 | 最小値 | 標準偏差 |
| O/OI | 35(15) | 48.34553 | 142.4718 | 3.606936 | 39.28938 |
| I/I II | 1(0) | 39.28646 | 39.28646 | 39.28646 | |
| II/II III | 8(3) | 120.4333 | 812.4444 | 4.306122 | 321.1063 |
| III/III IV | 3(2) | 57.1219 | 105.6411 | 25.28926 | 42.69589 |
| IV | 1(1) | 626.6685 | 626.6685 | 626.6685 | |
| 計 | 48(21) | | | | |

未認定患者

| | | 2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 重症度 | 患者数(女性) | 平均値 | 最大値 | 最小値 | 標準偏差 |
| O/OI | 22(15) | 15.91667 | 72.43511 | 1.160377 | 15.00175 |
| I/I II | 0 | | | | |
| II/II III | 1(1) | 16.83883 | 16.83883 | 16.83883 | |
| III/III IV | 1(0) | 7.552995 | 7.552995 | 7.552995 | |
| IV | 0 | | | | |
| 計 | 24(16) | | | | |

## C. 皮膚重症度得点数と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度

**認定患者**

| | | 2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 重症度得点数 | 患者数(女性) | 平均値 | 最大値 | 最小値 | 標準偏差 |
| 0・1 | 33 (15) | 32.09136 | 142.4718 | 3.724324 | 35.33553 |
| 2・3 | 8(2) | 21.07081 | 49.32593 | 4.306122 | 15.76296 |
| 4・5 | 5(2) | 42.73723 | 105.6411 | 18.36364 | 36.10198 |
| 6・7 | 1(1) | 812.4444 | 812.4444 | 812.4444 | |
| 8・9 | 1(1) | 626.6685 | 626.6685 | 626.6685 | |
| 10・13 | 0 | | | | |
| 14ー | 0 | | | | |
| 計 | 48(21) | | | | |

**未認定患者**

| | | 2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 重症度得点数 | 患者数(女性) | 平均値 | 最大値 | 最小値 | 標準偏差 |
| 0・1 | 17(13) | 18.34304 | 72.43511 | 1.160377 | 47.12628 |
| 2・3 | 6(3) | 9.195671 | 16.83883 | 2.979899 | 5.274553 |
| 4・5 | 1(0) | 7.552995 | 7.552995 | 7.552995 | |
| 6・7 | 0 | | | | |
| 8・9 | 0 | | | | |
| 10・13 | 0 | | | | |
| 14ー | 0 | | | | |
| 計 | 24(16) | | | | |

分担研究報告書

# 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と その治療法の開発等に関する研究

研究分担者　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 20 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すと共に、平成 19 年度の結果と比較するといずれも増加していた。

## 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20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 155 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 3㎜ 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 148 名中 116 名（87.2%）と高い割合を示した。また、3㎜ 以上の歯周ポケットを有する歯牙は、710 の総被検歯のうち 399 歯（56.2%）であり、男女共ほぼ同様の値を示した（表 3、図 1）。一方、4㎜ 以上の歯周ポケットを有する歯牙は74歯（男性 48 歯、女性 26 歯）で、総被検歯に占める割合は 10.4%（男性 14.5%、女性 6.9%）と低かった。歯種別では、下顎左側第一大臼歯が 69.2%と最も罹患率が高く、次いで、下顎右側第一小臼歯、上顎左側第一小臼歯、上顎右側第一大臼歯、上顎左側中切歯と続き、最も罹患率の低い下顎右側中切歯でも約 43%と高い値を示した（表 3）。年齢別にみると、50 歳代の患者の罹患率がもっとも低く 51.9%であったが、50 歳未満の患者では年齢が若いほど罹患率が高く、また 60 歳以上の患者では加齢と共に歯周ポケット罹患率の増加が認められた（図 1）。平成 20 年度の歯牙残存率と歯周ポケット発現率について平成 19 年度と比較すると、歯牙残存率にはほとんど変化がみられないのに対し、歯周ポケット罹患率は 50 歳以上 70 歳未満の患者以外は全ての年齢層で高い値を示し、特に 30 歳代や 70 歳以上の患

者において顕著な増加が認められた(図2)。歯種別にみると、下顎右側第一小臼歯や下顎左側第一大臼歯における罹患率は、平成19年度に比べて10%以上増加していたが、それ以外の歯種の増加は軽度であった（図3）　。

口腔粘膜に色素沈着を有する者の割合は58.7%(男性68.0%、女性50.0%)で、男性の方が高い発現率を示した。年齢別にみると、50歳未満の患者では68.8%の発現率を示したのに対し、50歳以上の患者では発現率は56.1%とやや低い値を示した。歯肉以外の色素沈着に関しては、50歳未満の患者では観察されなかった。一方、50歳以上の患者においては頬粘膜、口蓋や口唇に色素沈着を有する者がそれぞれ15名、3名、1名認められたが、発現率は低かった（図4）。色素沈着の発現率を平成19年度と比較すると、20歳代と50歳代以外の患者において歯肉色素沈着発現率は高い値を示し、特に70歳以上の高齢者で発現率の大幅な増加が認められた（図5)。

**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および総被検歯に占める3㎜以上の歯周ポケットを有する歯牙の割合は、いずれも平成19年の結果（それぞれ81.7%、49.9%）に比べて高い値を示した。3㎜以上の歯周ポケット罹患率を年齢別にみると、30歳代の患者においても高齢者と同等の罹患率を示したことは興味深い。油症児童では骨の石灰化や発育の抑制がみられること[1)]や、PCB投与ラットにおいて骨中のカルシウム濃度が低下すること[2)]が報告されている。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。一方、歯種別にみると、平成19年度に比べて下顎左側第一大臼歯が約16%、下顎右側第一小臼歯が約13%の増加を示した。下顎第一大臼歯は最も早く萌出する永久歯であり、また、デンタルプラークの沈着が多く清掃も困難な部位である[3)]ことから、プラーク中の細菌が原因となり、高い罹患率を示したとも考えられる。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。深さ4㎜以上の歯周ポケットの罹患率は低いことや前年度の罹患率は低かったことから、平成20年度にみられた歯周ポケット罹患率の増加の原因としてはデンタルプラークや咬合性外傷といった局所的な因子が挙げられ、PCBやPCDF中毒のような全身的因子は二次的に関与していると考えられる。今後益々患者の高齢化が進むことから、患者の口腔内健康を守るために適切な口腔衛生指導はもちろん、適切な咬合の維持や生活習慣の改善についても指導を行っていく必要があると考えられる。

口腔内色素沈着の発現率は健常者に比して依然として高い値を示しており、PCBやPCDF等の作用によって色素沈着が発現すると考えられる。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[4) 5)]。口腔内色素沈着においても、油症発症早期に比較して＋＋や＋＋＋を示す色素沈着の発現率は低下している。しかし、平成18年度の発現率(平均52.8%、男性60.4%、女性47.1%)や平成１９年度の発現率(平

均 45.9%、男性 54.2%、女性 38.2%）に比べると、男性ならびに女性の両者とも発現率が増加していた。油症発症早期において、色素沈着部の歯肉掻爬術を行った２名の油症患者両者共に、１年以内に処置前と同様の色素沈着が再発したことが報告されている[6]。奥村ら[7]は、口腔粘膜内の PCB や PCQ 濃度は血中濃度に比べてそれぞれ約 36 倍、91 倍と非常に高い価を示すことを報告している。口腔内に高濃度に蓄積した PCB 等によって、色素沈着の再発が生じた可能性も考えられる。ところで、50 歳以上の患者のみに頬粘膜、口蓋や口唇の色素沈着が発現したことは興味深い。若年者は高齢者に比べて PCB や PCDF 濃度が低いことも一因として考えられるが、その詳細については不明である。今後の検索が必要と考えられる。

参考文献

1) 吉村健清：油症児童・生徒の発育調査、福岡医誌　62:109-116, 1971.
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)Hall W. and Douglass G. :Plaque control, In Schluger S., Yuodelis RA. and Page RC. (eds)：Periodontal Disease. Pp. 344-369, Lea & Febiger, Philadelphia, 1977.
4)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.
5)向野利彦、大西克尚：油症患者の眼症状, 福岡医誌　82：342-344,1991.
6)福山　宏　他：油症患者における口腔病変の推移、福岡医誌　70:187-198,1979.
7)奥村英彦　他：油症患者の頬粘膜における PCB、PCQ 濃度、PCB パターンおよび CB%比について、福岡医誌　78: 358-364, 1987.

## E. 結論

平成 20 年度における福岡県油症一斉検診において、油症認定患者の 3㎜ 以上の歯周ポケット罹患率および口腔内色素沈着発現率は、平成 19 年度に比べていずれも増加していた。

## F. 健康危険情報

歯周疾患の罹患率が高いことから、歯周治療の必要性がある。

## G. 研究発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 表１．油症患者の年齢別受診者数

| 年齢＼性別 | 男性 | 女性 | 計 |
|---|---|---|---|
| 30 ～ 39 | 3 ( 3*) | 4 ( 4) | 7 ( 7) |
| 40 ～ 49 | 17 (17) | 8 ( 8) | 25 (25) |
| 50 ～ 59 | 11 (11) | 14 (14) | 25 (25) |
| 60 ～ 69 | 18 (17) | 21 (21) | 39 (38) |
| 70 ～ 79 | 20 (18) | 23 (21) | 43 (39) |
| 80 ～ 99 | 6 ( 5) | 10 ( 9) | 16 (14) |
| 計 | 75 (71) | 80 (77) | 155(148) |

＊：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 | 9 | 6 | 15 |
| 歯痛 | 7 | 7 | 14 |
| 歯肉出血 | 3 | 6 | 9 |
| 義歯不適 | 2 | 6 | 8 |
| 歯牙動揺 | 3 | 3 | 6 |
| 歯牙挺出感 | 2 | 3 | 5 |
| その他 | 14 | 14 | 28 |

＊重複回答有り。

# 表3. 歯種別の３㎜以上の歯周ポケットを有する歯牙数

| | 歯種 | 6\| | \|1 | \|4 | 4\| | 1\| | \|6 | 計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 男性 | 罹患歯数 | 30 | 22 | 31 | 41 | 31 | 36 | 191 |
| | 総被検歯数 | 53 | 54 | 50 | 62 | 64 | 49 | 332 |
| | % | 56.6 | 40.7 | 62.0 | 66.1 | 48.4 | 73.5 | 57.5 |
| 女性 | 罹患歯数 | 28 | 34 | 39 | 43 | 28 | 36 | 208 |
| | 総被検歯数 | 55 | 66 | 61 | 70 | 71 | 55 | 378 |
| | % | 50.9 | 51.5 | 63.9 | 61.4 | 39.4 | 65.5 | 55.0 |
| 計 | 罹患歯数 | 58 | 56 | 70 | 84 | 59 | 72 | 399 |
| | 総被検歯数 | 108 | 120 | 111 | 132 | 135 | 104 | 710 |
| | % | 53.7 | 46.7 | 63.1 | 63.6 | 43.7 | 69.2 | 56.2 |

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

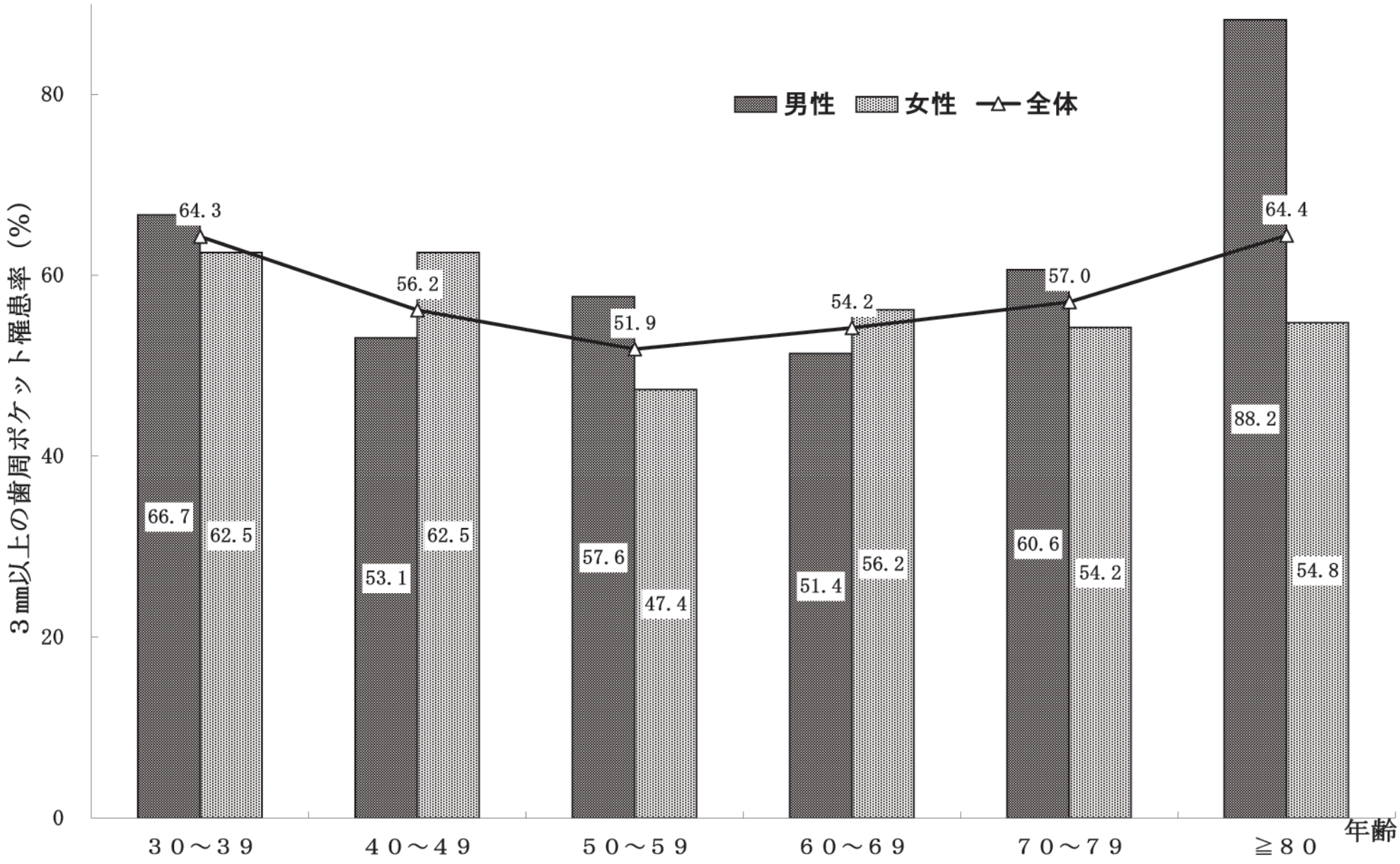



図1・年齢別にみた歯周ポケット罹患率

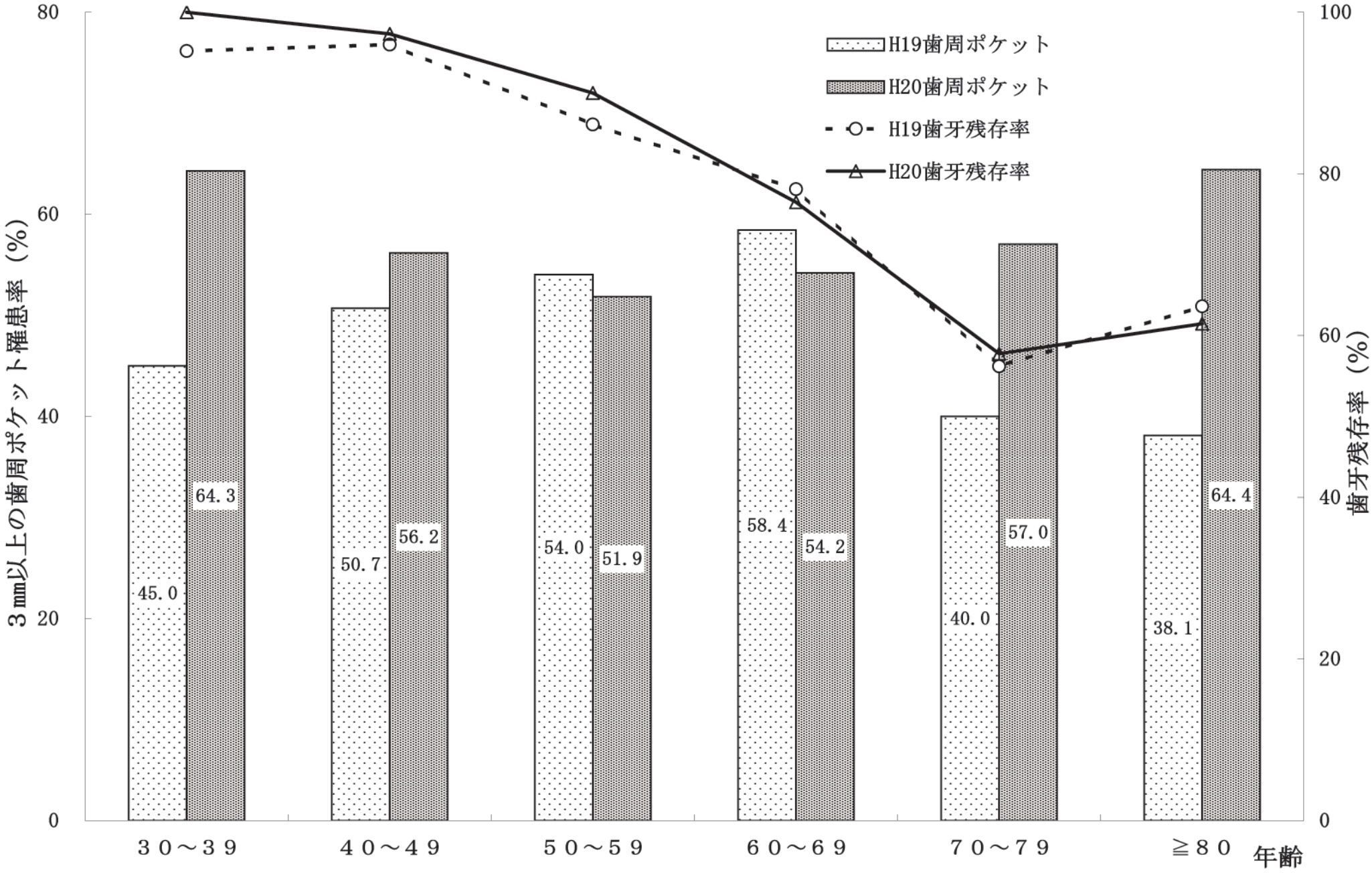



図２・平成１９年度、２０年度における年齢別にみた歯周ポケット罹患率と歯牙残存率

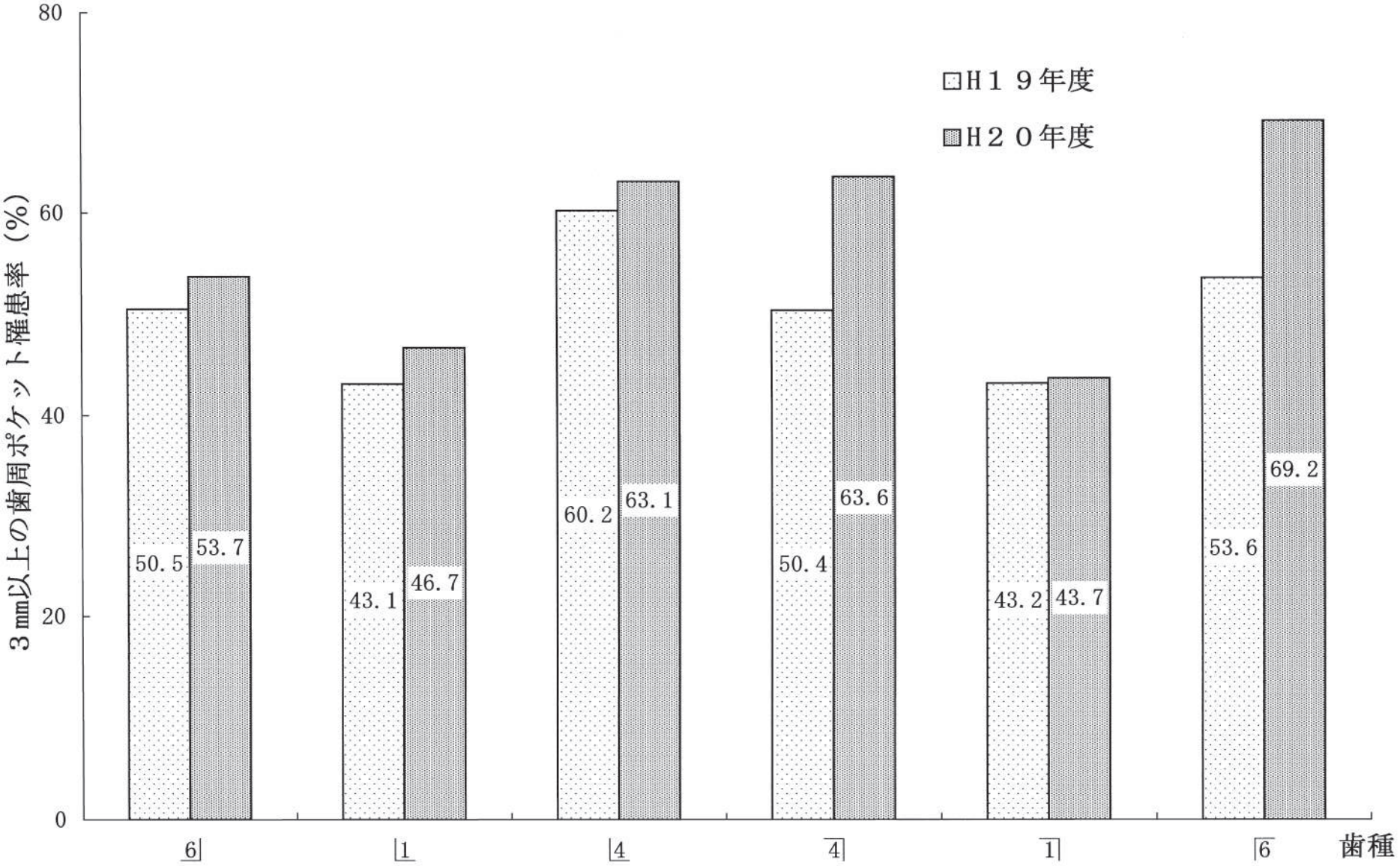



図３・平成１９年度、２０年度における歯種別にみた歯周ポケット罹患率

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

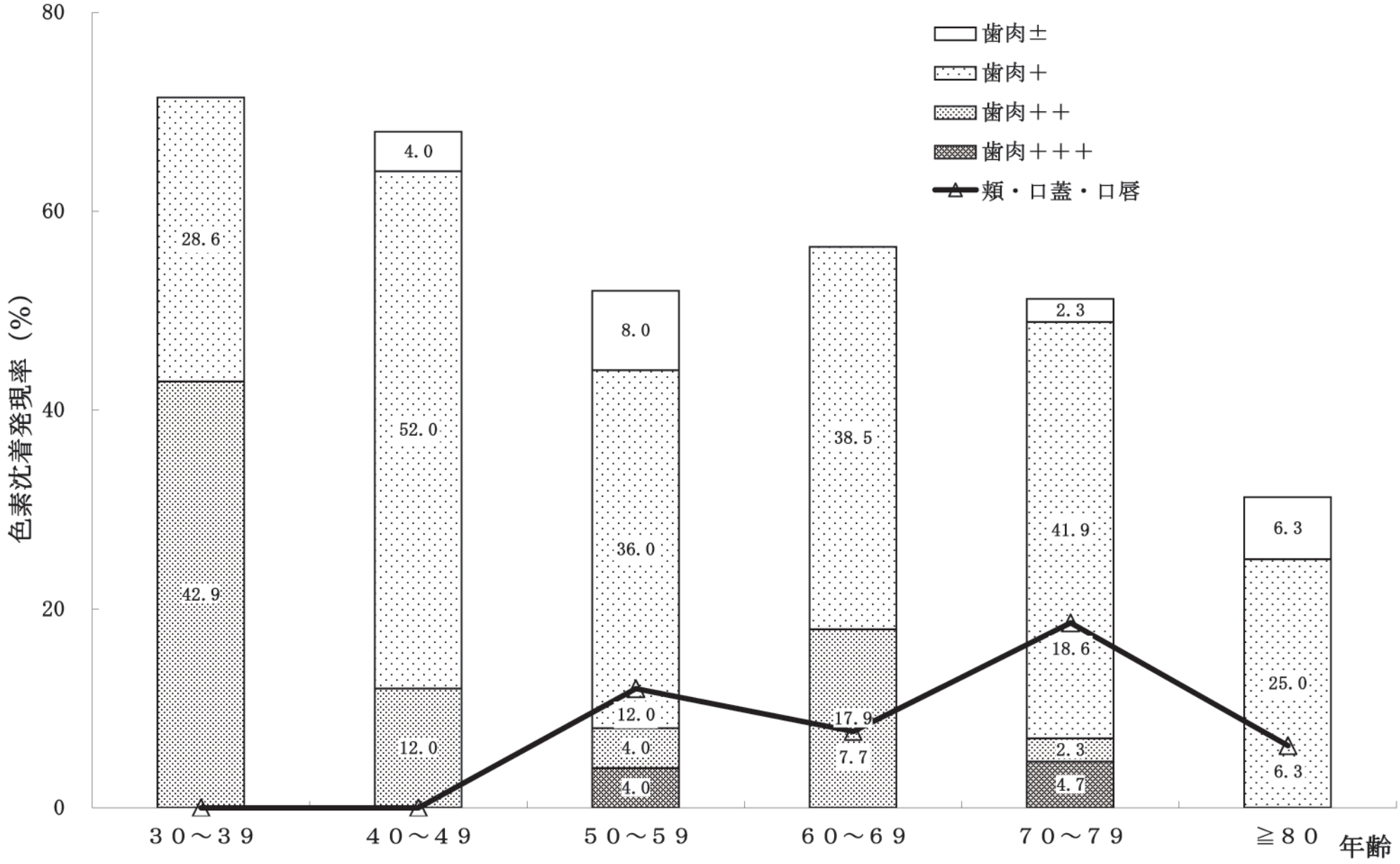



図４・年齢別にみた色素沈着発現率

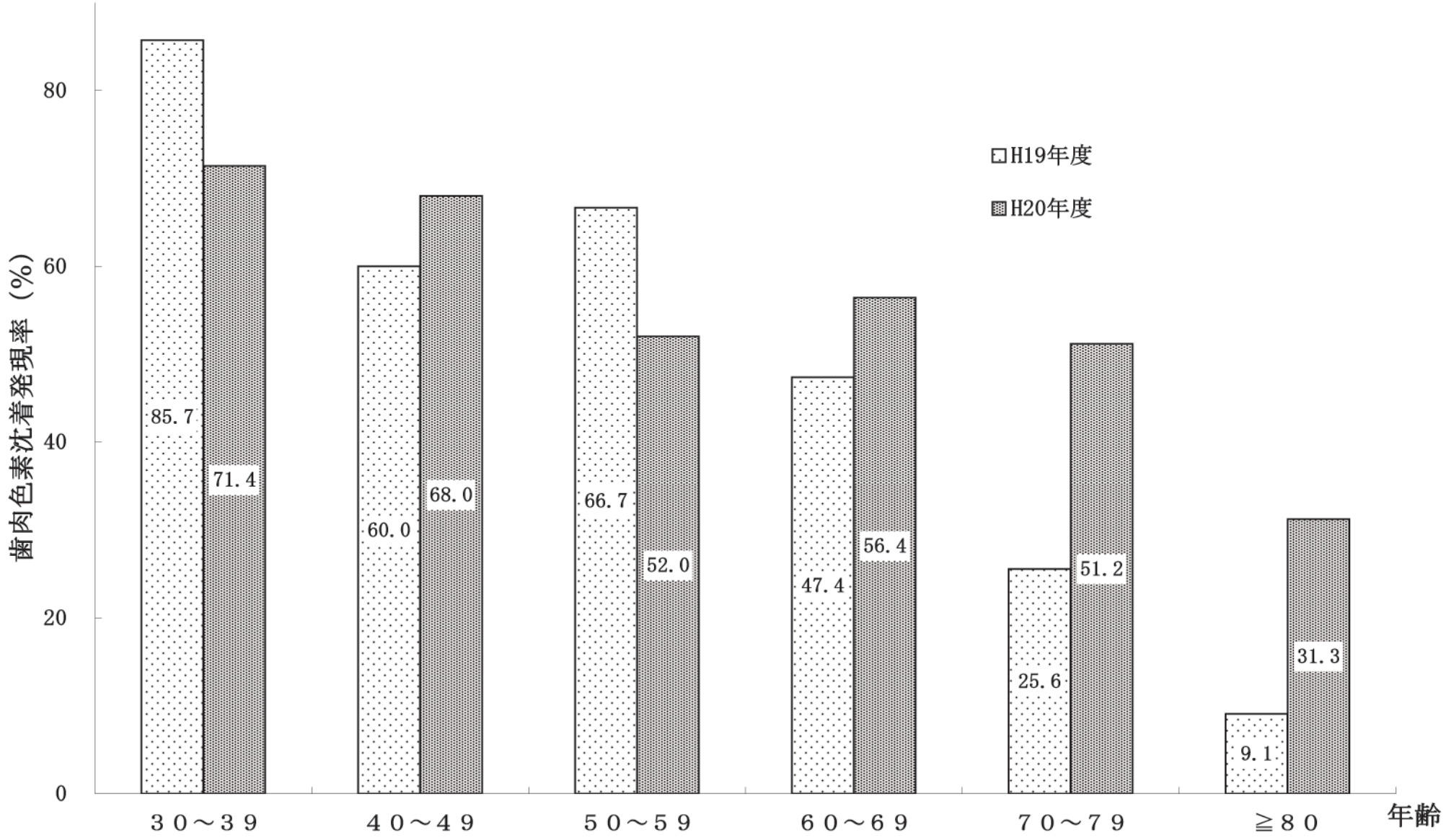



図５．平成１９年度、２０年度における年齢別にみた歯肉色素沈着発現率

分担研究報告書

# 油症患者における骨密度の評価

研究分担者　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
　　徳永章二　九州大学病院医療情報部　助教

**研究要旨**　2007 年度福岡県および長崎県油症一斉検診の受診者 357 名にたいして、骨密度を測定した。男性では 83%の患者で正常な骨密度であったが、女性では 58%に骨密度の低下を伴い、特に 60 才以降では 55%の受診者に YAM70%未満の骨密度低下を認めた。

## A. 研究目的

油症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、身長の縮みとの間に正の関連があることが判明し、骨粗鬆症との関連が示唆されている。骨粗鬆症合併の有無について、骨密度を用いて評価検討することが本研究の目的である。

## B. 研究方法

2007 年度に福岡県および長崎県油症一斉検診に参加し、骨密度測定を行った 357 名を対象とした。骨密度は非利き腕の橈骨遠位端を二重Ｘ線吸収法（DXA）にて測定し、機材には福岡県は ALOKA DCS-600EX、長崎県は東洋メディック DTX-200 を用いた。若年成人（20-44 才）の平均骨密度（YAM）に対する評価としてＴスコアを、同一年齢の平均骨密度に対する評価としてＺスコアを用いた。

Ｔスコア＝（骨密度/YAM）x100

Ｚスコア=(骨密度-同一年齢の平均骨密度）/同一年齢の平均骨密度の標準偏差。

（倫理面への配慮）

データ解析は、匿名化された結果を用いて行われ、個人情報の保護につい厳重な配慮がなされた。

## C. 結果

測定に参加したのは福岡県では男性 90 名、女性 106 名、長崎県では男性 56 名、女性 105 名で、合計 357 名であった。平均年齢は 62.7 才、男性 60.3 才 (14-90)、女性 64.4 才(24-85)であった。このうち未認定患者は福岡県 48 名、長崎県 63 名で、計 111 名であった。

骨密度の分布を表 1 に示す。YAM70-80%の骨量低下を、男性 17 名(11.6%)、女性 42 名(19.9%)に、YAM 70%未満の低下を男性 7 名(4.8%)、女性では 80 名(37.9%)に認めた。この割合は、福岡県、長崎県ともに、ほぼ同様であった。

年代別の骨密度の分布を表２に示す。男性においては 83%の患者で正常な骨密度であったが、50 才台より骨量減少を呈し、60 才以降では、骨粗鬆症

閾とされる YAM 70%未満の骨密度も存在した。女性においては 50 才台より骨密度低下が見られ、60 才台以降で急増し、全体では 58%の患者で骨粗鬆症閾の骨密度を認めた。

骨密度の分布では、男女ともに年齢が高いほどＴスコアは減少し、強い負の相関を認めた。Ｚスコアはばらつきがあるものの平均は男性 0.2480、女性 0.0937 と、ほぼ 0 に近かった(表３)。

認定患者 246 名と未認定患者 111 名の比較では、平均年齢では認定患者が高いものの、Ｚスコアでは男女ともに有意な違いを認めなかった(Mann-Whitney’s U test)。

**D. 考察**

油症患者における骨・関節疾患については、アンケートにて合併が示唆されるものの、その実態はほとんど不明であった。2007 年の一斉検診の結果、受診者のうち男性の約 20%、女性では約 60%と、相当数の油症患者において骨密度低下があることが判明した。特に 60 才以降の女性受診者の 55%に、YAM70%未満の骨密度低下を認めたことは、骨折予防の観点から重要な意味をもつ。高齢女性の患者に対しては、積極的に骨密度検診を勧めるとともに、適切な治療を推奨する必要がある。

今回の検討で認めた骨密度低下が、ダイオキシン類暴露に関連するか否かは、現時点では明らかでない。Ｚスコアの受診者平均はほぼ 0 であり、受診者全体では年齢相応の骨密度であるとも考えられる。現在、ダイオキシン類濃度とＺスコアとの相関の有無について、検討を行っている。

骨粗鬆症の解析にあたっては、閉経や生活習慣など、様々な要因を考慮して解析する必要がある。なかでも治療歴は重要で、ビスフォスフォネート製剤など効果の強力な薬剤では、骨密度が正常化する場合もある。今回の受診者のうち 192 名で骨粗鬆症治療歴の有無を確認したところ、48 名が骨粗鬆症と診断されており、うち 31 名が骨粗鬆症薬を内服していた。その中には実際に骨密度の高い患者が複数名存在しており、治療によって上昇したことが推測される。このようなことから、全受診者を対象に治療歴を確認し、油症との関連の有無についての解析を進めることを予定している。

**E. 結論**

油症検診受診者において骨密度を測定した。今後更なる解析を行い、骨粗鬆症との関連を検討していく。

**F. 健康危険情報**

なし

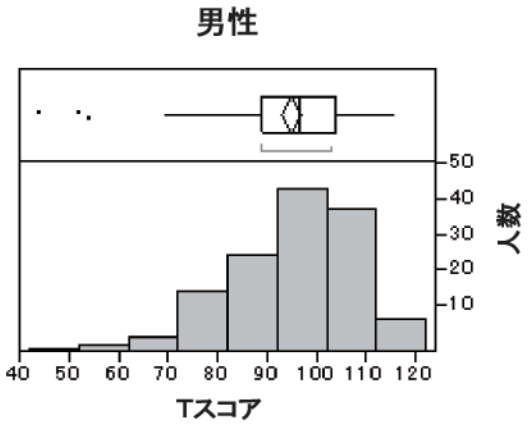
**G. 研究発表**

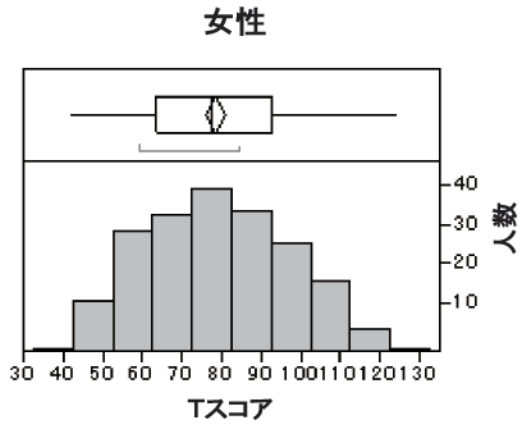
なし

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

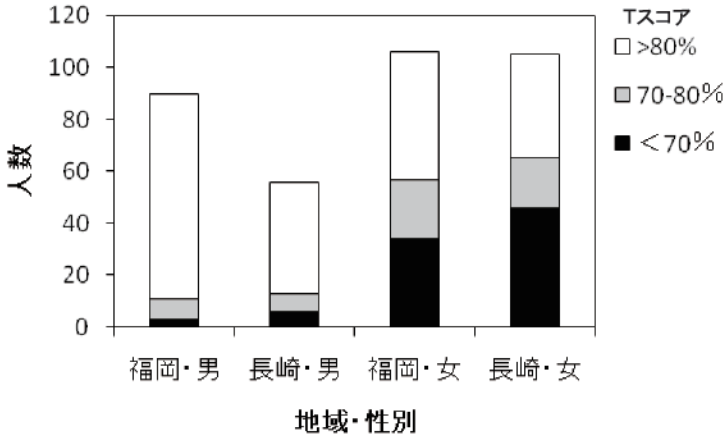
なし

## 表1：骨密度（Tスコア）の分布

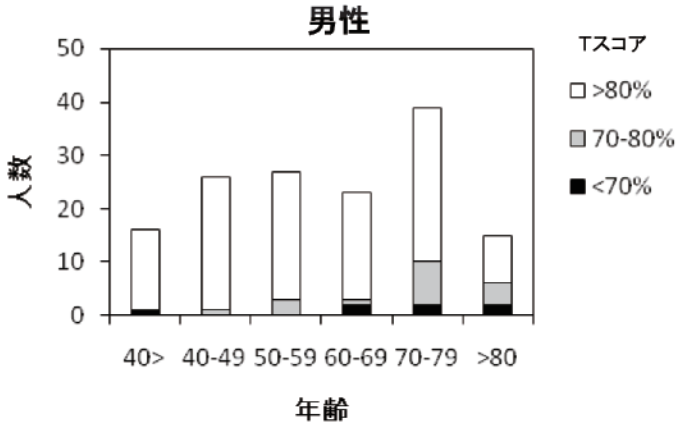


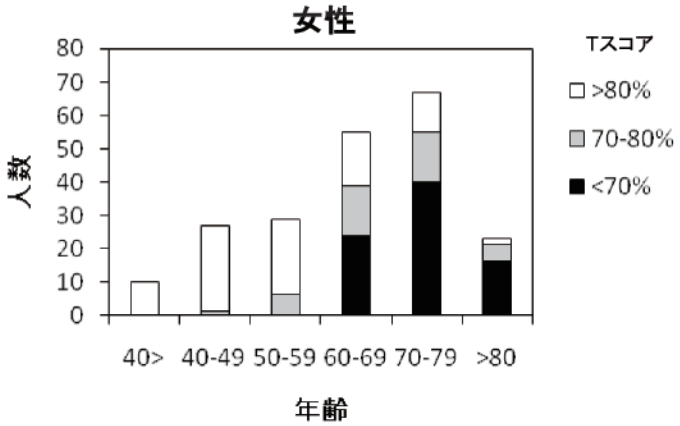




| | 骨密度（Tスコア） | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ＞80% | 80-70% | ＜70% | 合計（人） |
| 男性 | 122 | 17 | 7 | 146 |
| | (83.5) | (11. 6) | (4. 8) | |
| 女性 | 89 | 42 | 80 | 211 |
| | (42.2) | (19.9) | (37.9) | |
| | | | (%) | 357 |



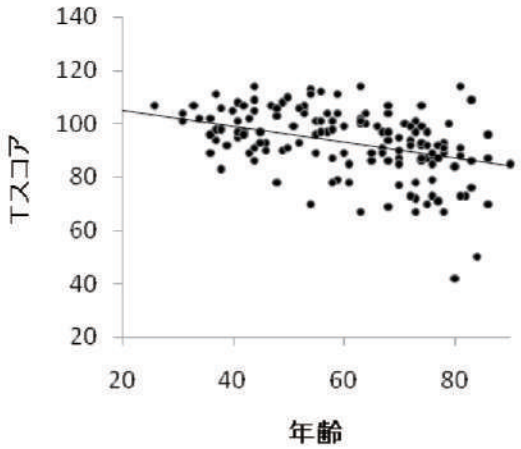

## 表2：性・年齢別の骨密度分布

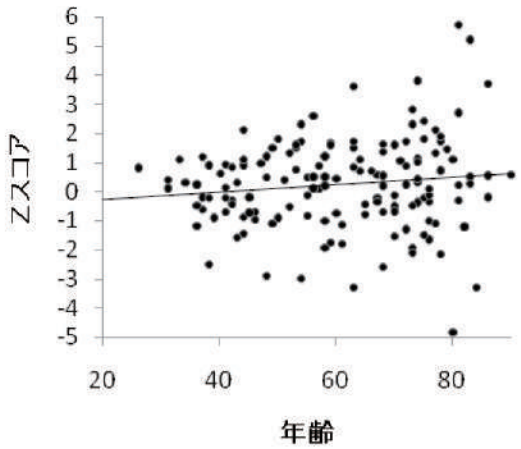


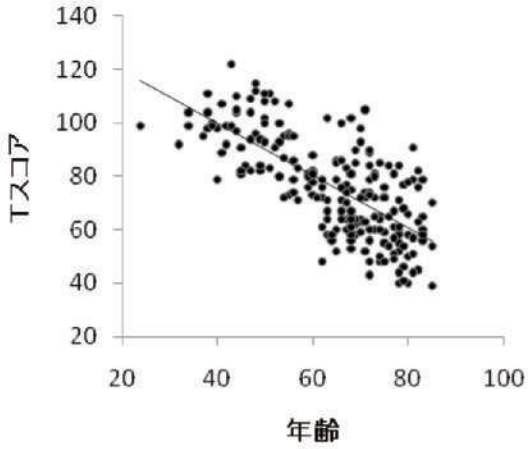
# 表3：TスコアとZスコアの分布

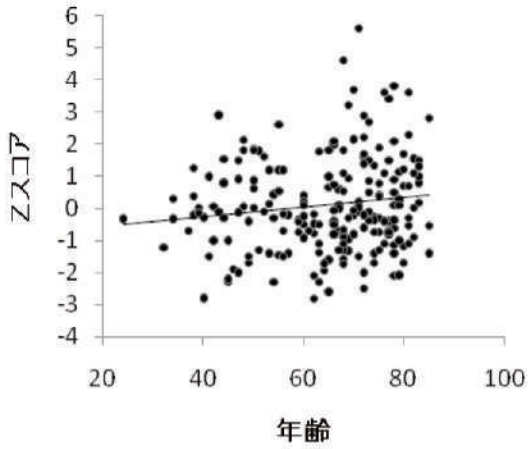
男性




女性



分担研究報告書

# 油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と血清 IgE 値に関する研究

研究分担者　内　博史　九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　准教授
研究協力者　千葉貴人　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　特任助教

**研究要旨**　油症認定患者 731 名を対象にアトピー性皮膚炎有病率に関するアンケート調査を行った。回答した 638 名におけるアトピー性皮膚炎の生涯有病率は平均 8.8%であった。一方，2007 年度検診を受診した油症認定患者 83 名と未認定患者 98 名での血清 IgE 値には有意差は認められなかった。

## A．研究目的

近年のアレルギー性疾患の増加とダイオキシン類による環境汚染との関連が議論されることがあるが、直接的な証拠は存在しない。本研究の目的は、経口的に高濃度のダイオキシン類に暴露された油症患者における、アトピー性皮膚炎有病率および血清 IgE 値について調査し、血中ダイオキシン類濃度との相関について検討することである。

## B．研究方法

平成 19 年度に油症認定患者 731 名に対してアトピー性皮膚炎有病率に関するアンケート調査を行った。アンケートは郵送で行い「これまでにアトピー性皮膚炎と医師に診断されたことがあるか」および「診断された時期」を尋ねた。回答が得られなかった場合は油症相談員が直接電話で同じ質問を行った。質問に「はい」と答えた患者の割合を生涯有病率とした。アンケート用紙を郵送した 731 名のうち、523 名より回答を得た。その中で 433 名が患者本名による回答であり、90 名が家族による回答であった。回答を得られなかった 208 名に油症相談員が電話によるインタビューを行い 115 名から回答を得、93 名が回答を拒否した。データの解析はいずれかの方法で回答を得られた 638 名について行った。また平成 19 年度に油症検診受診者の中から同意を得られた認定患者 83 名、未認定患者 98 名を対象に、非特異的 IgE およびヤケヒョウヒダニ、カンジダ、スギ、卵白特異的 IgE を測定し、血中ダイオキシン類濃度との相関を検討した。

（倫理面への配慮）

データの解析は個人情報が特定されないよう、連結不可能な匿名化データとして行った。

## C．研究結果

638 名のうち男性は 315 名、平均年齢は 59.4±14.6 歳、女性は 323 名、平均年齢は 61.8±14.9 歳であった。638 名のうち 56 名（8.8%；男性 22 名、女性 34 名）がアトピー性皮膚炎と診断されたことがあると回答した。年齢・性別による油症患者におけるアトピー性皮膚炎生涯有病率を表 1 に示す。40 代をのぞいて女性が男性より高い有病率を示した。年齢別では 20 代で 25%と最も高く、次いで 60 代で 11.7%、40 代で 9.8%、70 代で 6.9%の順であった。56 名のうち 33 名が診断時期についても回答し、10 名が 20 年以内、23 名が 20 年以上 40 年未満で、油症発症以前にアトピー性皮膚炎を発症したものはいなかった。

血清 IgE を測定した認定患者 83 名のうち男性は 37 名、女性は 46 名、平均年齢は

58.7±14.4 歳、未認定患者 98 名のうち男性 38 名、女性 60 名、平均年齢は 55.5±18.6 歳であった。認定患者と未認定患者の血中ダイオキシン類濃度を表 2 に示す。認定患者の血中ダイオキシン類濃度は、未認定患者より有意に高値であった。血清 IgE 値の比較では、表 3 に示すように非特異的 IgE 値の平均は認定者で 386.2±1128.0 IU/ml、未認定者で 272.1±603.6 IU/ml と有意差を認めなかった。特異的 IgE 値の比較でもヤケヒョウヒダニ、スギ、カンジダ、卵白いずれも認定者と未認定者の間に有意差を認めなかった。年齢別に分けた非特異的 IgE 値の検討でも（表 4）、認定者、未認定者の間に有意差を認めなかった。また認定者における血中ダイオキシン類濃度と血清 IgE 値の間に相関を認めなかった（表 5）。

## D．考察

ダイオキシン類は生体内に長期にわたり残留するため、発癌性や次世代への影響、免疫系への影響などの慢性毒性が懸念されている。アトピー性皮膚炎の発症には、遺伝的要因と環境要因の双方が関与しているとされ、近年の発症率の増加にダイオキシン類をはじめとする環境汚染物質が関与しているとする説もあるが、未だ仮説の域を出ない。*in vivo* あるいは *in vitro* の研究でも、ダイオキシン類のアトピー性皮膚炎発症、または IgE 産生への影響は、肯定的なもの、否定的なものともに報告されている。代表的なダイオキシン類である TCDD をアトピー性皮膚炎のモデルマウスである NC/Nga マウスに投与すると皮膚病変が増悪したとする報告[1]や、TCDD が B 細胞からの IgE 産生を増強したとする報告[2]がある一方、TCDD が OVA で感作された NC/Nga マウスの IgE 産生を抑制したとする報告[3]や、ダイオキシン類の細胞内受容体である AhR をナイーブ T 細胞に強制発現させると Th1 細胞に分化したという報告[4]がある。

今回の生涯有病率調査では、638 名の油症認定患者のうち 56 名（8.8%）がアトピー性皮膚炎と診断されたことがあると回答した。過去に報告された日本での健常成人におけるアトピー性皮膚炎有病率調査では、アンケート調査による生涯有病率調査で平均 2.9%[5]、皮膚科医による検診によるもので平均 6.9%[6]であった。調査の方法がそれぞれ異なるため直接の比較は不可能であるが、いずれも今回の油症認定患者における有病率を下回っている。また台湾油症におけるコホート調査でも患者群が健常群に比べ 2 倍の頻度で皮膚アレルギー症状を有していたと報告されており[7]、ダイオキシン類がアトピー性皮膚炎発症に何らかの影響を及ぼしている可能性は否定できないと思われた。一方、アレルギー性疾患で高値を示すことが多い血清 IgE 値は、未認定患者と認定患者の間で有意差を認めなかった。また認定患者において、血中ダイオキシン類濃度と血清 IgE 値に相関を認めなかった。今回は症例数が少ないため、今後さらに症例数を増やしさらに検討を行う必要がある。また、アトピー性皮膚炎の重症度と相関する TARC や、AhR の活性化と相関する RANTES などのケモカイン、Th2, Th17 サイトカインなど他のバイオマーカーと、ダイオキシン類濃度、アトピー性皮膚炎有病率との相関などを今後検討する必要があると考えられる。

## E．結論

ダイオキシン類の暴露により、アトピー性皮膚炎有病率が増加している可能性があるが、血清 IgE 値との相関は認められなかった。

## 文献

1) Ito T, et al. Toxicol Lett 2008; 177: 31-7.
2) Takenaka H, et al. J Allergy Clin Immunol. 1995; 95: 103-15.
3) Fujimaki H, et al. Toxicol Sci 2002; 66:

117-24.
4) Negishi T, et al. J Immunol 2005; 175: 7348-56.
5) Muto T, et al. Br J Dermatol 2003; 148: 117-21.
6) Saeki H, et al. J Dermatol 2006; 33: 817-9.
7) Guo YL, et al. Environ Health Perspect 1999; 107: 715-9.

## G．研究発表

２．学会発表

Prevalence of atopic dermatitis and serum IgE in Yusho patients. Hiroshi Uchi, Masutaka Furue. International Conference on Environmental Hormones and Health Effects. Taipei, Taiwan, Dec 5-6, 2008.

表 1　油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎生涯有病率

| | AD patients | | | Number of participants | | | Prevalence (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Age groups | Men | Women | Total | Men | Women | Total | Men | Women | Total |
| 30s | 5 | 5 | 10 | 26 | 14 | 40 | 19.2 | 35.7 | 25.0 |
| 40s | 7 | 7 | 14 | 69 | 74 | 143 | 10.1 | 9.5 | 9.8 |
| 50s | 1 | 4 | 5 | 69 | 59 | 128 | 1.5 | 6.8 | 3.9 |
| 60s | 6 | 8 | 14 | 59 | 61 | 120 | 10.2 | 13.1 | 11.7 |
| 70s | 2 | 7 | 9 | 62 | 68 | 130 | 3.2 | 10.3 | 6.9 |
| 80s | 1 | 3 | 4 | 27 | 44 | 71 | 3.7 | 6.8 | 5.6 |
| 90s | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| Total | 22 | 34 | 56 | 315 | 323 | 638 | 7.0 | 10.5 | 8.8 |

表 2　認定患者と未認定患者における血中ダイオキシン類濃度の比較（pg/g lipid）

| Registered | 1,2,3,7,8-PeCDD | 1,2,3,6,7,8-HxCDD | 2,3,4,7,8-PeCDF | 1,2,3,4,7,8-HxCDF | 1,2,3,6,7,8-HxCDF | 3,3',4,4',5,5'-HxCB |
|---|---|---|---|---|---|---|
| mean | 8.42 | 33.04 | 72.26 | 22.38 | 10.37 | 138.1 |
| SD | 5.37 | 33.00 | 123.1 | 66.90 | 20.02 | 129.2 |
| min | 1.40 | 6.53 | 3.61 | 1 | 1 | 13.2 |
| max | 31.64 | 242.4 | 812.4 | 562.1 | 166.6 | 731.0 |
| Unregistered | | | | | | |
| mean | 6.47 | 18.59 | 14.39 | 3.24 | 3.81 | 74.04 |
| SD | 3.25 | 9.34 | 8.80 | 2.25 | 2.49 | 65.70 |
| min | 0.5 | 3.61 | 1.16 | 1 | 1 | 5 |
| max | 17.94 | 48.86 | 40.69 | 12.18 | 13.37 | 364.8 |
| P | 0.004 | 0.0002 | 0.00005 | 0.011 | 0.004 | 0.00008 |

表 3　認定患者と未認定患者での非特異的・特異的血清 IgE 値の比較（IU/ml, UA/ml）

| Registered | Total IgE | D. pteronyssinus | Ceder | Candida | Egg white |
|---|---|---|---|---|---|
| mean | 386.2 | 5.29 | 5.34 | 0.60 | 0.34 |
| SD | 1128.0 | 14.50 | 16.53 | 0.95 | 0.016 |
| min | 5 | 0.34 | 0.34 | 0.34 | 0.34 |
| max | 9520 | 90.8 | 101 | 5.73 | 0.48 |
| | | | | | |
| Unregistered | | | | | |
| mean | 272.1 | 7.58 | 4.59 | 0.44 | 0.35 |
| SD | 603.6 | 20.89 | 11.75 | 0.83 | 0.060 |
| min | 5 | 0.34 | 0.34 | 0.34 | 0.34 |
| max | 4990 | 101 | 80.1 | 8.57 | 0.8 |
| P | 0.41 | 0.39 | 0.73 | 0.24 | 0.25 |

表 4　各年齢群での認定患者と未認定患者における非特異的 IgE 値の比較（IU/ml）

| Registered | <30 | 40s | 50s | 60s | >70 | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|
| mean | 391.9 | 215.7 | 885.3 | 250 | 208 | 386.2 |
| SD | 432.9 | 442.9 | 2223 | 362 | 342 | 1128.0 |
| min | 32.7 | 16.2 | 6.6 | 5 | 7 | 5 |
| max | 1190 | 2020 | 9520 | 1210 | 1230 | 9520 |
| n | 6 | 20 | 19 | 16 | 22 | 83 |
| | | | | | | |
| Unregistered | | | | | | |
| mean | 347.2 | 522 | 294.4 | 125 | 163 | 272.1 |
| SD | 484 | 1354 | 502.3 | 173 | 254 | 603.6 |
| min | 5 | 5 | 20.4 | 5 | 5 | 5 |
| max | 1610 | 4990 | 2030 | 656 | 1250 | 9520 |
| n | 22 | 13 | 19 | 14 | 30 | 0.41 |
| P | 0.83 | 0.44 | 0.272 | 0.23 | 0.61 | 98 |

表 5　認定患者における各ダイオキシン類と非特異的 IgE 値との相関

| | 2,3,7,8-TCDD | 1,2,3,7,8-PeCDD | 1,2,3,4,7,8-HxCDD | 1,2,3,6,7,8-HxCDD | 1,2,3,7,8,9-HxCDD | 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD | OCDD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| R2 | 0.01 | 0.0025 | 0.0005 | 0.022 | 0.001 | 0.0026 | 0.0004 |
| P | 0.36 | 0.66 | 0.84 | 0.18 | 0.78 | 0.65 | 0.87 |
| y-intercept | 350.5 | 240.7 | 300.2 | 205.9 | 254.0 | 330.0 | 260.0 |
| gradient | -47.0 | 4.72 | -7.02 | 2.23 | 6.81 | -1.06 | 0.027 |

| | 2,3,7,8-TCDF | 1,2,3,7,8-PeCDF | 2,3,4,7,8-PeCDF | 1,2,3,4,7,8-HxCDF | 1,2,3,6,7,8-HxCDF | 2,3,4,6,7,8-HxCDF | 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| R2 | 0.0009 | 2.5E-6 | 0.0093 | 0.034 | 0.024 | 0.0085 | 0.012 |
| P | 0.79 | 0.99 | 0.39 | 0.10 | 0.16 | 0.42 | 0.33 |
| y-intercept | 296.0 | 280.3 | 251.3 | 248.6 | 239.3 | 332.8 | 239.8 |
| gradient | -14.9 | -0.62 | 0.39 | 1.36 | 3.86 | -43.9 | 7.58 |

| | 3,4,4',5-TCB | 3,3',4,4'-TCB | 3,3',4,4',5-PeCB | 3,3',4,4',5,5'-HxCB |
|---|---|---|---|---|
| R2 | 0.0005 | 0.0006 | 0.013 | 0.006 |
| P | 0.85 | 0.82 | 0.31 | 0.49 |
| y-intercept | 239.8 | 254.8 | 332.2 | 238.4 |
| gradient | 7.58 | 4.31 | -0.57 | 0.30 |

分担研究報告書

# 油症認定患者追跡調査

研究分担者　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　企画情報管理課

**研究要旨**：油症患者の追跡調査を実施し、油症患者の生存状況および死因を調査した。また、油症患者における主要死因別（悪性新生物、心疾患、脳血管疾患）の死亡リスクについて、全国平均と比較して評価を行った。その結果、肝がんの SMR は、男女ともにそれぞれ高い傾向がみられた（男：1.67 (95% CI：0.99-2.63)、女：1.87 (95% CI：0.81-3.69)）。また、男性の全がんおよび肺がんの SMR は、有意に高い値がみられた(全がん：1.26 (95% CI：1.03-1.53)、肺がん：1.56 (95% CI：1.03-2.27)。その他の主要死因については、顕著な傾向は特にみられなかった。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

認定患者の追跡調査を継続して実施するとともに、死亡リスクの評価を行うことを目的とする。

## B．研究方法

2008 年に新たに油症と認定された 6 名を含めた全認定患者は、1,924 名であった（2008 年 12 月末現在)。このうち、2007 年 12 月末現在における認定患者 1,918 名を分析対象とした。認定患者の情報には、氏名、生年月日、性別、住所地、認定地、生存確認年月日、死亡年月日等の情報が含まれている。

生存状況を確認するための追跡調査は、油症患者の居住地、または居住していたとされる地域の行政機関の協力を得て実施した。

死亡者の死因を特定する方法として、認定患者の追跡調査情報と人口動態調査調査票とのレコードリンケージを実施した。人口動態調査調査票の使用については、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い、総務省および厚生労働省からそれぞれ許可を得た(総政審第 54 号・平成 20 年 2 月 12 日、厚生労働省発統第 0222001 号・平成 20 年 2 月 22 日、総政審第 361 号・平成 20 年 12 月 16 日、厚生労働省発統第 1224001 号・平成 20 年 12 月 24 日)。

認定患者における死亡リスクの評価にあたっては、性別および主要死因別（悪性新生物、心疾患、脳血管疾患）の SMR および 95%信頼区間を求めた。なお、全国平均の死亡率を参照値とした。

（倫理面への配慮）

本研究は、平成 18 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（18 保福第 3515 号、平成 18 年 12 月 27 日、「ダイオキシン類による油症等のヒト健康への影響解明及び症状の軽減化に関する研究」および「油症の健康影響に関する疫学的研究」）

## C．研究結果

1968 年から 2007 年における油症患者の

主要死因別死亡数、SMR および 95%信頼区間を Table 1 に示す。肝がんの SMR は、男女ともにそれぞれ高い傾向がみられた（男：1.67 (95% CI：0.99-2.63)、女：1.87 (95% CI：0.81-3.69)）。また、男性の全がんおよび肺がんの SMR は、有意に高い値であった(全がん：1.26 (95% CI：1.03-1.53)、肺がん：1.56 (95% CI：1.03-2.27)。

主要死因別の死亡状況について、5 年間ごとの傾向をみたものを Table 2 に示す。男性の全がん、肝がん、肺がんの SMR をみると、油症事件当初は高い傾向を示したものの、事件発生時からの年数が経過するに従って減少傾向がみられた。女性では顕著な傾向は特にみられなかった。

なお、その他の死因については、大きな特徴はみられなかった。

## D．考察

我々の研究結果からいくつかの注目すべき結果が得られた。最も重要なのは、男性の油症患者では、全がんおよび肺がんにおいて有意に高い値が示されたことである。また、これらの死因については、油症事件発生後の比較的早い時期では、男性において高い傾向を示したものの、女性では同様の傾向はみられなかった。これらの結果から、ダイオキシン類による人体への影響は、男性と女性との間で異なることが示唆された。

男性の油症患者における全がんおよび肺がんの SMR は、有意に高い値を示した。また、男性の油症患者における肝がんの死亡リスクについても、男女ともに高い傾向がみられた。男性の油症患者における肺がんおよび肝がんの死亡リスクについては、今までのコホート調査の結果からも高い傾向がみられており、今回も同様の結果が得られた。しかしながら、油症事件発生当初からの傾向をみると、近年の死亡リスクは減少傾向がみられた。これらの結果から、油症患者の死亡リスクを長期的にみると、一般人の死亡リスクに近づいている可能性が示唆された。

## E．結論

油症患者の追跡調査を実施し、油症患者の死亡リスクについて評価を行った。その結果、男性の全がんおよび肺がんの SMR は、一般人と比較すると有意に高い傾向がみられた。また、これらの SMR は、油症事件発生から年数が経過するに従って減少傾向がみられた。今後、引き続き追跡調査を継続するとともに、油症患者の死亡機序について詳細を明らかにする必要がある。

## F．健康危険情報

なし

## G．研究発表

1. Onozuka D, Yoshimura T, Kaneko S, Furue M. Mortality After Exposure to Polychlorinated Biphenyls and Polychlorinated Dibenzofurans: A 40-Year Follow-up Study of Yusho Patients. Am J Epidemiol 2009;169:86-95.

2. Yoshimura T, Onozuka D, Kaneko S, Furue M. Mortality among Yusho patients: 40 Years of Follow-Up. Organohalogen Compounds 2008;70,422-425.

## H．知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1. Observed and Expected Number of Deaths, Standardized Mortality Ratios, and 95% Confidence Intervals for the Major Causes of Death Among Japanese Yusho Patients Between 1968 and 2007

| Cause of death | Male | | | | | Female | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Obs | Exp | SMR | 95% CI | | Obs | Exp | SMR | 95% CI | |
| All causes | 295 | 268.7 | 1.10 | 0.98 | 1.23 | 207 | 202.9 | 1.02 | 0.89 | 1.17 |
| All cancers | 106 | 83.9 | 1.26 | 1.03 | 1.53 | 46 | 52.0 | 0.89 | 0.65 | 1.18 |
| Stomach | 21 | 19.2 | 1.09 | 0.68 | 1.67 | 4 | 10.3 | 0.39 | 0.11 | 0.99 |
| Rectum | 2 | 3.5 | 0.57 | 0.07 | 2.06 | 1 | 2.1 | 0.48 | 0.01 | 2.65 |
| Liver | 18 | 10.8 | 1.67 | 0.99 | 2.63 | 8 | 4.3 | 1.87 | 0.81 | 3.69 |
| Pancreas | 7 | 4.7 | 1.50 | 0.60 | 3.10 | 3 | 3.5 | 0.85 | 0.18 | 2.49 |
| Lung | 27 | 17.3 | 1.56 | 1.03 | 2.27 | 5 | 5.8 | 0.86 | 0.28 | 2.01 |
| Breast | 0 | 0.0 | . | . | . | 3 | 3.7 | 0.82 | 0.17 | 2.39 |
| Uterus | . | . | . | . | . | 5 | 3.0 | 1.67 | 0.54 | 3.90 |
| Leukemia | 3 | 1.9 | 1.58 | 0.33 | 4.63 | 0 | 1.3 | 0.00 | 0.00 | 2.84 |
| Heart disease | 41 | 40.6 | 1.01 | 0.73 | 1.37 | 44 | 36.2 | 1.22 | 0.88 | 1.63 |
| Cerebrovascular disease | 38 | 40.3 | 0.94 | 0.67 | 1.30 | 34 | 37.4 | 0.91 | 0.63 | 1.27 |

Table 2. Observed and Expected Numbers of Deaths, Standardized Mortality Ratios, and 95% Confidence Intervals for Major Causes of Death Among Japanese Yusho Patients in Each 5-Year Interval From 1968 to 2007

| Cause of death (Males) | Number of years since the accident | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0–4 | | | | 5–9 | | | | 10–14 | | | | 15–19 | | | | 20–24 | | | | 25–29 | | | | 30–34 | | | | 35–39 | | | |
| | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI |
| All causes | 16 | 9.8 | 1.64 | 0.94, 2.66 | 28 | 21.2 | 1.32 | 0.88, 1.91 | 33 | 29.2 | 1.13 | 0.78, 1.59 | 44 | 33.0 | 1.33 | 0.97, 1.79 | 42 | 37.4 | 1.12 | 0.81, 1.52 | 41 | 44.1 | 0.93 | 0.67, 1.26 | 51 | 47.3 | 1.08 | 0.80, 1.42 | 40 | 46.8 | 0.85 | 0.61, 1.16 |
| All cancers | 6 | 1.8 | 3.31 | 1.21, 7.20 | 10 | 4.6 | 2.18 | 1.05, 4.01 | 16 | 7.5 | 2.13 | 1.22, 3.46 | 11 | 9.7 | 1.13 | 0.56, 2.02 | 15 | 12.0 | 1.25 | 0.70, 2.06 | 13 | 15.1 | 0.86 | 0.46, 1.47 | 17 | 16.9 | 1.01 | 0.59, 1.61 | 18 | 16.2 | 1.11 | 0.66, 1.76 |
| Stomach | 3 | 0.8 | 3.80 | 0.78, 11.10 | 6 | 1.8 | 3.32 | 1.22, 7.21 | 2 | 2.5 | 0.81 | 0.10, 2.92 | 2 | 2.6 | 0.76 | 0.09, 2.73 | 4 | 2.7 | 1.46 | 0.40, 3.74 | 1 | 3.0 | 0.33 | 0.01, 1.85 | 3 | 3.1 | 0.97 | 0.20, 2.84 | 0 | 2.7 | 0.00 | 0.00, 1.38 |
| Rectum | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 55.04 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 20.06 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 12.01 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 9.19 | 1 | 0.5 | 1.99 | 0.05, 11.10 | 1 | 0.6 | 1.54 | 0.04, 8.59 | 0 | 0.7 | 0.00 | 0.00, 5.23 | 0 | 0.7 | 0.00 | 0.00, 5.38 |
| Liver | 1 | 0.2 | 6.22 | 0.16, 34.65 | 2 | 0.4 | 4.85 | 0.59, 17.50 | 4 | 0.8 | 4.77 | 1.30, 12.21 | 1 | 1.3 | 0.77 | 0.02, 4.29 | 3 | 1.7 | 1.73 | 0.36, 5.04 | 4 | 2.2 | 1.79 | 0.49, 4.58 | 2 | 2.2 | 0.90 | 0.11, 3.24 | 1 | 1.9 | 0.53 | 0.01, 2.95 |
| Pancreas | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 51.74 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 19.11 | 1 | 0.4 | 2.70 | 0.07, 15.06 | 1 | 0.5 | 1.87 | 0.05, 10.44 | 1 | 0.7 | 1.48 | 0.04, 8.23 | 1 | 0.9 | 1.17 | 0.03, 6.53 | 1 | 1.0 | 1.03 | 0.03, 5.73 | 2 | 1.0 | 2.03 | 0.25, 7.33 |
| Lung | 1 | 0.2 | 5.13 | 0.13, 28.58 | 1 | 0.6 | 1.60 | 0.04, 8.90 | 3 | 1.2 | 2.46 | 0.51, 7.20 | 5 | 1.8 | 2.75 | 0.89, 6.43 | 2 | 2.5 | 0.80 | 0.10, 2.90 | 3 | 3.2 | 0.93 | 0.19, 2.71 | 4 | 3.8 | 1.05 | 0.29, 2.69 | 8 | 3.9 | 2.07 | 0.89, 4.07 |
| Breast | 0 | 0.0 | . | . . | 0 | 0.0 | . | . . | 0 | 0.0 | . | . . | 0 | 0.0 | . | . . | 0 | 0.0 | . | . . | 0 | 0.0 | . | . . | 0 | 0.0 | . | . . | 0 | 0.0 | . | . . |
| Uterus | . | . | . | . . | . | . | . | . . | . | . | . | . . | . | . | . | . . | . | . | . | . . | . | . | . | . . | . | . | . | . . | . | . | . | . . |
| Leukemia | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 50.69 | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 25.89 | 1 | 0.2 | 5.13 | 0.13, 28.56 | 1 | 0.2 | 4.22 | 0.11, 23.51 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 13.87 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 11.99 | 1 | 0.3 | 2.91 | 0.07, 16.19 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 11.21 |
| Heart disease | 2 | 1.1 | 1.87 | 0.23, 6.75 | 5 | 2.8 | 1.78 | 0.58, 4.15 | 3 | 4.8 | 0.63 | 0.13, 1.83 | 9 | 5.7 | 1.57 | 0.72, 2.99 | 7 | 6.8 | 1.03 | 0.41, 2.12 | 4 | 6.1 | 0.65 | 0.18, 1.67 | 7 | 6.5 | 1.08 | 0.43, 2.21 | 4 | 6.7 | 0.59 | 0.16, 1.52 |
| Cerebrovascular disease | 1 | 2.2 | 0.46 | 0.01, 2.53 | 6 | 5.0 | 1.21 | 0.44, 2.63 | 1 | 6.0 | 0.17 | 0.00, 0.92 | 9 | 5.2 | 1.73 | 0.79, 3.29 | 3 | 4.8 | 0.63 | 0.13, 1.84 | 9 | 6.1 | 1.48 | 0.68, 2.81 | 6 | 5.8 | 1.04 | 0.38, 2.26 | 3 | 5.3 | 0.57 | 0.12, 1.66 |

| Cause of death (Females) | Number of years since the accident | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0–4 | | | | 5–9 | | | | 10–14 | | | | 15–19 | | | | 20–24 | | | | 25–29 | | | | 30–34 | | | | 35–39 | | | |
| | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI | Obs | Exp | SMR | 95% CI |
| All causes | 6 | 8.1 | 0.74 | 0.27, 1.61 | 13 | 14.9 | 0.87 | 0.46, 1.49 | 20 | 19.7 | 1.02 | 0.62, 1.57 | 24 | 26.2 | 0.92 | 0.59, 1.36 | 34 | 29.1 | 1.17 | 0.81, 1.63 | 40 | 32.3 | 1.24 | 0.88, 1.68 | 40 | 35.6 | 1.12 | 0.80, 1.53 | 30 | 36.9 | 0.81 | 0.55, 1.16 |
| All cancers | 3 | 1.5 | 2.03 | 0.42, 5.94 | 1 | 3.2 | 0.31 | 0.01, 1.73 | 1 | 4.8 | 0.21 | 0.01, 1.16 | 7 | 6.5 | 1.08 | 0.43, 2.22 | 5 | 7.4 | 0.68 | 0.22, 1.58 | 10 | 8.8 | 1.13 | 0.54, 2.08 | 13 | 10.0 | 1.30 | 0.69, 2.22 | 6 | 9.8 | 0.62 | 0.23, 1.34 |
| Stomach | 0 | 0.5 | 0.00 | 0.00, 6.99 | 0 | 1.0 | 0.00 | 0.00, 3.53 | 0 | 1.4 | 0.00 | 0.00, 2.72 | 1 | 1.6 | 0.64 | 0.02, 3.57 | 2 | 1.5 | 1.36 | 0.16, 4.91 | 1 | 1.5 | 0.66 | 0.02, 3.66 | 0 | 1.5 | 0.00 | 0.00, 2.41 | 0 | 1.3 | 0.00 | 0.00, 2.77 |
| Rectum | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 63.42 | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 25.35 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 18.28 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 13.59 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 11.90 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 10.52 | 1 | 0.4 | 2.54 | 0.06, 14.16 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 9.85 |
| Liver | 1 | 0.1 | 11.02 | 0.28, 61.40 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 19.31 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 12.90 | 2 | 0.4 | 4.50 | 0.55, 16.26 | 1 | 0.6 | 1.74 | 0.04, 9.70 | 0 | 0.8 | 0.00 | 0.00, 4.48 | 3 | 1.0 | 3.11 | 0.64, 9.10 | 1 | 0.9 | 1.11 | 0.03, 6.19 |
| Pancreas | 0 | 0.0 | 0.00 | 0.00, 77.31 | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 27.96 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 15.79 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 9.69 | 0 | 0.5 | 0.00 | 0.00, 7.20 | 2 | 0.6 | 3.25 | 0.39, 11.75 | 1 | 0.8 | 1.30 | 0.03, 7.22 | 0 | 0.8 | 0.00 | 0.00, 4.46 |
| Lung | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 46.95 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 17.29 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 9.14 | 1 | 0.7 | 1.53 | 0.04, 8.54 | 1 | 0.8 | 1.22 | 0.03, 6.79 | 1 | 1.1 | 0.94 | 0.02, 5.23 | 0 | 1.3 | 0.00 | 0.00, 2.87 | 2 | 1.3 | 1.54 | 0.19, 5.57 |
| Breast | 1 | 0.1 | 12.31 | 0.31, 68.56 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 17.97 | 0 | 0.3 | 0.00 | 0.00, 11.21 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 8.43 | 0 | 0.5 | 0.00 | 0.00, 7.31 | 1 | 0.6 | 1.56 | 0.04, 8.70 | 1 | 0.7 | 1.36 | 0.03, 7.58 | 0 | 0.7 | 0.00 | 0.00, 5.04 |
| Uterus | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 19.81 | 1 | 0.3 | 2.90 | 0.07, 16.18 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 9.16 | 1 | 0.4 | 2.34 | 0.06, 13.03 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 9.26 | 2 | 0.4 | 4.82 | 0.58, 17.41 | 1 | 0.4 | 2.31 | 0.06, 12.84 | 0 | 0.4 | 0.00 | 0.00, 9.61 |
| Leukemia | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 66.23 | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 35.36 | 0 | 0.1 | 0.00 | 0.00, 27.32 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 21.46 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 19.34 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 18.59 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 16.09 | 0 | 0.2 | 0.00 | 0.00, 17.28 |
| Heart disease | 0 | 1.1 | 0.00 | 0.00, 3.47 | 1 | 2.2 | 0.46 | 0.01, 2.55 | 6 | 3.4 | 1.77 | 0.65, 3.84 | 4 | 5.2 | 0.77 | 0.21, 1.98 | 11 | 6.3 | 1.74 | 0.87, 3.12 | 13 | 5.3 | 2.46 | 1.31, 4.20 | 6 | 6.1 | 0.99 | 0.36, 2.14 | 3 | 6.7 | 0.45 | 0.09, 1.32 |
| Cerebrovascular disease | 1 | 2.0 | 0.50 | 0.01, 2.76 | 2 | 3.9 | 0.52 | 0.06, 1.87 | 4 | 4.7 | 0.85 | 0.23, 2.18 | 5 | 5.3 | 0.95 | 0.31, 2.21 | 5 | 4.9 | 1.02 | 0.33, 2.39 | 4 | 5.8 | 0.69 | 0.19, 1.76 | 6 | 5.7 | 1.06 | 0.39, 2.30 | 7 | 5.2 | 1.35 | 0.54, 2.79 |

分担研究報告書

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


研究分担者　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
　　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 の分析法を検討し、各追跡班ごとに行っている PCB,PCQ の分析を福岡、長崎、広島班はこれまで通り各追跡班で分析を行うが、その他の追跡班分は一括して北九州生活科学センターで分析を行うことになった。分析データの信頼性を確保するため、各検査機関の PCB 及び PCQ の分析方法を比較し、精度管理の方法を検討した。その結果、今年度より同一試料を配布しクロスチェック実施する。


## 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、油症患者と一般人の違いを非常に明確にすることができる[1]。また、PCQ は熱媒体として用いられた PCB が重合したもので油症患者の血液中に高濃度に検出されことが報告され[2]、油症認定の基準とされている。

PCB及びPCQの分析は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[3]。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[4]。

従来のパックドカラム GC／ECD 検出器の分析法は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。本研究では平成 18 年（2006 年）より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、分析データの信頼性を確保するため精度管理のあり方を検討した。

## B. 研究方法

2006 年に油症追跡班の PCB 及び PCQ

の分析法を調査し、今後の精度管理のあり方を検討した。また、各分析機関に同一検体を配布し、クロスチェックを実施した。

（倫理面への配慮）

本研究はPCB及びPCQの分析方法の改良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

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、検討した結果、2008年から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北九州生活科学センターに委託し一括して分析する。PCBの分析法は従来のパックドカラムGC／ECD検出器を用いた分析法（長崎、広島、北九州市）とGC/MSを用いた分析法（福岡県、福岡市、北九州生活科学センター）が行われている。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、老朽化した機器の更新が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る。また、分析法が異なる場合、油症の診定基準の「PCBの性状」は同じになるが[3)]、GC／ECD法ではピークの濃度が、GC/MS法ではPCB異性体濃度が求められる。分析データの同等性を確認するため、同一試料を用いたクロスチェックの実施が必要である。2008年度、福岡（福岡県、北九州市、福岡市）、長崎、広島、北九州生活科学センター及び国内の民間分析機関に同一検体を配布し、クロスチェックを実施した。クロスチェックの結果は現在解析中である。

## 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北九州生活科学センターに委託し一括して分析する。分析データの信頼性を確保するため同一試料を各分析機関に配布しクロスチェックを定期的に行う。

## E. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

## F. 参考文献


1）Masuda Y.: Health status of Japanese and Taiwanese after exposure to contaminated rice oil. Environ. Health Perspect. 60: 321-325, 1985

2）Kashimoto T., Miyata H. And Kunita N.: The presence of polychlorinated quaterphenyls in the tissues of Yusho patients. Food Cosmet. Toxicol. 19: 335-340, 1981

3）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.

4）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分析機関（2007年まで）

| 追跡班 | 分析機関 | 分析法 |
|---|---|---|
| 関東以北班 | 福岡県保健環境研究所 | GC／MS法 |
| 千葉県 | 千葉県衛生研究所 | GC／ECD法 |
| 愛知県 | 愛知県衛生研究所（PCQは福岡県で実施） | GC／ECD法 |
| 大阪府 | 福岡県保健環境研究所 | GC／MS法 |
| 島根県 | 福岡県保健環境研究所 | GC／MS法 |
| 山口県 | 山口県環境保健センター | GC／ECD法 |
| 高知県 | 高知県衛生研究所 | GC／ECD法 |
| 鹿児島県 | 鹿児島県環境保健センター | GC／ECD法 |
| 広島県 | 広島県立総合技術研究所保健環境センター | GC／ECD法 |
| 長崎県 | 長崎県環境保健研究センター | GC／ECD法 |
| 福岡県 | 福岡県保健環境研究所 | GC／MS法 |
| | 福岡市保健環境研究所 | GC／MS法 |
| | 北九州市環境科学研究所 | GC／ECD法 |
| | 第一薬科大学 | GC／MS法 |



PCB分析機関（2008年）

| 追跡班 | 分析機関 | 分析法 |
|---|---|---|
| 関東以北班 | （財）北九州生活科学センター | GC／MS法 |
| 千葉県 | | |
| 愛知県 | | |
| 大阪府 | | |
| 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 | GC／ECD法 |
| 長崎県 | 長崎県環境保健研究センター | GC／ECD法 |
| 福岡県 | 福岡県保健環境研究所 | GC／MS法 |
| | 福岡市保健環境研究所 | GC／MS法 |
| | 北九州市環境科学研究所 | GC／ECD法 |
| | （財）北九州生活科学センター | GC／MS法 |

分担研究報告書

# 油症患者血液中の PCDF 類実態調査


| | | | |
|---|---|---|---|
| 研究分担者 | 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 |
| | 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 |
| | 芦塚由紀 | 福岡県保健環境研究所 | 生活化学課　研究員 |
| | 新谷依子 | 福岡県保健環境研究所 | 生活化学課　技師 |
| | 吉富秀亮 | 福岡県保健環境研究所 | 生活化学課　技師 |
| | 飛石和大 | 福岡県保健環境研究所 | 水　質　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 |
| | 片岡恭一郎 | 福岡県保健環境研究所 | 情報管理課　課長 |
| | 小野塚大介 | 福岡県保健環境研究所 | 情報管理課　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 |
| | 堀川和美 | 福岡県保健環境研究所 | 病理細菌課　課長 |
| | 千々和勝己 | 福岡県保健環境研究所 | 保健科学部　部長 |
| | 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。平成 19 年度（2007 年）は受診者のうち未認定者と油症認定者のうち過去 3 年以内に受診歴の無い認定者の血中ダイオキシン濃度を測定した。2007 年度の油症認定患者の平均 Total TEQ は 60.7 pg/g lipid であった。2001 年から 2007 年までの 7 年間の検査希望者中の油症認定患者の検体総数は 1501 件であるが、受診認定患者の実数は 531 名で、全認定患者（1912 名）の約 28%であった。内訳は男性 243 名、女性 288 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。しかし、受診認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布は受診認定患者約 50%が 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 50pg/g lipid 以下であった。


## 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、2004-07 年に新たに 45 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。油症研究班では油症認定患者を対象に治療と追跡調査、油症未認定者を対象に油症患者診定委員会の資料作成のために毎年全国で油症一斉検診が行われている。

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受診者の内 2001 年は福岡県の受診者中の希望者、2002－06 年度の 5 年間は全国の検診受診者中の全希望者の血中ダイオキシン類濃度を測定し油症認定患者の血中ダイオキシン濃度の推移と濃度分布を解析した。その結果、2001-06 年時点での油症認定患者の血中ダイオキシン類濃度の実態と濃度推移を明らかにした。また、2006 年からは漢方薬等による治療研究の血中ダイオキシン濃度の測定に測定対象を拡大させた。2007 年度の油症検診受診者の血中ダイオキシン類濃度の測定は未認定者と油症認定者のうち初回及び過去 3 年以内に受診歴の無い認定者の血中ダイオキシン濃度を測定することで油症認定患者全体の汚染実態の解明を目指した。また、血中ダイオキシン類濃度測定の精度管理のため国内 4 か所の分析機関に同一試料を配布しクロスチェックを実施した。さらに、油症患者の漢方薬及びコレスチラミンによる治療研究の基礎資料を得るため、治験参加者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 2007 年度の油症一斉検診受診者のうち未認定者 148 名と油症認定者のうち初回及び過去 3 年以内に受診歴の無い認定患者で血中ダイオキシン類検査の希望者 96 名から採取した。2007 年度に初めて血中ダイオキシン類検査を実施した油症認定患者は 63 名であった。

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 20 年度（2008 年）調査（278 名）については現在、分析中である。

### (3) 血中ダイオキシン類濃度測定の精度管理のためのクロスチェック

当研究所で開発した血液 5g を用いたダイオキシン類分析法の妥当性を検証するため、同一試料の血液を国内の 4 分析機関に分析依頼し、我々の分析結果と比較した。分析試料は同一試料であることを告げずに 1 機関あたり 4 検体の分析を依頼した。各検査機関に配布した血液量は 1 件体当たり 10～60ml である。ダイオキシン類の分析方法は当所では ASE による脂肪抽出、硫酸処理、カラムクリーンアップを用いた分析法[1)]を用い、国内の 4 分析機関は厚生労働省暫定法に準拠した各分析機関で通常行っている分析法を用いた。分析結果の集計は ND を対象外とし、毒性等量（TEQ）は TEF（WHO2006）を用いて算出した。

（4）油症患者血中ダイオキシン類濃度の解析

2001年度から2007年度までの7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1501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 531 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 243 名、女性 288 名であった。患者の年齢は2007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算術平均濃度をその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

2007 年度も引き続き漢方薬による治療試験の基礎資料を得るため、油症患者 9 名について治験中６ヶ月ごとに 2 回延べ 17 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。分析結果は現在解析中である。

(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

2007 年度の油症ダイオキシン類検査では 13 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．血中ダイオキシン類濃度測定のクロスチェック

血中ダイオキシン類濃度測定のクロスチェックの結果を図 2 に示した。当研究所を含む 5 機関の Total TEQ の平均値の変動率（CV）は 4.6%で各分析機関の測定値はよく一致した。

(1)-4．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 2007 年度までに実施した油症一斉検診の油症認定患者の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

のみのデータであり、2002-2006年度は受診認定者の希望者全員を測定した。この間の平均 Total TEQ は 122.2～136.4, pg-TEQ/g lipid であった。2007年度は油症検診受診者のうち初回及び過去 3 年以内に受診歴の無い認定者の血中ダイオキシン濃度を測定した。その結果、算術平均 Total TEQ は 60.7 pg/g lipid であった。2007 年度の測定対象には Total TEQ が 500pg-TEQ/g lipid を超える血中ダイオキシン類濃度が高濃度の認定患者の数が少なかったため、Total TEQ の平均値が低い値を示した。対照群の一般住民 127 名の Total TEQ は 37.4 pg/g lipid であり、2007 年度の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 1.6 倍高かった。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認定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2007年度までの7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 531 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。

7 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 531 名の受診地域別の内訳は福岡 215 名、長崎 165 名、広島 68 名、高知 11 名、その他の地域 72 名であった。

2001年から2007年までの7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 531 名は全認定患者（1912 名）の約 28%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 39%に相当する。従って油症認定患者の約 4 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「油症支援法」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、油症患者 9 名について治験中 6 ヶ月ごとに 2 回採血を行い、延べ 17 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、国内 4 検査機関と実施したクロスチェックでも測定値はよく一致した。さらに 2004 年の血中ダイオキシン濃

度を加えた改訂油症診断基準による未認定者の診断にも対応するものであり、2004年から2007年に新たに45名の患者が認定されている。

本分析法を用いて、2001年から2007年までの7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1501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531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4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 | Mean | SD | Min. | Max. | CV |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 脂肪含量(%) | 0.287 | 0.280 | 0.288 | 0.294 | 0.302 | 0.289 | 0.277 | 0.290 | 0.275 | 0.303 | 0.302 | 0.286 | 0.290 | 0.289 | 0.009 | 0.275 | 0.303 | 3.2% |
| 2,3,7,8-TCDD | 1.9 | 1.6 | 1.9 | 1.9 | 2.2 | 1.3 | 1.5 | 1.6 | 1.3 | 2.1 | 1.9 | 1.9 | 1.8 | 1.8 | 0.28 | 1.3 | 2.2 | 15.9% |
| 1,2,3,7,8-PeCDD | 6.5 | 5.8 | 5.9 | 7.2 | 5.0 | 7.1 | 6.0 | 5.8 | 6.5 | 6.7 | 6.4 | 7.2 | 6.7 | 6.4 | 0.64 | 5.0 | 7.2 | 10.1% |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDD | 7.0 | 8.4 | 7.9 | 9.1 | 7.5 | 8.1 | 7.9 | 7.9 | 7.2 | 8.4 | 7.4 | 8.1 | 5.9 | 7.8 | 0.79 | 5.9 | 9.1 | 10.2% |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD | 54.8 | 63.2 | 58.4 | 52.1 | 53.4 | 53.6 | 54.0 | 55.8 | 54.7 | 51.5 | 50.7 | 50.0 | 56.1 | 54.5 | 3.49 | 50.0 | 63.2 | 6.4% |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDD | 11.6 | 10.1 | 10.7 | 10.6 | 11.7 | 10.3 | 10.6 | 9.4 | 10.8 | 11.8 | 10.5 | 9.5 | 10.7 | 10.6 | 0.73 | 9.4 | 11.8 | 6.9% |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD | 151.8 | 142.8 | 144.4 | 147.9 | 169.2 | 159.4 | 153.1 | 147.5 | 155.9 | 158.2 | 164.2 | 148.2 | 129.1 | 151.7 | 10.29 | 129.1 | 169.2 | 6.8% |
| OCDD | 1512.5 | 1479.7 | 1474.2 | 1692.8 | 1596.1 | 1550.4 | 1565.1 | 1498.1 | 1466.3 | 1322.3 | 1411.6 | 1297.4 | 1120.6 | 1460.6 | 147.11 | 1120.6 | 1692.8 | 10.1% |
| 2,3,7,8-TCDF | ND | ND | 1.2 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 0.6 | 0.20 | ND | 1.2 | 36.7% |
| 1,2,3,7,8-PeCDF | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 1.0 | ND | 1.1 | 0.6 | 0.22 | ND | 1.1 | 37.5% |
| 2,3,4,7,8-PeCDF | 5.8 | 6.4 | 5.9 | 4.6 | 5.8 | 5.3 | 5.1 | 6.0 | 5.3 | 5.8 | 4.9 | 4.2 | 4.5 | 5.3 | 0.65 | 4.2 | 6.4 | 12.2% |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDF | 6.3 | 7.3 | 7.3 | 6.6 | 7.1 | 7.7 | 7.5 | 6.8 | 8.0 | 6.5 | 6.5 | 6.3 | 6.7 | 7.0 | 0.56 | 6.3 | 8.0 | 8.0% |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDF | 6.0 | 6.9 | 6.9 | 6.7 | 5.6 | 7.4 | 6.7 | 6.9 | 6.4 | 7.1 | 6.9 | 5.8 | 6.7 | 6.6 | 0.54 | 5.6 | 7.4 | 8.1% |
| 2,3,4,6,7,8-HxCDF | ND | ND | ND | 2.1 | ND | ND | ND | ND | ND | 2.0 | ND | ND | 2.0 | 1.2 | 0.47 | ND | 2.1 | 37.7% |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDF | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | | | |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF | 15.2 | 18.8 | 17.9 | 14.8 | 14.8 | 14.7 | 16.3 | 16.0 | 14.5 | 13.9 | 14.0 | 15.2 | 15.3 | 15.5 | 1.45 | 13.9 | 18.8 | 9.3% |
| 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | | | |
| OCDF | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 4.1 | ND | 2.2 | 0.58 | ND | 4.1 | 26.7% |
| 344'5-TCB(#81) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | | | | |
| 33'44'-TCB(#77) | 35.6 | 42.2 | 44.6 | 40.9 | 39.6 | 36.1 | 45.0 | 37.7 | 41.2 | 38.0 | 40.0 | 39.3 | 33.4 | 39.5 | 3.38 | 33.4 | 45.0 | 8.6% |
| 33'44'5-PenCB(#126) | 21.0 | 22.0 | 22.8 | 22.4 | 20.0 | 22.3 | 24.0 | 22.1 | 22.7 | 21.9 | 21.4 | 21.6 | 22.6 | 22.1 | 0.97 | 20.0 | 24.0 | 4.4% |
| 33'44'55'-HxCB(#169) | 20.2 | 22.1 | 21.4 | 21.7 | 19.8 | 18.6 | 21.6 | 21.2 | 20.9 | 19.6 | 18.3 | 17.0 | 18.3 | 20.0 | 1.60 | 17.0 | 22.1 | 8.0% |
| Total PCDDs | 1745.9 | 1711.7 | 1703.4 | 1921.6 | 1845.2 | 1790.1 | 1798.3 | 1726.2 | 1702.8 | 1560.9 | 1652.7 | 1522.3 | 1331.1 | 1693.2 | 152.63 | 1331.1 | 1921.6 | 9.0% |
| Total PCDFs | 39.2 | 45.4 | 44.8 | 40.0 | 39.3 | 41.1 | 41.6 | 41.7 | 40.2 | 40.3 | 38.8 | 39.5 | 40.9 | 41.0 | 2.04 | 38.8 | 45.4 | 5.0% |
| Total Non-ortho PCBs | 81.8 | 91.3 | 93.7 | 90.0 | 84.4 | 82.0 | 95.6 | 86.0 | 89.7 | 84.4 | 84.7 | 82.9 | 79.3 | 86.6 | 5.00 | 79.3 | 95.6 | 5.8% |
| Total | 1866.9 | 1848.4 | 1841.8 | 2051.6 | 1968.8 | 1913.2 | 1935.5 | 1853.9 | 1832.7 | 1685.6 | 1776.2 | 1644.7 | 1451.2 | 1820.8 | 155.26 | 1451.2 | 2051.6 | 8.5% |
| ◆【WHO-98】◆ | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T PCDDs-98TEQ | 17.3 | 17.2 | 17.0 | 18.0 | 16.4 | 17.3 | 16.4 | 16.3 | 16.8 | 17.6 | 16.9 | 17.4 | 17.2 | 17.1 | 0.49 | 16.3 | 18.0 | 2.9% |
| T PCDFs-98TEQ | 4.5 | 5.1 | 4.9 | 4.2 | 4.6 | 4.6 | 4.4 | 4.8 | 4.5 | 4.8 | 4.2 | 3.7 | 4.2 | 4.5 | 0.36 | 3.7 | 5.1 | 8.0% |
| T Non-ortho PCBs-98TEQ | 2.3 | 2.4 | 2.5 | 2.5 | 2.2 | 2.4 | 2.6 | 2.4 | 2.5 | 2.4 | 2.3 | 2.3 | 2.4 | 2.4 | 0.10 | 2.2 | 2.6 | 4.3% |
| Total 98TEQ | 24.2 | 24.7 | 24.4 | 24.6 | 23.2 | 24.3 | 23.5 | 23.6 | 23.8 | 24.8 | 23.5 | 23.5 | 23.8 | 24.0 | 0.55 | 23.2 | 24.8 | 2.3% |
| ◆【WHO-05】◆ | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T PCDDs-05TEQ | 17.6 | 17.5 | 17.3 | 18.3 | 16.7 | 17.6 | 16.8 | 16.6 | 17.1 | 17.9 | 17.2 | 17.7 | 17.5 | 17.4 | 0.49 | 18.3 | 16.6 | 2.8% |
| T PCDFs-05TEQ | 3.4 | 3.8 | 3.7 | 3.3 | 3.4 | 3.5 | 3.4 | 3.6 | 3.4 | 3.6 | 3.2 | 2.9 | 3.2 | 3.4 | 0.24 | 3.8 | 2.9 | 7.0% |
| T Non-ortho PCBs-05TEQ | 2.7 | 2.9 | 2.9 | 2.9 | 2.6 | 2.8 | 3.1 | 2.9 | 2.9 | 2.8 | 2.7 | 2.7 | 2.8 | 2.8 | 0.12 | 3.1 | 2.6 | 4.4% |
| Total -05TEQ | 23.7 | 24.2 | 24.0 | 24.5 | 22.7 | 23.9 | 23.2 | 23.1 | 23.4 | 24.3 | 23.1 | 23.2 | 23.5 | 23.6 | 0.53 | 24.5 | 22.7 | 2.3% |

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa;  Hp: hepta; ND: less than the determination limit; OCDD: octachlorodibenzo-p-dioxin; OCDF: 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( 2001-2007)

| | 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) | | | 2007 (n =96) | | | 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 | 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 | 1.4 | 0.8 | ND-5.3 | 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 | 7.6 | 4.6 | 1.2-32 | 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 | 2.7 | 1.6 | ND-10 | 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 | 34.6 | 34.6 | 5.9-242 | 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 | 3.8 | 3.0 | ND-23 | 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 | 48.3 | 29.3 | ND-237 | 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 | 707.9 | 439.6 | 219-3903 | 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 | 806.1 | 488.5 | 268-4271 | 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 | 1.0 | 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 | 0.6 | ND-5.1 | 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 | 69.5 | 120.0 | 2.9-812 | 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 | 20.1 | 62.6 | ND-562 | 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 | 9.5 | 18.7 | ND-167 | 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 | 1.1 | 0.3 | ND-2.5 | 1.2 | 0.8 | ND-5.2 |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDF | ND | | | 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 | 2.6 | 2.4 | ND-13 | 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 | | | 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 | ND | | | 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 | 108.4 | 197.2 | 12-1565 | 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 | 5.1 | 1.0 | ND-12 | 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 | 5.6 | 2.6 | ND-21 | 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 | 76.2 | 54.4 | ND-242 | 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 | 128.3 | 120.7 | 12-731 | 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 | 215.3 | 150.6 | 27-820 | 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 | 1129.9 | 650.1 | 315-4528 | 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 | 13.7 | 8.8 | 3.0-61 | 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 | 38.1 | 67.4 | 1.9-480 | 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 | 8.9 | 6.0 | 0.6-26 | 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 | 60.7 | 76.7 | 5.8-557 | 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 | 0.32 | 0.06 | 0.20-0.53 | 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 | 57.8 | 14.5 | 31-86 | 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=531) | | | | | 女性(n=288) | | | | | 男性(n=243) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 人数 | Mean | SD | Range | Med | 人数 | Mean | SD | Range | Med | 人数 | Mean | SD | Range | Med |
| 39歳以下 | 26 | 12 | 7.3 | 3.2-32 | 8.4 | 11 | 15 | 8.4 | 6.2-32 | 13 | 15 | 8.8 | 4.7 | 3.2-20 | 7.6 |
| 40歳代 | 65 | 27 | 34.3 | 3.0-150 | 14 | 32 | 36 | 42.2 | 3.0-150 | 15 | 33 | 15 | 14.0 | 4.5-66 | 10 |
| 50歳代 | 85 | 120 | 204.2 | 4.5-1400 | 57 | 49 | 190 | 251.0 | 8.0-1400 | 140 | 36 | 36 | 30.5 | 4.5-120 | 29 |
| 60歳代 | 116 | 190 | 199.9 | 6.3-1000 | 130 | 69 | 250 | 217.8 | 8.9-1000 | 180 | 47 | 100 | 127.6 | 6.3-640 | 50 |
| 70歳代 | 166 | 200 | 239.0 | 6.1-1800 | 110 | 87 | 290 | 286.9 | 10-1800 | 250 | 79 | 120 | 128.3 | 6.1-560 | 66 |
| 80歳以上 | 73 | 200 | 272.2 | 8.0-1300 | 59 | 40 | 300 | 331.1 | 16-1300 | 120 | 33 | 75 | 72.1 | 8.0-280 | 41 |
| 合計 | 531 | 160 | 221.8 | 3.0-1800 | 65 | 288 | 230 | 265.1 | 3.0-1800 | 130 | 243 | 82 | 107.8 | 3.2-640 | 41 |

( pg/g lipid )

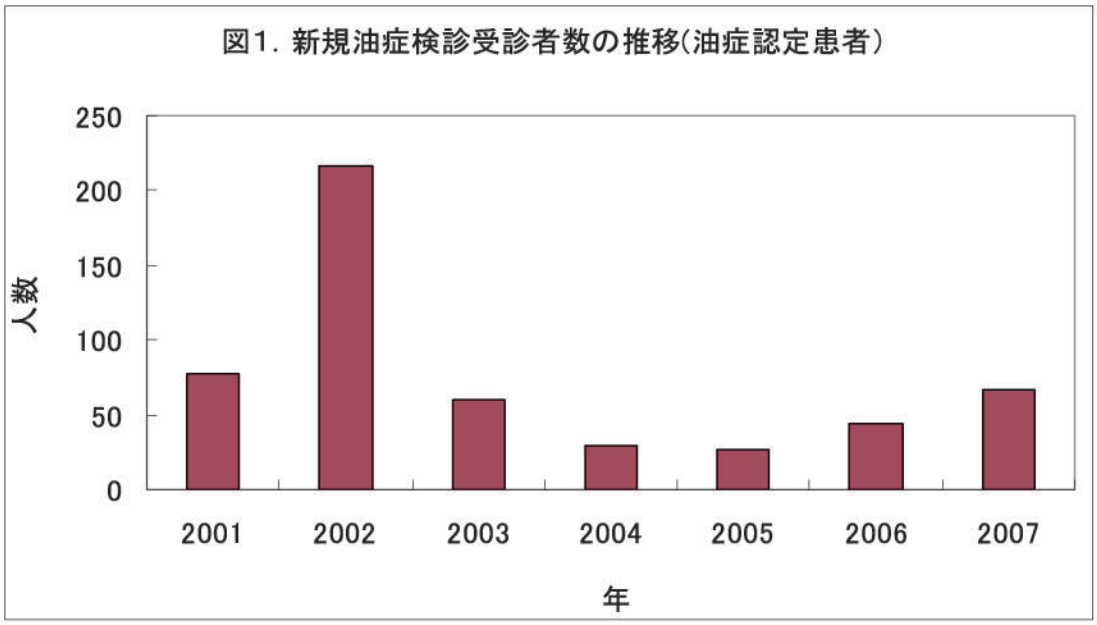



図1. 新規油症検診受診者数の推移(油症認定患者)

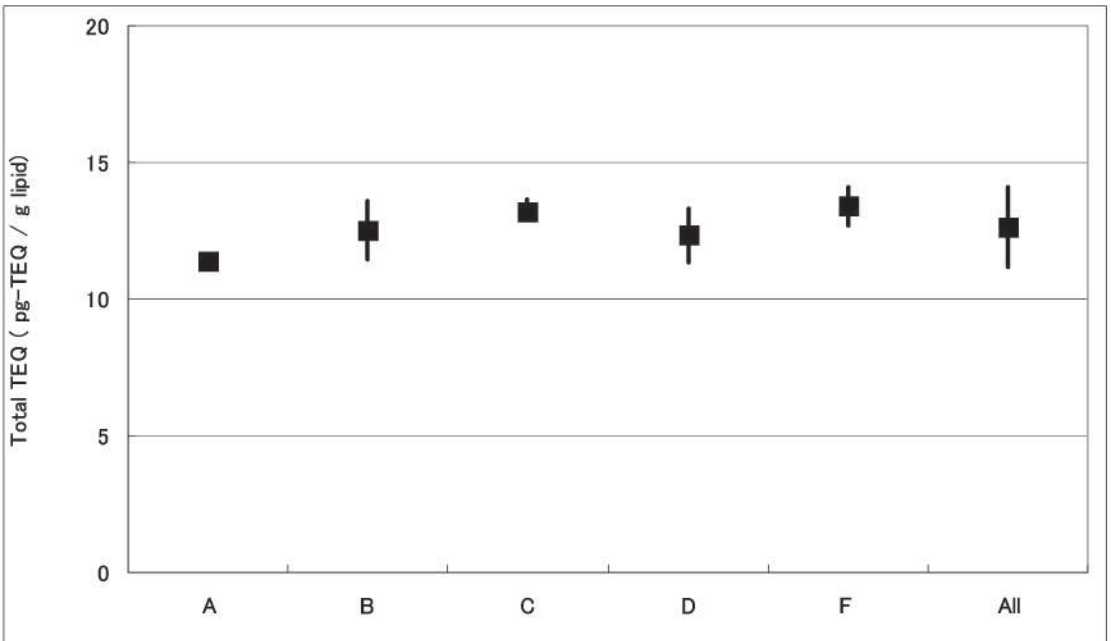



図 2. 国内血液中ダイオキシン類クロスチェック結果
(各分析機関のTotal TEQ測定値)

分担研究報告書

# 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内科合併症について

研究分担者　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認められる。しかし、その頻度は、徐々に低下している。また、DXAで橈骨遠位端の骨密度、血清NTX,血清BAPの骨代謝マーカー、血清Ca,血清Pを測定し、血液PCB濃度、血液PCQ濃度、血液PCDF濃度との関係を検討した。男性において、PCB血液濃度が高いと骨密度の低下、および、骨代謝の亢進（NTXの上昇、BAPの上昇）、血清Pの高値が観察された。閉経以後の女性では、血液PCB濃度との骨密度の低下の関係は、明らかではないが、血液PCB濃度が高いと血清BAPは低下していた。影響は軽度だが、PCBは骨密度および骨代謝に影響を及ぼす。

## Ａ．研究目的

カネミ油症検診者では、血清クレアチン・ホスフォカイネース（CK）の上昇が約 15%に認められ、血清アルドラーゼ値も平成 12 年検診者の 60.2%で、平成 18 年では 10%で低下していた。カネミ油症検診者で認められる血清 CK 上昇の要因を平成 6 年から平成 18 年度の検診データーから検討してきた。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。しかし、CK の上昇と運動量もしくは BUN は相関が認められた。そして、血清アルドラーゼ値は測定地域で有意差があり、統計的には血中 PCB 濃度の関与が認められた。血清アルドラーゼ低下と血清CK上昇の関係および、その意義を明らかにするために、カネミ油症検診者におけるアルドラーゼ値および血清CKの変動を追跡調査し、その要因を明らかにしたい。

また、PCB やダイオキシンは、骨代謝に影響を及ぼしうるが、未だ一定の見解はない。カネミ油症検診者においても、骨粗鬆症の合併の可能性は指摘されているが、一定の見解はない。そこで、カネミ油症検診者での骨密度の変化、骨吸収の指標となるⅠ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド（NTX）と骨形成の指標となる骨型アルカリフォスファターゼ（BAP）を測定し、カネミ油症検診者での骨密度と骨代謝の影響を検討した。

## 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～2007 年までの長崎県カネミ油症検診者データ全てを使用し、血清 ALD と血清 CK が異常率を各年度ごとに算出した。

**調査２．血中 PCBs、PCQ 濃度と骨代謝マーカーの関係**

2007 年の長崎県カネミ油症検診者のうち、下記にあげる骨密度・代謝に関連する項目が測定できた 163 名(男性：56 人、年齢中央値 63 歳（33 歳から 86 歳）；女性：107 人、年齢中央値 69 歳（37 歳から 85 歳））を対象とした。なお、血中 PCB、PCQ 濃度については、過去測定値（1995～2007）の平

均値を採用した。

1. 骨密度 (BMD) DPX (dual energy X-ray absorptiometry) を用いて、橈骨遠位端にて測定。
2. %YAM (young adult mean )
3. 血清Ⅰ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTX)
4. 血清骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)
5. 血清カルシウム (Ca)
6. 血清リン (P)

上記、採血は通常の検診にて採血する血清を使用し、採血項目の説明は文書にて行った。

## C．結果

### 1，血清 ALD と血清 CK 異常率の年次推移

2000 年から 2007 年まで述べ、916 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、2008 年では 0%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、2007 年には 9.2%と血清ＣＫの異常率の低下を認めている (図２)。

### 2，血中 PCBs、PCQ 濃度と骨代謝マーカーの関係

2007 年、橈骨遠位端の DPX でみた骨密度を年齢との相関みてみると、女性において相関を認めた(相関係数 0.70 p<0.001) (図 3)。%YAM 値と年齢の相関も同様に、男性では相関はなく (相関係数 0.26)、女性では相関を認めた (相関係数 0.66 p<0.001)。骨密度と血清 NTX は男性、女性共に負の相関を示し (男性：相関係数 0.47 p<0.001、女性：相関係数 0.27 p<0.007)、骨密度が低いと血清 NTX は上昇していた (図 4)。骨密度と血清 BAP は、男性では負の相関を示し (相関係数：0.35 P=0.010) 骨密度が低いと血清 BAP は上昇していた。女性では、相関は認めなかった(図 5)。骨密度と血清 Ca の関係は明らかでなかった。骨密度と血清 P の関係は、男性では相関を示したが (相関係数：0.32　P=0.015)、女性では血清 P との関係はなかった(図 6)。血液 PCBs と骨密度の関係では、男性では負の相関を認めたが、(相関係数：0.33　P=0.019) 女性では、相関を認めなかった(図 7)。骨密度と血液 PCQ、PCDF では、全く相関関係はなかった。血液 PCB と血清 NTX の関係では、男性で正の相関を認めた (相関係数：0.69　P<0.001)。女性では相関はなかった(図 8)。血液 PCB と血清 BAP の関係では、男性,女性ともに相関を認めなかったが、閉経している 55 歳以上の女性で負の相関を認めた (相関係数：0.23　P=0.02) (図 9)。他、血液 PCB と Ca,P, 血液 PCQ と骨密度、NTX、BAP,Ca,P の関係、血液 PCDF と NTX、BAP,Ca,P の関係、血液 TEQ と骨密度、NTX、BAP,Ca,P の関係も検討したが、相関は全く認めなかった。対象となったカネミ油症検診者を男女に分けず、骨密度(BMD)を従属変数とし、血液 PCB、血液 PCQ、Ca、P、NTX、BAP を独立変数として重回帰分析をすると、年齢 (標準回帰係数：-0.46、p<0.0001)、血液 PCB (標準回帰係数：-0.307、p<0.0019)、血清 P (標準回帰係数：-0.164、p<0.0391)、血清 NTX 標準回帰係数：-0.287、p<0.005) の関与が考えられた(表１)。対象となったカネミ油症検診者を男女に分けて、同様に重回帰分析すると、男性では、年齢(標準回帰係数：-0.406、p<0.01)、血清 BAP(標準回帰係数:-0.257、p<0.0443) の関与が考えられた(表２)。女性では、年齢 (標準回帰係数：-0.744、p<0.0001)、血清 NTX(標準回帰係数：-0.312、p<0.0055) の関与が考えられた(表３)。

## D．考案

血清アルドラーゼ値の異常率は年々減少してきており、今年は全ての者が

正常範囲であった。また、血清ＣＫ値の異常率は、年次によるばらつきは大きいものの減少傾向が認められ、PCBの影響は弱くなってきている、もしくは、事件発症後42年を過ぎ当時未成年であった油症検診者の比率が増してきたなどが推察される。

カネミ油症検診者の骨密度には年齢、NTX、血中リンの他に、血中PCB濃度の関与が示唆された。男性は年齢の関与は明らかではなかったが、女性においては、従来報告されているように、骨密度の低下には年齢の関与が最も大きかった。

骨強度は,骨密度と骨質の2因子で成り立つとされる。骨密度(bone mineral density:BMD)は,単位面積または単位体積あたりのミネラル量で表現され,あらゆるヒトの現在のBMDはその個人のピーク骨量とそこからの減少速度で規定されている.一方,骨質とは,骨の微細構造,骨代謝回転,微小ダメージの蓄積,石灰化の程度およびコラーゲンなどの骨基質の特性により規定される。現時点では,骨質を数値的に比較的容易に示すことができるのは,生化学的骨代謝マーカーによる骨代謝回転の評価であり,これ以外での臨床的評価は煩雑さを伴うか十分なコンセンサスが得られていない。

骨の代謝とは基本的に古い骨が破壊され、新しい骨に入れ替わる新陳代謝で、骨の破壊を骨吸収、骨の新生を骨形成と言う。骨代謝マーカーとは骨吸収と骨形成の状態を血液や尿を用いて評価する指標の総称である。骨吸収マーカーは骨吸収を担う破骨細胞機能を、また、骨形成マーカーは骨形成を担う骨芽細胞機能をそれぞれ反映する。

今回、測定した骨代謝マーカーとして、骨吸収マーカーは骨基質の主成分であるＩ型コラーゲンの分解産物であるＩ型コラーゲン架橋N-テロペプチド（NTX）を血清で測定した。NTXは生理的に日内変動があり、午前中に高値を呈しやすい。男女ともに骨密度が低い群は、血清NTXは高値をしめし、報告されているように骨代謝が亢進している群では骨密度も低下し、骨折の危険が増す。

アルカリホスファターゼ(alkaline phosphatase:ALP)は細胞膜に存在する糖蛋白質で,アルカリ性の条件下(pH 9～11)でリン酸エステルを無機リンおよびアルコールに分解する酵素である.この酵素は形成する遺伝子によって,4型(小腸型,胎盤型,胎盤様型,臓器非特異型)に分類することができる.このうち,臓器非特異型は肝臓,腎臓,骨組織で多く産生され,それぞれの臓器特異的に糖鎖付の修飾を受けることから,アイソザイムとして電気泳動などで分離可能である.骨組織に特異的に存在するALPは,BAPとよばれる。BAPは細胞膜に存在し，ホスファチジルイノシトール(phosphatidylinositol:PI)介をして膜に結合している。骨形成マーカーとして、本研究で測定した骨型アルカリフォスファターゼは、骨芽細胞の機能を反映し、日内変動もなく血清中で比較的安定な値を呈する。PCBは骨芽細胞分化を抑制することが、知られている。血液PCB濃度と血清BAPの相関は、男女とも認められなかったが、閉経期以後の女性でみると相関係数（0.23）は低いが、PCBが高いとBAPは低値となり、PCBが骨芽細胞に作用する報告を支持する。

今回の骨密度、骨代謝マーカーの検討で、男性と女性で骨密度の低下の機序が異なる可能性が考えられる。男性では、骨密度が低いと血清NTXが上昇、血清BAPが上昇し、骨代謝の亢進がおこり、血清Pも上昇する。そして、PCBが高値だと骨密度は低下し、血清NTXは上昇する。男性検診者から見る限り、PCBは骨強度に影響を及ぼしうる。

エストロゲンはカルシウム調節ホルモンを介して間接的に骨に作用するだけでなく、骨に直接的あるいは骨局所

因子を介して作用すると考えられている。また、プロゲステロンは骨芽細胞にその受容体が存在し、糖質コルチコイドによる骨吸収作用を抑制すると報告されていて、女性の場合、骨密度、骨代謝に及ぼす因子が、PCBの影響より、より強い可能性がある。

血清Pは副甲状腺ホルモン、カルシトニン　VitDにより、コントロールされている。副甲状腺ホルモンは、ビタミンDの存在下でCaとリン酸塩の吸収を促進し、Caイオンが腎臓から排泄するのを防ぐ。カルシトニンは血中CaとPの低下作用があり、破骨細胞および骨細胞に直接作用し、カルシウムの骨からの放出（骨吸収）を抑制する。骨芽細胞にも作用して骨形成を促進する。また、尿細管に作用してリン酸塩の再吸収を抑制する。また、fibroblast groth factor 23は、骨から分泌され、低下すると高P血症や異所性石灰化を来す。男性において、骨密度低下群で血清Pの上昇が観察されたが、この血清Pの上昇の機序は不明である。

## E．結論

カネミ油症検診者において、骨密度の低下、骨代謝の変化が観察された。その影響は、性差によるものより、少ないと推測されるが、今後、注意が必要である。

文献


1)Chaki O , Yoshikata I, Kikuchi R ,et al ：The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in postmenopausal Japanese women.　J Bone Miner Res 15 I 1398-1404,2000

2) Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, Riggs BL：Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. Science, 241 :84 - 86, 1988

3) Komm BS, Terpening CM, Benz DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O'Malley BW, Haussler MR.:Estrogen binding,receptor mRNA,and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. Science, 241:81 -84, 1988

4) Oursler MJ, Osdoby P, Pyfferoen J, Riggs BL, Spelsberg TC：Avian osteoclasts as estrogen target cells. Proc. Natl. Acad.Sci. USA, 88:6613-6617, 1991

5) Shimada T,Kakitani M,Yamazaki Y　et al:Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. J ClinInvest 113:561-568,2004

6）田中郁子、大島久二：骨粗鬆症診療における骨代謝マーカー測定の意義　1―ステロイド性骨粗鬆症への骨代謝マーカーの利用。Osteoporosis Jpn14(2):p51-54,2006

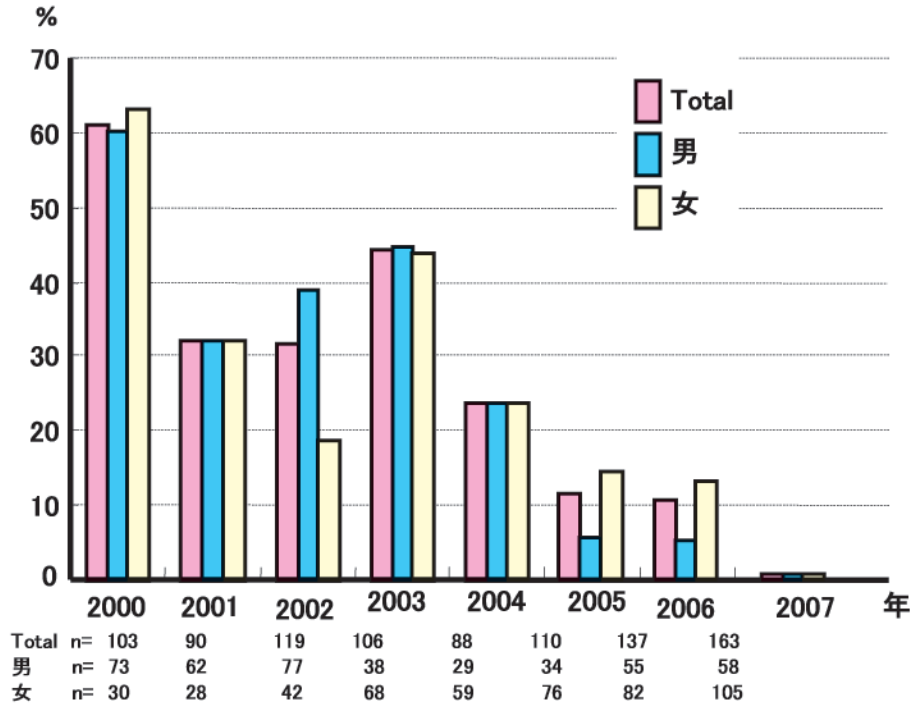
7）吉村俊朗，沖田実，東登志夫，上山裕文，伊藤　聖：カネミ油症検診者におけるクレアチンキナーゼ上昇の意義、福岡医誌 88: 216-219, 1997.

8）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.

9) 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.

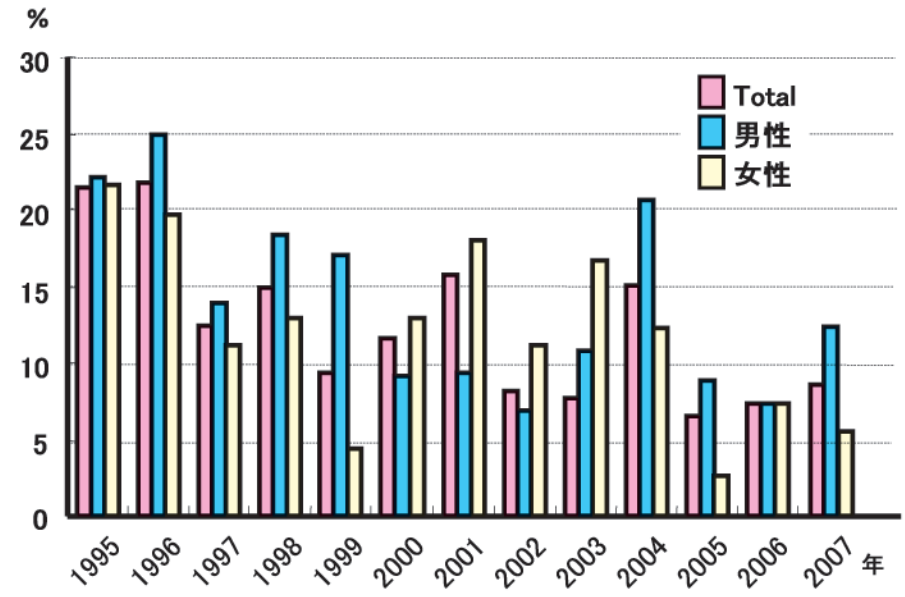
10) 吉村俊朗，沖田実，中野治郎、白石裕一、岩永洋、友利幸之介、岡本眞須美：カネミ油症検診者に見られる血清クレアチンキナーゼとアルドラーゼの異常，福岡医誌 94:97-102，2003.

11) 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.




| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Total n= | 103 | 90 | 119 | 106 | 88 | 110 | 137 | 163 |
| 男 n= | 73 | 62 | 77 | 38 | 29 | 34 | 55 | 58 |
| 女 n= | 30 | 28 | 42 | 68 | 59 | 76 | 82 | 105 |

**図1血清ALD異常率の年次推移**




| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Total n= | 84 | 101 | 97 | 107 | 107 | 103 | 89 | 122 | 104 | 86 | 110 | 137 | 163 |
| 男性 n= | 27 | 40 | 43 | 38 | 41 | 33 | 28 | 44 | 37 | 29 | 34 | 55 | 58 |
| 女性 n= | 57 | 61 | 54 | 69 | 66 | 70 | 61 | 78 | 67 | 57 | 76 | 82 | 105 |

**図2　CK異常率の年次推移**

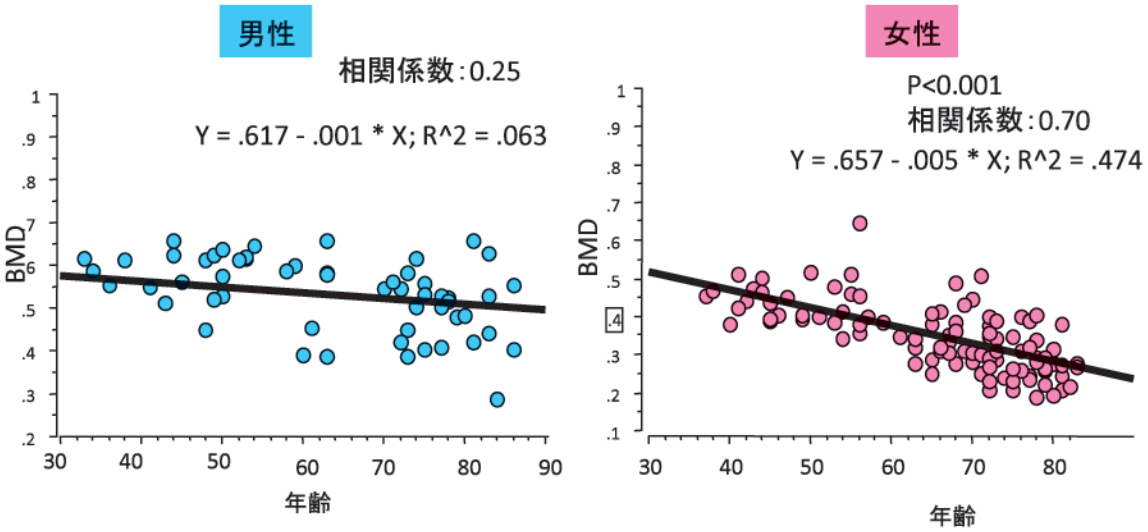



図3　年齢と骨密度

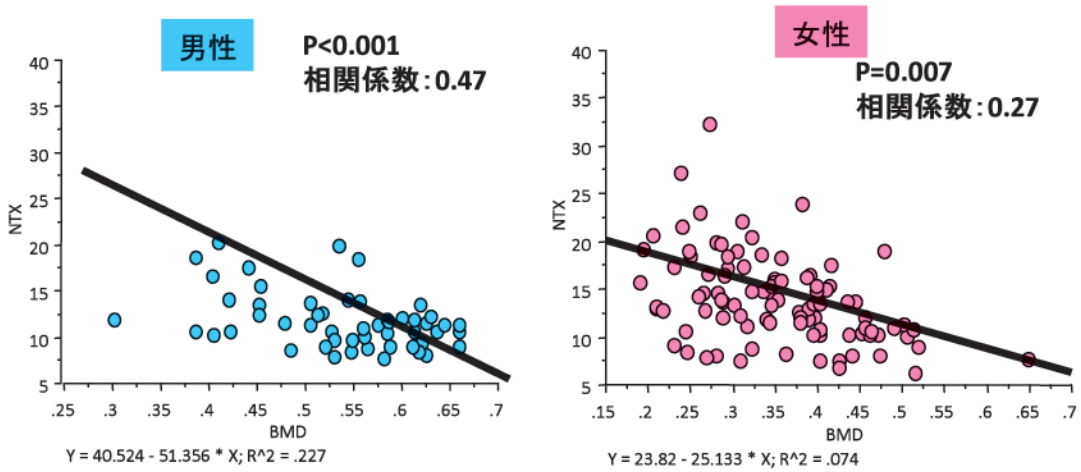



図4　骨密度と血清NTX

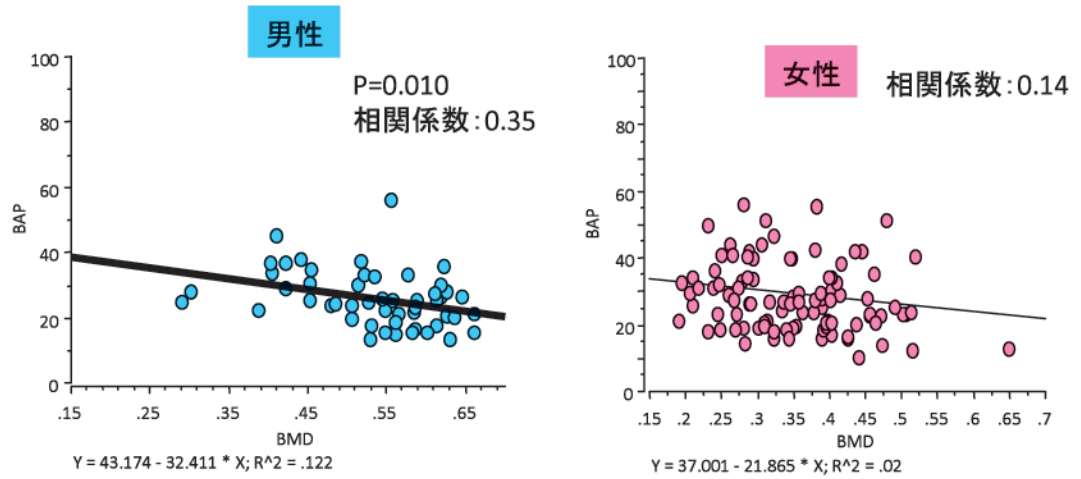



**図5　骨密度と血清BAPの関係**

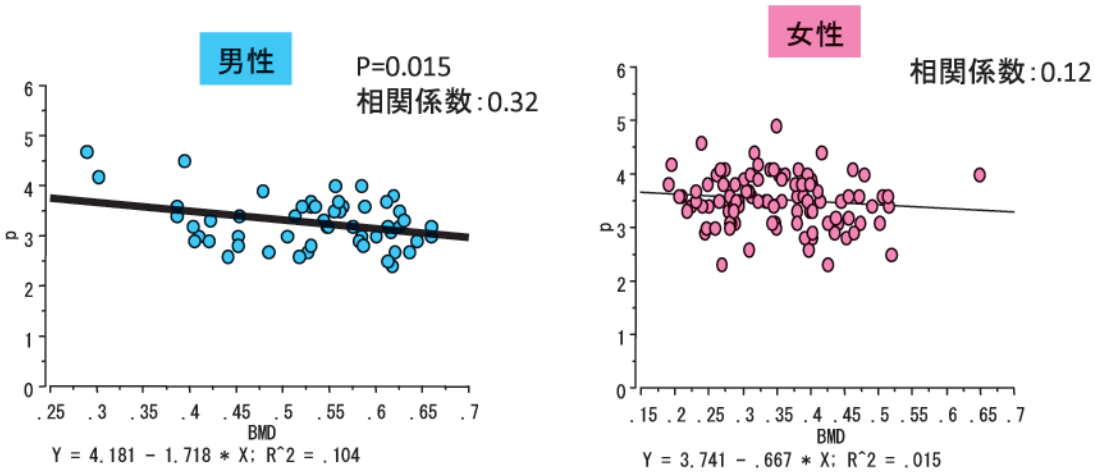



**図6骨密度と血清Pとの関係**

男性　P=0.019
相関係数:0.33

女性　相関係数:0.19

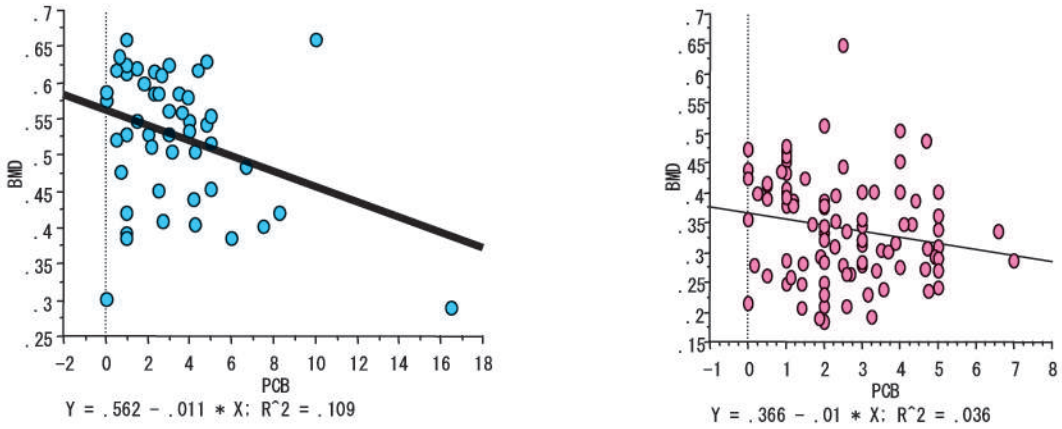



**図7 血液PCBと骨密度**

男性　P<0.001
相関係数:0.69

女性　相関係数:0.01

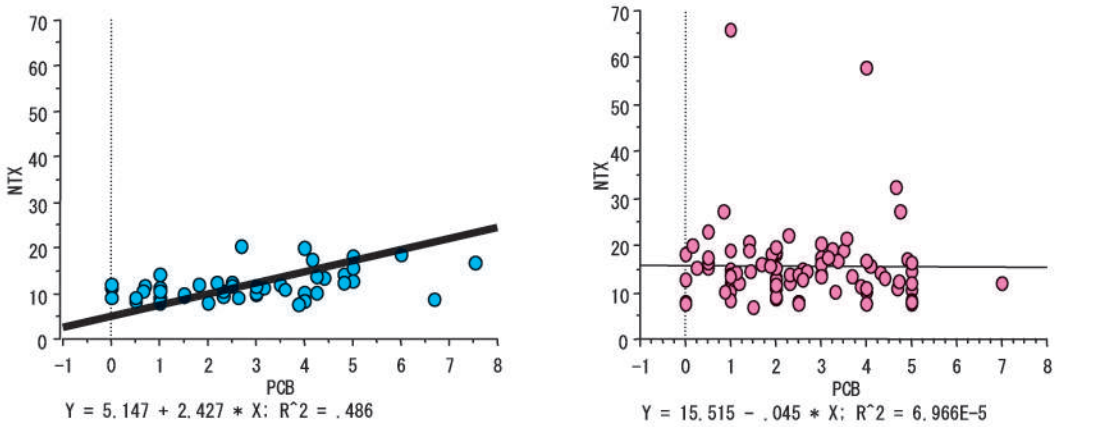



**図8 血液PCBと血清NTX**

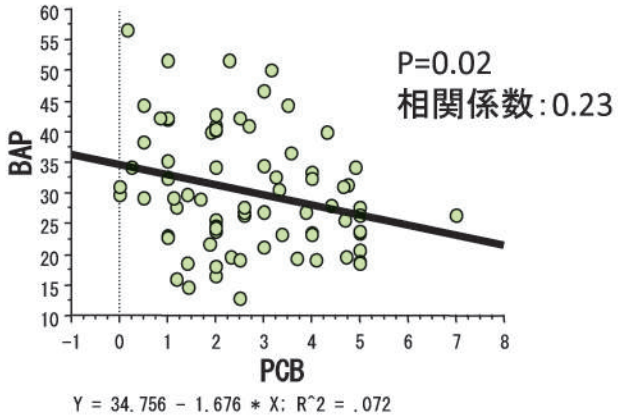



**図9 閉経後女性のPCB と BAP**

**回帰分析概要**
**BMD 対 7 独立変数**

| | |
|---|---|
| 例数 | 134 |
| 欠測値数 | 78 |
| 相関係数（\|R\|） | .560 |
| R 2乗 | .314 |
| 自由度調整 R2乗 | .276 |
| RMS 残差 | .108 |

**分散分析表**
**BMD 対 7 独立変数**

| | 自由度 | 平方和 | 平均平方 | F値 | p値 |
|---|---|---|---|---|---|
| 回帰分析 | 7 | .676 | .097 | 8.230 | <.0001 |
| 残差 | 126 | 1.479 | .012 | | |
| 合計 | 133 | 2.155 | | | |

**回帰係数**
**BMD 対 7 独立変数**

| | 回帰係数 | 標準誤差 | 標準回帰係数 | t値 | p値 |
|---|---|---|---|---|---|
| 切片 | .862 | .080 | .862 | 10.722 | <.0001 |
| 年齢 | -.004 | .001 | -.460 | -5.299 | <.0001 |
| PCB | .018 | .006 | .307 | 3.166 | .0019 |
| PCQ | -.004 | .008 | -.037 | -.479 | .6330 |
| Ca | -.001 | .001 | -.090 | -1.218 | .2257 |
| p | -.044 | .021 | -.164 | -2.085 | .0391 |
| BCE | -.004 | .001 | -.287 | -2.856 | .0050 |
| BAP | -1.922E-4 | .001 | -.019 | -.206 | .8375 |

**表1 男女混合の重回帰分析結果**

回帰分析概要
BMD 対 7 独立変数
分割変数：性別
群：M

| | |
|---|---|
| 例数 | 46 |
| 欠測値数 | 35 |
| 相関係数（\|R\|） | .706 |
| R 2乗 | .498 |
| 自由度調整 R2乗 | .406 |
| RMS 残差 | .068 |

分散分析表
BMD 対 7 独立変数
分割変数：性別
群：M

| | 自由度 | 平方和 | 平均平方 | F値 | p値 |
|---|---|---|---|---|---|
| 回帰分析 | 7 | .173 | .025 | 5.395 | .0002 |
| 残差 | 38 | .174 | .005 | | |
| 合計 | 45 | .347 | | | |

回帰係数
BMD 対 7 独立変数
分割変数：性別
群：M

| | 回帰係数 | 標準誤差 | 標準回帰係数 | t値 | p値 |
|---|---|---|---|---|---|
| 切片 | 1.083 | .327 | 1.083 | 3.309 | .0021 |
| 年齢 | −.002 | .001 | −.406 | −2.711 | .0100 |
| PCB | .002 | .006 | .054 | .275 | .7848 |
| PCQ | −.004 | .005 | −.088 | −.710 | .4822 |
| p | −.011 | .029 | −.054 | −.381 | .7055 |
| Ca | −.028 | .033 | −.119 | −.843 | .4042 |
| BAP | −.002 | .001 | −.257 | −2.080 | .0443 |
| BCE | −.003 | .002 | −.354 | −1.727 | .0922 |

## 表2 男性の重回帰分析結果

回帰分析概要
BMD 対 7 独立変数
分割変数：性別
群：F

| | |
|---|---|
| 例数 | 87 |
| 欠測値数 | 43 |
| 相関係数（\|R\|） | .709 |
| R 2乗 | .503 |
| 自由度調整 R2乗 | .459 |
| RMS 残差 | .064 |

分散分析表
BMD 対 7 独立変数
分割変数：性別
群：F

| | 自由度 | 平方和 | 平均平方 | F値 | p値 |
|---|---|---|---|---|---|
| 回帰分析 | 7 | .327 | .047 | 11.415 | <.0001 |
| 残差 | 79 | .323 | .004 | | |
| 合計 | 86 | .650 | | | |

回帰係数
BMD 対 7 独立変数
分割変数：性別
群：F

| | 回帰係数 | 標準誤差 | 標準回帰係数 | t値 | p値 |
|---|---|---|---|---|---|
| 切片 | .609 | .060 | .609 | 10.197 | <.0001 |
| 年齢 | −.005 | .001 | −.744 | −7.907 | <.0001 |
| PCB | .009 | .005 | .167 | 1.729 | .0877 |
| PCQ | −.004 | .014 | −.024 | −.291 | .7715 |
| p | .028 | .016 | .152 | 1.814 | .0736 |
| Ca | −.001 | .001 | −.071 | −.881 | .3810 |
| BAP | .001 | .001 | .106 | .951 | .3447 |
| BCE | −.003 | .001 | −.312 | −2.856 | .0055 |

## 表3 女性の重回帰分析結果

分担研究報告書

# 油症患者における末梢血リンパ球亜集団の検討

研究分担者　辻　博　　北九州津屋崎病院内科

**研究要旨**　2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 156 例について末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran（PeCDF）濃度および血中 PCB 濃度との関連について検討した。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間には相関を認めず、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度油症患者と高濃度油症患者の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞に差をみなかった。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかったが、血中 PCB 低濃度油症患者に比べ血中 PCB 高濃度油症患者において helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の上昇を認めた。

## A．研究目的

本邦において 1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル（PCB）混入ライスオイル摂取により北部九州を中心に発生した油症では、原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)の毒性影響が大きいと考えられる [1]。PCDF は、狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(PCDD)およびコプラナーPCB 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 40 年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に血中 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 年度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、2007 年度福岡県油症一斉検診において、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran(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、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、油症における免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現に PCDF が関与している可能性が考えられ、液性免疫に対する PCDF の慢性的影響が示唆された。

今回我々は、2008 年度福岡県油症一斉検診において末梢血リンパ球亜集団

を測定し、油症原因物質であるPCDFの細胞性免疫に対する慢性的影響について検討した。

## B．方法

2008年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者157例中、末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた156例を対象者とした。

リンパ球亜集団の測定は抗ヒトマウスモノクローナル抗体を用いフローサイトメトリー法により、helper/inducer T細胞を示すCD4陽性細胞、suppressor/ cytotoxic T細胞を示すCD8陽性細胞およびB細胞を示すCD20陽性細胞をT4- FIT、T8-RDIおよびCD20- FITC(ベックマンコールター(株))を用いてFACS Calibur フローサイトメーター(日本ベクトン・ディッキンソン(株))にて測定した．リンパ球亜集団は、総リンパ球に対する比率で表した。

血中PCB濃度は2008年度福岡県油症一斉検診において測定した156例の測定値を用い、血中2,3,4,7,8-pentachloro- dibenzofuran（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2001年度2例、2002年度1例、2003年度3例、2004年度5例、2005年度9例、2006年度89例、2007年度26例の計135例の測定値を用い、リンパ球亜集団との関連について検討した。

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

## C．結果

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診し、末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた油症患者156例の内訳は女性81例、男性75例で、平均年齢は 63.4±13.5（36－91）歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関(r=0.4831, 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=0.4074, P＜0.001）を認めた。

油症患者 156 例について血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球亜集団の相関について検討した。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞（r=0.1043)、CD8 陽性細胞(r=0.0141）および CD20 陽性細胞（r=－01114）の間に相関をみなかった。血中 PCB 濃度 2.0 ppb 未満の 106 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 以上の 50 例を血中 PCB 高濃度群として､両群間の CD4 陽性細胞、CD8陽性細胞およびCD20陽性細胞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 1.02±0.47 ppb、血中 PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 3.05±1.21ppb であった。CD4 陽性細胞は血中 PCB 低濃度群 43.5±8.6%に対し血中 PCB 高濃度群 46.5±8.4％と有意の上昇を認めた（P＜0.05)。CD8 陽性細胞は血中 PCB 低濃度群 29.9±8.1%に対し血中 PCB 高濃度群 28.9±8.5%、CD20 陽性細胞は血中 PCB 低濃度群 10.8±4.5%に対し血中 PCB 高濃度群 9.6±3.8%と差をみなかった。

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診し、末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた油症患者 156 例中、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が測定された 135 例について血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球亜集団の相関について検討した。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞

（r=0.0233）、CD8 陽性細胞（r=－0.0319）および CD20 陽性細胞(r=0.0226)の間に相関をみなかった。そして、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 未満の 58 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 77 例を高濃度群として両群間の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞について検討を行なった。血中 2,3,4,7,8- PeCDF 低濃度群の平均血中 2,3,4,7,8- PeCDF 濃度は 15.4±6.7 pg/g lipids、高濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 256.1±230.9 pg/g lipids であった。CD4 陽性細胞は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群 44.8±7.6%に対し高濃度群 44.5±9.0%、CD8 陽性細胞は低濃度群 30.0±7.0%に対し高濃度群 29.1±9.1%、CD20 陽性細胞は低濃度群 10.1±4.0%に対し高濃度群 10.3±4.6%であり、両群間に差をみなかった。

## 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]。また、末梢血リンパ球亜集団の検討において血中 PCB 濃度が高値の油症患者では低値の患者に比べ helper/ inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加が認められ、油症患者に高頻度にみられる免疫グロブリン上昇や自己抗体出現の原因となっている可能性が示唆された。

今回の検討では、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間には相関を認めず、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度油症患者と高濃度油症患者の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかった。しかし、血中 PCB 低濃度油症患者に比べ血中 PCB 高濃度油症患者において helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の上昇を認め、1997 年度と同様の結果であった。PCB 高濃度油症患者における helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の上昇が、油症発生以来 40 年経過した現在においても継続しているものと思われる。今後は油症患者の細胞性免疫機能検査としてフィトヘムアグルチニン(PHA)およびコンカナバリン A(Con-A)などのマイトジェン刺激によるリンパ球幼若化反応を測定し油症原因物質である PCDF の慢性的影響について検討する必要があると考えられる。

## 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. 福岡医学雑誌 90 : 147-149, 1999.

分担研究報告書

# 油症認定患者における抗酸化酵素 peroxiredoxin I (Prx I) に対する自己抗体の検討


| | | |
|---|---|---|
| 研究分担者 | 佐藤伸一 | 長崎大学医学部皮膚科　教授 |
| 研究協力者 | 穐山雄一郎 | 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教 |
| | 清水和宏 | 長崎大学医学部皮膚科　准教授 |



**研究要旨**　PCB の代謝過程で superoxide が発生することが報告され、実際に高 PCB 血症である油症認定患者において酸化ストレスが亢進していることも報告されている。しかし油症認定患者における酸化ストレスの原因解明には至っていない。今回我々は、抗酸化酵素である Prx I に対する自己抗体が油症認定患者に発現していないか油症認定患者と健常人の血清を用い検討を行った。油症認定患者 56 名、健常人 36 名において抗 Prx I 抗体価はそれぞれ 0.592±0.160、0.601±0.152 であり有意差を認めなかった。


## A.　研究目的

1968 年カネミ油症事件発生後 40 年以上経過し、初期に認められた激しい症状は消退傾向にあるが、今でもざ瘡様の皮膚症状、咳や痰などの呼吸器症状、しびれや頭重などの神経症状、全身倦怠感などの全身症状など多彩な症状で悩まされている。油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB), Polychlorinated quarterphenyls (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る。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 [1], 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。実際我々は油症患者尿中に脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane が有意に高い事を報告している [2]。また酸化ストレスに対する防御能を知る目安となる Total Antioxidant Power 値は油症患者において有意な上昇を認めており [3]、油症は慢性酸化ストレス状態であると考えられる。また一方、酸化ストレスの関与が考えられている全身性強皮症においても 8-Isoprostane の有意な上昇が認められている [4]。全身性強皮症はそれ自体酸化ストレス状態であるが、酸化ストレスにより様々な組織障害が引き起こされ、自己抗体を産生する可能性がある。実際に、全身性強皮症において、抗酸化酵素である peroxiredoxin I (Prx I)に対する自己抗体の存在が認められ、酸化ストレスが増悪する一因と考えられている [5]。そこで今回我々は、油症患者における酸化ストレスの原因を解明すべく、油症認定患者における Prx I に対する自己抗体の検討を行った。

## B.　研究方法

①対象：2008 年 7 月に施行された長崎県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 56 名及び年齢をあ

わせた健常人 36 名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し抗 Prx I 抗体測定用サンプルとした。

②抗 Prx I 抗体価の測定；ヒト Prx I（Sigma-Aldrich 社製）にてプレートをコートし、２次抗体としてアルカリフォスファターゼ標識ヤギ抗マウスIgG抗体（Chemicon 社製）を用いて enzyme-linked immunosorbent assay にて測定した。

③統計的処理：測定した抗 Prx I 抗体値を Mann-Whitney's U test にて検討した。

## C. 研究結果

玉之浦より油症患者 56 名，健常人 36 名の平均年齢は各々 70.7±10.4 及び 66.4±12.6 歳で有意差を認めなかった。抗 Prx I 抗体価は ELISA による相対値で各々0.592±0.160 及び 0.601±0.152 で油症認定患者と健常コントロール間に有意差は認められなかった。（図）

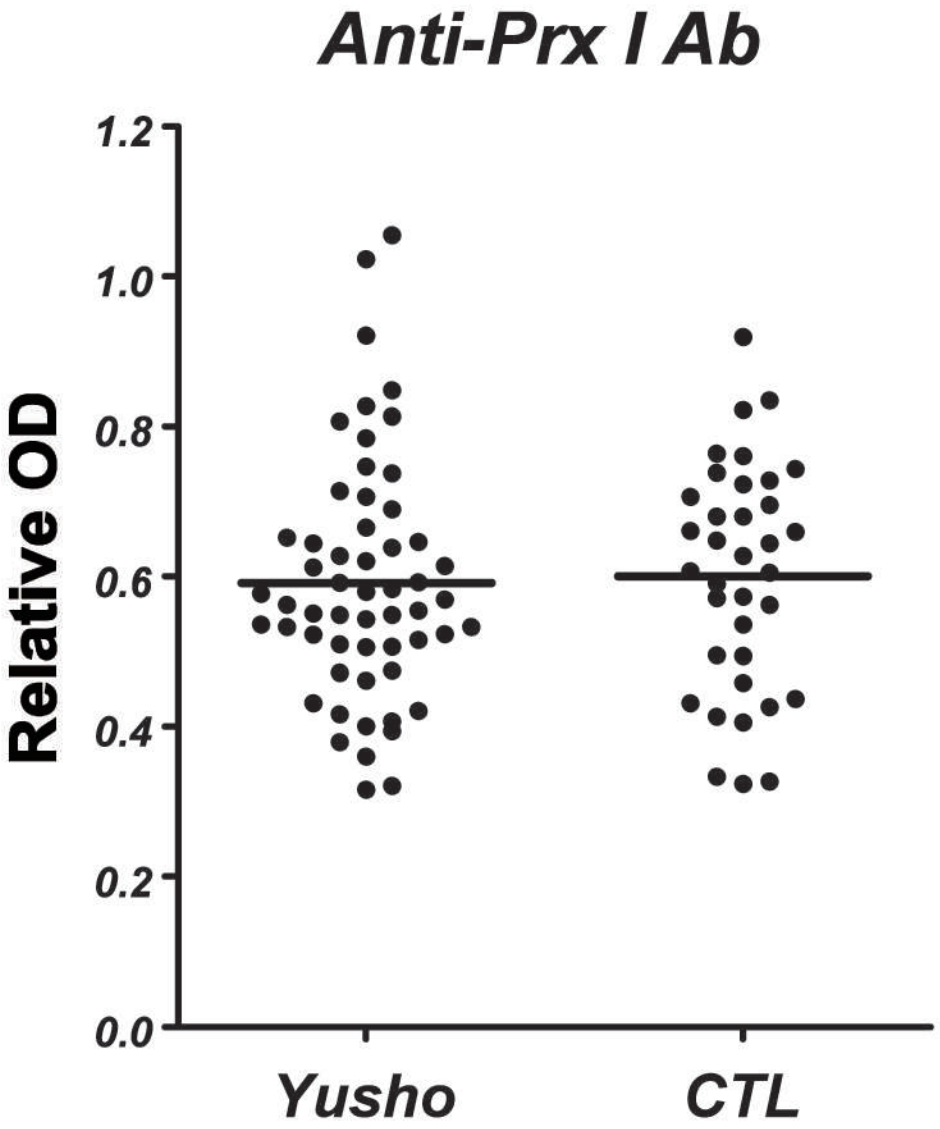
## D. 考察

Prx I は近年発見された抗酸化酵素で、他に 5 個の subtype が確認されている [6]。ペルオキシダーゼ活性を有し、酸化ストレスの過程で生じる有害な過酸化水素（$H_2O_2$）を還元して、$H_2O$ を生ずる反応を触媒する。Prx I は様々な臓器で同定され、細胞内に多く含まれることが明らかにされたことことから、生体にとって重要な役割を担っているのではないかと注目を集めている [7]。つまり、Prx I は生体に生じた有害な酸化ストレスを軽減させることによって、酸化ストレスによる組織障害を防御する役割を担っていると考えられている。以前我々は玉之浦地区油症患者において脂質酸化のマーカーである 8-Isoprostane 値の有意な上昇を尿で確認し、油症が酸化ストレス状態である事を報告した [2]。酸化ストレスは自己抗原を切断し、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ことによって、自己免疫反応を誘導することが知られている。酸化ストレス状態である全身性強皮症において Prx I に対する自己抗体が検出され、酸化ストレス増悪の一因と考えられている [5]。そこで今回我々は、油症患者における Prx I に対する自己抗体の検討を行ったが、健常人と比較し有意差は認められなかった。油症患者において脂質酸化のマーカーである尿中 8-Isoprostane 値の有意な上昇を確認し [2]、また油症認定患者血清中の Total Antioxidant Power が健常人より有意に高いことが確認されている [3]。今回の検討において油症認定患者における抗 Prx I 抗体は認められず、抗 Prx I 抗体を酸化ストレス増悪の原因の１つとするには至らなかった。superoxide に対する生体の抗酸化酵素として他にもスーパーオキサイドディスムターゼ、カタラーゼなどが存在する。油症は慢性酸化ストレス状態であることが分かっているため、今後も他の抗酸化システムに関して検討を行い、酸化ストレスの原因解明に努め、更なる検討が油症患者の QOL 向上、治療法の開発に繋がる様に役立てていきたい。

## 参考文献

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: 1285-92, 1996.
2) Shimizu K, et al.: Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning with polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. J Appl Toxicol 27: 195-7, 2007.
3) Shimizu K, et al.: [Estimation of total antioxidant power in the serum of Yusho victims]. Fukuoka Igaku Zasshi 98: 141-2, 2007.
4) Ogawa F, et al.: Serum levels of 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, are elevated in patients with systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford) 45: 815-8, 2006.
5) Iwata Y, et al.: Autoantibody against peroxiredoxin I, an antioxidant enzyme, in patients with systemic sclerosis: possible association with oxidative stress. Rheumatology (Oxford) 46: 790-5, 2007.
6) Rhee SG, et al.: Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. Free Radic Biol Med 38: 1543-52, 2005.
7) Wood ZA, et al.: Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. Trends Biochem Sci 28: 32-40, 2003.




（図）

分担研究報告書

# 油症患者血中カルボニル化蛋白の検討


| | | |
|---|---|---|
| 研究分担者 | 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 |
| | 穐山雄一郎 | 九州大学病院油症ダイオキシン診療研究センター　助教 |



**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、酸化ストレスの亢進により蛋白は種々の酸化修飾をうける。その中でも蛋白質のカルボニル化修飾は酸化損傷生成物の一つであり油症認定患者と正常健常人の血清を用いて血中カルボニル化蛋白を測定した。油症認定患者 55 名、健常人 22 名においてカルボニル化蛋白値はそれぞれ 1.087±0.015 nmol/mg、0.845±0.091 nmol/mg 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 40 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)以外に Polychlorinated dibenzofurans (PCDF)を含む dioxin 類の混在している事がわかっていた。以前は測定できなかった血中 dioxin 類の微量濃度が近年測定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]酸化ストレスの亢進により蛋白は種々の酸化修飾をうける。その中で、蛋白質のカルボニル化修飾は酸化損傷生成物の一つであり種々の疾患でその上昇が報告されている。今回酸化ストレスにさらされている油症患者においてカルボニル化蛋白の値を測定し、正常対照と比較する事により油症患者の酸化ストレスの状況を評価検討した。

## B.　研究方法

①対象 : 2008 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 55 名を対象とし、検診時に採血を行い、血清を分離後凍結保存しカルボニル化蛋白測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人 22 名を対照とした。

②血中カルボニル化蛋白値測定：血中カルボニル化蛋白値はカルボニル化蛋白測定キット(日研ザイル(株)日本老化研究所)を用いて測定した。　③統計的処理：測定したカルボニル化蛋白値は Mann-Whitney's U test にて比較検討した。

## C．　研究結果

玉之浦の油症患者 55 名、健常人 22 名の平均年齢は各々73.2±1.0 及び 72.8±1.3 才で有意差を認めなかった。血中カル

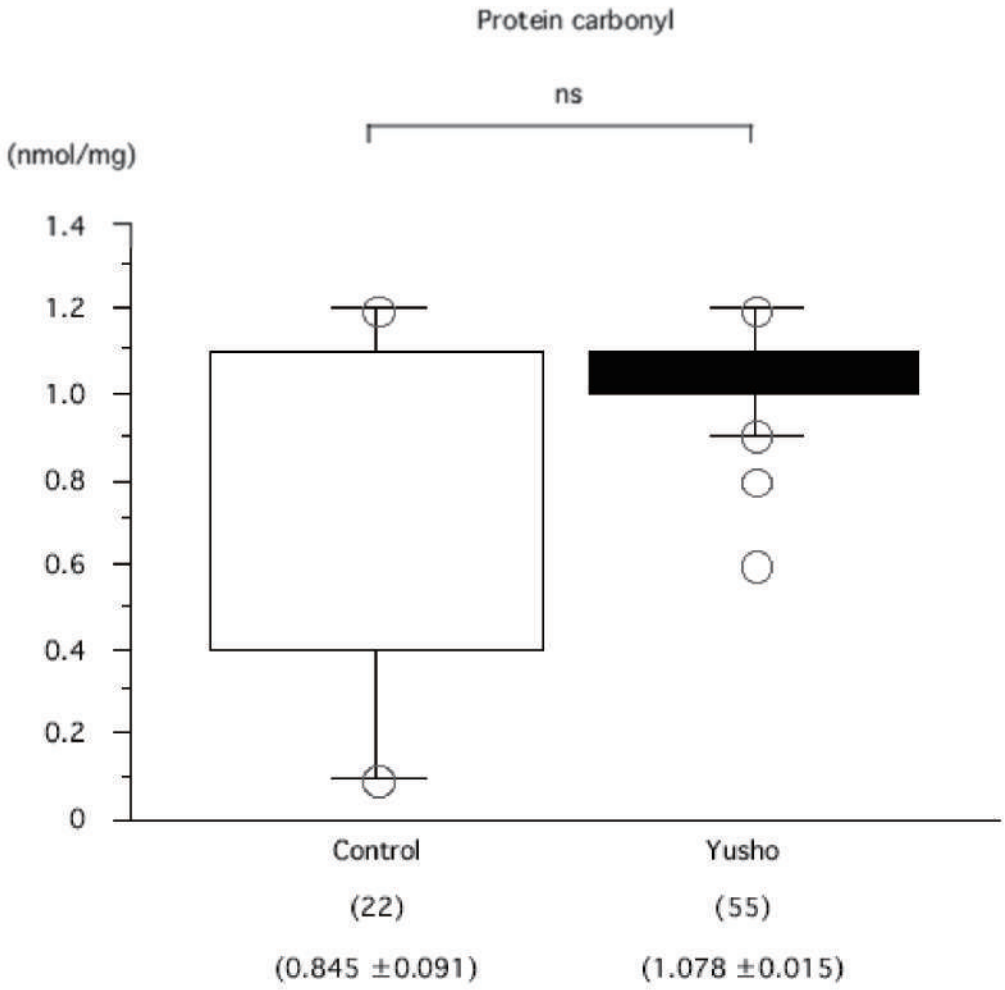
ボニル化蛋白値は各々1.087±0.015 nmol/mg及び0.845±0.091 nmol/mgで、有意差を認めなかった。(図)

## D. 考察

蛋白のカルボニル化は酸化ストレスによる酸化修飾生成物の一つであり、種々の酸化ストレスにおいてその高値が報告されている。[4]近年 Winterboum ら[5]によって簡便な測定法が開発されますます病態におけるその変動が検討されやすくなってきている。一方我々は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]更に一昨年は初期の酸化をとらえるマーカーとされる Hexanoyl-Lysine の油症患者血中における高値を確認している。即ち油症患者は40年の長きにわたり酸化ストレスにさらされてきた事になる。今回の解析では油症患者において平均値は年齢をあわせた正常対照より高値ではあるが有意差を認めなかった。油症が慢性の酸化ストレス状態であるのは間違いなく、酸化修飾も蛋白質のカルボニル化以外に蛋白質のフラグメント化、アミン酸化などありまだまだ検討の余地がある。今後酸化ストレスの影響を細かに検討していく事により油症患者の QOL 改善に役立てれば幸いである。

## 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) Firuzi O. et al, Oxidative stress parameters in different systemic rheumatic diseases. J Pharmacy Pharmacol 58: 951-957, 2006
5) Buss H. et al, Protein carbonyl measurement by a sensitive ELISA method. Free Radic Biol Med 23(3): 361-366, 1997


Protein carbonyl
ns
(nmol/mg)
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Control
(22)
(0.845 ±0.091)
Yusho
(55)
(1.078 ±0.015)

(図.)

分担研究報告書

# 油症患者にみられる末梢神経障害の評価

研究分担者　越智　博文　　九州大学病院神経内科　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：油症患者における末梢神経障害の特徴を明らかにし、その程度と質を評価する新たな主観的評価法と客観的検査法を模索し、その有用性を検討する。方法：これまでに油症患者で報告されてきた末梢神経障害について（1968年、1980年、2002年調査）、経時的に自覚的感覚異常と他覚的異常という観点から再検討し、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴を考察した。また患者の訴える感覚異常を、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴を考慮した上で主観的に評価する方法とともに、客観的に評価する方法を検索した。結果：1968年調査では、自覚的感覚異常が39.1%に存在し、その頻度は調査を重ねるごとに46.2%、59.4%と増加した。一方、再現性の高い他覚的検査であるアキレス腱反射検査で異常を認めた割合は、34.8%から34.6%、17.4%と経時的に減少した。油症患者では、客観的評価の難しい小径神経線維の障害が主体であると推察され、その障害は改善することなく持続している可能性がある。1968年調査で自覚的感覚異常を認めた患者の89%に他覚的異常神経症候（感覚異常、アキレス腱反射低下）あるいは末梢神経伝導速度の遅延を認めた。また、自覚症状のない43%の患者にも他覚的異常神経症候あるいは末梢神経伝導速度の遅延を認めた。他覚的異常神経症候が出現した後に、自覚症状が顕在化する一群が存在する可能性があり、自覚的感覚障害の性状を経時的に観察できる指標の確立が必要である。結論：油症患者では、客観的評価の難しい小径神経線維が障害されている可能性があり、小径神経線維の知覚機能を反映する電流知覚閾値測定による評価が有用である可能性がある。一方、自覚症状のない他覚的異常のみを呈する患者も存在することから、自覚症状について「視覚的アナログスケール」や「数値的評価スケール」を用いた経時的観察が重要であると考えられる。

## A．研究目的

1968年、PCB混入によるカネミ油症が出現した当初から、我々はカネミ油症患者（認定・非認定患者とも）に対して神経学的診察を、検診あるいは神経内科外来にておこなってきた[1), 2), 3), 4)]。自覚的神経症状としては、頭重感を主とする頭痛や四肢末端、特に下肢末端のジンジン感や不快感が多く、客観的な異常神経症候としては四肢遠位部感覚鈍麻やアキレス腱反射の低下が認められる。また、末梢神経伝導検査にて伝導遅延が認められる症例がある[1)]。

油症検診では、自覚的神経症状の問診のほか、アキレス腱反射検査に加え、他覚的感覚検査を毎年行っている。そこで、これまでに油症患者で報告されてきた末梢神経障害について、経時的（1968年、1980年、2002年調査）に自覚的感覚異常と他覚的異常という観点から再検討し、自覚的感覚異常と他覚的異常との関連について検討することで、油症患者における末梢神経障害の特徴を明らかにすることを第一の目的とした。また、油症患者にみられる末梢神経障害の程度と質を評価する、新たな主観的評価法と客観的検査法を模索し、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法の確立を目的とした。

## B．研究方法

これまでに報告された油症検診結果から、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴を考察した。対象とした検診結果は、自覚的神経症状に関する問診のほか、他覚的感覚検査やアキレス腱反射検査を行っている 1968 年、1980 年、2002 年の油症検診結果とし、自覚的感覚異常と他覚的異常神経症候（感覚異常、アキレス腱反射低下）の関連とともに、それらの経時変化について検討･考察した。また、1968 年の調査においては末梢神経伝導検査が実施されており、伝導異常と自覚的感覚異常との関連を検討・考察した。なお、解析対象者は、1968 年は油症と診断された者、1980 年・2002 年は油症と認定された者である。

（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．自覚的異常感覚と他覚的異常神経症候の経時変化

自覚的感覚異常の頻度は、1968 年調査時には 39.1%であったが、その後、46.2%、59.4%と経時的に増加していた。一方、他覚的異常神経症候である他覚的感覚異常は、1968 年調査時には 21.7%であったものが、その後、7.7%、16.7%と減少していた。アキレス腱反射の低下を認める者の割合も、当初の 34.8%から 34.6%、17.4%と経時的に減少していた[4]。

他覚的感覚検査は爪楊枝やティッシュペーパーなどを用いて触覚や痛覚、温度覚を評価する方法で、検者によって評価にばらつきがある可能性がある。しかし、アキレス腱反射検査は客観性の高い検査法であるため、アキレス腱反射低下の経時的な減少は、腱反射を構成する Ia、Ib、α運動神経の経時的改善を示唆している可能性がある。一方、自覚的感覚異常は経時的に増加しており、腱反射を構成する神経よりも小径の神経線維の障害が改善することなく持続している可能性が考えられる。油症患者の末梢神経障害を客観的に評価するためには、大径神経線維の機能をより反映する従来の末梢神経伝導検査に加え、最近開発された、小径神経線維の知覚機能を反映する電流知覚閾値測定による評価が有用である可能性がある。

### ２．1968 年調査における自覚的感覚障害と他覚的異常神経症候との関連

1968 年の 23 名の油症認定患者においては、自覚的感覚異常のある者 9 名のうち 8 名（89%）に他覚的異常神経症候あるいは末梢神経伝導速度異常が存在し、自覚感覚異常がない 14 名のうち 6 名（43%）に他覚的異常神経症候あるいは末梢神経伝導速度異常が存在していた[4]。

検査時に他覚的異常神経症候が認められるにもかかわらず、自覚症状のない一群が存在する。この群では、後に自覚症状が顕在化する可能性があり、油症患者にみられる末梢神経障害の特徴に基づいた評価法により、経時的に観察することが重要であると考えられる。小径神経線維の障害では、脱力などの運動症候よりも、疼痛やしびれ感、異常感覚、冷感などを訴えることが多く、これらを評価項目に取り入れた「視覚的アナログスケール」や「数値的評価スケール」が有用である可能性がある。

## D．考察

### １．知覚線維選択的侵害受容評価法

最近開発されたニューロメーターは、神経線維選択的知覚神経伝導閾値評価（電流知覚閾値評価）の手法を用いたシステムで、３つの異なる周波数（5 Hz、250 Hz、2000 Hz）による正弦波の経皮的電気刺激により、それぞれ無髄 C 線維、有髄 Aδ線維、有髄 Aβ線維が選択的に活性化されるため、従来は困難であると考えられてきた末梢神経要素別の機能検

査が可能である。順次、刺激強度を強め、それぞれの線維応答について知覚感知可能な最小強度の各電流値（current perception threshold：電流知覚閾値（CPT））を、被験者の知覚応答により求めることで、それぞれの周波数に対応した神経線維の知覚機能が評価できる。与えられる電気刺激は、二重盲検法に基づいた「実物刺激」および「プラセボ刺激」で、ランダムに被験者に与えられるため、客観的で定量的な評価が可能である。また、通電ゲルをつけた２つの刺激電極を被験者の任意の測定領域に固定して検査するため、体表のあらゆる部位での検査が可能である。

本手法により、末梢神経要素別の客観的・定量的評価が可能となり、既に麻酔科領域（知覚測定や神経ブロックの評価など）や整形外科領域（外傷後の神経再生評価など）で臨床応用されている。また近年、神経内科領域でも、糖尿病患者における末梢神経機能評価法として注目されている。小径神経線維の障害が主体であると推察される油症患者の末梢神経機能評価に本手法を応用することで、患者の自覚的感覚異常を客観的・定量的に評価することが可能となることが期待される。

２．自覚的感覚障害の強さの評価法

油症患者では小径神経線維の障害が主体である可能性がある。小径神経線維の障害では、脱力などの運動症候よりも、疼痛やしびれ感、異常感覚、冷感などを訴えることが多く、これらは共有できる感覚でないため、客観的に評価することも、被験者間で比較することも極めて困難である。しかし、患者の訴える感覚障害の程度を数値化して評価することは、臨床上必要なことでもある。痛みの領域では、その強さの評価法として、「視覚的アナログスケール」や「数値的評価スケール」、「口頭式評価スケール」、「フェイススケール」などがあり、臨床の場で用いられることが多い。最近、「視覚的アナログスケール」による経時的評価が、糖尿病患者の訴える自覚症状（上下肢自発痛、上下肢しびれ感、感覚異常（過敏・鈍麻）、立ちくらみ、こむらがえり、冷感、発汗異常、便秘）の経過観察に有用であることを示した報告がなされた[5]。これらの評価項目は、油症患者の自覚症状に合致するところが大きく、油症患者の訴える自覚的感覚異常の主観的評価に、「視覚的アナログスケール」や「数値的評価スケール」などが有用であることが期待される。

## E．結論

油症患者では、従来の検査法では客観的評価が難しかった小径神経線維が障害されている可能性があり、新たに開発された小径神経線維の知覚機能を反映する電流知覚閾値測定による評価が有用である可能性がある。一方、自覚症状のない他覚的異常のみを呈する患者も存在することから、自覚症状について「視覚的アナログスケール」や「数値的評価スケール」を用いた経時的観察が重要であると考えられる。両評価法を組み合わせて用いることで、油症患者の末梢神経機能を主観的・客観的に評価できるものと期待される。

## F．健康危険情報

なし

## G．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）Hotta N，et al：Diabetic Medicine 25：818-825，2008


## H．研究発表

なし

## I．知的所有権の出願・登録状況

なし

表　末梢神経機能検査法

| 検査手技 | 方法 | 備考 |
|---|---|---|
| 温度覚閾値検査 | ・温度計、冷覚計を皮膚に接触させ、温覚・冷覚が発生するまでの時間を測定する。 | ・小径有髄（Aδ）ならびに無髄（C）神経線維の機能障害が評価できる。 |
| 二点識別能検査 | ・被験者を閉眼させ、２点または１点の触刺激を皮膚に与え、２点か１点かを識別させる。 | ・刺激部位により、識別能が異なる。 |
| ニューロメーター | ・周波数（5 Hz、250 Hz、2000 Hz）による正弦波の経皮的電気刺激により、それぞれ無髄C線維、有髄Aδ線維、有髄Aβ線維を選択的に活性化し、感覚閾値を測定する。 | ・末梢神経要素別の機能検査が客観的・定量的に可能。<br>・身体のどの部位でも測定可能。<br>・皮膚温に影響を受ける。<br>・感覚受容器の評価はできない。 |
| 末梢神経伝導検査 | ・運動神経伝導検査と感覚神経伝導検査に大別される。<br>・運動神経伝導検査では、経皮的に神経に電気刺激を与え、支配筋からの誘発電位を記録する。<br>・感覚神経伝導検査では、経皮的に感覚神経に電気刺激を与え、感覚神経電位を記録する。 | ・標準的には、α運動線維やIa線維などの大径有髄神経線維の伝導が検査対象となる。 |
| 針筋電図検査 | ・筋肉に針電極を刺入して筋細胞膜に生じる電位変化を記録する。 | ・ある程度の侵襲を伴い、被験者の協力も必要。 |
| 運動誘発電位検査 | ・経頭蓋的に運動野を磁気や電気で刺激して下行性に末梢の筋肉から誘発電位を記録する。 | ・時間と手間がかかり、検査技術に習熟する必要もある。 |
| 体性感覚誘発電位検査 | ・末梢神経を電気的に刺激して大脳皮質からの誘発電位を記録する。 | ・時間と手間がかかり、検査技術に習熟する必要もある。 |

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

研究分担者　　月森　清巳　九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学　准教授

**研究要旨**　油症患者の閉経年齢について検討した。自然閉経年齢(平均値 ± SD)は、0-19 歳時曝露群(47.7± 6.2 歳)、20-29 歳時曝露群(49.6 ± 3.0 歳)、30-39 歳時曝露群(50.3 ± 4.2 歳)で、各群間に有意な差はなかった。早発閉経（40 歳未満に閉経）は 0-19 歳時曝露群 2 例(3.5%)、20-29 歳時曝露群 1 例(2.0%)、30-39 歳時曝露群 1 例(1.4%)に認められた。今後、血中ダイオキシン類濃度と閉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

ダイオキシン類はホルモン様作用を有することからヒトの生殖現象に影響を及ぼすのではないかと危惧されている。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、油症患者の閉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、本人回答が得られた 287 名のなかで、油症曝露(1968 年)時年齢が 40 歳未満の 191 例を解析の対象とした。曝露時の年齢によって 0-19 歳(60 例)、20-29 歳(57 例)および 30-39 歳(74 例)の 3 群に分類した。これら各群における閉経年齢および早発閉経(40 歳未満での閉経)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閉経年齢を表１に示す。調査時閉経が認められたものは、0-19 歳時曝露群 27 例(45%)、20-29 歳時曝露群 57 例(100%)、30-39 歳時曝露群 74 例(100%)であった。このうち自然閉経となったものは、0-19 歳時曝露群 24 例(89%)、20-29 歳時曝露群 51 例(94%)、30-39 歳時曝露群 71 例(96%)であった。自然閉経年齢(平均値 ± SD)は、0-19 歳時曝露群(47.7 ± 6.2 歳)、20-29 歳時曝露群(49.6 ± 3.7 歳) 、30-39 歳時曝露群(50.3 ± 4.2 歳)で、3 群間に有意な差はなかった。早発閉経の頻度は 0-19 歳時曝露群 2 例(3.5%)、20-29 歳時曝露群 1 例(2.0%)、30-39 歳時曝露群 1 例(1.4%)の順に多く認められたが、3 群間に有意な差はなかった。

## D．考察

ヒトにおけるダイオキシン類と閉経との関連については、イタリア・Seveso で発生した 2,3,7,8-Tetrachlorobenzo-p-dioxin (TCDD)曝露における検討では、TCDD 曝露では対照群と比較して閉経年齢が早くなることを報告している(Eskenazi et al, Environ Health Perspect 2005)。一方、Michigan で発生した polybrominated biphenyls (PBBs)曝露および台湾で発生し

た油症(Yucheng) における検討では、閉経年齢は曝露群と対照群の間に有意な差はないと報告している(Blank et al, Maturitas 2004; Yu et al, Int J Epidemiol 2000)。このように、PCBs およびダイオキシン類がヒト女性の閉経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閉経年齢を指標として検討した。平均閉経年齢は、0-19 歳時曝露群 47.7 歳、20-29 歳時曝露群 49.6 歳、30-39 歳時曝露群 50.3 歳であった。日本産科婦人科学会の報告によると、日本人女性の平均閉経年齢は 49.47 歳。50%閉経（50%のひとが閉経）は 50.54 歳、10%閉経は 45.34 歳、90%閉経は 56.34 歳である。初経年齢が時代とともに低年齢化したのに対し、閉経年齢はほとんど変化せず、世界的にみてもいずれの国も 50 歳前後で地域差も認められない。これらの成績から、閉経の平均年齢には油症曝露の影響はないことが考えられる。

早発閉経については、Rochester における前向き追跡調査によれば、その頻度は 30 歳までに 1,000 人に 1 人，40 歳までで 100 人に 1 人であると報告されている（Coulam et al, Obstet Gynecol 1986）。わが国における川崎市北部 3 区で行った一般住民調査（全 50 歳女性 1,436 人対象の自記式郵送調査）によれば、40 歳未満の自然閉経は 0.54%であった（麻生武志、日産婦誌 2002）。早発閉経の頻度は、0-19 歳時曝露群 3.5%、20-29 歳時曝露群 2.0%、30-39 歳時曝露群 1.4%で、症例数は少ないもののわが国における頻度より多く認められた。これらの成績から、油症曝露では早発閉経をきたす可能性があることが示唆された。今後、血中ダイオキシン類濃度と閉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．結論

閉経の平均年齢には油症曝露の影響はないと考えられる。しかし油症患者では、症例数がすくないものの早発閉経となったものが認められるので、血中ダイオキシン類濃度と閉経年齢との関連について検討することが必要である。

## F．健康危険情報

なし

## G．研究発表

１．論文発表


1) Tsukimori K, Tokunaga S, Shibata S, Uchi H, Nakayama D, Ishimaru T, Nakano H, Wake N, Yoshimura T, Furue M. Long-Term Effects of Polychlorinated Biphenyls and Dioxins on Pregnancy Outcomes in Women Affected by the Yusho Incident. Environ Healt Persp 2008;116:626-630.
2) Tsukimori K, Tokunaga S, Wake N, Uchi H, Yoshimura T, Furue M. Dioxins and pregnancy Outcomes in Women Affected by the Yusho Incident.Persistent organic pollutants (POPs) research in Asia. Ed Morita M, pp421-424, 2008.


２．学会発表

なし

## H．知的財産権の出願・登録状況

なし

表１．臨床背景と平均閉経年齢

| | 暴露時年齢 | | |
|---|---|---|---|
| | 0－19 歳 | 20-29 歳 | 30-39 歳 |
| 症例数 | 60 | 57 | 74 |
| 調査時年齢（歳）* | 51.0 ± 2.8 | 62.3 ± 2.8 | 71.3 ± 2.8 |
| 閉経数（%） | 27 (45) | 57(100) | 74(100) |
| 閉経の原因 | | | |
| 自然閉経（%） | 24 (89) | 51 (94) | 71 (96) |
| 外科的閉経（%） | 3 (11) | 6 (6) | 3 (4) |
| 自然閉経年齢（歳）* | 47.7 ± 6.2 | 49.6 ± 3.7 | 50.3 ± 4.2 |
| | (30-55) | (38-55) | (38-63) |
| 早発閉経数（%） | 2 (3.5) | 1 (2.0) | 1 (1.4) |

* データは mean ± SD (range)で示す。

分担研究報告書

# 油症患者におけるヘリコバクター・ピロリ感染率の検討

研究分担者　松本　主之　九州大学大学院病態機能内科学　助教
研究協力者　東　晃一　九州大学大学院病態機能内科学

**研究要旨**　油症患者における *Helicobacter pylori* の研究を開始するにあたって、その基礎的データを文献的に検討した．その結果、胃癌発症の観点から油症患者において *H. pylori* 感染感染を検討することの意義が確認できた．

## A．研究目的

我々は、油症における肝機能障害、肥満、高脂血症、耐糖能異常の経過を検討し、生活様式、および加齢が PCB、PCDF と相まって種々の代謝障害を惹起する可能性を報告してきた．一方、本研究班や欧米のデータから、ダイオキシン関連物質が胃癌のリスクであることが示されている．今回、、胃癌に着目し、油症と胃癌の発癌、および本症患者における胃癌管理の必要性があるか否かを明らかにするため、ダイオキシン、あるいはこれに関連した chemical modifier と胃癌、および胃癌発症の最も重要な環境要因である *Helicobacter pylori*（以下 *H. pylori*）感染の観点から現状の文献的データについて分析した．

## B．研究方法

医学データベース（Pub-Med、および Web of Knowledge）から PCB、PCDF、ダイオキシン、胃癌、*H. pylori* 等を検索用語として約 250 編の論文から重要論文を抽出した．なお、本研究は、昨年までに構築された本研究班のデータベースを用いていないので、倫理面の問題はないと判断した．これと平行して、本年も油症患者の肝機能、代謝関係について検診を行った．

## C．研究結果

ダイオキシン暴露により悪性腫瘍の危険率が上昇することは Bertazzi らの疫学調査で明らかにされているところである．一方、Kuznetsov らはダイオキシンが胃上皮細胞の CA-AhR 受容体を介してオステオポンチンの発現を抑制することで発癌に関与することを報告している．また、Andersson らの研究では CA-AhR 受容体の gain of function トランスジェニックマウスが胃癌を発症することを明らかにしている．これに対して、ダイオキシン類が *H. pylori* の制菌、あるいは殺菌作用を有するか否かに関しては現時点では明らかにされていない．

## D．考察

*H. pylori* の持続感染により表層性胃炎から萎縮性胃炎を経て腸上皮化生が惹起され、その一部から高分化腺癌が発生する．また、低分化腺癌の発生においても、*H. pylori* 感染が必須である可能性も示唆されている．このように、胃癌の発生において *H. pylori* が極めて重要な役割を担っていることは明らかな事実である．しかし、通常本菌の感染のみでは胃癌は発生しないため、他の環境要因として食塩、高血糖、高脂血症、ニトロソ化合物などが関与する可能性が示唆されている．

今回集積された文献データでは、ダイオキシンおよび関連物質が胃癌の発生に関与する可能性を支持するものが多くみら

れた．一方、PCB や PCDF などの H.pylori の制菌作用に関しては未だ不明である.すなわち、本研究班が過去長期に渡って蓄積した臨床情報と血液データに *H.pylori* の感染状況を加えることで、油症患者における管理指針のみならず、ダイオキシン類の人体への影響の一部を解明することが出来ると考えた．以上より、平成 21 年度は油症患者の検診時に尿素呼気試験、および *H.pylori* IgG 抗体を検討項目として加える方針とした.

**E．結論**

油症患者において *H.pylori* 感染感染を検討することは重要と思われる.

**F．健康危険情報**

現時点ではない.

**H．知的財産権の出願・登録状況**

（予定を含む。）

1．特許取得

なし.

2．実用新案登録

なし.

分担研究報告書

# 油症についての疫学・統計学的研究

研究分担者　　徳永　章二　　九州大学病院医療情報部　助教

**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血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を中心に統計学的に解析した。2005 年に行った婦人科問診調査回答者から 104 名を解析対象とした。油症時に 5 歳以上、0-4 歳、油症後に出生の３群間で初経年齢平均値に違いが見られたが、初経年齢を生年で調整するとその違いは統計的な有意水準の境界域にとどまった（$p = 0.05$）。血中ダイオキシンレベルが測定され、初経年齢との解析対象となったのは 25 名であった。油症発生時と初経年齢時の推定血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を、2,3,4,7,8-PeCDF、3,3',4,4',5-PeCB(CB-126)、3,3',4,4',5,5'-HxCB(CB-169) の３異性体について解析したが、統計学的に有意な関連は認められなかった。

## A．研究目的

油症の生殖現象に及ぼす影響を調べるため、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。油症患者とその児の初経年齢については、分担研究者の月森氏により別報告書にまとめられているが、本研究では特に血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を中心に、統計学的に解析した。

## B．研究方法

2005 年に行った婦人科問診調査回答者のなかで、本人回答または母親による代理回答が得られた 287 名より、油症時に初経を迎えていなかった者と油症患者より出生した者、計 104 名を解析対象として選んだ。対象者の選定基準が月森氏の場合より厳密であるため対象者数が若干減少している。

検討したダイオキシン類は人体への影響の可能性などを考慮し、2,3,4,7,8-PeCDF、3,3',4,4',5-PeCB(CB-126)、3,3',4,4',5,5'-HxCB (CB-169) の３異性体とした。油症発生時と初経時の血中濃度の推定は時間あたり一定の減少率を仮定した一次コンパートメントモデルによった。油症発生時に誕生していなかった者について油症発生時のダイオキシン類レベル推定値を推定する事に意味はない。また、血中ダイオキシン類レベルが測定されたのは 4 名のみであったので、今回はダイオキシン類レベルと初経年齢の関連の解析対象から除いた。1 回以上ダイオキシン類の測定が行われた 25 名を解析対象とした。１個人で複数回測定された場合は、各推定値の平均値をその個人の推定血中濃度とした。

初経年齢の比較には１元配置分散分析を用いた。血中ダイオキシン類濃度（対数変換値）と初経年齢の関連は直線回帰によった。なお、初経年齢は年々早くなる傾向が知られているので、プロビット解析により生年と初経年齢の関連を３次式により求め、初経年齢を生年により統計学的に調整した場合についても解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は観察疫学研究で対象者に直接有害となる介入は基本的に行っていない。ダイオキシン類測定のために採血をしたが、希望者のみについて行い、通常の検診などで行う採血方法と量であった。データ

解析にあたっては、匿名化データとして処理し、パスワードで保護されたPCに暗号化されたファイルとして保存するなど、対象者の個人情報漏洩への対策を施した。本研究を含む油症研究は九州大学の倫理委員会により承認された。

## C．研究結果

対象者である油症時に初経を迎えていなかった者と油症患者より出生した者の合計 104 名を油症発生時の年齢によって次の3群に分けた。1) 5歳以上、2) 0-4歳、3) 油症発生後に出生した児で、それぞれ 64名、28名、12名であった。

表1に3群（油症時に5歳以上、0-4歳、油症後に出生）別の初経年齢の平均値を示した。上記の順で初経年齢平均値が減少している。3群間の初経年齢平均値の違いは統計学的に有意であった（$p = 0.008$）。

しかしながら、上記の3群は出生年齢に違いがある。一般に最近になるほど初経年齢が早くなる傾向が指摘されている。初経年齢を生年で調整したところ、初経年齢平均値の違いは統計的な有意水準の境界域であった（$p = 0.05$）。

上記104名のうち、油症発生後に出生し、かつ、ダイオキシン類レベルが測定できた患者は25名のみで、測定年（人数）は、2001年（2人）、2002年（5人）、2003年（9人）、2004年（6人）、2005年（6人）、2006年（10人）、2007年（11人）であった。測定回数(人数)は、1回（15人）、2回（4人）、3回（2人）、4回（2人）、6回（2人）であった。

油症発生前に出生した対象者の油症発生時と初経年齢時における推定血中ダイオキシン類濃度をそれぞれ表 2a, 2b に示す。

油症発生時の推定血中ダイオキシン類レベルは、油症時の年齢が高い群（5歳以上）の方が低い群（4歳以下）より高かった。

表3a、bに油症発生時と初経年齢時の推定血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を示す。油症発生時に5歳以上であった群では外れ値（初経年齢２０歳）を含めた場合と含めない場合の両方で解析した。

どちらの油症発生年齢群も、初経年齢は3種類のダイオキシン類と統計学的に有意な関連を見出すことはできなかった。また、油症発生時に5歳以上の群では、外れ値の1例を除いて解析したが、やはり統計学的に有意な関連は認められなかった。

## D．考察

今回の解析では、年齢群間で初経年齢に差が見られたが、初経年齢を生年で調整すると年齢群間の違いは統計学的に有意でなくなった。また、油症発生時に5歳以上であった群には外れ値である初経年齢 20歳の患者が1人含まれている。これらを考慮すると今回の解析では油症発生時の年齢、すなわち、曝露年齢と初経年齢に意味のある関連を見出すことはできなかった。

血中ダイオキシン類レベルの推定方法は一次コンパートメントモデルに依ったが、この推定は過去の曝露を過小に推定する可能性が指摘されている。このような限界についても考慮して解析結果を解釈する必要がある。

本研究では油症の曝露年齢と初経年齢、及び、血中ダイオキシンレベルの推定値と初経年齢に統計学的に有意な差は見出せなかった。しかしながら、少ない患者数のために統計学的検出力が低かった事を考慮すると、真に差がないとは解釈し難い。初経年齢を含め、油症の生殖現象に及ぼす影響を評価するためには今後も継続的な調査が必要である。

表１．初経年齢の油症曝露年齢群間の比較

| | | 初経年齢 | | | 初経年齢（出生年齢により調整） | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 油症時年齢 | n | 平均値 | ＳＤ | p* | 平均値 | ＳＤ | p |
| 5＋ | 64 | 13.50 | 1.41 | | 13.41 | 1.40 | |
| 0 - 4 | 28 | 12.93 | 1.19 | 0.008 | 13.00 | 1.18 | 0.05 |
| 油症後出生 | 12 | 12.29 | 1.05 | | 12.46 | 1.04 | |

* 曝露年齢群間の平均値の違いの検定。

表２a．推定血中ダイオキシン類濃度（幾何平均値，pg/g lipid）、油症発生時

| 油症時年齢 | n | 2,3,4,7,8-PeCDF 幾何平均値（95%信頼区間） | 3,3',4,4',5-PeCB(CB-126) 幾何平均値（95%信頼区間） | 3,3',4,4',5,5'-HxCB(CB-169) 幾何平均値（95%信頼区間） |
|---|---|---|---|---|
| 5＋ | 19 | 1071.7 (598.6 - 1918.7) | 306.5 (263.5 - 356.6) | 454.2 (321.8 - 641.2) |
| 0 - 4 | 6 | 345.0 (102.4 - 1162.6) | 236.3 (126.9 - 439.8) | 189.8 (101.0 - 356.7) |

表２b．推定血中ダイオキシン類濃度（幾何平均値，pg/g lipid）、初経時

| 油症時年齢 | n | 2,3,4,7,8-PeCDF 幾何平均値（95%信頼区間） | 3,3',4,4',5-PeCB(CB-126) 幾何平均値（95%信頼区間） | 3,3',4,4',5,5'-HxCB(CB-169) 幾何平均値（95%信頼区間） |
|---|---|---|---|---|
| 5＋ | 19 | 733.6 (398.2 - 1351.6) | 251.0 (210.6 - 299.1) | 371.9 (262.8 - 526.4) |
| 0 - 4 | 6 | 136.1 (40.1 - 461.3) | 144.7 (79.5 - 263.3) | 116.2 (62.3 - 216.7) |

表３a. 推定血中ダイオキシン類濃度（油症発生時）と初経年齢の関連

| 油症時年齢 | 2,3,4,7,8-PeCDF<br>β* (95%信頼区間)<br>p | 3,3',4,4',5-PeCB(CB-126)<br>β* (95%信頼区間)<br>p | 3,3',4,4',5,5'-HxCB(CB-169)<br>β* (95%信頼区間)<br>p |
|---|---|---|---|
| 5＋ | -0.391 (-2.014 - 1.232)<br>0.64 | 0.518 (-5.170 - 6.207)<br>0.86 | -0.426 (-3.292 - 2.441)<br>0.78 |
| 5＋** | 0.669 (-0.318 - 1.657)<br>0.21 | 0.588 (-2.800 - 3.975)<br>0.74 | 0.539 (-1.189 - 2.267)<br>0.55 |
| 0・4 | 1.259 (-1.388 - 3.906)<br>0.45 | 0.933 (-4.950 - 6.816)<br>0.79 | 3.503 (-1.075 - 8.081)<br>0.27 |

* 血中ダイオキシン類レベル１０倍増加に対する回帰係数．** 初経年齢の外れ値１例（20 歳）を除いた場合．

表３b. 推定血中ダイオキシン類濃度（初経時）と初経年齢の関連

| 油症時年齢 | 2,3,4,7,8-PeCDF<br>β* (95%信頼区間)<br>p | 3,3',4,4',5-PeCB(CB-126)<br>β* (95%信頼区間)<br>p | 3,3',4,4',5,5'-HxCB(CB-169)<br>β* (95%信頼区間)<br>p |
|---|---|---|---|
| 5＋ | -0.280 (-0.730 - 0.170)<br>0.22 | 0.716 (-0.363 - 1.795)<br>0.20 | -0.263 (-1.116 - 0.590)<br>0.55 |
| 5＋** | -0.167 (-0.605 - 0.271)<br>0.46 | 0.750 (-0.285 - 1.785)<br>0.16 | -0.104 (-0.929 - 0.721)<br>0.81 |
| 0・4 | 1.468 (-1.091 - 4.026)<br>0.38 | 1.261 (-4.341 - 6.864)<br>0.70 | 3.799 (-0.452 - 8.049)<br>0.22 |

* 血中ダイオキシン類レベル１０倍増加に対する回帰係数．** 初経年齢の外れ値１例（20 歳）を除いた場合．

分担研究報告書

# 胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重に与える影響
## －　妊娠中の喫煙の関与について　－


| | | |
|---|---|---|
| 研究分担者 | 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 |
| 研究協力者 | 湯浅　資之 | 北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野　助教 |
| | 吉岡　英治 | 北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野　助教 |
| | 佐々木成子 | 北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野　研究員 |
| | 金澤　文子 | 北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野　研究員 |
| | 鷲野　考揚 | 北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野　大学院生 |
| | 小西　香苗 | 北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野　大学院生 |



**研究要旨**　ダイオキシン類の胎児期曝露による次世代影響が懸念されている。これまで我々は、低用量における胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重へ与える影響を明らかにしてきた。今回我々は、喫煙が母体血中ダイオキシン類濃度に与える影響を検討し、胎児期ダイオキシン類曝露と出生体重との関連に与える、喫煙の交互作用の検討を行った。交絡因子で調整した重回帰分析の結果では、Total non-*ortho* PCBs、Total non-*ortho* PCBs TEQ、Total coplanar PCBs TEQ において有意に喫煙群の母体血中濃度が非喫煙群より低い傾向であった。妊娠中の母親の喫煙により、ダイオキシン類とりわけ Coplanar-PCB 類の代謝が促進されている可能性が示唆された。また、喫煙習慣別に母体血中ダイオキシン類濃度が児の出生体重へ与える影響を、重回帰分析にて検討を行った結果、非喫煙群に比べ喫煙群は、出生体重がより減少する傾向が PCDD 類及び PCDF 類濃度において認められ、とりわけ 1,2,3,7,8-PeCDD、2,3,4,7,8-PeCDF において顕著にみられた。一方、Coplanar-PCB 類においてはそのような傾向はみられなかった。ダイオキシン類の出生体重への影響が喫煙によって修飾されている可能性が示唆された。


## A．研究目的

PCB･ダイオキシン類は胎児および乳幼児の発育遅延、神経発達遅延、甲状腺機能障害、免疫障害、生殖への影響、発ガン性など、負の健康影響を引き起こすことが懸念されている（1，2）。また、これら化学物質の出生前あるいは出生後曝露によって次世代に与える健康影響がとりわけ懸念されている。これまで我々は、低用量胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重へ与える影響を検討してきた。その結果、Total PCDDs TEQ濃度やTotal PCDFs TEQ濃度において有意な負の関連を見出した。また、妊娠中の喫煙が与える胎児への様々な健康影響が知られている（3）。Ah レセプターはタバコの煙に含まれる多環芳香族炭化水素（PAHs）や TCDD などの受容体として知られており、薬物代謝酵素 CYP1A1、CYP1B1、GST などを誘導することも報告されている（4）。

そこで本研究では、喫煙が母体血中ダイオキシン類濃度に与える影響を検討し、胎児期ダイオキシン類曝露と出生体重との関連に与える、喫煙の交互作用を検討

することを目的として実施した。

## B．研究方法

対象者は 2002 年 7 月から 2005 年 10 月の間に、札幌市の一般病院・産科を受診した妊娠 23 週～35 週の妊婦で、インフォームドコンセントの得られた母子 514 組である。

自記式調査票にて、両親の既往歴、妊娠中の健康状況、受動喫煙を含む喫煙習慣、両親の教育歴、世帯年収、妊娠中の就業状況、食物摂取状況、カフェイン摂取状況、アルコール摂取状況、職場や家庭での化学物質曝露状況などの情報を収集した。また、医療診療録より、単胎・双胎、児の性別、妊娠週数、出生体重、新生児身長、新生児頭囲、母親の年齢、母親の身長、非妊娠時体重、出産歴、妊娠中の既往歴などの情報を収集した。

母体血サンプルは末梢静脈より 40ml 採血を行い、-80° C にて冷凍保存した。貧血のため妊娠中採血が出来なかった妊婦は、出産後 1 週間以内に同様に採血を行った。母体血中ダイオキシン類濃度は、高分解能ガスクロマトグラフィー・高分解能マススペクトメトリー (HRGC/HRMS) で測定し、母体血中 PCDDs/PCDFs、Coplanar-PCBs の 29 種類ダイオキシン類異性体濃度測定を 426 名について行った。このうち母体血中ダイオキシン類濃度の異常値を示した 1 名は除外した。

流産、死産、引越、追跡初期の脱落者などの 10 名、および妊娠から出産までに重篤な病気のみられた対象者(n=12)、新生児心不全(n=1)、双胎児(n=7)の 20 名も解析より除外した。また、妊娠 37 週未満に出生した早産児(n=23)も妊娠期間より独立した胎児発育を評価するために本解析対象から除外し、対象者は 461 名となった。このうち、母体血中ダイオキシン類濃度測定値のある 398 名を最終解析対象者とした。

喫煙群と非喫煙における対象特性の検定は、Student T 検定、Mann-Whitney 検定および $\chi^2$ 検定にて検討を行なった。喫煙習慣が与える母体血中ダイオキシン類濃度への影響は、Mann-Whitney 検定及び母体血中ダイオキシン類濃度へ影響を与える交絡因子を調整した重回帰分析にて検討を行った。出生体重と母体血中ダイオキシン類濃度との関連は交絡因子にて調整した重回帰分析を行った。全ての統計解析は SPSSver13.0J(SPSS, Inc., USA)を用いて行なった。

（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、承認を得た上で実施した。

## C．研究結果

対象者の基本属性を表 1 に示した。喫煙群は非喫煙群に比べ、年齢が若く、身長が高い傾向であり、妊娠中のカフェイン摂取、遠洋魚摂取が多い傾向であった。また、教育レベル、世帯年収が低い傾向であった。

喫煙習慣が母体血中ダイオキシン類濃度に与える影響を検討した（表２）。喫煙群の母体血中ダイオキシン類濃度は、全てのダイオキシン類濃度及び TEQ 濃度において非喫煙群に比べて低い濃度であった。とりわけ、この傾向は Total Non-*ortho* PCBs、Total PCDDs TEQ、Total PCDDs/PCDFs TEQ、Total non-*ortho* PCBs、Total coplanar PCBs TEQ、Total TEQ（Mann-Whitney 検定）においてみられた。この関連を母体血中ダイオキシン類濃度に影響を与える可能性のある交絡因子で調整した重回帰分析の結果では、Total

non-*ortho* PCBs、Total non-*ortho* PCBs TEQ、Total coplanar PCBs TEQ において有意に喫煙群の濃度が低い傾向であった。

喫煙習慣別に母体血中ダイオキシン類濃度が児の出生体重へ与える影響を、重回帰分析にて検討を行った(表３)。Total ダイオキシン類濃度、Total TEQ 濃度および 29 種類異性体のうち有意差のみられた異性体についてのみ表３に表記した。非喫煙群に比べ喫煙群は、出生体重がより減少する傾向が PCDD 類及び PCDF 類濃度において認められた。とりわけ、1,2,3,7,8-PeCDD においては非喫煙群で出生体重が 199g 減少するのに比較して、喫煙群では 392g とより多く減少する結果であった。同様の傾向が、2,3,4,7,8-PeCDF においても顕著にみられた（非喫煙群：$\beta$=-196.5g、喫煙群：$\beta$=-336.8g)。一方、Coplanar-PCB 類においてはそのような傾向はみられなかった。

## D．考察

全てのダイオキシン類濃度において、喫煙群は非喫煙群に比べ濃度が低く、喫煙により母体血中ダイオキシン類濃度が減少する傾向が伺えた。この傾向は、とりわけ Total non-*ortho* PCBs、Total non-*ortho* PCBs TEQ、Total coplanar PCBs TEQ において顕著であり、Coplanar-PCB 類が喫煙の影響を受けやすいことが考えられた。喫煙により薬物代謝酵素（特に CYP1A1 、 CYP1A2 ） が活性化され Coplanar-PCB 類の代謝を促進しているとの報告もあり(５，６)、本研究の結果はこのことを裏付けるものであった。また、妊娠中の母親の喫煙習慣について、喫煙群の母親から出生した新生児の血中 PCB 類濃度は、受動喫煙群、非喫煙群の母親より出生した児よりも有意に高く、妊娠中の喫煙が新生児における PCB 類曝露を有意に増加させていることが報告されている（７)。本研究の結果より、妊娠中の母親の喫煙により、ダイオキシン類とりわけ Coplanar-PCB 類の代謝が促進され、他の臓器や胎児・胎盤に移行している可能性が示唆された。

喫煙習慣別ダイオキシン類の出生体重への影響では、Coplanar-PCB 類は喫煙群と非喫煙群で出生体重への影響に顕著な差はみられなかったが、喫煙群においてより影響が減少する傾向であった。このことより、Coplanar-PCB 類は喫煙により代謝されたが、胎盤・胎児への移行はあまりなかった可能性が考えられる。

一方 PCDD 類と PCDF 類、とりわけ 1,2,3,7,8-PeCDD、2,3,4,7,8-PeCDF においては、出生体重への影響が喫煙群でより大きくなっており、喫煙により低下した母体血中ダイオキシン類は胎盤・胎児へ移行し、出生体重への影響を大きくしているのかもしれないことが示唆された。

## E．結論

妊娠中の母親の喫煙により全てのダイオキシン類、とりわけ Coplanar-PCB 類の代謝が促進されている傾向が伺えた。また、ダイオキシン類の出生体重への影響が喫煙によって修飾されている可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

１．論文発表

なし

２．学会発表

小西香苗、佐々木成子、鷲野考揚、宮下ちひろ、岡田恵美子、吉岡英治、湯浅資

之、梶原淳睦、戸髙尊、岸玲子.胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重に与える影響 － 喫煙の交互作用. 環境と子どもの健康に関する北海道スタディー (1). 第79回日本衛生学会学術総会、東京、平成21年3月

**参考文献**

1) Schantz SL, Widholm JJ, Rice DC. Effects of PCB exposure on neuropsychological function in children. 2003. Environ Health Perspect 111(3):357-376.

2) Toft G, Hagmar L, Giwercman A, Bonde JP. Epidemiological evidence on reproductive effects of persistent organochlorines in humans. 2004. Reprod Toxicol 19(1):5-26.

3) Cnattingius S. The epidemiology of smoking during pregnancy: smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes. 2004. Nicotine Tob Res. Apr;6 Suppl 2:S125-40.

4) Harper PA, Wong JY, Lam MS, Okey AB. Polymorphisms in the human AH receptor. 2002. Chem Biol Interact. 20;141(1-2):161-87.

5) Flesch-Janys D, Becher H, Gurn P, Jung D, Konietzko J, Manz A, Päpke O. Elimination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in occupationally exposed persons. 1996. J Toxicol Environ Health. 47(4):363-78.

6) Uehara R, Nakamura Y, Matsuura N, Kondo N, Tada H. Dioxins in human milk and smoking of mothers. 2007. Chemosphere. 68(5):915-20.

7) Lackmann GM, Angerer J, Töllner U. Parental smoking and neonatal serum levels of polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene. 2000 Pediatr Res. 47(5):598-601.

表1. 対象者の属性

| Characteristics | Overall (N=398) No. (%) | Non-smoking (N=330) No. (%) | Smoking (N=68) No. (%) | P-value [a] |
|---|---|---|---|---|
| <児> | | | | |
| 性別 | | | | |
| 男児 | 189 (47.5) | 164 (49.7) | 25 (36.8) | |
| 女児 | 209 (52.5) | 166 (50.3) | 43 (63.2) | 0.052 |
| 妊娠週数 (週) | 39.1 ± 1.2 [b] | 39.1 ± 1.2 [b] | 39.3 ± 1.1 [b] | 0.109 |
| 出生体重 (g) | 3100.3 ± 348.5 [b] | 3107.5 ± 358.6 [b] | 3065.3 ± 294.0 [b] | 0.365 |
| 身長 (cm) | 48.2 ± 1.8 [b] | 48.3 ± 1.9 [b] | 48.0 ± 1.4 [b] | 0.316 |
| 頭囲 (cm) | 33.3 ± 1.3 [b] | 33.4 ± 1.3 [b] | 33.2 ± 1.2 [b] | 0.175 |
| <母親> | | | | |
| 出産時年齢 (歳) | 31.0 ± 4.7 [b] | 31.3 ± 4.6 [b] | 29.9 ± 5.1 [b] | 0.029 * |
| 身長 (cm) | 158.2 ± 5.3 [b] | 158.0 ± 5.4 [b] | 159.5 ± 4.8 [b] | 0.030 * |
| 非妊娠時体重 (kg) [d] | 52.7 ± 8.0 [b] | 52.4 ± 8.0 [b] | 54.1 ± 7.8 [b] | 0.120 |
| 出産歴 | | | | |
| 初産 | 192 (48.2) | 155 (47.0) | 37 (54.4) | |
| 経産 | 206 (51.8) | 175 (53.0) | 31 (45.6) | 0.263 |
| 妊娠中アルコール摂取 | | | | |
| はい | 271 (68.1) | 228 (69.1) | 43 (63.2) | |
| いいえ | 127 (31.9) | 102 (30.9) | 25 (36.8) | 0.346 |
| 妊娠中カフェイン摂取量 (g/日) | 118.1 (1.5 - 646.3) [c] | 110.3 (1.5 - 640.0) [c] | 151.0 (15.0 - 646.3) [c] | <0.001 ** |
| 妊娠中魚摂取 | | | | |
| 近海魚 | | | | |
| ≤1-2回/月 | 220 (55.3) | 185 (56.1) | 35 (51.5) | |
| ≥1-2回/週 | 178 (44.7) | 145 (43.9) | 33 (48.5) | 0.488 |
| 遠洋魚 | | | | |
| ≤1-2回/月 | 185 (46.5) | 161 (48.8) | 24 (35.3) | |
| ≥1-2回/週 | 213 (53.5) | 169 (51.2) | 44 (64.7) | 0.042 * |
| 教育歴 | | | | |
| 12年 | 169 (42.5) | 126 (38.2) | 43 (63.2) | |
| ≥13年 | 229 (57.5) | 204 (61.8) | 25 (36.8) | <0.001 ** |
| 世帯収入 [d] | | | | |
| <500万円 | 264 (66.3) | 211 (63.9) | 53 (77.9) | |
| ≥500万円 | 133 (33.5) | 118 (35.8) | 15 (22.1) | |
| 採血時期 (在胎週) | | | | 0.028 * |
| 23-31週 | 66 (16.6) | 56 (17.0) | 10 (14.7) | |
| 32-34週 | 108 (27.1) | 86 (26.1) | 22 (32.4) | |
| 35-41週 | 103 (25.9) | 85 (25.8) | 18 (26.5) | |
| 出産後 | 121 (30.4) | 103 (31.2) | 18 (26.5) | 0.700 |

[a] Student's *t* 検定, Mann-Whitney検定, $\chi^2$検定
[b] 平均値± 標準偏差.
[c] 中央値 (最小値 - 最大値)
[d] 欠損データ: 非妊娠時体重 (2), 世帯収入 (1)
*$p$ <0.05, **$p$ <0.01

表2. 喫煙習慣が母体血中ダイオキシン類濃度に与える影響

| | Non-smoking (N=330) | Smoking (N=68) | | | Non-smoking (N=330) | Smoking (N=68) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Median | Median | *p* -values [a] | | $log_{10}$ scale | Beta [c] | *p* -values [b] | |
| <Total> (pg/g lipid) | | | | | | | | |
| Total PCDDs | 467.9 | 428.2 | 0.053 | | Ref. | -0.089 | 0.071 | |
| Total PCDFs | 18.9 | 16.7 | 0.197 | | Ref. | -0.075 | 0.128 | |
| Total PCDDs/PCDFs | 488.4 | 442.5 | 0.052 | | Ref. | -0.090 | 0.067 | |
| Total non-ortho PCBs | 77.4 | 58.6 | 0.005 | ** | Ref. | -0.115 | 0.020 | * |
| Total mono-ortho PCBs | 11471.6 | 9364.0 | 0.075 | | Ref. | -0.036 | 0.441 | |
| Total coplanar PCBs | 11554.7 | 9409.5 | 0.074 | | Ref. | -0.037 | 0.434 | |
| Total Dioxins | 12097.9 | 9851.2 | 0.067 | | Ref. | -0.039 | 0.414 | |
| <WHO-06> (TEQ pg/g lipid) | | | | | | | | |
| Total PCDDs TEQ | 7.1 | 6.2 | 0.042 | * | Ref. | -0.057 | 0.225 | |
| Total PCDFs TEQ | 2.5 | 2.1 | 0.116 | | Ref. | -0.062 | 0.198 | |
| Total PCDDs/PCDFs TEQ | 9.6 | 8.3 | 0.046 | * | Ref. | -0.060 | 0.202 | |
| Total non-ortho PCBs TEQ | 4.3 | 3.2 | 0.002 | ** | Ref. | -0.136 | 0.005 | ** |
| Total mono-ortho PCBs TEQ | 0.3 | 0.3 | 0.075 | | Ref. | -0.036 | 0.441 | |
| Total coplanar PCBs TEQ | 4.7 | 3.5 | 0.003 | ** | Ref. | -0.130 | 0.007 | ** |
| Total TEQ | 14.2 | 12.1 | 0.011 | * | Ref. | -0.091 | 0.054 | |

[a] Mann-Whitney検定

[b] 重回帰分析は母親出産時年齢,非妊娠時体重,出産歴,妊娠中カフェイン摂取量,妊娠中アルコール摂取量,近海魚摂取,採血時期にて調整を行った

[c] Beta値はNon-smoking群に対してSmoking群における、ダイオキシン類濃度の変化量($log_{10}$濃度)を示す

*p<0.05; **p<0.01

表3. 喫煙習慣別 母体血中ダイオキシン類濃度と出生体重との関連

| | Overall (N=398)[a] | | Non-smoking (N=330) [b] | | Smoking (N=68)[b] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $log_{10}$ scale | Beta [c] | *p* -values | Beta [c] | *p* -values | Beta [c] | *p* -values |
| <Total> (pg/g lipid, n=398) | | | | | | |
| Total PCDDs | -80.9 | 0.402 | -45.9 | 0.668 | -265.6 | 0.293 |
| Total PCDFs | -293.9 | 0.006 *** | -269.9 | 0.025 ** | -342.7 | 0.147 |
| Total PCDDs/PCDFs | -90.7 | 0.356 | -54.9 | 0.614 | -276.7 | 0.279 |
| Total non-*ortho* PCBs | -123.5 | 0.140 | -113.8 | 0.225 | -93.1 | 0.637 |
| Total mono-*ortho* PCBs | -117.7 | 0.133 | -129.9 | 0.146 | -31.6 | 0.849 |
| Total coplanar PCBs | -118.3 | 0.132 | -130.4 | 0.145 | -32.2 | 0.846 |
| Total dioxins | -123.1 | 0.129 | -134.2 | 0.147 | -38.8 | 0.821 |
| <WHO-2005> (TEQ pg/g lipid, n=398) | | | | | | |
| Total PCDDs TEQ | -213.6 | 0.022 ** | -197.3 | 0.061 * | -285.7 | 0.166 |
| Total PCDFs TEQ | -264.7 | 0.006 *** | -241.5 | 0.024 ** | -334.7 | 0.122 |
| Total PCDDs/PCDFs TEQ | -239.7 | 0.013 ** | -222.5 | 0.041 ** | -305.7 | 0.149 |
| Total non-*ortho* PCBs TEQ | -114.0 | 0.088 * | -104.0 | 0.170 | -110.0 | 0.454 |
| Total mono-*ortho* PCBs TEQ | -117.7 | 0.133 | -129.9 | 0.146 | -31.6 | 0.849 |
| Total coplanar PCBs TEQ | -117.3 | 0.086 * | -108.8 | 0.160 | -106.3 | 0.478 |
| Total TEQ | -220.0 | 0.016 ** | -207.8 | 0.045 ** | -239.9 | 0.232 |
| <Dioxins isomers> (pg/g lipid, n=398) | | | | | | |
| 1,2,3,7,8-PeCDD | -226.5 | 0.004 *** | -199.0 | 0.024 ** | -392.4 | 0.040 ** |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD | -150.6 | 0.071 * | -128.9 | 0.175 | -256.8 | 0.160 |
| 2,3,4,7,8-PeCDF | -223.4 | 0.005 *** | -196.5 | 0.026 ** | -336.8 | 0.073 * |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDF | -128.0 | 0.055 * | -93.7 | 0.215 | -286.2 | 0.045 ** |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF | -90.4 | 0.081 * | -59.2 | 0.321 | -175.2 | 0.104 |
| 23445PeCB#114 | -115.1 | 0.066 * | -124.8 | 0.087 * | -52.6 | 0.677 |

[a] 重回帰分析は妊娠週数,母親出産時年齢, 母親の身長非妊娠時体重, 出産歴, 児の性別,近海魚摂取,採血時期,妊娠中の喫煙習慣にて調整を行った

[b] 重回帰分析は妊娠週数,母親出産時年齢, 母親の身長非妊娠時体重, 出産歴, 児の性別,近海魚摂取,採血時期にて調整を行った

[c] Beta値はダイオキシン類濃度が10倍に上昇した場合の出生体重(g)の変動を示す

*p <0.1, **p <0.05, ***p<0.01

分担研究報告書

# 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


| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 研究分担者 | 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 |
| | 中川礼子 | 福岡県保健環境研究所 | 生活化学課 | 課長 |
| | 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 |
| | 吉富秀亮 | 福岡県保健環境研究所 | 情報管理課 | 技師 |
| | 戸高　尊 | 九州大学医学部 | 学術研究員 | |
| | 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保存さい帯（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 8 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。また、出生年とダイオキシン濃度の関係を解析すると油症発生 13 年以内（1970-1981 年）に出生した児のへその緒中に高濃度のダイオキシン類が検出された。


## 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、40 年を経過した現在も油症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)]。そこで油症患者、油症未認定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報告した[3)]。今年度は油症認知患者及び未認定者のへその緒を追加して解析し、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

油症患者の母親12名から生まれた18名の子供(1948年から1995年の出産)のへその緒、油症未認定の母親3名方生まれた5名の子供(1973年から2002年の出産)及び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患者のへその緒が0.55、4.55、0.08、0.08
及び5.26pg-TEQ/gであり、一般人のへその緒は0.50、0.11、0.03、0.02及び0.66pg-TEQ/gであった。油症患者は一般人に比べTotal TEQで約8倍高く、PCDFs濃度は約40倍高いことが分かった。また、図1に出産年とへその緒中のダイオキシン類のTotal TEQの関係を見ると油症発生から13年以内に生まれた児のへその緒にダイオキシン濃度が高い場合があることが明らかになった。さらに、一般人に比べ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(図2)

油症診定基準に用いられる2,3,4,7,8-PeCDF濃度は油症患者のへその緒中の平均濃度は10pg/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。油症患者の母親12名のうち、2002-2007年の血液中ダイオキシン類濃度の判明している6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の平均値で約8倍高いが、油症事件発生後13年以内に生まれた児のへその緒にダイオキシン濃度が高い場合があることが明らかになった。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。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: Retrospective *in utero* exposure assessment of PCBs using preserved nmbilical cords and its application to case-control comparison. Environmental Health and Preventive Medicine. 11, 65-68, (2006)

2. O.Aozasa et.al: PCB contamination assessment of yusho patients by using preserved human umbilical cord. Bull Environ Contam Toxicol. 81, 578-582, (2008)

3. J.Nagayama et.al: Evaluation on toxic contribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs determined in the preserved umbilical cord of Yusho patients. Organohalogen Compounds. 70, 410-413, (2008)

表1. 油症患者、未認定者及び一般人のヘその緒中ダイオキシン類濃度

| | Yusho Patients ( n=18 ) | | | | | Yusho Suspected Persons ( n=5) | | | | | Normal Controls ( n=15 ) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | Med. | SD. | Min. | Max. | Mean | Med. | SD. | Min. | Max. | Mean | Med. | SD. | Min. | Max. |
| PCDDs | 0.55 | 0.12 | 0.91 | ND | 3.41 | 0.06 | ND | 0.10 | ND | 0.24 | 0.50 | 0.09 | 1.33 | ND | 4.71 |
| PCDFs | 4.55 | 0.02 | 6.26 | ND | 20.4 | ND | | | | | 0.11 | ND | 0.37 | ND | 1.27 |
| Non-*ortho* PCBs | 0.08 | 0.02 | 0.13 | ND | 0.45 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | ND | 0.03 | 0.03 | ND | 0.06 | ND | 0.19 |
| Mono-*ortho* PCBs | 0.08 | 0.05 | 0.10 | 0.01 | 0.36 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 0.03 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.09 |
| Total | 5.26 | 0.64 | 6.87 | 0.02 | 22.3 | 0.09 | 0.03 | 0.13 | 0.01 | 0.31 | 0.66 | 0.14 | 1.35 | 0.02 | 4.72 |

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

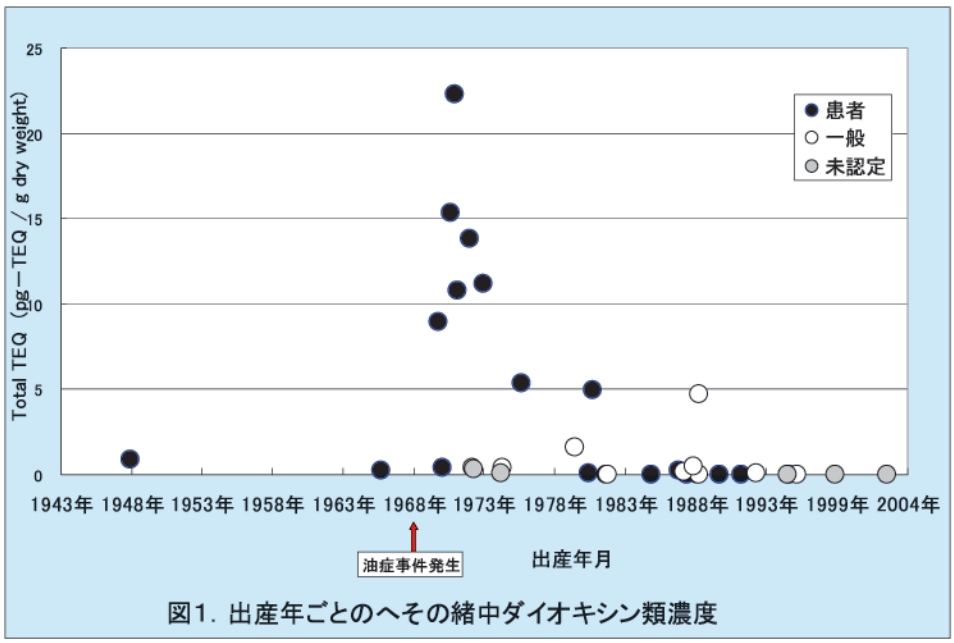



図1. 出産年ごとのヘその緒中ダイオキシン類濃度

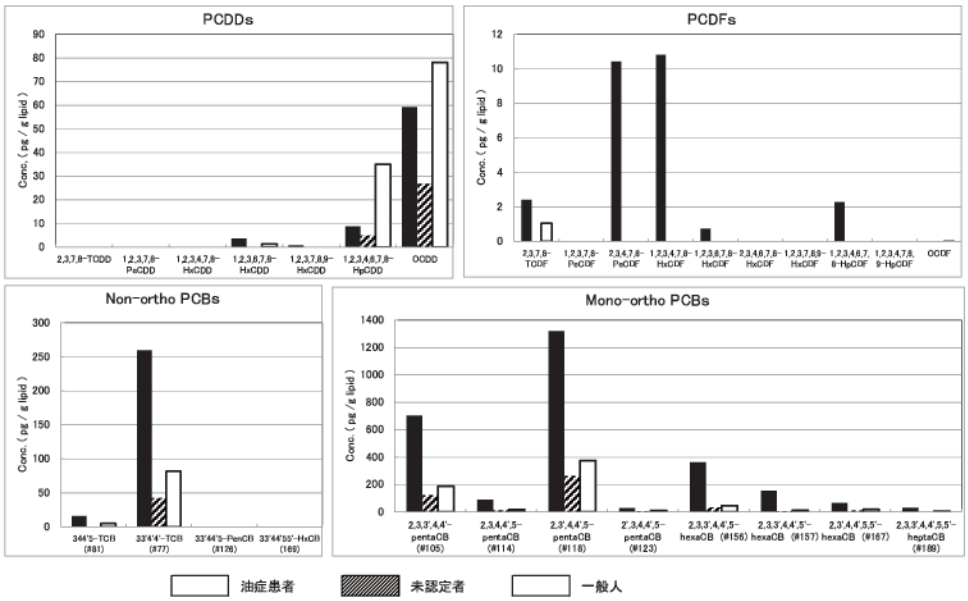



図2. 油症患者、未認定者及び一般人のヘその緒中ダイオキシン類個別異性体濃度の比較

分担研究報告書

# 保存さい帯（へその緒）を利用した油症被害者のPCB汚染評価に関する研究

研究分担者　宮田　秀明　摂南大学薬学部　教授
研究協力者　青笹　治　摂南大学薬学部　助教

**研究要旨**　油症被害者3名および一般健常者11名の女性が出産した時の保存さい帯（へその緒）28試料を対象として、PCBおよびダイオキシン様PCB（DL-PCB）を分析し、その分析値を基準にして、出産当時の油症被害者における両化合物による汚染評価を検討した。その結果、油症発症当時の1968～70年代においては油症被害者および一般健常者の汚染濃度は極めて高く、それ以降は経時的に減少する経年変化が認められた。しかし、両化合物の汚染濃度や組成は、油症被害者と一般健常者との間で有意的な差異は認められなかった。

## A．研究目的

1968年に我が国で起こったカネミ油症は、ポリ塩化ビフェニル（PCB）とその熱変成物質（ポリ塩化ジベンゾフラン、ポリ塩化クワッターフェニル）による人体汚染の代表的な事例であり、40年以上が経過した現在においても油症被害者における健康障害は解決されていない。これまでに油症被害者を対象に血液、母乳、毛髪、皮脂および脂肪組織など、多数の生体試料を用いてPCBやPCB熱変成物質の人体汚染レベルが評価されている。しかし、油症被害者の保存さい帯（へその緒）を用いた調査、研究は皆無の状態である。保存さい帯は、女性が子供を出産した際に、さい帯の一部を切り取り、小さな木箱等の容器に入れて各家庭で保存されているものである。その保存さい帯に含まれる化学物質は、出産当時の母親の体内濃度を反映するもの推測され、出産当時の化学物質による人体汚染を評価する上で重要な生体試料であり、新規知見が得られる可能性が高い。

しかし、存さい帯は、少量かつ脂肪含量が極めて少ないことから、汚染量が多い化合物を対象とした分析の必要性が推測された。

そのため、本研究では、油症被害者である母親が出産した当時の保存さい帯について、油症原因物質中、濃度が高く、毒性の比較的強いダイオキシン様PCB（DL-PCB）に焦点を絞り、その分析値を基準として、油症被害者における出産当時のDL-PCBによる人体汚染評価を検討した。

## B．研究方法

### 1．保存さい帯試料

油症被害者（3名，試料提供者A～C）および一般健常者（11名，試料提供者D～N）の女性が子供を出産した時の保存さい帯（へその緒）を試料とした（表1，表2）。保存さい帯は、油症被害者支援センターから提供された。油症被害者の3名のうち、2名が油症認定者であり、残りの1名は油症未認定者であった。油症被害者の保存さい帯試料は、2名の油症認定者から提供された3試料と1名の油症未認定者からの3試料、合計6試料（表1の試料A-1～C-3）である。保存さい帯を提供した母親が子供

を出産した年代は、油症発生 10 年前の1958 年から 1998 年までであった。

一方、一般健常者については、11 名の母親から提供された 22 試料の保存さい帯（表 2 の試料 D-1～N-2）を用いた。各保存さい帯の出産年代は、1962 年から 1997 年で、油症発生前後（1966 年～1970 年）の保存さい帯も 5 試料が含まれていた。

本研究で用いた試料に関しては、いずれも試料保存者から PCB 関連物質の調査・研究に利用する旨、およびその研究発表をする旨の承諾を得ている。また、本研究の範囲は、PCB 関連物質の汚染調査に限定したものであるので、特に倫理面的に問題になるものはない。

2. 分析方法

保存さい帯中の DL-PCB 分析法のフローシートを図 1 に示す。

保存さい帯試料は、アセトンで軽く表面を洗浄した後、約 0.3～0.6 g をステンレスバサミで細く切り取り、無水硫酸ナトリウム（1.0 g）とともに乳鉢で粉末化した。この粉末試料にクリーンアップスパイク用内標準物質（12 種の $^{13}C_{12}$-ラベル化 DL-PCB、各 200 pg）を添加後、トルエン 100 mL を加え、５時間、環流抽出を行った。還流抽出後、熱時ろ過し、冷後、トルエン抽出液は、濃縮し、硝酸銀・シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。硝酸銀・シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、1.0 g の 10%硝酸銀シケカゲルを充填したカラムを用い、20 mL の n-ヘキサンで DL-PCB を溶出させた。

次に、溶出液を濃縮した後、溶媒を完全に留去し、ノナン 10 μL に溶解させた。この溶液にシリンジスパイク用内標準物質（$^{13}C_{12}$-2,3’,4’,5-TeCB（PCB #70）、$^{13}C_{12}$-2,3,3’,5,5’-PeCB（PCB #111）、$^{13}C_{12}$-2,2’,3,4,4’,5-HxCB（PCB #138）、$^{13}C_{12}$-2,2’,3,3’,5,5’,6-HpCB（PCB #178）、各 200pg）を加え、液量 20 μL としたものを試験溶液とした。この試験溶液の 1 μg を高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計（HRGC/HRMS）に注入し、電子衝撃型・選択イオンモニタリング法（EI-SIM）により、12 種の DL-PCB を定量した。なお、HRGC/HRMS 分析条件は次の通りである。

機種：Hewlett・Parkard 6890 ガスクロマトグラフ・JEOL JMS-700 質量分析計
キャピラリーカラム：SEG 製 HT-8 で長さ 50 m、内径 0.22 mm、および膜圧 0.22 μm
カラム温度:130℃（1 分）→ 220℃（20℃/分）→310℃（5℃/分、 14 分）
注入口温度：200℃
イオン化エネルギー：42eV
イオン化電流：600 μA
キャリアーガス：He
キャリアーガス流量：1 mL/分
セパレータ温度：280℃
イオン源温度：280℃
分解能：10,000　検出法：EI-SIM

## C．結果および考察

表３は、油症認定者および油症未認定者の母親から提供された保存さい帯中の DL-PCB 異性体濃度を示している。油症認定者の３試料の保存さい帯試料から検出された 12 種の DL-PCB 異性体の合計濃度は、試料 1 g 当たりで算出すると 150～12,000 pg の範囲であった。母親Ｂから提供された保存さい帯 B-1 試料で、最も高い 12,000 pg の DL-PCB が検出された。しかし、もう一人の油症認定者の母親 A の保存さい帯試料 A-1 および A-2 では、それぞれ 350 pg、150 pg と低い濃度であった。また、油症未認定の母親から提供された 3 試料（試料

C-1～C-3）では570～4,800 pgを示した。

表４および表５は、11 人の一般健常者から提供された保存さい帯中の DL-PCB 濃度を示す。その 22 試料から検出された DL-PCB の濃度範囲は、100～23,000 pg であった。ただし、最も高濃度の DL-PCB が検出された G-1 試料の 23,000 pg を除けば、濃度範囲は 100～12,000 pg となり、油症被害者の濃度範囲と類似した結果となった。なお、23,000 pg を示した試料については、再分析を行い、再度検討する予定である。

図２では、保存さい帯における DL-PCB の濃度範囲を油症被害者と一般健常者で比較した。油症被害者は油症認定者と油症疑いの被害者に分けた。

その結果、油症認定者の濃度範囲は、150～12,000 pg で、油症未認定者の範囲（570～4,800 pg）と比べると、最高濃度は高くなる傾向にある。しかし、一般健常者の濃度範囲は 23,000 pg を示した１試料を除けば、100～12,000 pg であり、油症認定者の濃度範囲は、一般健常者にも認められるレベルであった。

以上のように、油症認定者の DL-PCB の濃度範囲は、油症未認定者よりも高濃度であるが、一般健常者とは同等となる傾向は、2006 年の調査結果 [1]でも同様に認められており、今回の調査結果は、2006 年の調査結果を支持するものであった。

しかし、現在までの分析試料数は少なく、結論づけるためには、さらに多くの試料の分析結果に基づいて判断する必要がある。

図３は、油症被害者（油症認定者と油症未認定者）および一般健常者の保存さい帯に含まれる DL-PCB の合計濃度について、出産年代ごとにプロットしたものである。

保存さい帯中に含まれる DL-PCB の総濃度は、1960 年頃から上昇傾向を示し、油症発生直後の 1968 年～1970 年には 10,000 pg/g 以上の濃度で最も高くなり、その後は減少傾向に転じ、1990 年頃には 300 pg/g 以下にまで低下する結果となっている。

また、油症認定者と一般健常者の濃度を比較した場合、油症発生直後の 1968 年～1970 年に高濃度を示す傾向は、油症認定者だけでなく、一般健常者でも同様に認められた。また、油症認定者と一般健常者の濃度も近似したレベルであった。従って、油症発症直後の 1968 年～1970 年には、一般健常者にも油症認定者と同等のレベルで母親の体内が高濃度に汚染されていた可能性が高いことが示唆された。この結果についても、2006 年の調査結果 [1]と同様な傾向であった。

油症認定者の生体試料中の PCB は一般健常者と比べ特徴的な異性体組成を示すことが明らかにされている [2]。具体的には、油症認定者は、一般健常者に比べて、2,3,3’,4,4’,5-HxCB（PCB＃156）異性体が高く、2,3’,4,4’,5-PeCB（PCB #118）異性体が低いという特徴がある。従って、表６では、油症被害者（油症認定者と油症未認定者）および一般健常者について、2,2’,4,4’,5,5’-HxCB（PCB#153）異性体を基準にして、PCB＃156 異性体および PCB#118 異性体の面積比を算出し、比較した検討した。

その結果、油症認定者における PCB＃118 異性体の面積比（PCB＃118/PCB＃153 比）は、1.8 であり、一般健常者の面積比の 1.6 よりも、逆に高い比率となった。この傾向は、前回の調査結果 [1]でも同様であった。

従って、保存さい帯では、油症認定者の生体試料中に認められる特徴的な異性体組成を示す可能生は低いと判断された。さらに、表７において、最も高濃度を示した試料についてピーク面積比を比較検討し

たが、同様の結果となった。

図４～図６には、前回[1)]および今回の調査において、最高濃度を示した油症認定者および一般健常者の試料について、それぞれの HRGC/HRMS SIM クロマトグラムを示した。これらクロマトグラムを比べ、DL-PCB 以外の PCB 異性体について、油症認定者に特徴的な異性体の有無を検討した。しかしながら、クロマトグラムから読み取れる主要成分となる異性体は、油症認定者に特徴的な異性体は確認できなかった。

以上の結果から、今後、分析例を増やすとともに、さらに詳細な解析を行う必要がある。また、ポリ塩化クワッターフェニル（PCQ）等を含めた PCB 熱変成物についても検討することが重要である。

## D．結論

油症被害者 3 名および一般健常者 11 名の女性が出産した時の保存さい帯（へその緒）28 試料を対象として、ダイオキシン様 PCB（DL-PCB）を分析し、その分析値を基準にして、出産当時の油症被害者における両化合物による汚染評価を検討した。その結果、油症発症当時の 1968～70 年代においては油症被害者および一般健常者の汚染濃度は極めて高く、それ以降は経時的に減少する経年変化が認められた。しかし、両化合物の汚染濃度や組成は、油症被害者と一般健常者との間で有意的な差異は認められなかった。この傾向は、2006 年に実施した油症被害者と一般健常者の保存さい帯試料（油症認定者：3 試料、油症未認定者：8 試料、一般健常者：15 試料）の分析結果と同様であった。従って、今後、分析例を増やすとともに、さらに詳細な解析を行う必要がある。また、ポリ塩化クワッターフェニル（PCQ）等を含めた PCB 熱変成物についても検討することが重要である。

## E．健康危険情報

特になし。

## F．研究発表

1．論文発表

O. Aozasa, S. Ohta, T. Nakao, H. Miyata, H. Ishizawa, S. Sakashita, R. Satou, R. Mizuno: PCB Contamination Assessment of Yusho Patients by Using Preserved Human Umbilical Cord, Bull. of Environ. Contam. and Toxicol., 81, 578-582 (2008)

2．学会発表

なし

## G．引用試料

1）青笹　治、太田壮一、中尾晃幸、宮田秀明、石澤春美、坂下　栄、佐藤麗子、水野玲子：カネミ油症患者における保存さい帯（へその緒）中の PCB 濃度、環境ホルモン学会第 9 回研究発表会要旨集、70 頁（東京）(2006)

2）増田義人、吉村健清、梶原淳睦：油症発症より 38 年間の患者血液中 PCBs、PCDFs の濃度変遷、福岡医誌、98, 182-195 (2007)

表１　試料一覧　（油症被害者）

| 試料提供者 | へその緒試料 | 新生児性別 | 出産年代 |
|---|---|---|---|
| A　油症認定者 | A-1 | 女 | 1989 |
| | A-2 | 男 | 1998 |
| B　油症認定者 | B-1 | 男 | 1968 |
| C　油症未認定者 | C-1 | 女 | 1958 |
| | C-2 | 女 | 1959 |
| | C-3 | 女 | 1962 |

表２　試料一覧（一般健常者）

| 試料提供者 | へその緒試料 | 出産年代 |
|---|---|---|
| D | D-1 | 1962 |
| E | E-1 | 1971 |
| F | F-1 | 1977 |
| | F-2 | 1974 |
| G | G-1 | 1985 |
| | G-2 | 1981 |
| H | H-1 | 1987 |
| I | I-1 | 1989 |
| | I-2 | 1995 |
| J | J-1 | 1967 |
| | J-2 | 1969 |
| | J-3 | 1972 |
| K | K-1 | 1986 |
| L | L-1 | 1993 |
| | L-2 | 1981 |
| | L-3 | 1983 |
| | L-4 | 1974 |
| | L-5 | 1995 |
| | L-6 | 1977 |
| M | M-1 | 1968 |
| N | N-1 | 1968 |
| | N-2 | 1995 |

表 3　油症被害者の保存さい帯中の DL-PCB 濃度（pg/g）

| DL-PCB | | 油症認定者 | | | 油症未認定者 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | A-1 | A-2 | B-1 | C-1 | C-2 | C-3 |
| TeCB | 3,4,4',5- (#81) | 1.5 | - | 17 | - | 35 | 4.1 |
| | 3,3',4,4'- (#77) | 14 | 3.1 | 140 | 69 | 570 | 80 |
| PeCB | 2',3,4,4',5- (#123) | 2.9 | 1.9 | 270 | 3.8 | 61 | 8.3 |
| | 2,3',4,4',5- (#118) | 190 | 59 | 5400 | 290 | 2300 | 510 |
| | 2,3,4,4',5- (#114) | 15 | 3.7 | 460 | 18 | 110 | 23 |
| | 2,3,3',4,4'- (#105) | 63 | 29 | 3500 | 150 | 1300 | 270 |
| | 3,3',4,4',5- (#126) | - | - | 58 | - | 11 | - |
| HxCB | 2,3',4,4',5,5'- (#167) | 15 | 8.5 | 400 | 11 | 100 | 29 |
| | 2,3,3',4,4',5- (#156) | 27 | 31 | 1000 | 21 | 250 | 70 |
| | 2,3,3',4,4',5'- (#157) | 15 | 16 | 320 | 8.9 | 78 | 23 |
| | 3,3',4,4',5,5'- (#169) | - | - | 24 | - | - | - |
| HpCB | 2,3,3',4,4',5,5'- (#189) | 4.6 | - | 110 | - | 13 | - |
| 合計濃度 | | 350 | 150 | 12000 | 570 | 4800 | 1000 |

-：不検出

表 4　一般健常者の保存さい帯中の DL-PCB 濃度（pg/g）

| DL-PCB | | D-1 | E-1 | F-1 | F-2 | G-1 | G-2 | H-1 | I-1 | I-2 | J-1 | J-2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TeCB | #81 | 4.8 | 480 | 3.6 | - | - | - | - | - | - | 47 | 13 |
| | #77 | 120 | 4600 | 51 | 22 | 32 | - | 27 | 20 | 13 | 820 | 260 |
| PeCB | #123 | 20 | 400 | 7.0 | 5.4 | 5.0 | 7.4 | 2.3 | - | 1.6 | 130 | 37 |
| | #118 | 1050 | 9300 | 420 | 320 | 300 | 330 | 140 | 170 | 85 | 6600 | 2100 |
| | #114 | 65 | 650 | 22 | 21 | 7.7 | 230 | 8.8 | 11 | 6.5 | 340 | 100 |
| | #105 | 390 | 6000 | 170 | 120 | 110 | 180 | 56 | 55 | 30 | 2600 | 800 |
| | #126 | - | 43 | - | - | 4.4 | - | - | - | - | 26 | 7.3 |
| HxCB | #167 | 50 | 310 | 20 | 25 | 17 | 18 | 14 | 13 | 4.1 | 360 | 82 |
| | #156 | 79 | 830 | 51 | 50 | 37 | 34 | 39 | 21 | 13 | 830 | 180 |
| | #157 | 33 | 220 | 19 | 12 | 15 | 9.5 | 16 | 8.2 | 4.6 | 260 | 50 |
| | #169 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 3.3 | 17 |
| HpCB | #189 | - | 43 | - | - | 4.6 | - | - | - | - | 24 | - |
| 合計濃度 | | 870 | 23000 | 760 | 580 | 530 | 800 | 310 | 300 | 160 | 12000 | 3700 |

-：不検出

表 5　一般健常者の保存さい帯中の DL-PCB 濃度（pg/g）

| DL-PCB | | J-3 | K-1 | L-1 | L-2 | L-3 | L-4 | L-5 | L-6 | M-1 | N-1 | N-2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TeCB | #81 | 24 | - | 2.5 | - | 1.7 | 1.6 | - | - | 42 | 1.9 | 2.0 |
| | #77 | 230 | 14 | 27 | 18 | 18 | 6.4 | 15 | 150 | 110 | 21 | 18 |
| PeCB | #123 | 33 | - | 4.3 | 2.2 | 3.3 | 1.1 | - | 5.4 | 47 | 7.6 | 2.1 |
| | #118 | 1700 | 170 | 230 | 150 | 170 | 47 | 73 | 310 | 1600 | 310 | 64 |
| | #114 | 72 | 8.5 | 17 | 9.4 | 11 | 2.9 | 6.7 | 16 | 180 | 21 | 7.0 |
| | #105 | 760 | 61 | 74 | 66 | 60 | 20 | 39 | 190 | 550 | 120 | 35 |
| | #126 | 13 | - | - | - | 2.5 | - | - | - | - | - | - |
| HxCB | #167 | 120 | 19 | 36 | 6.4 | 11 | 3.8 | 4.3 | 14 | 160 | 15 | 3.7 |
| | #156 | 230 | 47 | 96 | 23 | 26 | 14 | 12 | 30 | 210 | 45 | 8.7 |
| | #157 | 120 | 13 | 22 | 7.1 | 8.4 | 2.8 | 7.5 | 19 | 99 | 14 | 5.4 |
| | #169 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| HpCB | #189 | 21 | - | 22 | - | - | - | - | - | 18 | - | - |
| 合計濃度 | | 3400 | 330 | 540 | 280 | 310 | 100 | 160 | 730 | 3000 | 560 | 150 |

-：不検出

表 6　油症被害者と一般健常者における PCB#118/PCB#153 と PCB#156/PCB#153 のピーク面積比の比較

今回の調査結果

| ピーク面積比 | 油症被害者（n=6） | | 一般健常者（n=22） |
|---|---|---|---|
| | 油症認定者（n=3） | 油症未認定者（n=3） | |
| PCB#118/PCB#153 | 1.8 (0.44～4.2) | 2.4 (0.20～2.8) | 1.6 (0.17～4.2) |
| PCB#156/PCB#153 | 0.25 (0.09～0.51) | 0.17 (0.10～0.23) | 0.15 (0.04～0.23) |
| Total DL-PCB（pg/g） | 4200 (150～12000) | 2100 (570～4800) | 2400 (100～23000) |



2006 年の調査結果

| ピーク面積比 | 油症被害者（n=11） | | 一般健常者（n=8） |
|---|---|---|---|
| | 油症認定者（n=3） | 油症未認定者（n=8） | |
| PCB#118/PCB#153 | 8.0 (4.5～12) | 3.9 (1.1～5.9) | 2.1 (0.98～4.4) |
| PCB#156/PCB#153 | 0.29 (0.21～0.36) | 0.21(0.06～0.40) | 0.10 (0.06～0.20) |
| Total DL-PCB（pg/g） | 6500 (2000～11000) | 560 (130～1400) | 3900 (680～12000) |

表 7　高濃度汚染の油症被害者と一般健常者における PCB#118/PCB#153 と PCB#156/PCB#153 のピーク面積比の比較

今回の調査結果

| 面積比 | 油症被害者 | | E-1（一般健常者） |
|---|---|---|---|
| | B-1（油症認定者） | C-2（油症未認定者） | |
| PCB#118/PCB#153 | 4.2 | 2.8 | 4.2 |
| PCB#156/PCB#153 | 0.51 | 0.23 | 0.23 |
| Total DL-PCB（pg/g） | 12,000 | 4800 | 23,000 |



2006 年の調査結果

| 面積比 | 油症被害者 | | ⑪-1（一般健常者） |
|---|---|---|---|
| | ①-1（油症認定者） | ②-1（油症未認定者） | |
| PCB#118/PCB#153 | 4.5 | 4.6 | 3.8 |
| PCB#156/PCB#153 | 0.21 | 0.40 | 0.20 |
| Total DL-PCB（pg/g） | 11,000 | 1,400 | 12,000 |

保存さい帯　(へその緒、**0.3～0.6 g )**
　表面洗浄（アセトン）
　細切 **(0.1 g)**
　無水硫酸ナトリウム **(1.0 g)**
　乳鉢で粉末化

粉砕した保存臍帯
　クリーンアップ用無い標準物質添加 **($^{13}$C-DL-PCB 各200 pg)**
　還流抽出（トルエン、**5**時間）、濃縮、ヘキサンに転溶

抽出液
　硝酸銀シリカゲル（**1 g**）カラム
　溶出： ヘキサン、**20 mL**

精製液
　濃縮、ノナン**10**μＬに転溶
　シリンジスパイク用内標準物質添加 **($^{13}$C-TeCB (#70)、$^{13}$C-PeCB（#111）、**
　**$^{13}$C-HxCB（#138）、$^{13}$C-HpCB（#178）、各200 pg)**
最終液 **(20 μL)**

**HRGC/HRMS EI-SIM**測定（分解能**:10,000**）

図**1**　へその緒中の**PCB**分析法のフローシート

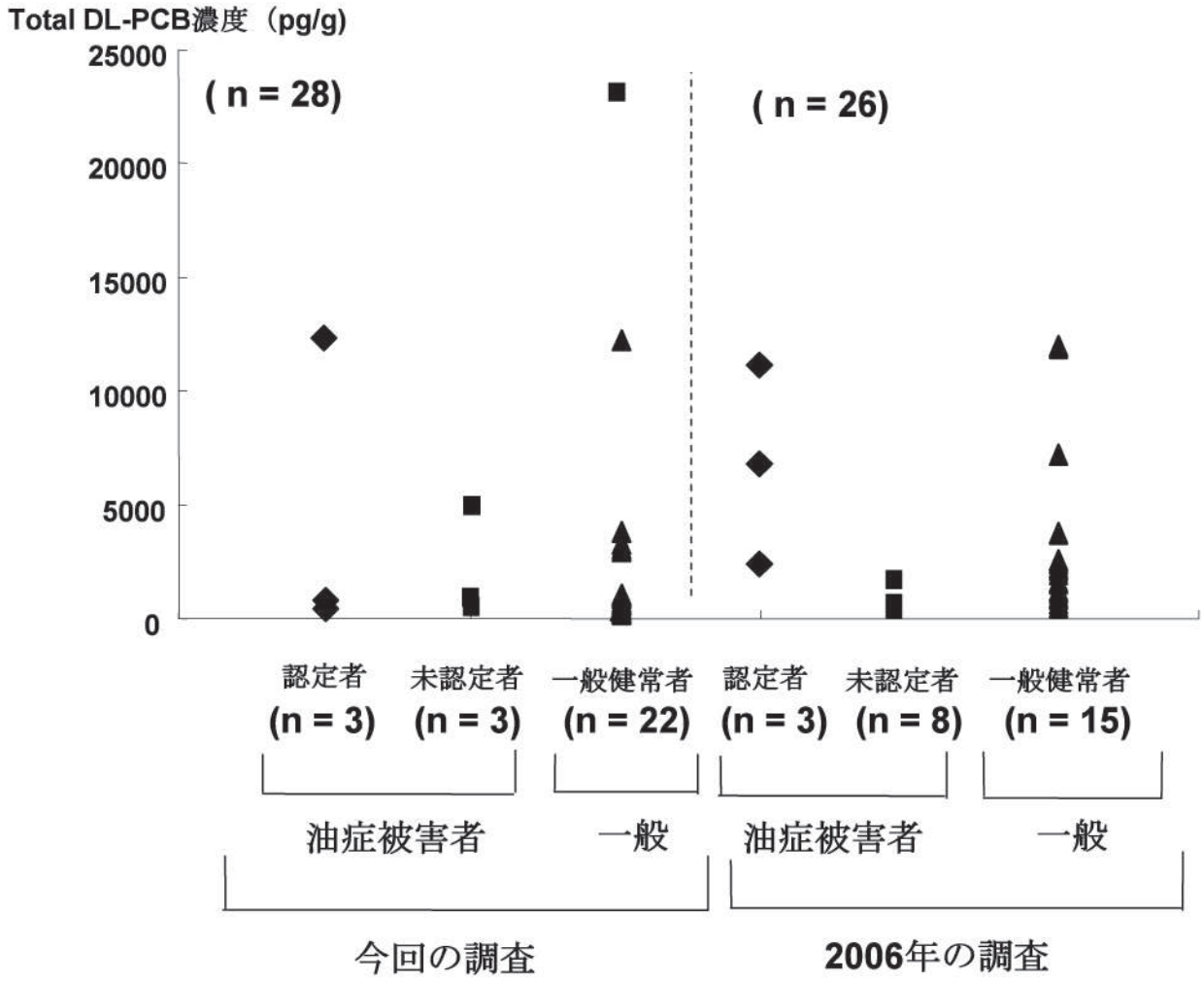



図 2　油症被害者と一般健常者における**Total DL-PCB**濃度の比較

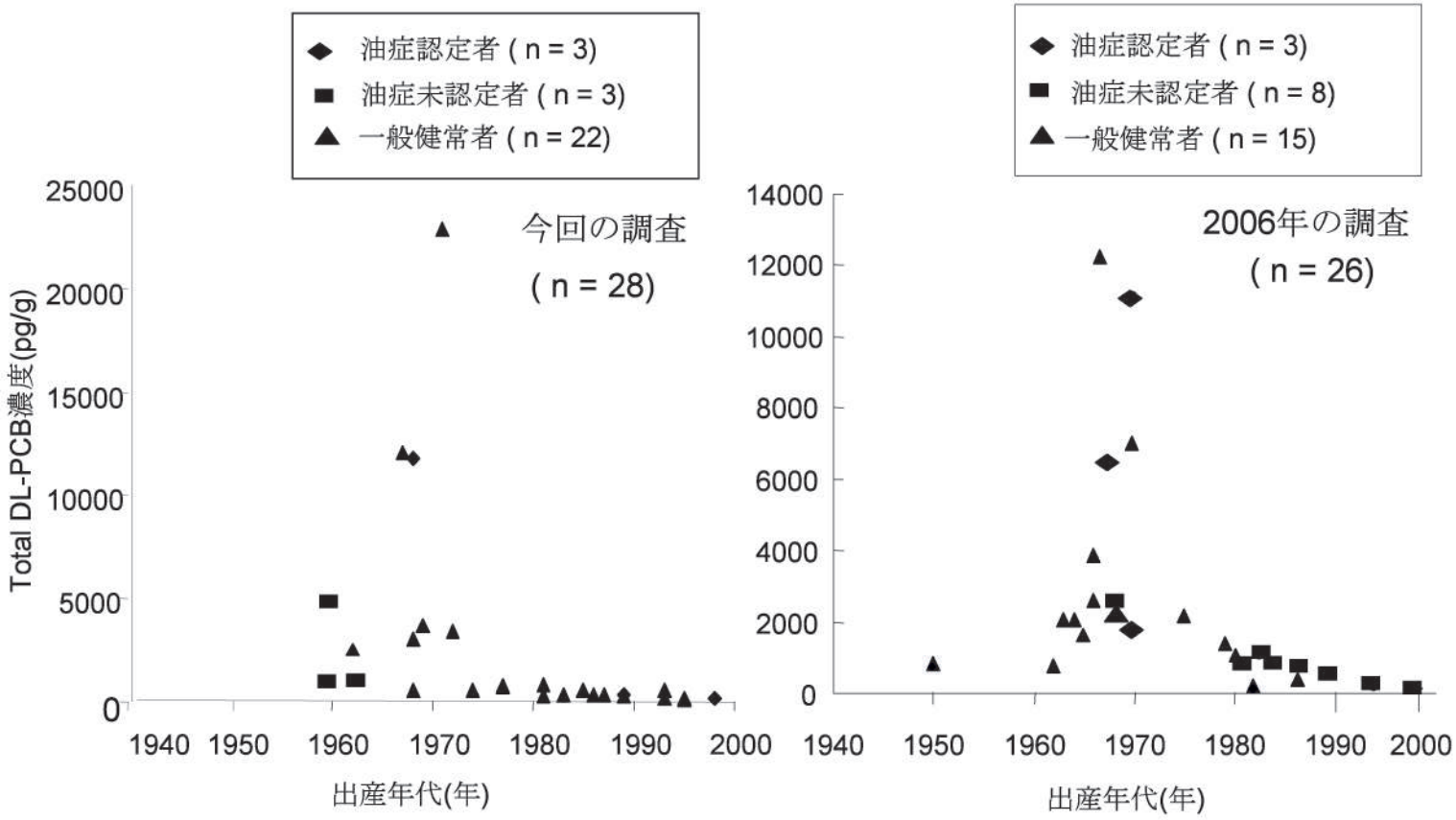



**図3　油症患者と一般健常者の保存さい帯中のTotal DL-PCB濃度の比較**

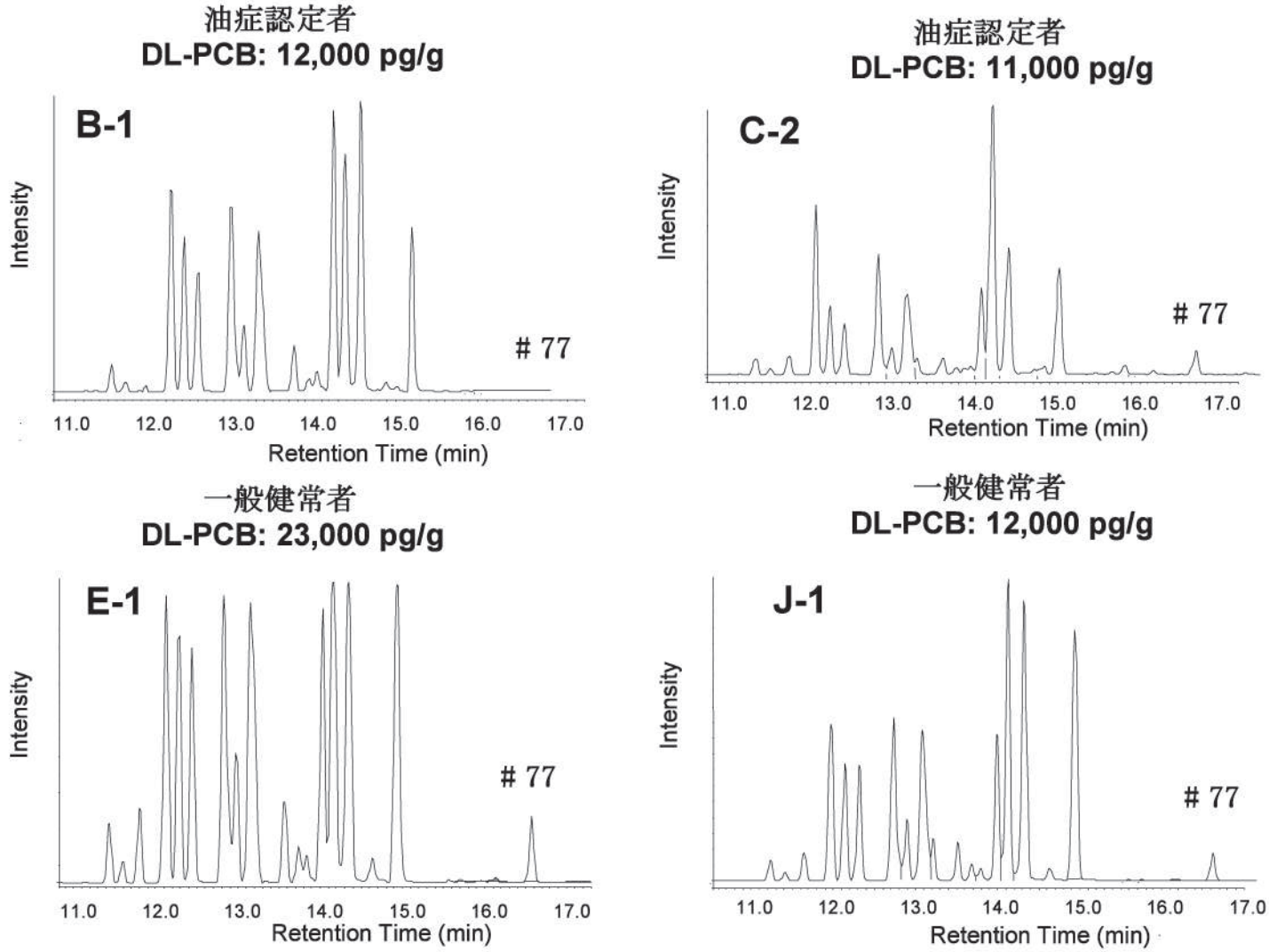



**図4 高濃度被験者におけるへその緒中のTeCBのHRGC/HRMS SIMクロマトグラム**

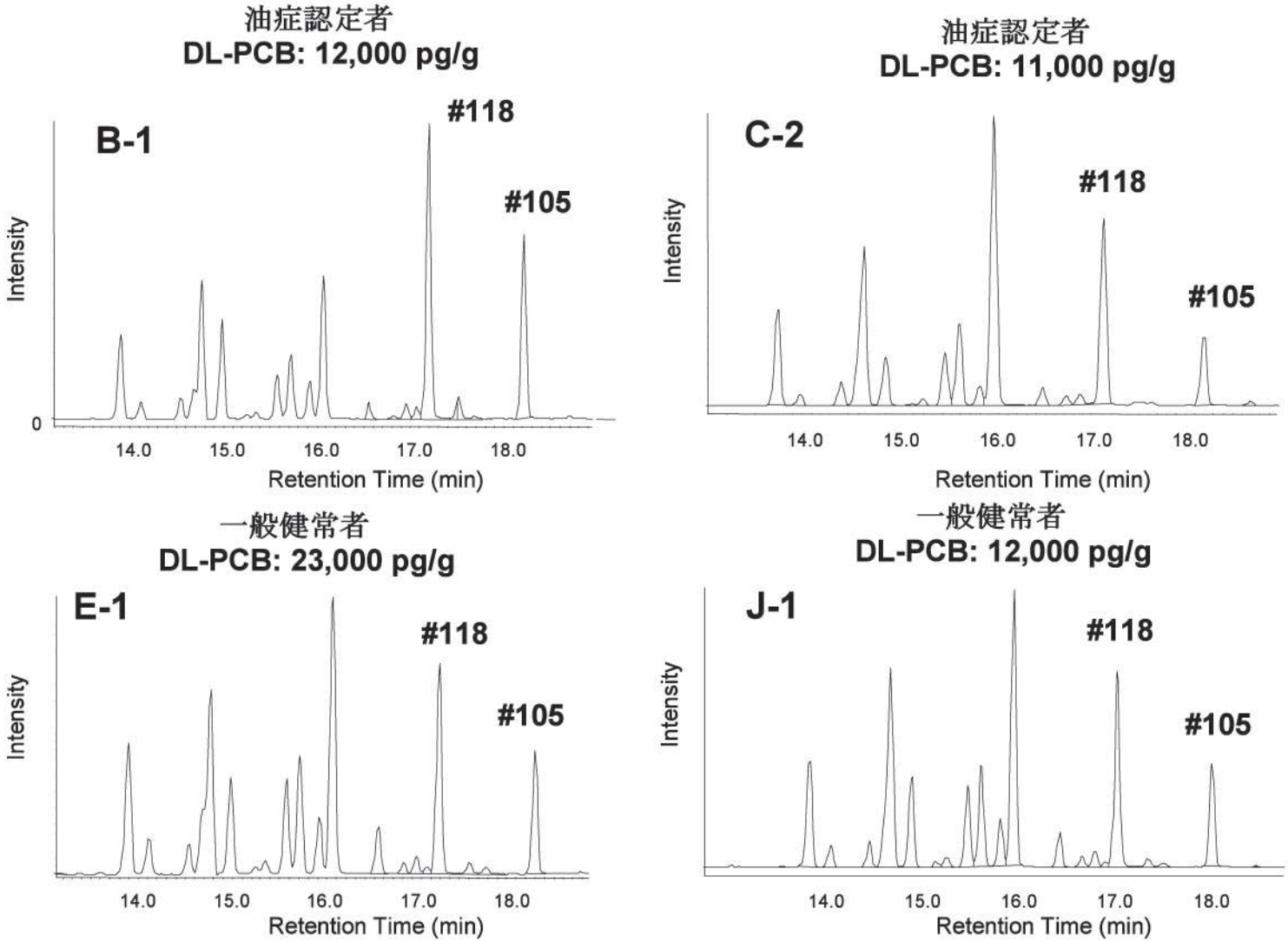



**図5　高濃度被験者におけるへその緒中のPeCBのHRGC/HRMS SIMクロマトグラム**

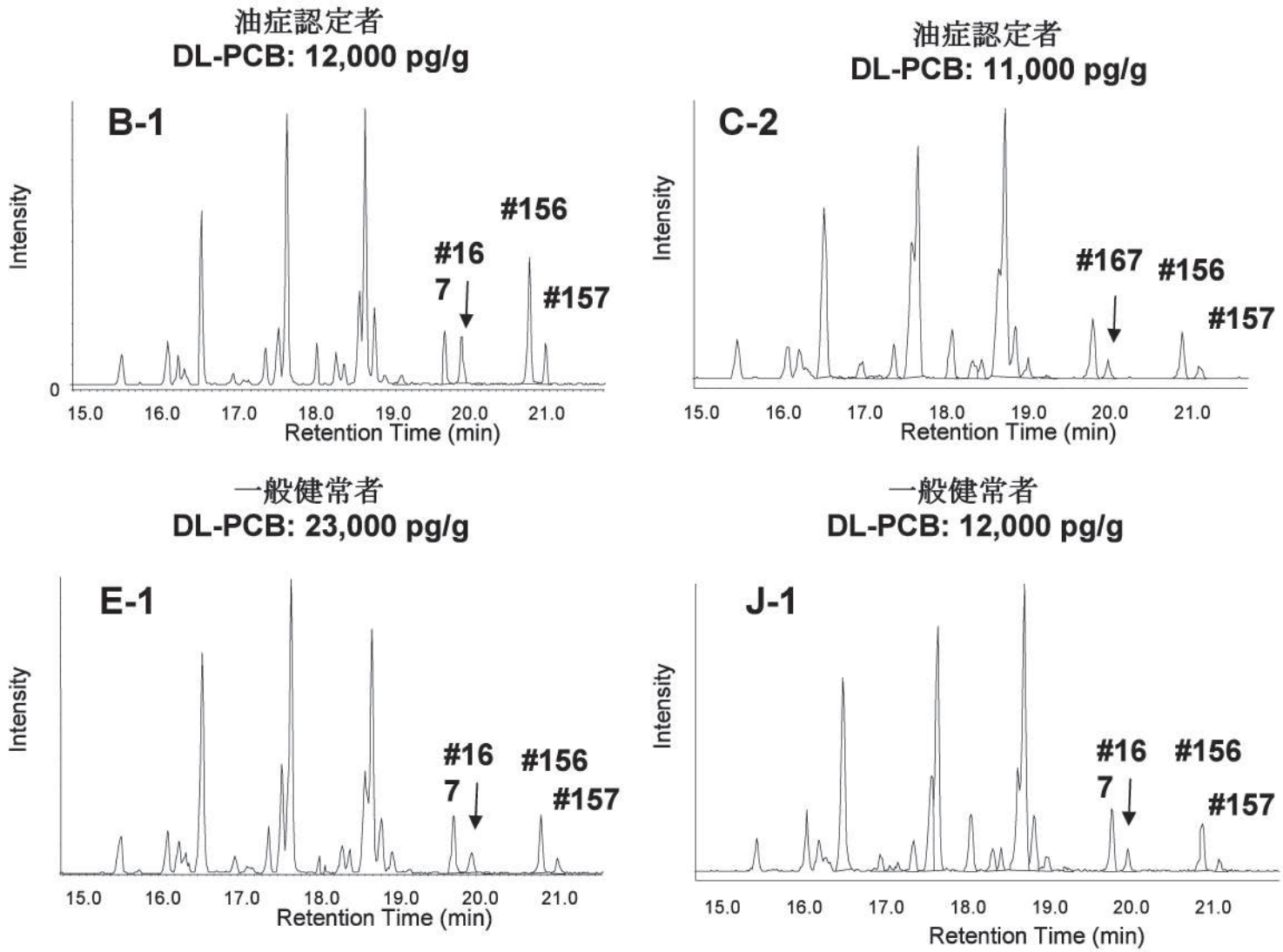



**図6　高濃度被験者におけるへその緒中のHxCBのHRGC/HRMS SIMクロマトグラム**

分担研究報告書

# 胎児性油症の原因物質に関する研究

研究分担者　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**　カネミ油症中毒事件発生後2年～5年で出生した2名の黒い新生児を含む6名の胎児性油症患者と同時期に誕生した5名の健常児の保存臍帯を用いて、PCDFs、PCDDs、ダイオキシン様PCBsおよびPCBsの濃度を分析・定量した。その結果、胎児性油症の90%はPCDFsが原因のPCDFs中毒であることが明らかになった。また、PCDDsとダイオキシン様PCBsの毒性もそれぞれ8%と2%寄与していることが判明した。

## A．研究目的

40年前に発生したカネミ油症（以下油症と略す）中毒事件では、化学分析上の技術的問題から、原因物質の分析が不可能であり、そのために油症患者はその認定や治療に際し、多大の不利益を被ってきた。この研究では、少しでもそのような認定・治療上の欠陥・不備の穴を埋めるために、油症患者と認定された母親から35年～38年前に生まれ、胎児性油症と考えられる患者の保存臍帯中に存在する発症当初の油症原因物質濃度を同じ時期に健康な母親から誕生した健常者の保存臍帯中の濃度と比較・検討することにより、胎児性油症の原因物質を究明しようとするものである。

## B．研究方法

油症と認定された母親から1970年～1973年に生まれ、1974年～1976年に油症と認定された胎児性油症と考えられる患者（男性4名、女性2名、うち男女各1名は皮膚が黒い新生児）の保存臍帯と1966年～1975年に健常な母親から誕生した健常者（男性2名、女性3名）の保存臍帯を化学分析用検体とする。これら保存臍帯中のダイオキシン類－ポリ塩化ダイベンゾフラン(PCDFs)、ポリ塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン(PCDDs)、ダイオキシン様ポリ塩化ビフェニール(ダイオキシン様PCBs)－およびPCBsの濃度をHRGC-HRMSを用いて測定し、両グループの分析結果を比較・検討する。

（倫理面への配慮）

長崎地区および福岡地区の研究協力者に対して、両地区の油症相談員により、この調査の目的と方法、調査への参加とその撤回、調査による利益・不利益、プライバシーや個人情報の保護、調査費用および調査に関する連絡先について、九州大学大学院医学研究院等倫理委員会に提出し、許可された内容に従って十分に説明し、了解されている。

## C．研究結果および考察

### 1．胎児性油症児について、黒い新生児との比較

通常の皮膚と黒い皮膚の胎児性油症児について2,3,7,8-四塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン(2,3,7,8-TCDD)に換算したダイオキシン類濃度を比較すると、Fig.1のようであった。すなわち、前者と後者で、PCDFs、PCDDsおよびダイオキシン様PCBs濃度はそれぞれ12 pg-TEQ/g、1.2 pg-TEQ/g、0.3 pg-TEQ/gと13 pg-TEQ/g、1.4 pg-TEQ/g、0.2 pg-TEQ/gであり、いずれも統計学的有意差は認められなかった。その結果、ダイオキシン類全体の濃度はそれぞれ13 pg-TEQ/gと15 pg-TEQ/gとなった。また、PCBs濃度は前者が106105 pg/g、後者が

97889 pg/g で、ほぼ同じレベルであった。これらの結果から、胎児性油症における皮膚のメラニン色素の沈着は個人的な遺伝素因の相違にあり、ダイオキシン類への曝露のちがいではないと考えられる。

２．胎児性油症児と健常児の比較

胎児性油症児と健常児の保存臍帯における PCDFs、PCDDs、ダイオキシン様 PCBs およびダイオキシン類全体の 2,3,7,8-TCDD 換算濃度を Fig.2 に示す。つまり、それぞれ、12.2 pg-TEQ/g、1.3 pg-TEQ/g、0.3 pg-TEQ/g、13.8 pg-TEQ/g と 0.0 pg-TEQ/g、0.2 pg-TEQ/g、0.1 pg-TEQ/g、0.3 pg-TEQ/g であり、胎児性油症児のほうが 46 倍高かった。また、PCBs 濃度は前者が 100628 pg/g、後者が 53176 pg/g で、前者のほうが約 2 倍高かったが、胎児性油症への PCBs の寄与は無視できると考えられた。これらの結果、胎児性油症への各ダイオキシン類の毒性寄与率を計算すると PCDFs が 90%、PCDDs が 8%、ダイオキシン様 PCBs が 2%となり、成人の油症と同様に、胎児性油症も PCDFs 中毒であることが明らかとなった。

## D．結論

これまで成人油症の 90%は PCDFs によっていると考えられていたが、以上のような研究結果より、胎児性油症も、その毒性の 90%は PCDFs に起因する中毒、つまり PCDFs 中毒であることが判明した。

## E．研究発表

１．論文発表

Nagayama J., Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Yoshimura T. and Furue M.: Evaluation on toxic contribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs determined in the preserved umbilical cords of Yusho patients. Organohalogen Compounds 70: 410-413, 2008.

Nagayama J., Hirakawa H., Kajiwara J., Todaka T., Shibata S., Tsuji H. and Iwasaki T.: Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans by FBRA in patients with Yusho. Organohalogen Compounds 70: 1574-1577, 2008.

２．学会発表

Nagayama J., Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Yoshimura T. and Furue M.: Evaluation on toxic contribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs determined in the preserved umbilical cords of Yusho patients. 28th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs). Birmingham, England UK. August, 2008.

Nagayama J., Hirakawa H., Kajiwara J., Todaka T., Shibata S., Tsuji H. and Iwasaki T.: Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans by FBRA in patients with Yusho. 28th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs). Birmingham, England UK. August, 2008.

Nagayama J., Todaka T., Furue M., Hirakawa H., Kajiwara J., Hori T. and Yoshimura T.: Yusho－PCDF Poisoning－. International Symposium on Environmental Analysis 2008. Fukuoka, Japan. November, 2008.

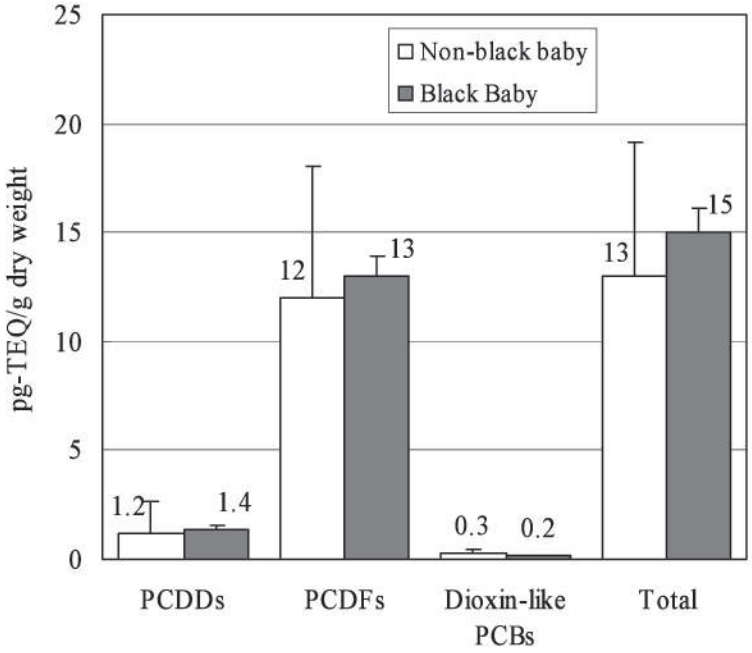



Fig. 1. 2, 3, 7, 8-TCDD Equivalent concentrations in the preserved umbilical cords of black and non-black babies in fetal Yusho patients

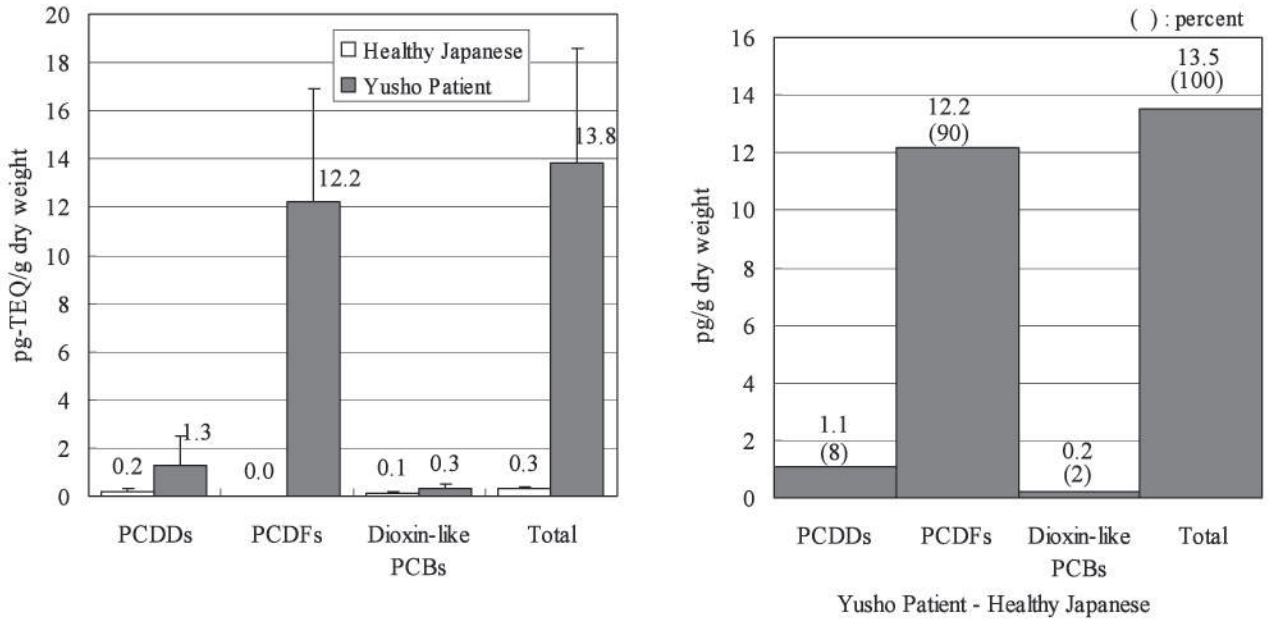



Fig. 2. 2, 3, 7, 8-TCDD Equivalent (WHO 05) concentrations of fetal Yusho patients and healthy Japanese people

分担研究報告書

# 現在の患者ごとの排出速度を考慮したＰｅＣＤＦ排出モデルに関する研究

研究分担者　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　東京大学医学部附属病院企画情報運営部　准教授
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
神奈川芳行　東京大学大学院医学系研究科　大学院生
赤羽　学　奈良県立医科大学　健康政策医学講座　講師

**研究要旨**　2001 年度～2006 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では、患者ごとに半減期が異なっていた。各患者が二つの吸収機構を有するモデルを想定した数理モデルを組み立て、シミュレーションを実施した。シミュレーション結果は、検査結果とよく適合しており、想定したモデルが現実に存在している可能性を示しているものと考えられた。

## Ａ．目的

半減期のバリエーションの研究[1]により PeCDF の半減期が患者ごとに異なることがみつかった。特に、200pg/g 以上の患者では、半減期が 7 年程度の患者と、半減期が無限大、つまり減少していない患者群がいる可能性が示された。このような状況は、今までの研究成果だけでは説明がつかない。これらの現象について、数理モデルを組立て、可能性を見つけ出すことを目的とした。

## Ｂ．研究方法

患者ごとに異なる係数を有するモデルを組立て、計測データとの差異が最小となる係数を数値微分法により求めた。

### Ｂ．１．対象データ

今回は、全患者を対象とせず、昨年の研究の中でみつかった、典型的と考えられる患者３名を対象とした。各患者の血中濃度を表１に示す。

### Ｂ．２．想定モデル

ＰｅＣＤＦを排出する機構に対して、腸管等から再吸収する機構が存在すると仮定し、その再吸収機構として、2 二つの機構を想定する。ひとつは吸収能力が低いが、吸収量に限界の存在しない機構、もうひとつは吸収能力が高いがが、吸収量の限界が存在する機構を想定する。

図１に想定モデルの機構の模式図を示す。$V_0$は、摂取量である。$V_1$は、体内から腸管などへの排泄量であり、体内からの排泄量 $V_1$は体内の総脂肪量 $Q_L$に比例すると仮定する。この体外からの摂取量と体内からの排泄量により、腸管等を通過する量 $V_2$が求められる。限界のない吸収機構での吸収量 V3 は、腸管等を通過する量 V2 に比例すると仮定する。限界が存在する吸収機構での吸収量 V4 は、通過量 V2 と限界量および吸収能力で規定されるシグモイド関数を仮定する。図２に二つの吸収モデルを示す。これらのモデルを年単位に離散化し、シミュレーションを実施し、$\alpha$、$\beta_1$、$\beta_3$、$\beta_4$を引数として、各患者の計測値との差異の二乗を誤差関数とし、この誤算関数を最小化するように係数を求める。

シミュレーション途中で、対数計算と足し算を実施し、計算上の誤差が蓄積しやすく、コンピュータで通常に用意されている数値型では、計算誤差のために適切な結果が得られなかった。このため、平山[2]の可変長演算パッケージ MPPACK を用いて計算を行った。

まず、４つの引数に対して推定を行った。現実と矛盾する結果となった。事件発生当初から１０年程度は、制限のある吸収機構

の割合がほとんど０に近いことから、$\beta_1$、$\beta_3$を半減期を４年になるように固定して、$\alpha$と$\beta_4$を推定することとした。

## C．結果

### C．１．４引数に対する推定結果

表２、図３に結果を示す。現在も減少し続けている患者１では、２つの吸収機構がバランスよく配分されていた。患者２は現在ほとんど減少しておらず、高濃度を維持している患者である。このような患者は、能力制限がない吸収機構がほとんど機能しておらず、初期における暴露においても、ほとんど吸収されなかったが、能力制限がある吸収機構が高能力なため、そのままの濃度を維持している結果となった。患者２はその中間的な値を示していた。

### C．２．半減期４年を想定した推定結果

表３、図４にシミュレーション結果を示す。患者１は、ある程度 PeCDF 濃度が低下しているが、現在も下がり続けている患者である。この患者では、ほぼ同一の半減期できていたが、30 年目ぐらいで半減期が鈍っている。患者２は、残留濃度が高いのに、すでに半減期が停滞していると思われる患者である。この患者では、かなり初期の段階から半減期が鈍っている。患者３は、半減期のほぼ中間的な濃度で、減少を続けている患者である。この患者では、20 年目程度から半減期が鈍っている。

## D．考察

４引数に対する推定を行った場合には、現在ほとんど濃度が減少していない患者では、初期暴露において率としては微量しか吸収されていなかったが、以降は、その濃度を維持していることになり、奇妙な結果となった。これは、PeCDF の濃度の計測値がないため、過去の計測値として不自然であっても数値的な解として正しくなってしまったものと考えられた。このため、初期における濃度に関する情報を用いる必要があった。半減期４年を想定した推定では、初期暴露量と半減期が各患者において同じであったと仮定し、初期においては、ほぼ同じ濃度の動きを示しており、これがどの程度現実を反映しているのかは更なる検証が必要である。

今回想定したモデルは次の二つの吸収機構を有すると仮定した。

（１）吸収能力は低いが、吸収能力の限界が存在しない吸収機構

（２）吸収能力は高いが、吸収能力の限界が存在する吸収機構

これらの二つの吸収機構を想定したことにより、現在の血中濃度の状況を適切に表現可能であると考えられた。これらの二つ吸収機構が存在する可能性を示したものと考える。これらの吸収機構のうち、（１）の機構は、純粋に浸透圧に主要因とする機構が想定でき、（２）は特定の化合物を選択的に回収する機構が想定できるものと考える。

## E．参考文献


1） 今村知明、小池創一、松本伸哉、神奈川芳行、赤羽学.「油症の各患者の血中 PeCDF 濃度の半減期のバリエーションに関する研究」. 厚生労働科学研究　平成 20 年度総括・分担研究報告書.

2） 平山弘.「多倍長演算パッケージ MPPACK の高速化」情報処理学会研究報告. 計算機アーキテクチャ研究会報告 Vol.98, No.18(19980305) pp. 1-6

表 1．PeCDF 濃度

| | 患者1 | 患者2 | 患者3 |
|---|---|---|---|
| 2001年 | 166.3 | 1139.1 | 283.1 |
| 2002年 | 94.8 | 1399.1 | 337.1 |
| 2003年 | 100.7 | 1170.4 | 262.0 |
| 2004年 | 98.4 | 1155.5 | 226.7 |
| 2005年 | 95.4 | 1284.3 | 229.2 |
| 2006年 | 85.1 | 1237.5 | 236.7 |

図 1．想定モデル

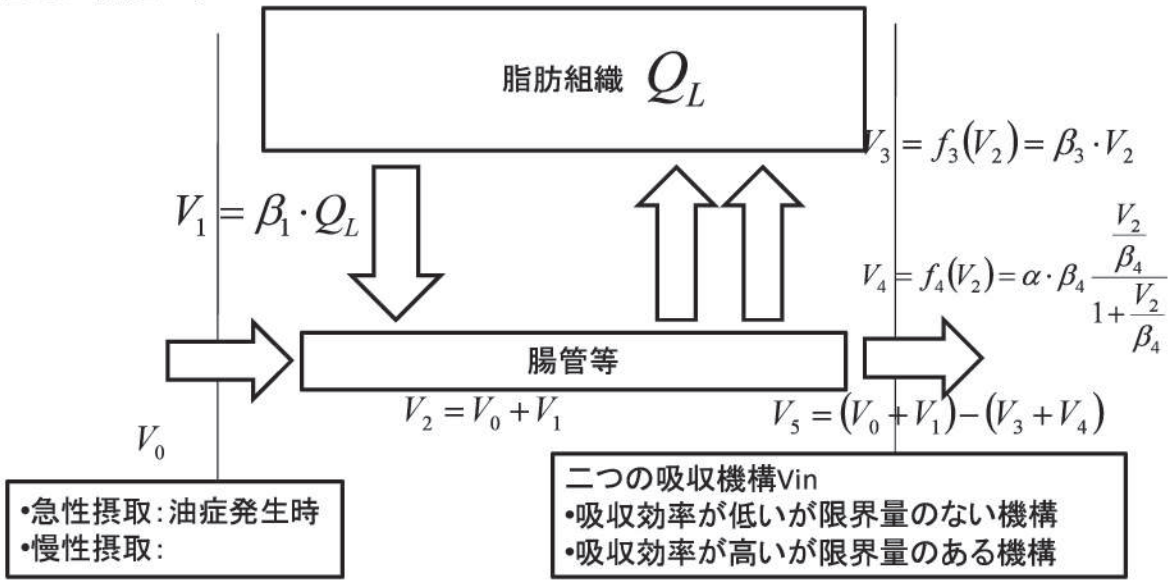



図 2．二つの吸収モデル

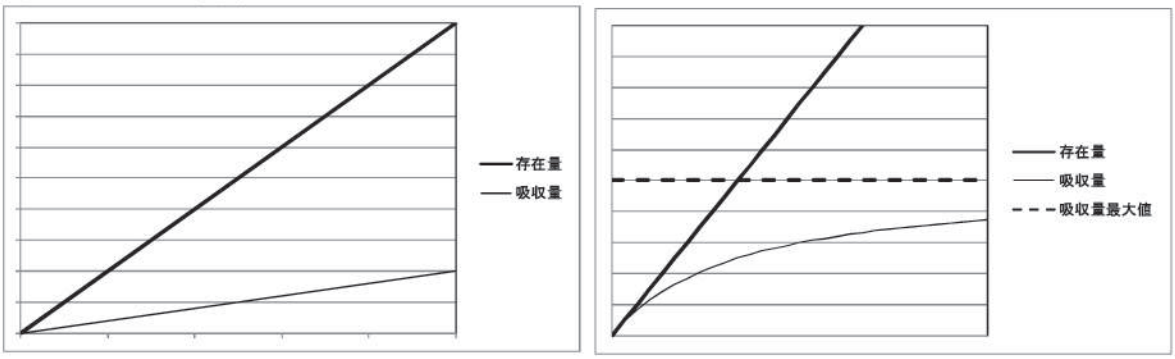



表 2．係数（4係数推定）

| | β1 | β3 | β4 | α |
|---|---|---|---|---|
| 患者 1 | 0.39620 | 0.37601 | 3.96E-07 | 0.61760 |
| 患者 2 | 0.00134 | 0.00068 | 3.23E-07 | 0.55511 |
| 患者 3 | 0.09227 | 0.00261 | 3.22E-07 | 0.55052 |

図３．シミュレーション結果（４係数推定）

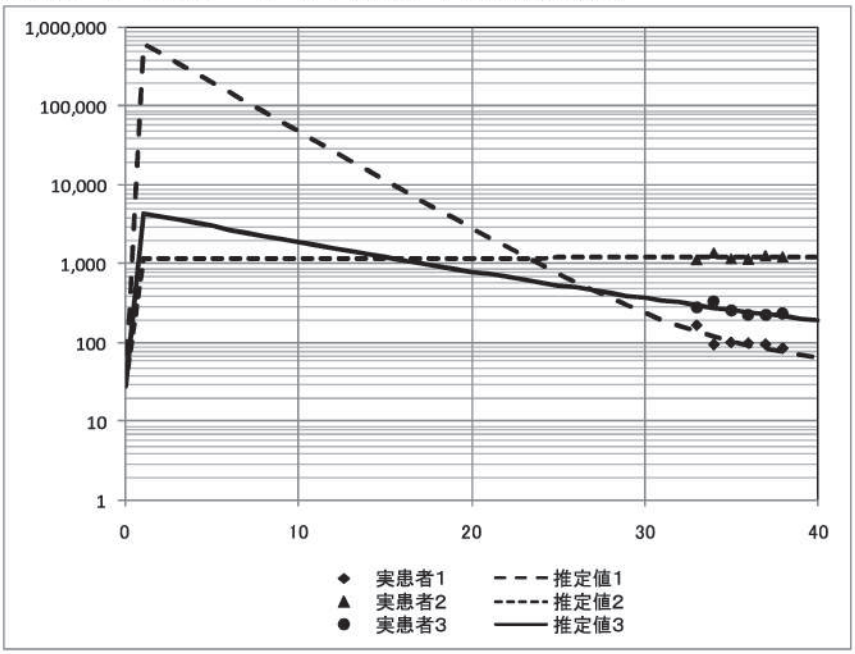
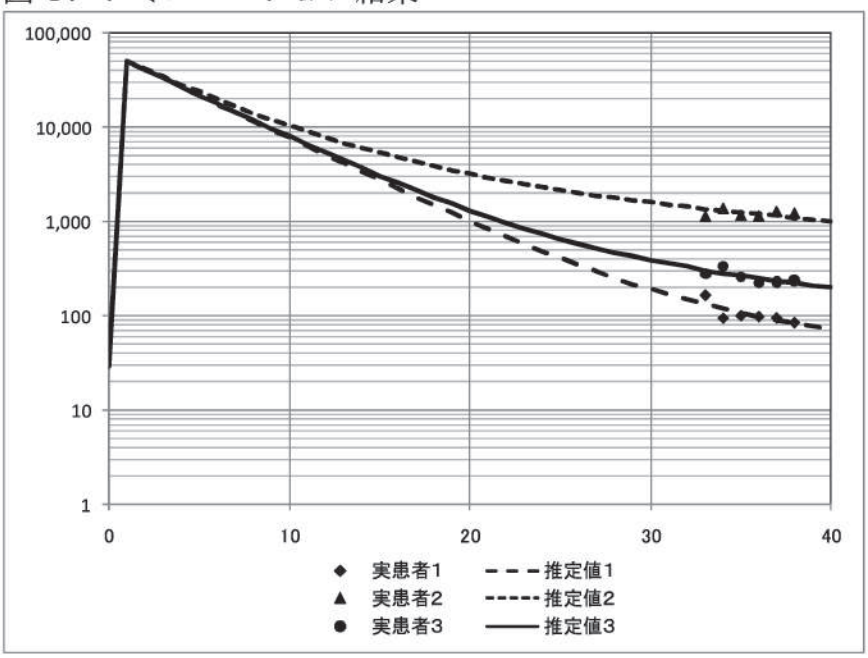



表３．係数（2係数推定）

| | β1 | β3 | β4 | α |
|---|---|---|---|---|
| 患者１ | 0.19505 | 0.03000 | 2.22E-07 | 0.970000 |
| 患者２ | 0.19505 | 0.03000 | 9.43E-06 | 0.970000 |
| 患者３ | 0.19505 | 0.03000 | 1.06E-06 | 0.970000 |

図４．シミュレーション結果



分担研究報告書

# 油症の各患者の血中 PeCDF 濃度の半減期のバリエーションに関する研究

研究分担者　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　東京大学医学部附属病院企画情報運営部　准教授
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
神奈川芳行　東京大学大学院医学系研究科　大学院生
赤羽　学　奈良県立医科大学　健康政策医学講座　講師

**研究要旨**

最近のダイオキシン類の測定技術の進歩により、PeCDF 等の測定が可能になった。油症検診で希望する患者に対して、PeCDF の血中濃度が測定され始めてから、6 年が経過している。本研究は、油症患者の測定結果から PeCDF の半減期を求めることと、さらに、本研究で得られた半減期を、これまで報告されている半減期と比較することを目的とする。

油症患者の PeCDF 濃度を 2 を底とする対数に変換したものを従属変数とし、計測年を独立変数として、線形回帰分析が行われた。この線形回帰分析でえられた 1 次の係数は、半減期の逆数である。

PeCDF の半減期は、患者間で非常に大きなばらつきがあった。特に、油症患者の診断基準の一つである PeCDF 濃度 50pg/g 以上の患者群には、既存の報告と同等の半減期 7 年程度を示す患者群と、PeCDF 濃度が減っていない患者群の 2 群が存在した。

これまでの研究は、PeCDF の半減期が約 7 年と報告している。しかし、本研究は、PeCDF 濃度が減少する群と PeCDF 濃度が高濃度で維持されている群の 2 群が存在することを示した。つまり、これまでに提唱されているような濃度に依存した PeCDF の排出モデルのみでは説明ができない患者群が存在することを示している。ゆえに、我々の研究は、ヒトにおける PeCDF の排出を説明するためには、さらに複雑なモデルが必要なことを示唆している。

## A．目的

近年、PeCDF を含むダイオキシン類の測定技術が発達したことによって、通常の血液検査に必要な血液量で、血中のダイオキシン類の定量が可能となった。2001 年度の油症検診から、希望する受診者に対して、ダイオキシン類の測定が行われている[1,2]。油症検診におけるダイオキシン類の計測開始から 6 年が経過し、実際の患者の計測値を用いた半減期の推定が可能になった。そこで、本研究の目的は、100 名を超える油症患者に対して測定した PeCDF 濃度の変化を元に、PeCDF の半減期を推定することである。

## B．研究方法

### B．1．対象データ

2001 年から 2006 年までの油症定期検診において、PeCDF の血中濃度を 3 回以上測定された患者 762 名を対象とした。毎年 1 回の検診を 6 年連続で受診した患者は 38 名、5 回受診した患者は 162 名、4 回受診は 236 名、3 回受診は 326 名であった。本研究は、各患者における PeCDF の半減期を計算することを目的としているため、PeCDF 濃度を測定したすべての検診受診者を分析の対象にした。

### B．2．想定モデル

血液脂質中の PeCDF 濃度を 2 を底とする対数に変換した値を従属変数とし、測定

年を独立変数として、以下に示す関数を用いて、線形回帰分析は実施された。

$$\log_2 C_{year} = a \cdot year + b$$

これによって得られた傾きの逆数が半減期を示す。例えば、傾きが-1 であれば、1 年で従属変数の値が 1 減少し、PeCDF 濃度が半分になるため、半減期は 1 年となる。傾きが-0.1 であれば、10 年で従属変数の値が 1 減少し、PeCDF 濃度が半分になるため、半減期は 10 年である。

## C．結果

### C．１．傾き・濃度関係

図 1 は代表的な患者の計測値と線形回帰の推定式を示している。患者 1 では、傾きが-0.023 であるため、PeCDF の半減期は、43.5 年である。患者 2 では、傾きが 0.006 で正であるために半減期ではなく、PeCDF の倍増期間が 167 年と算出された。

受診回数別、濃度区分別の各患者の傾きの平均値を表 1 に示す。2004 年における PeCDF 濃度によって、濃度区分は作られている。500pg/g 以上の区分で 6 回受診した患者は、10 人いた。その 10 人の患者の傾きの平均値は-0.0199 であったため、半減期は 50.2 年であった。10 人での傾きの標準偏差は 0.0438 であり、傾き 0 が 95%の信頼区間に含まれていた。

### C．２．受診回数ごと、濃度区分ごとの傾きの平均値

図 2 に、受診回数ごと、濃度区分ごとの傾きの平均値が示されている。PeCDF 濃度 20pg/g から 50pg/g の範囲では、各受診回数における傾きの平均値は 0 に近く、PeCDF 値の増減があまりない。これに対し、50pg/g から 100pg/g の範囲では、傾きが-0.04 から-0.08 であり、体内の PeCDF は減少傾向にある。濃度がさらに高くなるにつれて、傾きが小さくなり、半減期が大きくなる傾向があるようにみえる。

### C．３．５回以上受診患者の濃度別傾き

傾きを 0.025 刻みの区分にして、そこに入る患者の人数が、図３～図７の度数分布グラフに示されている。横軸は、推定された半減期を表している。PeCDF 測定の誤差によるぶれが半減期の推定に影響を及ぼしている場合には、この度数分布において、患者の人数の分布が釣鐘型になると考えられる。油症検診は単一の測定装置を用いて行われているために、測定機器の違いによる測定値の偏差は存在しない。

（１）PeCDF 濃度：500pg/g lipid 以上

図３は、500pg/g 以上の PeCDF 濃度の患者における、推定半減期ごとの度数分布グラフである。推定半減期が 8 年から 10 年であった患者が 1 名、13.3 年から 20 年が 2 名、20 年から 40 年が 3 名、40 年以上が 2 名であった。驚くことに、増加傾向を示すものが 6 名おり、そのうちの 4 名は 40 年以上で、2 名は 20 年から 40 年で PeCDF 濃度が倍増すると推定された。

（２）200-500pg/g lipid

PeCDF 濃度が 200-500pg/g の患者における、度数分布グラフが図４に示されている。推定半減期が 20 年から 40 年の患者が 7 名で、もっとも人数が多かった。推定半減期が 20 年から 40 年の区分を中心とした釣鐘型の分布傾向があった。

（３）100-200pg/g lipid

半減期 40 年以上と推定される患者が 8 名いた（図５）。半減期 40 年以上とは、実際の生体内濃度はほとんど変化していないと推測される。また、推定半減期 8 年から 10 年、10 年から 13 年の区分にそれぞれ 3 名の患者がおり、もう一つの小さなピークを作っている。

（４）50-100pg/g lipid

推定半減期が 40 年以上の患者が 4 名いる一方、半減期 8 年から 10 年の患者が 3 名おり、ふたつのピークをなしているように思われる（図６）。

（５）20-50pg/g lipid

半減期 5 年から 6.67 年の範囲に 3 名の患者がいる一方、13 年から 20 年で体内の PeCDF 濃度が倍増する患者が 6 名いた（図７）。患者の度数分布は、PeCDF 濃度が増加傾向を示す者と減少傾向を示す者の両方にまたがっていた。一部の患者の半減期

は、この群のピークから離れた傾向を示していた。

## D．考察

ダイオキシン類による人に対する健康被害は、これまでにいくつかある。代表的なものとして、日本での油症、台湾でのYucheng、そしてSevesoでの被害が報告されている。ダイオキシン類は、生体内に取り込まれると、脂肪と親和性が高いために脂肪組織に蓄積されることが報告されている。ダイオキシン類の排泄に関する研究は、ラットやヒトで行われており、多数のダイオキシン類の半減期に関する研究がある[3,4,5,6]。Geyer[3]らは、ダイオキシン類の人における半減期は、ラットの150倍であり、種による違いが非常に大きいと報告している。Kerger[4]らは、Sevesoで被害を受けた子供たちの調査を行い、ダイオキシン類の半減期が年齢と濃度に依存していると報告している。Leung[5]らは、５名の油症と３名の Yucheng の患者の調査結果から、PeCDFの半減期を推定し、高濃度の場合には1.1年であり、低濃度の場合には 7.2 年であったと報告している。PCDFsの半減期は濃度と年齢に依存していると結論している。

我々も本研究で、１００名以上の油症患者の検診結果を用いて、PeCDFの半減期を計算した。我々の結果は、PeCDF 濃度が50pg/g 以下である患者の半減期は、比較的長く、中には増加している患者さえ存在することを示している。これは生体内PeCDFの排泄と自然増が拮抗している状態であろうと我々は考える。濃度が 50pg/g 以上の患者では、傾きが大きくなっていたが、これは半減期が短いことを示している。さらに、濃度が100pg/gの患者では、濃度が高くなるにつれて、推定半減期は長くなっていた。先に述べたように、これまでの報告では、PeCDF濃度が高い場合は半減期が短く、濃度が下がるとともに半減期が長くなるとされているが、この点は我々の結果と異なっていた。

我々の結果は、図８に示すような二つのタイプの患者群が存在する可能性を示唆している。これまでに報告されているような単純なモデルでは、この現象を説明することが困難である。ゆえに、これまでのモデルに加えて、別なモデルが必要であると我々は考える。新たなモデルを考える上で、次の 2 パターンの患者群が存在する可能性に留意する必要がある。

（１）一般的な半減期として知られているスピードで現在もPeCDFが減少いる患者（図８の患者Ｂのパターン）

（２）初期の排出速度は速かったが、現在は極めてPeCDFの排出速度が遅い患者(少なくとも半減期が２０年以上である患者、図８の患者Ａのパターン)

特に、患者Ａのパターンに関しては、次のように言いなおすことができる。

（１）初期と後期で半減期や排泄率は異なり、それぞれに個人差がある

（２）排泄率に鈍化が起こる濃度に個人差がある。

本研究にはリミットが存在する。一つ目は、今回得られた結果には、計測上の誤差が含まれている点である。誤差をできるだけ小さくするために、今後さらに経過観察を行うことで、データの精度を上げる必要がある。二つ目は、すでに事件発生後何年も経過しており、現在のPeCDF濃度を元にして、PeCDFの濃度の推定を行うことが困難な点である。各患者の個人差を加味し、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かもしれない。

結論として、我々は、2001 年から 2006 年で行われた PeCDF 濃度の測定結果から、その半減期を推定した。我々のデータは、これまでに報告されている半減期とは異なる PeCDF 濃度の変化を示す患者群が存在することを示した。PeCDF濃度の変化が少ない患者が、すべての濃度区分で存在した。

## E．参考文献

1)Iida T, Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Matsueda T, Hori T, et al: Follow-up

survey of dioxins in the blood of Yusho (in 2001). Fukuoka Igaku Zasshi 2003, 94:126-135.
2)Kanagawa Y, Imamuara T: Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood levels of PCDFs in patients with Yusho. J Dermatol Sci 2005, (Suppl 1):85-93.
3)Geyer HJ, Schramm KW, Feicht EA, Behechti A, Steinberg C, Brüggemann R, Poiger H, Henkelmann B, Kettrup A. Half-lives of tetra-, penta-, hexa-, hepta-, and octachlorodibenzo-p-dioxin in rats, monkeys, and humans--a critical review. Chemosphere. 2002;48(6):631-644.
4)Kerger BD, Leung HW, Scott P, Paustenbach DJ, Needham LL, Patterson DG Jr, Gerthoux PM, Mocarelli P. Age- and concentration-dependent elimination half-life of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in Seveso children. Environ Health Perspect. 2006;114(10):1596-1602.
5)Leung HW, Kerger BD, Paustenbach DJ, Ryan JJ, Masuda Y. Concentration and age-dependent elimination kinetics of polychlorinated dibenzofurans in Yucheng and Yusho patients. Toxicol Ind Health. 2007;23(8):493-501.
6)Ryan JJ, Levesque D, Panopio LG, Sun WF, Masuda Y, Kuroki H. Elimination of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) from human blood in the Yusho and Yu-Cheng rice oil poisonings. Arch Environ Contam Toxicol. 1993;24(4):504-512.

## 表１　受診回数別濃度区分ごとの傾きの平均値

| 2004年推定濃度 | | 500- | 200-500 | 100-200 | 50-100 | 20-50 | 10-20 | -10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6回受診 | 患者数 | 10 | 6 | 7 | 4 | 8 | 2 | 1 |
| | 傾き平均 | -0.0199 | -0.0490 | -0.0585 | -0.0850 | -0.0080 | -0.1389 | -0.1089 |
| | 標準偏差 | 0.0438 | 0.0465 | 0.0542 | 0.0677 | 0.1090 | 0.0919 | |
| | 半減期(年) | 50.20 | 20.43 | 17.09 | 11.76 | 125.56 | 7.20 | 9.18 |
| | 半減期95%信頼区間 | -15.2年以下<br>又は<br>9.5年以上 | -23.8年以下<br>又は<br>7.1年以上 | -21年以下<br>又は<br>6.1年以上 | -20.9年以下<br>又は<br>4.6年以上 | -4.9年以下<br>又は<br>4.5年以上 | -24.3年以下<br>又は<br>3.1年以上 | |
| 5回以上受診 | 患者数 | 14 | 31 | 26 | 18 | 36 | 23 | 14 |
| | 傾き平均 | -0.0202 | -0.0429 | -0.0489 | -0.0702 | 0.0048 | -0.0218 | 0.0197 |
| | 標準偏差 | 0.0414 | 0.0585 | 0.0820 | 0.1078 | 0.0806 | 0.0918 | 0.1209 |
| | 半減期(年) | 49.60 | 23.33 | 20.45 | 14.25 | -209.13 | 45.77 | -50.70 |
| | 半減期95%信頼区間 | -16.4年以下<br>又は<br>9.9年以上 | -13.9年以下<br>又は<br>6.3年以上 | -8.9年以下<br>又は<br>4.8年以上 | -7.1年以下<br>又は<br>3.6年以上 | -6.1年以下<br>又は<br>6.5年以上 | -6.3年以下<br>又は<br>5年以上 | -3.9年以下<br>又は<br>4.6年以上 |
| 4回以上受診 | 患者数 | 17 | 44 | 34 | 26 | 50 | 40 | 25 |
| | 傾き平均 | -0.0396 | -0.0351 | -0.0430 | -0.0491 | 0.0125 | -0.0081 | -0.0010 |
| | 標準偏差 | 0.0682 | 0.0673 | 0.0792 | 0.0974 | 0.0763 | 0.1124 | 0.1365 |
| | 半減期(年) | 25.26 | 28.45 | 23.25 | 20.36 | -79.86 | 123.62 | 1032.18 |
| | 半減期95%信頼区間 | -10.6年以下<br>又は<br>5.8年以上 | -10.3年以下<br>又は<br>6年以上 | -8.9年以下<br>又は<br>5年以上 | -7.1年以下<br>又は<br>4.2年以上 | -6.2年以下<br>又は<br>7.3年以上 | -4.7年以下<br>又は<br>4.4年以上 | -3.8年以下<br>又は<br>3.7年以上 |
| 3回以上受診 | 患者数 | 22 | 63 | 40 | 36 | 65 | 61 | 39 |
| | 傾き平均 | -0.0461 | -0.0227 | -0.0390 | -0.0479 | 0.0083 | 0.0010 | -0.0161 |
| | 標準偏差 | 0.0758 | 0.0865 | 0.0975 | 0.0921 | 0.1408 | 0.1089 | 0.1638 |
| | 半減期(年) | 21.71 | 43.99 | 25.63 | 20.88 | -120.31 | -1013.08 | 62.06 |
| | 半減期95%信頼区間 | -9.8年以下<br>又は<br>5.1年以上 | -6.8年以下<br>又は<br>5.2年以上 | -6.6年以下<br>又は<br>4.3年以上 | -7.5年以下<br>又は<br>4.4年以上 | -3.5年以下<br>又は<br>3.7年以上 | -4.7年以下<br>又は<br>4.7年以上 | -3.3年以下<br>又は<br>3年以上 |

図１　実際の患者の濃度と線形回帰式

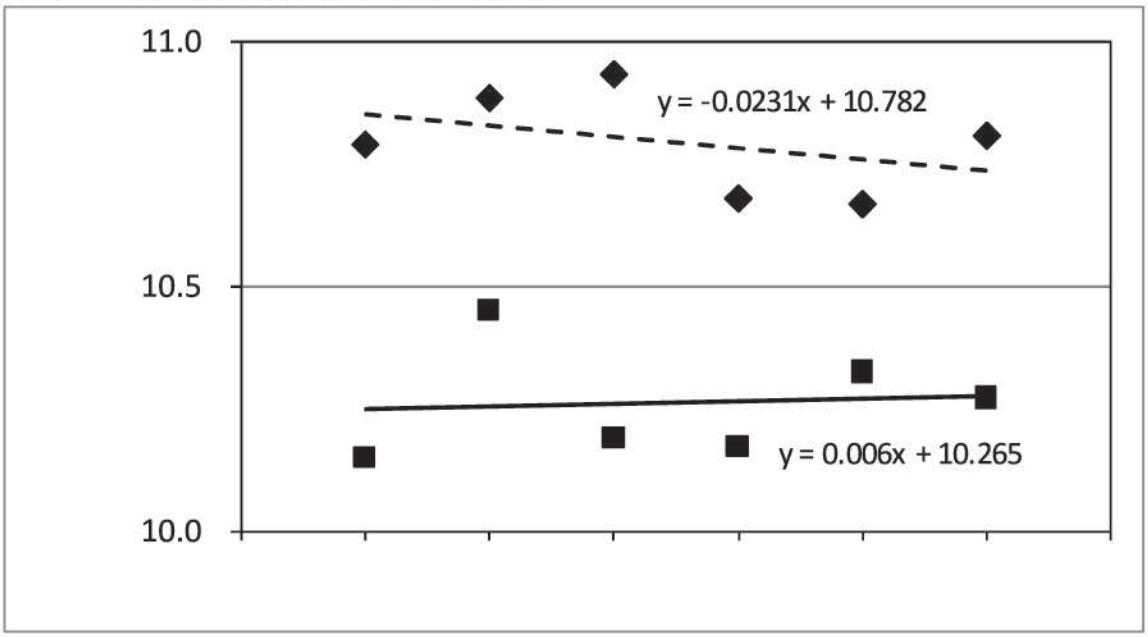



図２　受診回数別濃度区分ごとの傾きの平均値

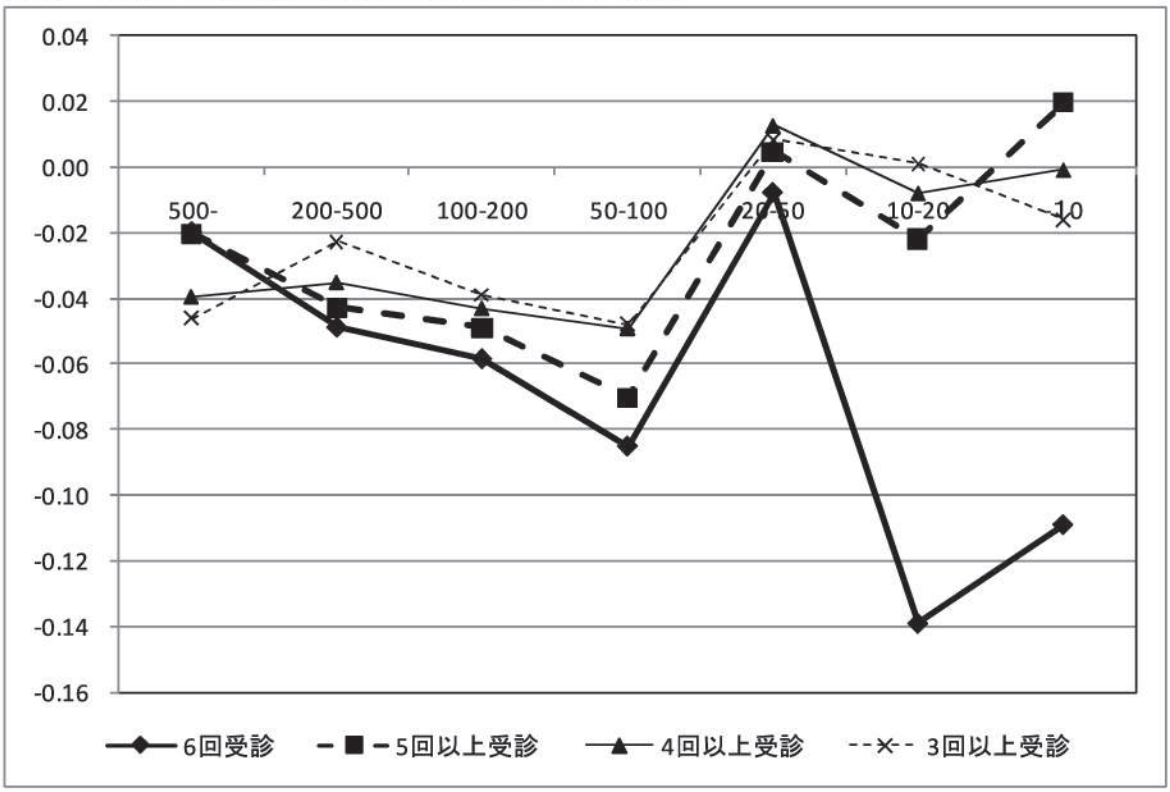


図 3　500pg/g 以上の患者の半減期＝傾きの分布

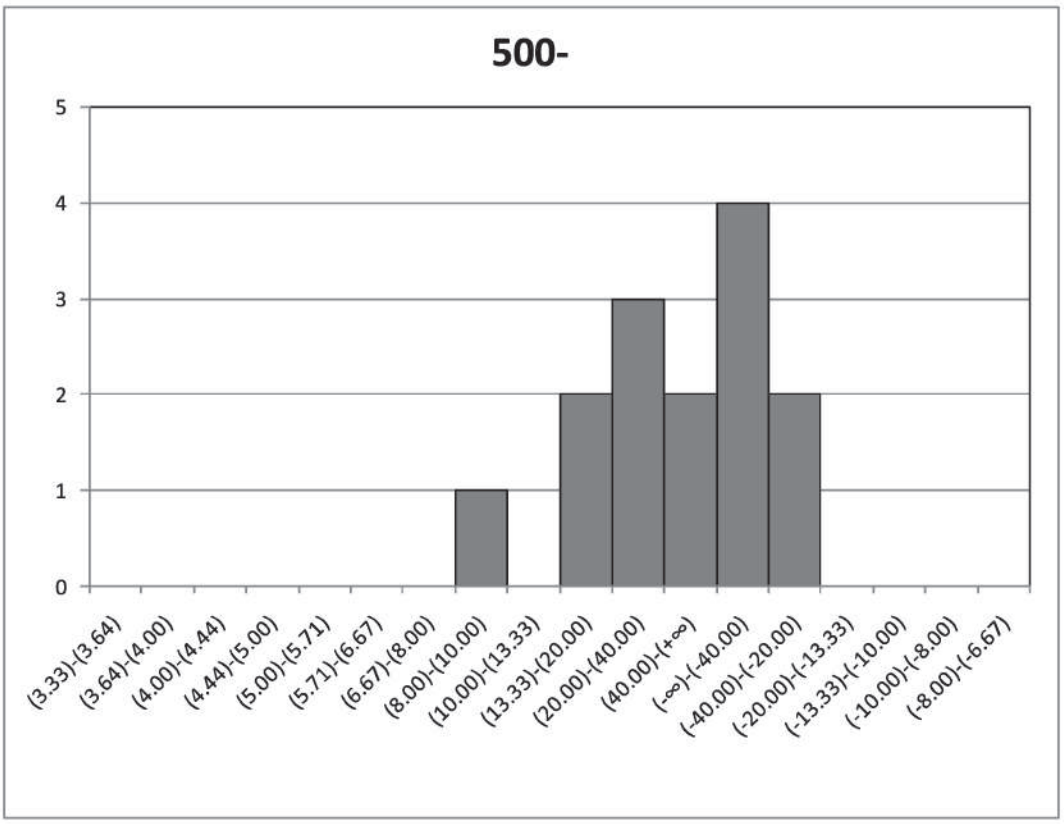



図 4　200pg/g～500pg/g 以上の患者の半減期＝傾きの分布

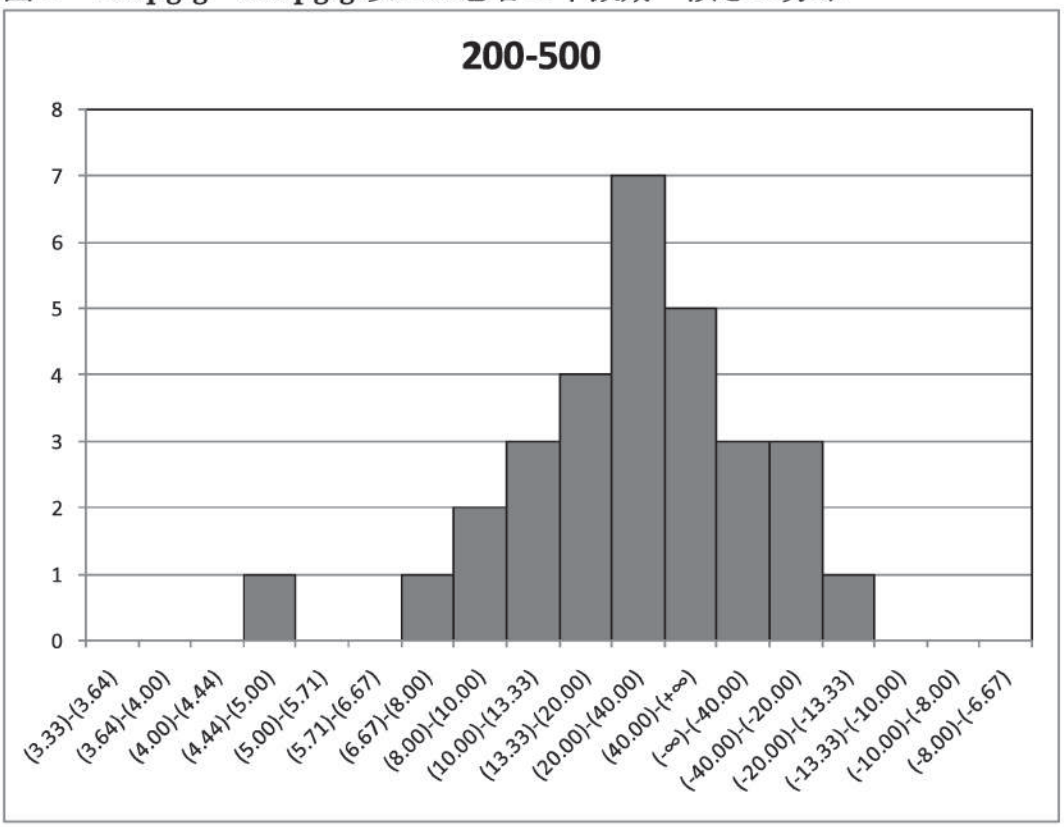


図 5　100pg/g～200pg/g 以上の患者の半減期＝傾きの分布

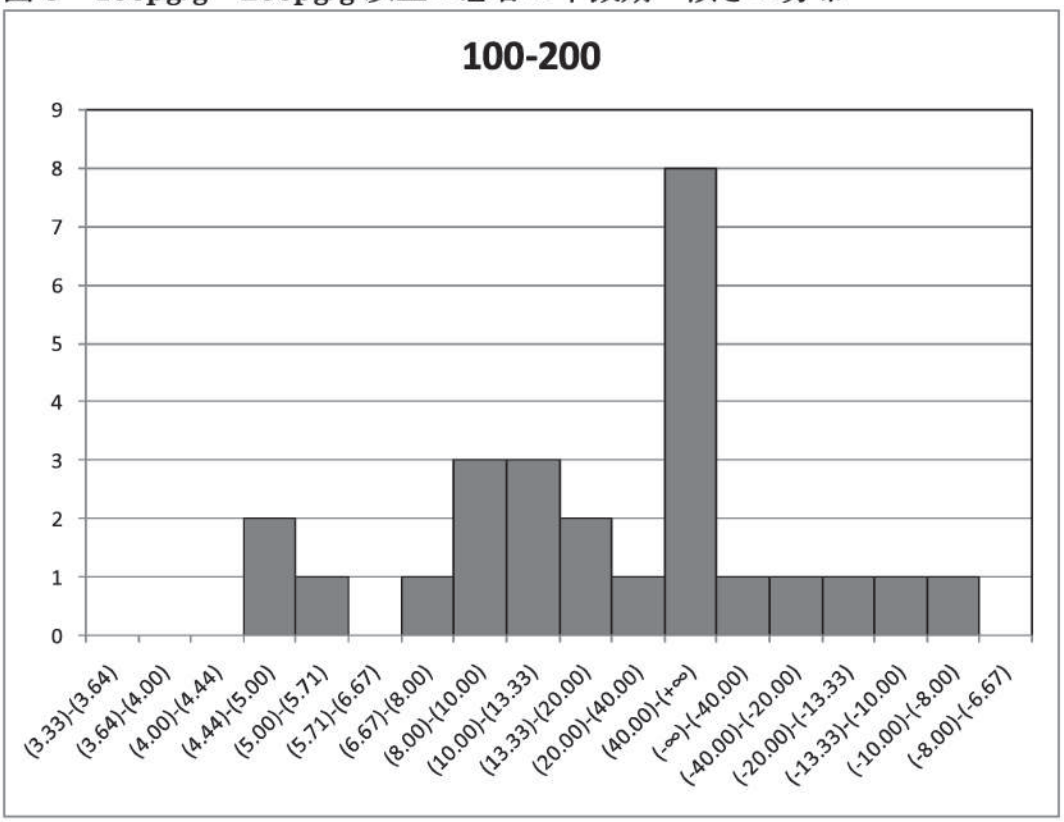



図 6　50pg/g～100pg/g 以上の患者の半減期＝傾きの分布

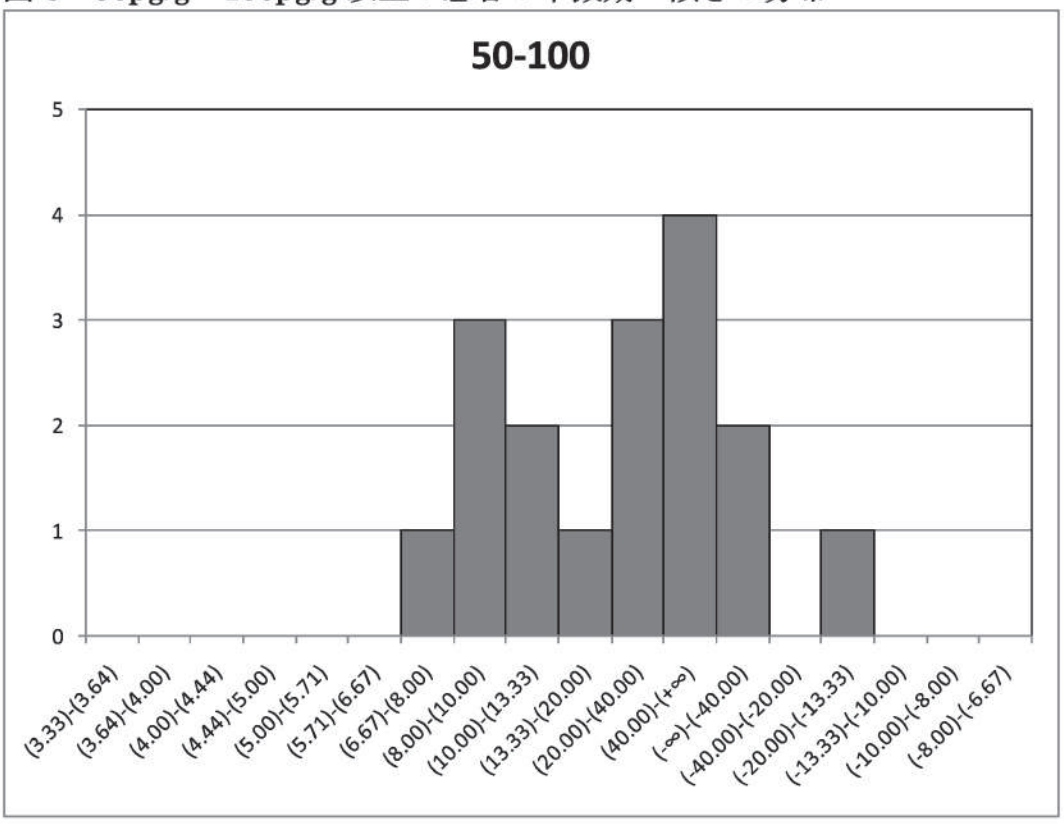


図 7　20pg/g～50pg/g 以上の患者の半減期＝傾きの分布

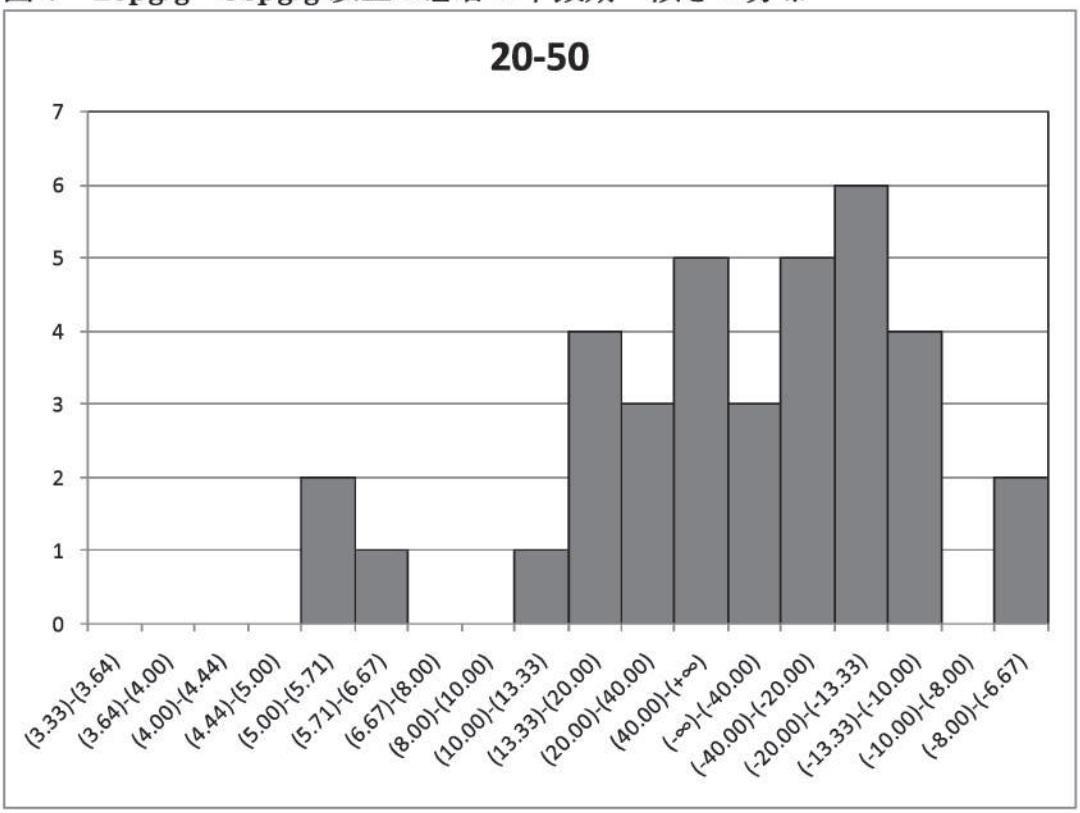
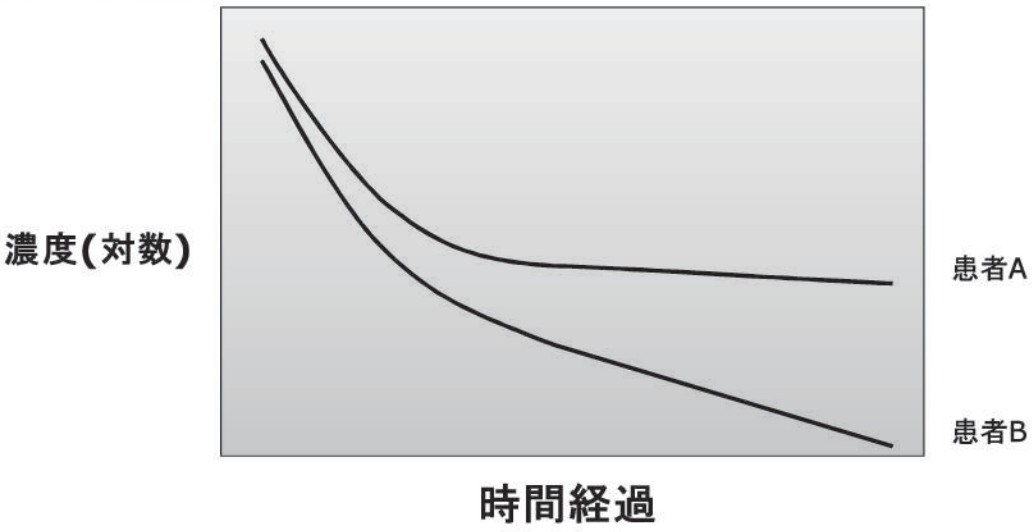



図 8　想定される濃度の減少速度



分担研究報告書

# ダイオキシンの aryl hydrocarbon receptor signaling を介したケモカイン・サイトカインの産生について：ヒト表皮細胞への benzo(a)pyrene 投与による IL-8 産生の検討

研究分担者　古江　増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授
研究協力者　辻　　学　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野
　　高原　正和　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　助教

**研究要旨**　喫煙者の血中濃度と報告される 40nM の benzo(a)pyrne(BaP)をヒト表皮細胞に投与したところ、コントロールと比較して有意な IL-8 の産生量の増加が認められた。IL-8 の産生量は、BaP の用量依存性の増加が認められた。また、aryl hydrocarbon receptor (AhR)の選択的な antagonist である resveratrol を BaP と同時に投与したところ、IL-8 の産生量が減少したことから、ヒト表皮細胞における BaP による IL-8 の産生は、AhR signaling を介していることが示唆された。

## A．研究目的

本研究の目的は、ダイオキシン類が、皮膚免疫にどのような影響を与えるかを解明することにある。これまでダイオキシン類の人体への影響は、各臓器にわたって検討され、先天性異常、代謝・内分泌疾患、悪性腫瘍、自己免疫疾患については数多くの報告がなされている 1)。しかし、皮膚は外界物質から人体を防護するバリアー機能の役割と免疫能を有する器官であるが、その免疫能への影響を研究した報告は数少ないと考えられる。

そこで、我々は、皮膚の最外層に位置するヒト表皮細胞にダイオキシン類を投与し、ケモカインであり炎症性サイトカインとしても機能する IL-8 の産生について検討することとした。IL-8 は病巣への好中球遊走を強力に促進するため、皮膚科領域では、皮膚感染症（細菌感染症、真菌感染症）や好中球が病態形成で重要な位置を占める皮膚疾患（乾癬、掌蹠膿疱症等）において、重要な役割を果たしていると考えられている。

研究に用いたダイオキシン類は、我々が身近に遭遇する機会があるものとして、ディーゼル排気ガスやタバコの煙中に存在する benzopyrene (BaP)を用いることとした。BaP は、市街地の環境汚染物質として検出され、また喫煙者からは、20-40nM の濃度で血中から検出される 2)と報告がある。BaP によるヒト表皮細胞への影響を調べることは、環境汚染あるいはタバコによる健康被害の一部を調べることにもなり、今後増々有用な知見となりうると考えられる。

## B．研究方法と結果

○ 蛍光抗体法

蛍光抗体法を用いて、AhR の細胞内局在について検討を行った。BaP1μM をヒト表皮細胞に投与し、3,6 時間後に抗 AhR 抗体を用いて、蛍光染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

Fig.1 に示すように、ヒト表皮細胞の AhR は BaP 投与 6 時間で、細胞質から核内への移行が認められた。BaP 投与前（non-treatment）では、細胞質に存在する AhR が染色され、BaP 投与 3 時間後では

細胞質と核が共に染色され、6時間後では核のみが染色された。

○リアルタイムPCR

AhR signalingの標的蛋白のmRNA発現をみるため、*AhR*、AhR nuclear toranslocator *(ARNT)*、*CYP1A1*、及び*IL-8*についてリアルタイムPCRを行った。24穴シャーレに培養した$1.0\times10^5$個のヒト表皮細胞にBaP（20 nM-10 μM）投与し、3,6,24 時間後に細胞を回収した。各投与群の遺伝子発現量（Ct 値）とコントロール群（DMSO3,6,24 時間投与群）の Ct 値とを*GAPDH*で補正を行い、比較を行った。

Fig.2に遺伝子発現の比率を示す。

全ての群において、BaP投与6時間後にコントロール群に比べて、発現の増加が認められ、24 時間後に発現の低下が認められた。また、*AhR, ARNT, IL-8*は、BaP濃度が高くなるにつれて、発現の比率が低下するのに対し、*CYP1A1*はBaPの用量依存性に発現の増加が認められた。

○ ウエスタンブロット

BaP(20nM-10 μM)をヒト表皮細胞に投与し、24時間後に蛋白の抽出を行った。BCA法で、各群の蛋白濃度を測定し、10μgの蛋白質が泳動されるようにサンプルを調整した。電気泳動した蛋白は、PVDF 膜に転写し、抗 AhR 抗体、抗 ARNT 抗体、抗 CYP1A1 抗体を用いて検出した。

Fig.3Bに結果を示す。

AhRとARNTは、BaPの濃度が高くなるにつれて、蛋白量が減少するのに対し、CYP1A1はBaPの濃度依存性に、蛋白量の増加が認められた。

○ ELISA法によるIL-8の産生量の測定

24 穴シャーレに培養した$1.0\times10^5$個のヒト表皮細胞に BaP（20 nM-10 μM）投与し、24 時間後に培養液（1ml）中の IL-8 の産生量を ELISA 法で測定した。また、BaP10 μM投与群は、resveratrol（10nM-10 μM）を同時に投与した群を設け、resveratrol の IL-8 産生への影響を検討した。

Fig.3Aに示すように、IL-8の産生量は、BaPの用量依存性に増加が認められた。また、コントロール群（DMSO 投与群）とBaP40nM投与群の IL-8 の産生量を比較したところ、BaP40nM投与群の IL-8 の産生量は有意($p<0.05$)な増加が認められた。

次に、BaP10 μMとresveratrol（10nM-10 μM)を同時に投与した結果をFig.3Cに示す。

Resveratrol 10 μM のみの投与で、IL-8の産生量はわずかに増加しているが、コントロール群と較べて、有意な増加は認められなかった。BaP10 μMによるIL-8産生量の増加は、Resveratrol10nM, 100nM, 1 μMを加えることで有意($p<0.05$)な抑制が認められた。

（倫理面への配慮）

本研究は、培養細胞を用いた実験系で構成されており、倫理面の特別な配慮は必要ないと考えた。

## C. 考察

本研究は、ヒト表皮細胞における BaP 投与による IL-8 の産生について検討を行った。まず、BaP投与によりヒト表皮細胞のAhR signalingが活性化するかどうか検討を行ったところ、Fig.1で示したように、BaPの投与によって、AhRは細胞質から核内へ移行が認められた。これは AhR が、核内で ARNT とともにXRE(xenobiotic response elements)を活性化し、CYP1A1 を誘導するものと考えられた。次に、Fig.2に示したように、BaP は用量依存性に、ヒト表皮細胞の AhR signaling の標的蛋白の mRNA を調整し、これは蛋白レベルでも確認された。（Fig.3）これらのことから、ヒト表皮細胞には、機能的なAhR signalingが備わっていることが示唆された。

次に、IL-8の産生は、Fig.2に示すよ

うにBaP投与によりmRNAの発現増加が認められ、培養液中のIL-8の産生量は、BaP の用量依存性に増加が認められた（Fig.4A）ことより、BaP投与によってヒト表皮細胞はIL-8を産生しうることが示された。特に、BaP40nMという喫煙者の血中濃度とされる濃度で、有意にIL-8 の産生の増加が認められたことは、BaPが極低用量でヒト表皮細胞に、IL-8を産生させ、その結果、炎症性サイトカインの産生を誘導しうることを示唆しており、これは喫煙で悪化すると報告される皮膚疾患（掌蹠膿疱症や乾癬）の病態解明の一助になる可能性がある。また、BaPは、タバコの他にも環境汚染物質として検出されることから、環境汚染に伴う皮膚症状に関与している可能性も十分に考えられる。

BaPによるIL-8の産生は、AhRの選択的antagonistであるresveratrolによって抑制された(Fig.4B)ことから、IL-8の産生はAhR signalingを介していることが示唆された。これは同時に、resveratrol が治療薬になりうると考えられ、臨床応用にむけた更なる基礎研究による検討が必要と考えられる。

## D. 研究発表

１．学会発表

2007年7月18日
第 39 回日本・職業アレルギー学会総会・学術大会(東京)

2008年12月5日
International Conference on Enviromental Hormones and Health Effects（台北）

## E. 参考文献

1. Developmental Immunotoxicology: Focus on Health Risks Chem Res Toxicol. 2008 Sep 11 Dietert RR.
2. Benzopyrene diolepoxide-DNA adducts in alveolar macrophages of smoker Carcinogenesis A.Izzoti

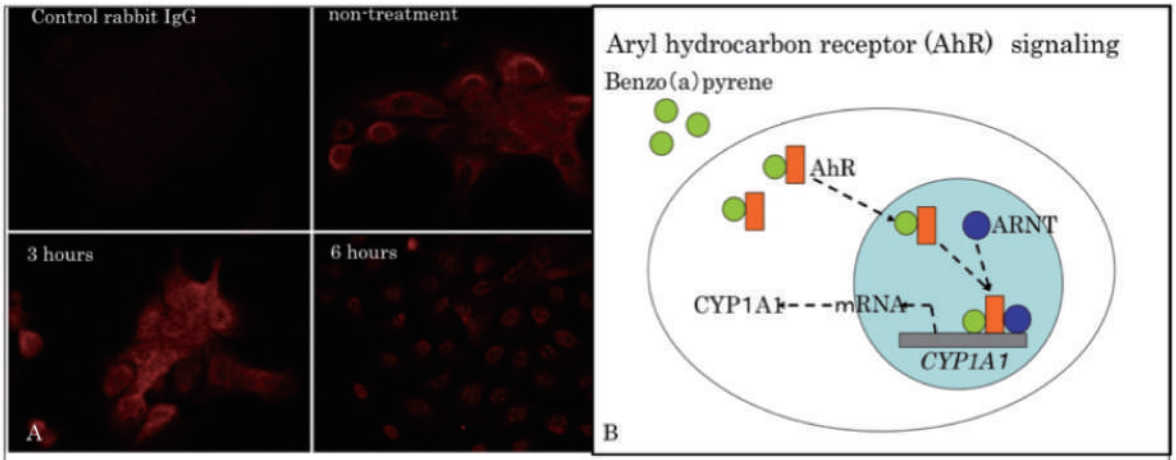



**Figure 1 The aryl hydrocarbon receptor (AhR) translocates in the nucleus within 6 hours after BaP is administered.**

A. Normal human epidermal keratinocytes grown on coverslips were non-treatment (Control), treated with 1 μM BaP for 3h and 6 h. The distribution of AhR was observed by immunocytochemical staining with anti-AhR antibody. Immunofluorescence was visualized and captured with fluorescence microscopy. In normal condition (non-treatment), the AhR locate in the cytoplasm. Not only cytoplasm but also nucleus were stained 3h administering BaP later. And only the nucleus were stained 6h later.

B. Once the BaP binds to the AhR, the complex translocates to the nucleus and the ligand-bound receptor forms a heterodimer with the aryl hydrocarbon nuclear translocator (ARNT). This heterodimer then binds to specific DNA elements, in the regulatory regions of target genes, such as cytochrome P450 1A1 (CYP1A1), which leads to gene expression changes and ultimately result in various toxic and biochemical responses.

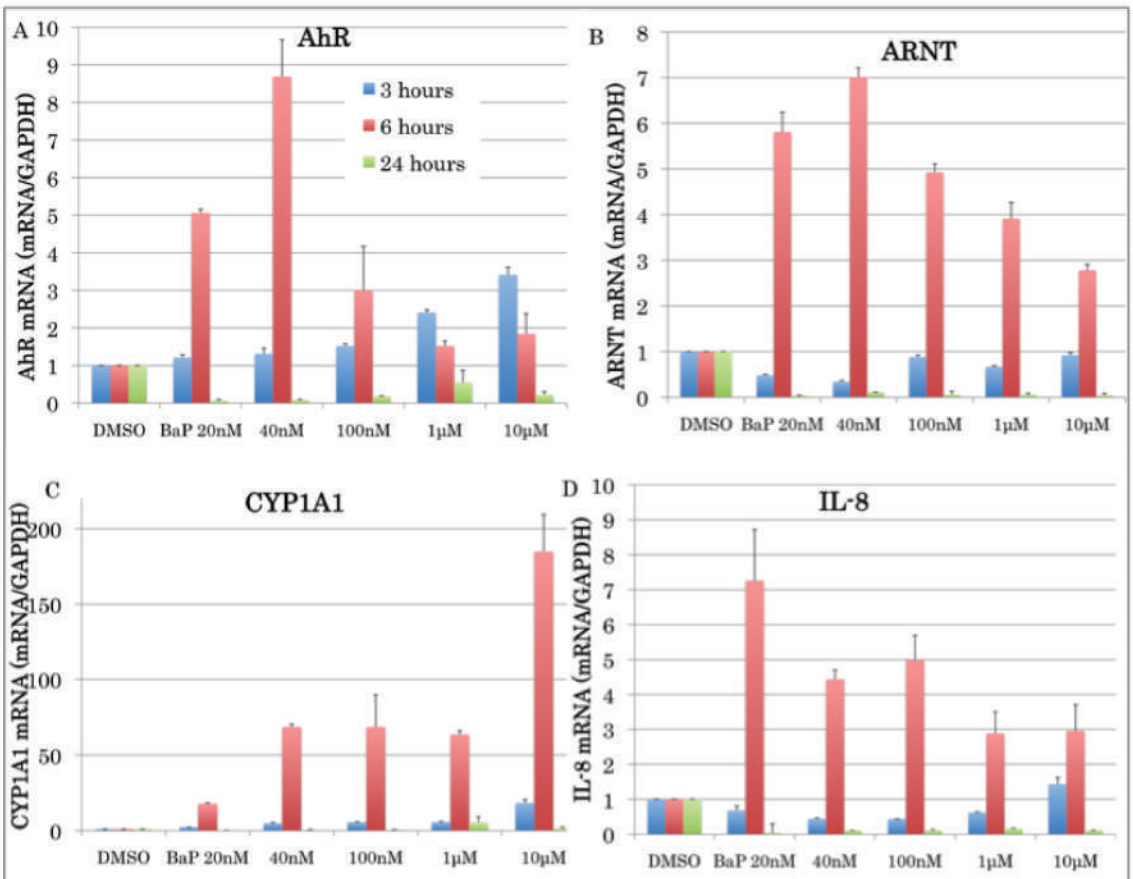



**Figure 2 BaP (at least 20nM) could increase the mRNA levels of AhR, ARNT, CYP1A1 and IL-8 in normal human epidermal keratinocytes.**

Normal human epidermal keratinocytes were exposed to either DMSO (control) or BaP in several concentration (20nM, 40nM, 100nM, 1μM and 10 μM) for 3h, 6h and 24h. The mRNA levels of AhR, ARNT, CYP1A1 and IL-8 were estimated by RT-qPCR.

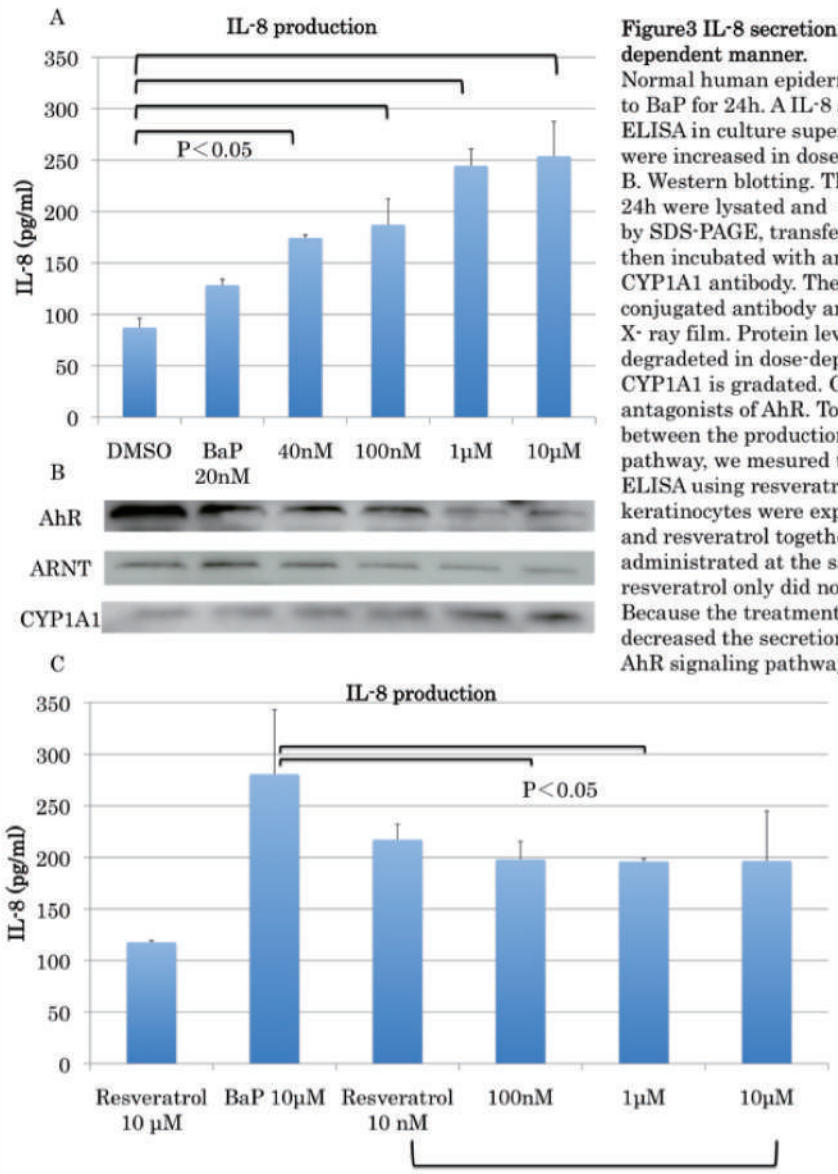



**Figure3 IL-8 secretion levels were increased in dose-dependent manner.**
Normal human epidermal keratinocytes were exposed to BaP for 24h. A IL-8 secretion was analyzed by ELISA in culture supernatants. IL-8 secretion levels were increased in dose-dependent manner.
B. Western blotting. The cells treated with BaP for 24h were lysated and their proteins were separated by SDS-PAGE, transferred to a PDNF membrane and then incubated with anti-AhR, anti-ARNT, and anti-CYP1A1 antibody. The blots were then incubated with conjugated antibody and images were captured using X- ray film. Protein levels of AhR and ARNT are also degradeted in dose-dependent manner, in contrast, CYP1A1 is gradated. C Resveratrol is one of selective antagonists of AhR. To examine the relationship between the production of IL-8 and AhR signaling pathway, we mesured the production of IL-8 by ELISA using resveratrol. Normal human epidermal keratinocytes were exposed either BaP only or BaP and resveratrol together. BaP and resveratrol were administrated at the same time. Treatment with resveratrol only did not increase the secretion of IL-8. Because the treatment with BaP (100nM and 1μM) decreased the secretion of IL-8, it was likely linked to AhR signaling pathway.

分 担 研 究 報 告 書

# 2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル(CB149)の動物肝ミクロゾームによる代謝

研究分担者　古賀 信幸　　中村学園大学栄養科学部 教授
研究協力者　太田 千穂　　中村学園大学栄養科学部 助教

**研究要旨** ヒト血液中には、CB153やCB138などの未変化体に加え、PCB代謝物として4-hydroxy (OH)-CB187や4-OH-CB146などが高濃度で検出されている。最近、ヒト血液中から新たに4,5-diOH-CB149が検出されたことから、本研究では、この代謝物の母化合物を明らかにするため、CB149のin vitro代謝をラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)を用いて調べた。その結果、主代謝物として2種類のOH体(M-1、M-2)と、1種類のdiOH体(M-3)が生成された。さらに、GC-MSにより別途合成した標品と比較した結果、M-1、M-2およびM-3はそれぞれ5-OH体、4-OH体および4,5-diOH体であることが明らかとなった。主代謝物のM-1およびM-3の生成は、ラットで最も多く、ハムスター、モルモットの順であった。また、両代謝物の生成は、PB前処理により、促進され、特にラットでは未処理の数100倍以上であった。なお、M-2はM-1に比べ、非常に少ないもののPB前処理のラットとハムスターで生成された。以上の結果より、ヒト血中で検出された4,5-diOH-CB149はCB149から少なくとも5-OH体を経由して生成されることが確認された。また、CB149代謝にはPB誘導性のP450、すなわちCYP2B酵素が強く関与することが明らかになった。

## A. 研究目的

ヒトをはじめとする哺乳動物の血中から、CB153 や CB138 とともに PCB 代謝物である 4-および 3-水酸化(OH)体が高濃度で検出されている。最も多いのは、4-OH-CB187 で、次いで 4-OH-CB146 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 の代謝を検討したところ、4-OH-CB187 は CB187 からのみ生成されるがことが明らかとなった。また、4-OH-CB146 についても CB146 から微量ながら生成されることを確認した。

最近、これらの 4-あるいは 3-OH 体以外に、ヒト血中において比較的高濃度で 4,5-dihydroxy (diOH)-2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル (CB149)が新たに検出された。本代謝物は2段階の酸化反応、すなわち CB149 から 4-OH 体あるいは 5-OH 体を経由して、生成されると考えられる。そこで本研究では、4,5-diOH-CB149 が、CB149 から生成されるか否かについてラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)を用いて検討した。なお、本年度は、実験動物を用いた検討だけであるが、最終的にはヒト肝 Ms(購入可能)を用いた検討を行う予定である。

## B. 研究方法

① CB149 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、CB149 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 条件は次の通りである。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。

② 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。③ CB149 代謝活性: 40μM CB149 を、動物肝 Ms、NADPH 生成系、6mM $MgCl_2$、100mM HEPES 緩衝液(pH 7.4)とともに、好気的に 37℃で 20 分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 CB149 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、CB149 をラット肝 Ms とともに 37℃で 20 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。まず、ラットの場合には、未処理肝 Ms により、1種類の代謝物(これを M-1 とする)が、また、PB 前処理 Ms により3種類の代謝物(M-1、M-2 および M-3)が GC 保持時間のそれぞれ 17.18 min、18.18 min および 19.58 min に検出された。

次に、CB149(未変化体)の検量線を用いて、これらの代謝物を定量した(**Fig. 2**)。未処理動物肝 Ms ではいずれも M-1 のみが生成され、その生成量はラット、ハムスターおよびモルモットでそれぞれ 6、15 および 14 pmol/min/mg protein であった。次に、PB 前処理肝 Ms で行ったところ、ラットでは M-1 が未処理の約 250 倍に驚異的な増加を示した。また、新たな代謝物 M-3 も顕著に増加した(452 pmol/min/mg protein)。もう1つの新代謝物 M-2 の生成量は他2者に比べ極めて少なく、30 pmol/min/mg protein 程度であった。次に、ハムスターでは、ラットと同様に、M-1 の顕著な増加(約 11 倍)および代謝物 M-2 と M-3 の新たな生成を示したが、生成量はラットの 10 分の1以下であった。さらに、モルモットでは M-1 の増加は未処理の約 2 倍にすぎず、また M-3 の生成は痕跡程度であった。一方、MC 前処理 Ms の場合、ラットでは M-1 が未処理の 1.5 倍に増加したにすぎなかった。また、ハムスターとモルモットではいずれも M-1 の生成が未処理の 50%前後までに減少した。

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5-MeO-CB149、4-MeO-CB149および4,5-diMeO-CB149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保持時間を比較した。その結果、**Table 1**に示すように、メチル化後、M-1とM-2は分子量388を、また、M-3は分子量420を有していたことから、M-1とM-2はMeO体、M-3はdiMeO体であることが明らかとなった。さらに、合成標品5-MeO-CB149、4-MeO-CB149および4,5-diMeO-CB149のマスフラグメンテーションおよびGC保持時間がほぼ一致したことから、M-1、M-2およびM-3は5-OH-CB149、4-OH-CB149および4,5-diOH-CB149であることが示唆された。

## D. 考察

今回、初めてCB149の主代謝物として、5-OH体および4,5-diOH体を明らかにすることができた。また微量代謝物として、4-OH体を明らかにできた。主代謝物の5-OH体および4,5-diOH体の生成量はラット＞ハムスター＞モルモットの順であり、いずれの動物でもPB誘導性P450 (CYP2B酵素)がそれらの生成に強く関与していることが示唆された。なお、今回は、インキュベーション時間を20minで行っ

たが、予備的にPB前処理ラット肝Msを用いて、60 minまで長くしたところ、5-OH体の減少とともに4,5-diOH体の著しい増加がみられた。この結果から、少なくとも4,5-diOH体は、5-OH体を経由して生成されると考えられる。

## E. 結論

ヒト血中で検出された4,5-diOH-CB149はCB149から少なくとも5-OH体を経由して生成されること、また、CB149代謝にはPB誘導性のP450、すなわちCYP2B酵素が強く関与することが示唆された。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

1. 論文発表

1) C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, M. Matsuoka, and N. Koga, Metabolism of 2,2',3,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB146) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. *Organohalogen Compds.*, **70**, 1185-1188 (2008).

2) Y. Kato, K. Haraguchi, M. Kubota, S. Ikushiro, T. Sakaki, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa, A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by 4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl in mice. *Organohalogen Compds.*, **70**, 1601-1604 (2008).

2. 学会発表

1) C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, M. Matsuoka, and N. Koga, 「Metabolism of 2,2',3,4',5,5'-hexachloro-biphenyl (CB146) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs.」 第 28 回 国際学会 Dioxin 2008 (The ICC, Birmingham, England) 平成 20 年 8 月 17 ～ 22 日

2) Y. Kato, K. Haraguchi, M. Kubota, S. Ikushiro, T. Sakaki, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa, 「A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by 4-OH-2,2',3,4',5, 5',6-heptachlorobiphenyl in mice」 第 28 回 国際学会 Dioxin 2008 (The ICC, Birmingham, England) 平成 20 年 8 月 17～22 日

3) 太田千穂，原口浩一，加藤善久，遠藤哲也，古賀信幸，「2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル(PCB149)の動物肝ミクロゾームによる代謝」フォーラム 2008：衛生薬学・環境トキシコロジー（熊本市民会館、熊本市）平成 20 年 10 月 17～18 日

4) 原口浩一，久道洋輔、遠藤哲也，加藤善久，太田千穂，古賀信幸，「海洋哺乳動物における PCB 代謝物-鯨類の肝臓中にみられる methylsulfone 体および dihydroxy 体の残留特性-」 フォーラム 2008：衛生薬学・環境トキシコロジー（熊本市民会館、熊本市）平成 20 年 10 月 17～18 日

5) 太田千穂，原口浩一，加藤善久，遠藤哲也，古賀信幸，「2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル(PCB149)のヒト肝ミクロゾームによる代謝」 日本薬学会第 129 年会(国立京都国際会館、京都市) 平成 21 年 3 月 26～28 日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

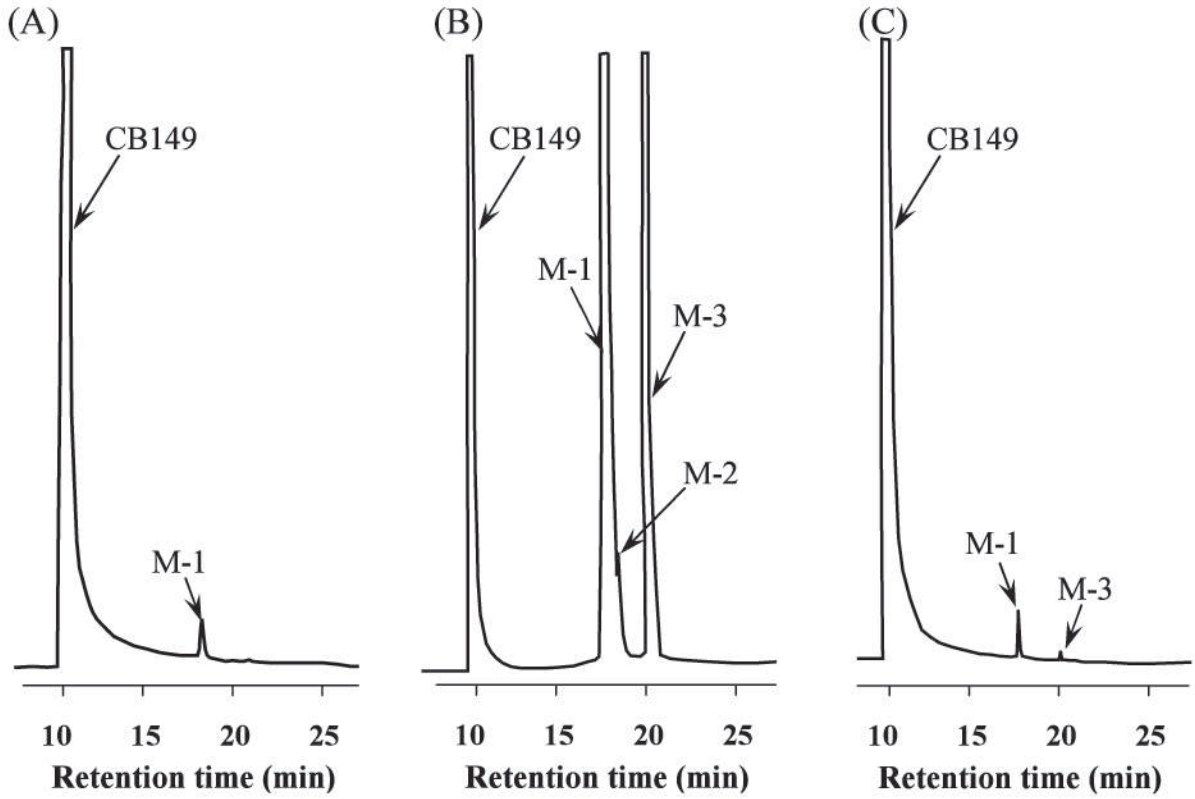



Fig. 1 Gas chromatography of the methylated derivatives of CB149 metabolites formed by liver microsomes of untreated (A), PB-treated (B) and MC-treated (C) rats.

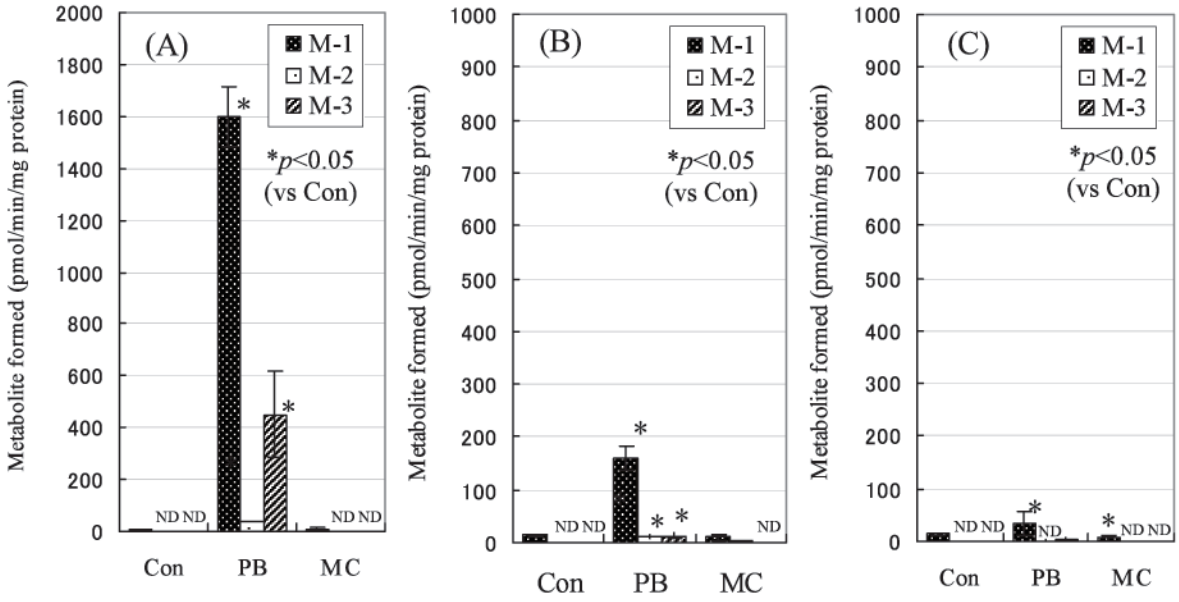



Fig. 2 Effect of cytochrome P450 inducers on CB149 metabolism by liver microsomes of rats (A), hamsters (B) and guinea pigs (C).

Table 1 Mass spectral data and retention times of the methylated derivatives of three CB149 metabolites and its synthetic compounds

| Compound | Molecular weight | Mass spectral data (Relative abundance, %) | | | | | | Retention time (min) in GC-MS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $[M^+]$ | $[M^+-15]$ | $[M^+-35]$ | $[M^+-43]$ | $[M^+-50]$ | $[M^+-70]$ | |
| CB149 | 392 | 100 | - | 32 | - | - | 74 | 11.95 |
| M-1 | 388 | 100 | 6 | - | 30 | 17 | - | 14.89 |
| M-2 | 388 | 100 | - | - | 33 | - | - | 15.13 |
| M-3 | 418 | 100 | 29 | - | 22 | - | - | 15.61 |
| 6-MeO-CB146 | 388 | 100 | - | - | - | 123 | 29 | 13.50 |
| 5-MeO-CB149 | 388 | 100 | 6 | - | 30 | 16 | - | 14.89 |
| 4-MeO-CB149 | 388 | 100 | 4 | - | 37 | - | - | 15.13 |
| 4,5-diMeO-CB149 | 418 | 100 | 28 | - | 18 | - | - | 15.61 |
| 3-MeO-CB153 | 388 | 100 | 7 | - | 45 | 13 | - | 16.67 |

6-MeO-CB146, 6-MeO-2,3,5,2',4',5'-hexaCB;
3-MeO-CB153, 3-MeO-2,4,5,2',4',5'-hexaCB

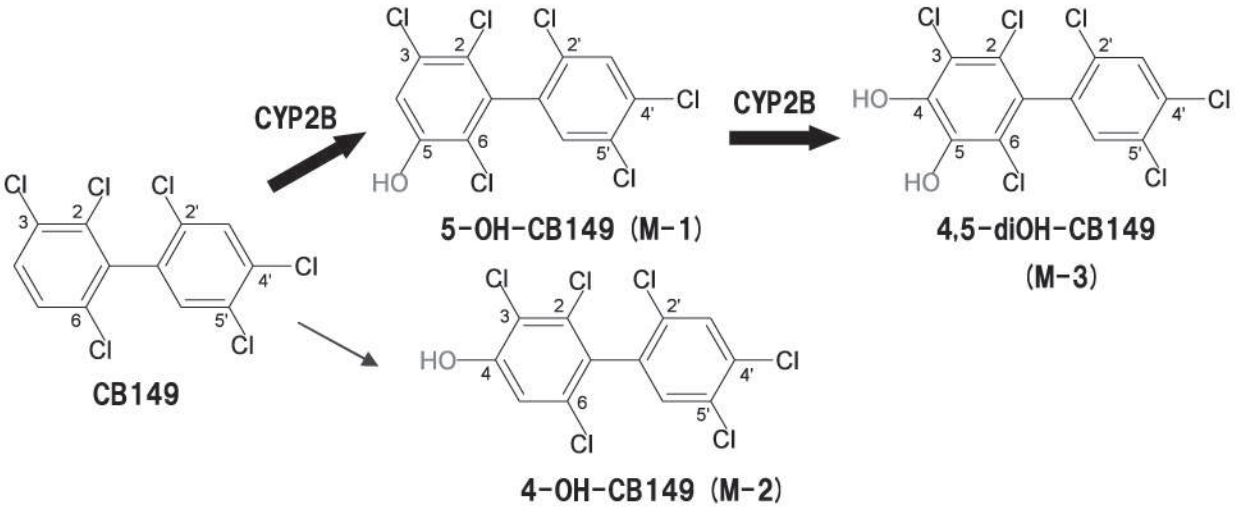



Fig. 3　Postulated pathways of CB149 in animal liver.

分担研究報告書

# PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害モデル作成に関する研究

研究分担者　　中西洋一　九州大学大学院医学究院呼吸器内科学分野　教授

**研究要旨**　油症患者には咳や痰など特有の呼吸器症状がある。PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害の機序解明には動物モデルの作成が必要と考えられるため検討を行った。

## A．研究目的

油症患者にみられる喀痰症状に対して漢方薬の麦門冬湯が有効であることが報告された。PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害の機序解明には動物モデルの作成が必要と考えられるが、確立された動物モデルはない。そこでその作成を検討した。

## B．研究方法

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)をコーンオイルで溶解し、C57Bl/6マウス雌、6週齢に以下の2通りの経路で投与した。肺組織傷害は、肺組織所見と気管支肺胞洗浄（BAL）液中炎症細胞数で評価した。

実験1

TCDD 100 μg/kg あるいは 200 μg/kg をday1からday5までマウスに経口摂取させた。コーンオイルのみを経口摂取した群をコントロールとした。Day 7 に肺を取り出し、HE 染色組織標本を作製、評価した。

実験2

TCDD 15 μg/kg を day1 から day5 までマウスに腹腔内投与した。コントロール群はコーンオイルのみを腹腔内投与した。day6 に BAL 液を回収して炎症細胞数、細胞分画について測定した。またに肺を取り出し、HE 染色組織標本を作製して、評価した。

（倫理面への配慮）

九州大学動物実験実施規則に従って実験を行った。

## C．研究結果

経口投与モデルの結果

TCDD 100 μg/kg 群(n=4)あるいは 200 μg/kg 群(n=4)においてコントロール群(n=4)と比較し、肺組織所見に有意差は認めなかった。

腹腔内投与モデルの結果

TCDD 投与群とコントロール群の間で BAL 液中の炎症細胞数と細胞分画(図1)に有意差はみられなかった。TCDD 群7匹中1匹の肺組織所見で、肺胞隔壁肥厚、肺胞出血が認められたが(図 2A)、のこり6匹では異常所見がなく(図 2B)、コントロール群との比較で有意差は認められなかった。

## D．考察

油症患者では、咳や痰など慢性気管支炎に類似した特有の呼吸器症状がみられることがある。こうした呼吸器症状の改善に、漢方薬の一つである麦門冬湯が有効である可能性が示唆されている(1)。PCB/ダイオキシン類肺傷害動物モデルは、ダイオキシン類による呼吸器障害の機序解明、新規治療戦略探索の上で重要と考えられるが、確立したモデルの報告は未だ無い。そこで

TCDD による肺傷害動物モデルの作成を試みた。経口投与と腹腔内投与の２つの系を検討した。TCDD 腹腔内投与により肺胞隔壁肥厚、肺胞出血を認めたものがあったが、再現性に乏しく、安定したモデルの作成には至らなかった。我々は昨年の報告書において TCDD が気道上皮細胞由来の BEAS2B 細胞に対して Aryl Hydrocarbon receptor, CYP1A1 の発現を増強させ、また肺胞上皮細胞由来の A549 細胞に対して酸化ストレスを誘導することを示した(2)。このことは TCDD が肺上皮細胞に傷害を起こしうることを示唆しており、ダイオキシン類による肺障害症状は肺上皮傷害によるものと推測される。今後、投与経路を経気道投与に変更して検討を継続していく予定である。

参考文献

１）徳永章二、油症に対する漢方療法。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。2008 年 3 月。

２）中西洋一、ダイオキシン暴露による気道上皮傷害の検討。熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究。平成 19 年度総括・分担研究報告書。2008 年 3 月。

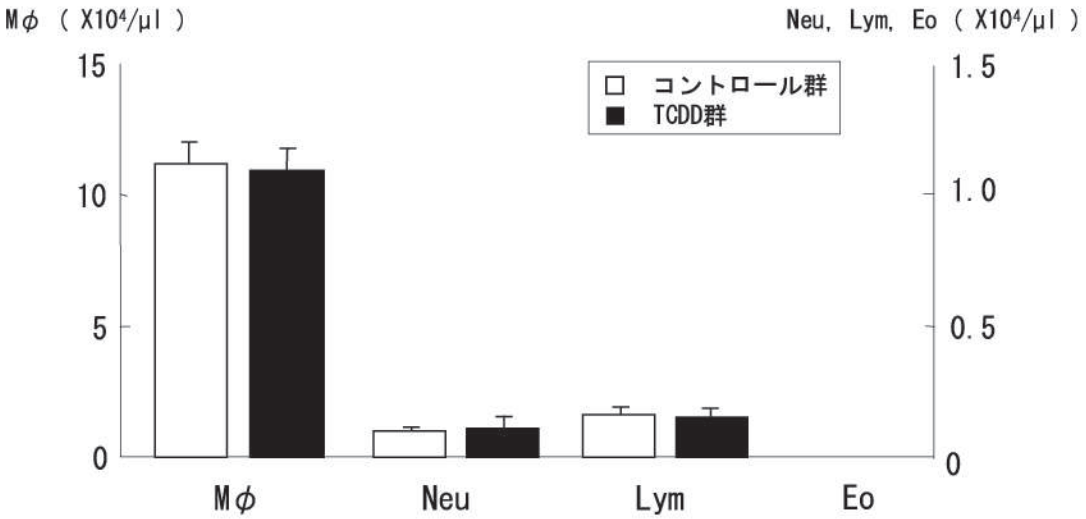



図 1. マウスBAL液中の炎症細胞数
TCDD群とコントロール群で細胞数に有意差は認めなかった。
Mφ=マクロファージ、Neu=好中球、Lym=リンパ球、Eo=好酸球。

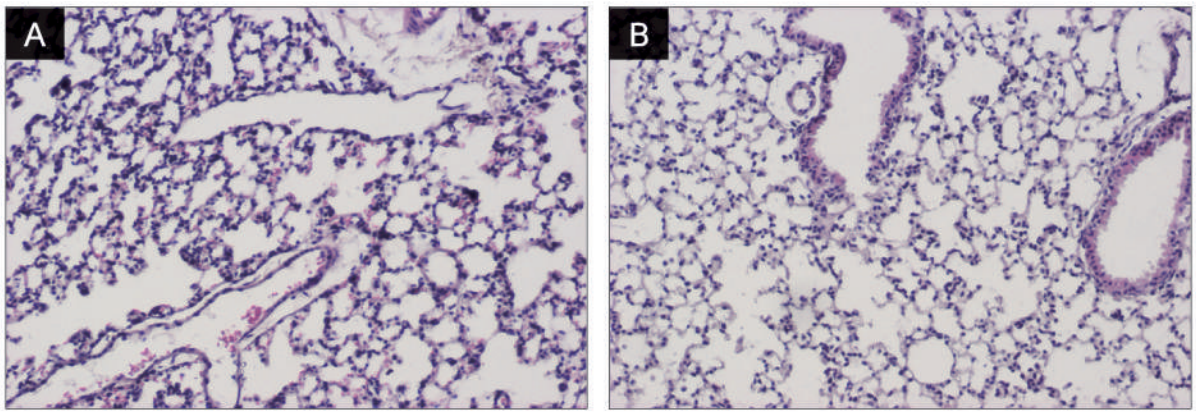



図 2. TCDD腹腔内投与後のマウス肺組織。
肺胞隔壁の肥厚、細胞浸潤と肺胞腔内出血を来した例(A)もみられたが、多くはほぼ正常肺組織の所見(B)であった。

分担研究報告書

# Cholebine によるダイオキシン排泄促進

研究分担者　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
古江　増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授
研究協力者　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**　Cholebine のダイオキシン排泄促進作用について検討を行った。5 週令の Wistar 系雄性ラットに $^{14}$C-2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF, 2.9 MBq/mg) を 0.5 mg/kg body weight/3 mL corn oil 経口投与し、cholebine 含有飼料を与え 1 週間飼育した。その結果、cholebine 摂取 1 日目において、PenCDF の糞中排泄量が対照群に比べ約 15% 増加した。2 日目以降については、有意差は認められるもののその差はいずれも 1% 以下であった。一方、臓器中の PenCDF 残存量については、脳を除いて、cholebine により 20~30% の低下が観察された。次に、観察期間を 28 日間に延長し、同様の検討を行った。その結果、糞中排泄促進効果については短期処理実験の結果と同様であったが、臓器中の PenCDF 残存量は、脳を除き、 cholebine による軽減効果は認められなかった。さらに、cholebine は、PenCDF と直接結合せず、胆汁酸などの因子を介して結合し、糞中排泄を促進している可能性が考えられた。以上の結果から、cholebine はダイオキシンの初回吸収は効果的に抑制するが、ラットを用いた本検討からみる限り、再吸収に関しては顕著な抑制効果を示さなかった。

## A. 研究目的

油症は、複数のダイオキシン類が関与した複合汚染が原因であると考えられている（1,2）。中でも 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) は、原因油中含量や毒性の強さ等から、油症病態の最も重要な起因物質と考えられている。生体異物による健康障害に対する治療では、原因物質の体外排泄の促進が有効であるのは論を俟たない。これまでの研究から、ダイオキシン中毒症状のほとんどは、細胞の可溶性画分に存在する芳香族炭化水素受容体の活性化、並びにそれに伴う機能性タンパク質の発現変動を介して惹起されると考えられている（3）。しかし、その症状の複雑さから、詳細な機構については不明な点が多い。従って、ダイオキシン中毒症状に対する現実的な対処法としては、ダイオキシン類の体外排泄の促進を目指す以外に有効な方策がないのが現状である。

Cholebine（一般名 colestimide）は、高コレステロール血症治療薬として使用されている医薬品である。Cholebine は、腸管内において胆汁酸を吸着し、その糞中排泄を促進する（2007 年 10 月（第 14 版）添付文書より）。一方、体内に吸収されたダイオキシン類は、微量ずつ小腸壁より管

腔内に排泄され、胆汁酸の介助によって再びリンパ系を介して再吸収される（4）。従って、cholebine がダイオキシン類の再吸収を阻害し、その糞中排泄を促進する可能性が期待される。事実、cholebine の 6 ヶ月間の服用で、ヒト血中ダイオキシンの濃度が平均 20% 低下するとの報告がなされている（5）。しかし、この検討は例数が少なく、さらに偏差も大きいため、その有効性には疑問もある。そこで、本研究では、ダイオキシン類の体外排泄における cholebine の有効性を実証するため、ラットを用い cholebine による PenCDF の糞中排泄促進効果を検討した。

**B. 研究方法・研究結果**

Cholebine 短期間摂取による PenCDF 排泄促進

Cholebine 含有飼料は、三菱ウェルファーマ株式会社（現　田辺三菱製薬株式会社）より供与された。5 週令の Wistar 系雄性ラットを 1 群 3 匹として 2 群に分け、1 週間馴化した。そののち、$^{14}$C-PenCDF (2.9 MBq/mg) を 0.5 mg/kg body weight/3 mL corn oil の用量で経口投与し、1 群には 3% cholebine 含有飼料を、他群には、対照となる飼料を与え 1 週間飼育した。期間中、毎朝定時に糞を回収し、それぞれのラットの体重を測定した。また、1 日あたりの摂餌量と糞量を、それぞれラット 3 匹分の総量として計測した。最終日における糞を回収したのち、臓器を摘出して PenCDF 含量の測定に用いた。一方、回収した糞は、一定量をデシケーター内に約 1 ヶ月間放置して乾燥させ、粉砕してその一部を PenCDF 含量測定に用いた。Fig. 1ー5 には cholebine 併用による種々の影響を解析した結果を示すが、各図には cholebine 短期処理実験の結果と共に（A パネル）、長期処理実験での結果（B パネル、詳細は後述）をも合わせて掲載する。

短期処理での検討では、PenCDF 単独処理群（PenCDF 群）と併用群（PenCDF + cholebine）の体重変化には顕著な差は認められなかった（Fig. 1A）。一方、摂餌量と糞量については、両群間の有意差を検出することはできなかったが、両指標とも併用群において増加する傾向が認められた（Fig. 2A and 3A）。糞中への PenCDF の排泄量を測定した結果、1 日目において、併用群で PenCDF 群に比べ約 15% の増加が観察された（Fig. 4A）。2 日目以降についても両群間に PenCDF 排泄量の差が散見されたが、そのいずれも摂取 1 日目に比べわずかであった。本検討における糞中への PenCDF の総排泄量は、併用群で投与量の約 42.9% であったのに対し、PenCDF 群では約 28.1% であった。さらに、臓器中における PenCDF 含量を測定した結果、脳を除く全ての臓器において、cholebine 摂取による有意な低下が認められた（Fig. 5A）。

Cholebine 長期間摂取による PenCDF 排泄促進

次に、cholebine の長期間摂取による効果を評価するため、観察期間を 28 日間に延長し検討を行った。検討方法については、先に示した方法と同様に行ったが、PenCDF 自身による体重変化、摂餌量、並びに糞量への影響を観察するため、PenCDF と cholebine を与えない群（コントロール群）も準備した。各群における体重変化を観察した結果、12 日目までに併用群 と PenCDF 群においてわずかではあるが有意な違いが観察された（前者＞後

者）（Fig. 1B）。また、摂餌量と糞量においても、短期間実験の場合と同様、併用群で増加傾向が認められた（Fig. 2B and 3B）。コントロール群と PenCDF 処理群の間に顕著な差は認められなかった。糞中への PenCDF の排泄量を測定した結果、1 日目において、併用群では PenCDF 群よりも排泄量が約 15% 増加した（Fig. 4B）。2 日目以降も散発的に有意差が認められたが、むしろ両群間には殆ど差はなかった。28 日間における PenCDF の総排泄量は、cholebine 併用群で投与量の約 64.4% であったのに対し、PenCDF 処理群では、約 48.4% であった。また、臓器における PenCDF 含量を測定した結果、短期間実験の場合とは異なり、脳を除く臓器に有意な差は認められなかった（Fig. 5B）。

Cholebine による PenCDF 排泄促進機構の解析

最後に、cholebine による PenCDF 排泄促進機構を明らかにするため、cholebine による PenCDF の結合実験を行った。本検討では、$^{14}$C-PenCDF を含む corn oil（0.17 mg/mL）と粉砕した cholebine 含有飼料をサンプルチューブに加え、24 時間穏やかに撹拌したのち、遠心してその上清中の PenCDF 含量を測定した。その結果、粉砕飼料を加えた場合、対照群に比べ上清中の PenCDF 含量は有意に低下した（Fig. 6）。

（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実施した。

## C. 考察

本検討の結果から、cholebine の摂取は、ダイオキシンの糞中排泄を促進させることが明らかとなった。また、臓器中のダイオキシン含量も、糞中への排泄量の増加に伴い低下することが明らかとなった。

PenCDF は、ダイオキシン毒性等価係数が 0.3 であり、多塩素化ジベンゾフラン類中最も強い毒性を有することが知られている。F344 ラットにおける $LD_{50}$ が 916 μg/kg body weight (6) であることから、今回の検討において設定された PenCDF の投与量は、比較的高用量であったと考えられる。しかし、長期間実験で観察されたように、体重変化に対する PenCDF の影響は殆ど観察されず、ダイオキシンの急性中毒として観察される wasting syndrome は観察されなかった。また、摂餌量と糞量に対する影響も認められなかった。従って、本検討において、PenCDF による急性毒性は惹起されなかったと考えられる。一方、cholebine の場合、長期間実験において、コントロール群に比べ体重変化への影響が認められた。しかし、これに関しても、PenCDF 処理の場合と同様わずかな差であったため、急性毒性が発生した可能性は低いと思われる。ところで、本検討において、cholebine は、摂餌量と糞量を増加させる傾向を示した。この点に関して原因は不明であるが、摂餌量の増加は、栄養素摂取量が cholebine により低下することに起因し、これを相補するために摂餌量が増加したものと推定される。また、糞量の増加は、排泄された cholebine が含まれるためであると予想された。

Cholebine によるダイオキシンの糞中排泄促進効果は、短期間実験、並びに長期間実験共に、摂取 1 日目において顕著であ

り、いずれも約 15% の排泄量の増加が認められた。一方、2 日目以降については、有意差も散見されるが、顕著な排泄促進効果は認められなかった。従って、本検討における cholebine の効果は、腸管内におけるダイオキシンの再吸収の阻害より初回吸収の阻害の寄与が大きいものと考えられる。一方、臓器中の PenCDF 残存量は、短期間実験では、脳を除く全ての臓器において cholebine 摂取により非摂取群に比べ 20~30% の低下が観察された。これに対し、長期間実験では、脳を除いて cholebine による効果は認められなかった。長期間実験において差が消失した原因を明らかにすることはできなかったが、曝露 28 日目では、臓器中の PenCDF 量は 7 日目と比較してかなり低下しており（Fig. 5 脚注参照）、cholebine による効果が出現しにくい状況に至っている可能性が考えられた。これらの結果を総合すると、一旦体内に蓄積したダイオキシンが微量ずつ排泄される定常状態では、cholebaine による再吸収阻止は、無効とまでは言えないが、少なくとも顕著な効果は期待できないものと考えられた。ただ、ラットとヒトでのダイオキシン体内半減期は大きく異なり（ラット＜＜ヒト）(7)、ラットはその固有の性質としてダイオキシン排泄能力が高いものと思慮される。従って、ヒトはダイオキシン再吸収能力が高い種とも考えられ、cholebine の効果がラットよりも顕著に出現する可能性は否定できない。前述の通り、cholebine 投与されたヒトではダイオキシン水準が低下することが示唆されており (5)、このことは上記推論を支持するかもしれない。

Cholebine による PenCDF の排泄は、cholebine と PenCDF の直接的な結合によるものではない可能性が示された。Cholebine による本作用の詳細な機構については不明であるが、本検討より得られた結果は、これまでの報告から推測されるものと一致する。従って、cholebine によるダイオキシン排泄促進は、ダイオキシン吸収に寄与する胆汁酸の排泄を促進するためと考えられた。

## D. 結論

Cholebine 摂取により、ダイオキシンの糞中排泄量が有意に増加することが明らかとなった。また、ダイオキシンの組織中の残存量も、若干の低下、ないしその傾向が認められた。Cholebine による排泄促進効果は、摂取 1 日目において最も顕著であり、それ以降、顕著な差は見られなかった。さらに、cholebine によるダイオキシンの糞中排泄は、胆汁酸などを介して惹起されると考えられた。以上の結果から、cholebine はダイオキシンの初回吸収は効果的に抑制するが、ラットでの検討からみる限り、再吸収に関しては顕著な抑制効果を示さなかった。

## E. 参考文献

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

2) Yoshimura, T., Yusho in Japan. Ind. Health, 41, 139-148 (2003).

3) Fernandez-Salguero, P. M., Hilbert, D. M., Rudikoff, S., Ward, J. M. and Gonzalez, F. J., Aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-induced toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol., 140,

173-179 (1996).
4) Yoshimura, H. and Kamimura, H., Capter 9 The accelerated excretion of PCBs and PCDFs. in Kuratsune, M., Yoshimura, H., Hori, Y., Okumura, M. and Masuda, Y. (Eds), Yusho -A Human Disaster Caused by PCBs and Related Compounds-. Kyushu University Press, Fukuoka, pp. 269-282 (1996).
5) Mochida, Y., Fukata, H., Matsuno, Y. and Mori, C., Reduction of dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human body. Fukuoka Acta Med., 98, 106-119 (2007).
6) Brewster, D. W., Uraih, L. C. and Birnbaum, L. S., The acute toxicity of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (4PeCDF) in the male Fischer rat. Fundam. Appl. Toxicol., 11, 236-249 (1988).
7) Larsen, J. C., Risk assessments of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in food. Mol. Nut. Food Res., 50, 885-896 (2006).

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

特になし。

## H. 知的財産権の出願・登録情報

特になし。

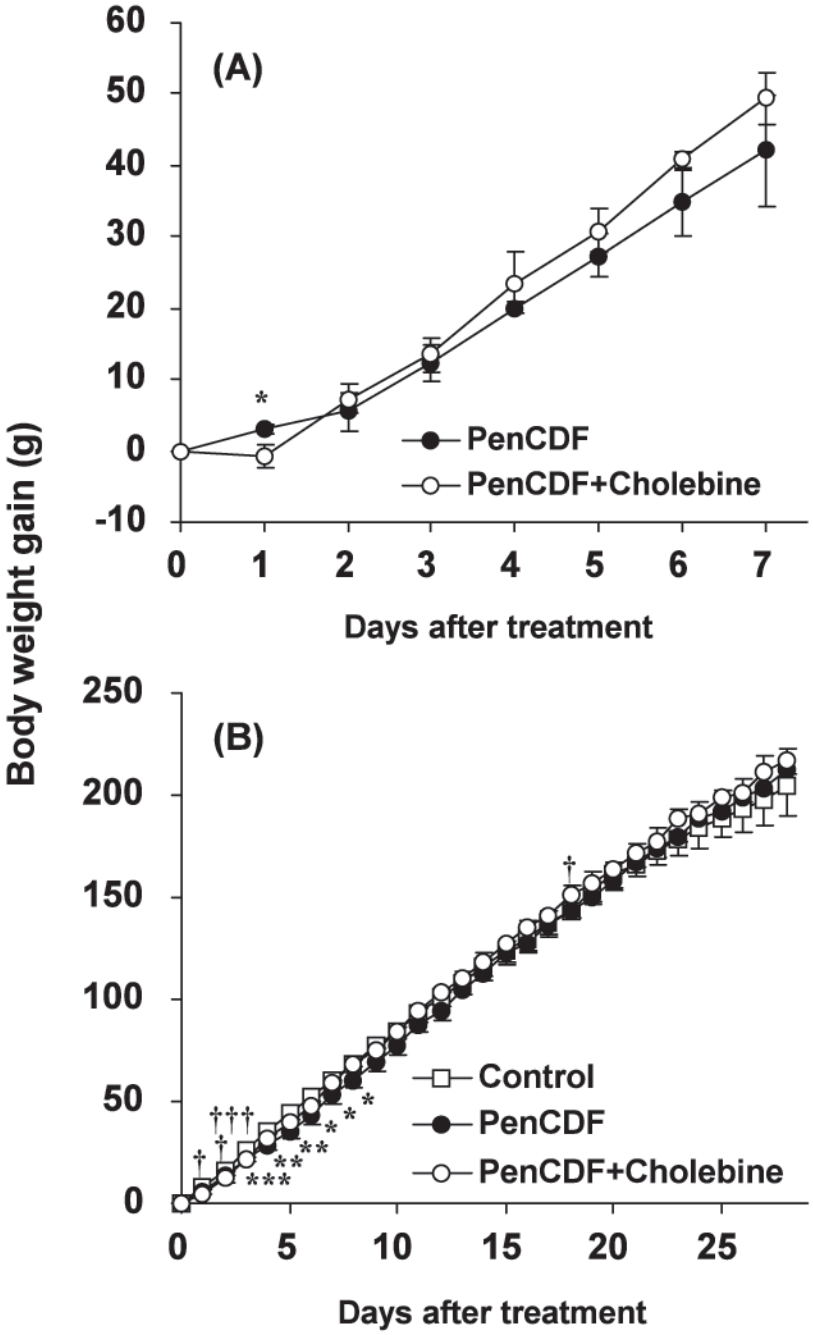



**Fig. 1. Effects of cholebine on body weight gain in Wistar rats treated with PenCDF.** Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). The values represent the mean ± S.D. of 3 rats. The initial body weight (mean ± S.D.) of rats in PenCDF- and PenCDF+Cholebine-treated groups in (A) were177.6 ± 5.6 and 188.7 ± 6.8 g, respectively. The initial body weight (mean ± S.D.) of rats in Control-, PenCDF- and PenCDF+Cholebine-treated groups in (B) were 100.3 ± 4.3, 101.1 ± 2.0 and 101.9 ± 2.2 g, respectively. Significant difference in PenCDF-group from control: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$. Significant difference in PenCDF+Cholebine-group from control: †, $p<0.05$; †††, $p<0.001$.

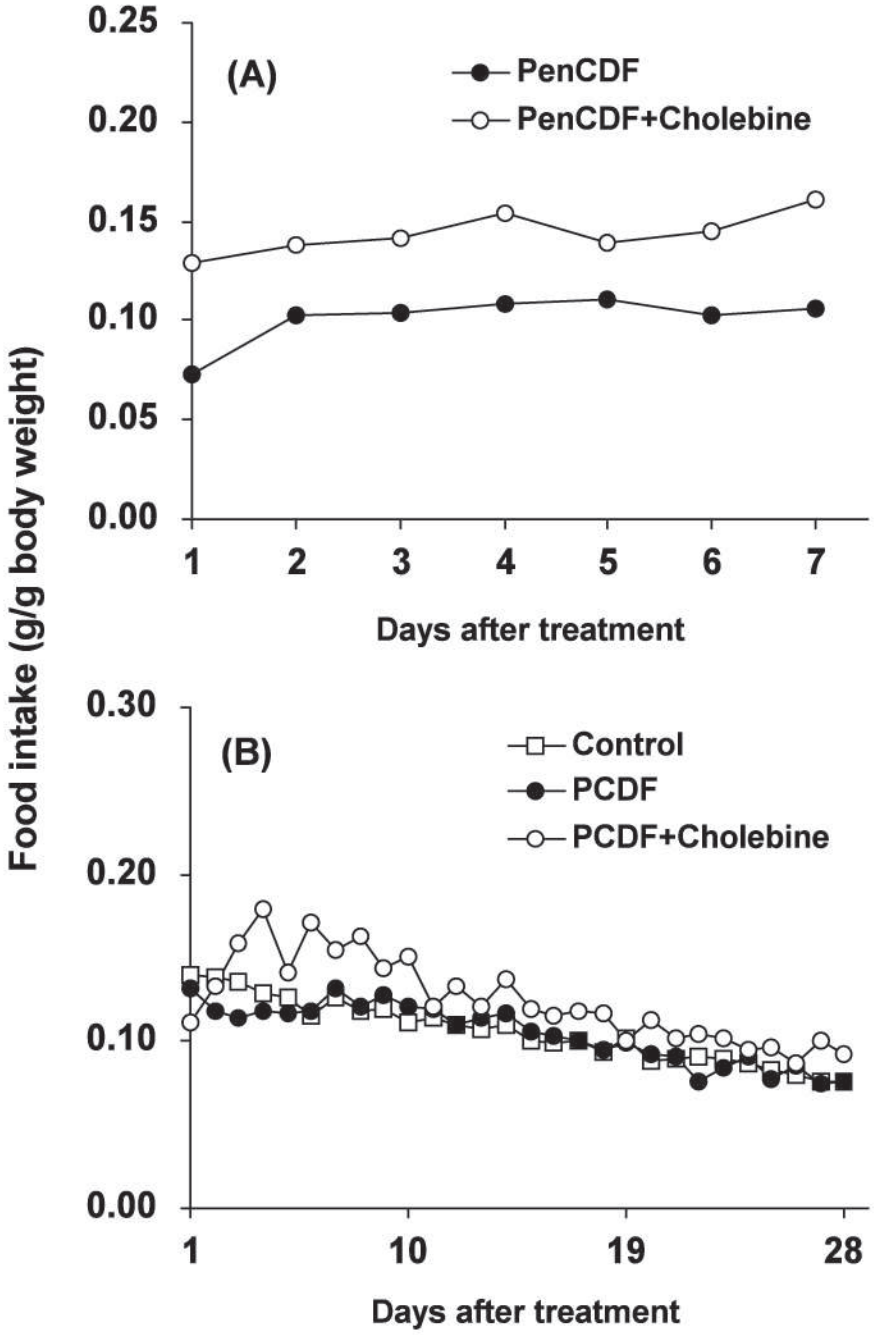



**Fig. 2. The effects of cholebine on food intake of Wistar rats after exposure to PenCDF.** Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). The values represent the weight of food intake corrected by total body weight of 3 rats.

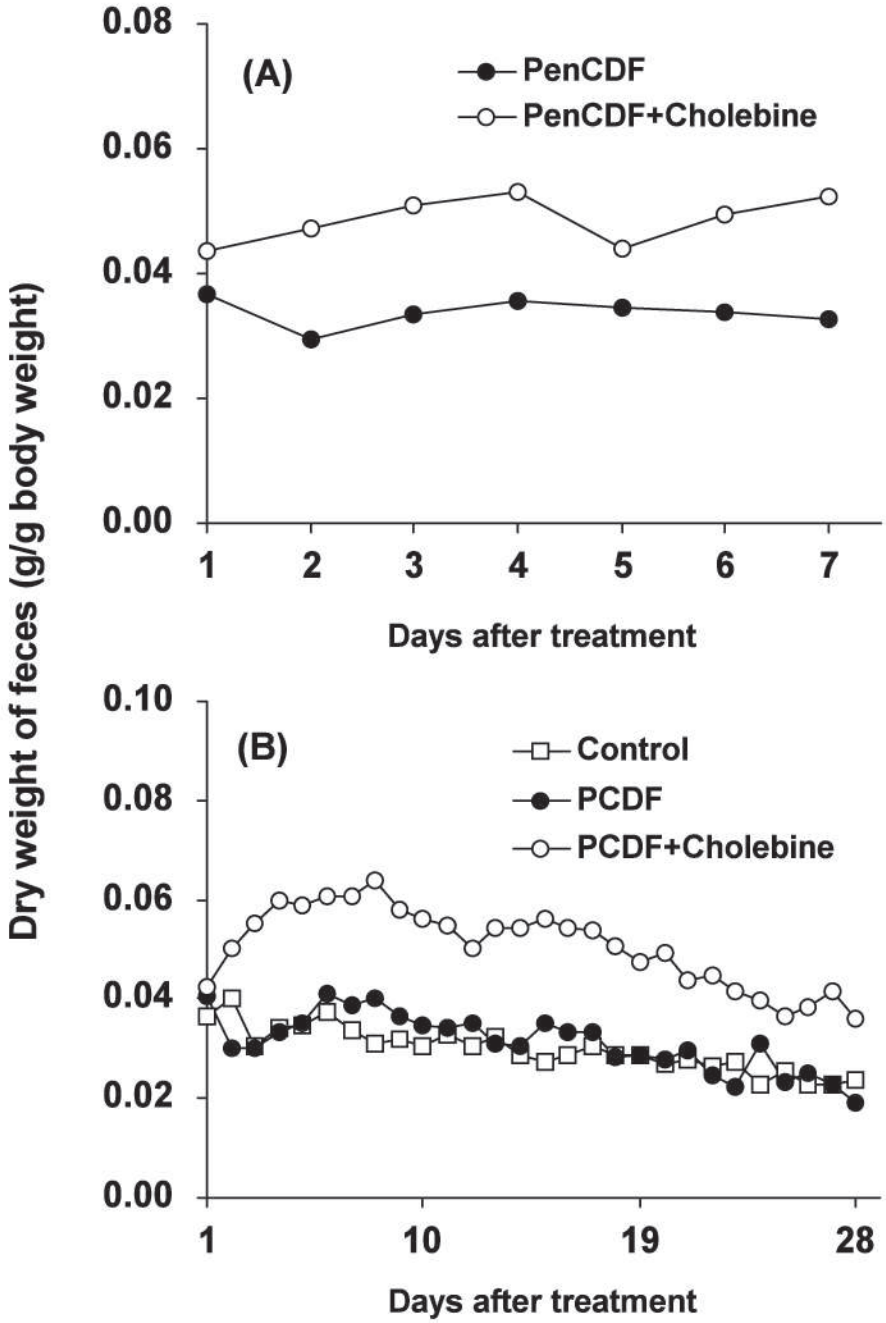



**Fig. 3. The effects of cholebine on dry weight of feces in Wistar rats after exposure to PenCDF.** Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). The values represent the dry weight of feces corrected by total body weight of 3 rats.

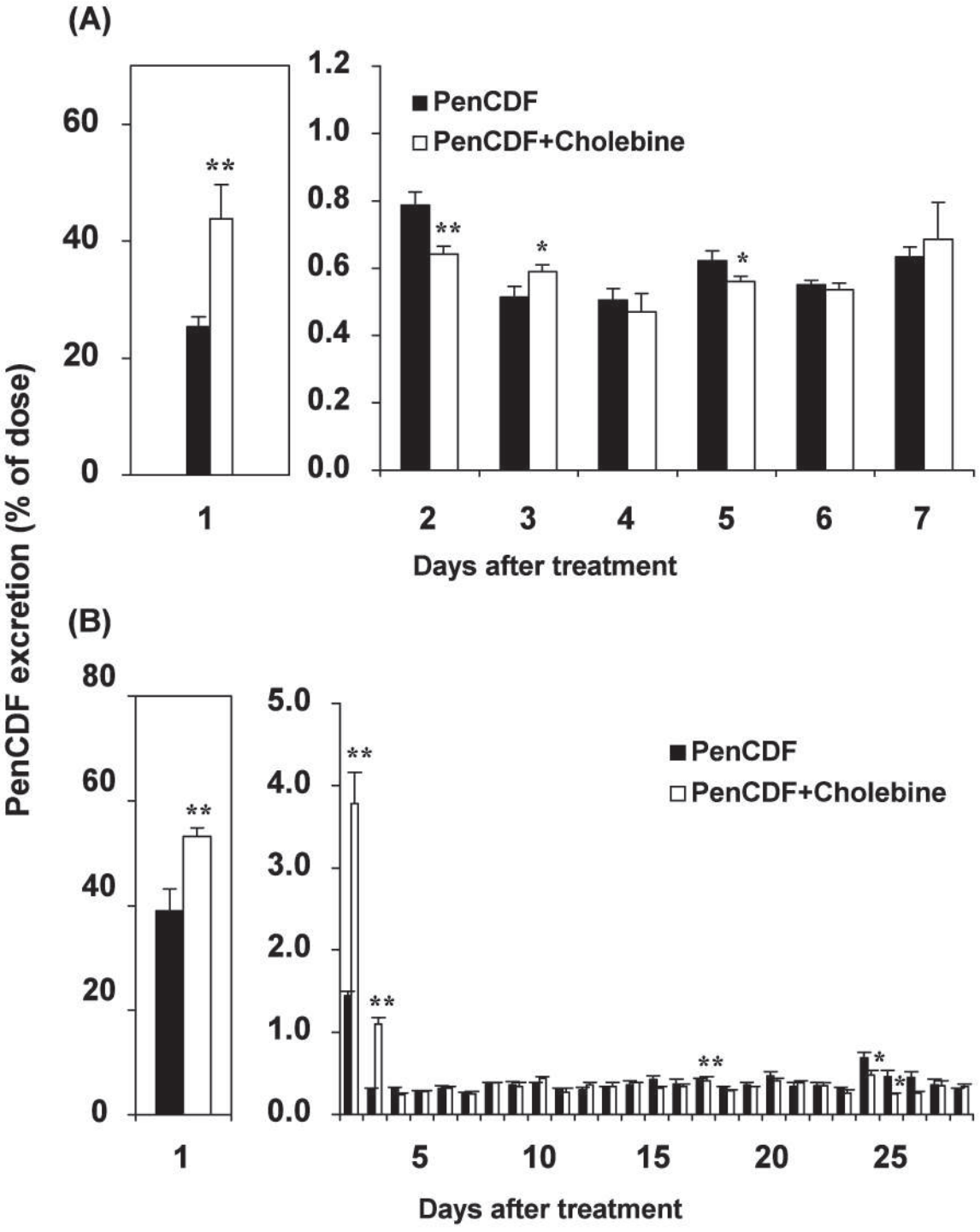



**Fig. 4. Effect of cholebine on the excretion of PenCDF into feces.** Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). Values were represent the mean ± S.D. of 3 assays. Significant difference from each PCDF-treatment group, *, $p<0.05$; **, $p<0.01$.

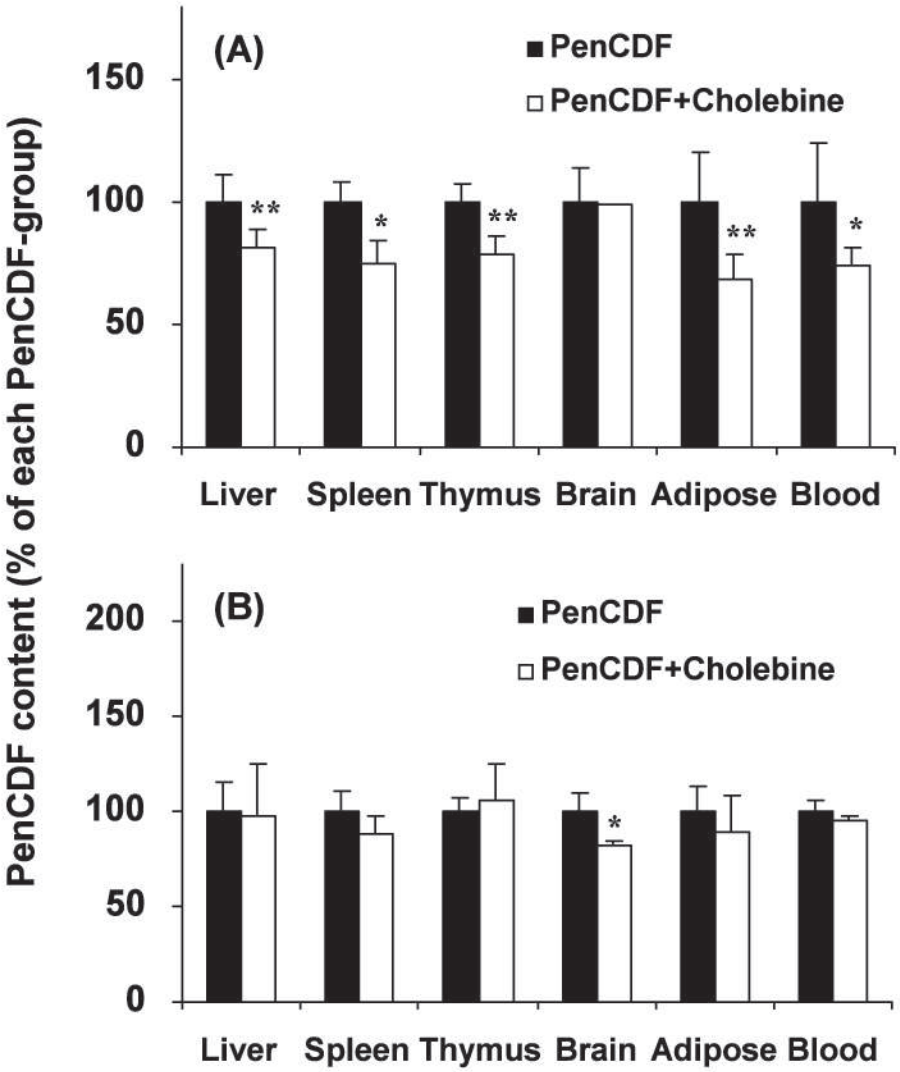



**Fig. 5. Effects of cholebine on the tissue concentrations of PenCDF.** Cholebine was given to PenCDF-treated rats for 7 days (A) and 28 days (B). The values represent the mean of 2 (Brain of PenCDF+Cholebine-group in (A)) or mean ± S.D. of 3 (others) rats. The PenCDF concentrations in each tissue of PenCDF-group were as follows: In (A), Liver, 5.13 ± 0.57 μg/g tissue; Spleen, 7.56 ± 0.64 ng/g tissue; Thymus, 8.35 ± 0.63 ng/g tissue; Brain, 4.61 ± 0.64 ng/g tissue; Adipose tissue, 0.34 ± 0.07 μg/g tissue; Serum, 0.39 ± 0.09 ng/mL. In (B), Liver, 1.48 ± 0.23 μg/g tissue; Spleen, 3.73 ± 0.39 ng/g tissue; Thymus, 3.22 ± 0.22 ng/g tissue; Brain, 3.24 ± 0.31 ng/g tissue; Adipose tissue, 14.21 ± 1.94 ng/g tissue; Serum, 0.19 ± 0.01 ng/mL. Significant difference from each PenCDF-treatment group, *, $p<0.05$; **, $p<0.01$.

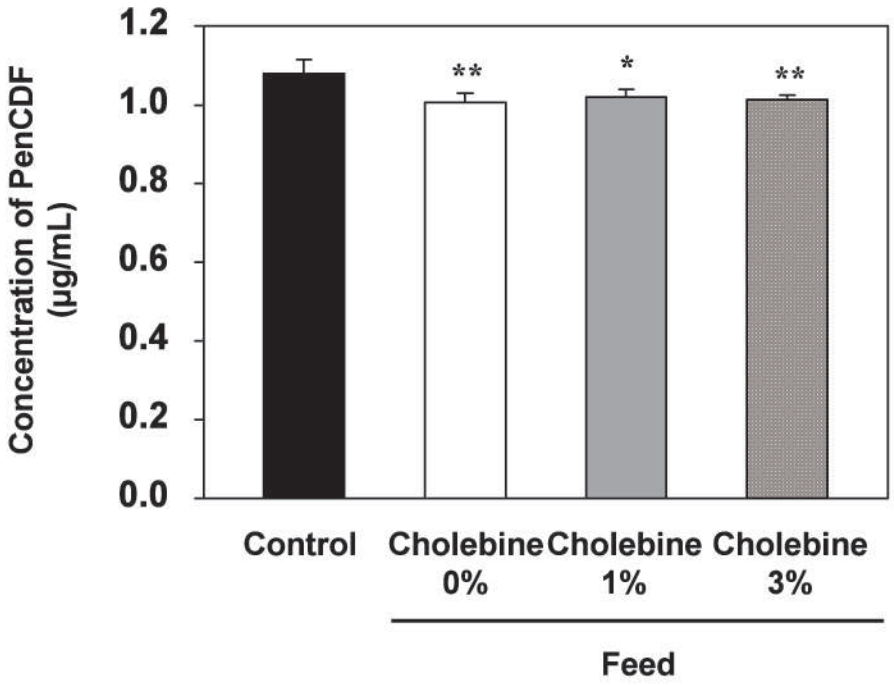



**Fig. 6. The binding of cholebine to PenCDF.** The values represent the mean ± S.D. of 3 assays. Significant difference from the control: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$.

分担研究報告書

# ダイオキシン後世代影響の抗酸化物質による軽減

研究分担者　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**　本研究では、ダイオキシン後世代影響を軽減する物質の探索を目的として、2,3,7,8-tetrachlorodinezo-*p*-dioxin (TCDD) 母体曝露によって惹起される胎児ステロイドホルモン合成酵素発現低下に対する抗酸化物質の影響を観察した。妊娠 15 日目の Wistar 系ラットに抗酸化物質を尾静脈内投与し、そののち TCDD を経口投与した。その翌日より妊娠 20 日目まで初回と同用量の抗酸化物質を尾静脈内投与し、胎児の精巣と脳下垂体におけるステロイドホルモン合成関連タンパク質の mRNA 量を定量した。その結果、TCDD 母体曝露による胎児精巣のステロイドホルモン合成酵素 mRNA の低下は、α-リポ酸（LA）の併用によりほぼ完全に回復することが明らかとなった。また、胎児脳下垂体における性腺刺激ホルモン mRNA の発現低下も、LA を併用することによりコントロールレベルまで回復した。一方、LA 以外の抗酸化物質では、同様の回復効果は認められなかった。以上の結果から、LA は胎児の性腺刺激ホルモンの回復を介してステロイドホルモン合成系の障害を消去するものと考えられ、これは抗酸化的ストレス作用以外の機構を介して惹起される可能性が示された。

## A. 研究目的

ダイオキシン類による後世代影響は、母体に急性毒性が現れない低用量の曝露で引き起こされる。次世代への影響は社会的な関心も大きく、早期の予防法、並びに治療法の開発が期待されている。当研究室におけるこれまでの検討から、ダイオキシン類による後世代影響は、胎児生殖器官におけるステロイドホルモン合成酵素の発現低下に起因すると考えられている（1,2）。この発現低下は、脳下垂体より分泌される制御因子である黄体形成ホルモン（luteinizing hormone; LH）の分泌低下を起点とするものと思われ（1,2）、事実、胎児への直接的な LH の補充は、ステロイドホルモン合成酵素の発現低下、並びに出生後の性行動異常をコントロールレベルまで改善する（データ未発表）。従って、ダイオキシン母体曝露時における胎児ステロイドホルモン合成酵素発現低下の回復は、ダイオキシンによる後世代影響の改善を考える上で有効な手段の一つと考えられる。

ダイオキシンの毒性発現機構については、これまでにも多くの研究成果が報告されている。その詳細については未解明な点が多いが、ダイオキシン中毒症状のほとんどは、細胞の可溶性画分に存在する芳香族炭化水素受容体の活性化、もしくは酸化的ストレスの惹起を起点とするものと考え

られている（3,4）。従って、ダイオキシンの胎児期曝露による後世代影響が、このいずれかの機構を介して引き起こされている可能性は十分に考えられる。そこで本研究では、ダイオキシン後世代影響を軽減する物質の探索を目的として、抗酸化物質による 2,3,7,8-tetrachlorodinezo-*p*-dioxin (TCDD) 誘発性胎児ステロイドホルモン合成酵素発現低下に対する影響を観察した。

**B. 研究方法・研究結果**

精巣のステロイドホルモン合成酵素に対する影響

妊娠 15 日目の Wistar 系ラットにα-リポ酸 (LA, 20 mg/kg)、3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA, 500 mg/kg)、およびアスコルビン酸 (VC, 200 mg/kg) を尾静脈内投与し、その 30 分後に TCDD を 1 μg/kg 経口投与した。その翌日より妊娠 20 日目まで、初回と同用量の LA、BHA および VC を 1 日 1 回尾静脈内投与し、最終投与 30 分後に胎児より臓器を摘出した。臓器より mRNA を抽出し、分析対象 mRNA 量を半定量的 reverse transcriptional-polymerase chain reaction 法により解析した。これまでに報告された結果と同様、胎児精巣におけるステロイドホルモン合成酵素である steroidogenic acute-regulatory protein、cytochrome P450 (CYP) 11A1、並びに CYP17 の mRNA 量は、TCDD 母体曝露時において有意に低下した（Fig. 1）。LA の併用は、TCDD によるこれらの発現低下をコントロールレベルまで回復させることが明らかとなった。これに対し、他の抗酸化物質では、これらを TCDD 処理母ラットに与えても、同様の回復効果は認められなかった。

下垂体性腺刺激ホルモンに対する影響

脳下垂体より分泌される LH および卵胞刺激ホルモン（Follicle-stimulating hormone, FSH）は、末梢生殖組織におけるステロイド合成を制御する上位因子である。そこで次に、TCDD によって引き起こされる性腺刺激ホルモンの発現変動に対する抗酸化物質の効果を検討した。LH および FSH は共にα- とβ-サブユニットからなるヘテロダイマーであるが、これらのうち、両ホルモンのβ-サブユニットの mRNA 発現量は、TCDD による母体曝露によって有意に低下した（Fig. 2）。この発現の低下は、LA の併用によりほぼ完全に回復したが、他の抗酸化物質の併用では、同様の効果は認められなかった（Fig. 2）。これに対し、両性腺刺激ホルモンのα-サブユニットについては、TCDD 母体曝露に伴う変化は認められず、また、抗酸化物質による影響も観察されなかった（Fig. 2）。また、下垂体分泌型の別の性腺刺激ホルモンである prolactin についても、TCDD および抗酸化物質による影響は観察されなかった（Fig. 3）。さらに、酸化的ストレス応答性の転写因子である NF-E2 related factor 2 (Nrf2) の mRNA 量を定量した結果、BHA を母体に投与した場合、胎児の脳下垂体において有意に増加することが明らかとなった（Fig. 4）。

（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実施した。

## C. 考察

本検討では、抗酸化物質に注目しダイオキシンの後世代影響に対する効果を観察した。その結果、TCDD 母体曝露に伴う胎児精巣のステロイドホルモン合成タンパク質、並びに下垂体における性腺刺激ホルモンの mRNA 発現低下が、LA の併用によりほぼ完全に回復することが明らかとなった。これに対し、他の抗酸化物質では、LA と同様の効果を得ることはできなかった。これまでの検討から、TCDD 母体曝露による胎児精巣でのステロイドホルモン合成酵素発現低下の作用点は、精巣ではなく脳下垂体にあることが明らかとなっている（1,2）。従って、抗酸化物質がこの TCDD による作用を消去する場合、投与された抗酸化物質が作用点に到達していることが必要である。本検討では、胎児の脳下垂体中における酸化的ストレスの状態を測定していないため、実際に抗酸化物質が到達しているか否かについては不明である。しかし、BHA 処理において、胎児脳下垂体中の Nrf-2 mRNA 量は有意に増加した。Nrf-2 は、酸化的ストレス応答性の転写因子であり、BHA など抗酸化物質により活性化されることが明らかとなっている（5,6）。従って、少なくとも BHA は、胎児の脳下垂体に到達し、抗酸化作用を発揮していたと考えられる。しかし、BHA の併用は、胎児脳下垂体における LH および FSH の β-subunit の TCDD による発現低下を回復しなかった。以上の結果から、LA による回復効果は、抗酸化作用以外の作用を介して発揮されていることが強く示唆された。

LA は抗酸化物質であると共に、ピルビン酸等のα-ケト酸の脱水素反応に必須な補酵素として働くビタミンであり、体内のエネルギー産生に必要な物質である（7）。また、本ビタミンは、グリシン開裂反応にも関わり、ヌクレオチド生合成に必要な一炭素ユニットの供給にも関与している（7）。これらの事実を考慮した場合、TCDD による LH や FSH の発現低下は、LA のビタミン作用を必要とするα-ケト酸脱水素反応等の失調に基づく可能性が考えられる。LH や FSH の発現制御については不明な点が多い。現在のところ、視床下部から遊離されるゴナドトロピン遊離促進ホルモンが発現制御の中心を担っていると考えられている。これに対し、α-リポ酸による LH や FSH の発現制御については、これまで全く報告がない。本研究成果は、下垂体性腺刺激ホルモンの発現制御の解明に関して、新たな知見を提示するものであると考えられる。

## D. 結論

TCDD 母体曝露による胎児精巣のステロイドホルモン合成タンパク質、並びに下垂体における性腺刺激ホルモンの発現低下が、LA の併用によりほぼ完全に回復することが明らかとなった。これに対し、他の抗酸化物質では、LA と同様の効果を得ることはできなかった。以上の結果から、TCDD による脳下垂体の LH/FSH の発現低下は、酸化的ストレスに起因するのではなく、LA のビタミン作用を必要とするα-ケト酸脱水素反応等の失調に基づく可能性が示された。

## E. 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) Fernandez-Salguero, P. M., Hilbert, D. M., Rudikoff, S., Ward, J. M. and Gonzalez, F. J., Aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-induced toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol., 140, 173-179 (1996).
4) Ishida, T., Hori, M., Ishii, Y., Oguri, K. and Yamada, H., Effects of dioxins on stress-responsive systems and their relevance to toxicity. J. Dermatol. Sci., Suppl. 1, 1, S105-S112 (2005).
5) McMahon, M., Itoh, K., Yamamoto, M., Chanas, S. A., Henderson, C. J., McLellan, L. I., Wolf, C. R., Cavin, C. and Hayes, J. D., The cap 'n' collar basic leucine zipper transcription factor Nrf2 (NF-E2 p45-related Factor 2) controls both constitutive and inducible expression of intestinal detoxification and glutathione biosynthetic enzymes. Cancer Res., 61, 3299-3307 (2001).
6) Venugopal, R. and Jaiswal, A. K., Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant responsive element-mediated expression of NAD(P)H:quinone oxidereductase$_1$ gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 14960-14965 (1996).
7) Packer, L., Roy, S. and Sen, C. K., Alpha-lipoic acid: a metabolic antioxidant and potential redox modulator of transcription. Adv. Pharmacol., 38, 79-101 (1997).

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

1. フォーラム 2008：衛生薬学・環境トキシコロジー（熊本、2008 年 10 月）
2. 第 25 回日本薬学会九州支部大会（宮崎、2008 年 12 月）
3. 日本薬学会第 129 年会（京都、2009 年 3 月）

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

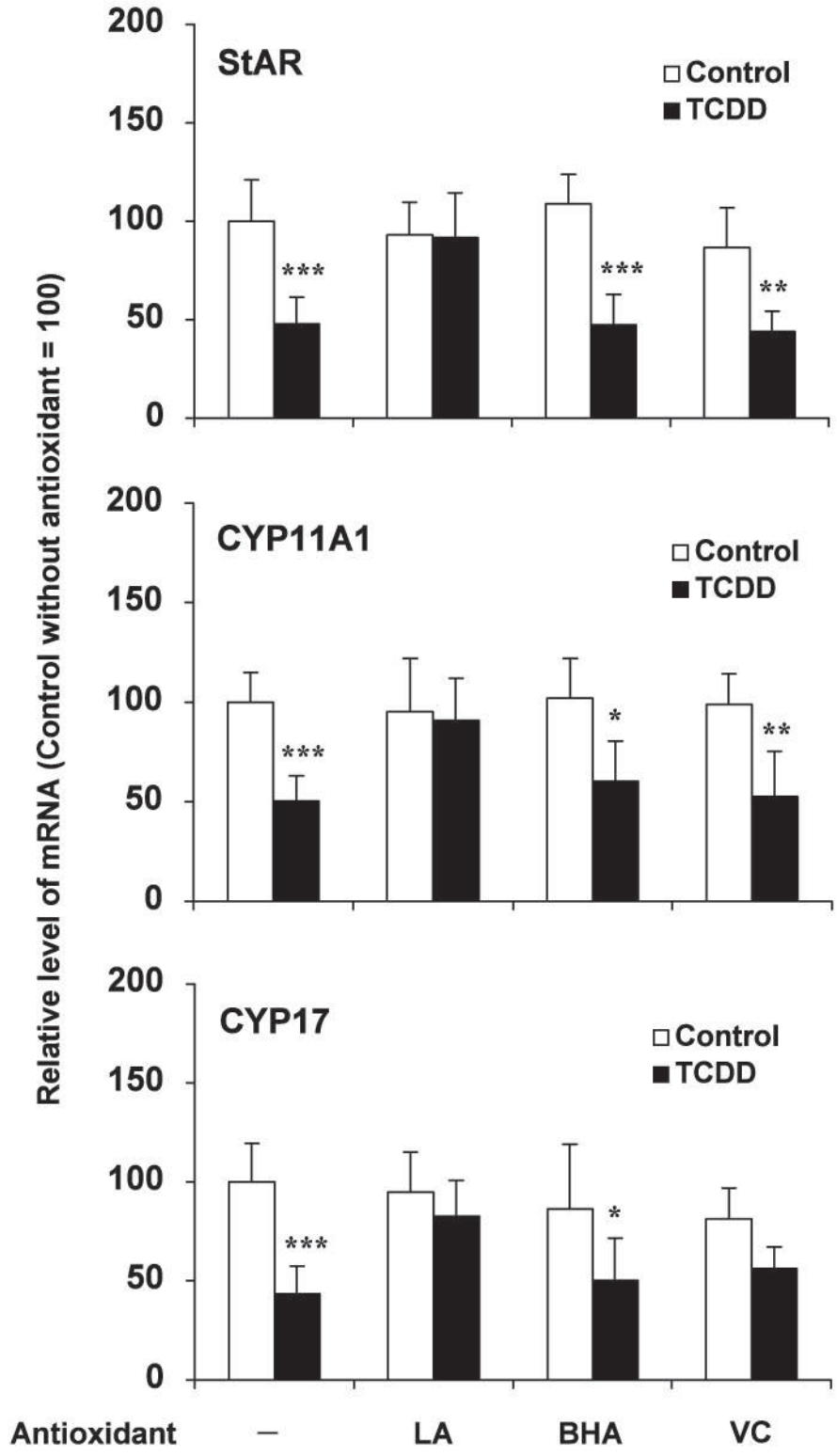



**Fig. 1. The effect of antioxidants on the alteration of steroidogenic acute regulatory protein (StAR), cytochrome P450 (CYP) 11A1, and CYP17 mRNAs in fetal testis after maternal exposure to TCDD.** Values represent the mean ± S.D. of 6 (LA-, BHA- and VC-treated groups) or 12 (control and TCDD-treated group) fetuses. Significant difference from each control: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

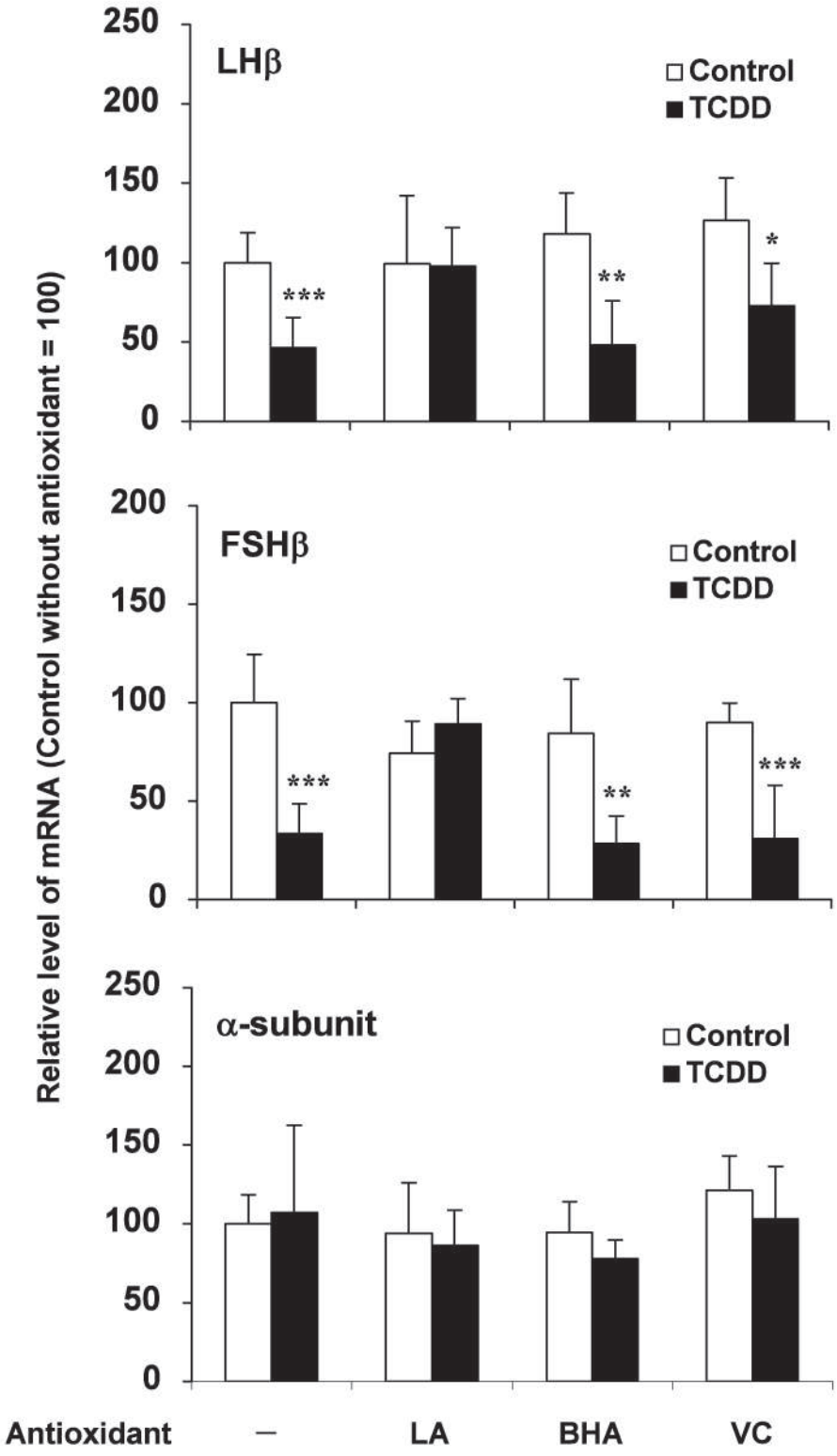



**Fig. 2. The effect of antioxidants on the alteration of luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) mRNAs in fetal pituitary after maternal exposure to TCDD.** Values represent the mean ± S.D. of 8 (control), 6 (TCDD only), 4 (LA-treated group), 3 (BHA-treated group), 4 (VC only) and 3 (VC+TCDD-treated group) fetuses. Significant difference from each control: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

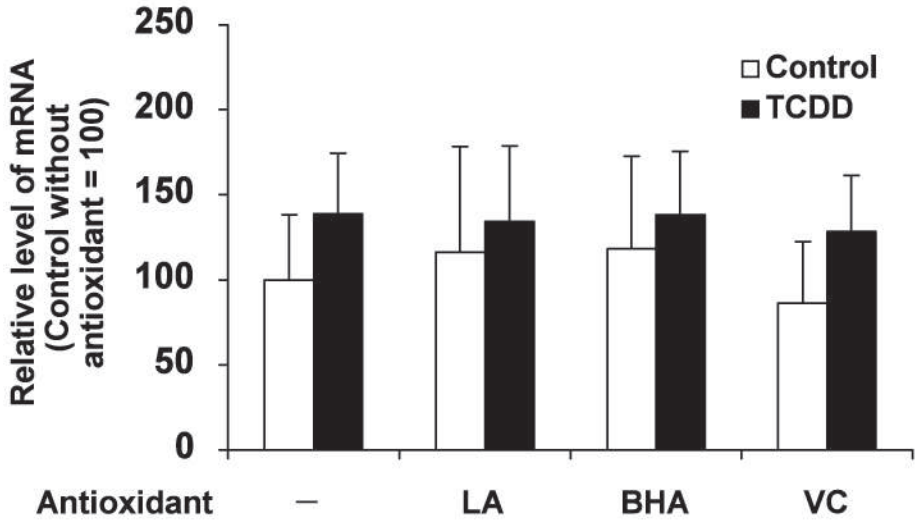



**Fig. 3. The effect of antioxidants on the alteration of prolactin mRNAs in fetal pituitary after maternal exposure to TCDD.** Values represent the mean ± S.D. of 8 (control), 6 (TCDD only), 4 (LA-treated group), 3 (BHA-treated group), 4 (VC only) and 3 (VC+TCDD-treated group) fetuses.

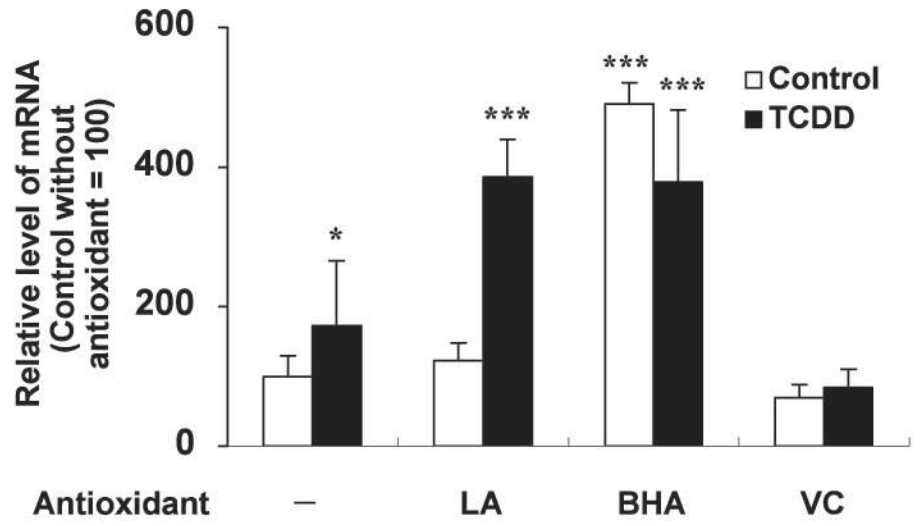



**Fig. 4. The effect of antioxidants on the alteration of NF-E2 related factor 2 mRNAs in fetal pituitary after maternal exposure to TCDD.** Values represent the mean ± S.D. of 7 (control), 6 (TCDD only), 3 (LA-treated group), 3 (BHA-treated group), 4 (VC only) and 3 (VC+TCDD-treated group) fetuses. Significant difference from control with antioxidant absence: *, $p<0.05$; ***, $p<0.001$.

分担研究報告書

# 食物成分 resveratrol によるダイオキシン中毒症状軽減の試み：投与経路の違いに基づいた血中 resveratrol 濃度の経時的変化

研究分担者　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**　これまでの研究から、植物ポリフェノールである resveratrol が、ダイオキシン中毒症状の一部に対し有効である可能性が明らかとなっている。また、resveratrol の効果は、その生物学的利用率（bioavailability）の改善に伴って増強される可能性も示された。本研究では、ダイオキシン中毒症状に対する resveratrol の臨床応用を目指す基礎研究の一環として、resveratrol の経口、皮下および経皮投与における bioavailability を比較・検討した。Wistar 系雄性ラットに resveratrol を投与した場合、血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve extrapolated infinity, $AUC_{inf}$）は、経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で増加する傾向が認められた。また、平均滞留時間と半減期についても、同様の傾向が認められた。ダイオキシン中毒症状に対する resveratrol の適用には、さらなる吸収効率の改善は必要不可欠であるが、経皮吸収法は有望な手段の一つであると考えられた。

## A. 研究目的

当研究室では、ダイオキシン中毒症状に対する予防法や治療法の開発を目的として、resveratrol に注目し検討を行ってきた。その結果、resveratrol が TCDD により惹起される体重増加抑制および脂肪肝を軽減することを明らかにした（平成 17 年度、平成 18 年度分担研究報告書にて報告済み）。さらに、この作用の一部は、resveratrol の生物学的利用率（bioavailability）の改善に伴い増強された（平成 19 年度分担研究報告書にて報告済み）。Resveratrol は、ダイオキシン類による芳香族炭化水素受容体の活性化に対する antagonist 様作用（1,2）、および抗酸化的ストレス作用（3,4）を有することが知られている。さらに最近、Jang らは、resveratrol の前投与が、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) による口蓋裂と水腎症の発生頻度を低下させると報告している（5）。これらの事実から、resveratrol がダイオキシン中毒症状に対し有効である可能性は十分に期待できる。

昨年度のマウスを用いた検討において、resveratrol の bioavailability を改善する手段として皮下投与を用いた。その結果、投与時における血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve extrapolated infinity, $AUC_{inf}$）は、経口投与時に比べ約 4 倍増加した。しかし、この投与方法は、投薬時の動物へのストレス負荷が大きく、臨床応用を考える上でも大きな問題となる。投与時の負担が少なく、且つ高い bioavailability を得ることのできる投与方法を構築することは、臨床応用に向けた重要な命題の一つである。以上のような背景

のもと、本研究では、resveratrol の bioavailability と投与方法との関連性を明らかにするため、経口投与、皮下投与および経皮吸収時における resveratrol の bioavailability を比較・検討した。

**B. 研究方法・研究結果**

これまでの検討では、resveratrol の血中濃度測定にマウスを使用した。しかし、個体から得られる血液量が少量であるため、採血は経時的なものではなく、このため kinetic parameters の解析が容易ではなかった。そこで本検討ではラットを用い、尾部より採血を行うことで血液中の resveratrol 量を経時的に観察した。

1 週間馴化した 5 週令の Wistar 系雄性ラットに、propylene glycol に溶解した resveratrol を 150 mg/kg body weight/2 mL 経口投与した。そののち、経時的に尾部より約 750 µL 採血した。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、その血漿 50 µL に内標準物質である 7-ethoxycoumarin (10 µg/mL) を 10 µL 添加した。さらに、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 回行い、窒素ガスにて酢酸エチルを留去し、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。Fig. 1 には、血中濃度推移の一例を示す。Resveratrol を経口投与した場合、血中濃度は投与後 30 分で最高値に達し、3 時間後にその約 30% に低下した。経口投与時における $AUC_{inf}$、平均滞留時間（mean residence time: MRT）、および半減期（elimination half-life: $t_{1/2}$）は、それぞれ 0.42 ± 0.07 µg·hr/mL、2.5 ± 0.3 hr および 1.8 ± 0.2 hr であった（Table 1）。

次に、皮下投与時における resveratrol の血中濃度の推移を観察した。経口投与の場合と同様に調製した resveratrol を、ラットの背部皮下に投与し（150 mg resveratrol/kg body weight/2 mL propylene glycol）、経時的に尾部より採血して resveratrol 濃度を測定した。Fig. 2 に血中濃度推移の一例を示す。皮下投与の場合、血中濃度は投与後 20 分で最高値に達しており、その濃度は経口投与時における最高血中濃度と同程度であった。また、投与 24 時間後では、resveratrol の血中濃度は、最高値の約 1/3 に低下した。皮下投与時における $AUC_{inf}$、MRT および $t_{1/2}$ は、それぞれ 1.93 ± 0.41 µg·hr/mL、24.9 ± 4.1 hr および 17.2 ± 2.8 hr であった（Table 1）。

最後に経皮吸収による検討を行った。これまでの当研究室における検討から、resveratrol の高い吸収率が得られる軟膏剤の基材として、fatty alcohol propylene glycol (FAPG) 基材が見いだされている。そこで、本検討における経皮吸収実験の軟膏基材として、FAPG 基剤を選択した。75 °C にて propylene glycol に溶解した resveratrol (90 mg/mL)、並びに 75 °C にて溶解させた oleic acid、stearyl alcohol および polyethylene glycol 6000 を乳鉢中にて混和し、軟膏剤を調製した（resveratrol/propylene glycol:stearyl alcohol:oleic acid:polyethylene glycol 6000 = 55%:35%:5%:5%）。ラットへの塗布の方法は、以下の 3 通りに分けて行った。1) 馴化したラットをペントバルビタールにて麻酔したのち、バリカンで背部左側の体毛を刈り（縦 x 横 = 5 cm x 3 cm）、その部分に軟膏剤 150 mg resveratrol/kg body weight/3 g ointment を塗布した（Rat 1）。2) 同様に麻酔したラットの背中中央付近

の体毛をバリカンにて刈り（縦 x 横 = 5 cm x 3 cm）、その部分に軟膏剤を塗布した（Rat 2）。3) 同様に麻酔したラットの腹部、および背部の体毛をバリカンにて刈り、その背部約 5 cm x 3 cm の部分に軟膏剤を塗布した（Rat 3）。いずれの方法も、毛を刈る部分は異なるが、背部の同じ面積に同量の軟膏剤を塗布し、塗布後は包帯にて塗布面を保護して採血を行った。Fig. 3 は、3 通りの投与方法における resveratrol の血中濃度の推移を示している。投与部位の違いにより差は見られるが、投与 2～6 時間後に血中濃度は最高値に達し、24 時間後においてもその血中濃度は最高値の 70% ～ 80% を維持していることが明らかとなった。3 ラットの動態学的パラメーターをまとめると、それぞれ 2.31 ± 0.15 μg·hr/mL（$AUC_{inf}$）、71.7 ± 26.3 hr（MRT）および 49.7 ± 18.2 hr（$t_{1/2}$）であった（Table 1）。

（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実施した。

## C. 考察

本検討より、resveratrol の bioavailability は、経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で改善される傾向にあることが明らかとなった。経皮吸収に関しては、投与方法の異なるデータをまとめたものであり、厳密には一つのパラメーターとして示すことはできない。しかし、経口投与、並びに皮下投与に比べ各動態学的パラメーターが増加することは明らかであった。経皮吸収は、選定される基材、薬物濃度、吸収促進剤の有無、さらに塗布部分などの要因により吸収効率が大きく変動する。本検討においても、動物の個体間で投与開始から数時間における血中濃度が大きく異なっていた。この原因を明らかにすることはできなかったが、塗布する部位が若干違うものの、その他の条件は全く同じであったことから、塗布後の薬物接触部の補綴などの些細な違いが要因となった可能性が考えられる。一方、経口投与と皮下投与では、3 個体の血中濃度の推移に大きな差は認められなかった。従って、resveratrol の経皮吸収による安定した血中濃度を得るためには、塗布された軟膏剤から皮膚を通過する過程において、安定した resveratrol の通過が必要不可欠であり、この達成に向けたさらなる条件検討が必要であると考えられた。

前年度、マウスを用いた検討から、ダイオキシン毒性の一部に対して resveratrol の皮下投与が、経口投与に比べ有効であることが明らかとなっている。この時の投与量当たりに換算した $AUC_{inf}$ は 0.43 μg·hr/mL であり、本検討における経皮吸収における値に比べ約 28 倍高い値であった。このことから、resveratrol の経皮吸収には、大きな種差があることも示唆され、本ポリフェノールをダイオキシン毒性軽減の目的でヒトへ適用するには、ヒトでの availability が満足すべきものか否かを検証する必要も残っている。

## D. 結論

ラットを用いて resveratrol の bioavailability を解析した結果、経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で改善される傾向にあることが明らかとなった。しかし、本検討における経皮吸収時の $AUC_{inf}$ は、マウスにおける皮下投与時の値に比べ

極めて低い値となり、経皮投与法の利点には大きな動物種差が存在することも示唆された。ダイオキシン中毒症状に対するresveratrol の適用を考えた場合、さらなる吸収効率の改善は必要不可欠と考えられる。しかし、同一動物種間で比べた場合、経皮吸収は最も高い bioavailability を得られる方法であり、今後の臨床応用を考える上で有効な手段の一つであると思われる。

## E. 参考文献


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

2) Casper, R. F., Quesne, M., Rogers I. M., Shirota, T., Jolivet, A., Milgrom, E. and Savouret, J.-F., Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor: Implications for prevention of dioxin toxicity. Mol. Pharmacol., 56, 784-790 (1999).

3) Frankel, E. N., Waterhouse, A. L. and Kinsella, J. E., Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. Lancet, 341, 1103-1104 (1993).

4) Fuhrman, B., Lavy, A. and Aviram, M., Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density-lipoprotein to lipid-peroxidation. Am. J. Clin. Nutr., 42, 549-554 (1995).

5) Jang, J. Y., Park, D., Shin, S., Jeon, J. H., Choi, B. I., Joo, S. S., Hwang, S. Y., Nahm, S. S. and Kim, Y. B., Antiteratogenic effect of resveratrol in mice exposed in utero to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. Eur. J. Pharmacol., 591, 280-283 (2008).


## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

特になし。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

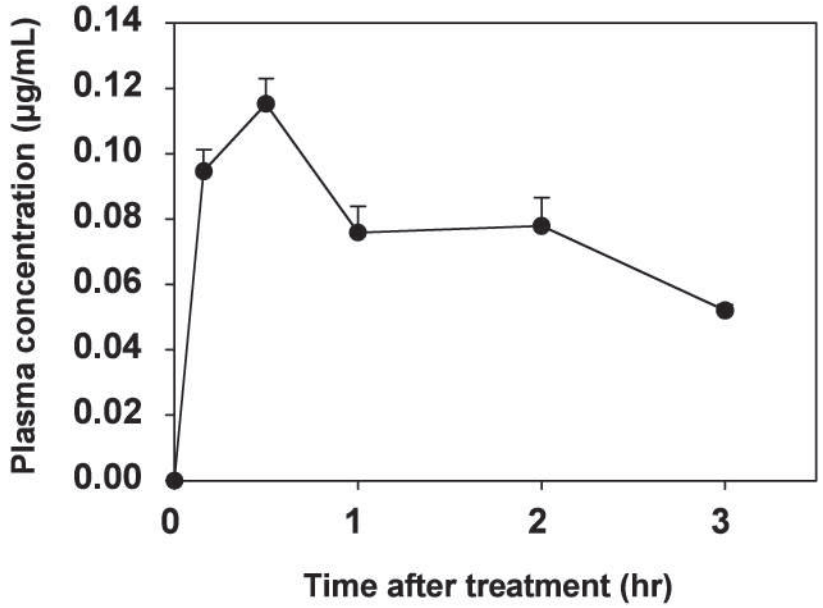



**Fig. 1. Plasma concentration of resveratrol given to rats by oral administration.** The values represent the mean ± S.D. (4 assays).

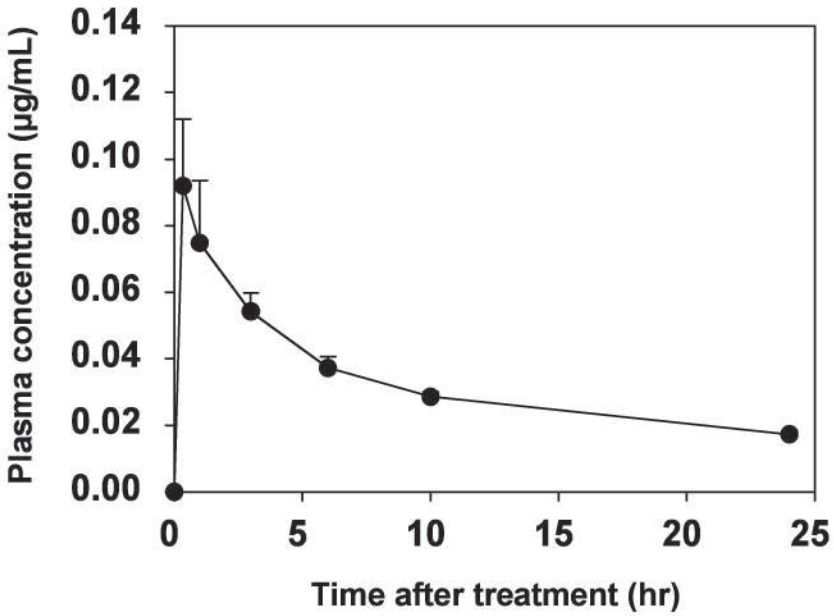



**Fig. 2. Plasma concentration of resveratrol injected subcutaneously to rats.** The values represent the mean ± S.D. (4 assays).

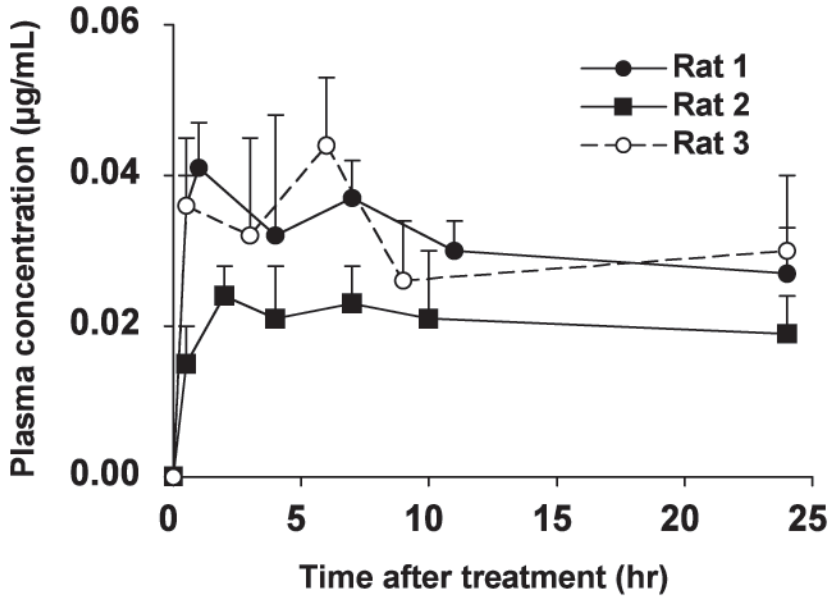



**Fig. 3. Plasma concentration of resveratrol given to rats by transdermal absorption.** Each value represents the mean ± S.D. (4 assays). The details of treatment to Rat 1, Rat 2 and Rat 3 are described in the text.

**Table 1. Pharmacokinetics parameters of resveratrol given by oral, subcutaneous and transdermal absorption administration obtained by non-compartmental analysis.**

| Parameter | Administration route | | |
|---|---|---|---|
| | Oral | Subcutaneous | Transdermal |
| $AUC_{inf}$ (μg□hr/mL) | 0.42 ± 0.07 | 1.93 ± 0.41 *** | 2.31 ± 0.15 *** |
| MRT (hr) | 2.5 ± 0.3 | 24.9 ± 4.1 | 71.7 ± 26.3 **, |
| $t_{1/2}$ (min) | 1.8 ± 0.2 | 17.2 ± 2.8 | 49.7 ± 18.2 **, |

Significant difference from each value of oral administration: **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$; from each value of subcutaneous injection: , $p<0.01$. Notes. $AUC_{inf}$, area under the curve extrapolated to infinity; MRT, mean residence time; $t_{1/2}$, elimination half-life.

## 研究成果の刊行に関する一覧表

（2006～2008 年度分）

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書　籍　名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 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 concentration of Dioxin like PCBs, PCDFs, and PCDDs in blood of Yusho patients | Masatoshi Morita | Persistent Organic Pollutants (POPs) research in Asia | Dioxin 2007<br>"The 27th International symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs) : Dioxin 2007 was held in September 3-7th 2007 at hotel Ohkura Tokyo" | | 2008 | 400-403 |
| Masuda Y, Yoshimura T, Kajiwara J, Ryan J | Transition of PCB and PCDF concentration in Yusho patients for 38 years | Masatoshi Morita | Persistent Organic Pollutants (POPs) research in Asia | | | 2008 | 431-436 |
| 上ノ土武、柴田智子、古江増隆 | ダイオキシン類と皮膚疾患 | 玉置邦彦 | 最新皮膚科学体系 2006-2007 | 中山書店 | 東京都, 日本 | 2006 | 293-302 |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|---|---|---|---|
| Ohta C, Haraguchi K, Kato Y, Endo T, Matsuoka M, and Koga N | Metabolism of 2,2',3,4',5,5'-hexachlorobiphenyl(CB146) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs | Organohalogen Compounds | 70 | 1185-1188 | 2008 |
| Kato Y, Haraguchi K, Kubota M, Ikushiro S, Sakaki T, Koga N, Yamada S, and Degawa M | A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by 4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl in mice | Organohalogen Compounds | 70 | 1601-1604 | 2008 |
| Nagayama J., Hirakawa H., Kajiwara J., Todaka T., Shibata S., Tsuji H. and Iwasaki T | Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans by FBRA in patients with Yusho | Organohalogen Compounds | 70 | 1574-1577 | 2008 |
| Nagayama J., Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Yoshimura T. and Furue M | Evaluation on toxic contribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs determined in the preserved umbilical cords of Yusho patient | Organohalogen Compounds | 70 | 410-413 | 2008 |
| Aozasa O, Ohta S, Nakao T, Miyata H, Ishizawa H, Sakashita S, Satou R, Mizuno R | PCB contamination assessment of yusho patients by using preserved human umbilical cord | Bull Environ Contam Toxicol | 81(6) | 578-582 | 2008 |
| Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Iida T, Furue M. | Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 127 elderly residents in Nakagawa Town, Fukuoka Prefecture, Japan | Chemosphere | 73(6) | 865-872 | 2008 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Yoshimura T, Onozuka D, Kaneko S, Furue M | Mortality among Yusho patients: 40 Years of Follow-Up | Organohalogen Compounds | 70 | 422-425 | 2008 |
| 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 |
| Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Iida T, Yoshimura T and Furue M | Follow-up survey of dioxins concentrations in the blood of Yusho patients in 2002-2005 | Organohalogen compounds | 68 | 1605-1607 | 2006 |
| Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Tsuguhide Hori, Kazuhiro Tobiishi, Takao Iida, Masutaka Furue | Concentration of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-ortho and mono-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. | Chemosphere | 66 | 1983-1989 | 2007 |
| 太田千穂，原口浩一，尾崎真理，杢岡樹子，古賀信幸 | 2,2',3,4,4',5,5',6-七塩素化ビフェニル(CB187)の主代謝物の合成 | 中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要 | 38 | 197-201 | 2006 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Ohta C, Haraguchi K, Kato Y, Ozaki M, Koga N | In vitro metabolism of 2,2',3,4,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl(CB183) with liver microsomes from rats, guinea pigs and hamsters | Organohalogen compounds | 68 | 1733-1736 | 2006 |
| 上ノ土武、柴田智子 | ダイオキシン類が人体に及ぼす影響油症を通じて明らかになったこと | 日皮会誌 | 116(13) | 2174-2177 | 2006 |
| 柴田智子、上ノ土武、古江増隆 | 環境ホルモンと皮膚疾患－油症をモデルにして－ | 皮膚アレルギーフロンティア | 4(3) | 163-167 | 2006 |