平成21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21年度　総括・分担研究報告書

研究代表者　古江　増隆

平成22（2010）年3月

平成２１年度　　総括・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

平成２１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

赤羽 学　（奈良県立医科大学健康政策医学講座 講師）

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）

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）

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）

栄　信孝　（九州大学病院神経内科 助教）

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）

月森 清巳　（福岡市立こども病院　周産期医療企画部長）

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 講師）

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　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）
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）
東　晃一　（九州大学大学院病態機能内科学）
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）
今村知明　（奈良県立医科大学健康政策医学講座　教授）
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）
片岡恭一郎　（福岡県保健環境研究所企画情報管理課　研究員）
梶原淳睦　（福岡県保健環境研究所生活化学課　専門研究員）
神奈川芳行　（東京大学医学部付属病院企画情報運営部）
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）
黒川陽一　（福岡県保健環境研究所生活化学課　課長）
小池創一　（東京大学医学部付属病院企画情報運営部　准教授）
桜井利彦　（福岡県保健環境研究所企画情報管理課　課長）
佐藤伸一　（東京大学大学院医学系研究科皮膚科学　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　講師）
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・学術研究員）
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　研究員）
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　専門研究員）
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　（東京大学医学部付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）
宮脇　崇　（福岡県保健環境研究所計測技術課　主任技師）
師井洋一　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　准教授）
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２１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……０１
研究代表者　古江 増隆

Ⅱ．平成２１年度分担研究報告書

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

02. 油症の健康影響に関する疫学的研究……１０
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

03. 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……１９
研究分担者　赤峰昭文
研究協力者　橋口　勇

04. 油症検診における油症患者の皮膚症状の推移……３０
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

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
治療法の開発等に関する研究……３５
研究分担者　石橋達朗

06. 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……３６
研究分担者　隈上武志
研究協力者　北岡　隆

07. 福岡県油症患者における骨密度の解析……３９
研究分担者　岩本幸英
研究協力者　福士純一，徳永章二

08. 油症患者の自覚症状と他覚的神経障害の変化の検討……４４
研究分担者　栄　信孝
研究協力者　吉良潤一，大八木保政

09. カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ、血清 CK 年次変化と骨代謝マーカー……４９
研究分担者　吉村俊朗
研究協力者　中野治郎

10. 油症患者におけるリンパ球幼若化反応の検討……５９
研究分担者　辻　博

11. 油症患者におけるヘリコバクター・ピロリ感染と胃癌の検討……６３
研究分担者　松本主之
研究協力者　東　晃一

12. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査……６５
研究分担者　吉村健清
研究協力者　梶原淳睦，黒川陽一，平川博仙，堀　就英，中川礼子，
芦塚由紀，新谷依子，飛石和大，安武大輔，宮脇　崇，
桜井利彦，片岡恭一郎，小野塚大介，髙尾佳子，堀川和美，
千々和勝己，戸高　尊，飯田隆雄

13. 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……７４
研究分担者　吉村健清
研究協力者　梶原淳睦，平川博仙，堀　就英，安武大輔，戸高　尊，
飯田隆雄

14. 油症についての疫学・統計学的研究
―油症検診受診者における 2,3,4,7,8-塩化ｼﾞﾍﾞﾝｿﾞﾌﾗﾝ血中濃度の時間変化―……７９
研究分担者　徳永章二

15. 油症患者の血中ダイオキシン類の半減期の関係に関する研究……８４
研究分担者　赤羽　学
研究協力者　松本伸哉，今村知明，小池創一，神奈川芳行

16. 油症患者の血中 2,3,4,7,8-PeCDF の半減期と症状の関係に関する研究……９４
研究分担者　赤羽　学
研究協力者　松本伸哉，今村知明，小池創一，神奈川芳行

17. 油症患者におけるアトピー性皮膚炎有病率、血清 IgE および
TARC 濃度に関する研究……１０１
研究分担者　内　博史

18. 油症認定患者における IL-22 の検討……１１０
研究分担者　清水和宏
研究協力者　穐山雄一郎，佐藤伸一

19. 油症患者血中 soluble CD163 の検討……１１６
研究分担者　清水和宏
研究協力者　佐藤伸一，穐山雄一郎

20. 油症患者における婦人科疾患に関する研究……１１９
研究分担者　月森清巳

21. 胎児性油症の原因物質に関する研究……１２２
研究分担者　長山淳哉

22. TCDD 誘導肺傷害マウスモデルの SP-D，CC10 発現に関する研究 ……１２７
研究分担者　中西洋一

23. 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：
ヒト表皮細胞における benzo(a)pyrene 誘導性の炎症反応について……１３０
研究分担者　内　博史
研究協力者　辻　学，高原正和，師井洋一，古江増隆，三苫千景

24. ヒト細胞におけるケトコナゾール（ketoconazole: KCZ）の新しい効果：
KCZ は aryl hydrocarbon receptor signaling を介して
Nuclear Factor-Erythroid 2-related factor 2 の発現を誘導し、
酸化・電子ストレスに対する解毒酵素群を発現する。……１３７
研究分担者　内　博史
研究協力者　辻　学，高原正和，師井洋一，古江増隆，三苫千景

25. ダイオキシン受容体（aryl hydrocarbon receptor）シグナルによる
気道上皮細胞の機能解析……１５２
研究分担者　内　博史
研究協力者　千葉貴人，三苫千景

26. 2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル(CB138)のモルモットにおける
in vivo 代謝……１５７
研究分担者　古賀信幸
研究協力者　太田千穂

27. α-リポ酸の TCDD 急性毒性に対する効果……１６４
研究分担者　山田英之
研究協力者　石井祐次，石田卓巳

28. Resveratrol によるダイオキシン毒性軽減の試み：
食物成分の併用に伴う resveratrol の bioavailability への影響……１７４
研究分担者　山田英之
研究協力者　石井祐次，石田卓巳

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表……１８２

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、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。2009年度に新たに認定された9名を含めると、2009年12月末現在における全認定患者数は1,933名であった。油症患者に残存する症状を把握し、その症状とダイオキシン類濃度や各種検査項目との関連性について解析し、ダイオキシン類が生体へ及ぼす慢性の影響を検討した。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。また、今年度は油症の諸症状を軽減するために、ダイオキシン類の排泄を促進するコレスチラミドの内服試験を継続し、ざ瘡の治療薬であるアダパレンの外用試験を新たに開始した。

眼科検診では、眼脂過多の自覚症状が多いが、程度は軽度で油症の影響とは考えにくかった。70歳以上の認定患者で網膜血管の動脈硬化性変化が低い傾向にあり、血中HDLコレステロール高値の影響が推測された。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。2007年度の福岡県検診受診者の骨密度を解析したところ、男女共に年齢およびダイオキシン類濃度と負の関連を認めた。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いた。

油症患者の血液中ダイオキシン類濃度の結果を解析したところ、2008年度の油症認定患者の平均TEQは66.6 pg/g lipidだった。2001年から2007年までの血中PeCDF濃度の時間的変化を調べたところ、男性では年齢が高いほど、女性では体脂肪割合が高いほどPeCDFが減少しがたい傾向があった。血中半減期レベルは6-34年で、一部の対象者群では減少が見られなかった。ダイオキシン類間の半減期の関係を検討したところ、PeCDFが高値の患者は3,3,4,4,5,5-HxCB濃度が高い傾向にあった。全油症認定患者1131名におけるアトピー性皮膚炎の有病率は平均5.7%だった。また、油症患者では健常人と比べて自己免疫の制御に関与しているヘルパーT17細胞が産生するIL-22値の低下が認められた。油症患者で母体と胎児ダイオキシン類移行動態について検討した結果、油症児におけるダイオキシン類TEQ濃度は母親と比して有意に低値で、正常健常人の値と有意差はみられなかった。また、油症患者の母親から1970-73年に生まれた胎児性油症患児と1981-92年に生まれた未認定児の保存臍帯血に存在するPCB類濃度を測定したところ、健常人の児より数倍高濃度であった。

基礎的研究では、TCDD 誘導肺障害マウスモデルにて、マウス肺組織での SP-D 産生の亢進が認められ、TCDD による肺胞上皮の傷害を反映していると考えられた。たばこに含まれる benzo(a)pyrne (BaP)はヒト表皮細胞に作用して arylhydrocarbon recepotor (AhR)シグナル経路によって生じた reactive oxygen species (ROS)によって IL-8 の産生を増加した。また、抗炎症作用を有する抗真菌剤であるケトコナゾール(ketoconazole:KCZ)はヒト表皮細胞の AhR シグナルを活性化した。また、KCZ は酸化・電化ストレスを軽減するのに重要なタンパクである Nuclear factor-erythroid 2-related 2 (Nrf2)の発現を誘導し、BaP によって誘導される IL-8 と DNA 障害のマーカーである 8-OhdG 産生を抑制したため、ダイオキシン類の毒性を軽減する有用な薬剤となりうる可能性が示唆された。さらに BaP はヒト気道上皮細胞に作用してムチンの産生上昇が確認され、油症患者の咳や痰症状に関与すると考えられた。また、α-リポ酸はダイオキシン類によって惹起される酸化的ストレスに対しては用量依存的な軽減効果を示した。

最後に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 PCB とダイオキシン類を直接摂取した、人類史上きわめてまれな事例である。ダイオキシン類が人体にこれほど長期間にわたって及ぼす影響については明確になっていない。2002 年、全国一斉検診にて生体内に微量に存在する PCDF の測定が始まり 8 年が経過した。蓄積したデータを解析し、生体内でのダイオキシン類濃度の推移、油症患者の症状、検診検査項目との関連性について解析、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

I. 班長が担当する研究

１．班長は、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）センター長を兼任する。

２．班の総括と研究班会議開催

３．油症検診の実施（各自治体に委託）と検診結果の全国集計

４．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。

５．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。

６．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。
７．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。
８.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。

Ⅱ．九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究
１．検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、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
2009年度に新たに認定された9名を含めると、2009年12月末現在における全認定患者数は1,933名であった。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、症状は軽度で油症に伴う影響とは考えにくかった。長崎県検診では、70歳以上の認定患者で網膜血管の動脈硬化性変化が低い傾向にあり、血中HDLコレステロール高値の影響が推測された。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。2007年度の福岡県検診受診者の骨密度を解析したところ、男女共に年齢およびダイオキシン類濃度と負の関連を認めた。
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
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年に油症相談員事業を開始し、継続している。

３．情報の提示
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。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。2009年あらたに“油症研究II 治療と研究の最前線”を刊行した。

４．油症認定患者追跡調査およびデータベースの構築
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。2009年度に新たに認定された9名を含めると、2009年12月末現在における全認定患者数は1,933名になった。このうち、生存の確認がとれている者が1,384名、死亡の確認がとれている者が519名、生死不明の者が30名であった。

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。2008年度データベースには1986年度から2008年度検診までの検診受診者1,442名が登録されている。

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（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継続した。2009年は福岡市であらたに2名の登録が得られた。血液中ダイオキシン類濃度の推移について、現在解析、検討中である。

２）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は、福岡市、北九州市、長崎市・五島地区においてそれぞれ7名、2名、6名の計15名の登録が得られ、施行した。

６．検診時の血液検査、尿検査など検査項目の解析

油症患者に認める血清クレアチン・キナーゼの上昇と血清アルドラーゼ値の低下といった異常率は年々低下していた。骨粗鬆症群で血清Ⅰ型コラーゲン架橋N-テロペプチド（type Ⅰ collagen cross-linked N-telopeptide: NTX）の増加を認めたが、血清骨型アルカリフォスファターゼは変化がなかった。また、受診者では尿中のNTX値は低下していたが、踵骨骨密度の低下および骨粗鬆症の増加はなかった。PCBは骨代謝を抑制し骨密度を低下されるが、その影響は少ないと推測された。

７．油症患者におけるリンパ球幼若化反応の検討

2009年度福岡県油症一斉検診の受診者200例についてPHAおよびCon-Aによるリンパ球幼若化反応を測定し、血中PCB濃度および血中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran（PeCDF）濃度との関連について検討した。血中PCB濃度とPHAによるリンパ球幼若化反応、Con Aによるリンパ球幼若化反応の間に有意の負の相関を認め、血中PCB高濃度群において低濃度群に比べPHAによるリンパ球幼若化反応、Con Aによるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度とPHAによるリンパ球幼若化反応、Con Aによるリンパ球幼若化反応の間に相関をみなかったが、血中2,3,4,7,8-PeCDF高濃度群において低濃度群に比べPHAによるリンパ球幼若化反応、Con Aによるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。

８．油症患者の骨・関節病変の臨床的研究

2007年度福岡県油症一斉検診の受診者196名において骨密度を測定して、ダイオキシン類濃度との関連について検討した結果、骨密度は男女ともに、年齢およびダイオキシン類濃度と負の相関を認めた。

９．油症患者にみられる末梢神経障害の評価

これまでに1968年、1980年、2002年、2007年と経時的に油症患者の末梢神経障害を報告してきた。自覚的感覚異常は1968年が39.1%、その後46.2%、59.4%、64.3%と増加し、他覚的感覚異常は当初21.7%、その後7.7%、16.7%、13.4%と

減少していた。慢性期油症患者で想定される小径線維ニューロパチーは、その病態の特定として客観的評価が難しい。神経所見や温度閾値検査、ニューローメーターを含む神経電気生理学的検査に加え、皮膚パッチ生検も有用であると考えられる。

１０．油症患者血液中の PCDF 類実態調査

2008 年度は受診者のうち未認定者 174 名と油症認定者のうち過去 3 年以内に受診歴のない認定者 105 名の血中ダイオキシン濃度を測定した。2008 年度の認定者の平均 Total TEQ は 66.6 pg/g lipid だった。2001 年から 2008 年までの 8 年間の認定者の検体数は 1606 件であるが、認定患者の実数は 611 名で、全認定患者 1912 名の約 32%だった。内訳は男性 300 名、女性 311 名、平均年齢は 65.3 歳、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 140 pg/g lipid だった。しかし、受診認定者の約 50%は PeCDF 50 pg/g lipid 以下だった。

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

血液中 PCB 濃度の測定、分析データの信頼性を確保するため、国内の 5 分析機関に依頼し、同一試料を用いたクロスチェックを実施した。その結果、total PCB 濃度をはじめ、主要同族体および異性体濃度は各分析機関ともよく一致していた。

１２．油症検診受診者における 2,3,4,7,8-塩化ベンゾジフラン血中濃度の時間変化

2,3,4,7,8-PeCDF (PeCDF)の血中レベルの時間的変化を調べた。2001 年から 2007 年までの受診者のうち 340 名を解析の対象とした。男性では年齢が高いほど、女性では体脂肪割合が高いほど PeCDF が減少しがたい傾向があった。また、血中レベルの半減期は 6-34 年で、一部の対象群では減少が見られなかった。解析対象者の約 2/3 を占める高、中 PeCDF 濃度の患者では、自然経過にて一般住民レベルまで濃度が低下しない可能性も考えられる。

１３．油症患者の血中ダイオキシン類の半減期の関係に関する研究

油症患者のダイオキシン類の化合物間の半減期の関係について比較した。今回測定したダイオキシン類の中で、PeCDF が高値の患者の場合、低値の患者に比べて、3,3,4,4,5,5-HxCB(HxCB)の濃度が高く、HxCB を供給する機構が存在する可能性が考えられた。また、PeCDF の半減期と症状の関係について解析したところ、検査項目・症状のうち、１）骨密度 BMD、2)赤血球数、3) スギ特異的 IgE（クラス）との間に関係が強いと判断された。

１４．油症患者におけるアトピー性皮膚炎有病率、血清 IgE および TARC 濃度に関する研究

生存する全油症認定患者のうち回答の得られた 1,131 名のアトピー性皮膚炎の生涯有病率は平均 5.7%だった。一方、2009 年福岡、長崎県油症検診を受診した未認定者 147 名にも同様のアンケートを実施し、有病率は 13.6%であった。2007 年、2008 年度検診を受診した認定者 448 名と未認定者 177 名での血清 IgE 値には有意差は認めず、血中ダイオキシン類濃度との相関も認められなかった。また、これまでに福岡県油症検診を受診した認定者 133 名と未認定者 94 名での血清 thymus and activation-regulated chemokine (TARC)値には有意差は認めず、血中ダイオキシン類濃度との相関も認められなかった。

１５．油症認定患者における IL-22 の役割と血中可溶性 CD163 の検討

油症患者では健常人と比べて、自己免疫の制御に関与しているヘルパーT17 細胞が産生する IL-22 値の低下が認められた。PCB はその代謝過程で superoxide を発生するため、高 PCB 血症である油症は酸化ストレス状態といえる。酸化ストレスの亢進により CD163 は単核球膜上から血液中に soluble CD163 としてその量を増す。認定患者と健常人の血清中の soluble CD163 を測定して比較したが、有意差は認めなかった。

１６．油症患者における婦人科疾患に関する研究

油症検診受診者の中で、母児双方の血中ダイオキシン類濃度測定した母親 16 例、その児 26 例のうち、人工栄養を行った母児 11 組（母親 9 例、児 11 例）を解析の対象とした。油症児におけるダイオキシン類の血中 TEQ 濃度は母親の値と比して有意に低値を示し、正常健常人の値と有意差はなかった。油症子宮内暴露においてはダイオキシン類の児への移行は少なく、胎盤のバリア機能が存在することが示唆された。

１７．胎児性油症の原因物質に関する研究

油症患者の母親から 1970-73 年に生まれた胎児性油症患児と 1981-92 年に生まれた未認定児の保存臍帯血に存在する PCB 類濃度を測定したところ、健常人の児と比較して 3 種のダイオキシン様 PCBs、2,3,3’,4,4’,5-HxCB、2,3,3’,4,4’,5’-HxCB、および 2,3,3’,4,4’,5,5’-HpCB の濃度が数倍高濃度であった。これらの油症特徴的なダイオキシン様 PCBs を活用することにより、新しい油症診断手法開発の可能性が示唆された。

１８．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）TCDD 誘導肺障害マウスモデルにおける SP-D、CC10 発現に関する研究

マウスを用いて 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)を摂食させ、肺組織での SP-D、CC10 タンパクの発現を免疫組織学的に検討した結果、SP-D 産生亢進が認められた。

２）ダイオキシン類がヒト表皮細胞に作用して誘導される炎症反応についての研究

①aryl hydrocarbon receptor (AhR)シグナルを介したケモカインやサイトカインの産生について

たばこに含まれる benzo(a)pyrne (BaP)はヒト表皮細胞に作用して arylhydrocarbon recepotor (AhR) シグナル経路を活性化し、炎症性サイトカインの一つである IL-8 の産生を亢進する。これには、reactive oxygen species (ROS)の産生増加の必要性が確認された。

②ヒト表皮細胞における抗真菌剤ケトコナゾール (ketoconazole:KCZ) の新しい効果

また、抗炎症作用を有する抗真菌剤であるケトコナゾール(ketoconazole:KCZ)はヒト表皮細胞の AhR シグナルを活性化した。また、KCZ は酸化・電化ストレスを軽減するのに重要なタンパクである Nuclear factor-erythroid 2-related 2 (Nrf2)の発現を誘導し、BaP によって誘導される IL-8 と DNA 障害のマーカーである 8-OhdG 産生を抑制したため、ダイオキシン類の毒性を軽減する有用な薬剤となりうる可能性が示唆された。

３）ダイオキシン受容体 (aryl hydrocarbon receptor:AhR) シグナルによる気道上皮細胞の機能解析

ヒト気道上皮細胞株を用いて AhR を刺激し、産生する接着分子、サイトカイン産生、ムチン産生を測定した。その結果、

ムチン産生の増強が認められ、ダイオキシン類化合物によるAhRの活性化が気道粘液産生増強を開始、咳や痰などの呼吸器障害に関与している可能性が示唆された。

4）2,2’,3,4,4’,5’-六塩化ビフェニル(CB138)のモルモットにおけるin vivo代謝

ヒト血液中にはCB153やCB138など未変化体に加え、PCB代謝物が存在する。ヒト肝では代謝物のうち3’-OH-CB138が特異的に高濃度に分布することが報告されている。モルモットを用いて、CB138のin vivoでの代謝物の血中、肝中、糞中への分布を調べた。その結果、3’-OH代謝物は特に肝への分布が多く、3-OH-CB138はヒトと同様に、肝に高い親和性を有することが示唆された。

5）α-リポ酸のTCDD急性毒性に対する効果

ダイオキシン類の急性毒性に対するα-リポ酸の効果を検証した。その結果、α-リポ酸はTCDDによる体重増加抑制、肝肥大、胸腺萎縮に対して軽減効果は認めず、芳香族炭化水素受容体の活性化に対して影響を示さなかったが、酸化的ストレスの惹起に対しては用量依存的な軽減効果を示した。

6）Resveratrol によるダイオキシン毒性軽減の試み：食物成分の併用に伴うresveratrol の bioavailability への影響

赤ワインなどに含まれるresveratrolは、ダイオキシンの中毒症状に対して有効であることが明らかになっている。食物成分の併用が、resveratrolの生物学的利用率に及ぼす影響を調べた。その結果、赤ワイン中のポリフェノールやエタノールは、resveratrolの生物学的利用率を軽減される因子となりうることが明らかになった。

D．結論

2009年度に新たに認定された9名を含めて、全認定患者数は1,933名になった。検診結果では、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いた。

血液中ダイオキシン類濃度測定が開始し、8年経過し、結果の蓄積、解析が進んでいる。2009年度明らかになった新しい知見を示す。検診受診者の骨密度は、男女ともに年齢およびダイオキシン類濃度と負の関連を認めた。2001年から2007年までの血中PeCDF濃度の時間的変化を調べたところ、男性では年齢が高いほど、女性では体脂肪割合が高いほどPeCDFが減少しがたい傾向があった。油症の母親の児の臍帯血PCB濃度は健常人と比べて高濃度だった。しかし、児の血液中ダイオキシン類濃度は正常健常人と比べ有意差は見られず、胎盤のバリア機能が示唆された。

基礎的実験では、ダイオキシン類はAhRシグナルを介して、ヒト表皮細胞に作用して炎症性サイトカインの産生を促し、気道上皮細胞に作用してムチン産生を増加することが確認された。油症患者の皮膚症状や呼吸器症状の病態解明につながると思われる。また、ヒト表皮細胞を用いた検討にて、抗真菌剤であるケトコナゾールがダイオキシン類の毒性を軽減する有用な薬剤となりうる可能性が示唆された。α-リポ酸はダイオキシン類によって惹起される酸化的ストレスの惹起に対しては用量依存的な軽減効果を示した。

E．健康危険情報

なし。

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　主任技師

研究要旨：認定患者の追跡調査を引き続き実施し、生存状況および死因を明らかにするとともに、油症事件発生から 40 年以降の死亡リスク評価について検討をすすめることを目的として本研究を実施した。その結果、2009 年に新たに油症と認定された 9 名を含めると、2009 年 12 月末現在における全認定患者は 1,933 名であった。このうち、これまでの調査期間中に生存の確認がとれた者が 1,384 名、死亡の確認がとれた者が 519 名、生死不明の者が 30 名であった。なお、生存確認および死因調査はさらに継続中である。

A．研究目的

認定患者の予後と死因を長期的に追跡調査し、各種疾病による死亡リスクを評価していくことは、人体におけるダイオキシン類の長期健康影響を明らかにする上で非常に重要である。我々の追跡調査の結果から、油症事件発生後 40 年間に渡る油症患者の死亡リスクについて明らかにしたところであるが、より長期に渡るダイオキシン類曝露の影響について引き続き検証していく必要がある。そこで、認定患者の追跡調査を引き続き実施し、生存状況および死因を明らかにするとともに、油症事件発生から 40 年以降の死亡リスク評価について検討をすすめることを目的とする。

B．研究方法

2008 年 12 月末現在における全認定患者は、1,924 名であった。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自治体や関係機関の協力を得て実施した。また、これまでの調査で死因が不明であった認定患者について、認定患者データベースと厚生労働省人口動態統計死亡テープとの照合により、死亡者の死因の特定を行った。

（倫理面への配慮）

油症患者の個人情報については、福岡県保健環境研究所企画情報管理課の施錠可能なキャビネット内に保管しており、情報漏洩がないように十分配慮している。

C．研究結果・考察

図 1 に油症認定患者数の認定年別推移を示す。また、図 2 に油症認定患者（死亡者数）の死亡年別推移を示す。認定患者数についてまとめた結果、2009 年に新たに油症と認定された 9 名を含めると、2009 年 12 月末現在における認定患者数は 1,933 名であった。このうち、これまでの調査期間中に生存の確認がとれた者が 1,384 名、死亡の確認がとれた者が 519 名、生死不明の者が 30 名であった。

また、死亡の確認がとれた519名のうち、死因の特定が可能であったのは 498 名であった。死因別にみると、悪性新生物が最も多く 161 名であり、次いで、心疾患が87名、脳血管疾患が72名であった。

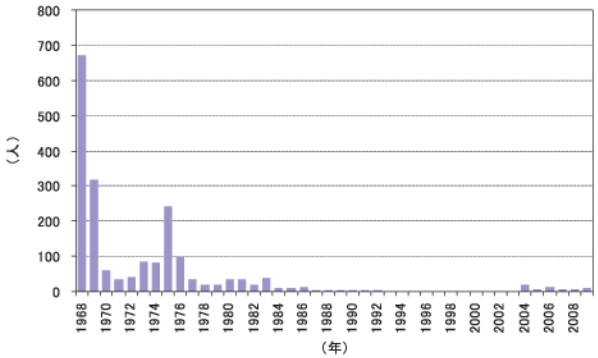


図1 油症認定患者数の認定年別推移

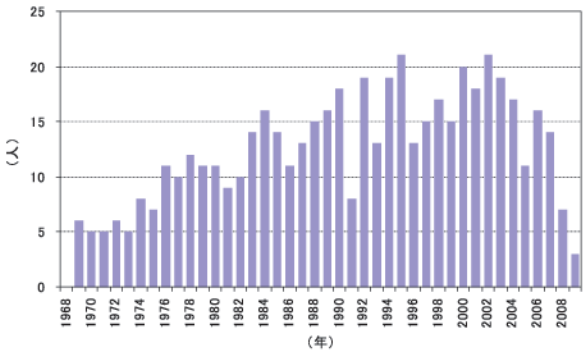


図2 油症認定患者(死亡者数)の死亡年別推移

D．結論

認定患者数についてまとめた結果、2009年に新たに油症と認定された 9 名を含めると、2009年12月末現在における全認定患者は1,933名であった。このうち、生存の確認がとれた者が1,384名、死亡の確認がとれた者が 519 名、生死不明の者が 30 名であった。また、死亡の確認がとれた519名のうち、死因が特定できたのは498名であった。死因別にみると、悪性新生物が最も多く161名であり、次いで、心疾患が87名、脳血管疾患が72名であった。ただし、これらの結果については、すべての情報を住民票情報等の公式文書によって確認し得たものではないので、暫定的な数値である。

今後、公的情報による生死確認をすすめるとともに、油症事件発生から 40 年以降の死亡リスクの解析準備をすすめていく予定である。

E．研究発表

なし

F．知的財産権の出願・登録状況

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　研究員
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 2008 年度検診までの検診受診者 1442 人が登録された。2007 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全身倦怠感、関節痛、しびれ感、頭重・頭痛、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男で約 30%、女で約 20%認められた。延べ約 5,500 人分、約 27,000 枚（2007 年度からの累計は約 7,900 人分、39,000 枚）の検診票を電子データ化した。新たな検査項目（骨密度検査、アレルギー検査）のデータベースの蓄積部分の変更及び検索画面の変更を行った。また、油症検診データベースのシステム構築と変遷及び 1986～2008 年度の全国油症検診結果の総括を行った。

A．研究目的

1985 年度に全国油症治療研究班（当時中村学園大学長倉恒匡徳班長）により、統一検診票による一斉検診が実施されたことに伴い、1986 年度から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) 2008 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) 2007 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、
(4) 検診受診者の臨床所見等の 1986 年から 2008 年度までの全国油症検診結果の総括を行った。

B．研究方法

(1) 2008 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 2008 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) 2007 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。

(4) 全国油症検診結果の総括

ア 解析対象者は1986～2008年度の各年度の認定者とした。認定区分は検診年度時の区分を用いた。

イ 解析に用いた臨床所見項目は小児科を除く内科、皮膚科、眼科及び歯科の56項目とした。

これらの項目の各年の所見を「無し」(－、±、正常，純など）と「有り」（＋以上、異常、低下、亢進、不純など）の二分値に変換し、有所見率を求める。

（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) 2008年度全国油症一斉検診データの確定化

表1に2008年度の追跡班・認定区分別の受診者数を示す。2008年度の受診者は606人で前年度の522人に比べ84人増加した。増加の内訳は、認定群は56人、未認定群は28人だった。

追跡班別では長崎県の受診者が最も多く221人（前年度比+52人)、次いで福岡県の207人(同+11人)、広島県の70人(同+10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130人と最も多く、認定群全体の30.2%を占めた。次いで60歳代106人の24.6%だった。未認定群では50歳代が38人と最も多く、未認定群全体の21.7%を占めた。次いで70歳代35人の20.0%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った。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10人、未認定群で33人だった。

2008年度受診者606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。2008年度の新規登録者は前年度の94人から126人に増加した。新規登録者の内訳は認定群が67人、未認定群が59人だった。追跡班別の内訳は千葉県2人、関東以北7人、愛知県4人、大阪府11人、島根県1人、広島県6人、山口県3人、高知県1人、福岡県32人、長崎県56人、鹿児島県3人だった。したがって、前年度検診までの登録者1316人に2008年度新規登録者126人を加えた1442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2008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278人についてデータを追加した。

2008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) 2007年度全国油症検診集計結果

図1に1986年から2007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。

2007 年度の検診受診者は認定患者 375 人、未認定患者 147 人の計 522 人だった(表 4)。

年齢階級別では、認定群は 70 歳代が 120 人と最も多く、認定群受診者の 32.0%を占めた。未認定群は 50、60、70 歳代が各 30、24、33 人で、未認定群受診者それぞれ 20.4、16.3、22.4%を占めた (図 2)。

図 3 から図 5 に 2007 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。認定群の内科所見の自覚症状では全身倦怠感、関節痛、しびれ感、頭重・頭痛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 46%、女で 70%の訴えだったが、2007 年度の検診時において、ざ瘡様皮疹 (顔面) が認められたのは 3%以下だった。

眼科所見では眼脂過多の訴えが男は約 18%、女で約 17%あったが、ほかの所見は 7%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 49%、女が 31%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 30%、女で約 20%認められた。

図 6 に 2007 年度検診受診者のうち血中 PCB、PCQ 濃度が測定された者の統計値を示す。血中 PCB 濃度は、認定群の男の幾何平均値が 1.40ppb、女の幾何平均値が 1.55ppb だった。認定群の PCQ 濃度は幾何平均値で男は 0.13ppb、女は 0.19ppb だった。

図 7 は 2007 年度検診受診者のうち血中ダイオキシン類 (2,3,4,7,8-PeCDF、TotalTEQ) が測定された者の統計値である。認定群での 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の男及び女の幾何平均値はそれぞれ 21.10pg/g-lipid 及び 48.18pg/g-lipid であった。

(3) 油症データベースの機能追加の検討

骨密度検査、アレルギー検査が 2008 年度検診から全国的に実施された。それに伴い、データベースの蓄積部分の変更及び検索画面の変更を行った。

検診票の電子データ化については 2007 年度から開始されたが、本年度は全追跡班に着手し、延べ約 5,500 人分、約 27,000 枚(2007 年度からの累計は約 7,900 人分、39,000 枚) の検診票を電子データ化したところである。来年度以降も継続して進めていく予定である。

なお、油症検診データベースのシステムの構築と変遷については油症研究Ⅱの第 1 部第 5 章[1]に詳述した。

(4) 全国油症検診結果の総括

全国油症検診は 1985 年度の検診から検診票の統一が図られ実施された。同時期に統一検診票の検診結果の電子データ化が進められて、1986 年度から統一検診票のデータ処理が開始された。この全国油症検診には 1986～2008 年度までに延べ 8,212 人が受診した。また、1986～2008 年度までにデータベースに登録された受診者は総数で 1,442 人であり、その内訳は認定者 956 人、未認定者 486 人だった。

油症中毒事件が発生後 40 年を経た 2001～2008 年度における油症検診受診者の内

科所見について、認定者は全身倦怠感、、関節痛、頭重・頭痛及びしびれ感の自覚症状が多く、53～78%の範囲で推移していた。他覚所見では肝胆脾エコーの有所見率が高かったが、肝腫、脾腫は3%未満であった。皮膚科所見では、かつてのざ瘡様皮疹様や色素沈着の訴えが40～60%あったが、他覚所見の黒色面皰や痤瘡様皮疹様は16%未満であった。眼科所見では眼脂過多の主訴が 20%前後あったが、他覚所見は近年5%未満であった。歯科所見では口腔所見で辺縁性歯周炎が増加し、歯肉炎が減少傾向を示していた。歯肉に 22%程度の色素沈着所見が認められた。

なお、全国油症検診結果の総括については油症研究Ⅱの第1部第6章[2)]に詳述した。

D．結論

2008 年度の全国検診受診者は 606 人だった。そのうちの新規登録者は126 人だった。新規登録者の内訳は認定群が 67 人、未認定群が 59 人だった。1986 年から 2008 年度までに 1442 人の検診データがデータベースに登録された。

2007 年度の認定群の全国油症検診結果は以下のとおりであった。内科所見の自覚症状では全身倦怠感、関節痛、しびれ感、頭重・頭痛の有所見率は約 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。皮膚科所見ではかつてのざ瘡様皮疹は男で 46%、女で 70%の訴えだったが、ざ瘡様皮疹（顔面）が認められたのは3%以下だった。眼科所見では眼脂過多の訴えは約 17～18%あったが、他の所見は7%以下だった。歯科の口腔所見では男の辺縁性歯周炎の有所見が 49%、女が 31%だった。歯肉の色素沈着所見が男で約 30%、女で約 20%認められた。

E．研究発表

１．論文発表

1)　片岡恭一郎ら：油症検診データベース：油症研究Ⅱ（古江増隆，赤峰昭文，佐藤伸一，山田英之，吉村健清編），264p.（pp. 46-59）：福岡：九州大学出版会，2010.
2)　片岡恭一郎ら：全国油症検診結果の総括：油症研究Ⅱ（古江増隆，赤峰昭文，佐藤伸一，山田英之，吉村健清編），264p.（pp. 60-71）：福岡：九州大学出版会，2010.

F．知的財産権の出願・登録状況

なし

表1　2008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		
	2008年度 a	前年度 b	差 a-b	2008年度 a	前年度 b	差 a-b	2008年度 a	前年度 b	差 a-b
千葉県	4	2	2	1	2	-1	5	4	1
関東以北	10	10	-	9	7	2	19	17	2
愛知県	10	8	2	2	6	-4	12	14	-2
大阪府	26	23	3	9	4	5	35	27	8
島根県	3	3	-	1	-	1	4	3	1
広島県	53	45	8	17	15	2	70	60	10
山口県	14	15	-1	-	2	-2	14	17	-3
高知県	10	9	1	2	2	-	12	11	1
福岡県	156	149	7	51	47	4	207	196	11
長崎県	139	107	32	82	62	20	221	169	52
鹿児島県	6	4	2	1	-	1	7	4	3
総数	431	375	56	175	147	28	606	522	84

表2　2008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	2	1.1	2	0.3
10～19歳	-	0.0	8	4.6	8	1.3
20～29歳	-	0.0	5	2.9	5	0.8
30～39歳	10	2.3	17	9.7	27	4.5
40～49歳	64	14.8	25	14.3	89	14.7
50～59歳	75	17.4	38	21.7	113	18.6
60～69歳	106	24.6	33	18.9	139	22.9
70～79歳	130	30.2	35	20.0	165	27.2
80～89歳	44	10.2	12	6.9	56	9.2
90～99歳	2	0.5	-	0.0	2	0.3
総数	431	100.0	175	100.0	606	100.0

表3　2008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	
	2008年度	前年度	2008年度	前年度	2008年度	前年度
千葉県	2	2	1	2	3	4
関東以北	3	5	9	7	12	12
愛知県	4	3	2	6	6	9
大阪府	7	5	9	4	16	9
島根県	-	1	1	-	1	1
広島県	11	5	17	15	28	20
山口県	3	3	-	2	3	5
高知県	1	-	2	2	3	2
福岡県	33	48	50	47	83	95
長崎県	38	24	82	62	120	86
鹿児島県	2	1	1	-	3	1
総数	104	97	174	147	278	244

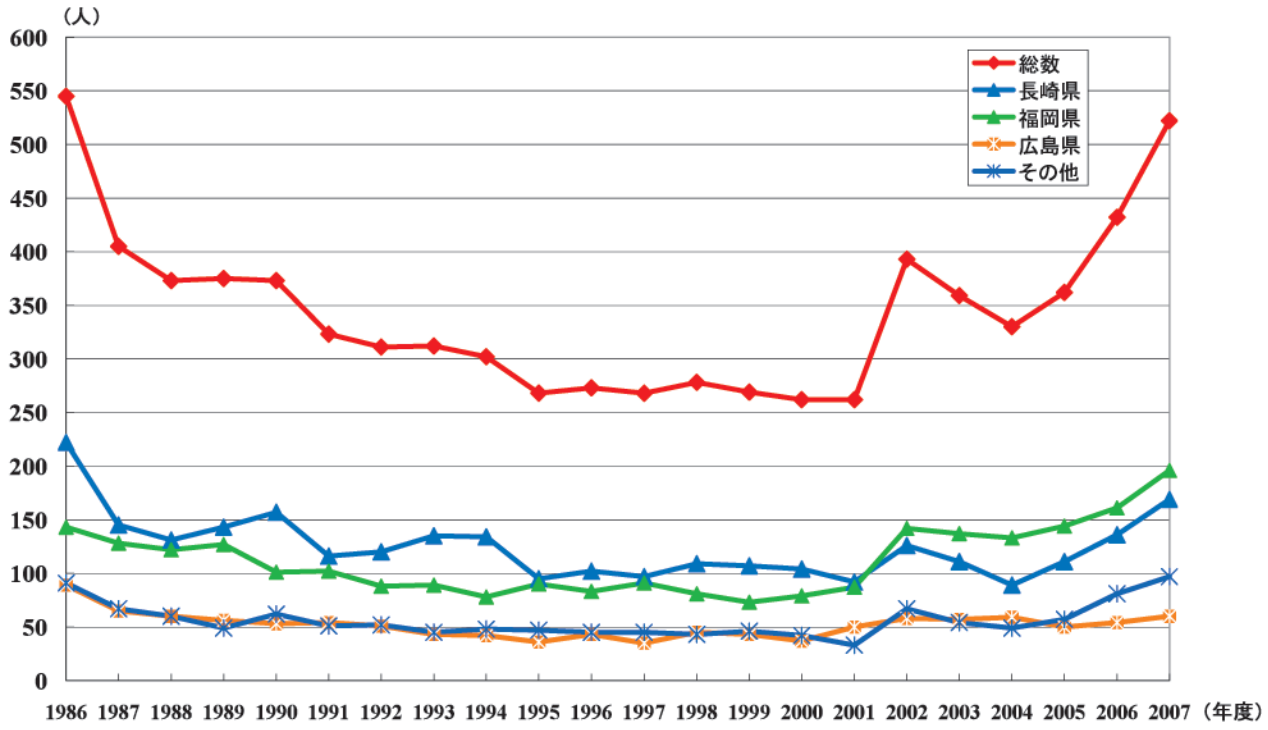


図１　油症検診受診者の年次推移

表４　200７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	183	192	375
		48.8%	51.2%	100.0%
	未認定　度数	56	91	147
		38.1%	61.9%	100.0%
合計	度数	239	283	522
		45.8%	54.2%	100.0%

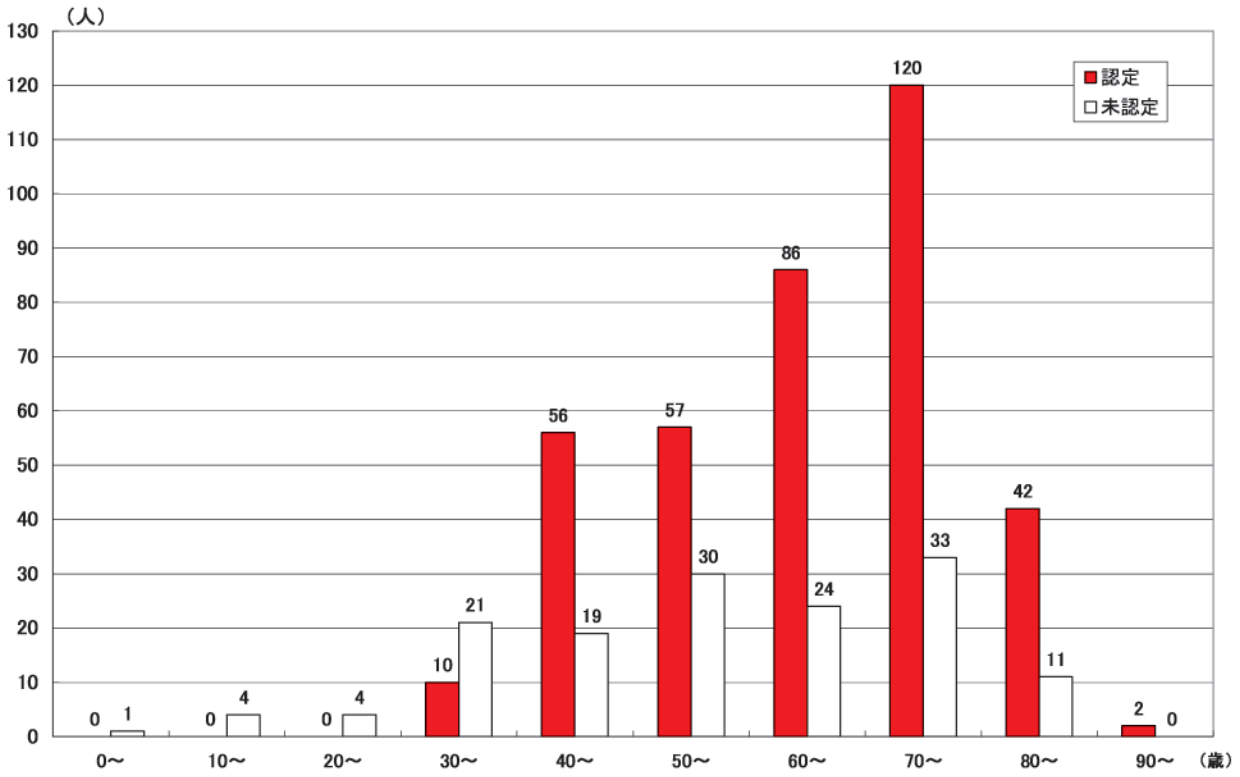


図 2　2007 年度 油症検診受診者（認定区分、年齢階級別）

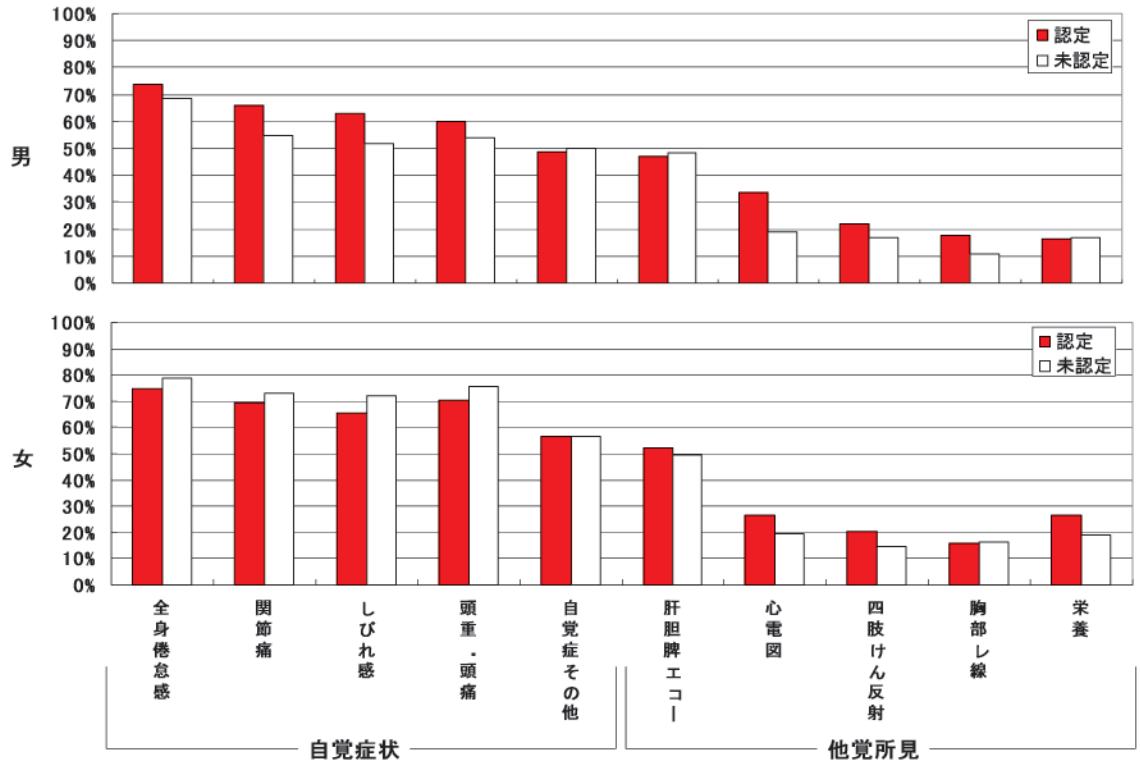


図 3　2007 年度検診受診者の有所見率*＜内科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

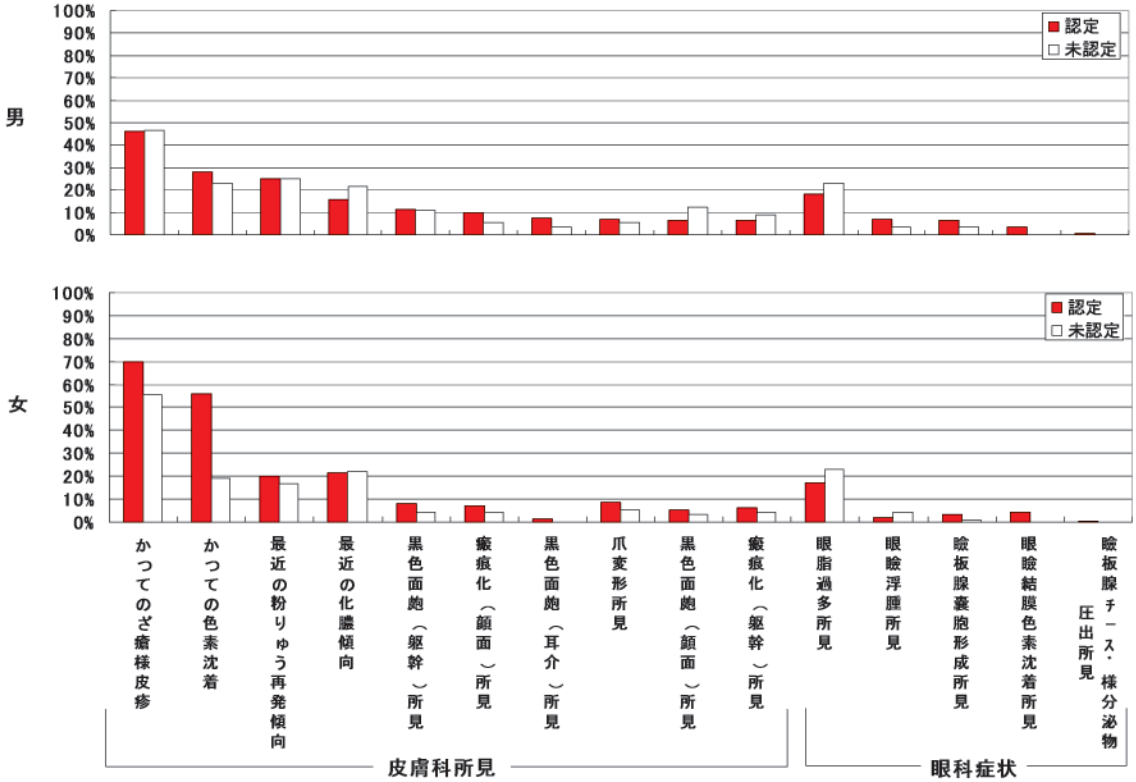


図 4　2007 年度検診受診者の有所見率*＜皮膚科・眼科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合

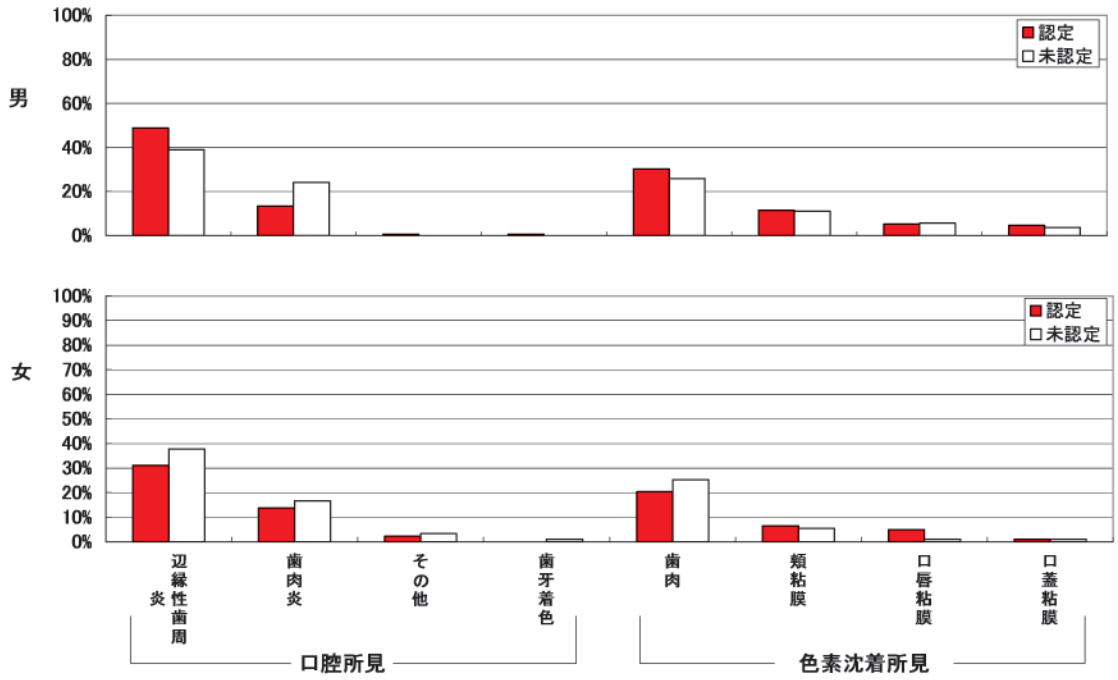
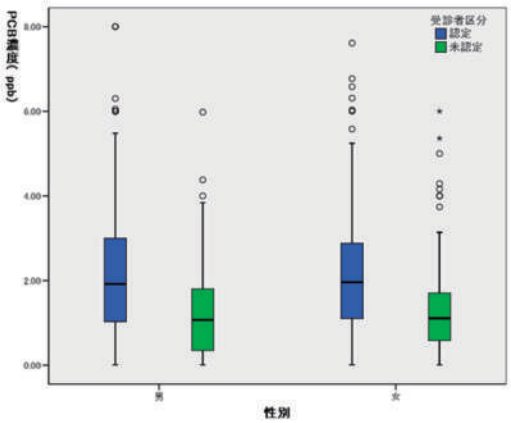
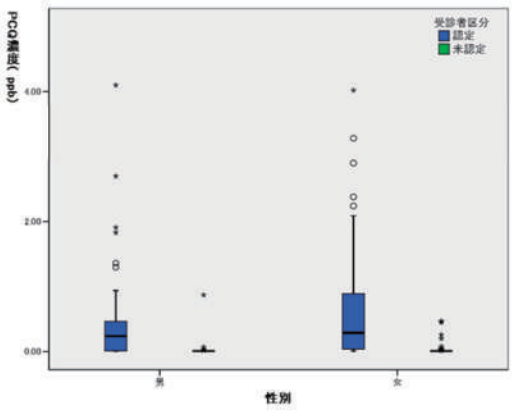


図 5　2007 年度検診受診者の有所見率*＜歯科検診＞

* 有所見率：項目ごとの＋、＋以上あるいは異常等の出現割合





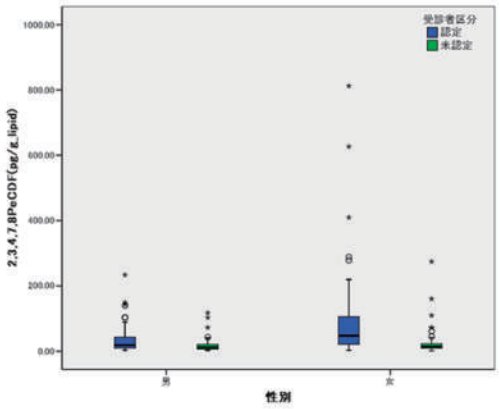
PCB濃度(ppb)

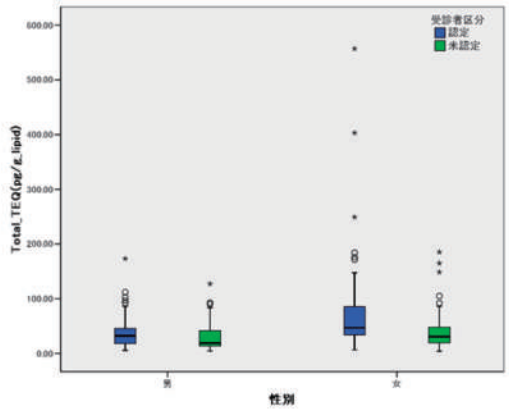
性別	受診者区分	人数	平均値	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	175	2.18	1.60	1.92	1.40	.01	8.00
	未認定	56	1.38	1.27	1.07	.64	.01	5.98
	合計	231	1.99	1.57	1.66	1.16	.01	8.00
女	認定	183	2.21	1.50	1.96	1.55	.01	7.61
	未認定	91	1.37	1.26	1.11	.67	.01	6.00
	合計	274	1.93	1.47	1.56	1.18	.01	7.61
合計	認定	358	2.20	1.55	1.94	1.48	.01	8.00
	未認定	147	1.37	1.26	1.09	.66	.01	6.00
	合計	505	1.96	1.52	1.60	1.17	.01	8.00

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	47	.48	.79	.24	.13	.01	4.10
	未認定	53	.03	.12	.01	.01	.01	.87
	合計	100	.24	.59	.01	.04	.01	4.10
女	認定	86	.61	.78	.29	.19	.01	4.02
	未認定	90	.03	.07	.01	.01	.01	.47
	合計	176	.31	.62	.01	.05	.01	4.02
合計	認定	133	.56	.78	.25	.17	.01	4.10
	未認定	143	.03	.09	.01	.01	.01	.87
	合計	276	.29	.61	.01	.04	.01	4.10

図 6　2007 年度検診受診者の血中 PCB,PCQ濃度





2,3,4,7,8PeCDF(pg/g_lipid)

性別	受診者区分	度数	平均値	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	52	37.23	46.43	18.28	21.10	2.95	233.60
	未認定	56	18.09	21.85	11.92	11.87	2.55	117.60
	合計	108	27.31	36.95	14.14	15.66	2.55	233.60
女	認定	45	105.79	161.46	47.24	48.18	2.85	812.44
	未認定	91	22.73	34.57	14.47	14.62	1.16	274.20
	合計	136	50.21	104.08	17.76	21.70	1.16	812.44
合計	認定	97	69.04	119.48	24.94	30.95	2.85	812.44
	未認定	147	20.96	30.36	13.63	13.51	1.16	274.20
	合計	244	40.07	82.15	16.78	18.78	1.16	812.44

Total_TEQ(pg/g_lipid)

性別	受診者区分	度数	平均値	標準偏差	中央値	幾何平均	最小値	最大値
男	認定	52	40.21	32.19	32.21	30.71	5.80	173.28
	未認定	56	30.70	25.17	18.88	23.12	4.68	127.12
	合計	108	35.28	29.02	27.54	26.51	4.68	173.28
女	認定	45	83.83	102.29	46.90	53.90	6.42	557.00
	未認定	91	38.28	31.24	30.70	29.69	4.17	185.19
	合計	136	53.35	67.26	35.39	36.17	4.17	557.00
合計	認定	97	60.44	76.32	39.92	39.87	5.80	557.00
	未認定	147	35.39	29.22	27.10	26.99	4.17	185.19
	合計	244	45.35	54.45	32.03	31.52	4.17	557.00

図 7　2007 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 21 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 20 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 21 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 136 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、個人情報を明らかにすることはない。

C. 結果

主訴としては、表 2 に示すように、歯痛、歯肉腫脹や義歯不適合等が挙げられたが、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 130 名中 126 名（96.9%）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、624 の総被検歯のうち 461 歯（73.9%）であった（表 3）。性別でみると男女とも 70%以上の高い罹患率を呈しており（表 3）、各年代において男性がやや高い罹患率を示した（図 1）。一方、4㎜ 以上の歯周ポケットを有する歯牙は 71 歯（男性 40 歯、女性 31 歯）で、総被検歯に占める割合は 11.4%（男性 14.5%、女性 8.9%）と低かった。3 ㎜以上の歯周ポケットの罹患率を歯種別にみると、下顎左側第一大臼歯が 82.4%と最も高く、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、下顎右側中切歯と続き、最も低い上顎左側中切歯でも約 62%と高い値を示した（表 3）。年代別にみると、50 歳代の患者の罹患率がもっとも低く 67.0%であったが、50 歳未満の患者では 73.5%と罹患率が高く、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 21 年度の歯牙残存率と歯周ポケット発現率について平成 20 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

ケット罹患率は全ての年齢層で平成21年度が約 15～20%ほど高い値を示した(図2)。同様に、全ての歯種で前年より罹患率が高くなっていた。特に、上顎右側第一大臼歯や下顎右側中切歯における罹患率は、平成20年度に比べて20%以上増加していた（図3）。

口腔粘膜に色素沈着を有する者の割合は63.2%(男性70.0%、女性57.9%)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75.6%の発現率を示したのに対し、60歳以上の患者では発現率は57.9%と低い値を示し、高齢者ほど発現率が低くなる傾向にあった。歯肉以外の色素沈着に関しては、全ての年代で認められたが、発現率は低かった（図4）。色素沈着の発現率を平成20年度と比較すると、70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 20 年の結果(それぞれ87.2%、56.2%)に比べて高い値を示した。

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が報告されている。しかし、各年代とも約 15～20%とわずか 1 年で急激な罹患率の増加を示していることから、PCB等の中毒によって歯槽骨の代謝異常が生じたためとは考えにくい。また、性別でみると、各年代とも男女間に差はみられなかったことより、喫煙や飲酒との関連も否定できよう。一般的に、歯周病の発症にはデンタルプラーク等の局所因子が重要と考えられていることから、近年の食生活の傾向が関与している可能性が考えられる。即ち、線維に富む食物の摂取量が減少し、代わってファーストフード等のいわゆるソフトフードの摂取量が増大したため、デンタルプラークの沈着が増加した可能性が考えられる。ソフトフードは臼歯部による咀嚼を必要とせず前歯部においても容易に咬めることから、清掃の比較的容易な前歯部においても高い罹患率を示したとも考えられる。また比較的若年者においても高齢者と同様の高い罹患率を示したが、高齢者に比べてこの年代層はソフトフードの摂取量が多いことに起因するのかもしれない。今後、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、食生活の改善に対しても啓蒙を行う必要があると思われる。

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、平成 18 年度の発現率（平均 52.8%、男性60.4%、女性 47.1%）,平成 19 年度の発現率（平均 45.9%、男性 54.2%、女性38.2%）や平成 20 年度（平均 58.7%、男性 68.0%、女性 50.0%）に比べると、男女とも発現率が増加していた。また、年代別に比べると70歳代以外のすべての年代で、平成20年度より発現率の上昇がみられた。眼科や皮膚科領域では油症発症後経年的に色素沈着は減少していることが報告されている。確かに、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が、依然として±や＋の程度の色素沈着の発現率は高い状態を維持している。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 倍と非常に高い値を示すことが報告されており、また、色素沈着部の歯肉掻爬術を行っても１年以内に色素沈着が再発したことが報告されている。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が、その詳細な機序は不明であり、今後の検討課題となる。

E. 結論

平成21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 20 年度に比べていずれも増加していた。

F. 研究発表

なし

G. 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 ～ 49	15 (15*)	10 (10)	25 (25)
50 ～ 59	6 (6)	14 (14)	20 (20)
60 ～ 69	14 (13)	20 (20)	34 (33)
70 ～ 79	18 (18)	22 (21)	40 (39)
80 ～ 99	7 (6)	10 (7)	17 (13)
計	60 (58)	76 (72)	136(130)

＊：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）
歯痛	5	9	14
歯肉腫脹	4	2	6
義歯不適	1	3	4
食片圧入	2	1	3
歯肉出血	1	2	3
歯牙動揺	1	2	3
歯牙挺出感	1	2	3
その他	6	6	12

*重複回答有り。

表3. 歯種別の３mm以上の歯周ポケットを有する歯牙数

性別	歯種	6|	|1	|4	4|	1|	|6	計
男性	罹患歯数	31	27	34	45	36	34	207
	総被検歯数	41	45	43	52	53	41	275
	罹患率（%）	75.6	60.0	79.1	86.5	67.9	82.9	75.3
女性	罹患歯数	40	38	43	51	41	41	254
	総被検歯数	51	60	56	69	63	50	349
	罹患率（%）	78.4	63.3	76.8	73.9	65.1	82.0	72.8
計	罹患歯数	71	65	77	96	77	75	461
	総被検歯数	92	105	99	121	116	91	624
	罹患率（%）	77.2	61.9	77.8	79.3	66.4	82.4	73.9

6| ：上顎右側第一大臼歯、　|1 ：上顎左側中切歯、　|4 ：上顎左側第一小臼歯
4| ：下顎右側第一小臼歯、　1| ：下顎右側中切歯、　|6 ：下顎左側第一大臼歯

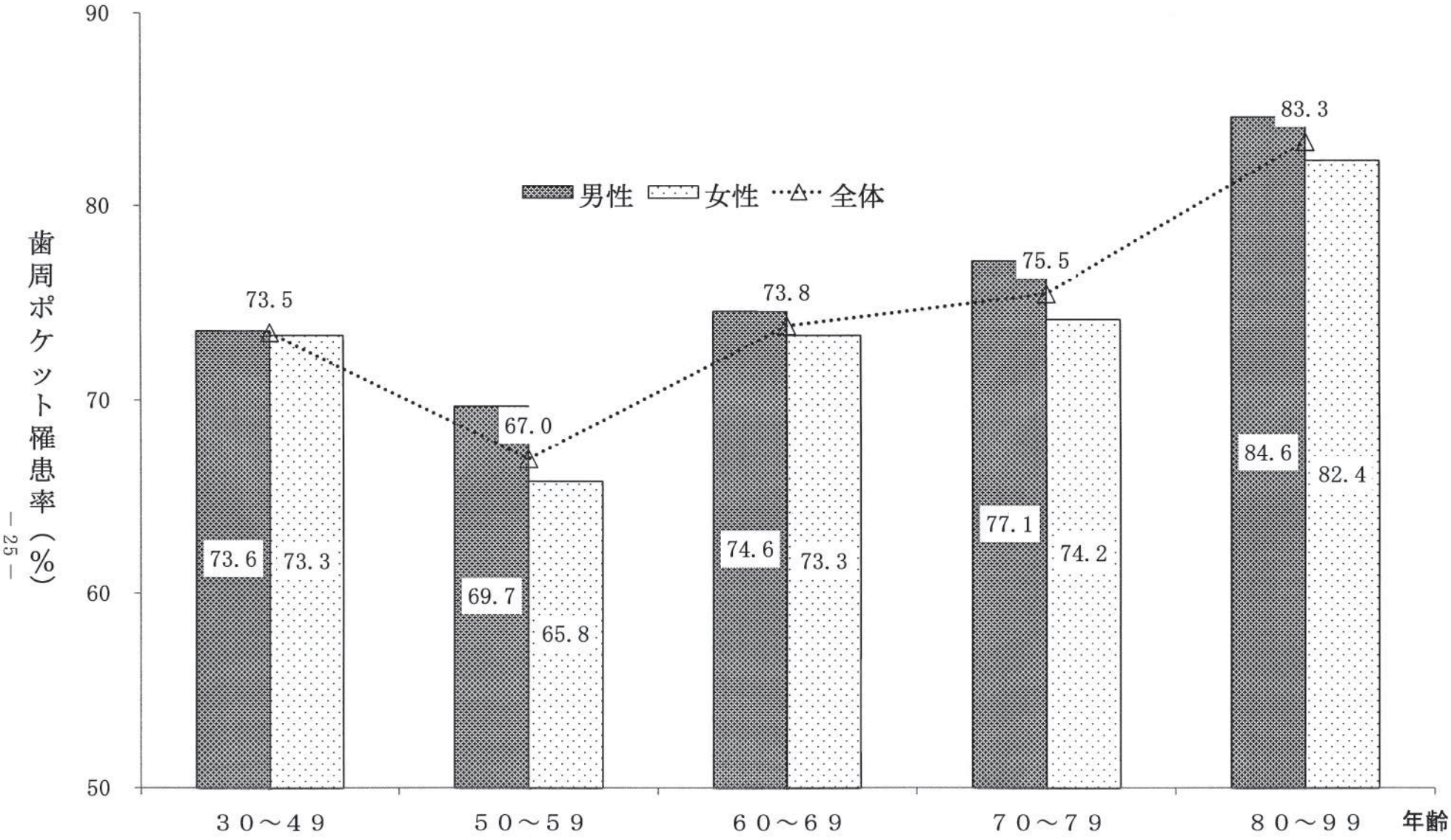


図１．年代別、性別でみた３ミリ以上の歯周ポケット罹患率

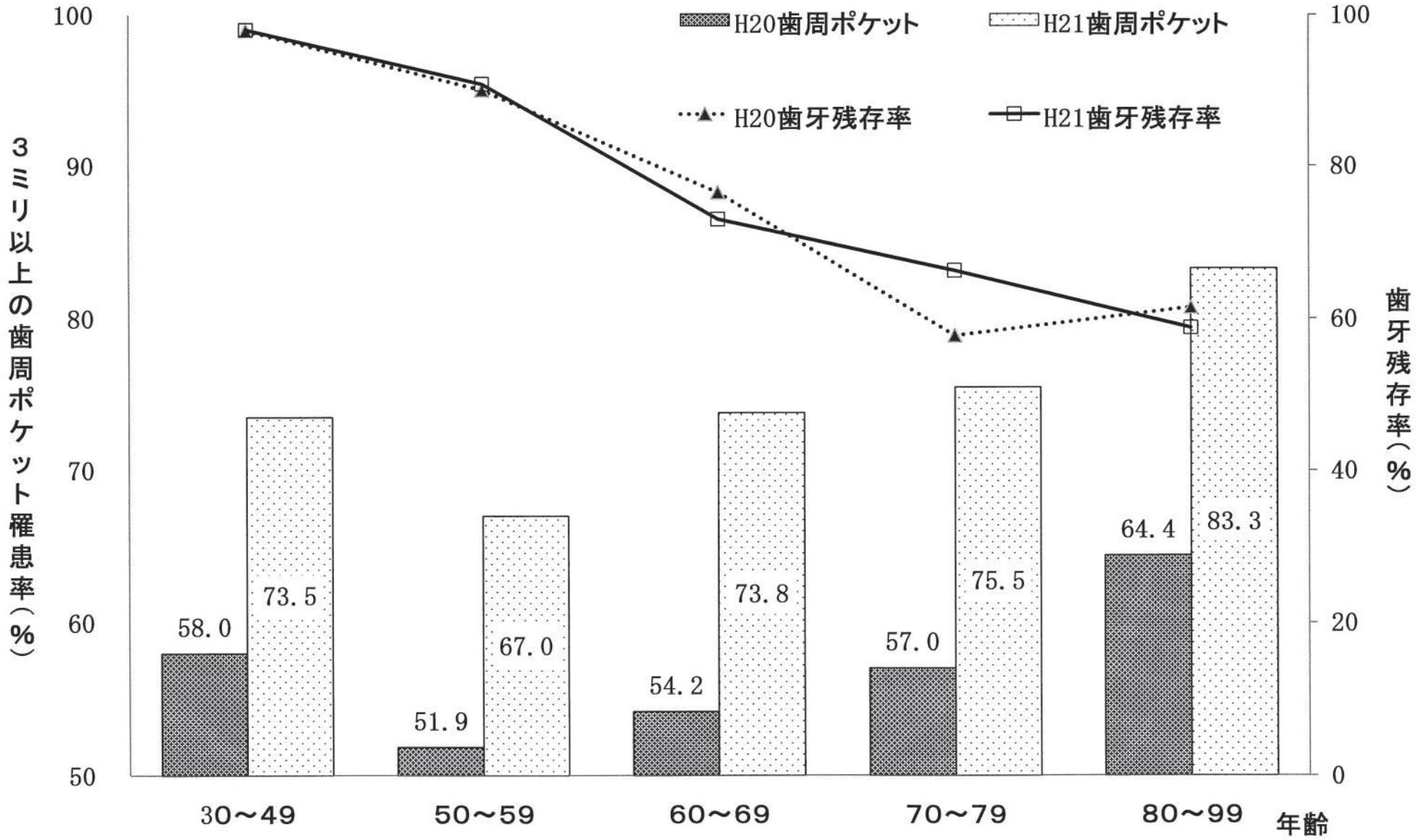


図２．平成２０年度、２１年度における年齢別にみた歯周ポケット罹患率と歯牙残存率

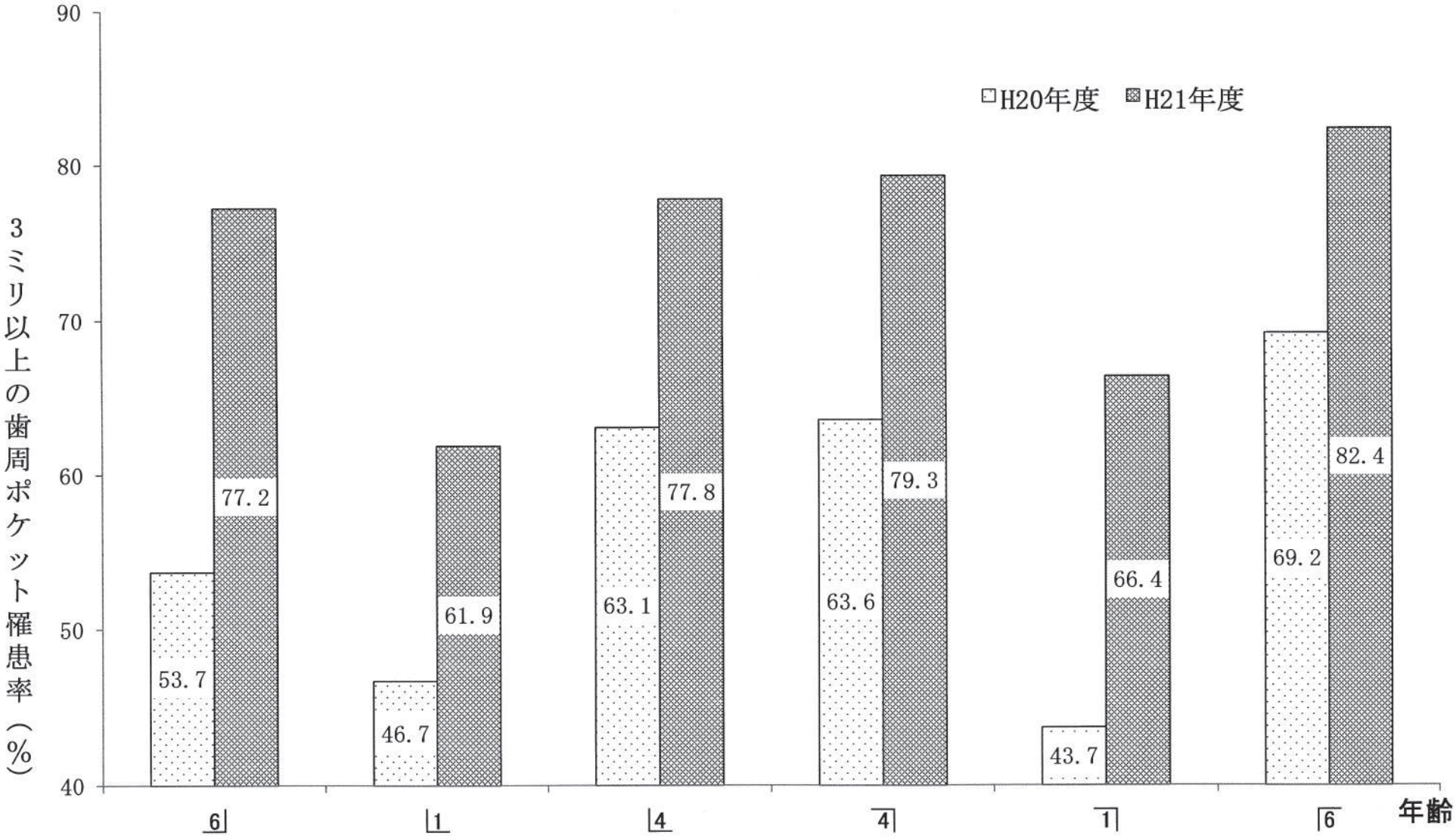


図３．平成１９年度、２０年度における歯種別にみた歯周ポケット罹患率

1|：上顎右側第一大臼歯、　6|：上顎左側中切歯、　2|：上顎左側第一小臼歯
|1：下顎右側第一小臼歯、　|4：下顎右側中切歯、　4|：下顎左側第一大臼歯

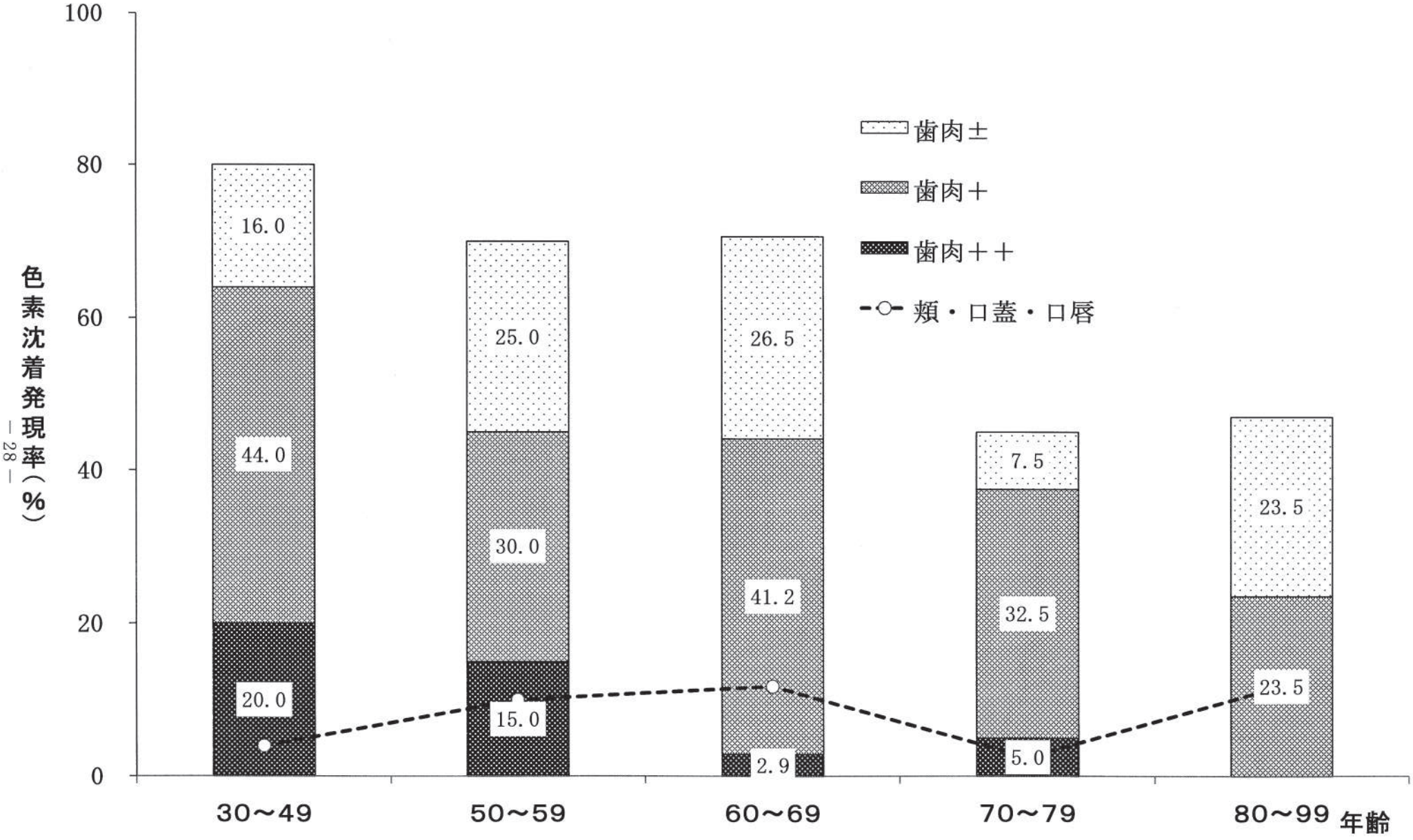


図４．年齢別にみた色素沈着発現率

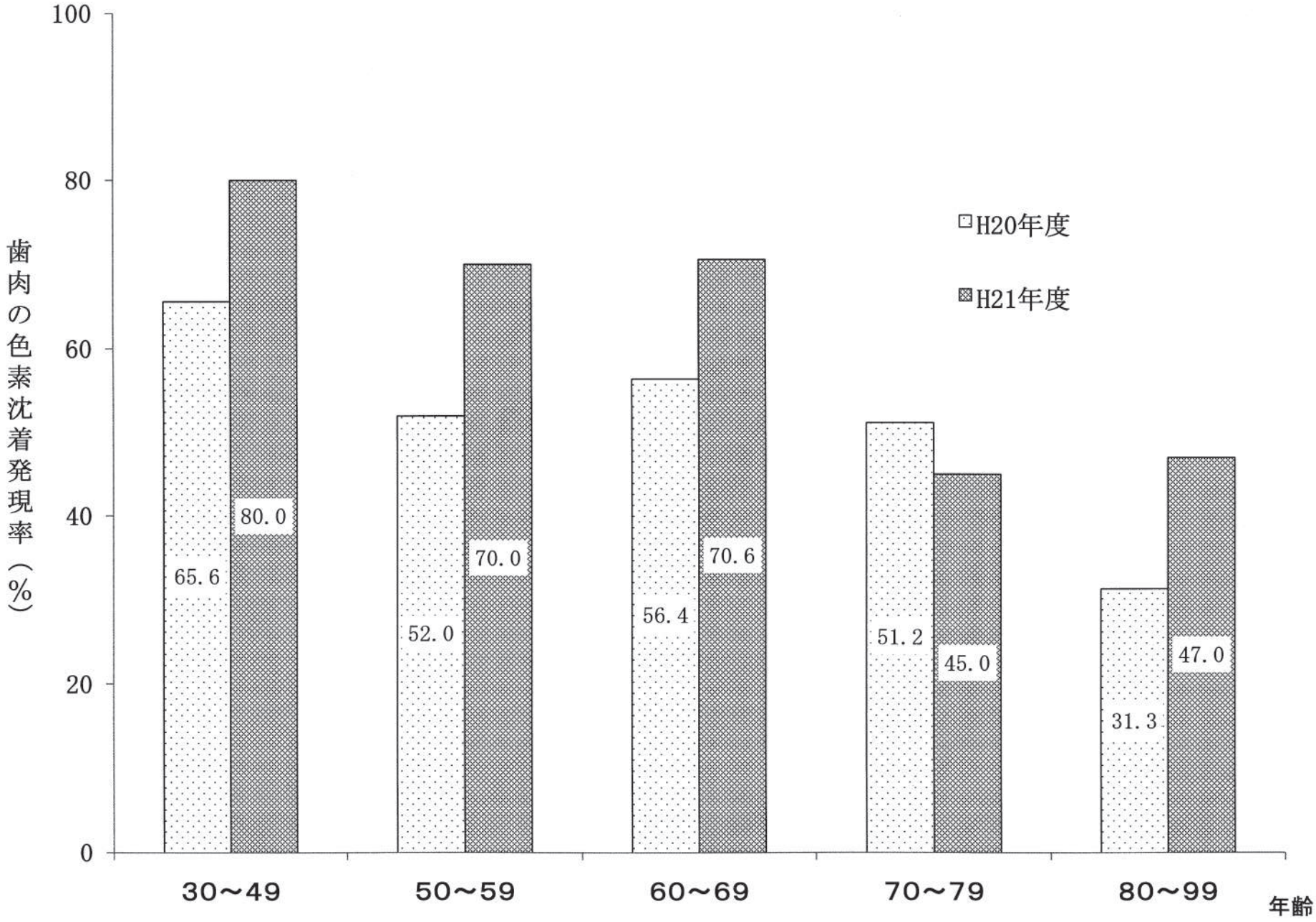


図５．平成２０年度、２１年度における年齢別にみた歯肉色素沈着発現率

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研究診療センター　助教
旭　正一　産業医科大学　名誉教授

研究要旨　平成 20 年度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。約 70%の患者に症状をほとんど認めないが、約 30%の患者には面皰やざ瘡様皮疹などの症状が残存する、症状の 2 極化が続いていた。近年、油症患者の高齢化に伴い、加齢による影響も加わっている。今後も皮膚症状の推移を注意深く観察する必要がある。

A．研究目的

油症発生から 40 年経過し、急性期の皮膚症状は軽快している患者が多い。しかし、今なお皮膚症状が残存している患者も存在する。本研究の目的は、油症検診における患者の皮膚症状を把握し、ダイオキシン類が長期間にわたって皮膚に及ぼす影響を調べることにある。

B．研究方法

福岡県油症一斉検診を受診した認定、未認定患者を対象に皮膚症状の診察を行い、その結果の分析と検討を行った。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（黒色面皰、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、皮膚重症度の推移を検討した。

皮膚重症度は、皮膚症状の性質を評価しており、1969 年から使用している。1971 年に利谷および北村らにより一部改変された。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 は面皰の形成あり、III はざ瘡様皮疹もあり、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する。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 と評価し、9 つに分類した。

（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と年齢分布
平成 20 年度の皮膚科受診者数は 208 名、うち認定患者は 157 名（男性 75 名、女性 82 名）、未認定患者は 51 名（男性 17 名、女性 34 名）だった。なお、初診患者は 17 名だった。検診受診者数は年々増加していた（表 1）。平成 20 年度の認定患者の年齢分布を表 2 に示す。平均年齢は 63.3 歳、男性 62.5 歳（36－91）、女性 64.0 歳（37－90）であった。

２．皮膚症状の推移（表 3）
認定患者の皮膚重症度の推移を示す[1)]。この 3 年では重症度の頻度に著変ない。平成 20 年度では約 30%の患者に面皰、ざ瘡

様皮疹など油症特有の症状を認めた。また1名の患者には全身に皮膚症状の残存を認めた。近年は油症症状に加齢に伴う影響が加わっており、今後も皮膚症状の推移を注意深く観察する必要がある。

３．皮膚重症度の年齢別分布（表4）
平成20年度の認定患者の皮膚重症度を年齢別に解析した。30歳、40歳台の若年者でも皮膚症状の残存を認めた。50歳未満の男性19名中5名、女性14名中5名は重症度II以上であった。

４．PCBパターンと皮膚重症度（表5）
血液中PCBパターンがAパターンの認定患者は、他のパターンの患者と比較して皮膚症状が残存している割合が高い傾向にあった。

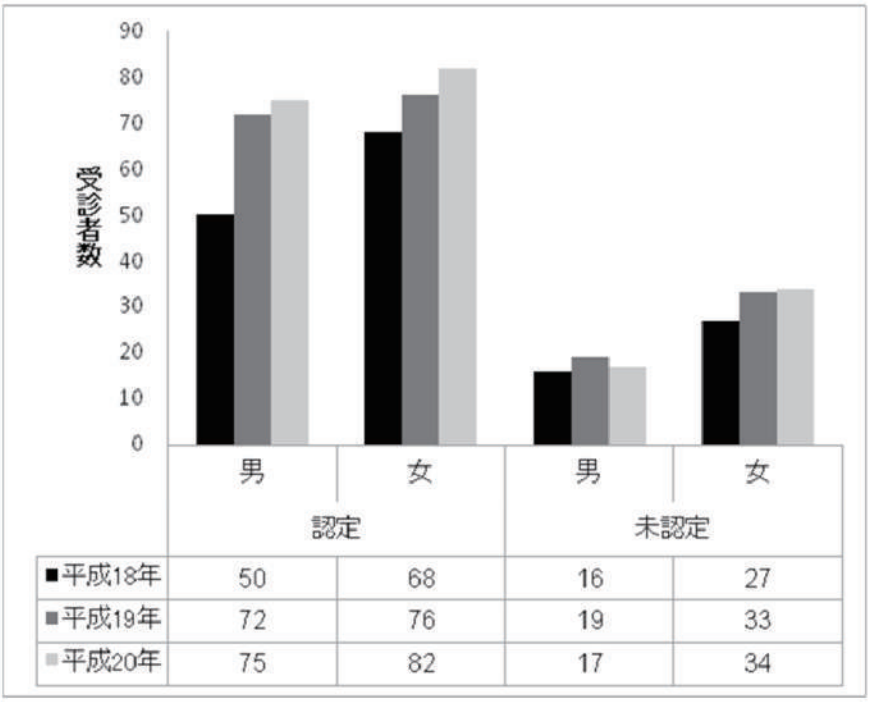
D．結論
福岡県油症検診における皮膚症状を検討した。皮膚症状は約70%の患者に症状をほとんど認めないが、約30%の患者には面皰やざ瘡様皮疹などの症状が残存する、症状の2極化が続いていた。

文献
１）Nakayama J, Hori Y, Toshitani S, Asahi M: Dermatological findings in the annual examination of the patients with Yusho in 1993-1994. Fukuoka Acta. Med. 86: 277-281, 1995.

E．健康危険情報
なし

F．研究発表
なし

G．知的財産権の出願・登録状況
なし



	認定		未認定	
	男	女	男	女
■平成18年	50	68	16	27
■平成19年	72	76	19	33
■平成20年	75	82	17	34

表 1. 福岡県皮膚科検診受診者数の推移

年齢	男性	女性	総数
30–	2	5	7
40–	17	8	25
50–	11	15	26
60–	18	21	39
70–	21	23	44
80–	5	9	14
90–	1	1	2
	75	82	157

表 2. 皮膚科検診受診者の年齢分布（平成 20 年度）

年度	1993年 平成5年		1997年 平成9年		2005年 平成17年		2006年 平成18年		2007年 平成19年		2008年 平成20年	
重症度	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
0	41		34		43		68		66		77	
		58.8		54		64.8		68.6		72.9		67.3
0 I	7		13		16		13		42		30	
I	4		9		3		6		2		3	
		7.0		18.4		3.3		5.1		4.1		3.2
I II	2		7		0		0		4		2	
II	0		12		11		7		8		27	
		24.4		23.0		15.4		11.9		10.8		20.5
II III	21		8		3		7		8		4	
III	8		3		10		5		14		11	
		12.8		4.6		16.5		11.9		11.5		8.3
III IV	3		1		5		9		3		2	
IV	0		0		0		3	2.5	1	0.7	1	0.6
計	86		87		91		118		148		157	

表 3. 皮膚重症度の推移

	男性					女性				
年齢	O/OI	I/I II	II/II III	III/III IV	IV	O/OI	I/I II	II/II III	III/III IV	IV
30–	2	0	0	0	0	3	0	1	1	0
40–	12	0	3	2	0	6	0	2	1	0
50–	4	1	2	3	0	10	0	4	1	0
60–	13	0	6	0	0	14	2	2	2	0
70–	13	1	5	2	0	16	0	5	1	1
80–	5	0	0	0	0	7	0	2	0	0
90–	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	50	2	16	7	0	56	3	16	6	1

表 4. 皮膚重症度の年齢別分布（平成 20 年度）

皮膚重症度

パターン	0/0I	:/I II	II/II IIIII/III	IV	IV	計
A	25 (52.0%)	2 (4.1%)	15 (30.6%)	6 (12.2%)	1 (2.0%)	49
B	27 (86.3%)	0 (0.0)	6 (11.8%)	3 (2.0%)	0 (0.0)	51
BC	3 (42.9%)	0 (0.0)	3 (42.9%)	1 (14.3%)	0 (0.0)	7
C	23 (71.4%)	2 (6.1%)	3 (14.3%)	2 (8.2%)	0 (0.0)	49

表 5. PCB パターンと皮膚重症度（平成 20 年度）

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 21 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 21 年度の油症検診が 9 月 3 日久留米会場、9 月 5 日福岡会場、9 月 9 日北九州会場、9 月 12 日福岡会場、9 月 17 日北九州会場で行われた。受診者はそれぞれ 30 名、55 名、40 名、53 名、24 名で、合計は 202 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 202 名で、一昨年、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、年齢によって50歳未満、50歳以上70歳未満、70歳以上の3つの年代に分け、認定患者と未認定患者の間で比較検討した。高血圧性変化にはどの年代においても、認定患者と未認定患者の間で差はなかった。動脈硬化性変化は、70 歳以上で認定患者の方が未認定患者より、有意差はないものの低い傾向にあった（p=0.193）。また、70歳以上においては、HDLコレステロール濃度が認定患者で有意に高かったが（p=0.0018）、nonHDLコレステロール濃度（総コレステロール濃度－HDLコレステロール濃度）に差はなかった（p=0.798）。認定患者で動脈硬化性変化が軽度であったことは、HDLコレステロールが高値であったことが影響しているものと推測された。

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、２００４年度より網膜血管の高血圧性及び動脈硬化性変化の評価を開始した[1)]。高血圧性変化も動脈硬化性変化も、共に認定患者が未認定患者より重い傾向であったが、認定患者の方が有意に高齢であり、年齢の影響が大きいと推測される[2)]。そこで、今回年代別に分けて比較検討した。また、動脈硬化に影響を及ぼすとされる、コレステロールや中性脂肪の血清中濃度も比較検討した。

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２００９年度に油症検診の眼科部門を受診した認定患者１０６名、未認定患者８６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分類を用いてスコア化し評価した。年齢によって50歳未満、50歳以上70歳未満、70歳以上の3つの年代に分け、認定患者と未認定患者の間で比較検討した。また、血液データの血清中性脂肪濃度、血清総コレステロール濃度、血清HDLコレステロール濃度との関連がないかを検討した。統計学的検討にはｔ検定を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究のデータ解析においては、個人が特定出来るようなデータは存在しない。

C．研究結果

平均年齢は未認定患者で58.8±14.5歳、認定患者で 66.5±12.3 歳と認定患者の方が有意に高齢であった（p=0.0002）。年齢によって50歳未満、50歳以上70歳未満、70歳以上に分けた患者数を表１に示す。認定患者では70歳以上が多く、50歳未満が少なかった。未認定患者では50歳以上70歳未満が多かった。

各年代において、認定患者と未認定患者との間で比較検討した結果、高血圧性変化

スコアには差がなかった。動脈硬化性変化スコアは、70 歳以上で認定患者（1.12±0.58）の方が未認定患者（1.33±0.70）より、有意差はないものの低い傾向にあった（p=0.193）。

各年代において、血清中性脂肪濃度、血清総コレステロール濃度、血清 nonHDL コレステロール濃度（総コレステロール濃度ーHDL コレステロール濃度として算出）で有意差はなかった。70 歳以上の血清 HDL コレステロール濃度が認定患者（58.0±14.4 mg/dl）で未認定患者（48.6±10.0 mg/dl）より有意に高値を示した（p=0.0018）。

D．考察

今回、年齢の影響を少なくするため、3つの年代に分けて認定患者と未認定患者との間で比較検討した。その結果、70 歳以上での動脈硬化性変化が、未認定患者より認定患者の方で、有意差はないものの低い傾向にあった。さらに、70 歳以上では HDL コレステロール濃度が認定患者で有意に高値を示していた。HDL コレステロールは血管壁に沈着した余分なコレステロールを回収して肝臓に戻し、動脈硬化を防ぐ作用を持ち合わせていると考えられている。したがって、HDL コレステロール濃度が高い認定患者の方が未認定患者より動脈硬化性変化が低い傾向であったことは、HDL コレステロールの作用からすると矛盾しない。また、nonHDL コレステロール濃度には差がなかったことより（p=0.798）、動脈硬化を進行させる nonHDL コレステロールよりも、動脈硬化を防ぐ HDL コレステロールの影響が大きかったと推測される。

なぜ、認定患者で HDL コレステロール濃度が高かったのだろうか？総コレステロール濃度とカネミ油症の原因物質の１つである血中 PCB との間には正の有意な関連があったとされるが[3)]、HDL コレステロール濃度と血中 PCB との間には関連がなかったと報告されている[4)]。したがって、PCB によって HDL コレステロール濃度が上昇したとは考えにくく、70 歳以上の認定患者で HDL コレステロール濃度が高かった原因は不明である。

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濃度の増加が上げられているが。今回の結果では、どの年代においても認定患者と未認定患者との間で血清中性脂肪濃度に差はなかった。

今回、70 歳以上の認定患者で血清 HDL コレステロール濃度が高く、網膜細動脈硬化性変化も有意差はないが軽度であることが分かった。しかし、カネミ油症の原因物質であると考えられている PCB、PCDF 等が網膜細動脈硬化性変化に影響しているかどうかは未だ不明であり、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

2）隈上武志、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に関する検討」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・分担報告書. 2008：27-28

3）徳永章二、廣田良夫、片岡恭一郎. 油症患者の臨床検査値と血中 PCB 濃度の関連 1993 年全国油症患者追跡検診結果より. 福岡医誌 90：157-161、1999

4）Tokunaga S, Kataoka K. A Longitudinal Analysis on the Association of Serum Lipids and Lipoproteins Concentrations with Blood Polychlorinated Biphenyls Level in Chronic "Yusho" Patients. Fukuoka Acta Med 94:110-7, 2003

表１　年齢別患者数

年齢	50 歳未満	50 歳以上 70 歳未満	70 歳以上
認定患者数	12	42	52
未認定患者数	22	37	24

分担研究報告書

福岡県油症患者における骨密度の解析

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年度福岡県油症一斉検診の受診者196名において骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との関連について検討した。骨密度は男女ともに、年齢およびダイオキシン類濃度と負の関連を認めた。ダイオキシン類が骨密度に与える影響について、性別、閉経の有無や生活習慣、骨粗鬆症に対する内服薬の有無などを考慮にいれた、詳細な解析を計画している。

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、2007年度より油症一斉検診において、骨密度の測定が開始されている。骨密度とダイオキシン類濃度との関連につ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 年度に福岡県油症一斉検診に参加し、骨密度測定を行った196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ALOKA DCS-600EX 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。

解析にあたり、骨粗鬆症の診断歴および治療歴の有無について、アンケート調査を行った。認定患者に対しては、2006 年の聞き取り調査にて回答が得られなかった26 名について、追加で聞き取り調査を行い、15 名より回答を得た。未認定者に対しては、福岡県より聞き取り調査同意書を送付の上、同意が得られた受診者について聞き取り調査を行うとともに、2009 年度一斉検診の際にも調査を行った。47 名の未認定者のうち、21 名についての回答を得た。

ダイオキシン類濃度については、2007年または 2006 年度の一斉検診にて測定された結果を用いて解析を行った。

（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男性90名、女性106名、合計196名であった。平均年齢は62.7才、男性 59.4 才（26-90）、女性 63.1 才(24-85)であった。このうち未認定患者は男性17名、女性31名で、計48名であっ

た。

年代別の骨密度の分布を図１に示す。YAM70-80％の骨量低下を、男性８名(8.8%)、女性 23 名(21.7%)に、YAM 70％未満の低下を男性３名(3.3%)、女性では 34 名(32.1%)に認めた。男性においては約 90％の患者において正常な骨密度であったが、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。女性では 50 才台より骨密度の軽度の低下を認め、60 才台以降で急増する傾向にあった。

年齢との関連では、男女ともに年齢が高いほどＴスコアは減少し、強い負の関連を認めた。Ｚスコアはばらつきがあるものの平均値（SD）は男性-0.118 (0.115)、女性 0.051 (0.106)と、ほぼ 0 に近い値であった。また、認定患者と未認定者との間では、Ｚスコアにおいて男女ともに統計学的に有意な違いを認めなかった(男性 p=0.09、女性 p=0.99、Mann -Whitney U test)。

Ｔスコア、Ｚスコア、2,3,4,7,8-PeCDF, 3,3',4,4',5-PeCB (#126), 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169) の間で相関を検討した結果を、表１および図２に示す。Ｔスコアは、女性において３種類のダイオキシン類濃度と、男性では 2,3,4,7,8-PeCDF および 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)と、負の関連を示した。一方、Ｚスコアとダイオキシン類濃度との間に、明確な関連みられなかった（表１）。骨粗鬆症の治療歴がない患者群（男性 72 名、女性 69 名）で検討したところ、上記と同様の傾向を認めた(表１)。

D. 考察

2007 年の一斉検診の結果、受診者のうち男性の約 10%、女性では約 50%と、相当数の油症患者において骨密度低下があることが明らかとなっている。今回、ダイオキシン類濃度との相関を検討したところ、Ｔスコアにおいては強い負の関連を認めたが、Ｚスコアにおいては明らかな関連を認めなかった。年齢との関連をみると、ダイオキシン類濃度は正に、Ｔスコアは強く負に関連する。両者間の負の関連は年齢を介した交絡の結果とも考えられ、慎重に解釈を行うべきである。

骨密度は骨を作る骨芽細胞と、骨を吸収する破骨細胞の機能のバランスによって調整される。ダイオキシン類受容体である AhR はどちらの細胞にも発現しており、骨芽細胞への作用として、TCDD がラット骨芽細胞の分化を阻害することが報告されている(Gierthy *et al.*, 1994)。一方、破骨細胞に対しての作用としては、成熟した破骨細胞に対しては短期間での影響はなかったとするものもあれば、間葉系幹細胞から破骨細胞への分化を抑制したという報告もあり(Korkalainen *et al.*, 2009)、一定の見解は得られていない。ヒト生体内で検出されるレベルのダイオキシン類濃度において、骨芽細胞および破骨細胞にどのような影響が生じるのかは明らかにされておらず、これからの検討を予定している。

骨粗鬆症の解析にあたっては、年齢や性別の他にも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り、解析には不可欠な情報といえる。グリーンランドのイヌイットにおける調査では、PCB153 と骨密度とが負の関連を示すものの、性別や体重、治療の既往などを考慮した多変量解析を行うと統計学的に有意な関連がなかったと報告されており、解析の難しさが示されている(Cote *et al.*, 2006)。2007 年の検診受診時点では、受診

者 196 名のうち 73 名において骨粗鬆症治療歴が不明であったために、県と相談員の協力のもとに追跡調査を行った。その後の対策として 2009 年度から、検診会場において骨粗鬆症治療歴の情報を取得している。現時点では、油症患者における骨密度低下が、ダイオキシン類曝露に関連するか否かは明らかでないが、性別、閉経の有無や生活習慣、骨粗鬆症に対する内服薬の有無などを考慮にいれた、詳細な解析を計画している。

E. 結論

福岡県の油症検診受診者において骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との相関を検討した。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

Gierthy JF, Silkworth JB, Tassinari M, Stein GS, Lian JB (1994). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo -p-dioxin inhibits differentiation of normal diploid rat osteoblasts in vitro. J Cell Biochem 54: 231-8.

Korkalainen M, Kallio E, Olkku A, Nelo K, Ilvesaro J, Tuukkanen J et al (2009). Dioxins interfere with differentiation of osteoblasts and osteoclasts. Bone 44: 1134-42.

Cote S, Ayotte P, Dodin S, Blanchet C, Mulvad G, Petersen HS et al (2006). Plasma organochlorine concentrations and bone ultrasound measurements: a cross-sectional study in peri-and postmenopausal Inuit women from Greenland. Environ Health 5: 33.

図1：年齢とTスコア・Zスコアの分布

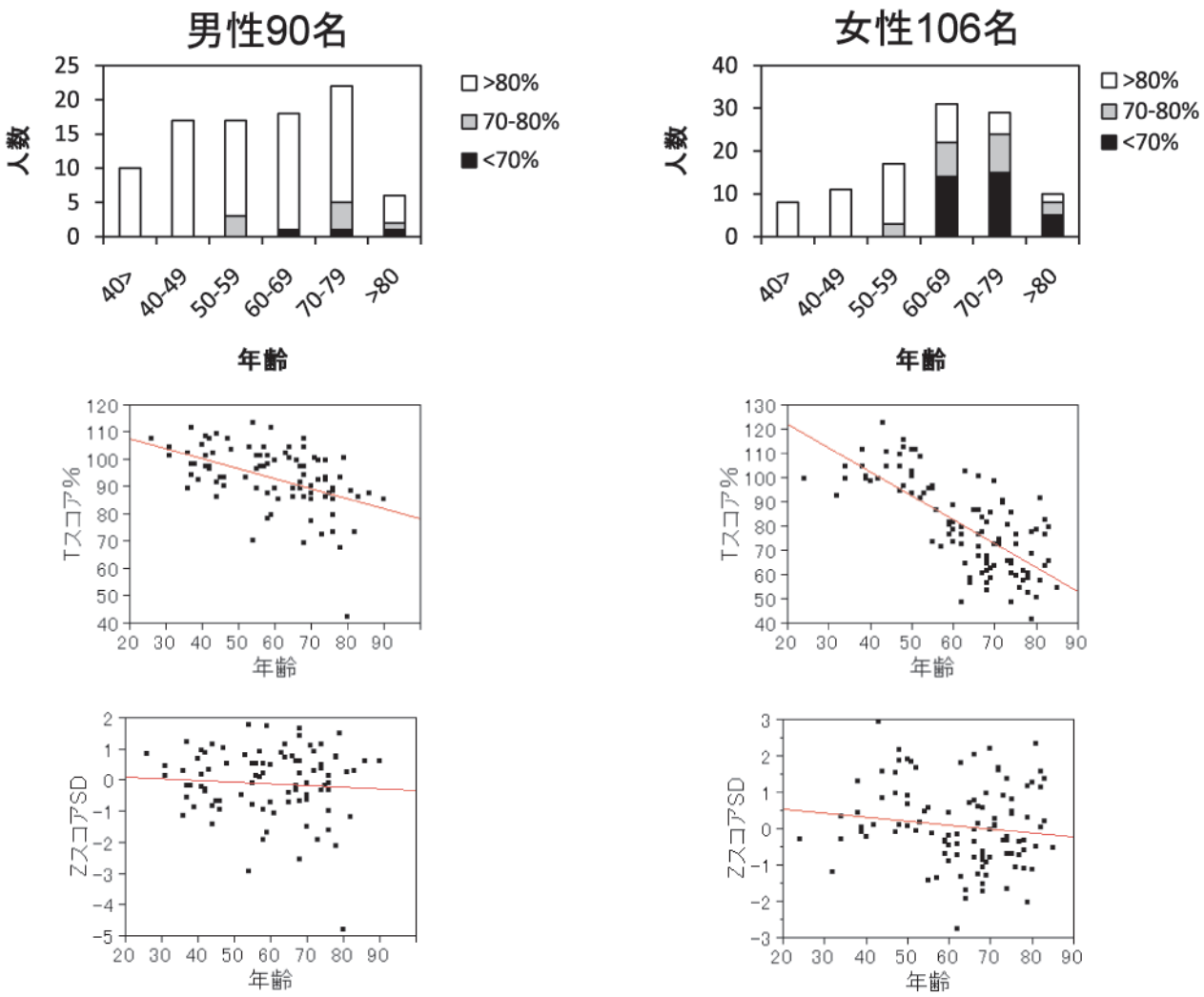
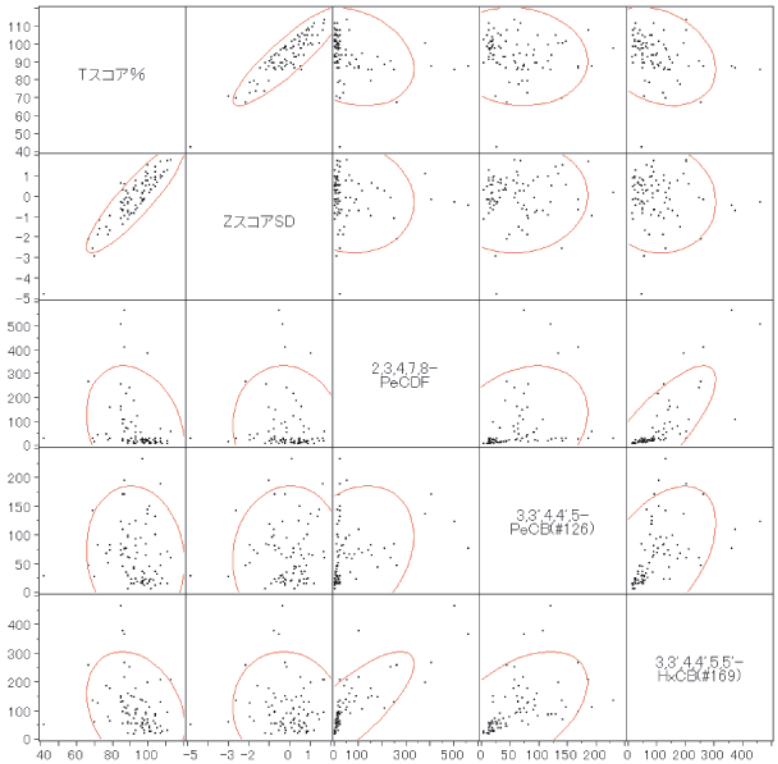


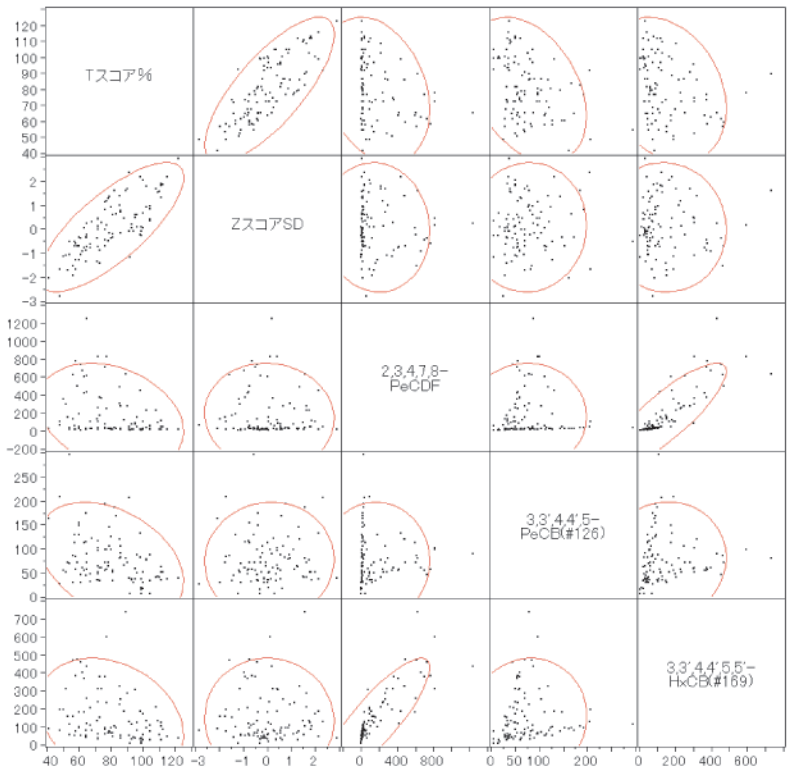
表1：ダイオキシン類濃度と骨密度の相関

		男性				女性			
		全体90名		治療歴なし72名		全体106名		治療歴なし69名	
変数	vs変数	相関	有意確率	相関	有意確率	相関	有意確率	相関	有意確率
ZスコアSD	Tスコア%	0.8975	<0.0001	0.9125	<0.0001	0.7656	<0.0001	0.7752	<0.0001
PeCDF	Tスコア%	−0.2490	0.0241	−0.2298	0.0656	−0.2773	0.0050	−0.3614	0.0031
PeCDF	ZスコアSD	−0.0754	0.5005	−0.0729	0.5639	−0.0566	0.5737	−0.1132	0.3693
PeCB(#126)	Tスコア%	−0.0966	0.3878	−0.0830	0.5110	−0.3607	0.0002	−0.3314	0.0070
PeCB(#126)	ZスコアSD	0.0566	0.6137	0.0367	0.7717	0.0287	0.7756	0.0878	0.4866
PeCB(#126)	PeCDF	0.2870	0.0090	0.2896	0.0193	0.0016	0.9875	0.1059	0.4013
HxCB(#169)	Tスコア%	−0.2707	0.0139	−0.2520	0.0429	−0.2637	0.0077	−0.3388	0.0058
HxCB(#169)	ZスコアSD	−0.0688	0.5389	−0.0972	0.4413	−0.0334	0.7402	−0.0846	0.5026
HxCB(#169)	PeCDF	0.7932	<0.0001	0.8017	<0.0001	0.8463	<0.0001	0.8327	<0.0001
HxCB(#169)	PeCB(#126)	0.4750	<0.0001	0.4679	<0.0001	0.0579	0.5655	0.1626	0.1955

図2：ダイオキシン類濃度と骨密度の相関



男性90名



女性106名

分担研究報告書

油症患者の自覚症状と他覚的神経障害の変化の検討

研究分担者　栄　信孝　　九州大学病院神経内科　助教
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るが、評価法も確立されてはおらず、詳細も不明である。従って、病態を考える上で、簡便でより定量性のある客観的評価が必要である。小径線維障害の程度と質を評価する客観的検査法を模索し、その有用性を検討することで、病態への影響とその特徴とを明らかにしたい。また近年患者の病態に重要と考えられる酸化ストレスについて、既知の酸化ストレス関連末梢神経障害の特徴およびその検査法や治療法を検討することで、新たな評価法および治療法の検索を行いたい。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、2007 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た。感覚障害については、小径線維ニューロパチーが存在することが示唆されたため、特に小径線維障害を主体とする末梢神経障害評価法を検討した。また、近年カネミ油症の病態においては酸化ストレスが病態機序の上で重要であると考えられ、既知の酸化ストレスによる末梢神経障害の特徴についても検討した。
結果：当初の 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%、64.3%と増加、他覚的感覚異常は、当初 21.7%に存在し、その頻度は調査を重ねるごとに 7.7%、16.7%、13.4%と減少した。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、経時的に 34.8%から 34.6%、17.4%、18.1%となった。油症患者では、その障害は改善することなく持続している可能性があり、慢性の小径線維ニューロパチーの病態が示唆された。小径線維ニューロパチーの評価法としては神経診察による所見および温度閾値検査やニューロメーターを用いた評価法に加え、皮膚パッチ生検が有用な可能性がある。一方、酸化ストレスと既知末梢神経障害に関しては、検索する限り、糖尿病性ニューロパチーにおいてよく検討されているが、その他ではサルコイドーシスによるニューロパチーの病態に関連が指摘される程度だった。また、酸化ストレスを除去する目的による末梢神経障害の治療については、アルドース還元酵素阻害剤、ビタミンＣやＥ、αリポ酸が治療薬として試みられている。結論：慢性期油症患者で想定される小径線維ニューロパチーは、その病態の特性として客観的評価が難しい。従って、その評価法については神経所見や温度閾値検査、ニューロメーターを含む神経電気生理学的検査に加え、今回指摘した皮膚パッチ生検を用いることにより、油症患者の自覚的および他覚的感覚異常の評価に有用であると考えられる。一方、酸化ストレスによる末梢神経障害の検討は、糖尿病性ニューロパチー以外ではあまり検討されておらず、酸化ストレスを除去する薬理作用をもつ薬剤の探索および検討は今後の重要な課題である。

A．研究目的

カネミ油症患者における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。

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い、さらに神経学的診察を、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)]。その経時変化の再検討により、現在まで増えている感覚異常については末梢神経でも特に小径線維障害が主体である可能性を昨年度も報告した。小径線維障害は、その特徴として、腱反射低下や筋力低下など、客観的に容易にとらえられる所見に乏しく、痛みなどの異常感覚や、発汗障害などの自律神経異常を呈することが多く、神経内科において日常的に行う一般的な神経生理学的検査などでも、その特性から大きな神経線維が対象となるため、異常の検出は困難であることが知られる[5), 6)]。昨年度提案したニューロメーターや、温度閾値テスト(temperature threshold testing)も客観的な小径線維障害の評価法としては有用であるが、より定量的な障害度の検討や異常所見の分析には情報量は限られる。従って、さらに詳細かつ精度の高い評価法を特に小径線維ニューロパチーの観点から検索した。一方、最近の知見により、PCBによる毒性機序には酸化ストレスが関わることが明らかになってきている。従って、既知の酸化ストレスによる末梢神経障害の特徴および治療法を検討することで、新たな感覚障害の評価法や治療法を探索することが可能と考え、酸化ストレスと末梢神経障害ならびにその評価法、治療法を検討することは重要と考えられる。今年度は油症患者にみられる末梢神経障害を特に小径線維ニューロパチーが重要と考え、既知の末梢神経障害との異同を検討し、さらに有用な評価法を検索すること、また酸化ストレスから生じる末梢神経障害の特徴および治療法を検討し、有用な評価法・治療法を模索することを目的とした。

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は小径線維ニューロパチーの要素を多く包含する可能性を報告している。さらにこの自覚的感覚異常および他覚的感覚異常の推移について検討した。1968年、1980年、2002年から、さらに2007年の油症検診結果を加え、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。なお、解析対象者は、1968年は油症と診断された者、1980年・2002年、2007年は油症と認定された者である。前年度の報告でも、その特徴においては小径線維の障害を指摘したが、近年、小径線維ニューロパチーの病態が注目され、その診断基準も確立されるようになり、その特徴と診断および評価法について検索を行い、新たに簡便かつ客観的に定量性のある評価法についても検討した。また、既知の小径線維神経障害において酸化ストレスが発症機序と考えられる病態および、それらの治療法についても文献的に検索した。

（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%、64.3%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%、13.4%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%、18.4%となった[4)]。（表1）

アキレス腱反射の低下／消失は経時的に改善を示唆している可能性があるが、自覚的感覚異常は経時的に増加しており、腱反射を構成する大きな神経よりも、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小径線維ニューロパチーの病態が関連する可能性がある。

２．小径線維ニューロパチーの評価法

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や温度閾値検査が有用である可能性を既に指摘した。しかし、これらの方法は被検者の注意力や検査に対する理解、姿勢に左右されるなど、神経所見単独による感覚障害の評価におとることがある[6]。また、末梢神経障害の診断および病態の解明のために有用な腓腹神経神経生検では、生検後に感覚障害が残るなど、不利益な点が指摘される。近年小径線維ニューロパチーの概念が提唱され、診断基準が確立されるようになると、神経所見やこれらの評価法と比較して、皮膚パッチ生検を用いることが、診断および評価に有用であることが報告されてきている[5),6)]。皮膚パッチ生検による小径線維障害の評価は、具体的には、抗神経抗体である抗protein-gene-product(PGP)9.5 抗体を用いて免疫染色する。この抗体は皮膚内の無随 C 線維を染色し、intraepidermal nerve fiber(IENF)の数を単位面積あたりで計測する方法であり、定量性が高い。

３．酸化ストレスによる末梢神経障害

酸化ストレスと小径線維ニューロパチーで検索したところ、糖尿病性ニューロパチーが圧倒的に多く検索されるが、他の末梢神経障害について酸化ストレスが密接に関与することを報告したものでは、サルコイドーシスによるニューロパチーがあがるのみであった（表2)。

一方、これらのニューロパチーにおいて試みられている治療法について、表３にまとめた。

D．考察

１．油症患者における末梢神経障害

これまでの検診結果を経時的にみていくと、腱反射消失／低下の割合は次第に低下しているのに対し、自覚的感覚異常は経時的に増加している。感覚異常の原因は加齢とともに様々な要因が関与している可能性はあるが、ダイオキシンは 40 年以上経過した現在でも患者体内に貯留していることが指摘されており、慢性的な末梢神経障害、特に小径線維の障害による小径線維ニューロパチーの病態が存在する可能性が考えられた。ただし、末梢神経のみならず、神経根障害が存在する可能性や、頸椎および腰椎神経根障害の関与なども否定はできないため、神経画像による検討、神経伝導検査や感覚誘発電位検査なども含め、今後さらに幅広い検討が必要である。

２．皮膚パッチ生検を用いた評価法

小径線維ニューロパチーの診断においてその有効性が注目される皮膚パッチ生検は、皮膚内の神経線維をカウントすることで定量が可能である。実際、Devigili G らは臨床的神経所見、定量的感覚テストとして温度閾値検査、皮膚生検各々またはこれらの組み合わせで小径線維ニューロパチーの診断への有用性を検討したところ、皮膚生検を用いることで診断有効性が 88.4%と、温度閾値検査の有効性が 46.9%、神経所見による診断有効性 54.6%に比較し非常に信頼性が高いことを指摘している[6]。温度閾値検査の障害度と、カウントされた神経脱落の程度が相関することや、IENF の脱落が大きいほど、痛みの risk や強度との関連すること、場合によっては瀰漫性ニューロパチーへの進展も予測できる可能性も示唆されている[6]。したがって、小径線維障害が想定される油症患者においても神経の障害度およびその性状を評価するには皮膚生検による評価が有効であると考えられる。腓腹神経生検において配慮される、生検後の機能障害も皮膚生検では最小限にとどまり、また、定量性もあるため経時的な障害度の評価も可能であると推測され、特に慢性的な化

学物質への暴露が病態に関与する油症患者のように、病態を長期的かつ連続的な評価を必要とする場合にも有効であると考えられる

3．酸化ストレスと小径線維ニューロパチー

現時点での検索の範囲では、圧倒的に糖尿病性ニューロパチーが多く、サルコイドーシスによるニューロパチーがわずかにみられるのみであった[7]。ただし、小径線維ニューロパチーの概念は最近確立されたものであり[5),6)]、異常感覚が主体である様々なニューロパチーにおいては、その診断が困難である状況を考慮すると、臨床の場で看過されている可能性が高く、多くの感覚障害を伴う病態においても直接、間接的に酸化ストレスが病態へ関与することが推測される。

現在、もっとも臨床、研究面でも病態解明がすすんでいる糖尿病性ニューロパチーの病態において、酸化ストレスが病態基盤にあることが注目され、その酸化ストレスを除去する治療的試みがなされている。その中でアルドース還元酵素阻害剤は、長期使用により、神経障害の進展を抑制できると考えられている[8),9)]。また、ビタミンCやEは、酸化ストレス除去に働くことが知られており、すでに一部の末梢神経障害の治療的試みとして取り入れられている[8),9)]。一方、ドイツにおいてはαリポ酸の点滴および経口投与が試みられ、有意なニューロパチーの改善を得ているとされる[10)]。従って、このような酸化ストレス除去剤が神経障害の拡大予防や、症状緩和を促す可能性があり、患者の感覚障害に対する薬剤としての検討を可能にするかもしれない

E．結論

油症患者における慢性経過の末梢神経障害の特徴として、主に小径神経線維が障害される小径線維ニューロパチーの病態が示唆される。神経所見、温度閾値検査やニューロメーターに加え、皮膚生検を用いることは、油症患者の末梢神経機能をより定量性のある客観的に評価できるものと期待され、また経時的変化の検討にも有用であると思われる。一方、酸化ストレスを起因とする末梢神経障害に対する治療についても、今後の動向や新規薬剤にも注目し、その有効性を検証していきたい

F．文献

1）黒岩ら：福岡医誌 60: 462-463, 1969
2）岩下ら：福岡医誌 68: 139-144, 1977
3）柴崎ら：福岡医誌 72: 230-234, 1981
4）古谷ら：福岡医誌 96: 152-156, 2005
5）Hoitsma E, et al : Journal of the Neurological Sciences 227: 119-130, 2004
6）Devigili G, et al : Brain 131: 1912-1925, 2008
7）Smulders NM, et al : Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 25: 140-2, 2008
8）Vincent AM, et al : Endocr Rev 25: 612-628, 2004
9）Pop-Busui R, et al : Diabetes Metab Res Rev. 22: 257-273, 2006
10）Singh U, et al : Nutrition Reviews 66: 646-657, 2008

G．研究発表

なし

H．知的所有権の出願・登録状況

なし

表１　感覚障害およびアキレス腱反射低下の変化

	1968	1980	2002	2007
自覚的感覚障害	39.1%	46.2%	59.4%	64.3%
他覚的感覚障害	21.7%	7.7%	16.7%	13.4%
腱反射低下	34.8%	34.6%	17.4%	18.1%

表２　酸化ストレスと小径線維ニューロパチー

	糖尿病性	サルコイドーシス[7]	油症
神経障害	感覚、運動、自律神経障害など	心臓自律神経 小径線維障害	アキレス腱反射低下 小径線維障害
障害の機序	虚血、代謝、酸化ストレス、免疫機序など	赤血球における NADPH 低下	PCB による慢性的酸化ストレス状態
神経障害および感覚障害の性状	様々	小径線維障害の約 50%に心自律神経障害	慢性的感覚異常
治療	アルドース還元酵素阻害剤 αリポ酸	carvedilol(α1+β 遮断と抗酸化ストレス作用)	検討中

表３　酸化ストレスを対象とした末梢神経障害に対する治療薬

薬剤	機序	備考
アルドース還元酵素阻害剤	・ ポリオール代謝亢進を押さえ、ソルビトール蓄積や NO 減少、酸化ストレスを抑制	・ 神経障害の進展を抑制、痛みなどの陽性症状には効果乏しい
ビタミンC	・ 親水性ビタミン ・ 抗酸化作用	・ 大量経口投与の試みあり
ビタミンE	・ 疎水性ビタミン ・ 酸化ストレス、炎症を抑制	・ 神経伝導速度の改善
αリポ酸	・ 直接 ROS を除去 ・ 内在性抗酸化物を増加 ・ 金属キレート作用による	・ １部自覚症状改善

分担研究報告書

カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ、血清CK年次変化と骨代謝マーカー

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　血清クレアチン・キナーゼ値や血清アルドラーゼ値の異常率は年々低下している。カネミ油症検診者を対象に、橈骨遠位端の骨密度と踵の骨密度を測定し、血清Ⅰ型コラーゲン架橋N-テロペプチド、血清骨型アルカリフォスファターゼ、骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ、血液PCB濃度、血液PCQ濃度との関係を検討した。その結果、男性で前腕骨の骨密度は血液PCB濃度と負の相関を示した。骨粗鬆症群で血清Ⅰ型コラーゲン架橋N-テロペプチドの増加を認めたが、血清骨型アルカリフォスファターゼは変化がなかった。カネミ油症検診者では尿中のNTXの値が低下していたが、踵骨骨密度の低下および骨粗鬆症の増加はなかった。PCBは骨代謝を抑制し骨密度を低下させるが、その影響は少ないと推測される。

A．はじめに

これまで、カネミ油症検診者では血清クレアチン・キナーゼ値（以下、血清CK)の上昇や血清アルドラーゼ値(以下、血清ALD）の低下が認められることに着目し、年次変化を追跡してきた。2008年の検査結果を加えて報告する。

次ぎに、PCBやダイオキシンは骨代謝に影響を及ぼしうることが報告されており，カネミ油症検診者においても骨粗鬆症の合併の可能性が指摘されている．しかしながら，そのの見解は一定ではないため，さらに検討を加えてカネミ油症における骨粗鬆症とPCB等の因果関係を明らかにしていく必要がある．

そこで昨年に引き続き，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（type Ⅰ collagen cross-linkedN-telopeptide:以下,NTX)と骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ、(tartrate-resistant acid phosphatase-5b：以下、TRACP-5b）ならびに骨形成の指標となる骨型アルカリフォスファターゼbone-alkaline phosphatase：以下，BAP）を測定し，カネミ油症検診者での骨密度と骨代謝の変化を検討したので報告する．また、血中PCB、PCQ濃度との関係について統計学的に検討した。

2008年のカネミ油症検診者のうち、踵骨骨密度・代謝に関連する項目が測定できた194名を対象とし、雲仙地区の住民と比較し、骨粗鬆症がカネミ油症検診者で増加しているか検討した。

B．対象と方法

1，血清CKと血清ALD異常率の年次推移

1995年～2008年までのカネミ油症検診者データ全てを使用し、血清ALDと血清CKが異常率を各年度ごとに算出した。

2，血中 PCBs、PCQ 濃度と骨代謝マーカーの関係

2008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194名を対象とし、それぞれの項目間の相関関係について検討した。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。検診者の測定項目は下記について行った。
1．骨密度　(BMD)：前腕部、DXA(dual energy X ray absorptiometry) を用いて、橈骨遠位端にて測定。
2．骨密度　(BMD)：踵部で、超音波を用いて測定。
3.骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)
4．骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRACP-5b)
5．尿中Ⅰ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTX)
　骨密度は、男性群、女性群の2群に分けて検討した。骨密度をYAM%80%以上を骨量正常。YAM%が70%以上80%未満のものを骨量減少、YAM%が70%未満のものを骨粗鬆症として分類し、各群のPCB血液濃度、PCQ血液濃度,PCDF血液濃度、また、カネミ油症発症後の平均血中PCB、PCQ濃度に骨密度測定までの経過年を乗した値すなわち積算値、NTX,BAPの濃度を、t検定で比較した。有意差は危険率0.05以下とした。
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。

3，踵骨骨密度（超音波法）と骨代謝マーカーの健常者との比較

　2008 年の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 194 名を対象とし、雲仙地区の住民と比較した。
　１．骨密度　(BMD)：踵骨（超音波法）
　２．尿中Ⅰ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTX)
なお、雲仙地区の住民のデータは、人数、平均年齢、男女比がカネミ油症検診者対象と等しくなるようランダムに選定、作成した。

Ｃ．結果

1，血清CKと血清ALD異常率の年次推移

　　長崎県の油症検診では、五島地区（玉之浦、奈留）においては午前中の空腹時に検診を行い、長崎地区は午後より行われている。図１に示すように、1995 年には受診者の 21.4%に血清 CK 上昇が認められたが、2008 年には 7.0%まで減少してきている。男女ともに合わせた血清アルドラーゼ異常率は、測定を開始した 2000 年は、61.2%に異常が認められたが、2008 年には、0.5%に減少した（図 2)。

2，血中 PCBs、PCQ 濃度と骨代謝マーカーの関係

　超音波法を用いての踵骨骨密度 (BMD) と DXA(dual energy X ray absorptiometry) を用いて、橈骨遠位端にて測定した骨密度の相関は図３に示すように相関係数 0.6(p<0.0001)で相関を認めている。図４に示すように男性の前腕骨でのみ血液 PCBs 濃度との相関が認められたが (r=-0.34,p<0.05)、女性では認められなかった。同様に男女ともに血液 PCQ と橈骨遠位端での骨密度に相関はなかった。橈骨遠位端での骨密度と骨アルカリフォスファターゼ (BAP) の関係は骨密度が低いと有意に BAP が高くなり、軽度ながら負の相関を認めた (r=0.29, p<0.05、(図５))。男女共に前腕骨骨密度が低いと血中 TRACP-5b は有意に高値を示し、骨密度と血中 TRACP-5b は極わずかながら負の相関を示した（図６，男：r=-0.29, p<0.01, 女:r=-0.21,p<0.05)。

3，踵骨骨密度（超音波法）と骨代謝マーカーの健常者との比較

　表１に示すように雲仙地区の対象者群は身長、体重、年齢ともにカネミ油症検診者群と有意な差はない群を無作為に選択した。その結果、図７に示すように、踵の骨密度であるスティフネスに男女共に差を認めなかった。しかし、男女ともに尿中 NTX の値は、カネミ油症検診者群で有意に低下していた（図８)。

カネミ油症検診者と雲仙地区の住民の骨量減少群、骨粗鬆症群の割合を図９に男女に分けて示した。コントロールとした雲仙地区の住民と骨量減少群、骨密度低下の率は差がなかった。

D．考察

カネミ油症検診者群における血清CKの異常率、アルドラーゼの低下率は年々減少してきている。検診者が高齢化し、検診者群の血中PCBs濃度の低下などと関係している可能性があり、今後、検討しておく必要がある。

カネミ油症検診者では、検診者の30%に骨粗鬆症が認められ、骨量減少群は２５％に認められた。この率は雲仙地区の住民と差を認めず、カネミ油症検診者で骨粗鬆症が高率に認められるわけではない。しかし、カネミ油症検診者において、男性の前腕骨骨密度は血液PCB濃度と弱いながら相関を認め、尿中NTXの値が男女共に有意に低値を示していた。

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。

一方、破骨細胞は活性型 TRACP 5b を血中に放出し、日内変動が少なく、食餌の影響も少なく、骨吸収マーカーとしては安定したマーカーとして注目されている。

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。骨密度低下群で、通常では、BAPの上昇が報告されているが、今回の結果では、上昇も低下も認められていない。すでに報告されているように

PCBが骨芽細胞に作用する可能性が残る。

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の変化がないので、骨吸収の亢進が生じ、骨芽細胞の抑制が生じていることも考えられる。

しかしながら、対象群と比較した場合、カネミ油症検診者で骨粗鬆の頻度に差はなく、骨密度にも差はなかった。PCBは骨代謝を抑制し骨密度を低下させるが、その影響は少ないと推測される。

E．結論

カネミ油症検診者において、骨粗鬆症が認められ、尿中の骨吸収マーカーは対象群に比べて低下していた。PCBは骨密度に若干影響を与え、骨代謝を抑制している可能性があり、その影響に関しては、今後検討が必要である。

F．謝辞

雲仙地区の骨粗鬆症のデーターは、長崎大学大学院医歯薬学研究科医療科学専攻青柳潔教授、安部恵子助教のご協力によるものです。

文献

1)ChakiO , YoshikatIa, KikuchiR ,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, Beuz D」,Graellne KA,Gallegos A,Korc M,Greene GL,0'□ Ialley 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.

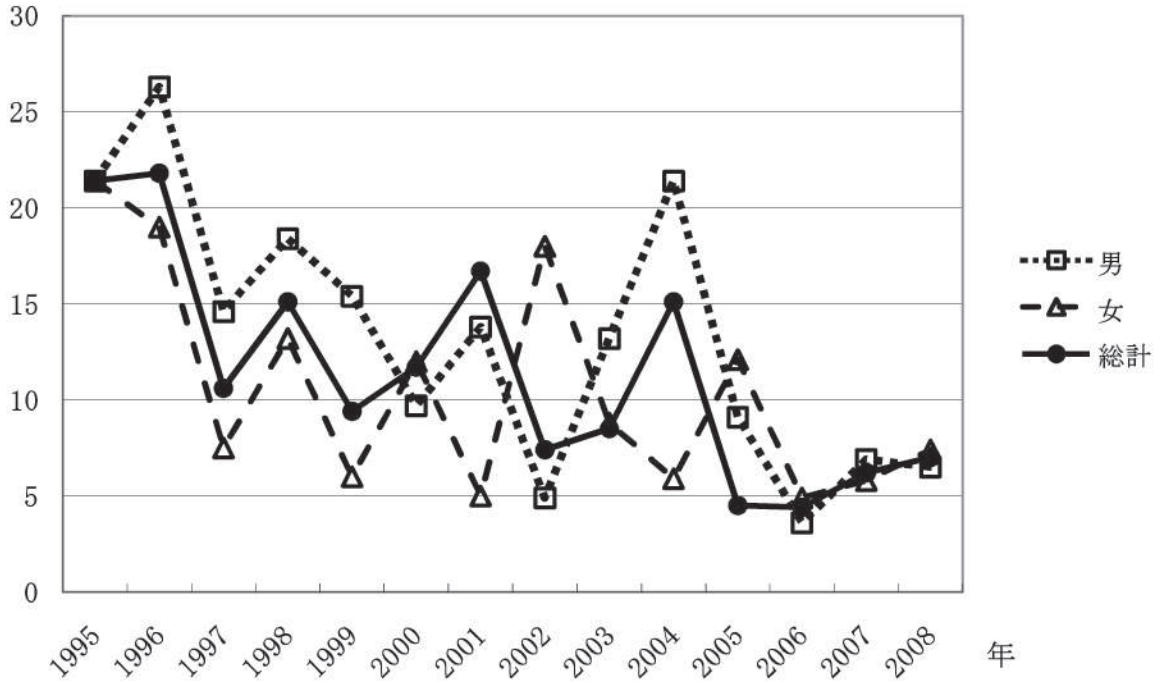
9）吉村俊朗，沖田実，福田卓，藤本武士，中尾洋子：カネミ油症検診者における血清ＣＫ上昇の意義－ラット筋細胞膜の freeze fracture 法による変

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.

図１　CK異常率の経年変化

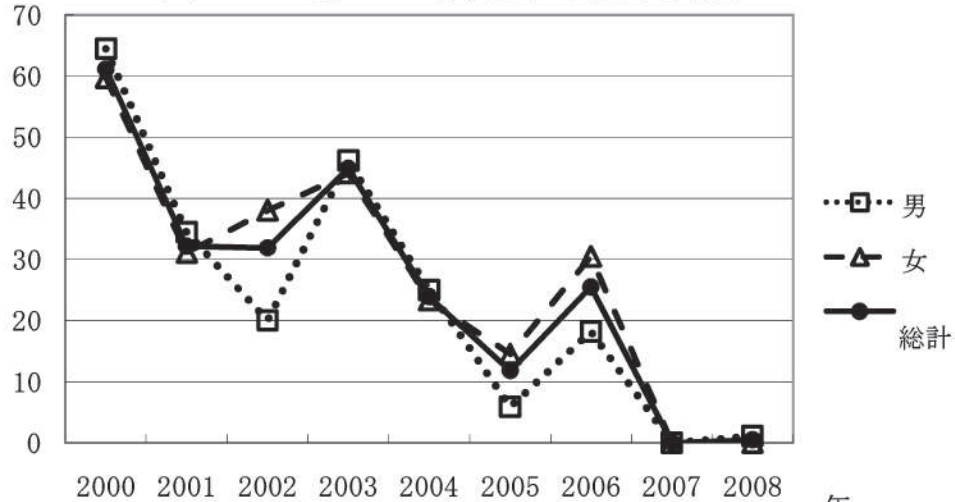


	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
男	6 (28)	10 (38)	6 (41)	7 (38)	6 (39)	3 (31)	4 (29)	2 (41)	5 (38)	6 (28)	3 (33)	2 (55)	4 (58)	6 (92)
女	12 (56)	12 (63)	4 (53)	9 (68)	4 (67)	9 (72)	11 (61)	7 (80)	4 (68)	7 (58)	2 (77)	4 (82)	6 (104)	9 (122)
総計	18 (84)	22 (101)	10 (94)	16 (106)	10 (106)	12 (103)	15 (90)	9 (121)	9 (106)	13 (86)	5 (110)	6 (137)	10 (162)	15 (214)

年

括弧内の数字は受診者総数で、数字は血清CKが異常値を呈した人数

図２　血清ALDの異常率と経年変化

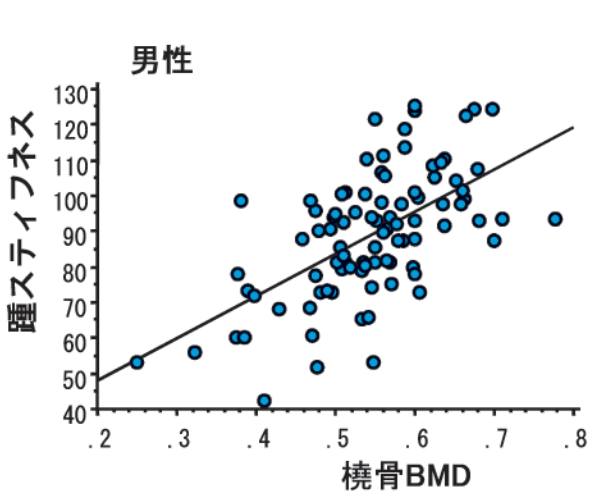


	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
男	20 (31)	10 (29)	8 (40)	18 (39)	7 (28)	2 (34)	10 (55)	0 (58)	1 (92)
女	43 (72)	19 (61)	30 (79)	30 (68)	14 (60)	11 (76)	25 (82)	0 (106)	0 (122)
総計	63 (103)	29 (90)	38 (119)	48 (107)	21 (88)	13 (110)	35 (137)	0 (164)	1 (214)

年

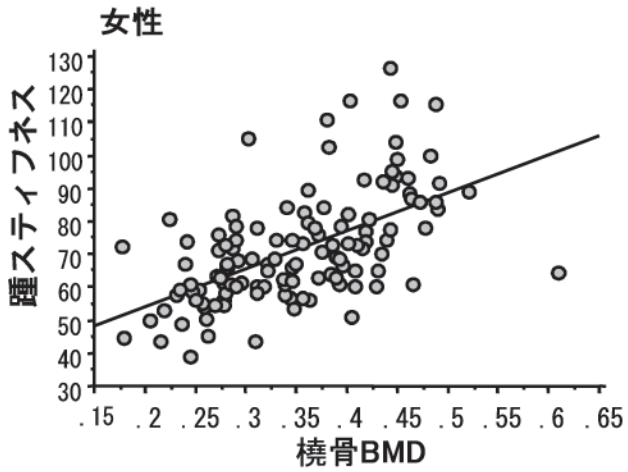
数値は血清ALD値が異常を呈した人数で、括弧内の数字は受診者総数

図3　橈骨BMDと踵骨スティフネス



踵スティフネス = 24.041 + 119.197 * BMD; R^2 = .363

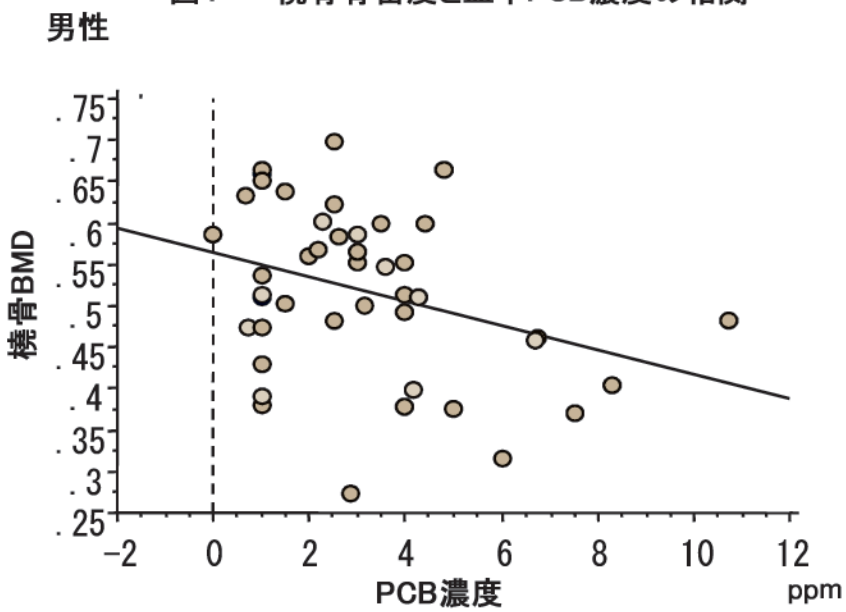
R=0.601　p<0.001



踵スティフネス = 30.816 + 116.044 * BMD; R^2 = .337

R=0.581　p<0.001

図4　　橈骨骨密度と血中PCB濃度の相関



BMD = .565 - .015 * PCB; R^2 = .116

R=−0.34　P<0.05

図5 橈骨骨密度とBAPの相関

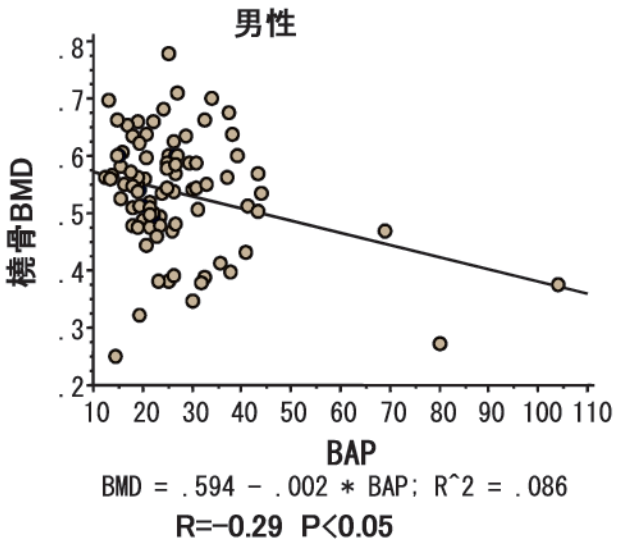
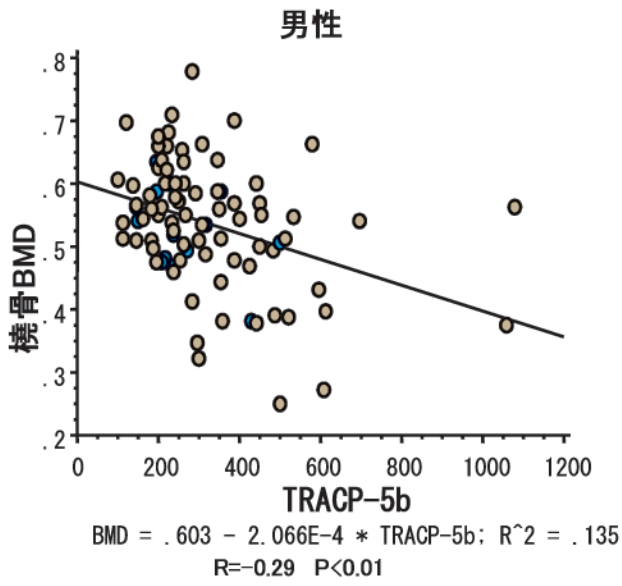


図6 橈骨骨密度とTRACP5b-の相関



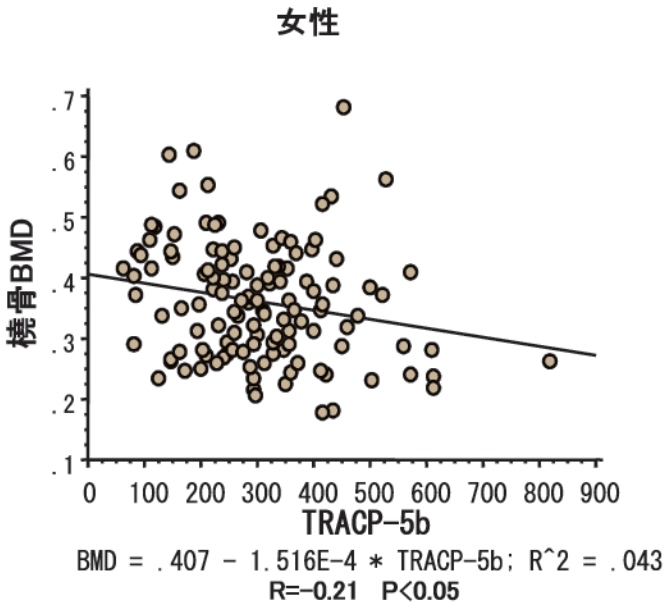


表1，骨密度と骨代謝マーカーの健常者との比較

対象者の比較

		雲仙地区住民	カネミ油症検診者
男性	N	81	81
	平均年齢	61.6±12.4	61.8±12.8
	身長	163.4±5.9	163.0±7.9
	体重	62.3±9.2	61.8±10.6
女性	N	113	113
	平均年齢	63.6±11.3	63.8±11.7
	身長	163.4±5.9	151.9±5.9
	体重	62.3±9.2	61.8±10.6

図7　踵骨スティフネスの比較

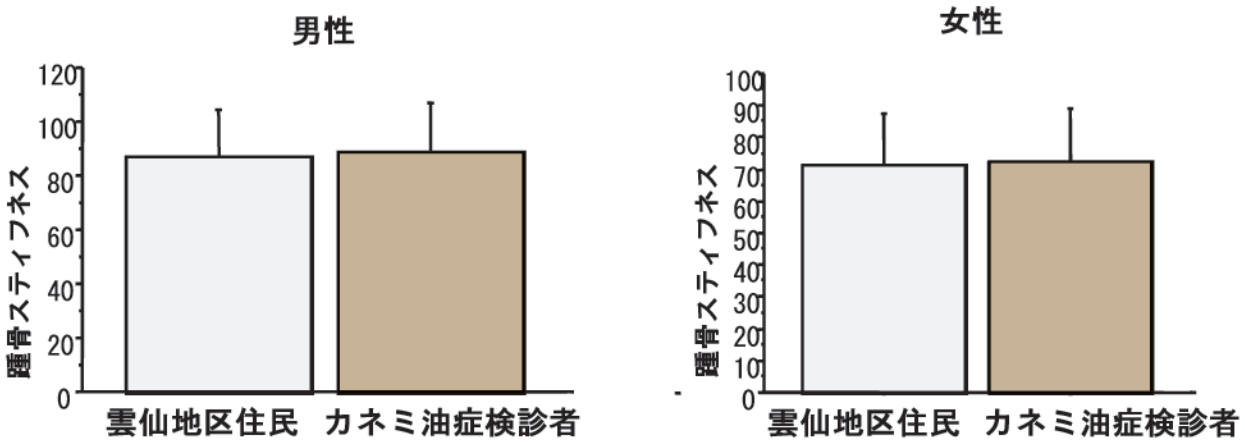


図8　尿中NTX濃度の比較

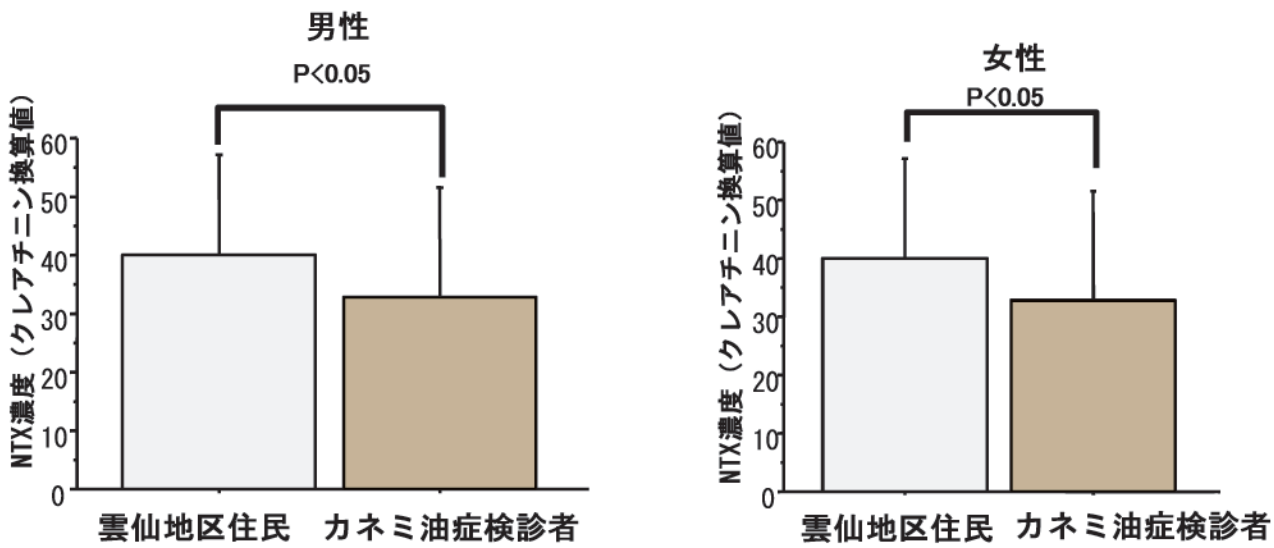
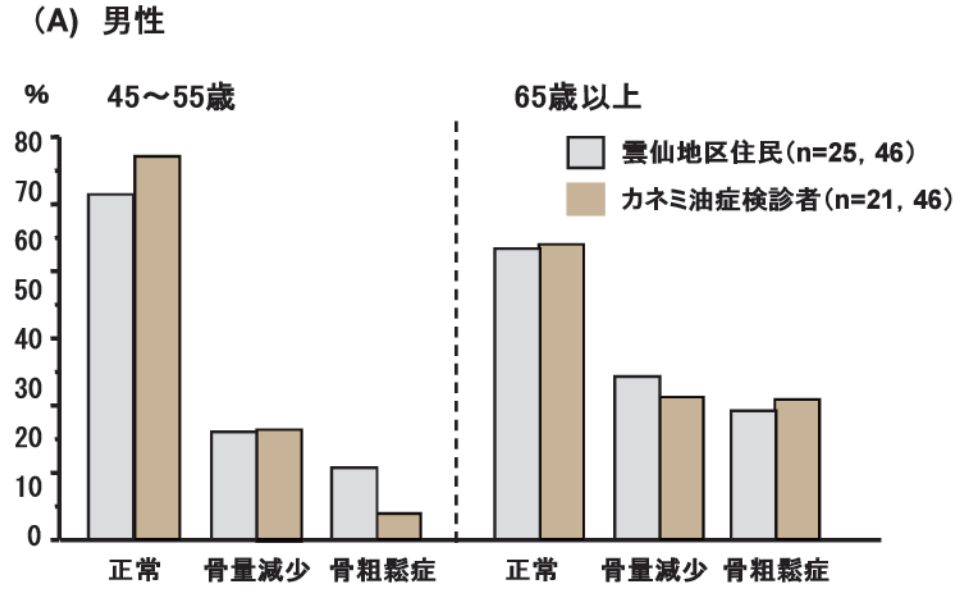
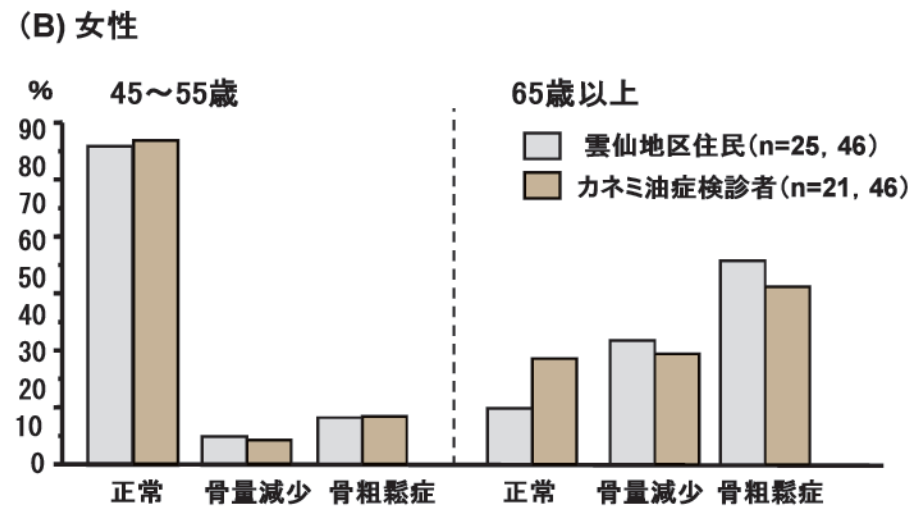


図9 骨粗鬆症の割合


(A) 男性
%
45～55歳
65歳以上
雲仙地区住民(n=25, 46)
カネミ油症検診者(n=21, 46)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
正常
骨量減少
骨粗鬆症
正常
骨量減少
骨粗鬆症


(B) 女性
%
45～55歳
65歳以上
雲仙地区住民(n=25, 46)
カネミ油症検診者(n=21, 46)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
正常
骨量減少
骨粗鬆症
正常
骨量減少
骨粗鬆症

分担研究報告書

油症患者におけるリンパ球幼若化反応の検討

研究分担者　辻　博　　北九州津屋崎病院内科

研究要旨　2009 年度福岡県油症一斉検診の受診者 200 例について PHA および Con-A によるリンパ球幼若化反応を測定し，血中 PCB 濃度および血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran（PeCDF）濃度との関連について検討した。血中 PCB 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応，Con A によるリンパ球幼若化反応の間に有意の負の相関を認め，血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比べ PHA によるリンパ球幼若化反応，Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応，Con A によるリンパ球幼若化反応の間に相関をみなかったが，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群において低濃度群に比べ PHA によるリンパ球幼若化反応，Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。

A．研究目的

本邦において 1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル（PCB）混入ライスオイル摂取により北部九州を中心に発生した油症では，原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF）の毒性影響が大きいと考えられる [1]。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 年以上が経過し種々の症状は軽快しているが，重症例においては体内の PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ，慢性中毒に移行していると推定される [3]。2001 年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され，油症患者では未だに血中 PCDF 濃度が高値であり，PCDF の体内残留が推測される [4]。

最近，PCB あるいは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 [5]。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。さらに，2008 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では低値の患者に比べ helper/inducer T 細胞

を示す末梢血 CD4 陽性細胞の上昇を認め，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数，CD4 陽性細胞数の間に有意の正の相関を認め PCDF の細胞性免疫に対する慢性的影響が示唆された[6]。

今回我々は，2009 年度福岡県油症一斉検診においてリンパ球機能検査として phytohemagglutinin（PHA）および concanavalin A（Con A）の mitogen 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

2009 年度福岡県油症一斉検診の受診者 202 例中，PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた 200 例を対象者とした。

PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応は ^{3}H-サイミジン取り込み能により測定した。リンパ球はヘパリン加末梢血から Ficoll-Conray 法により分離後，PBS にて洗浄し 10 ％ＦＣＳ添加 ＲＰＭＩ 1640 培地にて 5×10^{5} cells/ml に調整した。リンパ球浮遊液 0.2 ｍｌを mitogen を添加したマイクロプレートに分注し，５％CO_2 培養器にて 37℃，64 時間培養後に ^{3}H-サイミジン 0.25 μCi を加え，さらに８時間培養後，培養細胞をセルハーベスターにて回収，乾燥しマイクロプレートシンチレーション・ルミネッセンスカウンター（PerkinElmer,Inc., TopCount NXT）にて ^{3}H の放射能を測定した。対照として mitogen 無添加の試料を測定した。

血中 PCB 濃度は 2009 年度福岡県油症一斉検診において測定した 200 例の測定値を用い，血中 2,3,4,7,8-pentachloro-dibenzofuran（PeCDF）濃度は 2009 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2002 年度 2 例，2004 年度 1 例，2005 年度 8 例，2006 年度 82 例，2007 年度 19 例，2008 年度 17 例，2009 年度 62 例の計 191 例の測定値を用い，PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応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

2009 年度福岡県油症一斉検診を受診し，PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた 200 例の内訳は女性 115 例，男性 85 例で，平均年齢は 60.8±16.8（4－92）歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関（r=0.537, 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=0.313, P＜0.001）を認めた。

受診者 200 例について血中 PCB 濃度とリンパ球幼若化反応の関連について検討した。血中 PCB 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応（r=－0.341，P＜0.001），Con A によるリンパ球幼若化反応（r=－0.233, P＜0.001）の間に有意の負の相関を認めたが，対照（r=－0.134）との間に相関をみなかった。血中 PCB 濃度 2.0 ppb 未満の 154 例を PCB 低濃度群，血中 PCB 濃度 2.0 ppb 以上の 46 例を PCB 高濃度群として，両群間の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について検討を行なった。PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 0.93±0.52 ppb，PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 3.10±1.14 ppb であった。PHA によるリンパ球幼若化反応は PCB 高濃度群において 30907±11373 cpm と PCB 低濃度群 40607±15332 cpm に比べ有意の低下を認めた（P＜0.001）。そして，Con A によるリンパ球幼若化反応も PCB 高濃

度群において 24562±9765 cpm と PCB 低濃度群 30479±12895 cpm に比べ有意の低下を認めた(P＜0.005)。対照は PCB 低濃度群 237±114 cpm，PCB 高濃度群 213±83 cpm と両群間に差をみなかった。

2009 年度福岡県油症一斉検診を受診し，リンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた受診者 200 例中，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が測定された 191 例について 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度とリンパ球幼若化反応の関連について検討した。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応（r=－0.130），Con A によるリンパ球幼若化反応（r=－0.107），対照（r=0.047）の間に相関をみなかった。次に，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 50 pg/g lipids 未満の 120 例を 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群，50 pg/g lipids 以上の 71 例を 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群として両群の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について検討した。2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 14.87±9.32 pg/g lipids，高濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 254.02±213.54 pg/g lipids であった。PHA によるリンパ球幼若化反応は 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群において 34093±12776 cpm と低濃度群 41709±15185 cpm に比べ有意の低下を認めた（P＜0.001）。さらに，Con A によるリンパ球幼若化反応は 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群において 26570±10399 cpm と低濃度群 31463±12706 cpm に比べ有意の低下を認めた(P＜0.001)。両群の対照に差をみなかった。

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[5]。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，油症において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[7]。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。さらに，2008 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では低値の患者に比べ helper/inducer T 細胞を示す末梢血 CD4 陽性細胞の上昇を認め，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数，CD4 陽性細胞数の間に有意の正の相関を認めた[6]。油症患者の末梢血リンパ球，CD4 陽性細胞の増加に 2,3,4,7,8-PeCDF の関与が示唆された。

今回の検討では，血中 PCB 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応，Con A によるリンパ球幼若化反応の間に有意の負の相関を認め，血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比べ PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。そして，血中

2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応，Con A によるリンパ球幼若化反応の間に相関をみなかったが，2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群において低濃度群に比べ PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。PHA，Con A は T 細胞の mitogen であるが，Con A は suppressor/cytotoxic T 細胞および helper/inducer T 細胞を，PHA は helper/inducer T 細胞をよく幼弱化することが知られている。血中 PCB 濃度あるいは 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では helper/inducer T 細胞の幼若化反応が低下していると考えられる。

油症発生以来 40 年以上が経過しているが，血中 PCB 濃度あるいは 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者においては PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応が低下していると考えられた。

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. 飯田隆男，戸高尊，平川博仙，飛石和大，松枝隆彦，堀就英，中川礼子，古江増隆：油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査（2001 年）. 福岡医学雑誌 94 : 126-135, 2003.
5. 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.
6. 辻 博：油症における末梢血リンパ球亜集団の検討. 福岡医学雑誌 100 : 131-135, 2009.
7. 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

油症患者におけるヘリコバクター・ピロリ感染と胃癌の検討

研究分担者　　松本　主之　九州大学大学院病態機能内科学　講師
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* 感染、および胃癌発症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．また、胃癌患者における *Helicobacter pylori* 感染と組織中ダイオキシン濃度を検討するプロトコール作成に着手した．

A．研究目的

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．また、ダイオキシン、*H. pylori*、胃癌の関係に関する基礎的研究をヒトの胃癌組織を用いて行うための準備を行った．

B．研究方法

1）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重要論文を抽出した．なお、本研究は、過去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．

2）本年も油症患者の肝機能、代謝関係について検診を行い、一部の患者では胃 X 線検査も施行した．

3）九州大学病院消化管内科で診断、および内視鏡治療を施行する症例を対象に、*H. pylori* と組織中ダイオキシン濃度の検討を行うためのプロトコール作成を試みた．

C．研究結果

1）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が明らかにされている．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．

2）本年検診受診者のうち、胃 X 線検査で胃癌を診断されたものはなかった．

3）臨床的に粘膜内癌と診断され、内視鏡的粘膜下剥離術で切除予定となる症例を対象とし、病変内と病変周囲正常粘膜から蛋白および mRNA を抽出し、さらにダイオキシン濃度を測定するプロトコールを立案中である．

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からは、PCBやPCDFが*H. pylori*感染を介する発癌に相加・相乗作用を有するか否かは不明である. また、油症患者の胃癌組織が現時点では検討できないので、平成22年度は胃癌患者を対象にこの点について検討を行う予定である.

E. 結論

H. pylori 感染と組織ダイオキシン濃度を検討することは胃癌発生のメカニズムを解明する点でも重要と思われる.

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
	黒川陽一	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　専門研究員
	中川礼子	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
	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
	宮脇　崇	福岡県保健環境研究所	計測技術課　主任技師
	桜井利彦	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課　課長
	片岡恭一郎	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課　研究員
	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
	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
	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液中ダイオキシン類検査希望者（平成 14 年度(2002 年)－平成 20 年度（2008 年）：総数 2410 件）の血中ダイオキシン類濃度を明らかにした。平成 20 年度（2008 年）は受診者のうち未認定者 174 名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 105 名の血中ダイオキシン濃度を測定した。2008 年度に血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の平均 Total TEQ は 66.6 pg/g lipid であった。2001 年から 2008 年までの 8 年間の検査希望者中の油症認定患者の検体総数は 1606 件であるが、受診認定患者の実数は 611 名で、全認定患者（1912 名）の約 32%であった。内訳は男性 300 名、女性 311 名、平均年齢は 65.3 歳、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 140pg/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、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、2004-08 年に新たに 51 名の患者が認定されている。油症認定患者のうち約 1,400 人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、2007 年度から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液中ダイオキシン濃度を測定した。未認定者の測定結果は油症診定会議の判定資料に供し、油症認定患者の血液中ダイオキシン濃度はその経年推移[3)]と油症認定患者中のダイオキシン濃度分布[4)]の解明を目指した。また、2006 年からは漢方薬等による治療研究の血液中ダイオキシン濃度の測定に測定対象を拡大させ、2007 年からコレスチラミンによる治療研究の効果判定の基礎資料を作成することを目的とした。

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。また、2007 年には国内 4 機関に同一試料を配布しクロスチェックを実施し信頼性の確保に努めている。

（2）血中ダイオキシン類検査試料

2008 年度は油症一斉検診受診者のうち未認定者 174 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 105 名から血液を採取した。2008 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 91 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 21 年度（2009 年）調査（261 名）については現在、分析中である。

(3) 油症患者血中ダイオキシン類濃度の解析

2001 年度から 2008 年度までの 8 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 1606 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 611 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 300 名、女性 311 名であった。患者の年齢は 2008 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最後に測定した濃度(最新の濃度)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）コレスチラミンによる治療試験の血中ダイオキシン類濃度の分析

2008 年度はコレスチラミンによる治療試験の基礎資料を得るため、4 病院から油症患者 18 名について治験中６ヶ月ごとに 3 回延べ 51 件(１名は１回目、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

2008 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ている。

(1)-３．油症一斉検診受診者の血中ダイオキシン類分析

表 2 に 2008 年度の油症一斉検診の油症認定患者、未認定者の血中ダイオキシン類濃度の分析結果及び 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を示した。2008 年度に血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の平均 Total TEQ は 66.6 pg/g lipid であった。2002-2006 年度は受診認定者の希望者全員を測定し、この間の平均 Total TEQ は 122.2～136.4 pg-TEQ/g lipid[5),6),7),8)] であった。2007 年度以降、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ている。2008 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、2002-2006 年に比べ 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、2008 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 1.8 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 同族体が特に高い油症認定患者に特徴的な異性体パターンを示している。

（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 2008 年度までの 8 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 611 名の平均年齢は 65.3 歳（30-96 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 2,3,4,7,8-PeCDF 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。

2001 年から 2008 年までの 8 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 611 名は全認定患者（1912 名）の約 32%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 44%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。加えて 2009 年 10 月より油症ダイオキシン研究診療センターで油症検診とは別にこれまでに血液中ダイオキシン類濃度の測定を行ったことのない油症認定患者の検診を開始した。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。

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 2008 年に新たに 51 名の患者が認定されている。

本分析法を用いて、2001 年から 2008 年までの 8 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 1606 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 611 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 140pg/g lipid であり、男女とも高年齢の方が 2,3,4,7,8-PeCDF 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（%）	0.29	0.30	0.32	0.32	0.30	0.31	0.30	0.30	0.32	0.30	0.31	0.30	0.35	0.31	0.02	0.29	0.35	4.9%
2,3,7,8-TCDD	1.7	1.5	1.4	ND	1.5	2.0	1.7	1.4	1.3	1.5	1.5	1.8	1.4	1.6	0.2	1.3	2.0	13.3%
1,2,3,7,8-PeCDD	6.6	6.7	6.4	7.4	6.4	5.6	5.8	6.3	7.1	6.9	6.6	6.1	7.2	6.5	0.5	5.6	7.4	8.3%
1,2,3,4,7,8-HxCDD	5.3	5.8	6.0	5.9	6.1	6.4	6.1	7.1	6.7	6.6	7.0	7.3	9.5	6.6	1.1	5.3	9.5	15.9%
1,2,3,6,7,8-HxCDD	42.7	47.6	46.4	41.7	45.6	45.2	47.1	46.3	49.4	51.6	52.5	51.9	55.0	47.9	3.9	41.7	55.0	8.2%
1,2,3,7,8,9-HxCDD	8.7	9.9	8.8	9.2	8.4	7.5	9.5	10.4	8.1	10.0	11.9	11.8	15.0	9.9	2.0	7.5	15.0	20.4%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	119.6	135.9	112.6	119.0	133.7	114.6	157.2	161.6	152.8	166.1	154.1	190.8	226.7	149.6	32.9	112.6	226.7	22.0%
OCDD	1120.5	1309.2	926.2	1175.5	1459.4	1316.7	1088.1	1239.3	1228.3	1188.4	1284.1	1521.8	1404.7	1250.9	160.3	926.2	1521.8	12.8%
2,3,7,8-TCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	1.2	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	0.0	1.2	1.3	3.6%
1,2,3,7,8-PeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	ND	ND	1.3	ND	ND	ND	1.2	0.1	1.2	1.3	7.1%
2,3,4,7,8-PeCDF	4.9	4.8	5.1	5.0	4.3	4.3	5.8	5.4	5.5	5.7	5.0	5.5	4.5	5.1	0.5	4.3	5.8	9.9%
1,2,3,4,7,8-HxCDF	5.7	6.4	6.7	5.7	6.4	4.8	6.7	5.8	5.9	6.4	7.4	6.9	6.4	6.3	0.7	4.8	7.4	10.8%
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.2	6.7	5.7	6.1	5.7	5.7	6.4	5.6	6.0	6.2	7.7	6.2	5.5	6.1	0.6	5.5	7.7	9.7%
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	12.5	16.0	14.2	12.9	14.2	12.5	12.9	12.6	11.3	13.6	ND	13.1	13.7	13.3	1.2	11.3	16.0	9.0%
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	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	ND	ND	ND	-	ND	ND	-
344'5-TCB(#81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	-
33'4'4'-TCB(#77)	37.4	37.1	41.4	35.9	39.6	36.2	41.7	39.0	39.1	38.2	40.1	34.2	34.6	38.0	2.4	34.2	41.7	6.3%
33'44'5-PenCB(#126)	21.7	22.9	21.0	21.5	22.2	20.4	22.7	22.8	21.8	21.3	ND	19.4	21.0	21.6	1.0	19.4	22.9	4.8%
33'44'55'-HxCB(169)	17.0	18.3	18.5	17.6	16.5	18.1	19.5	17.1	18.3	19.5	16.9	18.4	17.6	18.0	1.0	16.5	19.5	5.4%
Total PCDD	1305.1	1516.6	1107.8	1360.7	1661.2	1497.9	1315.4	1472.4	1453.6	1431.0	1517.8	1791.5	1719.5	1473.1	183.3	1107.8	1791.5	12.4%
Total PCDF	35.4	39.9	37.7	35.8	36.7	33.2	39.3	36.1	34.7	38.7	41.2	37.8	36.2	37.1	2.2	33.2	41.2	6.0%
Total Non-ortho PCBs	81.1	83.3	85.9	80.0	83.3	79.7	89.0	83.8	84.2	84.0	84.0	77.0	78.2	82.6	3.3	77.0	89.0	4.0%
Total	1421.6	1639.8	1231.4	1476.5	1781.1	1610.8	1443.7	1592.3	1572.5	1553.8	1643.0	1906.3	1833.8	1592.8	181.3	1231.4	1906.3	11.4%
◆【WHO-98】◆																		
T PCDDs-98TEQ	15.3	16.0	15.1	16.4	15.4	14.8	15.4	15.8	16.5	17.0	16.9	17.0	18.9	16.2	1.1	14.8	18.9	6.8%
T PCDFs-98TEQ	4.1	4.1	4.2	4.1	3.8	3.6	4.7	4.3	4.3	4.6	4.6	4.5	3.9	4.2	0.3	3.6	4.7	7.9%
T Non-ortho PCBs-98TEQ	2.3	2.5	2.3	2.3	2.4	2.2	2.5	2.5	2.4	2.3	2.4	2.1	2.3	2.3	0.1	2.1	2.5	4.2%
Total 98TEQ	21.7	22.6	21.6	22.9	21.6	20.6	22.6	22.6	23.2	23.9	23.9	23.6	25.0	22.8	1.2	20.6	25.0	5.3%
◆【WHO-05】◆																		
T PCDDs-05TEQ	15.6	16.2	15.3	16.6	15.7	15.0	15.6	16.1	16.7	17.3	17.2	17.3	19.2	16.4	1.1	15.0	19.2	6.8%
T PCDFs-05TEQ	3.1	3.2	3.2	3.1	2.9	2.7	3.6	3.2	3.2	3.4	3.5	3.4	3.0	3.2	0.2	2.7	3.6	7.6%
T Non-ortho PCBs-05TEQ	2.7	2.8	2.7	2.7	2.7	2.6	2.9	2.8	2.7	2.7	2.7	2.5	2.6	2.7	0.1	2.5	2.9	3.7%
Total-05TEQ	21.3	22.3	21.1	22.4	21.3	20.4	22.0	22.1	22.7	23.4	23.5	23.2	24.8	22.3	1.2	20.4	24.8	5.3%

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　油症検診血液中のPCDDs, PCDFs 及びノンオルソコプラナーPCB濃度測定結果（2008年）

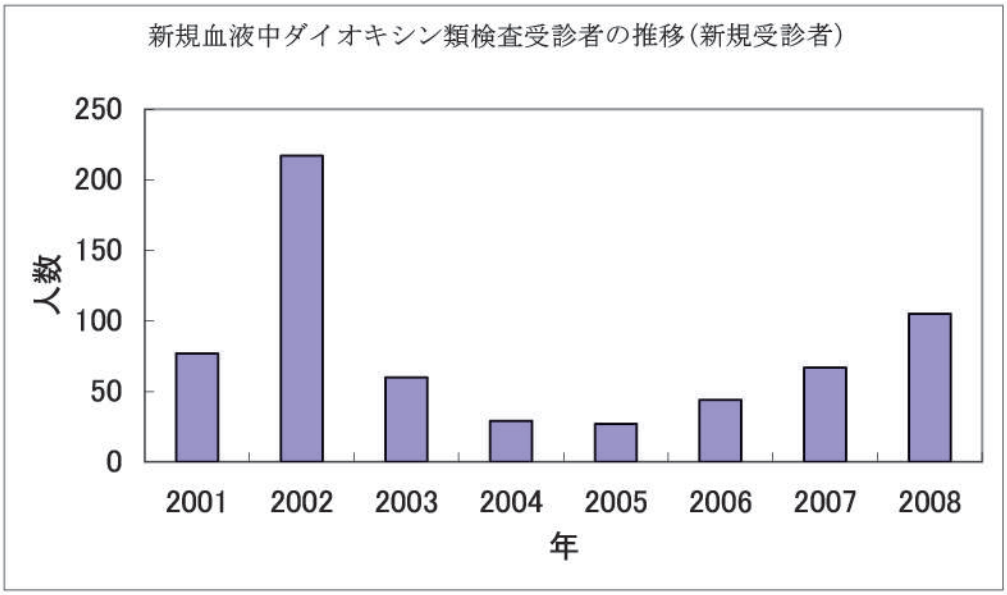
	Concentration (pg/g lipid)											
	油症認定患者(N=105)				未認定者(N=174)				一般人(N=126, 2004年)			
Congeners	Mean	SD	Min.	Max.	Mean	SD	Min.	Max.	Mean	SD	Min.	Max.
2,3,7,8-TCDD	1.3	0.8	ND	4.5	1.3	1.0	ND	5.9	1.9	0.8	0.5	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	8.8	5.0	2.3	26.7	7.2	4.7	ND	29.5	9.0	3.4	3.2	19.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.8	1.7	ND	9.8	2.6	1.8	ND	10.3	3.6	1.9	1.0	13.4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	35.7	27.1	7.7	162.1	21.8	16.3	ND	99.4	27.7	11.0	7.3	70.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.7	3.7	ND	31.1	4.0	3.1	ND	13.5	4.5	2.8	1.0	16.4
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	61.4	37.8	15.8	225.7	56.6	43.6	12.0	311.5	78.5	55.4	17.6	470.5
OCDD	649.9	417.2	186.9	2735.9	698.3	498.9	118.8	3350.9	1216.6	938.3	181.2	7613.9
Total PCDD	764.7	465.8	251.3	3075.7	791.7	551.3	136.6	3647.9	1341.7	1003.4	214.4	8170.8
2,3,7,8-TCDF	2.5	5.3	ND	48.4	0.8	0.6	ND	4.2	1.0	0.7	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	1.6	3.0	ND	27.0	0.7	0.6	ND	4.9	0.7	0.5	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	111.7	172.4	3.4	903.4	18.0	22.5	ND	263.1	17.5	7.7	6.0	63.4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	27.0	47.7	ND	255.9	3.8	4.1	ND	40.3	5.0	2.7	ND	19.8
1,2,3,6,7,8-HxCDF	12.1	14.6	ND	79.7	4.3	3.3	ND	18.9	5.7	2.6	ND	15.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.4	1.2	ND	8.0	1.2	0.6	ND	5.2	1.2	0.8	ND	5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	5.4	27.1	ND	278.1	2.1	2.3	ND	16.5	2.2	2.1	ND	14.2
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.3	ND	3.7	ND				ND			
OCDF	3.3	13.2	ND	137.1	ND				2.1	1.4	ND	17.8
Total PCDF	167.0	234.8	12.4	1253.5	34.8	29.7	ND	332.5	37.3	14.1	15.0	85.8
3,4,4',5-TCB(81)	6.0	4.3	ND	29.1	5.2	1.1	ND	12.4	5.6	2.3	ND	24.0
3,3',4,4'-TCB(77)	12.6	31.4	ND	293.4	6.3	3.2	ND	22.3	8.4	4.8	ND	31.2
3,3',4,4',5-PeCB(126)	88.5	90.7	11.0	534.2	97.8	99.6	ND	664.5	112.5	80.5	16.8	518.8
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	151.3	118.7	24.3	635.3	83.6	74.7	ND	416.2	63.9	27.0	16.4	191.5
Total Non-ortho PCBs	258.4	201.8	45.4	1115.0	192.9	165.6	ND	958.9	190	106	59	744
Total	1190.1	685.7	367.6	4016.5	1019.4	666.0	167.0	4348.7	1569	1045	293	8452
◆【WHO-98】◆												
PCDDs-TEQ	15.1	8.4	4.3	46.0	12.0	7.4	1.8	44.9	15.3	5.7	5.0	34.5
PCDFs-TEQ	60.4	92.1	2.2	485.9	10.2	11.9	0.7	137.9	10.2	4.3	3.5	33.5
Non-ortho PCBs-TEQ	10.4	9.9	1.3	57.9	10.6	10.5	0.6	69.1	11.9	8.2	2.0	53.8
Total TEQ	85.9	100.6	8.8	545.5	32.7	24.7	3.1	164.8	37.4	15.9	12.3	99.7
Lipid (%)	0.32	0.1	0.2	0.5	0.35	0.1	0.3	0.5	0.33	0.1	0.2	0.5
Age (years)	57.1	13.0	36	90	56.0	86	3	18.2	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　油症認定患者の性別、年代別血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の分布

	全体(n=611)						女性(n=311)						男性(n=300)					
	人数	Mean	Med	SD	Min	Max	人数	Mean	Med	SD	Min	Max	人数	Mean	Med	SD	Min	Max
39歳以下	19	14	11	11.9	3.0	53	7	22	14	15.9	11	53	12	8.5	8.3	3.9	3.0	14
40歳代	88	22	16	23.2	2.9	150	38	26	16	30.7	2.9	150	50	19	16	14.8	3.8	85
50歳代	98	100	47	154.5	3.4	900	49	160	97	194.8	6.1	900	49	40	28	50.1	3.4	280
60歳代	129	150	60	210.7	5.5	1400	72	220	150	250.9	10	1400	57	61	34	80.9	5.5	510
70歳代	176	200	110	223.9	6.5	1800	91	280	240	263.4	9.2	1800	85	120	69	130.7	6.5	560
80歳以上	101	180	71	247.6	7.6	1200	54	270	120	306.3	16	1200	47	83	46	76.4	7.6	290
合計	611	140	50	204.3	2.9	1800	311	210	100	252.7	2.9	1800	300	68	32	93.9	3.0	560

(pg/g lipid)



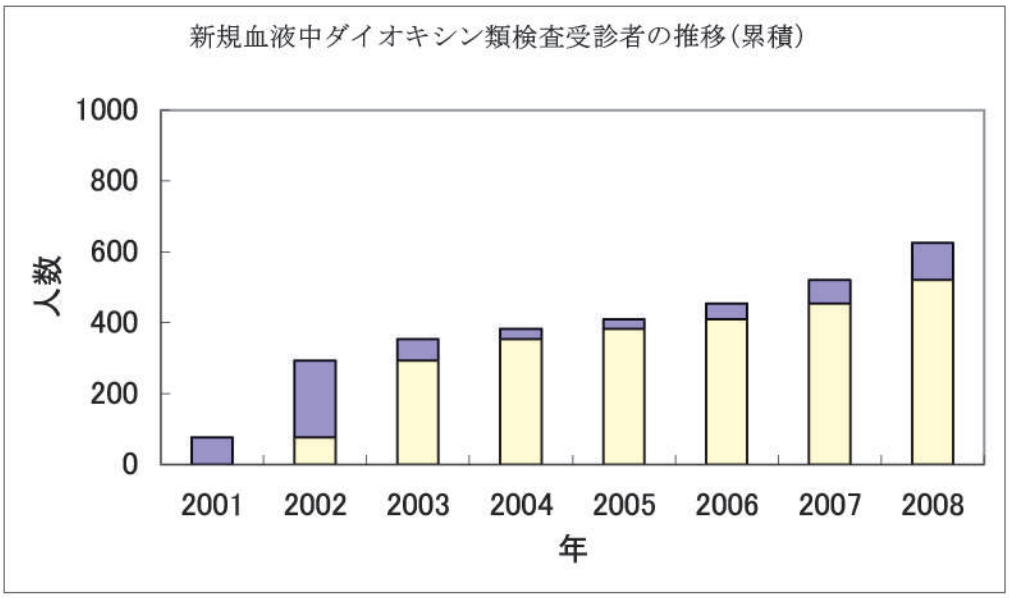


図１　新規血液中ダイオキシン類検査受診者数の推移
(2001－2008年)

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
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　専門研究員
安武大輔　福岡県保健環境研究所　計測技術課　主任技師
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　油症追跡調査で血液中 PCB 濃度の測定を行っているが、分析データの信頼性を確保するため、国内の 5 分析機関に依頼し同一試料を用いたクロスチェックを実施した。その結果、Total PCB 濃度をはじめ主要同族体及び異性体濃度は各分析機関ともよく一致していた。従って、今回クロスチェックに参加した分析機関の血液中 PCB 濃度の分析法の精度は充分確保されていると判断した。

A. 研究目的

「血中 PCB 濃度及び性状の異常」は油症診断基準の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)]。

PCB 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[2)]。すなわち、PCB#118、PCB#156 および PCB#153 の 3 つの PCB を分離定量することで、PCB 同族体パターン解析をより厳密に行うことができる。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[3)]。

PCB やダイオキシン類を対象とする化学分析の精度を維持するには定期的なクロスチェックが欠かせないが、生体試料を対象としたクロスチェックの機会はほとんど無いのが現状であった。そこで国内の 5 分析機関に依頼し同一試料を用いたクロスチェックを実施した。

B. 研究方法

４名のボランティアから採取したプール血液を国内の 5 分析機関（A～E）に配布し PCB 類の分析を依頼した。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 20ml ずつ 5 検体の分析を依頼した。

各分析機関の PCB 分析法の概要を表 1 に示した。PCB 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の後、GPC による精製を用いた分析法（Method 4）を用い、国内の 5 分析機関はそれぞれ各分析機関で通常行っている分析法を用い分析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は PCB の分析方法の精度管理を目的としたもので、個人情報等は扱っていない。ボランティアから採血した血液はプールし分析しているので個人を特定されるデータは存在しない。

C. 結果及び考察

表 2 に配布した血液試料中 PCB 濃度の分析機関ごとの測定結果を示した。また、図 1 に分析機関ごとの Total PCB 濃度の平均値と最大値、最小値を示した。全分析機関の Total PCB 濃度の平均値は 815.4pg/血液 1g、変動係数（CV）は 5.8% であり、各分析機関の分析結果は良く一致した。次に、Total PCB 濃度の全データ（ 6 機関×5 検体＝30 ）を用いて Z-スコア（ 〔測定値－平均値〕／標準偏差 ）を計算したが、すべて 2 未満であり良好な結果であった。この中で福岡県保健環境研究所（F）の分析値のばらつきが最も大きいが、我々の分析法はダイオキシン - PCB 類一斉分析法であり、PCB 分析に最適化されたものではないことが考えられる。しかし、福岡県保健環境研究所の機関内の CV は 5％以内であり、 6 機関間のばらつき（CV=5.7%）より小さいことから許容範囲内であると判断した。機関内に比べ機関間の CV が大きい原因を推定するため分析法の違いを調査したが、分析法が同じ A、D 及び B、C 間のばらつきは分析法が異なる機関間のばらつきに比べ小さくはない。従って、分析法の他に各分析機関で用いている標準物質、内部標準物質等の影響が考えられた。

PCB の同族体ごとの組成は各分析機関でよく一致した（図 2）。主要な同族体濃度の変動率もほぼ 10%程度（8.8～12.5%）でありよく一致した。今回の配布試料中では HxCBs が最も主要な同族体（43%）であり、HxCBs 濃度の変動が Total PCB 濃度の変動に最も大きく影響していると推察された。また、6 機関中我々を含む 2 機関は MoCBs、DiCBs の定量を行っていないが両同族体は合計でも Total PCB 濃度の約 0.3%であり、Total PCB 濃度の測定にはほとんど影響しない。主要な異性体の順位は＃153、＃180、＃138、＃182、＃118 の順であり、これら 5 異性体で Total PCB 濃度の約 55%を占めているが、この結果も各分析機関でほぼ一致していた。異性体別濃度の高い順に 10 異性体の濃度と CV を表 3 に示した。最も濃度の高い異性体である PCB#153（21%）を始め 6 塩化異性体の濃度のばらつきが他の異性体のばらつきに比べ大きい傾向が見られた。

D. まとめ

血液中 PCB 濃度測定について分析データの信頼性を確保するため、国内の 5 分析機関とクロスチェックを行い、我々の分析法の妥当性を検証した。その結果、Total PCB 濃度をはじめ主要同族体及び異性体濃度は各分析機関ともよく一致していた。従って、今回クロスチェックに参加した分析機関の血液中 PCB 濃度の分析法の精度は充分確保されていると判断した。

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）中川礼子、芦塚由紀、堀　就英、平川博仙、飛石和大、飯田隆雄：血中 PCB パターン判定における従来法と異性体分析法の同等性について．福岡医誌　94：144-147, 2003.

3）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.

表 1 分析フローの概要

	分析フロー概要	分析機関
Method 1	溶媒抽出 → カラム精製* → GC/MS測定	A, D
Method 2	アルカリ分解 → 溶媒抽出 → カラム精製* → GC/MS測定	B, C
Method 3	溶媒抽出 → アルカリ分解 → 溶媒抽出 → カラム精製** → GC/MS測定	E
Method 4	ASE抽出 → 硫酸処理 → カラム精製*** → GPC精製 → GC/MS測定	F

＊：多層シリカゲルカラム
＊＊：フロリジルカラム
＊＊＊:硝酸銀シリカゲルカラム

表 2 各分析機関のPCBs 分析結果

	Institute											
Congener	A	B	C	D	E	F	Mean	Ratio	SD	Max	Min	CV
MoCBs	1.7	0.5	-	2.0	ND	-	1.4	0.2%	-	2.0	0.5	-
DiCBs	0.4	0.4	-	1.9	ND	-	0.9	0.1%	-	1.9	0.4	-
TrCBs	6.2	5.8	5.9	5.4	4.3	5.4	5.5	0.7%	0.68	6.2	4.3	12.5%
TeCBs	40	36	33	29	38	37	35.6	4.4%	4.23	40.4	28.6	11.9%
PeCBs	106	90	83	81	91	93	90.7	11.1%	8.79	106.0	81.0	9.7%
HxCBs	316	423	351	330	366	330	352.6	43.2%	38.63	422.7	316.0	11.0%
HpCBs	284	256	246	250	276	263	262.5	32.2%	15.01	284.0	245.6	5.7%
OcCBs	65	55	48	56	66	55	57.4	7.0%	6.70	66.0	48.3	11.7%
NoCBs	7.2	8.6	6.4	6.3	7.0	7.4	7.2	0.9%	0.83	8.6	6.3	11.6%
DeCBs	3.1	3.6	3.2	2.8	3.3	3.0	3.1	0.4%	0.28	3.6	2.8	8.8%
Total PCBs	830	878	777	760	854	794	815.4	100.0%	46.15	878.0	760.0	5.7%

(pg/g)

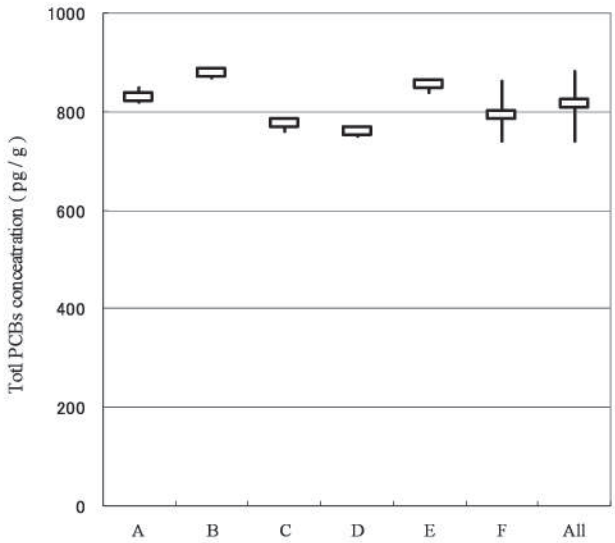


図 1 血液中Total PCBs 濃度

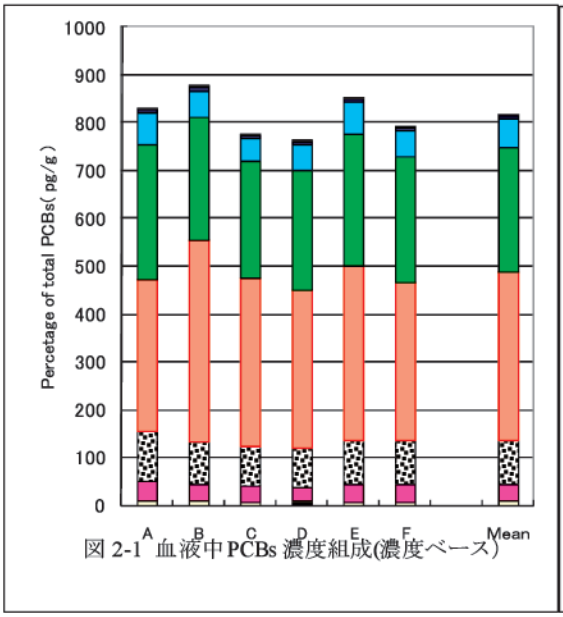


図 2-1 血液中 PCBs 濃度組成(濃度ベース)

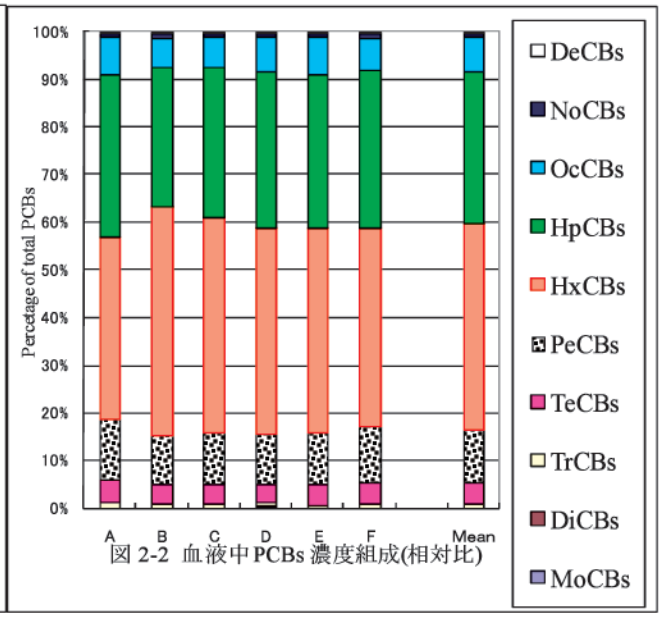


図 2-2 血液中 PCBs 濃度組成(相対比)

表 3 血液中PCB 異性体別濃度

		Mean	SD	Min	Max	Ratio	CV
1	22'44'55'-HxCB(#153)	170	21.32	146	203	21.0%	12.5%
2	22'344'55'-HpCB(#180)	120	5.45	114	126	14.7%	4.6%
3	22'344'5-HxCB(#138)	78	8.40	64	86	9.6%	10.8%
4	22'344'56-HpCB(#182)	56	3.41	50	59	6.9%	6.1%
5	23'44'5-PeCB(#118)	43	2.62	41	47	5.3%	6.1%
6	233'4'5'6-HxCB(#164)	37	6.42	30	47	4.5%	17.4%
7	22'33'44'5-HpCB(#170)	36	5.64	26	40	4.4%	15.8%
8	244'5-TeCB(#74)	27	2.17	24	30	3.4%	7.9%
9	22'34'55'-HxCB(#146)	25	3.20	21	28	3.1%	12.8%
10	22'44'5-PeCB(#99)	24	3.24	20	28	2.9%	13.6%

(pg/g)

分担研究報告書

油症についての疫学・統計学的研究
－油症検診受診者における 2,3,4,7,8-塩化ｼﾞﾍﾞﾝｿﾞﾌﾗﾝ血中濃度の時間変化－

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　ダイオキシン類レベルが継続的に測定された全国油症検診者を対象にして、油症患者で特徴的なダイオキシン類のうち、特に 2,3,4,7,8-PCDF（以下、PeCDF と略す）に注目して血中レベルの時間的変化を調べた。2001 年から 2007 年までの受診者のうち 340 人を解析の対象者とした。男女とも PeCDF レベル濃度が高いほど PeCDF が速かった。男性では年齢が高いほど、女性では体脂肪割合が高いほど PeCDF が減少し難い傾向があった。血中レベルの半減期は 6～34 年で、一部の対象者群では減少が見られなかった。解析対象者の約２／３を占める高・中 PeCDF レベルの者は、このまま自然の減少を待っても一般住民の範囲まで PeCDF レベルが低下する事を期待し難しい。

A. 研究目的

油症発生から 40 年以上経過しているが、未だに油症被害者の体内には一部のダイオキシン類異性体や PCB 類が一般住民以上のレベルで残存している(1)。油症発生時に比べて時間と共に PeCDF レベルが減少し、年齢が高くなっている。これらの変化が PeCDF レベルの変化速度に影響している可能性がある(2,3)。そこで、ダイオキシン類レベルが継続的に測定された全国油症検診者を対象にして、油症患者で特徴的なダイオキシン類のうち、特に 2,3,4,7,8-PCDF(以下、PeCDF と略す）に注目して血中レベルの時間的変化を調べた。その時間変化と関連する要因を探るとともに、その減少率および半減期を推定した。

B. 研究方法

対象者

本解析の対象者は認定患者、未認定者を問わず油症発生以後に出生した者で、同検診でこれまでに３回以上血中ダイオキシン類濃度が測定され、身長、体重、飲酒・喫煙習慣について情報が得られた者である。

統計学的方法

PeCDF レベルの時間変化の分析は、対数変換した PeCDF レベルを従属変数としたランダム効果モデル（random effects model）によった。ランダム効果モデルによる回帰直線の傾きは、各個人における PeCDF レベルの時間変化の、解析集団を代表する値（平均値）と解釈できる。

様々な要因がダイオキシン類レベルの時間変化に関連している事が指摘されている (4)。このため、本解析では、PeCDF レベル、年齢、体脂肪割合、喫煙習慣、飲酒習慣について、時間との交互作用を検定することによりその要因が PeCDF レベルの時間変化に関連しているかを調べた。時間は第一回測定時からの経過時間とした。

PeCDF レベルは各個人の測定値の幾何平均値を、年齢は第一回目の測定時の値を用い、体脂肪割合の推定は Gallagher らの方法により求めた。時間（連続変数）以外の説明変数は男女別に３分位に分けた。一度でも飲酒、または、喫煙が報告された場合に、飲酒経験、または、喫煙経験ありとし、二値変数とした。

尤度比検定（likelihood ratio test）により各説明変数の時間との交互作用を検定した。さらに、モデルを単純化して、最終的なモデルを選択した。男女別に制約付き最尤推定法（restricted likelihood method）によりパラメーターの推定、及び、統計学的検定を行った。統計解析は Stata SE version 10.1（StataCorp, Texas）を用いて行いた。

（倫理面への配慮）

データ解析は、匿名化されたデータを用いて行われた。解析用コンピュータ、及び、バックアップ用機器内のデータは暗号化され、アクセスにはパスワードを不可欠とするなど、個人情報保護に厳重な配慮がなされた。

C. 結果

PeCDF レベルは 2001 年から 2007 年までから 809 人が測定された。このうち、解析対象となったのは 340 人であった。このうち認定者は 274 人（81%）であった。

表１に血中 PeCDF レベルの測定回数、第１回測定時の平均年齢、体脂肪割合、表２に PeCDF のレベル幾何平均値を示す。平均測定回数は 4.4 回、油症発生時の年齢は男性 28.6 歳、女性 28.0 歳で、PeCDF レベルは幾何平均値、最大値共に女性は男性の２倍以上であった。

PeCDF レベルの時間変化に関連する要因に性差が見られ、男性では 平均 PeCDF レベルと年齢が時間変化と関連していた。女性では、平均 PeCDF レベルと体脂肪割合が時間変化と関連していた。このため、男性では各対象者の PeCDF レベルの幾何平均値の３分位ごとに測定第１回目の年齢の３分位で分けて、女性では各対象者の PeCDF レベルの幾何平均値の 3 分位ごとに体脂肪割合の３分位で分けて PeCDF レベルの時間変化を解析した。

男性について PeCDF レベルの時間変化の解析結果を表 3a に示す。低 PeCDF レベル群ではどの年齢群でも PeCDF レベルは有意な時間変化を示さなかった。中 PeCDF レベル群では第 1 回測定時の年齢が 58～69 歳の群のみ１年に 5.9%の統計学的に有意な減少が見られ（$P < 0.01$）、半減期は 11.5 年（95%信頼区間 6.9～33 年）であった。高 PeCDF レベル群ではいずれの年齢群でも 1 年あたり 3～11% の統計学的に有意な減少が見られ、半減期は 5.8 年から 21 年であった。年齢と共に減少率が低くなった。

女性について、PeCDF レベルの時間変化を表 3b に示す。低 PeCDF レベル群の高体脂肪割合群では１年あたり 3.0%統計学的に有意に増加すると推定された。中 PeCDF レベル群では統計学的に有意な変化は観察されなかった。高 PeCDF レベル群では PeCDF レベルに減少が見られたが、統計学的に有意に減少したのは中体脂肪割合群のみで、１年に 2.1%と僅かな減少にとどまった。体脂肪割合が増すほど PeCDF レベルの減少速度が小さい傾向が見られた。

D. 考察

一般住民の血中 PeCDF レベルは、男性で 2.2 から 22 pg/g（脂質）、女性で 2.3 から 26 pg/g（脂質）の範囲が観察されている（1）。したがって、男女とも低 PeCDF

レベルのカテゴリーは、ほぼ一般住民で観察される範囲である。このレベルでは男女ともに統計学的に有意な減少は認められなかった。女性では体脂肪割合が最も高い群では統計学的に有意な増加さえみられている。この要因の一部は環境からの摂取によるのかもしれない。

PeCDF レベル以外に、男性では年齢が、女性では体脂肪割合が、PeCDF レベルの変化率と関連している事が見出された。男性では中 PeCDF レベル群の一部で、高 PeCDF レベル群ではいずれの年齢群でも減少傾向が統計学的に有意であった。高 PeCDF レベル群では年齢が高いほど半減期が長く、一方、女性では中・高 PeCDF レベル群では体脂肪割合が高いほど半減期が長い傾向にあった。

今回の解析結果から、油症患者を含む全国油症検診受診者において近年の血中 2,3,4,7,8-PCDF レベルの減少傾向は小さい事が分かった。特に女性では男性に比べさらに僅かな減少にとどまっていた。男女ともに油症検診受診者の特性によっては減少傾向が認められない場合もあった。減少が見られた対象者群でも年に数パーセントという小さな値が推定され、半減期は大部分で 10 年以上と推定された。彼らの平均年齢は現在既に 60 歳以上である。従って、解析対象者の約２／３を占める高・中 PeCDF レベルの者は、一般住民の範囲まで PeCDF レベルが低下する事を期待し難しいであろう。

E. 結論

血中 PeCDF レベルの減少は非常に緩やかで、時間が油症の問題を解決しない事が示された。油症研究班で進行中の血中 PeCDF レベル低下を目指す療法の臨床研究や油症の症状を緩和する薬剤を探索する臨床研究は、今後も重要性が増すものと思われる。

F. 研究発表

徳永章二. 2010. 「全国油症検診受診者における 2,3,4,7,8-塩化ジベンゾフラン (PCDF) レベルの時間変化」. 古江増隆ら編著. 油症研究Ⅱ－治療と研究の最前線－ p. 79-88.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

(1) Tokunaga S, Iida T, Furue M, on behalf of the Study Group for Yusho (Japan). The concepts of the new criteria for Yusho poisoning. J Derm Sci 1:S95-104, 2005.

(2) Masuda Y, Schecter A, Päpke O. Concentrations of PCBs, PCDFs and PCDDs in the blood of Yusho patients and their toxic equivalent contribution. Chemosphere. 37:1773-1780, 1998.

(3) Masuda Y on behalf of the Study Group for Yusho. Behavior and toxic effects of PCBs and PCDFs in Yusho patients for 35 years. J Derm Sci 1:S511-520, 2005.,

(4) Milbrath MO, Wenger Y, Chang CW, Emond C, Garabrant D, Gillespie BW, Jolliet O. Apparent half-lives of dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls as a function of age, body fat, smoking status, and breast-feeding. Environ Health Perspect 117:417-425, 2009

表１．測定回数と対象者の背景（その１）

	男性（n = 150）	女性（n = 190）
	人数（%）	人数（%）
測定回数		
3	38（25）	58（31）
4	37（25）	42（22）
5	55（37）	53（28）
6	20（13）	36（19）
7	0（0）	1（1）

表２．対象者の背景（その２）

	男性（n = 150）		女性（n = 190）	
	平均値（ＳＤ）	最小-最大値	平均値（ＳＤ）	最小-最大値
第１回測定時の年齢	63.3（12.0）	[35 - 86]	62.9（11.6）	[33 - 88]
油症発生時（1968 年）の年齢	28.6（12.0）	[1 - 51]	28.0（11.7）	[0 - 53]
体脂肪割合（%）	21.5（3.6）	[12.0 - 30.5]	32.3（4.6）	[20.5 - 43.6]
BMI（kg/m^2）	23.2（2.6）	[17.9 - 31.6]	22.8（3.1）	[16.7 - 33.7]
	幾何平均値（25-75%tile）	最小-最大値	幾何平均値（25-75%tile）	最小-最大値
第１回測定時の 2,3,4,7,8-PCDF レベル（pg/g 脂肪）	35.6（16.3 - 118）	[4.5 - 789]	93.9（18.7 - 317）	[2.9 - 1771]

表３a．ランダム効果モデルにより推定した血中 2,3,4,7,8-PCDF レベルの時間変化と半減期(男性)

PeCDF レベルの幾何平均値 (pg/g 脂肪)*	人数	測定１回目の年齢	変化 (% / 年)**	P	半減期 (年) **
4-19.5	23	35-57	-2.86 (-6.70, 1.15)	0.16	23.9 (10.0, -60.6)
	17	58-69	-1.18 (-4.73, 2.51)	0.53	58.6 (14.3, -28.0)
	11	70-86	0.41 (-2.92, 3.85)	0.81	-170.0 (23.4, -18.3)
20-64	17	35-57	0.19 (-2.00, 2.43)	0.87	-362.6 (34.3, -28.8)
	15	58-69	**-5.87 (-9.50, -2.09)**	**<0.01**	**11.5 (6.9, 32.8)**
	18	70-86	-0.17 (-2.42, 2.14)	0.89	417.1 (28.3, -32.7)
66-638	6	35-57	**-11.31 (-19.36, -2.46)**	**0.01**	**5.8 (3.2, 27.8)**
	19	58-69	**-4.13 (-5.72, -2.52)**	**<0.001**	**16.4 (11.8, 27.2)**
	24	70-86	**-3.31 (-5.19, -1.38)**	**<0.001**	**20.6 (13.0, 49.7)**

表３b．ランダム効果モデルにより推定した血中 2,3,4,7,8-PCDF レベルの時間変化と半減期(女性)

PeCDF レベルの幾何平均値 (pg/g 脂肪)*	人数	体脂肪%	変化 (% / 年)**	P	半減期 (年) **
3-23	19	20.5-30.1	-0.94 (-3.44, 1.63)	0.47	73.7 (19.8, -42.9)
	27	30.2-34.8	2.94 (-0.74, 6.75)	0.12	-23.9 (93.2, -10.6)
	16	34.9-43.6	**3.04 (0.25, 5.90)**	**0.03**	**-23.2 (-275.3, -12.1)**
24-221	25	20.5-30.1	-1.50 (-3.08, 0.11)	0.07	46.0 (22.2, -611.4)
	20	30.2-34.8	-0.64 (-2.71, 1.48)	0.55	108.4 (25.2, -47.2)
	20	34.9-43.6	1.02 (-1.19, 3.27)	0.37	-68.6 (57.9, -21.5)
241-1775	17	20.5-30.1	-2.53 (-5.27, 0.30)	0.08	27.1 (12.8, -234.3)
	20	30.2-34.8	**-2.05 (-3.51, -0.56)**	**<0.01**	**33.5 (19.4, 123.1)**
	26	34.9-43.6	-0.84 (-2.88, 1.24)	0.42	81.7 (23.7, -56.5)

* 1回目の測定値を用いると平均への回帰の問題が起こるため、各個人の幾何平均値を用いた。 ** ( ) 内は 95%信頼区間。半減期が負の場合、その絶対値は２倍になるまでの期間を示す。

分担研究報告書

油症患者の血中ダイオキシン類の半減期の関係に関する研究

研究分担者　赤羽　学　　奈良県立医科大学　健康政策医学講座　講師
研究協力者　松本　伸哉　東京大学医学部附属病院企画情報運営部　客員研究員
今村　知明　奈良県立医科大学　健康政策医学講座　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
神奈川芳行　東京大学医学部附属病院企画情報運営部

研究要旨

油症検診で希望する患者に対して、ダイオキシン類の血中濃度が測定され始めてから、8年が経過している。本研究は、油症患者の測定結果からダイオキシン類の半減期を求めることと、さらに、化合物間の半減期の関係について比較することを目的とした。

油症患者の各ダイオキシン類濃度に対して、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、線形回帰分析を実施した。この線形回帰分析で得られた1次の係数は、半減期の逆数である。2004年時点の推定濃度と半減期の逆数に対して、関係を確認した。

今回調査したダイオキシン類のうち、2,3,4,7,8-PeCDFと強い相関を示す化合物が存在した。これらの化合物のうち、2化合物が、推定濃度対数の相関係数よりも半減期逆数のほうが大きな値を示した。この2化合物のうち、3,3,4,4,5,5-HxCBは、ライスオイル中の濃度比は50倍以上の差があったが、現在はほぼ同程度の濃度となっている。2,3,4,7,8-PeCDFが高値の患者の場合には、低値の患者に比べて、3,3,4,4,5,5-HxCBの濃度が高い。油症患者特有に3,3,4,4,5,5-HxCBを供給する機構が存在する可能性あると考えられる。

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。油症検診におけるダイオキシン類の測定開始から6年が経過し、患者の測定値を用いた各患者の半減期の推定が可能になった。昨年度の研究では、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の半減期を推定した[1]。本年度はダイオキシン類の半減期を推定することを目的とした。

B．研究方法

B．1．対象データ

2001年から2008年までの油症定期検診において、ダイオキシン類の血中濃度を4回以上測定された患者267名を対象とした。

対象患者の内、2004年の2,3,4,7,8-PeCDF推定濃度が50 pg/g lipid以上の患者126名、50 pg/g未満の患者141名及び全体267名に対して、

2,3,4,7,8-PeCDF と、以下に示すダイオキシン類間で濃度対数と半減期逆数の関係を調査した。

2,3,7,8-TCDD
1,2,3,7,8-PeCDD
1,2,3,6,7,8-HxCDD
1,2,3,6,7,8-HxCDF
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
3,3,4,4,5-PeCB(126)
3,3,4,4-TCB(77)
3,4,4,5-TCB(81)
3,3,4,4,5,5-HxCB(169)

B．２．想定モデル

血液脂質中のダイオキシン類濃度に対して 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、線形回帰分析を行った。

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

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．１．2,3,4,7,8-PeCDF と 2,3,7,8-TCDD の濃度及び半減期逆数の関係

図　1　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 2,3,7,8-TCDD の濃度と半減期逆数を示している。2,3,4,7,8-PeCDF と 2,3,7,8-TCDD の濃度及び半減期逆数の間に関係はみられない。PeCDF 濃度が低い群においては、濃度が比例するグループが存在した。

C．２．2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,7,8-PeCDD の濃度及び半減期逆数の関係

図　2　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 1,2,3,7,8-PeCDD の濃度と半減期逆数を示している。濃度は強い相関がみられた。特に、高濃度では、2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,7,8-PeCDD の濃度及び半減期逆数の間に関係がみられた。

C．３．2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDD の濃度及び半減期逆数の関係

図　3　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 1,2,3,6,7,8-HxCDD の濃度と半減期逆数を示している。半減期逆数と濃度は強い相関がみられた。半減期逆数の相関係数が高く、強い関係がみられた。

C．４．2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDF の濃度及び半減期逆数の関係

図　4　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 1,2,3,6,7,8-HxCDF の濃度と半減期逆数を示している。半減期逆数と濃度は強い相関がみられた。濃度の相関係数が高く、強い関係がみられた。

C．５．2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF の濃度及び半減期逆数の関係

図　5　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF の濃度と半減期逆数を示している。濃度の半減期逆数に相関はみられなかった。

C．６．3,3,4,4,5-PeCB（126）の濃度及び半減期逆数の関係

図　6　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 3,3,4,4,5-PeCB の濃度と半減期逆数を示している。PeCDF 濃度 50 未満の半減期濃度において、強い相関がみられた。

C．７．3,3,4,4-TCB（77）の濃度及び半減期逆数の関係

図　7　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 3,3,4,4-TCDB の濃度と半減期逆数を示している。濃度と半減期逆数双方において、相関がみられなかった。

C．８．3,4,4,5-TCB（81）の濃度及び半減期逆数の関係

図８は2,3,4,7,8-PeCDF と3,4,4,5-TCB の濃度と半減期逆数を示している。多くの対象者が測定限界以下となっており、濃度と半減期逆数を求めることができなかった。

C．９．3,3,4,4,5,5-HxCB（169）の濃度及び半減期逆数の関係

図　9　は　2,3,4,7,8-PeCDF　と 3,3,4,4,5,5-HxCB の濃度と半減期逆数を示している。濃度、半減期逆数において相関がみられた。PeCDF 濃度 50 以上の患者では、濃度よりも半減期逆数が強い相関がみられた。

C．１０．異性体と PeCDF との半減期逆数と濃度対数の相関係数

表 1 は、各化合物と 2,3,4,7,8-PeCDF の間の濃度と半減期逆数の相関係数を示している。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50pg/g lipid 以上の患者は、自然暴露の影響が少なく、油症特有の状況が存在していると考えられる。50 pg/g lipid 以上の患者では　、　1,2,3,6,7,8-HxCDD　と 3,3,4,4,5,5-HxCB(169)に対して、濃度よりも、半減期逆数の相関係数が高かった。

D．考察

半減期は濃度の変化であり、半減期と濃度の関係が存在する。二つの化合物の間で、半減期と濃度で相関係数が高い場合には、化合物の間で何らかの関係がある可能性があるものと推察される。濃度と半減期逆数で関係があるため、相関係数を有するほうが原因であると考えられる。

今回分析を実施した化合物の内、半減期逆数と濃度の相関係数を比較した場合、1,2,3,6,7,8-HxCDD　と　3,3,4,4,5-HxCB（169）の 2 化合物が濃度の相関係数よりも半減期逆数の相関係数が高い値を示している。半減期が原因であり、濃度が結果である可能性が考えられる。また、半減期逆数の散布図をみると、単に比例しているだけではなく、同じ値を示しているとみえる。

次の状況が仮定できると考えられる。

（１）半減期逆数が同じである
（２）初期の暴露量は大きな差がある。
（３）現在の濃度は大きな差がない。
（４）現在の濃度が油症患者特有で濃度として高い

表 2 に、ライスオイル中の PCDD、PCDF、PCB 異性体の濃度を示す。1,2,3,6,7,8-HxCDD と 3,3,4,4,5,5-HxCB のライスオイル中の濃度は、2,3,4,7,8-PeCDF の濃度との間では、33 分の 1、50 分の 1 の開きが存在した。これに対し、現在の濃度の比は、1,2,3,6,7,8-HxCDD は、2,3,4,7,8-PeCDF に対して、5 分の 1 程度の濃度であった。3,3,4,4,5,5-HxCB の濃度は、2,3,4,7,8-PeCDF の濃度に対して、1 倍前後でほぼ同程度の濃度であった。先に挙げた仮定の(3)の現在の濃度が大きな差がないに対しては、3,3,4,4,5,5-HxCB のほうが強く満たしていると考えられる。初期の暴露量が異なっている化合物に対して、半減期が同一であれば、それらの間の存在量の比は維持される。つまり、現在の存在量の比も同一になる。しかし、その存在量の比は、同じレベルであり、減少割合が異なっていた時期が存在し、

その後に減少割合が一致するようになったと考えられる。初期に減少割合が異なり、その後に、半減期を一致させるような機構が存在したと考えられる。半減期を一致させる機構として、油症患者特有の3,3,4,4,5,5-HxCBの供給機構が考えられる。つまり、代謝上関係がある可能性がある。

他の可能性として、ある２つの化合物間の半減期がほぼ一致している場合に、それらが非常に似た排泄メカニズムを共用している可能性が考えられる。本研究では、2,3,4,7,8-PeCDFの半減期逆数に対して、1,2,3,6,7,8-HxCDDの半減期逆数の相関係数が0.80と高かった。初期の暴露量の比が、33：1（PeCDF：HxCDD）であったものが現在は5:1程度となっているが、これは、2,3,4,7,8-PeCDFの体内濃度が極端に高値である期間は、両化合物が拮抗し 2,3,4,7,8-PeCDF が優先的に排泄メカニズムを利用して減少した結果、初期の暴露量の比が保たれず、時間経過とともに現在の濃度比になった可能性もあるかもしれない。

これと同様に、3,3,4,4,5,5-HxCB と 2,3,4,7,8-PeCDF の間の半減期逆数の係数も0.69と高く、排泄メカニズムを共有している可能性は考えられるが、先に述べたように3,3,4,4,5,5-HxCBの現在の濃度は、2,3,4,7,8-PeCDFとほぼ同一のレベルであることから、前述の可能性、つまり、3,3,4,4,5,5-HxCB に関しては、2,3,4,7,8-PeCDF との間に代謝上の関係がある可能性の方が高いと考えられる。

図10に示すような代謝関係が存在する場合で、律速段階と次の段階で代謝速度に大きな差がない場合には、律速段階が次の段階の供給源となり、律速段階の半減期により規定され、図11のように、律速段階前後の物質は同様の半減期で減少する

2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4,5,5-HxCBの関係は、同一の代謝経路上に存在する可能性がある。

E. 参考文献

1)Shinya Matsumoto, Manabu Akahane, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Takesumi Yoshimura, Chikage Mitoma, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura: Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. Chemosphere Volume 77, Issue 5, October 2009, Pages 658-662

2)増田義人：油症研究３０年の歩み第４章 油症を起こした原因化学物質

F. 研究発表

1.論文発表

1)Shinya Matsumoto , Manabu Akahane, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Takesumi Yoshimura, Chikage Mitomad, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Masutaka Furue and Tomoaki Imamura. Variation in Half-life of Penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) Blood Level among Yusho Patients. Chemosphere. 2009;77(5):658-662.

2)Tomoaki Imamura , Shinya Matsumoto , Yoshiyuki Kanagawa , Bunichi Tajima , Shiro Matsuya , Hiroshi Uchi , Satoko Shibata , Masutaka Furue , Manabu Akahane and Soichi Koike. Cutaneous symptoms such as acneform eruption and pigmentation are closely associated with blood levels of 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran

s in Yusho patients, using data mining analysis. BMC Research Notes[Internet]. 2009;25:2(27).
3)赤羽学、松本伸哉、神奈川芳行、梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、小池創一、古江増隆、今村知明. 油症患者における PeCDF 半減期の推定および二つの再吸収機構を考慮した排泄シミュレーション Estimated Half-Life of Penta-Chlorodibenzofuran (PeCDF) and Simulation of PeCDF Excretion. 福岡医学雑誌. 2009;100(5):172-178.
4)神奈川芳行、松本伸哉、赤羽学、小池創一、吉村健清、内博史、古江増隆、今村知明. 2001 年度～2004 年度に血中 PeCDF 値を測定したカネミ油症認定患者の血中検査等の集計結果とその関係に関する研究. 福岡医学雑誌. 2009;100(5):166-171.
5)Manabu Akahane, Shinya Matsumoto, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Chikage Mitoma, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Takesumi Yoshimura, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura. ESTIMATION OF PENTA-CHLORODIBENZOFURAN (PECDF) HALF LIFE IN YUSHO PATIENTS. DIOXIN 2009 Organohalogen Compounds. 2009;71:800-804.

2.学会発表

1)M Akahane, S Matsumoto, Y Kanagawa, S Koike, C Mitoma, S Shibata, H Uchi, T Yoshimura, M Furue, T Imamura. ESTIMATION OF PENTA-CHLORODIBENZOFURAN (PECDF) HALF LIFE IN YUSHO PATIENTS. DIOXIN 2009 29th International Symposium. 2009 年 08 月 23 日～28 日 (Beijing,China)
2)赤羽学、松本伸哉、神奈川芳行、小池創一、吉村健清、今村知明. 油症検診結果にもとづく血中 PeCDF の半減期の推定. 第 68 回日本公衆衛生学会総会. 2009 年 10 月 21 日～23 日 (奈良県文化会館／奈良県新公会堂)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
   なし
2. 実用新案
   なし
3. その他
   なし

表１　異性体と PeCDF との半減期逆数と濃度対数の相関係数

	全体		50以上		50未満	
	半減期逆数	濃度対数	半減期逆数	濃度対数	半減期逆数	濃度対数
2,3,7,8-TCDD	0.323724	0.333197	0.166016	0.209353	0.491317	0.577686
1,2,3,7,8-PeCDD	0.609921	0.740159	0.484223	0.749113	0.683515	0.683347
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.801094	0.775253	0.822897	0.781942	0.814205	0.477380
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.707825	0.928768	0.751917	0.921392	0.687944	0.775899
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.354433	0.193030	0.325643	0.246103	0.362951	0.127495
3,3,4,4,5-PeCB(126)	0.645941	0.249780	0.529414	−0.111237	0.738860	0.630155
3,3,4,4-TCB(77)	0.131169	−0.011579	0.185365	−0.005612	0.124518	0.222403
3,4,4,5-TCB(81)	0.174939	0.013509	0.068200	−0.108215	0.222308	0.158030
3,3,4,4,5,5-HxCB(169)	0.687296	0.846915	0.792251	0.644195	0.619631	0.780047

表２　ライスオイル中の PCDD,PCDF,PCB 異性体の濃度(出典：油症研究３０年の歩み 51 ページ)

	濃度(ppb)	TEQ(ppb)
1,2,3,6,7,8-HxCDD	40	4
2,3,4,7,8-PeCDF	1350	675
3,3,4,4,5,5-HxCB	27	0.27

図１　2,3,4,7,8-PeCDF と 2,3,7,8-TCDD の濃度及び半減期逆数の散布図

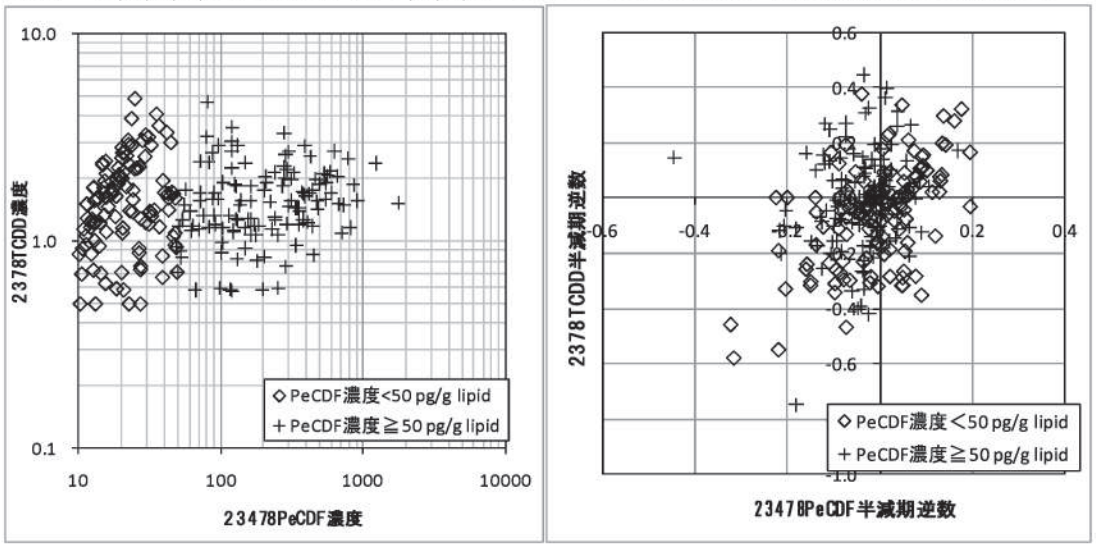


図２　2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,7,8-PeCDD の濃度及び半減期逆数の散布図

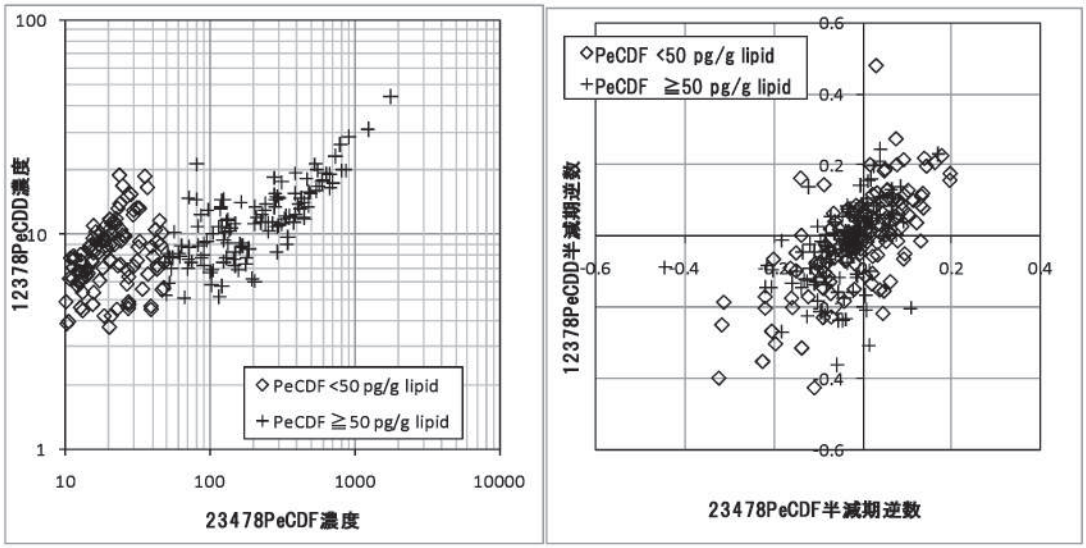


図３　2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDD の濃度及び半減期逆数の散布図

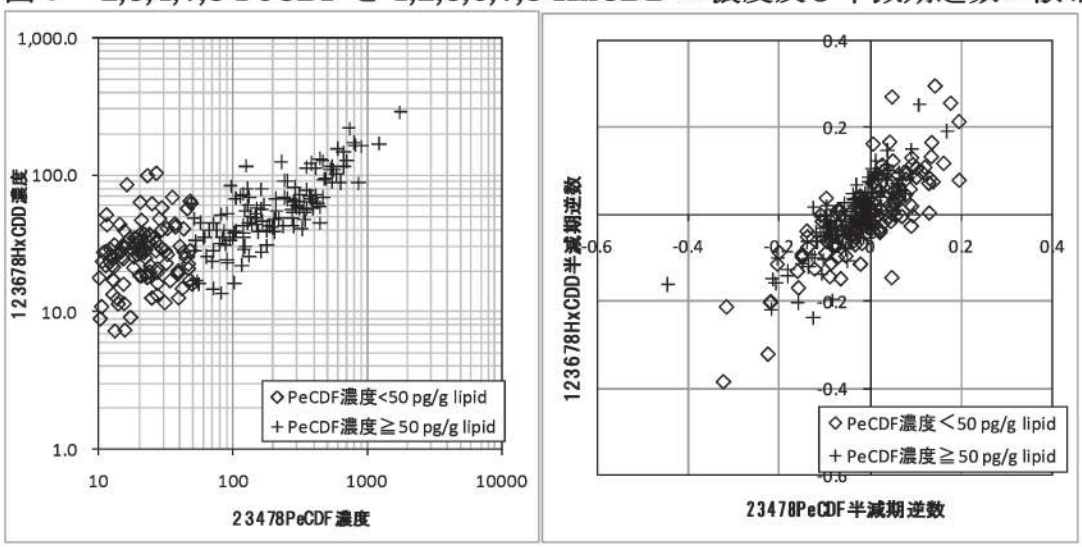


図４　2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDF の濃度及び半減期逆数の散布図

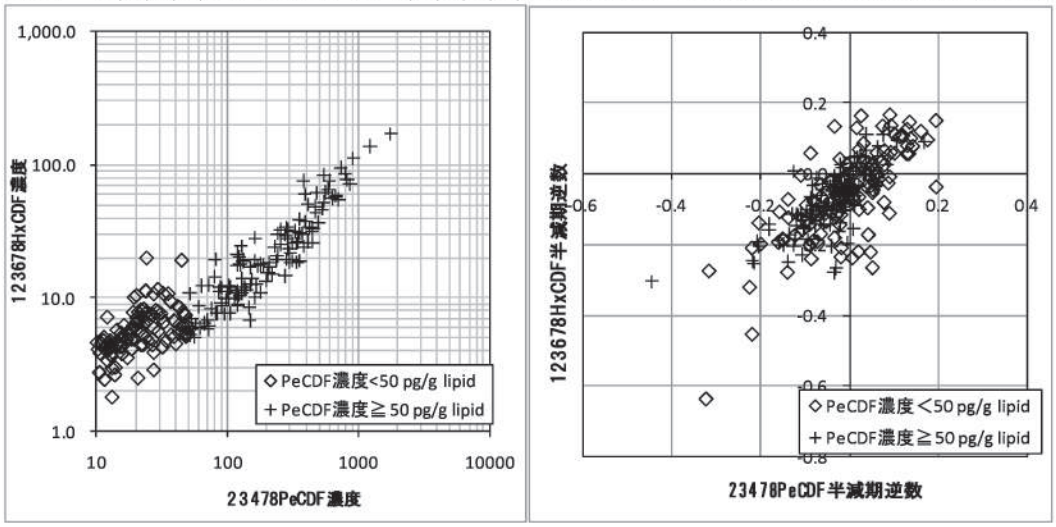


図５　2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF の濃度及び半減期逆数の散布図

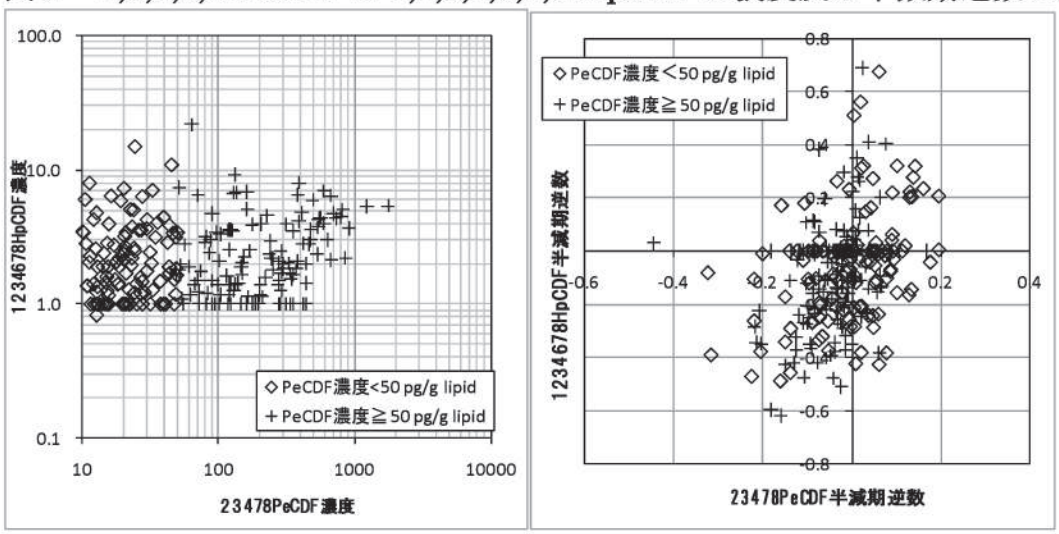


図６　2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4,5-PeCB(126)の濃度及び半減期逆数の散布図

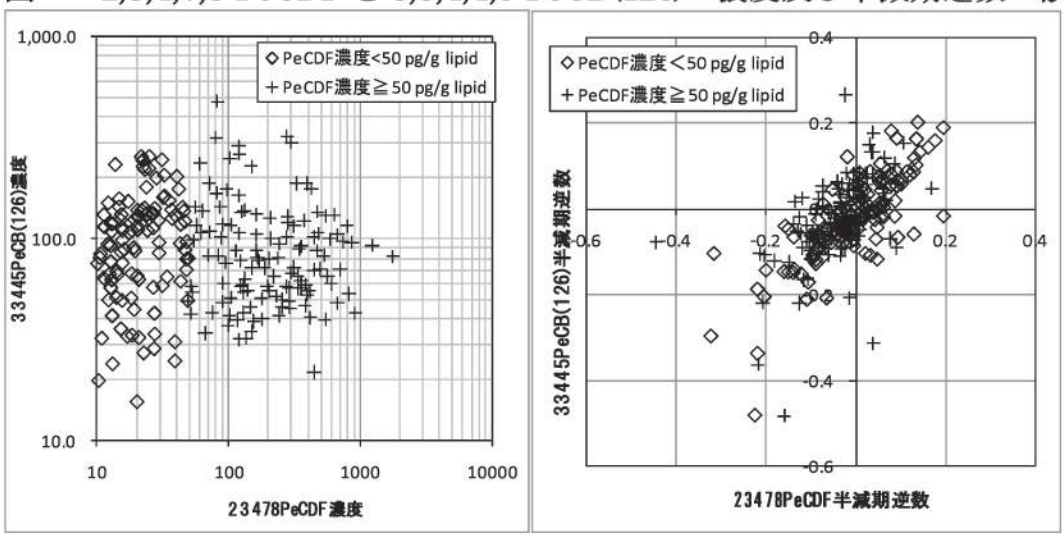


図７　2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4-TCB(77)の濃度及び半減期逆数の散布図

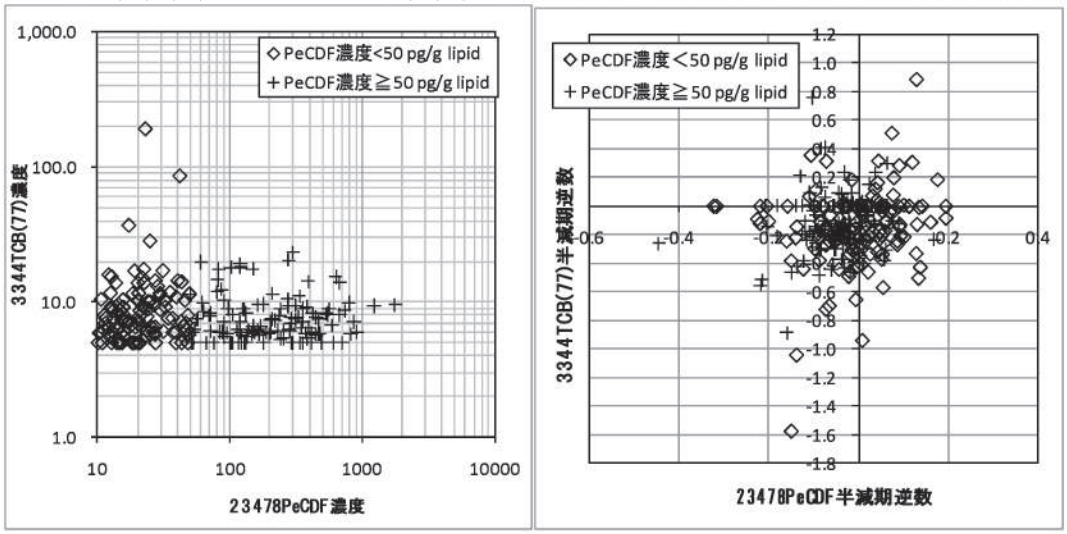


図８　2,3,4,7,8-PeCDF と 3,4,4,5-TCB(81)の濃度及び半減期逆数の散布図

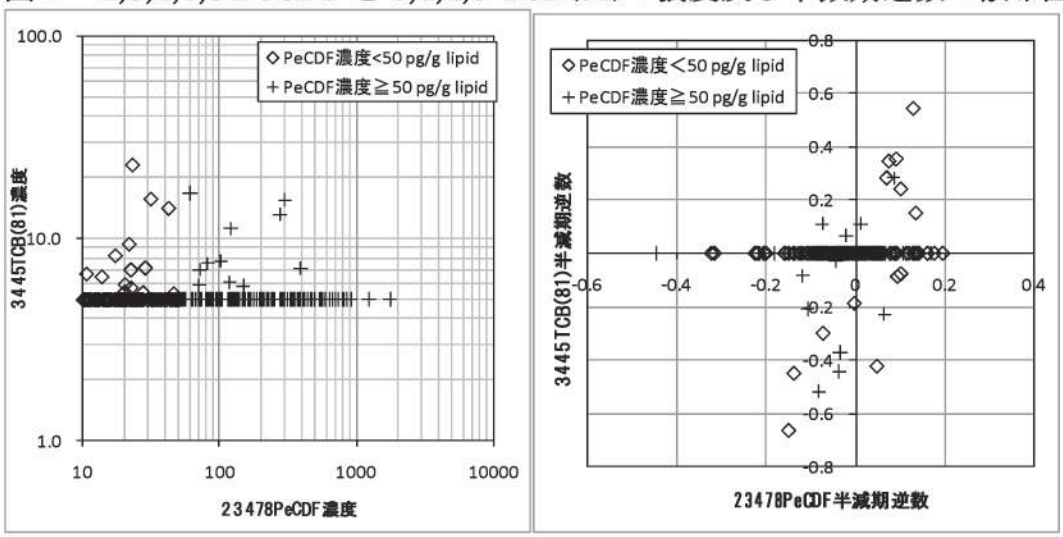


図９　2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4,5,5-HxCB(169)の濃度及び半減期逆数の散布図

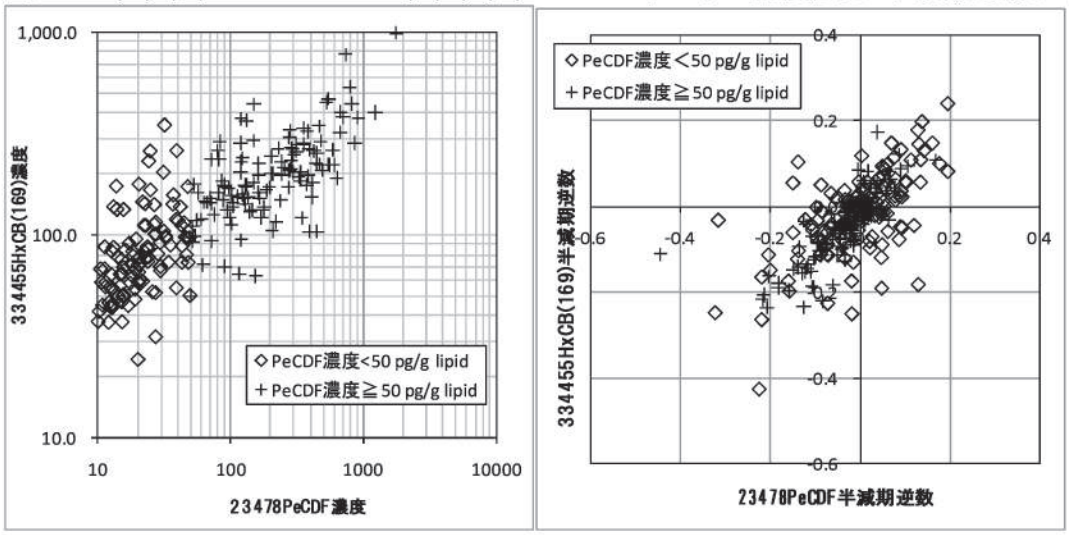
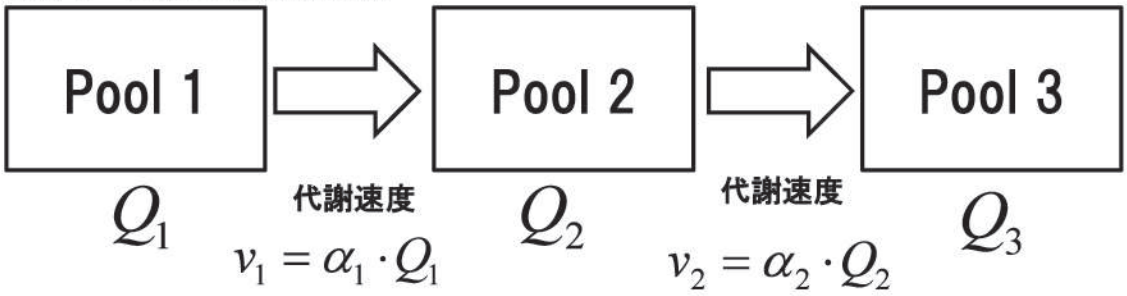
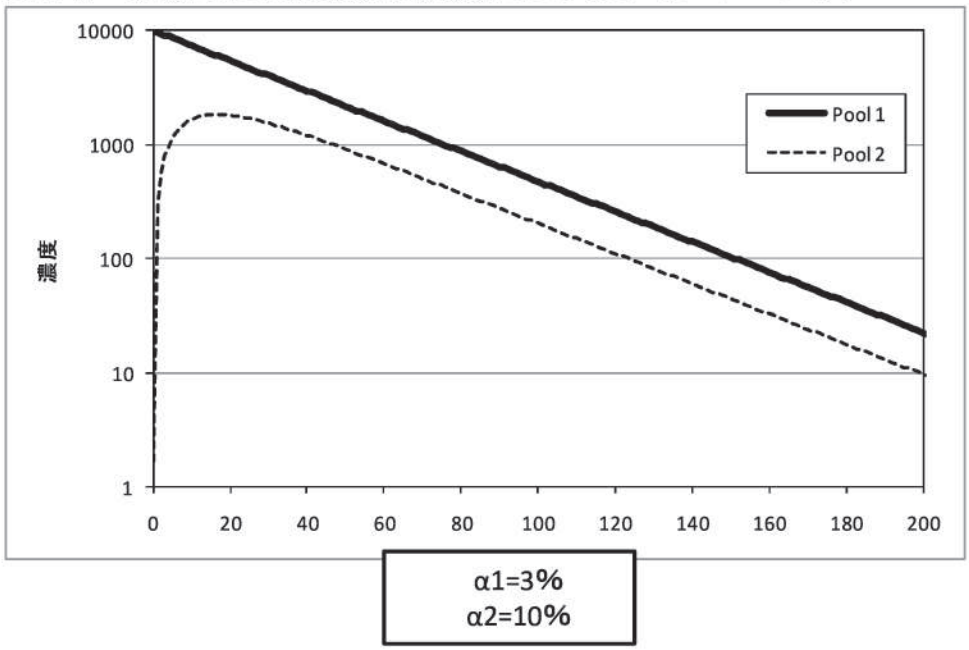


図１０　連続した代謝関係



$$\frac{dQ_1}{dt} = -\alpha_1 \cdot Q_1 \qquad \frac{dQ_2}{dt} = \alpha_1 \cdot Q_1 - \alpha_2 \cdot Q_2 \qquad \frac{dQ_3}{dt} = \alpha_2 \cdot Q_2$$

図１１　連続した代謝関係を経路におけるシミュレーション



分担研究報告書

油症患者の血中 2,3,4,7,8-PeCDF の半減期と症状の関係に関する研究

研究分担者　赤羽　学　　奈良県立医科大学　健康政策医学講座　講師
研究協力者　松本　伸哉　東京大学医学部附属病院企画情報運営部　客員研究員
今村　知明　奈良県立医科大学　健康政策医学講座　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
神奈川芳行　東京大学医学部附属病院企画情報運営部

研究要旨

油症検診で希望する患者に対して、ダイオキシン類の血中濃度が測定され始めてから、8 年が経過している。本研究は、油症患者の測定結果から PeCDF の半減期と症状の関係について明らかにすることを目的とする。

油症患者の各症状から半減期を求める数式を仮定し、各患者の PeCDF 濃度を 2 を底とする対数に変換した推定値を求める式を組み立て、患者ごと、測定年次ごとの方程式を作成し、連立方程式を作成し、方程式を解くことにより、半減期の推定式を求めた。

今回調査した症状・検査項目のうち関係が強いと判断されたのは、「骨密度 BMD」「赤血球」「すぎ Class」であった。また、関係が強いとされてきた、性・年齢を用いて、半減期を推定する式は、これまでの報告に近い値を示していた。PeCDF の排泄に関しては、物理的な時間経過だけでなく、各患者の状況（たとえば、代謝能力の低下等）に依存する可能性もあると考えられる。

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。油症検診におけるダイオキシン類の測定開始から 6 年が経過し、患者の測定値を用いた各患者の半減期の推定が可能になった。昨年度の研究[1]では、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 の半減期を推定した。本年度は、半減期と症状の関係を明らかにすることを目的とした。

B．研究方法

B．1．対象データ

2001 年から 2008 年までの油症定期検診において、ダイオキシン類の血中濃度を 4 回以上測定された患者 267 名のうち、2004 年の 2,3,4,7,8-PeCDF 推定濃度が 50 pg/g lipid 以上の患者で、骨密度測定（2007 年から実施）とアレルギー検査（2008 年から実施）を行った患者を対象とした。

対象検診項目としては、一般検診項目、皮膚科、眼科、血液検査項目を対象とした。

B．2．想定モデル

対象患者の症状から、半減期の逆数を

導く方程式を想定する。

$$a_i = \alpha_0 + \alpha_1 x_{i1} + \cdots + \alpha_n x_{in}$$

i:患者番号
x_{ij}:患者i症状jに対する症状の強さ
α_j:半減期を推定する係数

各患者の半減期逆数を用いて、各患者の血液脂質中の PeCDF 濃度の 2 を底とする対数を推定する式を組み立てる。

$$\log_2 y_{it} = a_i \cdot t + b_i$$

t:測定年度

半減期係数を求める係数と、各患者の濃度の半減期を未知数とする過剰な連立方程式を組み立てた。

$$\begin{pmatrix} \log_2 y_{11} \\ \vdots \\ \log_2 y_{1l} \\ \log_2 y_{21} \\ \vdots \\ \log_2 y_{ml} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 1\cdot x_{11} & \cdots & 1\cdot x_{1n} & 1 & & \\ \vdots & \vdots & & \vdots & \vdots & & \\ 1 & 1\cdot x_{11} & \cdots & 1\cdot x_{1n} & 1 & & \\ 1 & 1\cdot x_{21} & \cdots & 1\cdot x_{2n} & & 1 & \\ \vdots & \vdots & & \vdots & & & \ddots \\ 1 & 1\cdot x_{m1} & \cdots & 1\cdot x_{mn} & & & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \alpha_0 \\ \alpha_1 \\ \vdots \\ \alpha_n \\ b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ b_m \end{pmatrix}$$

統計ツール R の lm 機能を用いて解くことにより、症状から半減期逆数を求める方程式を作成した。症状の項目のすべてに対して係数を求め、その統計値を比較し、もっともフィットしたと考えられる症状を確定する。順次、症状を増やしていくことで、半減期逆数を求める方程式を作成した。

C．結果

C．1．PeCDF 半減期逆数の推定式への単一症状での関連性

表 1 は、2,3,4,7,8-PeCDF 半減期逆数を単一症状で表現した際の適合度を示している。もっとも強い症状／検査値は、骨密度 BMD であった。内科では、性別、飲酒有無の関係が強かった。皮膚科では黒色面皰の関係が強かった。眼科では、瞼板腺ﾁｰｽﾞ様分泌物圧出の関係が強かった。血液検査項目では、赤血球、好塩基球、スギ Class、骨密度 BMD、骨密度 YAM の関係が強かった。

C．2．PeCDF 半減期逆数の推定式

表 2 は、ステップワイズ法により、変数を選択した結果の推定式を示す。ステップワイズ法により、似ている症状を排除し、なるべく似ていない症状とで、半減期逆数と関係が強い症状が選択される。

推定式で、骨密度が高い患者は半減期が長い。スギ Class が高い患者は半減期が長い。赤血球が多い患者は半減期が長いという結果になった。

C．3．性と年齢による PeCDF 半減期逆数の推定式

既存の研究では、性と年齢が重要な要素であるとしており、二つの要因から半減期を推定する式を作成した。推定式を表 3 に示す。

性別･年齢ともにP値が5%以下であり、推定式の一つとして成り立っている。推定式を用いて、その半減期逆数と半減期を推定したグラフを図１と図２に示す。男性より女性の方が半減期が長い傾向があり、年齢が高いと半減期が長い傾向が存在する。

D．考察

昨年度行った PeCDF の半減期に関する研究により、その半減期がかなり長く、中にはほとんど減少しない患者群が存在することが判明した。特に、100pg/g lipid ～500pg/g lipid 血中 PeCDF 濃度の患者群では、その半減期の分布に 2 つのピークが存在した。単純に年齢のように連続す

る値で、半減期を推定するには限界が存在する可能性が示された。

今回の結果は、性別と年齢による半減期の推定よりも、骨密度 BMD を含めた推定式の方がより適切に PeCDF の半減期が推定されることを示している。しかし、骨密度と半減期の間に直接的な因果関係があることを示しているとは言えない。PeCDF の排泄に関しては、物理的な時間経過だけでなく、各患者の状況（たとえば加齢による代謝能力の低下等）に依存しており、それらの関係が結果として骨密度と半減期の関係として表れている可能性が考えられる。

E. 参考文献

1)Shinya Matsumoto, Manabu Akahane, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Takesumi Yoshimura, Chikage Mitoma, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura: Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. Chemosphere Volume 77, Issue 5, October 2009, Pages 658-662

F. 研究発表

1.論文発表

1)Shinya Matsumoto , Manabu Akahane, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Takesumi Yoshimura, Chikage Mitomad, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Masutaka Furue and Tomoaki Imamura. Variation in Half-life of Penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) Blood Level among Yusho Patients. Chemosphere. 2009;77(5):658-662.

2)Tomoaki Imamura , Shinya Matsumoto , Yoshiyuki Kanagawa , Bunichi Tajima , Shiro Matsuya , Hiroshi Uchi , Satoko Shibata , Masutaka Furue , Manabu Akahane and Soichi Koike. Cutaneous symptoms such as acneform eruption and pigmentation are closely associated with blood levels of 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofurans in Yusho patients, using data mining analysis. BMC Research Notes[Internet]. 2009;25:2(27).

3)赤羽学、松本伸哉、神奈川芳行、梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、小池創一、古江増隆、今村知明. 油症患者における PeCDF 半減期の推定および二つの再吸収機構を考慮した排泄シミュレーション Estimated Half-Life of Penta-Chlorodibenzofuran (PeCDF) and Simulation of PeCDF Excretion. 福岡医学雑誌. 2009;100(5):172-178.

4)神奈川芳行、松本伸哉、赤羽学、小池創一、吉村健清、内博史、古江増隆、今村知明. 2001 年度～2004 年度に血中 PeCDF 値を測定したカネミ油症認定患者の血中検査等の集計結果とその関係に関する研究. 福岡医学雑誌. 2009;100(5):166-171.

5)Manabu Akahane, Shinya Matsumoto, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Chikage Mitoma, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Takesumi Yoshimura, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura. ESTIMATION OF PENTA-CHLORODIBENZOFURAN (PECDF) HALF LIFE IN YUSHO PATIENTS. DIOXIN 2009 Organohalogen Compounds. 2009;71:800-804.

2. 学会発表

1)M Akahane, S Matsumoto, Y Kanagawa, S Koike, C Mitoma, S Shibata, H Uchi, T Yoshimura, M Furue, T Imamura. ESTIMATION OF PENTA-CHLORODIBENZOFURAN (PECDF) HALF LIFE IN YUSHO PATIENTS. DIOXIN 2009 29th International Symposium. 2009 年 08 月 23 日 ～ 28 日 (Beijing, China)

2)赤羽学、松本伸哉、神奈川芳行、小池創一、吉村健清、今村知明. 油症検診結果にもとづく血中 PeCDF の半減期の推定. 第 68 回日本公衆衛生学会総会. 2009 年 10 月 21 日～23 日 (奈良県文化会館／奈良県新公会堂)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案

なし

3. その他

なし

表１　PeCDF 半減期逆数の推定式への単一症状での関連性

分類	項目	F 値
PeCDF	PCDF 推定値	162.1
	PCDF 推定値対数	162.0
内科	年齢	161.0
	性別	163.9
	BMI 変化	160.5
	BMI	160.2
	飲酒有無	163.4
	喫煙有無	162.0
	栄養状態	161.5
	関節痛	160.2
	全身倦怠感	161.4
	下痢	160.0
	頭痛・頭重	160.9
	咳	160.5
	痰	160.3
皮膚科	かつてのざ瘡様皮疹	160.3
	黒色面皰	162.5
	かつての色素沈着	160.9
	最近の粉りゅう傾向	160.9
眼科	眼脂過多	159.9
	瞼板腺ﾁｰｽﾞ様分泌物圧出	163.9
検査項目	白血球	159.9
	赤血球	165.8
	血小板	160.2
	好中球	160.3
	好塩基球	163.7
	スギ Class	165.0
	骨密度 BMD	168.7
	骨密度 YAM	164.0

表２　PeCDF 半減期逆数の推定式

	β 係数	標準誤差	t値	P値
定数	0.206935	0.075466	2.742	0.006479
骨密度BMD	−0.12572	0.045371	−2.771	0.005945
スギClass	−0.01813	0.006601	−2.747	0.006388
赤血球	−0.00042	0.000179	−2.359	0.018982

表３　性別と年齢による PeCDF 半減期逆数の推定式

	β係数	標準誤差	t値	P 値
定数	−0.18996	0.05533	−3.434	0.00068
年齢	0.00169	0.00079	2.139	0.03327
性別	0.04333	0.01389	3.121	0.00198

図１　性別・年齢による半減期逆数の推定結果

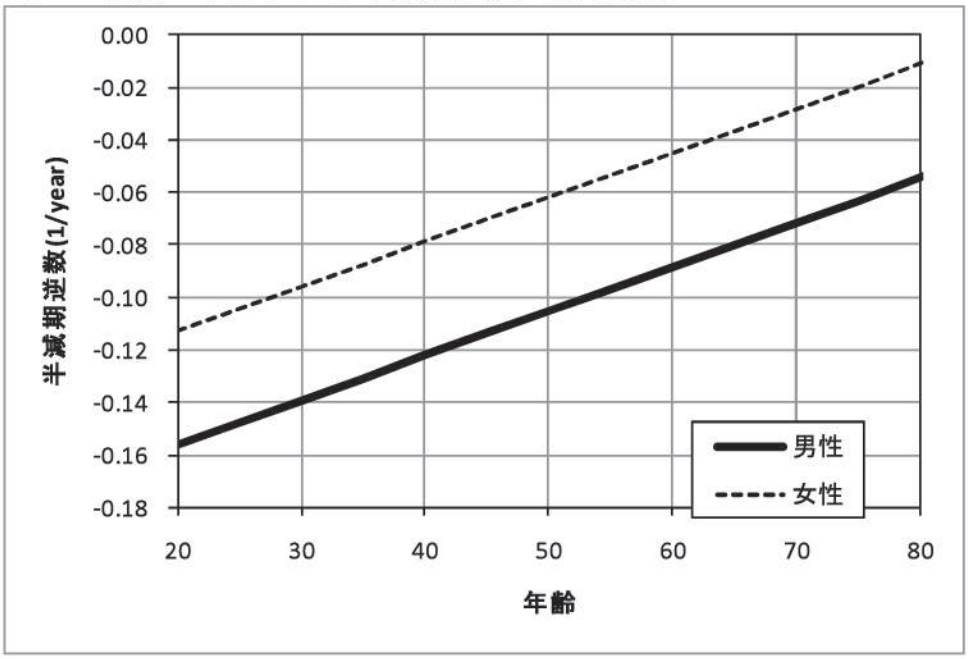
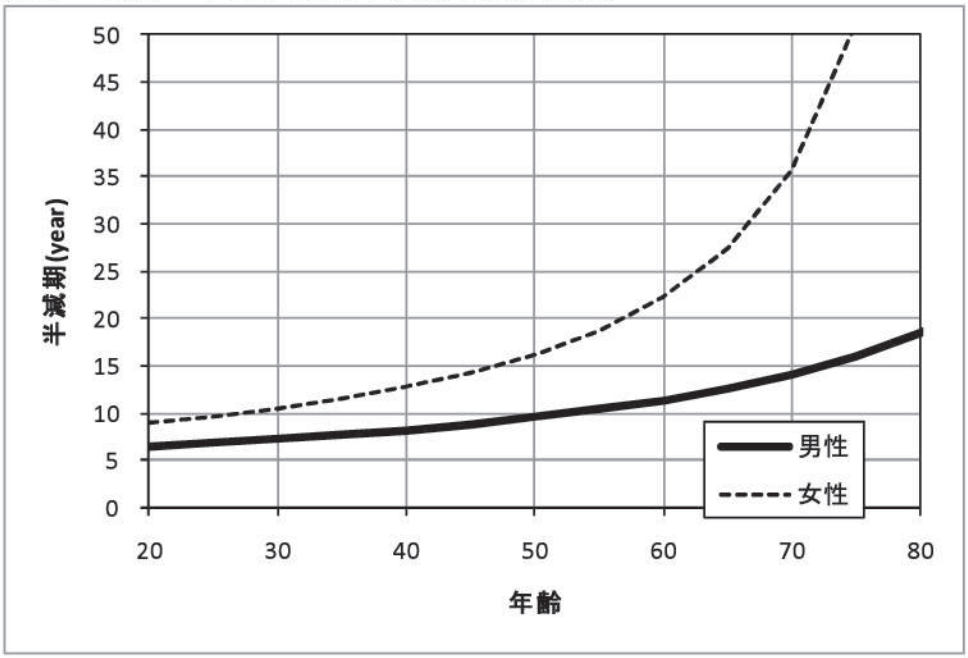


図２　性別・年齢による半減期の推定結果



分担研究報告書

油症患者におけるアトピー性皮膚炎有病率、血清 IgE および TARC 濃度に関する研究

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

研究要旨　厚生労働省の全国実態調査の一環として、生存する全油症認定患者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 1131 名におけるアトピー性皮膚炎の生涯有病率は平均 5.7%であった。一方、平成 21 年度福岡、長崎県油症検診を受診した未認定者 147 名にも同様のアンケートを実施し、アトピー性皮膚炎有病率は 13.6%であった。平成 19、20 年度検診を受診した認定者 448 名と未認定者 177 名での血清 IgE 値には有意差は認められず、また血中ダイオキシン類濃度との相関も認められなかった。さらにこれまでに福岡県油症検診を受診した認定者 133 名、未認定者 94 名での血清 TARC 値には有意差は認められず、また血中ダイオキシン類濃度との相関も認められなかった。

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。本研究の目的は、現在でも高い血中ダイオキシン類濃度を有する油症患者を対象に、アトピー性皮膚炎有病率、血清 IgE および TARC 濃度について調査し、ダイオキシン類がアレルギー性疾患発症に及ぼす影響について検討することである。

B．研究方法

平成 20 年度に生存する全油症認定患者に対して厚生労働省による健康実態調査が行われた。調査はアンケートによって施行され、アトピー性皮膚炎についてはこれまで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。回答を得られた 1131 名について解析を行った。また平成 21 年度に福岡県油症検診を受診した未認定者 63 名、長崎県油症検診を受診した未認定者 84 名にもアトピー性皮膚炎の診断歴、発症時期についてアンケート調査を行った。平成 19、20 年度に油症検診受診者の中から同意を得られた認定者 448 名、未認定患者 177 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、ランパク特異的 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。さらにこれまでに福岡県で油症検診を受診した認定者 133 名、未認定者 94 名について血清 thymus and activation-regulated chemokine (TARC)濃度を ELISA 法で測定し、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

アンケートに回答した認定者 1131 名（平均年齢 63.0 ± 14.7）のうち男性は 550 名（平均年齢 61.3 ± 14.2)、女性は 581 名(平均年齢 64.6 ± 15.1)であった。1131 名のうち 64 名（5.7%；男性 21 名、女性 43 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。60 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 50 歳未満で 14.8%と最も高く、50 代で 2.9%、60 代で 4.9%、70 代で 4.9%、80 歳以上で 2.6%と、概ね年齢と共に有病率が低下する傾向が見られた（表 1）。また特に 50 歳未満の女性で高い有病率がみられた。64 名のうち 60 名が診断時期についても回答し、油症発症以前にアトピー性皮膚炎を発症したものは 3 名のみであった。平成 21 年度福岡、長崎県油症検診を受診した未認定者に対するアンケート調査では 147 名（平均年齢 55.4±18.0）、男性 65 名（平均年齢 53.6±19.6）、女性 82 名（平均年齢 56.9±16.6）が受診し、20 名（13.6%；男性 10 名（15.4%）、女性 10 名（12.2%））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（表 2）。

血清 IgE 値を測定した認定者 448 名（平均年齢 66.9 ± 13.3）のうち男性は 227 名（平均年齢 66.2 ± 14.0）、女性は 221 名（平均年齢 67.6 ± 12.4）、未認定者 177 名（平均年齢 56.5 ± 18.8）のうち男性 74 名（平均年齢 50.8 ± 18.7）、女性 103 名（平均年齢 60.0 ± 17.8）であった。認定者と未認定者の血中ダイオキシン類濃度を表 2 に示す。認定者の血中ダイオキシン類濃度は、未認定者より有意に高値であった（e.g.；2,3,4,7,8-penta-CDF（pg/g lipid）、135.1 ± 188.1 vs 13.9 ± 9.1）。また認定者では女性の方が男性よりも有意に血中ダイオキシン類濃度が高値であった（2,3,4,7,8-penta-CDF, 199.1 ± 232.6 vs 72.6 ± 96.9）。直接汚染油を摂食していないと考えられる 1968 年以後に出生した群では、それ以前に出生した群に較べ、認定者、未認定者とも有意に血中ダイオキシン類濃度が低値であった（2,3,4,7,8-penta-CDF, 認定 139.3 ± 190.0 vs 13.6 ± 12.0; 未認定 16.5 ± 12.0 vs 5.7 ± 4.1）。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 246.4 ± 635.7 IU/ml、未認定者で 469.1 ± 1805.6 IU/ml と未認定者で高い傾向があったが有意差は認めなかった。特異的 IgE 値（IU/ml）の比較ではスギ、カンジダ、卵白で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ものの、ヤケヒョウヒダニでは未認定者の方が認定者よりも有意に高値であった（7.4 ± 21.1 vs。2.0 ± 6.9）。性別に分けた検討では、女性では非特異的、特異的 IgE とも認定者、未認定者の間に有意差を認めなかったが、男性では未認定者のヤケヒョウヒダニ特異的 IgE が認定者に較べて有意に高値であった（12.8 ± 28.4 vs 2.5 ± 8.5）。また認定者では非特異的、特異的 IgE とも男女間に有意差はなかったが、未認定者では男性のヤケヒョウヒダニ特異的 IgE が女性より有意に高値であった（12.8 ± 28.4 vs 3.6 ± 12.4）。出生時期を油症発生前後に分けた検討では、油症発生前に生まれた群では、非特異的、特異的 IgE とも認定者、未認定者の間に有意差を認めなかったが、油症発生後に生まれた群では未認定者のヤケヒョウヒダニ特異的 IgE が認定者に較べて有意に高値であった（表 4）。また検討したすべての群で血中ダイオキシン類濃度と非特異的および特異的 IgE 値の間に相関を認めなかった。認定者の非特異的、特異的 IgE 値と 2,3,4,7,8-penta-CDF の相関のみ表 5 に示す。

血清 TARC 値を測定した認定者 133 名（平均年齢 69.6 ± 13.1）、未認定者 94 名（平均年齢 60.6 ± 14.7）、認定者の血中ダイオキシン類濃度は、未認定者より有意に高値であった（2,3,4,7,8-penta-CDF, 194.4 ± 267.1 vs 12.2 ± 6.5）。血清 TARC 値の比較では認定者で 357.6 ± 502.8 pg/ml、未認定者で 408.2 ± 262.2 と有意差は認められず（表 6）、また血中ダイオキシン類濃度と血清 TARC 値との間に相関を認めなかった。認定者の血清 TARC 値と血中ダイオキシン類濃度との相関のみ表

6 に示す。

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。

今回の厚生労働省による全国調査では 1131 名の認定者が参加し 64 名（5.7%）がアトピー性皮膚炎の診断歴があると回答した。我々は以前同様のアンケート調査を行い、638 名の認定者のうち 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報告した[5]。今回の調査では前回の調査に参加しなかった 80 代以上の認定者が多く含まれている。この年代では一般にアトピー性皮膚炎有病者が非常に少ないため、前回調査に較べ生涯有病率が低くなったと考えられる。一方、未認定者では 147 名中 20 名（13.6%）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。参加人数が少ないが、認定者に較べて高率である可能性がある。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%[6]、皮膚科医による検診によるもので平均 6.9%[7]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、今回の調査ではダイオキシンによる生体の汚染とアトピー性皮膚炎発症との関連は否定的と考えられる。またアレルギー性疾患で高値を示すことが多い血清 IgE 値、およびアトピー性皮膚炎の重症度と相関する血清 TARC 値で、未認定者より認定者が有意に高値なものはなかった。しかしダイオキシン類の受容体である aryl hydrocarbon receptor が抑制性 T 細胞(Treg)、Th17 細胞の分化を制御しているという最近の論文もあり[8]、油症患者に何らかの免疫異常が存在する可能性は否定できないと考えられる。今後はさらに Th1、Th2、 Treg、 Th17 などに関連するバイオマーカーを測定し、ダイオキシン類との関連を検討する必要があると考えられる。

E．結論

油症認定者でアトピー性皮膚炎有病率が増加しているというデータは得られなかった。また血中ダイオキシン類濃度とアトピー性皮膚炎に関連するバイオマーカーとの相関も認められなかった。

F．研究発表

1．論文発表

内博史，三苫千景，古江増隆．「油症における皮膚症状」　古江増隆，赤峰昭文，佐藤伸一，山田英之，吉村健清　編，　油症研究Ⅱ，九州大学出版社，　2010，ページ 173-184

内博史，古江増隆．油症における臨床・基礎研究の成果　食品衛生研究 2009;59:33-40.

内博史．ダイオキシン類による皮膚障害　日本皮膚科学会雑誌 2009;119:2807-10.

内博史，古江増隆．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．福岡医学雑誌 2009;100:127-30.

２．学会発表

内博史．塩素痤瘡と油症　第 39 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2009 年 11 月 07 日　京都

内博史．油症の現況と治療　第 61 回日本皮膚科学会西部支部学術大会 2009 年 10 月 25 日　大分

内博史．油症患者におけるアトピー性皮膚炎有症率と血清 IgE　平成 21 年度厚生労働省全国油症治療研究班会議 2009 年 06 月 19 日　福岡

内博史．ダイオキシン類による皮膚障害　第 108 回日本皮膚科学会総会 2009 年 04 月 26 日　福岡

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) 内博史，古江増隆．福岡医誌 2009;100:127-30.
6) Muto T, et al. Br J Dermatol 2003; 148: 117-21.
7) Saeki H, et al. J Dermatol 2006; 33: 817-9.
8) Quintana FJ, et al. Nature 2008;453:65-71.

表 1　油症認定者におけるアトピー性皮膚炎生涯有病率

	全体			アトピー			有病率(%)		
	男性	女性	計	男性	女性	計	男性	女性	計
50<	136	119	255	9	22	31	6.6	18.5	12.2
50s	141	137	278	3	5	8	2.1	3.6	2.9
60s	96	88	184	5	4	9	5.2	4.5	4.9
70s	110	114	224	3	8	11	2.7	7.0	4.9
<80	67	123	190	1	4	5	1.5	3.3	2.6
計	550	581	1131	21	43	64	3.8	7.4	5.7

油症認定者のなかでアトピー性皮膚炎と診断されたことがある者とその割合を示す。

表 2　未認定者におけるアトピー性皮膚炎生涯有病率

	全体			アトピー			有病率(%)		
	男性	女性	計	男性	女性	計	男性	女性	計
40<	14	13	27	6	2	8	42.9	15.4	29.6
40-59	25	31	56	4	5	9	16	16.1	16.1
<60	26	38	64	0	3	3	0	7.9	4.7
計	65	82	147	10	10	20	15.4	12.2	13.6

未認定者のなかでアトピー性皮膚炎と診断されたことがある者とその割合を示す。

表 3　認定者と未認定者の血中ダイオキシン類濃度の比較

認定		全体 (n=448)	男性 (n=227)	女性 (n=221)	p(男性 vs 女性)	発生以前 (n=433)	発生以後 (n=15)	p(以前 vs 以後)
	23478PCDF	135.1 (188.1)	72.6 (96.9)	199.1 (232.6)	8.9E-13	139.3 (190.0)	13.6 (12.0)	2.4E-32
	123478HCDF	35.5 (65.9)	16.0 (24.3)	55.6 (86.2)	2.5E-10	36.6 (66.8)	3.8 (3.4)	8.5E-21
	123678HCDF	14.5 (19.5)	9.2 (9.5)	20.0 (24.9)	4.1E-09	14.9 (19.7)	3.4 (2.0)	7.6E-21
	334455HCB	159.7 (117.6)	144.1 (104.3)	175.7 (128.1)	0.005	163.9 (117.3)	38.8 (15.8)	8.5E-34
未認定		全体 (n=177)	男性 (n=74)	女性 (n=103)	p(男性 vs 女性)	発生以前 (n=135)	発生以後 (n=42)	p(以前 vs 以後)
	23478PCDF	13.9 (9.1)	13.1 (9.2)	14.5 (9.0)	0.3	16.5 (8.7)	5.7 (4.1)	4.3E-21
	123478HCDF	3.2 (2.7)	2.8 (2.7)	3.6 (2.7)	0.06	3.8 (2.9)	1.5 (0.9)	2.5E-13
	123678HCDF	3.7 (2.9)	3.4 (2.9)	4.0 (2.8)	0.2	4.4 (2.9)	1.7 (1.1)	1.0E-14
	334455HCB	72.4 (63.1)	84.2 (77.7)	63.9 (48.9)	0.05	87.9 (64.5)	22.5 (13.7)	1.8E-21
P(認定 vs 未認定)	23478PCDF	1.7E-35	3.0E-17	3.5E-25		1.4E-34	0.02	
	123478HCDF	1.2E-22	4.6E-14	1.3E-16		4.4E-22	0.02	
	123678HCDF	4.9E-27	1.6E-14	3.0E-18		1.8E-24	0.007	
	334455HCB	1.6E-29	4.2E-07	3.8E-25		7.3E-20	0.002	

認定者および未認定者を男性，女性，油症発生以前に出生，以後に出生の群にそれぞれ分け，血中ダイオキシン類濃度を t 検定を用いて比較した。

表 4　認定者と未認定者の血清 IgE 値の比較

認定		全体（n=448）	男性（n=227）	女性（n=221）	p(男性 vs 女性)	発生以前（n=433）	発生以後（n=15）	p(以前 vs 以後)
	RIST	246.4 (635.7)	278.0 (546.3)	214.0 (715.9)	0.29	246.9 (644.0)	233.0 (326.8)	0.88
	ダニ	2.0 (6.9)	2.5 (8.3)	1.4 (4.9)	0.10	1.9 (6.9)	4.6 (7.1)	0.16
	スギ	3.5 (11.2)	3.7 (11.8)	3.3 (10.4)	0.72	3.1 (10.6)	14.3 (19.1)	0.041
	カンジダ	0.5 (1.5)	0.6 (2.0)	0.4 (0.7)	0.18	0.5 (1.5)	0.8 (1.4)	0.43
	ランパク	0.35 (0.06)	0.34 (0.03)	0.35 (0.09)	0.20	0.35 (0.06)	0.34 (7E-09)	0.02
未認定		全体（n=177）	男性（n=74）	女性（n=103）	p(男性 vs 女性)	発生以前（n=135）	発生以後（n=42）	p(以前 vs 以後)
	RIST	469.1 (1805.6)	814.3 (2646.4)	221.1 (681.8)	0.06	388.0 (1526.1)	729.6 (2508.5)	0.41
	ダニ	7.4 (21.1)	12.8 (28.4)	3.6 (12.4)	0.01	3.4 (12.2)	20.3 (34.6)	0.003
	スギ	4.6 (12.3)	3.8 (10.5)	5.2 (13.5)	0.45	4.6 (11.7)	4.8 (14.3)	0.92
	カンジダ	0.6 (1.3)	0.8 (1.9)	0.4 (0.7)	0.12	0.5 (1.3)	0.7 (1.4)	0.64
	ランパク	0.36 (0.15)	0.36 (0.1)	0.37 (0.2)	0.57	0.35 (0.06)	0.40 (0.3)	0.26
p(認定 vs 未認定)	RIST	0.11	0.09	0.93		0.30	0.22	
	ダニ	0.001	0.003	0.10		0.17	0.008	
	スギ	0.29	0.91	0.21		0.20	0.10	
	カンジダ	0.75	0.56	0.87		0.87	0.70	
	ランパク	0.16	0.31	0.32		0.48	0.17	

認定者および未認定者を男性，女性，油症発生以前に出生，以後に出生の群にそれぞれ分け，血清 IgE 濃度を t 検定を用いて比較した。

表 5　認定者における血中ダイオキシン類濃度と血清 IgE 値の相関

23478PCDF

認定全体	RIST	ダニ	スギ	カンジダ	ランパク
重決定 R2	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
有意 F	0.48	0.02	0.05	0.79	0.33
切片	261.77	2.54	4.25	0.55	0.34
X 値	−0.11	0.00	−0.01	0.00	0.00
男性	RIST	ダニ	スギ	カンジダ	ランパク
重決定 R2	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
有意 F	0.53	0.12	0.07	0.32	0.44
切片	260.64	3.19	4.73	0.53	0.34
X 値	0.24	−0.01	−0.01	0.00	0.00
女性	RIST	ダニ	スギ	カンジダ	ランパク
重決定 R2	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
有意 F	0.57	0.08	0.14	0.43	0.58
切片	237.40	1.94	4.19	0.47	0.35
X 値	−0.12	0.00	0.00	0.00	0.00
発生前	RIST	ダニ	スギ	カンジダ	ランパク
重決定 R2	0.48	0.01	0.01	0.00	0.00
有意 F	0.00	0.03	0.10	0.87	0.36
切片	263.08	2.43	3.75	0.53	0.34
X 値	−0.12	0.00	0.00	0.00	0.00
発生後	RIST	ダニ	スギ	カンジダ	ランパク
重決定 R2	0.03	0.05	0.17	0.03	1.00
有意 F	0.51	0.43	0.12	0.57	1.00
切片	301.00	6.39	5.32	1.09	0.34
X 値	−5.01	−0.13	0.66	−0.02	0.00

認定者について男性，女性，油症発生以前に出生，以後に出生の群に分け，血清 IgE 濃度と血中ダイオキシン濃度との相関を回帰分析により検討した。

表 6　血清 TARC 値の認定者と未認定者の比較および血中ダイオキシン類濃度との相関

認定（n=133）	357.6 (502.8)
未認定（n=94）	408.2 (262.2)
P	0.3

	PCDF	123478HCDF	123678HCDF	334455HCB
重決定 R2	0.00	0.00	0.00	0.00
有意 F	0.45	0.43	0.48	0.59
切片	381.50	377.78	380.95	383.44
X 値	−0.12	−0.36	−1.14	−0.16

認定, 未認定者の血清 TARC 値を t 検定により比較した。また認定者の血清 TARC 値と血中ダイオキシン類濃度との相関を回帰分析により検討した。

分担研究報告書

油症認定患者における IL-22 の検討

研究分担者　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　准教授
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
　　佐藤伸一　　東京大学大学院医学系研究科皮膚科学　教授

研究要旨　ヘルパーT17 細胞が新規のヘルパーT 細胞サブセットのひとつとして報告され、さらにこの細胞分化にダイオキシン類の受容体として働く Aryl hydrocarbon receptor が関与していることが報告されている。そこで今回我々はヘルパーT17 細胞の産生するサイトカインである IL-22 が油症患者血清においてどういう動きを示すか、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 42 名、健常人 38 名において IL-22 はそれぞれ 29.68 ± 23.04 pg/ml、140.59 ± 120.49 pg/ml であり有意差をもって油症認定患者血清において IL-22 値の低下を認めた。

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) を含むダイオキシン類の混在している事がわかっている [1]。しかし、これらのダイオキシン類は自己代謝が進まず、また代謝経路が不明であることより治療薬の開発が遅れ、油症患者では依然として高濃度のダイオキシン類が検出されている。Aryl hydrocarbon receptor (AhR) は 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) や PCB などのダイオキシン類のレセプターとして、肺や肝臓をはじめとして幅広く発現が報告され [2]、ダイオキシン類の代謝経路を知る上で重要視されている。最近の研究により、自己免疫の制御を行う新しいヘルパーT (Th) 細胞のサブセットとして、Th17 細胞が発見され、また AhR が Th17 細胞の分化に関与していることが動物実験において報告されている [3]。そこで今回我々は、油症患者における Th17 細胞の働きを解明すべく、Th17 細胞から産生されるサイトカインである IL-22 に関し、油症認定患者血清を用いて検討を行った。

B.　研究方法

①対象 : 2005 年から 2008 年に施行された長崎県玉之浦地区油症検診受診者のうち、同意を得られかつ PCB, PCQ, PCDF の測定を行った油症認定患者 42 名および年齢をあわせた健常人 38 名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し IL-22 測定用サンプルとした。

②IL-22 の測定 ; ヒト IL-22 測定キッ

ト（Quantikine 社製）を用いて測定を行った。

③統計的処理：測定した IL-22 値を Mann-Whitney の U 検定 、Spearman の順位相関係数の検定にて検討した。

C. 研究結果

玉之浦の油症患者 42 名，および健常人 38 名の平均年齢は各々 73.6 ± 8.3 歳および 69.8 ± 9.5 歳。油症患者におけるダイオキシン濃度は PCB 3.21 ± 1.45 ppb、PCQ 0.33 ± 0.33 ppb、PCDF 183.49 ± 145.43 pg/g lipids であった。IL-22 値は油症患者 29.68 ± 23.04 pg/ml および健常人 140.59 ± 120.49 pg/ml であり、油症認定患者血清において有意な低下が認められた（図 1）。また、油症認定患者血清中の IL-22 値と PCB, PCQ, PCDF 値に関し検討を行ったが相関は認められなかった（図 2）。

D. 考察

Th17 細胞は近年発見された新しい Th 細胞サブセットの 1 つであり、IL-17、IL-22 といったサイトカインを産生することが知られている。Th17 細胞は関節リウマチなどの自己免疫疾患において病変の主因となっていることなどが報告されており、注目を集めている [4]。また、ダイオキシン類である TCDD と Th17 細胞、regulatory T （T reg）細胞に関して検討された Quintana らの報告によると、マウスを用いた動物実験においてナイーブ T 細胞の分化段階に、TCDD は Th17 細胞への分化を抑制し、T reg 細胞への分化を誘導に働くとされている [5]。

このことより、ダイオキシン類の血中濃度が高値である油症患者においては IL-22 産生が抑制されていることが予想された。実際に今回の研究において、健常人と比較し油症患者において IL-22 値が有意差をもって低下していることが確認された。しかし、PCB, PCQ, PCDF 値との相関は得られなかった。

Th 17 細胞には AhR が多く発現しており、一方、Th 1 細胞、Th 2 細胞では発現を認めず、T reg 細胞においては少数の AhR 発現が確認されている [6]。Th17 細胞に AhR の発現が多いため、ダイオキシンの毒性が強く働き、細胞死を引き起こすのではないかとも考えられている。

油症患者は現在でもダイオキシン類の血中濃度が高く、様々な症状で苦しんでおられる方が多く存在しているのが現状である。TCDD が T 細胞の分化に関係することが分かっているため、油症患者におけるサイトカインの動きを解明し、Th17 細胞に関する更なる検討が、油症患者の QOL 向上、病態解明に繋がるよう役立てていきたい。

謝辞

PCB, PCQ, PCDF のデータを提供して頂いた長崎県環境保健研究センターならびに福岡県保健環境研究所の方々にこの場をかりて御礼申し上げます。

参考文献

1. Aoki Y: Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters--what we have learned from Yusho disease. Environ Res. 86(1):2-11, 2001

2. Dolwick KM, Schmidt JV, Carver LA, Swanson HI, Bradfield CA:

Cloning and expression of a human Ah receptor cDNA. Mol Pharmacol. 44(5):911-917, 1993

3. Kimura A, Naka T, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T: Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 105(28):9721-9726, 2008

4. Kramer JM, Gaffen SL: Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. J Periodontol. 78(6):1083-1093, 2007

5. Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, Korn T, Farez MF, Bettelli E, et al.: Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. Nature. 453(7191):65-71, 2008

6. Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, Buer J, Dumoutier L, Renauld JC, et al.: The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. Nature. 453(7191):106-109, 2008

図１　油症認定患者、健常人血清における IL-22 値の比較

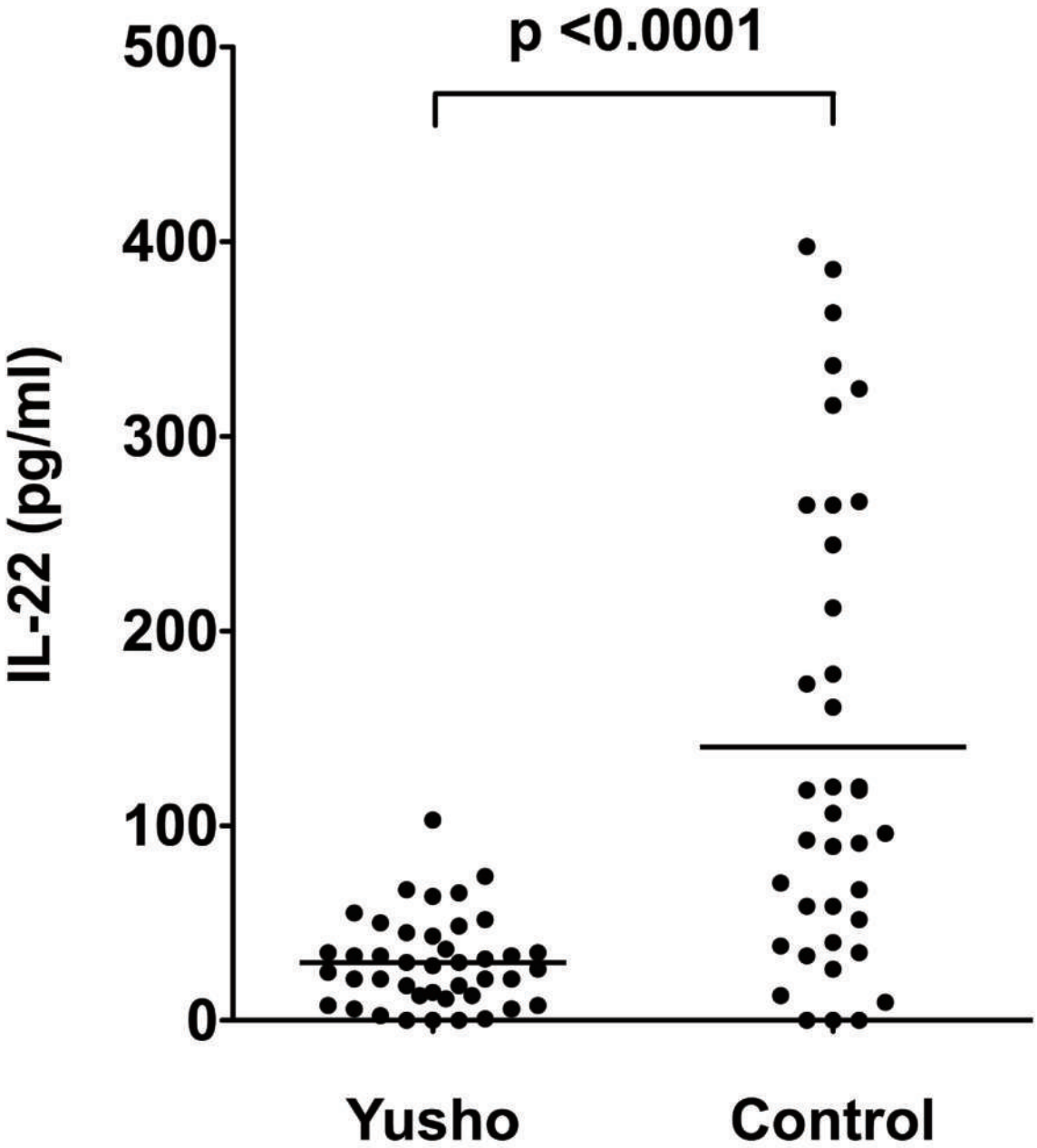
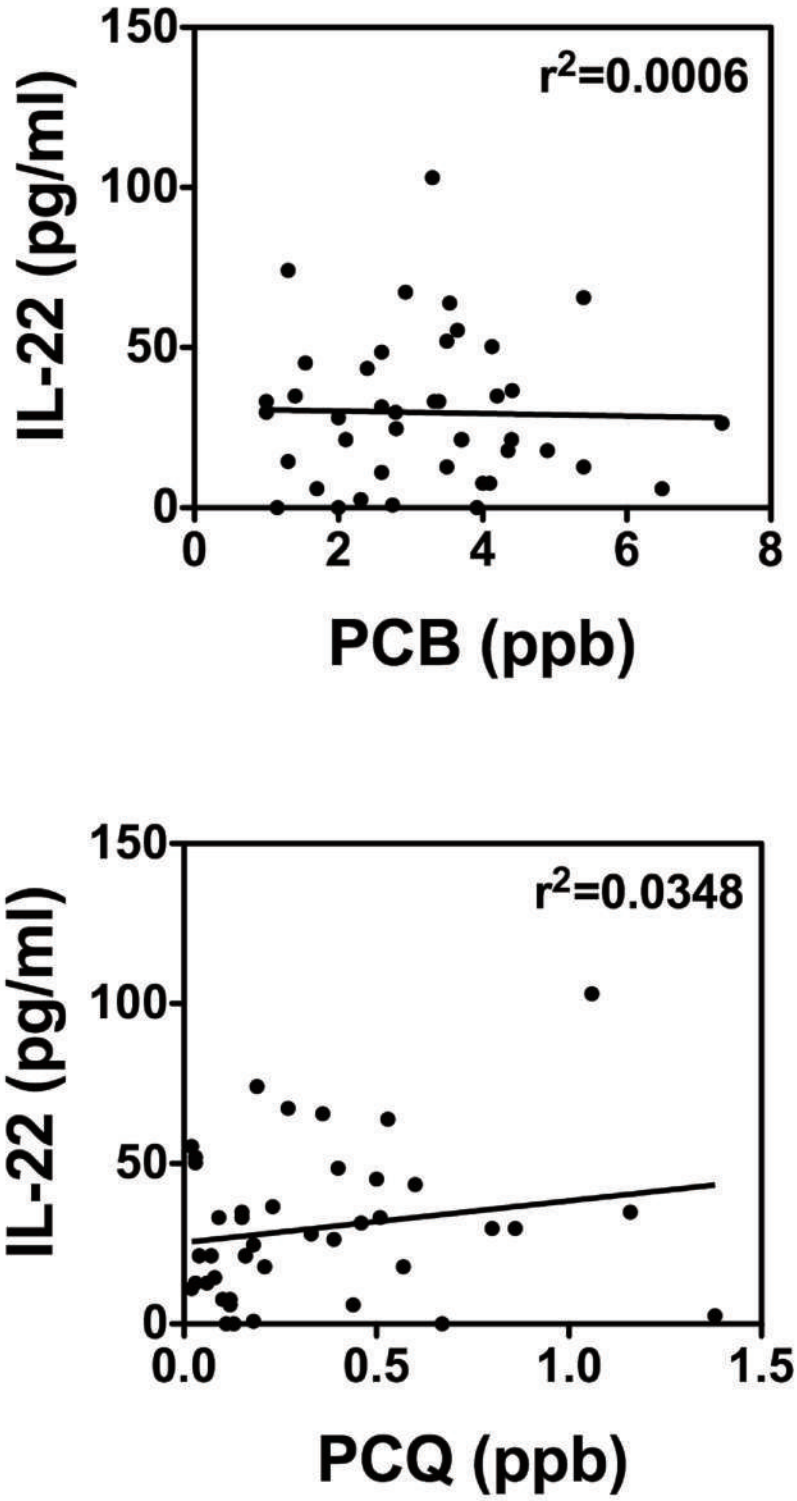
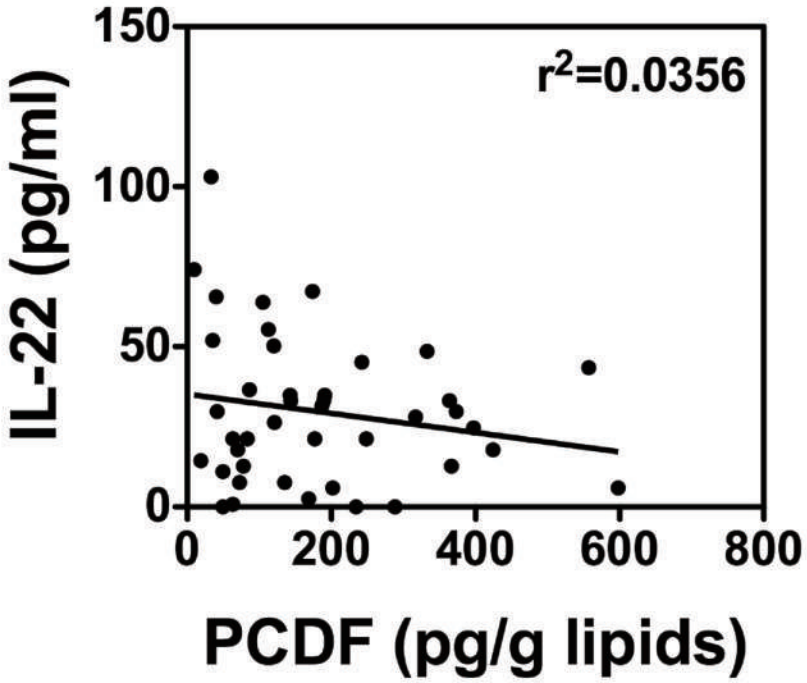


図２　油症患者血清における IL-22 値と PCB, PCQ, PCDF 値の比較




150
100
50
0
IL-22 (pg/ml)
r2=0.0356
0
200
400
600
800
PCDF (pg/g lipids)

分担研究報告書

油症患者血中 soluble CD163 の検討

研究分担者　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　准教授
研究協力者　佐藤伸一　　東京大学大学院医学系研究科皮膚科学　教授
　　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

研究要旨　PCB はその代謝過程で superoxide を発生するため高 PCB 血症であるカネミ油症は酸化ストレス状態といえる。酸化ストレスの亢進により CD163 は単核球の膜上から切り出され流血中に soluble form として切り出されその量を増す。今回油症認定患者と正常健常人の血清を用いて血中 soluble CD163 を測定した。油症認定患者 35 名、健常人 45 名において血中 soluble CD163 値はそれぞれ 973.3±43.2 ng/ml 及び 1035.0±45.0 ng/ml を示し有意差を認めなかった。

A.　研究目的

カネミ油症事件発生から 40 年以上を経て、激烈な症状を呈する患者はほとんど見られなくなった現在、良好なQOLを維持するための保健指導、健康相談の重要性が増してきている。油症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] 一方、CD163 は 130kDa の膜貫通型蛋白で cystein-rich scavenger receptor family の Group B に属する。CD163 の発現は恒常的であるが、Glucocorticoid, Interleukin (IL)-6, -10 や endotoxin によって流血中の単核球や組織マクロファージに誘導がかかる。[4]また酸化ストレスや炎症性刺激により CD163 は切り出され soluble form として血中に放出される。[5] 今回酸化ストレスにさらされている油症患者において soluble CD163 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：2009 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 35 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 soluble CD163 測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人 45 名を対照とした。

②血中 soluble CD163 測定：血中 soluble CD163 値は Human CD163 Immunoassay kit (R&D Systems)を用いて測定した。

③統計的処理：測定した soluble CD163 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 35 名、健常人 45 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 soluble CD163 値は各々 973.3 ± 43.2 ng/ml 及び 1035.0±45.0 ng/ml で、有意差を認めなかった。 (図)

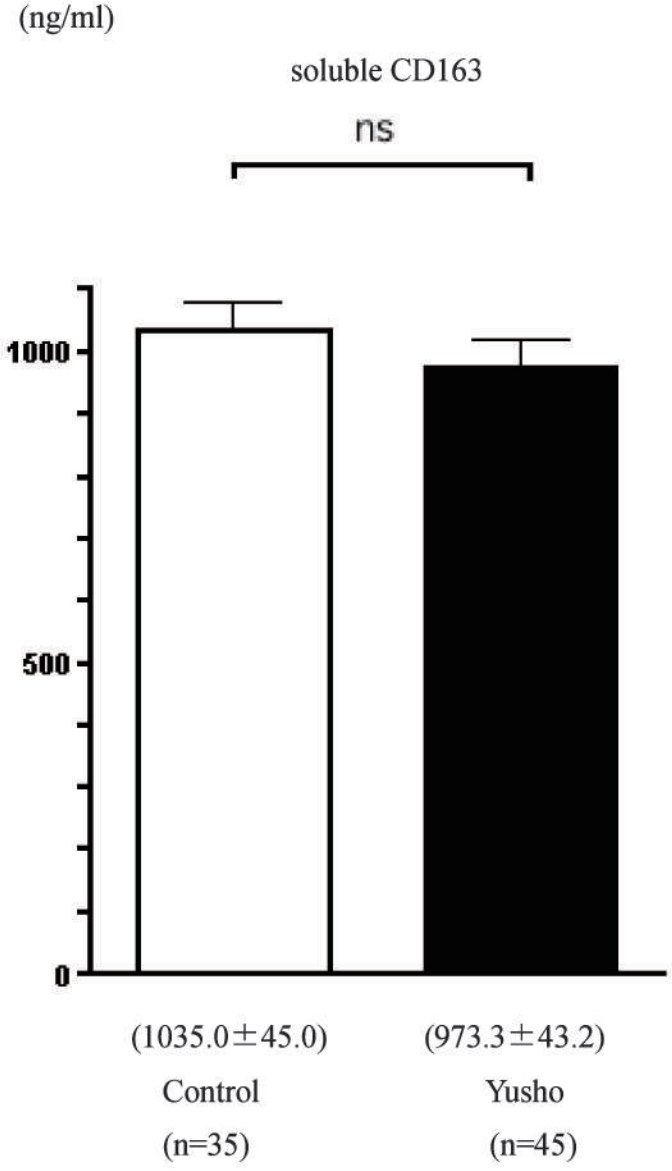
D．　考察

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2006年には初期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報告している。(unpublished data) 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。選択したsoluble CD163は酸化ストレスや炎症性疾患において高値を示す事が報告されている。[5]しかしながら今回の解析では油症患者と年齢をあわせた正常対照群との間に有意差を認めなかった。Fabriek 等は多発性硬化症において CD163 の切り出しはIL-6等のproinflammatory cytokineの減少と相関していると報告している。[6]以前我々は油症患者血中の IL-6 を測定し正常健常人との間に有意差を認めなかった。(unpublished data)即ち、油症が慢性の酸化ストレス状態であるのは間違いないが、有意に CD163 が切り出される状況にない可能性が考えられる。CD163の切り出しにはmetalloproteinase が関与していると報告されているが[6]、油症における酸化ストレスと血中soluble CD163値との相関解離を説明すべく今後の精査が期待される。今後、油症における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) Sulahian TH et al. Human monocytes express CD163, which is upregulated by IL-10 and identical to p155. Cytokine 12: 1312-21, 2000
5) Timmermann M and Hogger P Oxidative stress and 8-iso-prostaglandin F (2 alpha) induce ectodomain shedding of CD163 and release of tumor necrosis factor-alpha from human monocytes. Free Radic Biol Med 39(1): 98-107, 2005
6) Fabriek B et al. Proteolytic shedding of the macrophage scavenger receptor CD163 in multiple sclerosis. J Neuroimmunol 187: 179-186, 2007


(ng/ml)
soluble CD163
ns
1000
500
0
(1035.0±45.0)
Control
(n=35)
(973.3±43.2)
Yusho
(n=45)

（図.）

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　福岡市立こども病院　周産期医療企画部長

研究要旨　油症患者における母児双方のダイオキシン類血中濃度の観察を介して、母体－胎児ダイオキシン類移行動態について検討した。対象は人工栄養を行った母児 11 組(母親 9 例、児 11 例)とした。血中ダイオキシン類検査は、7 種類のポリ塩化ジベンゾ - パラ - ジオキシン(PCDDs)、10 種類のポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)、4 種類のコプラナーPCB(coplanar PCBs)を測定した。児における PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の TEQ 濃度は各々8.15、4.04、3.90 TEQ pg/g lipid で、母親の値(各々22.74、90.05、12.98 TEQ pg/g lipid)に比して有意に低値を示した。PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の児/母親血中濃度比は、各々0.36、0.04、0.30 で、PCDFs は母児間較差が最も大きかった。正常健常人の血中ダイオキシン類濃度と比較すると、児における PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の TEQ 濃度は有意な差はなかった。また油症患者に特有に認められる 2,3,4,7,8-PeCDF の血中 TEQ 濃度は、母親は 81.05 TEQ pg/g lipid と正常健常人の値(2.48 TEQ pg/g lipid)の約 30 倍認められたが、児では 3.14 TEQ pg/g lipid と正常健常人の値と有意な差はなかった。PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の total TEQ 濃度に対する組成率は、油症母親、油症児、正常健常人でそれぞれ異なり、油症母親は PCDFs が最も多く、ついで PCDDs、coplanar PCBs の順、油症児は PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の順、正常健康人は PCDDs、coplanar PCBs、PCDFs の順であった。これらの成績から、油症児におけるダイオキシン類の血中 TEQ 濃度は母親の値と比して有意に低値を示し、正常健常人の値と有意な差はみられないこと、各異性体の組成率は油症母親、油症児、正常健常人でそれぞれ異なること、異性体の種類により母児間の血中濃度較差が異なることが分かった。油症子宮内曝露においてはダイオキシン類の児への移行は少なく、胎盤のバリア機能が存在することが示唆された。

A．研究目的

ダイオキシン類のヒトの健康への影響、なかでも感受性が高いと考えられる胎児、新生児に何らかの影響を及ぼすのではないかと危惧されている。油症曝露では、流産、早産、死産の発症頻度が高くなることが報告されているが(Tsukimori et al, Environ Health Perspect 2008)、母親の油症曝露によりどの程度のダイオキシン類が児へ移行し、またそれによって児にどのような健康影響が起きているのかについてはほとんど分かっていないのが現状である。

本研究では、油症患者における母児双方のダイオキシン類血中濃度の観察を介して、母体－胎児ダイオキシン類移行動態を明らかにすることを目的とした。

B．研究方法

油症一斉検診受診者のなかで母児双方の血中ダイオキシン類検査を実施した母親 19 例とその児 26 例を対象とした。これら対象者に対して児の授乳方法(母乳栄養、人工栄養、混合栄養)について調査し、人工栄養を行った母児 11 組(母親 9 例、児 11 例)を解析の対象とした。血中ダイオキ

シン類検査は、7 種類のポリ塩化ジベンゾ - パラ - ジオキシン(PCDDs)、10 種類のポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)、4 種類のコプラナーPCB(coplanar PCBs)を測定した。母児間における血中ダイオキシン類濃度の差異について解析した。また、母児それぞれの血中ダイオキシン類濃度について正常健常人の値(n=152, Masuda et al. Chemosphere 2005)と比較検討した。

統計学的解析には、母児間の差異には paired t-検定を、正常健常人と比較には Student's t-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

母親および児の血中ダイオキシン類検査時の年齢(mean ± SD)は、各々64.3 ± 4.1、35.5 ± 2.3 歳であった。児の出生年は中央値 1971 年(範囲 1968-1976 年)で、性別は男児 7 例、女児 4 例であった。

母親および児におけるダイオキシン類血中濃度を表 1 に示す。母親における PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の TEQ 濃度は各々22.74、90.05、12.98 TEQ pg/g lipid であった。児における PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の TEQ 濃度は各々8.15、4.04、3.90 TEQ pg/g lipid で、母親の値と比して有意に低値を示した。異性体毎にみると、測定感度以上であった 14 異性体のうち 11 異性体において児の値は母親の値と比して有意に低値を示した。なかでも油症患者に特有に認められる 2,3,4,7,8-PeCDF の血中濃度は、児は 10.45 pg/g lipid で、母親の値(270.17 pg/g lipid) と比して有意に低値を示した。PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の児/母親血中濃度比は、各々0.36、0.04、0.30 で、PCDFs は母児間での較差が最も大きかった。各異性体における児/母親血中濃度比は 0.04 から 0.81 で、2,3,4,7,8- PeCDF が母児間での較差が最も大きく、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD が母児間での較差が最も小さかった。

PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs および主な異性体 5 種類における油症母児と正常健常人との比較および total TEQ 濃度に対する組成率を表 2 に示す。油症母親における PCDDs および PCDF の TEQ 濃度は正常健常人の値と比して有意に高値を示した。また母親における 1,2,3,7,8-PeCDD、1,2,3,6,7,8-HxCDD、2,3,4,7,8-PeCD および 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)の TEQ 濃度は、正常健常人の値と比して有意に高値を示した。一方、児における PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs および主な異性体 5 種類の TEQ 濃度は、全て正常健常人の値と比して有意な差はなかった。ダイオキシン類の total TEQ 濃度に対する組成率については、油症母親では PCDFs が 71.6%と最も多く、ついで PCDDs 18.1%、coplanar PCBs 10.3%の順であった。油症児においては PCDDs 50.7%、PCDFs 25.1%、coplanar PCBs 24.2%の順で、正常健常人では PCDDs 43.9%、coplanar PCBs 36.7%、PCDFs 16.5%の順であった。このように油症児におけるダイオキシン類の血中 TEQ 濃度は正常健常人の値と有意な差はみられないものの、各異性体の組成率は油症母親、油症児、正常健常人でそれぞれ異なっていた。

D．考察

ヒトにおけるダイオキシン類の胎児への移行に関する研究は数少ない。Schecter ら(Chemosphere 1989)は 5 人の New York 在住米国人妊婦の血液、胎盤および臍帯血を採取し、それらの中のダイオキシン類(PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs)濃度を測定した。その結果、血中 total TEQ 濃度(TEQ pg/g lipid)は、母体血 12.1、胎盤 10.5、臍帯血 5.8 で、臍帯血のダイオキシン類濃度

は母体血のほぼ半分であった。Suzuki ら(Biosci Biotechnol Biochem 2005)は奈良県在住日本人妊婦の血液(n=4)、胎盤(n=21)および臍帯血(n=16)中のダイオキシン類濃度を測定し、total PCDDs/PCDFs TEQ 濃度(TEQ pg/g lipid)は、母体血 26、胎盤 31、臍帯血 14 であった。これらの報告から、ダイオキシン類の胎児への移行は少なく、胎盤のバリア機能が存在することが示唆される。

今回、油症患者における母児双方のダイオキシン類血中濃度について検討した。対象には母乳を介する児へのダイオキシン類曝露の影響を除くために人工栄養を行った母児を用いた。児における PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の TEQ 濃度は母親の値に比して有意に低値を示し、正常健常人の値と比して有意な差はなかった。児/母親血中濃度比でみると、PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs は、各々0.36、0.04、0.30 であり、また油症患者に特有に認められる 2,3,4,7,8-PeCDF は 0.04 と異性体のなかで最も母児間較差が大きかった。これらダイオキシン類の児/母親血中濃度比は、正常健康人における臍帯血/母体血比(PCDDs 0.50、PCDFs 0.40、coplanar PCBs 0.48、2,3,4,7,8-PeCDF 0.38) (Schecter et al. Chemosphere 1989)より低く、なかでも PCDFs は約 1/10 の値であった。これらの成績から高濃度ダイオキシン類曝露においても胎盤のバリア機能により、ダイオキシン類、なかでも PCDFs の胎児への移行は少ないことが示唆された。

一方、PCDDs、PCDFs、coplanar PCBs の total TEQ 濃度に対する組成率は、油症母親、油症児、正常健常人でそれぞれ異なり、油症児では正常健常人より PCDFs の組成率が高かった。

ダイオキシン類の胎盤への移行には、ダイオキシン受容体である arylhydrocarbon (Ah) receptors との親和性が関連することが報告されている。胎盤には Ah receptor が存在し(Nakai and Bunce. J Biochem Toxicol 1995)、Ah receptor との親和性の高いダイオキシン類である 2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PeCDD および 2,3,4,7,8-PeCDF の胎盤組織中の濃度は母体血濃度よりも有意に高く、胎盤に蓄積することが報告されている(Suzuki et al. Biosci Biotechnol Biochem 2005)。しかしながら、これら Ah receptor との親和性の高いダイオキシン類の胎児への移行は母体血の 38-60%と少なく、ダイオキシン類の血清蛋白との結合能やオクタノール/水分配係数(Kow)が胎児への移行に関与する可能性が指摘されている。今後、どのようなダイオキシン類がどの程度胎児へ移行するのか、ひいてはダイオキシン類の胎児への移行に関わる機序を明らかにすることは、油症曝露とそれによる児の健康影響との関連を検討するための基礎的な資料を提供することとなると考えられる。

E．結論

油症患者より出生した児におけるダイオキシン類の血中 TEQ 濃度は母親の値と比して有意に低値を示し、正常健常人の値と有意な差はみられないこと、各異性体の組成率は油症母親、油症児、正常健常人でそれぞれ異なること、異性体の種類により母児間の血中濃度較差が異なることが分かった。これらの成績から油症子宮内曝露においてはダイオキシン類の児への移行は少なく、胎盤のバリア機能が存在することが示唆された。

F．研究発表

1．論文発表

なし

2．学会発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況

なし

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　油症中毒事件発生後の 1970 年～1973 年に出生した胎児性油症患児と同時期に誕生した健常児および 1981 年～1992 年に油症の母親から出生した未認定の新生児と同時期に誕生した健常児の保存臍帯に存在する油症原因物質の化学分析を行い、各グループの濃度を比較検討した。その結果、1970 年～1973 年に出生した胎児性油症患児の臍帯では健常児のものよりも 3 種類のダイオキシン様 PCBs つまり、2,3,3',4,4',5-HxCB、2,3,3',4,4',5'－HxCB および 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB の濃度が 6 倍から 20 倍も高かった。この 3 種類のダイオキシン様 PCBs は 1981 年～1992 年に誕生した未認定の新生児でも同時期の健常児よりも 4 倍から 6 倍も高濃度であった。これらの油症に特徴的なダイオキシン様 PCBs を活用することにより、新しい油症診断手法開発の可能性が示唆された。

A．研究目的

1968 年に発生した油症中毒事件では、発生当初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、油症患者の母親から 1970 年～1973 年に生まれた胎児性油症患児および 1981 年～1992 年に生まれた未認定児の保存臍帯中に存在する油症原因物質濃度をそれぞれ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、油症原因物質の特徴を究明する。

B．研究方法

油症の母親から 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患児（男性 4 名、女性 2 名）および 1981 年～1992 年に生まれた未認定児（男性 4 名、女性 3 名）の保存臍帯、1966 年～1975 年に健常な母親から誕生した健常児（男性 2 名、女性 3 名）と 1980 年～1989 年に誕生した健常児（男性 6 名、女性 2 名）の保存臍帯を化学分析用検体とした。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。統計学的有意性は Student の *t* 検定により行った。

（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

Table 1 に胎児性油症患児とその当時の健常児の臍帯におけるダイオキシン類

同族体とPCBsの化学分析結果を示す。PCDF 同族体については健常児ではいずれの同族体も検出限界以下であり、胎児性油症患児でのみ毒性の高い同族体がすべての臍帯で測定された。PCDD同族体については両者でいくつかの同族体が検出定量されたが、毒性学上有意な相違は認められなかった。ダイオキシン様PCBsについては12種の同族体のうち、両者で10種の同族体が分析定量できた。しかし、いずれの同族体でも胎児性油症患児が高く、特に2,3,3',4,4',5-HxCB、2,3,3',4,4',5'-HxCBと2,3,3',4,4',5,5'-HpCBはそれぞれ6.4倍、15倍、20倍と顕著に高濃度であった。これら3種の同族体は油症に特徴的なダイオキシン様 PCBs と考えられた。ダイオキシン様 PCBs と PCBs の濃度は胎児性油症患児がそれぞれ 2.5倍と1.9倍高かった。

Table 2 に未認定児と同時期に誕生した健常児の臍帯での分析結果を示す。PCDD同族体については1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と OCDD が両者で検出されたが、それらの平均濃度はいずれも健常児のほうが高かった。PCDF同族体については未認定児の1人の臍帯で2,3,4,7,8-PenCDFと1,2,3,4,7,8-HxCDFが、そして健常児でも1人の臍帯で 2,3,4,7,8-PenCDF が検出されたが、その他の臍帯ではいずれのPCDF同族体も検出限界以下であった。ダイオキシン様PCBsのノンオルソPCBsについては未認定児の1人の臍帯で3,3',4,4'-TCBが、また健常児の1人の臍帯で3,4,4',5-TCBと3,3',4,4'-TCBが検出されたが、その他の臍帯ではいずれのノンオルソPCB同族体も検出されなかった。モノオルソ PCBs についてはいずれの同族体についてもそれらの平均濃度は未認定児と健常児がほぼ同レベルか未認定児のほうが高濃度であった。Table 1 で胎児性油症に特徴的と考えられた3種の同族体については、未認定児のほうが4〜6倍高濃度であり、これらの同族体を利用することにより、新しい認定手法の開発が可能となるかもしれない。

PCBs の濃度は健常児のほうがやや高かった。

D．結論

胎児性油症の原因物質がPCDFsであることはすでに報告しているが、ダイオキシン類同族体の分析結果でも、このことが明確に示された。ダイオキシン様PCBsのなかで、 2,3,3',4,4',5-HxCB、2,3,3',4,4',5'-HxCBおよび2,3,3',4,4',5,5'-HpCBの3種の同族体が胎児性油症患児で特に高く、胎児性油症に特徴的な同族体と考えられた。これら3種の同族体は油症発生後 20 年前後も経って誕生した未認定児でも依然として高く、これらの同族体を活用することにより、油症の新認定法開発の可能性が示唆された。

E．研究発表

1．論文発表

1. Nagayama J., Hirakawa H., Kajiwara J., Todaka T., Shibata S., Tsuji H., Iwasaki T.: Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins by FBRA in patients with Yusho. Organohalogen Compounds 71: 398-403, 2009.
2. 長山淳哉，平川博仙，梶原淳睦，飯田隆雄，戸高尊，上ノ土武，柴田智子，辻博，岩崎輝明：玄米発酵健康補助食品による油症原因物質の体外排泄促進 ーPCDFsとPCDDsの場合ー. 福岡医誌，100(5)：192-199，2009.
3. 梶原淳睦，戸高尊，平川博仙，堀就英，安武大輔，中川礼子，飯田隆雄，長山淳哉，吉村健清，古江増隆：油症患者の保存さい帯（へその緒）中のダイオキシン類濃度．福岡医誌，100(5)：179-182，2009.

２．学会発表

1. Nagayama J., Hirakawa H., Kajiwara J., Todaka T., Shibata S., Tsuji H., Iwasaki T.: Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins by FBRA in patients with Yusho. 29th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants. Beijing, China, August, 2009.

Table 1. Concentrations of PCDD, PCDF and dioxin-like PCB congeners and PCBs in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies with fetal Yusho born in 1966 to 1975

Compound	Concentration [a], pg/g dry weight		B/A
	Healthy Baby (A)	Baby with Fetal Yusho (B)	
PCDDs			
2,3,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,4,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,6,7,8 -	ND	9.2 ± 8.3	–
1,2,3,7,8,9 -	ND	1.6 ± 3.9	–
1,2,3,4,6,7,8 -	11.5 ± 8.6	16.6 ± 12.2	1.4
OCDD	106 ± 115	96.3 ± 82.4	0.9
Total	117 ± 122	124 ± 88	1.1
PCDFs			
2,3,7,8 -	ND	7.3 ± 9.9	–
1,2,3,7,8 -	ND	ND	–
2,3,4,7,8 -	ND	27.4 ± 12.0	–
1,2,3,4,7,8 -	ND	29.4 ± 13.0	–
1,2,3,6,7,8 -	ND	2.2 ± 3.6	–
2,3,4,6,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,7,8,9 -	ND	ND	–
1,2,3,4,6,7,8 -	ND	6.3 ± 7.2	–
1,2,3,4,7,8,9 -	ND	ND	–
OCDF	ND	ND	–
Total	ND	73 ± 28	–
Dioxin-like PCBs			
3,4,4',5 -	8.7 ± 19.5	32.3 ± 36.5	3.7
3,3',4,4'-	197 ± 237	499 ± 490	2.5
3,3',4,4',5 -	ND	ND	–
3,3',4,4',5,5' -	ND	ND	–
2,3,3',4,4' -	528 ± 357	1110 ± 722	2.1
2,3,4,4',5 -	43.4 ± 24.6	161 ± 70.7 $^{p=0.006}$	3.7
2,3',4,4',5 -	1032 ± 611	1949 ± 1152	1.9
2',3,4,4',5 -	29.3 ± 18.2	42.0 ± 30.0	1.4
2,3,3',4,4',5 -	101 ± 62.2	642 ± 302 $^{p=0.005}$	6.4
2,3,3',4,4',5' -	23.2 ± 13.4	344 ± 444 $^{p=0.14}$	15
2,3',4,4',5,5' -	39.0 ± 28.4	103 ± 43.6 $^{p=0.02}$	2.6
2,3,3',4,4',5,5' -	3.1 ± 1.8	60.6 ± 32.0 $^{p=0.007}$	20
Total	2004 ± 1270	4944 ± 2710	2.5
PCBs	53176 ± 26276	100628 ± 49025 $^{p=0.09}$	1.9

a : Mean ± SD

ND : Less than the detection limit

Table 2. Concentrations of PCDD, PCDF and dioxin-like PCB congeners and PCBs in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies born to mothers with Yusho born in 1980 to 1992

Compound	Concentration [a], pg/g dry weight		
	Healthy Baby (A)	Baby born to Mother with Yusho (B)	B/A
PCDDs			
2,3,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,4,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,6,7,8 -	1.9 ± 5.3	ND	–
1,2,3,7,8,9 -	ND	ND	–
1,2,3,4,6,7,8 -	48.1 ± 108	2.7 ± 7.2	0.06
OCDD	70.2 ± 83.2	28.9 ± 40.1	0.41
Total	120 ± 194	31.6 ± 47.0	0.26
PCDFs			
2,3,7,8 -	1.6 ± 4.5	ND	–
1,2,3,7,8 -	ND	ND	–
2,3,4,7,8 -	ND	1.9 ± 5.1	–
1,2,3,4,7,8 -	ND	1.3 ± 3.4	–
1,2,3,6,7,8 -	ND	ND	–
2,3,4,6,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,7,8,9 -	ND	ND	–
1,2,3,4,6,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,4,7,8,9 -	ND	ND	–
OCDF	ND	ND	–
Total	1.6 ± 4.5	3.2 ± 8.5	2.0
Dioxin-like PCBs			
3,4,4',5 -	2.2 ± 6.3	ND	–
3,3',4,4'-	36.3 ± 103	5.5 ± 14.6	0.15
3,3',4,4',5 -	ND	ND	–
3,3',4,4',5,5' -	ND	ND	–
2,3,3',4,4' -	110 ± 111	89.2 ± 110	0.81
2,3,4,4',5 -	11.1 ± 14.4	24.3 ± 31.1	2.2
2,3',4,4',5 -	234 ± 213	301 ± 140	1.3
2',3,4,4',5 -	6.8 ± 7.8	6.8 ± 7.5	1.0
2,3,3',4,4',5 -	34.0 ± 23.0	158 ± 175 $^{p=0.11}$	4.6
2,3,3',4,4',5' -	8.5 ± 7.0	49.5 ± 58.8 $^{p=0.12}$	5.8
2,3',4,4',5,5' -	16.3± 11.5	16.7 ± 14.6	1.0
2,3,3',4,4',5,5' -	4.6 ± 1.8	19.0 ± 17.5 $^{p=0.07}$	4.1
Total	463 ± 489	671 ± 620	1.4
PCBs	15571 ± 23983	14145 ± 19820	0.91

a : Mean ± SD

ND : Less than the detection limit

分担研究報告書

TCDD誘導肺傷害マウスモデルのSP-D,CC10発現に関する研究

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が、PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害の機序は不明な点も多い。マウスを用いて検討を行ったところTCDD投与はマウス肺組織でのSP-D産生亢進をおこすことが明らかとなった。

A．研究目的

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。マウスを用いた検討でTCDDは肺構造に影響を与えないことを昨年度に報告した。今回は肺細胞の分泌物に着目して検討を行った。

B．研究方法

コーンオイルで溶解した2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 200 μg/kgをC57Bl/6マウス雌、6週齢にday1からday5まで経口摂取させた。対象群にはコーンオイルのみを摂取させた。Day 7 に肺を取り出し、SP-D,CC10の免疫染色をおこなった。

（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

肺組織所見

対象群と比較してTCDD 200 μg/kg群では肺組織所見に違いは認めなかった。

SP-DおよびCC10の発現

SP-D 蛋白の発現は気道上皮細胞と肺胞上皮細胞で認められた。TCDD 投与群では対象群と比較して肺胞上皮細胞におけるSP-D 蛋白の発現がより亢進していた(図1)。CC10蛋白の発現は気道上皮細胞に認められたがTCDD投与群と対象群の間に違いはみられなかった(図2)。

D，E．考察

油症患者では慢性気管支炎に類似した呼吸器症状がみられる。PCB/ダイオキシン類が肺に及ぼす作用に関してラットを用いたモデルでは、ダイオキシン類投与によりII型肺胞上皮細胞、クララ細胞の形態異常が電顕的に示されているが、確立した動物モデルはない。今回の実験でマウスへのTCDD経口投与によって肺胞上皮細胞での SP-D 産生が亢進すること示された。SP-D は肺サーファクタントを構成する肺特異的蛋白であり、肺胞上皮細胞から分泌される。本来は自然免疫調節作用を有すると考えられるが、ヒトでは肺胞上皮傷害をきたす病態で血清中の濃度が上昇することが知られている。SP-D 産生の亢進はTCDD による肺胞上皮傷害を反映していることが示唆される。今後は本モデルを用いて麦門冬湯の作用検討をおこう予定である。

F．研究発表なし

G．知的財産権の出願・登録状況なし

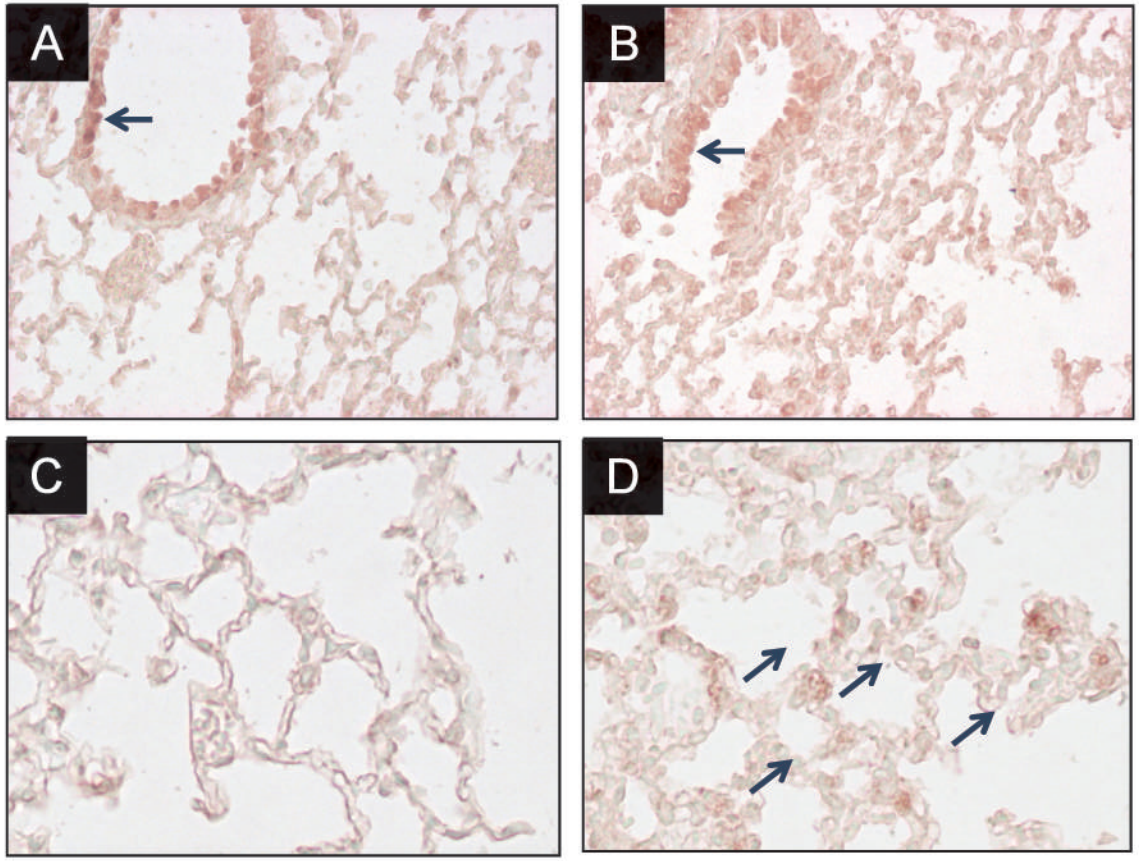


図　1．肺組織中SP-D蛋白の発現
SP-Dの発現は気道上皮細胞および肺胞上皮細胞に認められた。気道上皮細胞での発現は対象群(A、矢印)とTCDD投与群（B、矢印)で違いは認められなかったが、肺胞上皮細胞における発現は対象群（C）と比べてTCDD投与群で亢進していた（D、矢印）。

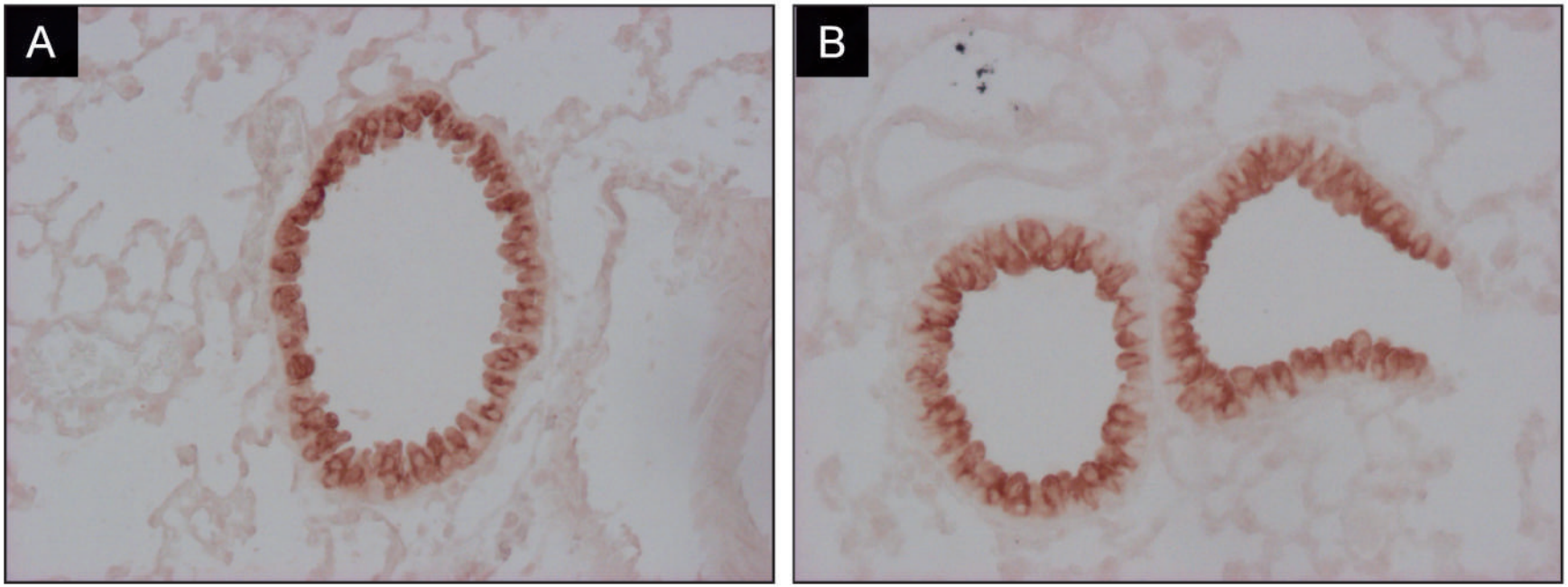


図　２．肺組織中CC10蛋白の発現
CC10の発現は気道上皮細胞に認められたが、対象群(A)と
TCDD投与群 (B)でその発現に違いはなかった。

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：ヒト表皮細胞における benzo(a)pyrene 誘導性の炎症反応について

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　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　講師
師井 洋一　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　准教授
古江 増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授
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

研究要旨　前年度の報告で我々は、たばこに含まれる benzo(a)pyrne(BaP)が、ヒト表皮細胞において、aryl hydrocarbon receptor (AhR)signaling pathway を介して IL-8 の産生する可能性を報告した。今回、我々は、BaP 誘導性の IL-8 産生の機序についてさらに詳細に検討した。
Si RNA transfection によって AhR をノックダウンしたヒト表皮細胞では、IL-8 の産生の増加は認められないことから、IL-8 は AhR signaling pathway に依存性であることが強く示唆された。
IL-8 の産生と reactive oxygen species(ROS)産生には、強い相関があることが報告されていることから、ヒト表皮細胞に BaP を投与し、ROS を測定したところ、BaP の用量依存性に ROS の産生の増加が認められた。BaP 誘導性の ROS 産生は、AhR のノックダウンで減少したことより、AhR signaling pathway に依存性であることが示唆された。さらに、BaP 誘導性の ROS 産生を N-アセチルシステインで抑制したところ、IL-8 の産生も抑制されたことから、BaP 誘導性の IL-8 産生には、AhR signaling pathway によって生じた ROS が必要であることが分かった。

A．研究目的

本研究の目的は、ダイオキシン類が、免疫システム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)。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、誘導される炎症反応について検討を行ってきた。前年度の報告で、我々はたばこ中に含まれるダイオキシン類である benzopyrene (BaP)が、ヒト表皮細胞においてダイオキシン類の代謝経路である aryl hydrocarbon receptor (AhR) signaling pathway を活性化し、炎症反応のメディエーターである IL-8 の産生を誘導することを報告した。今年度は、BaP 誘導性の IL-8 の産生機序についてさらに詳細な検討を行った。

B．研究方法と結果

○ Si RNA transfection による AhR のノ

ックダウン

ヒト表皮細胞（5.6×10⁴個）にトランスフェクション試薬及び Si RNA(AhR)を加え、48時間後インキュベートした。AhRのノックダウンは、mRNA・タンパクレベルを RT-PCR 及び蛍光抗体法で評価したところ、Si RNA(control)を加えた群に較べて AhR の発現の低下が認められた。(Figure 1)

○ ELISA法による IL-8 産生の測定

Si RNA(control)または Si RNA(AhR)をトランスフェクションしたヒト表皮細胞に BaP（1μM）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。AhR のノックダウンした群では、有意に BaP 誘導性の IL-8 産生は抑制されており、これにより BaP 誘導性の IL-8 産生は AhR signaling pathway に依存性であることが示唆された。(Figure 2)

○ H2DCF による細胞内活性酸素の測定

BaP1μM を投与し、24 時間後に H2DCF を加えて細胞内の活性酸素(reactive oxygeb species, ROS)を測定した。H2DCF は細胞内に ROS 存在すると、450nm 波長で励起する化合物を生じる。

BaP による ROS 産生は、用量依存性に増加が認められた。さらに、AhR のノックダウンによって ROS 産生は抑制されたことより、BaP 誘導性の ROS 産生は、AhR signaling pathway に依存性であることが示唆された。(Figure 3)

○ N-アセチルシステインによる BaP 誘導性の ROS 産生の抑制

N-アセチルシステイン(NAC)は、抗酸化作用があり ROS 産生を抑制することが報告されている 2)。そこで、我々は NAC を用いて、BaP 誘導性の ROS 産生の抑制を試みた。NAC（30mM）により、BaP 誘導性の ROS 産生に抑制が認められた。(Figure 4a)

さらに、NAC(15mM,30mM)を投与すると、培養液中の BaP 誘導性の IL-8 の産生は抑制された。これにより、BaP 誘導性の IL-8 の産生には、AhR signaling pathway を介して生じる ROS が必要であることが示唆された。(Figure 4b)

（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

ヒト表皮細胞における BaP 誘導性の IL-8 産生の機序について詳細な検討を行った。今年度の研究では、BaP は AhR signaling pathway を介して、ROS を産生することが分かった。細胞内に生じた ROS は、直接的に DNA 障害を来す 3)他に、シグナル伝達因子を修飾する 4)ことにより、様々な影響をもたらし、これらは酸化ストレスといわれている 5)。細胞内 ROS レベルと IL-8 産生には、密接な関係があるとの報告 6)があり、これは ROS によって RelA(p65)が核内に移動し NF-ｋB signaling を活性化するためとされている 2,7)。今年度の研究では、NF-kB siganling に関しては検討を行っていないが、NAC による ROS の抑制によって、IL-8 産生が抑制されたことは、これらの知見を支持するものと考えられる。

BaP は環境汚染物質と検出されるほかに、タバコの煙中にも存在する。今回の結果は、BaP が酸化ストレスを生じることによって、IL-8 主体の炎症反応を誘導するというものであり、BaP による AhR signaling pathway の活性化は、喫煙に伴って悪化する疾患の病態形成に関わっている可能性が強く示唆される。特に皮膚科領域では、掌蹠膿疱症 8)、乾癬 9)、ざ瘡 8)は、喫煙に伴う悪化がよく知られており、これらの疾患には IL-8 は病態形成に重要な役割を占める 10,11,12)こと

からも、BaP による AhR signaling payhway 活性化の関与が非常に疑われる。

D. 研究発表

１．学会発表

Benzo(a)pyrene induces expression of interleukin-8 via aryl hydrocarbon receptor signaling in normal human keratinocytes.
39th Annual European Society for Dermatological Research Meeting (2009.9.10-15, Budapest)

ヒト表皮細胞における Aryl hydrocarbon receptor を介した炎症反応
第 13 回九州基礎皮膚科研究会（2009.12.12, 福岡市）

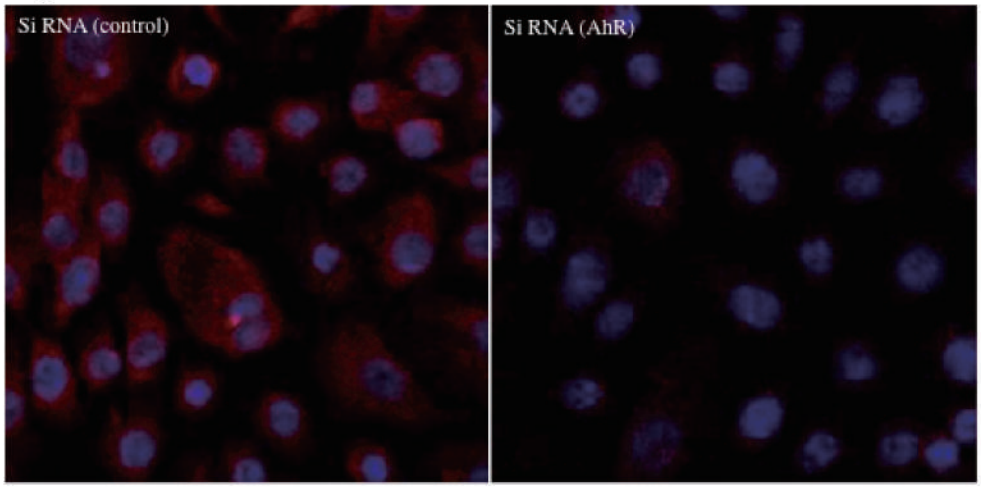
たばこによる炎症反応のメカニズム
第 30 回福岡臨床免疫研究会（2010.1.23, 福岡市）

E. 参考文献

1. Dietert RR et al.
   Developmental Immunotoxicology: Focus on Health Risks
   Chem Res Toxicol. 2008 Sep 11
2. Young CN et al.
   Reactive oxygen species in tumor necrosis factor-alpha-activated primary human keratinocytes: implications for psoriasis and inflammatory skin disease. J Invest Dermatol. 2008 128:2606-14
3. Shimizu Y et al.
   Benzo[a]pyrene carcinogenicity is lost in mice lacking the aryl hydrocarbon receptor. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 97:779-82
4. Thannickal VJ et al.
   Reactive oxygen species in cell signaling. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2000 279:1005-28
5. Burczynski et al.
   Isoform-specific induction of a human aldo-keto reductase by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), electrophiles, and oxidative stress: implications for the alternative pathway of PAH activation catalyzed by human dihydrodiol dehydrogenase. Cancer Res. 1999 59: 607-14
6. Kang JS et al.
   Regulation of UVB-induced IL-8 and MCP-1 production in skin keratinocytes by increasing vitamin C uptake via the redistribution of SVCT-1 from the cytosol to the membrane. J Invest Dermatol. 2006 127:698-706
7. Shyong EQ et al.
   Synergistic enhancement of H2O2 production in human epidermoid carcinoma cells by Benzo[a]pyrene and ultraviolet A radiation. Toxicol Appl Pharmacol. 2003 188:104-9
8. A. Freiman et al.
   Cutaneous effects of smoking, J Cutan Med Surg 2004 8: 415-423.
9. Jankovic S et al.
   Risk factors for psoriasis: A case-control study.J Dermatol. 2009 36: 328-34
10. Anttila HS et al.
    Interleukin-8 immunoreactivity in the skin of healthy subjects and patients with palmoplantar pustulosis and psoriasis. J Invest Dermatol 1992 98:96-101
11. Duan H et al.
    Interleukin-8-positive

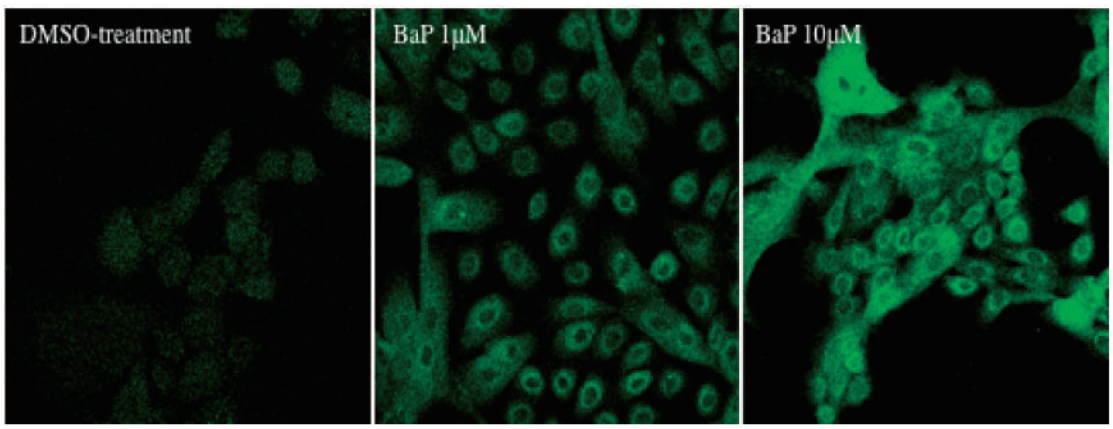
neutrophils in psoriasis. J Dermatol Sci. 2001 26:119-24
12. Nakatsuji T et al.
Antibodies elicited by inactivated propionibacterium acnes-based vaccines exert protective immunity and attenuate the IL-8 production in human sebocytes: relevance to therapy for acne vulgaris. J Invest Dermatol. 2008 128: 2451-7

Figure 1



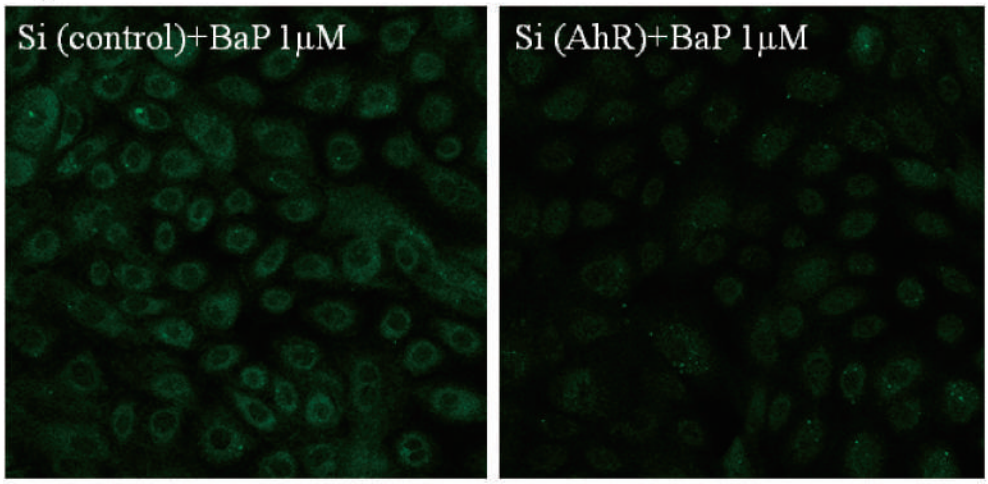
Normal human epidermal keratinocytes (NHEKs) were transfected with Si RNA against AhR using by HiPerFect reagent. After 48 h transfection, NHEKs were fixed by cold aceton and incubated with anti-AhR antibody for 24 h. The distribution of AhR was observed by con-focal laser scanning microscope. The protein level of AhR was clearly reduced by transfection of Si RNA (AhR) compared with NHEKs transfected Si RNA (control). (Red : AhR, Blue : DAPI) (original magnification ×400)

Figure 2



NHEKs on glass chamber slides were incubated with BaP (1 μM and 10 μM) or DMSO (control) for 24 h. As described in Material and Method, NHEKs were incubated with DCFH-DA that is a cell-permeable non-fluorescent probe and rapidly oxidized to highly fluorescent 2',7'-dichlorofluorescin (DCF) in the presence of ROS. Green fluorescence intensity that reflected intracellular ROS (especially hydrogen peroxide) was detected by using con-focal laser scanning microscope. BaP induced ROS generation in dose-dependent manner. (original magnification ×400)

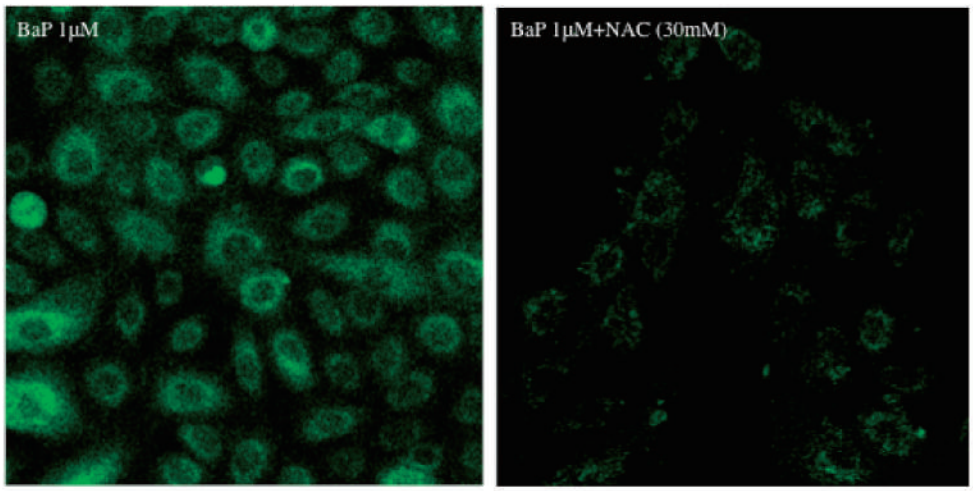
Figure 3



Si RNA (AhR)-NHEKs were incubated with BaP (1μM) for 24 h and then intracellular ROS levels were examined. ROS generation induced by BaP administration in Si RNA (AhR)-NHEKs were inhibited compared with that in Si RNA (control)-NHEKs. The data are representative experiments repeated three times with similar results. (original magnification ×400)

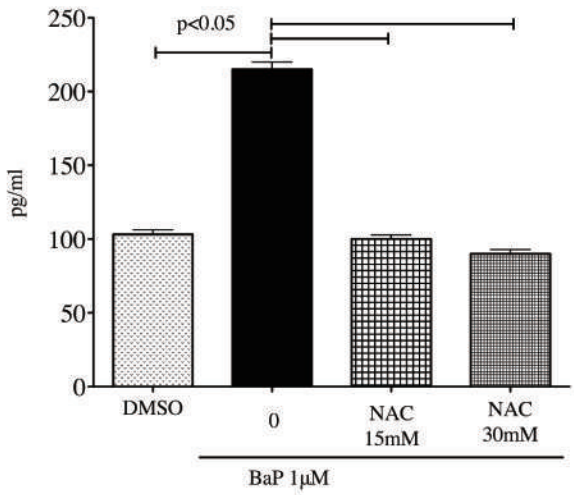
Figure 4

a



NHEKs were administrated with BaP (1 μ M) and NAC (30mM) at the same time and incubated for 24 h. NAC was used to reduce the intracellular ROS levels by an independent mechanism from AhR signaling pathway. After administration, NHEKs were treated with 2', 7'-DCF and examined green fluorescence intensity that reflected intracellular ROS. NAC (30mM) administration clearly inhibited ROS generation induced by BaP (1 μ M). The data is representative data repeated three times with similar results.

b



NHEKs were treated with NAC (15mM or 30mM) and BaP (1 μ M) for 24 h and IL-8 production in culture supernatant were measured. IL-8 production was significantly decreased compared to NHEKs incubated with BaP only. NAC inhibited IL-8 production induced by BaP. The data represent the mean ± S.D of three separate experiments. IL-8 production in each group was analyzed by unpaired student's t-test compared with BaP (1 μ M)-treatment group.

分担研究報告書

ヒト細胞におけるケトコナゾール（ketoconazole：KCZ）の新しい効果：KCZ は aryl hydrocarbon receptor signaling を介して Nuclear Factor-Erythroid 2-related factor 2 の発現を誘導し、酸化・電子ストレスに対する解毒酵素群を発現する。

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　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　講師
師井 洋一　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　准教授
古江 増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授
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

研究要旨 ケトコナゾール（ketoconazole：KCZ）は抗真菌薬である一方で、殺真菌性以外にも、抗炎症作用を有するとする報告も数多い。しかし、その機序に関しては、明らかではない。今回我々は、ヒト表皮細胞において、KCZ によって活性化される代謝経路と抗炎症作用を発揮するタンパクについての検討を行い、KCZ による抗炎症作用のメカニズムを解明することを試みた。

KCZ によって活性化される代謝経路については、ヒト肝細胞においてダイオキシン類の代謝経路である aryl hydrocarbon receptor（AhR）signaling を活性化する報告があった。そこで表皮細胞に KCZ を投与し、AhR 及び CYP1A1 の発現を評価した。KCZ によって AhR 及び CYP1A1 は mRNA・タンパクレベルで誘導されたことより、表皮細胞においても KCZ によって AhR signaling が活性化されることが示された。

次に、AhR signaling はダイオキシン類によって生じる細胞内の酸化・電化ストレスを軽減するために働く代謝経路であることから、酸化・電化ストレスを軽減するのに重要なタンパクである Nuclear Factor-Erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)の発現を評価した。KCZ は、Nrf2 の発現を誘導し、さらに Nrf2 は核内に移動して解毒酵素の一つである NAD(P)H dehydrogenase, quinine 1 (NQO1)を産生した。

KCZ による AhR signaling 活性化と Nrf2 の誘導のメカニズムを明らかにするため、表皮細胞に AhR の mRNA を干渉する遺伝子（small interfering RNA：Si RNA）を遺伝子導入し、AhR の発現が著しく低下した状態を作り出した。AhR の Si RNA を遺伝子導入した表皮細胞は、KCZ を投与しても Nrf2 の発現を誘導せず、Nrf2 の核内への移動も阻害された。これらの結果により、KCZ は AhR signaling を介して、Nrf2 を誘導し、酸化・電子ストレスに対する解毒酵素群を発現することが分かった。さらに、KCZ はダイオキシン類の 1 つである benzo(a)pyrene 誘導性の酸化・電子ストレスによる IL-8（炎症反応に関わるケモカイン）および 8-OhdG（DNA 障害のマーカー）産生を抑制した。

KCZ のこれらの作用は、これまで報告されていない新しいメカニズムによる抗炎症作用であり、ダイオキシン類あるいはその他の原因による酸化・電子ストレスの影響を軽減する有用な薬剤である可能性が示唆された。

A．背景と目的

ケトコナゾール（ketoconazole：KCZ）は優れた殺真菌作用を有する抗真菌薬である。白癬・皮膚カンジダ症・癜風といった皮膚真菌症と、脂漏性皮膚炎という真菌が関与する炎症性皮膚疾患に保険適応があり、皮膚科診療ではしばしばその外用薬が使用される。しかし、KCZは殺真菌作用を期待して使用される一方で、炎症性皮膚疾患の治療に一定の効果があったという報告もある。1）2)この現象は、従来、常在する真菌であるマラセッチアが何らかのかたちで炎症反応に関与しており、KCZによってマラセッチアが除去されることにより、炎症反応が抑制されるという機序が考えられていた。しかし近年、KCZは真菌に働く以外に炎症反応自体に関与している可能性があることが明らかになった。3)今日までに、KCZはヒト培養リンパ球において活性酸素（Reactive oxygen species: ROS)産生を抑制するという報告4)や、ヒト表皮細胞においてプロスタグランジンE2放出を促進することで抗炎症作用を発揮する機序 5)が既に報告されている。しかし、その詳細な機序に関しては、未だに明らかではない部分が多かった。そこで今回我々は、ヒト表皮細胞におけるKCZ の代謝経路と抗炎症作用を発揮するタンパクについて検討を行い、KCZによる抗炎症作用のメカニズムを詳細に解明することを試みた。

KCZは、ヒト肝細胞において、KCZはダイオキシン類の代謝経路である aryl hydrocarbon receptor(AhR)に結合し、その下流であるAhR signalingを活性化することが報告 6)されている。また、AhR signalingは、本来、ダイオキシン類の代謝経路であるが、近年、ダイオキシン類以外の化合物（植物性フラボノイド 7)、一部の薬剤 8)）もAhRに結合し、この代謝経路を活性化することも報告されている。

AhR signaling について詳説する。AhR signalingは、まずligandが細胞膜を透過することから始まる。細胞内に入ったligandは、細胞質に存在するAhRと結合する。ligand と結合した AhR は、AhR nuclear translocator（ARNT)と多量体を形成し、核内へ移動する。核内で多量体は、Xenobiotic response elements（XRE)領域に結合し、CYP1A1 酵素という薬物代謝酵素のmRNAを誘導する。細胞質で作られたCYP1A1酵素は、細胞内のligandを代謝する。9)（図１）

AhR signalingはligandを代謝するだけではなく、ligand がダイオキシン類の場合には、多量の活性酸素（Reactive oxygen species：ROS）を生じ、細胞に酸化・電子ストレスを与え、発癌や炎症を来す原因となる。酸化・電子ストレスは、ダイオキシン類の代謝だけが原因ではなく、近年では、紫外線もヒト表皮細胞内に活性酸素を産生し、酸化・電子ストレスを生じることが報告され、紫外線による発癌或いは光老化の主な原因の一つと考えられている。10)

ダイオキシン類が酸化･電子ストレスを生じる一方で、ligand が植物性ポリフェノールの場合には、ほとんどROSを生じることはない。むしろ、酸化・電子ストレスを軽減させることが知られている。7)この相反する効果を説明する正確なメカニズムは分かっていない。現在のところ、CYP1A1 酵素による代謝で生じた酸化・電子ストレスを軽減する解毒酵素群が関与している可能性が指摘されている。11)解毒酵素群には、NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1（Nqo1)、UDP-glucuronosyltransferase 1(Ugt1)、glutathione S-transferase a1（Gsta1)があり、これらの発現を調節するタンパクとしては、Nuclear Factor-Erythroid 2-related factor 2（Nrf2)が重要な働きをすることが知られている。12)Nrf2 は、定常状態では Keap 1 （Kelch-like

ECH-associated protein1）というアンカータンパクと結合して細胞質に固定されている。細胞内にROSが生じた場合、Keap1との結合が解除され、Nrf2 は核内へ移動する。このKeap1との結合は、ROSのみならず、Ligand の分解産物による修飾や、酸化・電子ストレスそのものによっても解除されることが報告されている。12)核内へ移動したNrf2は、Antioxidant response element (ARE)に結合し、解毒酵素群であるNQO1、Ugt1、Gsta1を誘導し、酸化・電子ストレスを軽減する。（図２）Nrf2は一部の植物性ポリフェノールで誘導されることが報告されているが、KCZ がNrf2 を誘導するかについてはこれまで検討されていない。

また、AhR と Nrf2 は協調的に働くことは知られているが、両者の調節機構については不明な点が多い。そこで、我々はヒト表皮細胞にAhR のmRNA を干渉する遺伝子（small interfering RNA：Si RNA）を遺伝子導入することで、AhR が著しく低下した状態を作り出し、AhR の低下がKCZ によるNrf2 の誘導にどのような影響を及ぼすのか検討し、調節機構について検討を行った。

最後に、AhR signaling によって誘導されたNrf2 が酸化・電子ストレスを軽減するかを検討するため、ダイオキシン類の１つである benzo(a)prene を表皮細胞に投与し、炎症反応において重要な働きをするケモカインであるIL-8 及びDNA 障害の指標となる8-OhdG の産生を誘導し、KCZ によって抑制されるかを検討した。

Ｂ．研究方法

○ 細胞及び細胞培養

細胞は、新生児包皮から初代培養されたヒト表皮細胞（normal human epidermal keratinocyte、LONZA 社）を用いた。細胞培養は、48 時間おきに keratinocyte growth medium（抗真菌剤、抗生物質含まない）を交換しておこなった。

○ 使用した薬剤

KCZ は Sigma Aldrich 社より購入した。DMSO に溶解した状態で－20 度下に保存した。ヒト表皮細胞に投与する際は、KCZ の最終濃度が100nM～10μM になるように調整した。培養液中のDMSO 濃度は、0.5%未満になるようにした。

○ 蛍光抗体法

AhR の細胞内局在は、KCZ100nM 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。

Nrf2 の細胞内局在は、KCZ1μM をヒト表皮細胞に投与し、12,24 時間後に抗 Nrf2 抗体を用いて、上と同様の操作で観察した。

○リアルタイム PCR

AhR signaling）AhR、CYP1A1 の mRNA 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 1.0×105 個のヒト表皮細胞にKCZ（100 nM-1μM）投与し、1,3,6 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（DMSO1,3,6時間投与群）のCt値とをGAPDHで補正を行い、比較を行った。

Nrf2, NQO1）24 穴シャーレに培養した 1.0×105 個のヒト表皮細胞にKCZ(1μM)を投与し、6,12,24 時間後に細胞を回収した。Nrf2, NQO1 の遺伝子発現量（Ct 値）とコントロール群（DMSO6,12,24 時間投与群）の Ct 値とを GAPDH で補正を行い、比較を行った。

○ウエスタンブロット

KCZ(10nM-1μM)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、20μg 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、目的に応じて１次抗体に抗 AhR 抗体、抗 CYP1A1 抗体、抗 Nrf2 抗体、抗 NQO1 抗体のいずれかを用い、化学発光標識された２次抗体をさらに反応させて、X 線フィルム

上に検出した。
○Si RNA(small interfering RNA) による RNA 干渉
24穴シャーレに6.0×104個のヒト表皮細胞を培養した。AhR の Si RNA(Santa cruz 社)及び Control Si RNA(Santa cruz 社。ランダムに mRNA の発現を抑制する Si RNA)とトランスフェクション試薬（Quiagen 社 Hiperfect®）を培養液に加えて投与し、48 時間培養して実験に用いた。Si RNA の導入効率は、リアルタイム PCR 及び蛍光抗体法で確認した。
（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．結果

ヒト表皮細胞に KCZ を投与し、AhR の細胞内局在について検討した。ヒト表皮細胞に KCZ100nM を投与し、6 時間後に細胞を固定し、1 次抗体に抗 AhR 抗体を用いて蛍光抗体法を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察を行った。別系統の抗真菌薬である塩酸テルビナフィン 100nM も投与して観察を行った。投与前（non-treatment）の状態では、細胞質が染色され、AhR が定常状態では細胞質にあることが確認された。KCZ 投与 6 時間後では、核が染色され、これは細胞質の AhR が核へ移動したものと考えられた。一方、塩酸テルビナフィンでは、核が染色されることはなかった。（図３）
次に、KCZ による AhR と CYP1A1 の発現について、リアルタイム PCR とウェスタンブロットで検討した。KCZ は AhR と CYP1A1 を遺伝子レベルでもタンパクレベルでも発現の増加が認められた。（図４A,B）
さらに、KCZ が Nrf2 の発現を誘導するかを検討した。KCZ を投与して 24 時間後に細胞を固定し、1 次抗体に抗 Nrf2 抗体を用いて蛍光抗体法を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。定常状態では、Nrf2 は細胞質に認められた。KCZ 投与 24 時間後では、細胞質ではなく核が濃染された。（図５）
次に KCZ によって、Nrf2 が核内で生成する解毒酵素の一つである Nqo1 の発現が誘導されるか、リアルタイム PCR とウェスタンブロットで検討した。Nqo1 は遺伝子レベルでもタンパクレベルでも発現の誘導が認められた。（図６A,B）
Nrf2 の発現が、AhR によって制御されているかを調べるため、AhR の発現を short interference RNA(SiRNA)を遺伝子導入することによって特異的に抑制した。AhR が抑制されているかは、抗 AhR 抗体を用いた蛍光抗体法で、AhR の染色性を評価した。Control の SiRNA(ランダムに遺伝子の発現を抑制する SiRNA)を遺伝子導入した場合と較べて、AhR の染色性が低下しており、AhR の SiRNA を遺伝子導入することにより、AhR のタンパク量が低下した状態となることを確認した。（図７A）AhR の SiRNA を遺伝子導入した状態で、KCZ の投与を行い、24 時間後に観察した。Control の SiRNA を遺伝子導入した場合に較べて、AhR の SiRNA を用いた方では細胞質の Nrf2 の染色性は著しく低下した。また、AhR の SiRNA を用いた方では、KCZ を投与したにもかかわらず、核は染色されなかった。（図７B）
さらに、KCZ がダイオキシンの毒性を軽減するかを検討した。すでに我々はタバコの中に含まれるベンゾピレン（Benzopyrene：BaP）というダイオキシン類が、ヒト表皮細胞において、AhR signaling を介して IL-8 という炎症性サイトカインを産生しうることを報告している。そこで、KCZ を BaP と同時に投与し、IL-8 の産生が抑制されるか検討した。図８に示すように、BaP による IL-8 の産生は KCZ によって有意に抑制された。
また、BaP は ROS 産生によって細胞内の DNA に障害を与えることにより発癌性を

発揮することが報告されているが、KCZ が DNA 障害を軽減するかを検討した。8-ヒドロキシーデオキシグアノシン(8-OHdG)は、先に述べたように BaP といったダイオキシン類あるいは、紫外線によって生じる ROS によって DNA が障害された場合に生じる参加ストレスマーカーの一つである。図９に示すように、KCZ は 8-OHdG を生じなかった。また、KCZ を BaP と同時に投与した場合、BaP による 8-OHdG の産生は有意に抑制された。これらにより、KCZ はダイオキシン類の酸化ストレスによる毒性を軽減する働きがある可能性が示唆された。

D．考察

まず、KCZ がヒト表皮細胞において、AhR signaling を活性化するか検討を行った。蛍光抗体法を用いた共焦点レーザー顕微鏡による観察では、AhR は定常状態では細胞質に認められた。次に、KCZ を投与したところ、AhR は６時間で核内に移動した。これは KCZ と結合した AhR 多量体が核内の XRE 領域に結合し、CYP1A1 の mRNA 合成へと進んだものと考えた。また、塩酸テルビナフィンの投与では AhR は細胞質から移動せず、KCZ によって生じる AhR の細胞質から核内への移動は、KCZ に特異的な現象であると考えられた。次に、KCZ を投与して、AhR signaling の標的タンパクである AhR、CYP1A1 について検討した。AhR、CYP1A1 は遺伝子レベルでもタンパクレベルでも容量依存性に増加が認められ、これらの結果は、KCZ が AhR signaling によって代謝されることを示した。

次に我々は、KCZ がヒト表皮細胞において、Nrf2 の発現を誘導するかを検討した。共焦点レーザー顕微鏡による観察では、定常状態では Nrf2 は細胞質に認められた。KCZ を投与し、24 時間後に観察したところ、Nrf2 は核に認められた。これは、KCZ によって細胞質の Nrf2 が核内へ移動し、ARE 領域に結合したものと考えた。さらに、解毒酵素群の一つである NQO１の発現の誘導について検討したところ、Nqo1 は遺伝子レベルでもタンパクレベルでも発現の誘導が認められた。これらの結果より、KCZ は１．Nrf2 の発現を誘導する、２．細胞質の Nrf2 を核内へ移動させる、３．核内へ移動した Nrf2 は、解毒酵素群の発現を誘導する、ことが示された。

さらに、Nrf2 の発現の誘導が AhR によって制御されているか検討した。Control の SiRNA を遺伝子導入したヒト表皮細胞では、KCZ の投与によって、先に示したのと同様の実験結果が得られた。しかし、AhR の SiRNA を遺伝子導入したヒト表皮細胞では、KCZ を投与したにもかかわらず、Nrf2 の発現の誘導は認められなかった。また、Nrf2 の細胞質から核への移動も認められなかった。(図７B) これらの結果により、AhR は Nrf2 の発現の誘導及び細胞質から核内への移動（ARE 領域への結合）になくてはならない存在であることが示された。

以上の結果から、ヒト表皮細胞において、KCZ は AhR に結合し、AhR signaling を介して Nuclear Factor-Erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)の発現を誘導するものと考えられる。これにより、KCZ は酸化･電子ストレスを軽減しうる解毒酵素群の発現を誘導することが可能となり、抗炎症作用を発揮しているものと考えられる。現在、酸化・電子ストレスは、DNA の障害や、生体に重要なタンパクを修飾して本来の機能を損なわせる作用などにより、様々な炎症性疾患や悪性腫瘍を生じる原因の一つと考えられている。一方で、この酸化･電子ストレスを軽減させるという根拠のある有効な薬剤の報告は非常に少ない。今回報告した KCZ のこのメカニズムは、ダイオキシン類を含め、様々な要因によって生じる酸化･電子ストレスが病態形成に寄与すると考えられている炎症性疾患や悪性腫瘍の治療の一助になりうると

考えられる。

E． 研究発表

学会発表
2009年5月17日
第72回九州真菌懇話会(佐賀市)

2009年5月25-29日
The XVII Congress of the International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009) (Tokyo)

F．知的財産権の出願・登録状況

特許出願
発明名称:ヒト細胞におけるケトコナゾールの新しい効果
発明者：辻学、高原正和、古江増隆
出願日：2009年12月10日
出願番号：61/285249

G．参考文献

1.Framing the future of antifungals in atopic dermatitis.Nikkels AF, Piérard GE.Dermatology. 2003;206(4):398-400.
2. Atopic dermatitis and fungi.Faergemann J.
Clin Microbiol Rev. 2002 Oct;15(4):545-63.
3. A new ketoconazole topical gel formulation in seborrhoeic dermatitis: an updated review of the mechanism.Faergemann J, Borgers M, Degreef H. Expert Opin Pharmacother. 2007 Jun;8(9):1365-71.
4.Inhibitory or scavenging action of ketoconazole and ciclopiroxolamine against reactive oxygen species released by primed inflammatory cells.Nakashima T, Sato E, Niwano Y, Kohno M, Muraoka W, Oda T. Br J Dermatol. 2007 Apr;156(4):720-7.
5.Suppressive effects of antimycotics on tumor necrosis factor-alpha-induced CCL27, CCL2, and CCL5 production in human keratinocytes.Kanda N, Watanabe S. Biochem Pharmacol. 2006 Aug 14;72(4):463-73. Epub 2006 Jun 19.
6.Induction of cytochrome P450 1A1 by ketoconazole and itraconazole but not fluconazole in murine and human hepatoma cell lines.Korashy HM, Shayeganpour A, Brocks DR, El-Kadi AO. Toxicol Sci. 2007 May;97(1):32-43. Epub 2007 Feb 5.
7. An update on the dietary ligands of the AhR.Ashida H, Nishiumi S, Fukuda I. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2008 Nov;4(11):1429-47.
8. The induction of CYP1A1 by oltipraz is mediated through calcium-dependent-calpain.Dale Y, Eltom SE. Toxicol Lett. 2006 Oct 10;166(2):150-9. Epub 2006 Aug 7.
9.Molecular biology of the Ah receptor and its role in carcinogenesis.Safe S. Toxicol Lett. 2001 Mar 31;120(1-3):1-7.
10. Protecting effect of phytoncide solution, on normal human dermal fibroblasts against reactive oxygen species.Fujimori H, Hisama M, Shibayama H, Iwaki M. J Oleo Sci. 2009;58(8):429-36.
11. Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention. BMC Cancer. 2009 Jun 16;9:187.
12. A protective role of nuclear erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders.Kim J, Cha YN, Surh YJ. Mutat Res. 2009 Sep 30.
13. Introducing the "TCDD-inducible AhR-Nrf2 gene battery". Toxicol Sci. 2009 Oct;111(2):238-46. Epub 2009 May 27.

図１　AhR signaling について

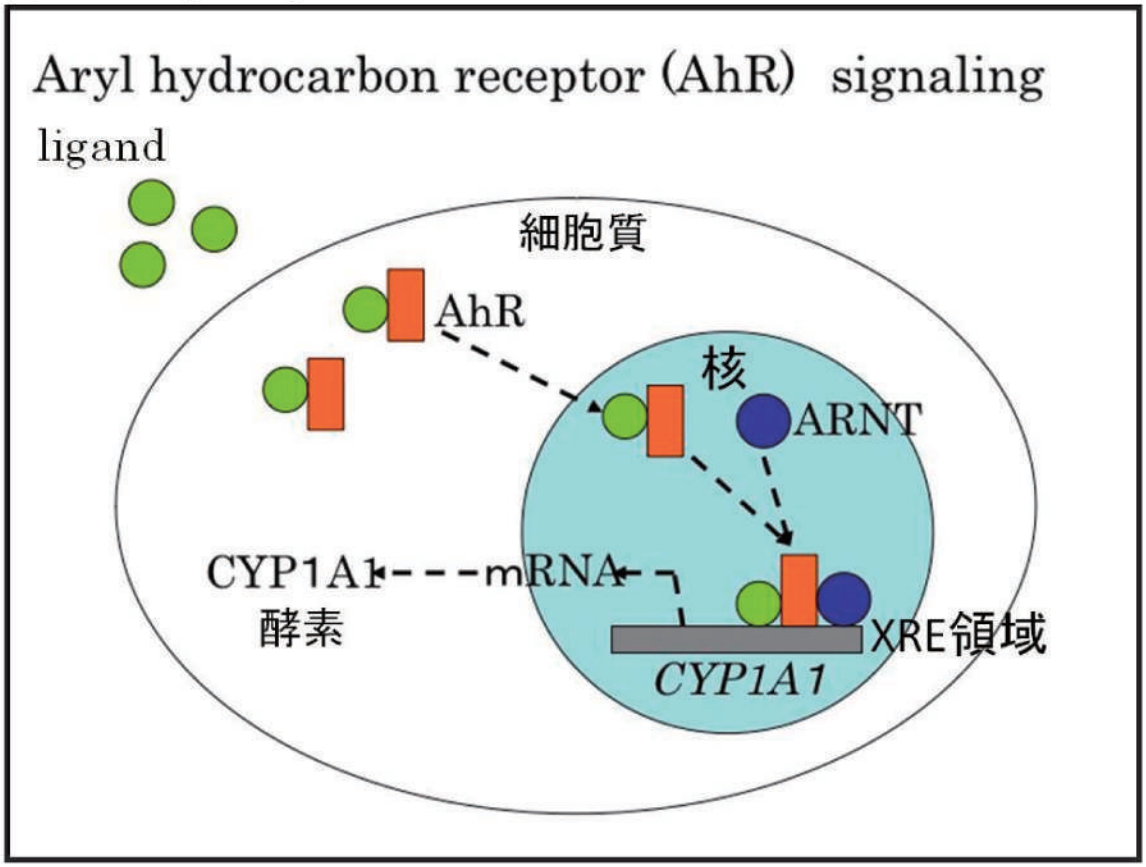


図２　Nrf2 について

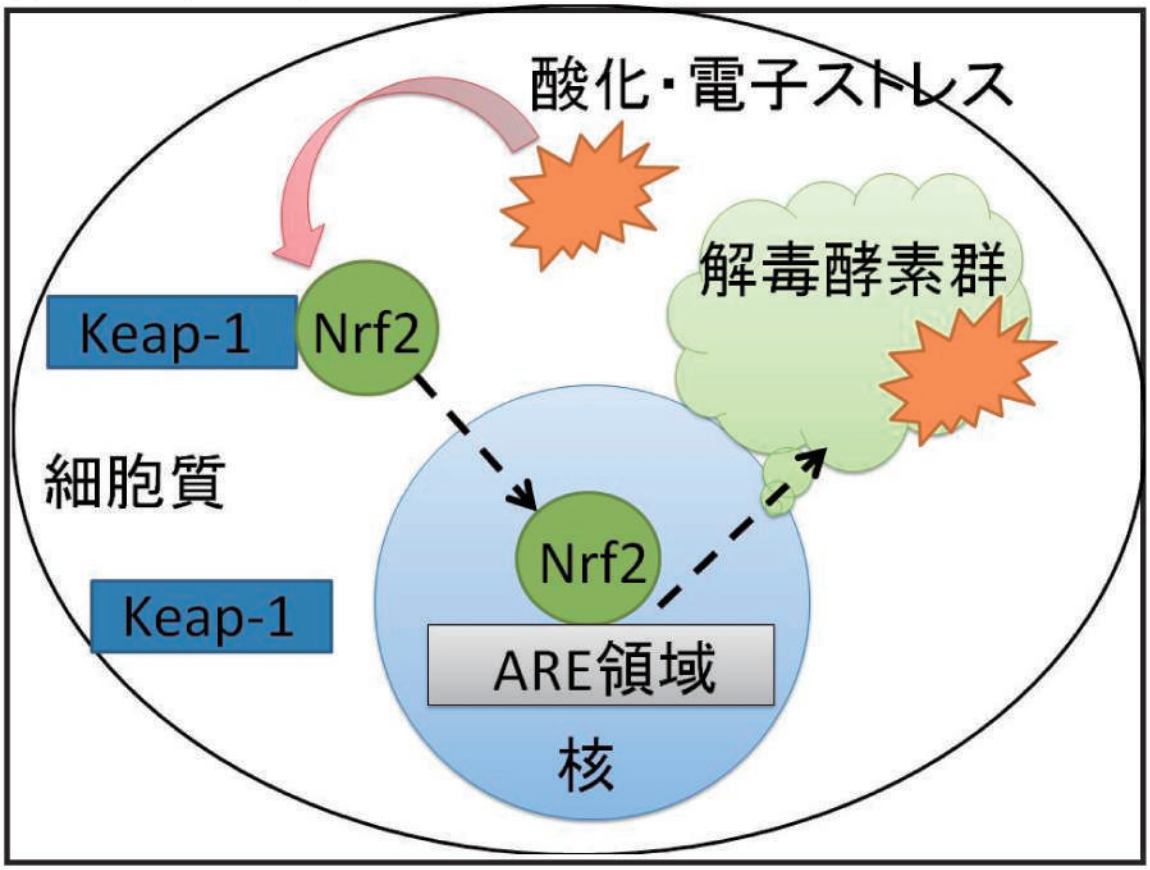


図３　KCZ による AhR の細胞内局在

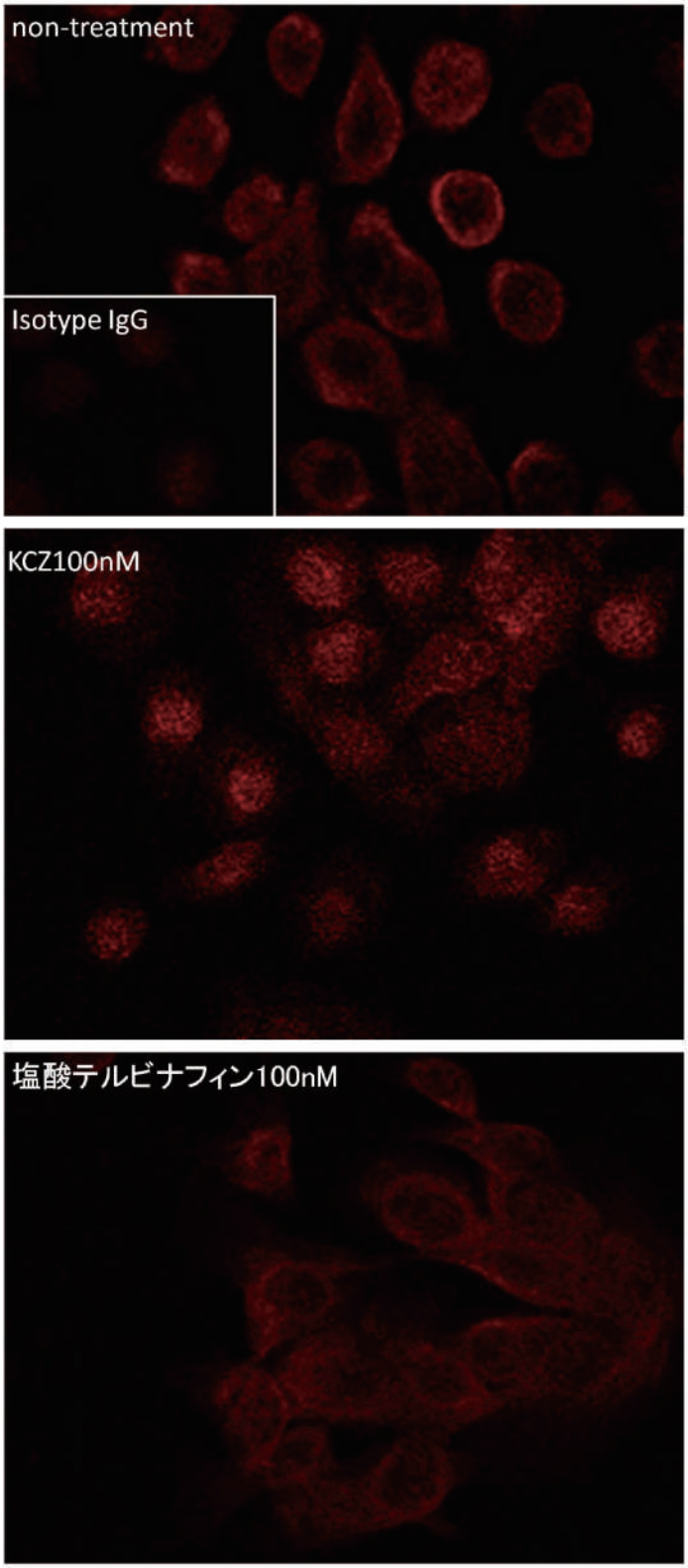
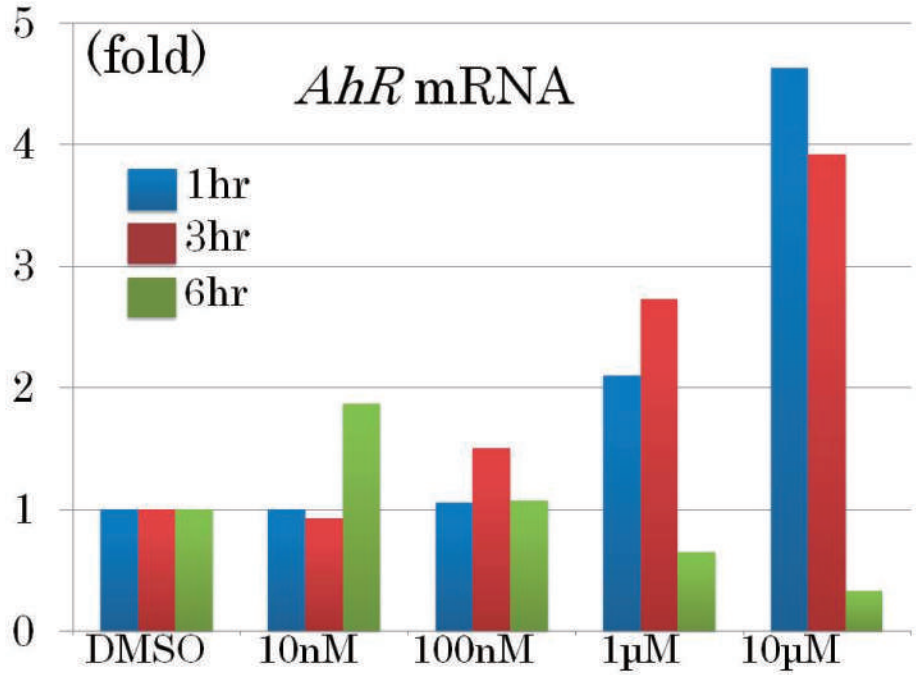


図４A リアルタイム PCR による AhR、CYP1A1 遺伝子発現の評価



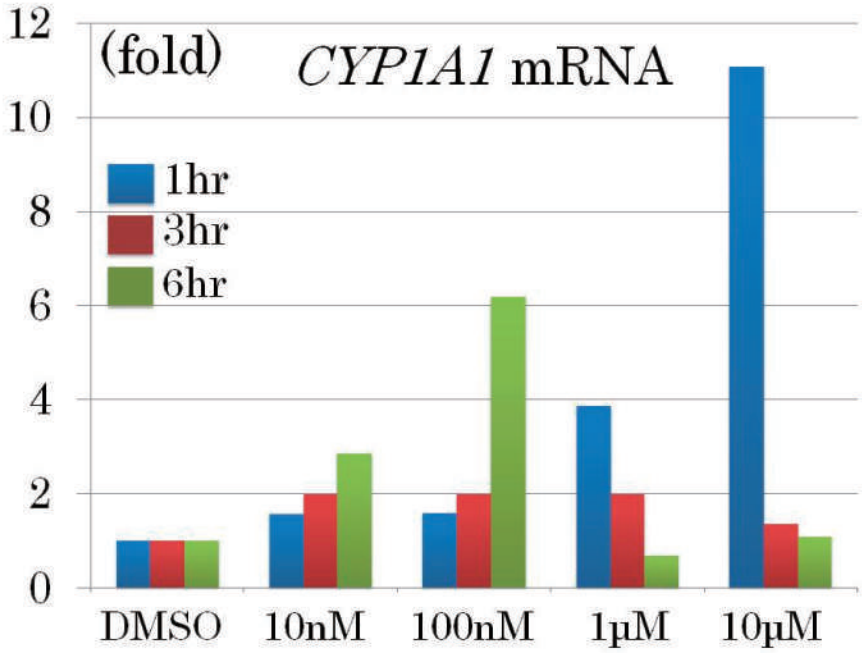


図４B ウェスタンブロットによる AhR、CYP1A1 のタンパク量の評価

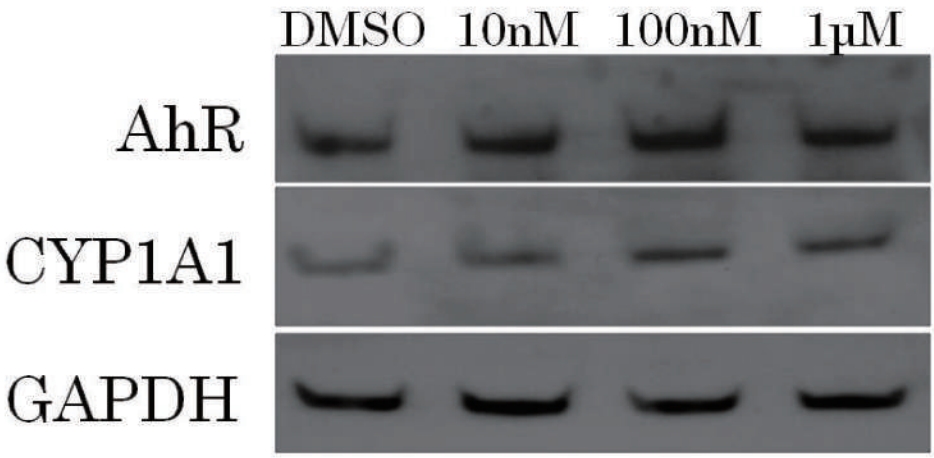
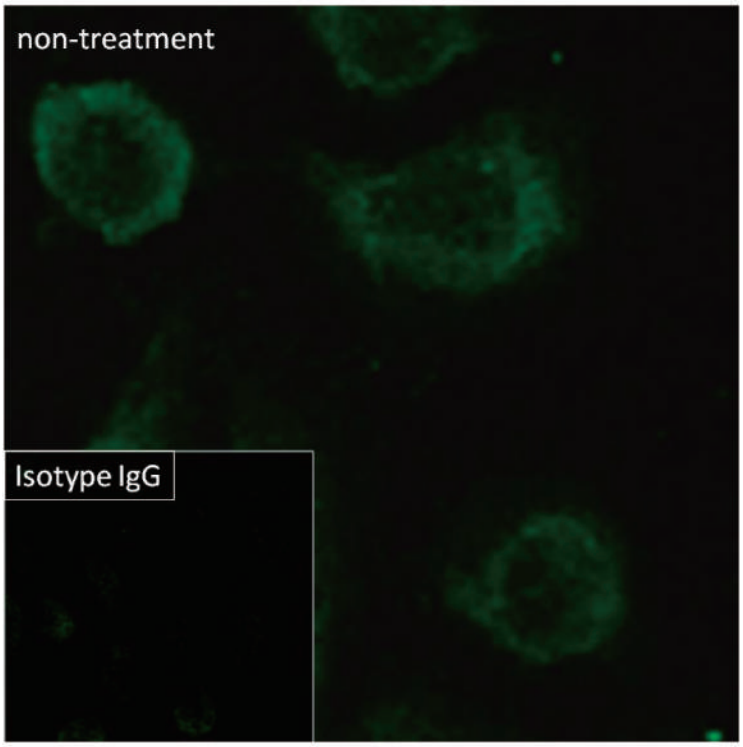


図５Nrf2 の細胞内局在



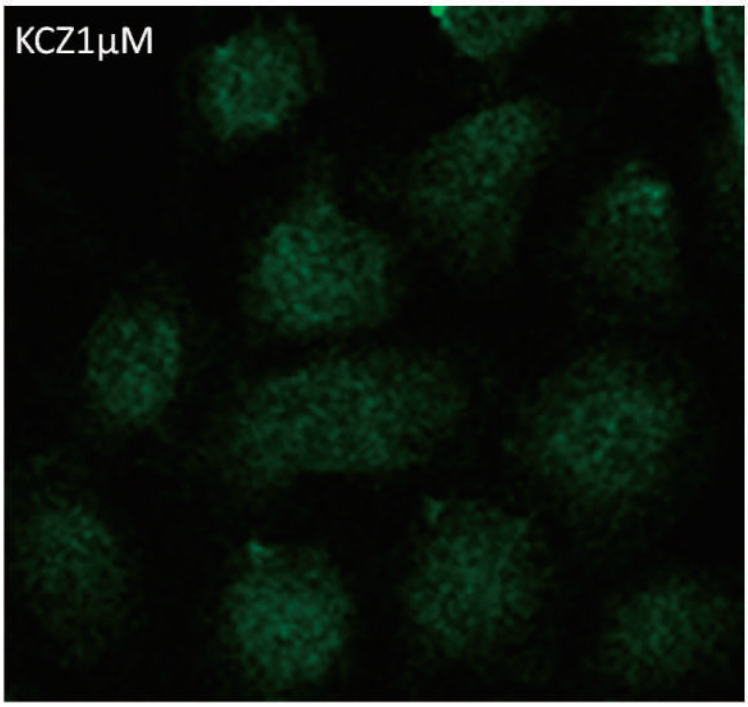


図６A リアルタイム PCR による Nrf2、Nqo1 遺伝子発現の評価

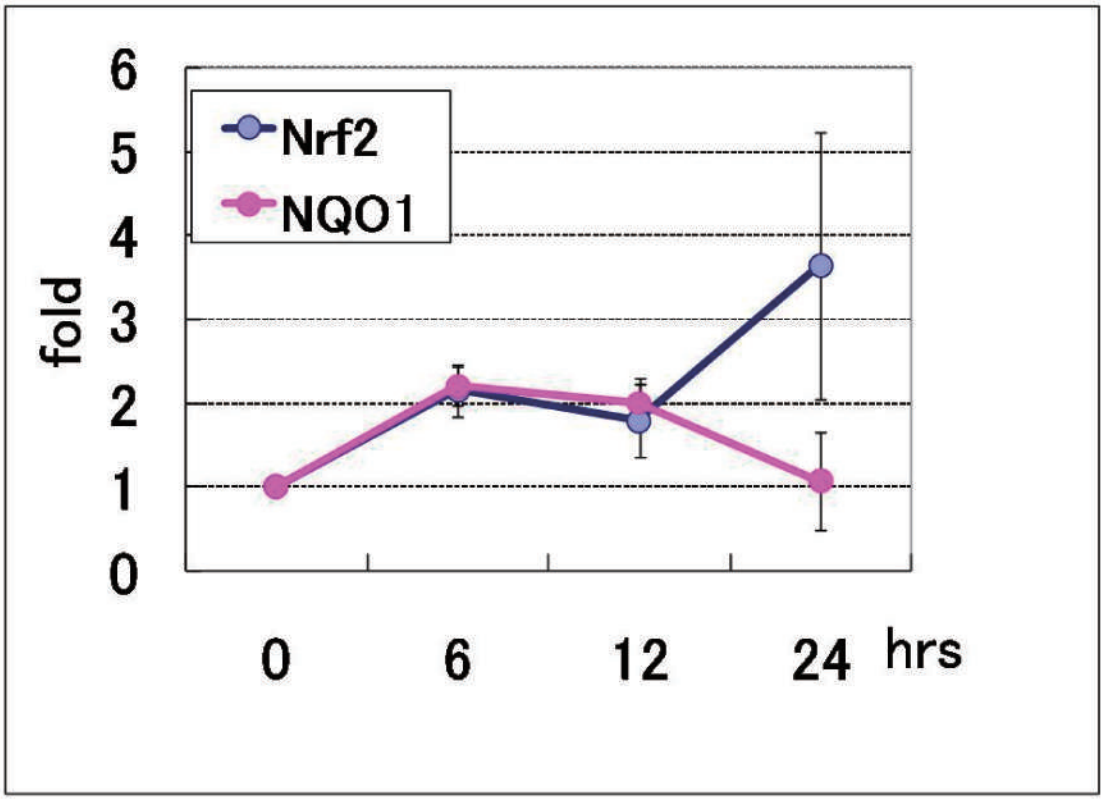


図６B　ウェスタンブロットによる Nrf2、Nqo1 のタンパク量の評価

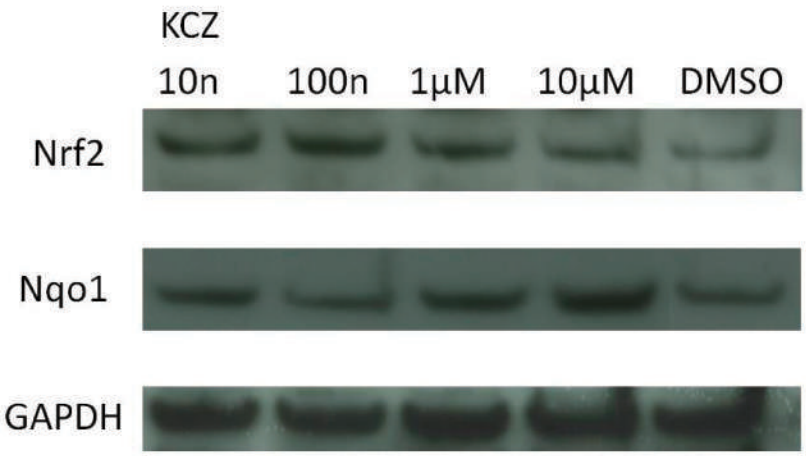


図７A　AhR の Si RNA を遺伝子導入し、AhR の染色性を評価
赤：AhR　青：核染色

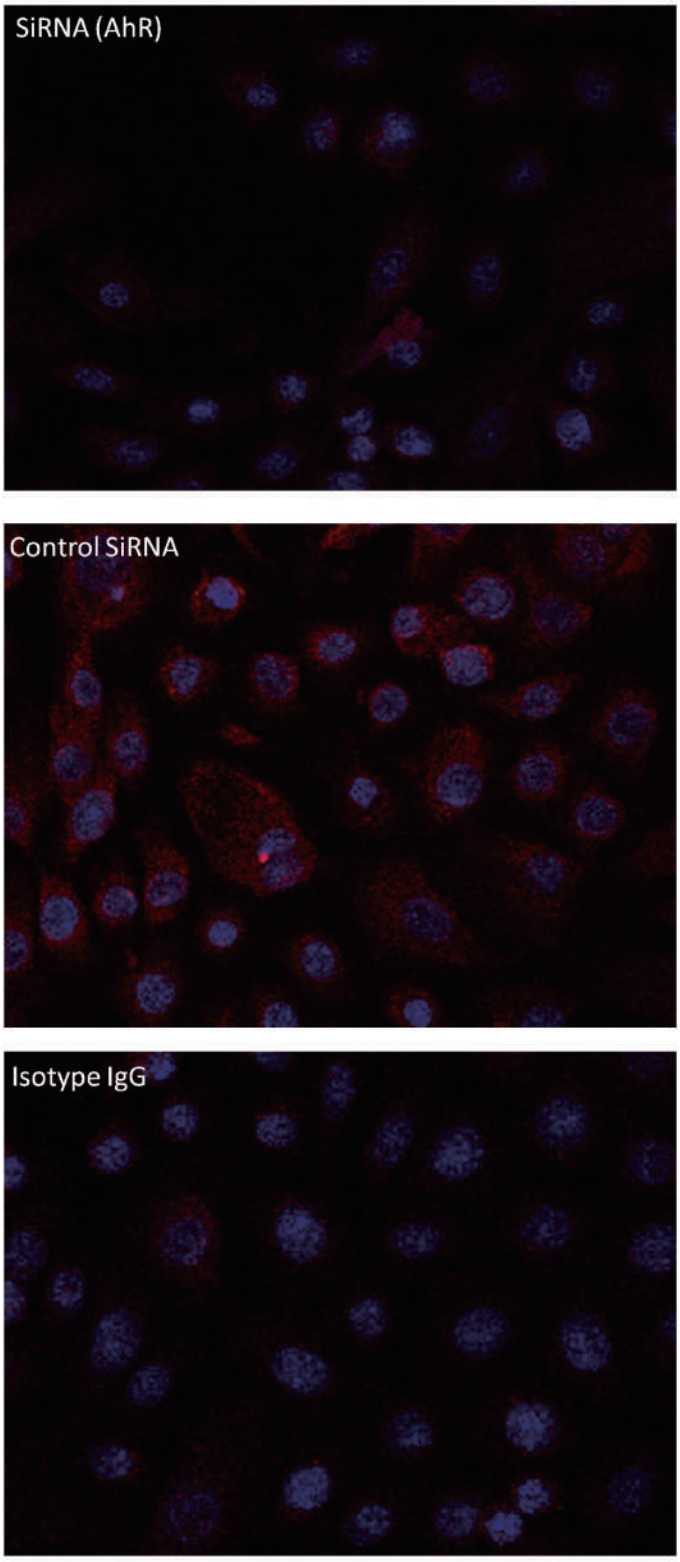


図７B　Nrf2 の細胞内局在

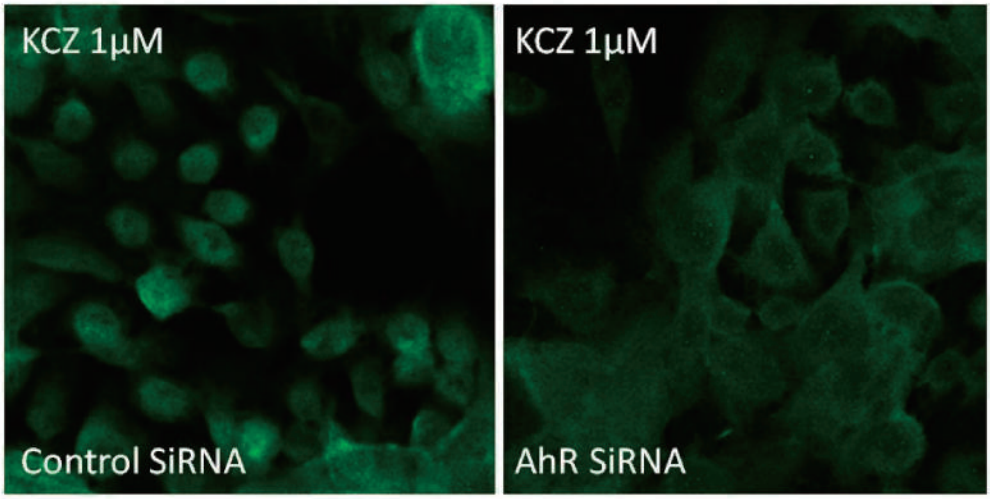
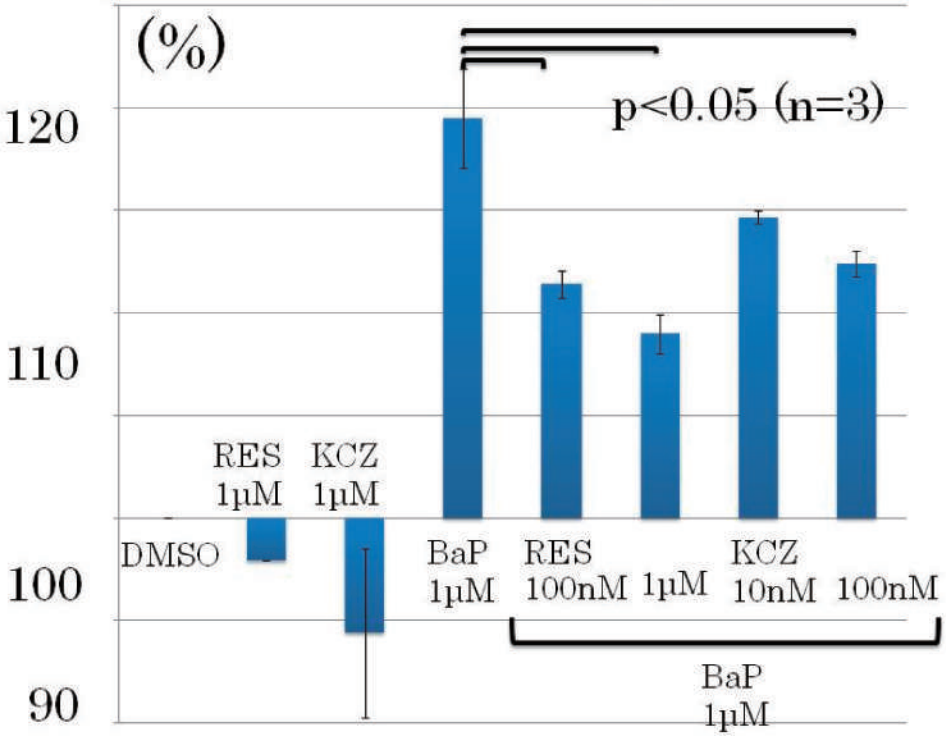
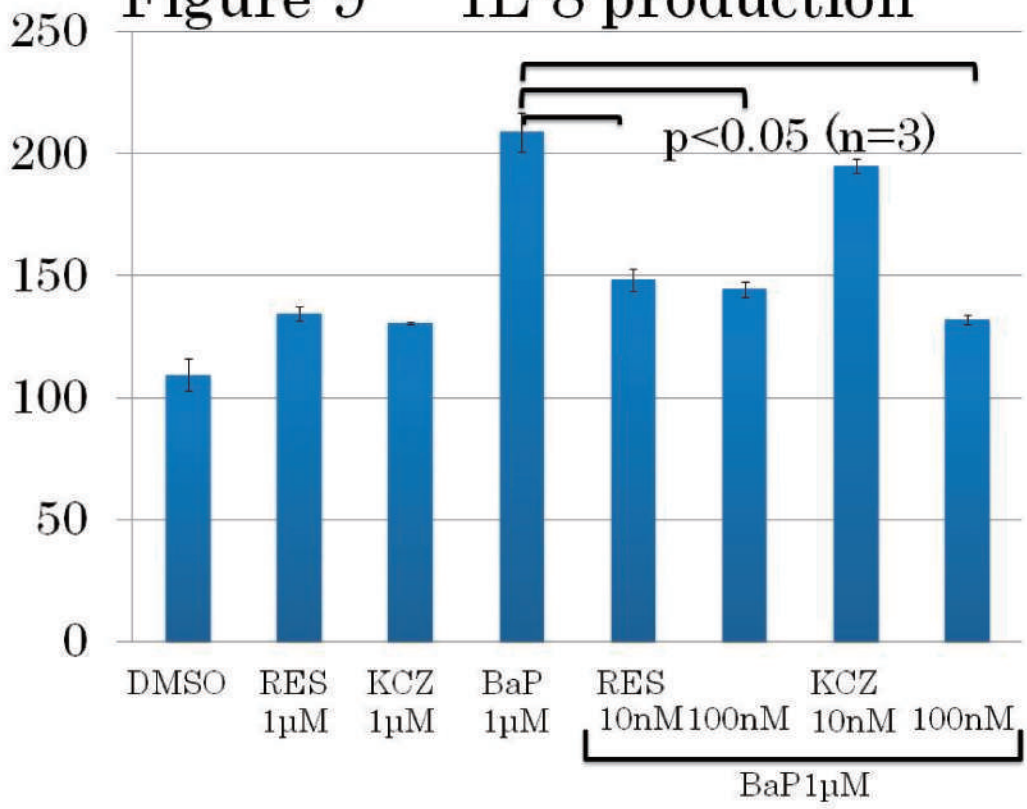


Figure 8　　8-OHdG production



RES : resveratrol

Figure 9　　IL-8 production



分担研究報告書

ダイオキシン受容体（aryl hydrocarbon receptor）シグナルによる気道上皮細胞の機能解析

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・学術研究員
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

研究要旨　ダイオキシン類化合物が気道上皮細胞に与える影響について検討した。ダイオキシン類化合物受容体である Arylhydrocarbon Receptor (AhR)を刺激し、ヒト気道上皮細胞株（NCI-H292）からの接着分子・サイトカイン産生ムチン産生を測定した。AhR 刺激によりヒト気道上皮細胞株からムチン産生の増強が認められた。測定したサイトカイン産生・接着分子には影響を与えなかった。以上より、ダイオキシン類化合物による AhR の活性化が気道粘液産生増強を介し、咳・痰などの呼吸器障害に関与している可能性が示唆された。

A．研究目的

煙草、環境ホルモンや油症による中毒事件で知られているダイオキシン類化合物は、呼吸器系にも種々の作用を及ぼすことが分かっている。肺腫瘍のプロモーター作用の他、近年、慢性閉塞性呼吸器疾患のリスクが高まるという報告もあり、慢性気道炎症性疾患への関与が示唆されている。

事実、喫煙者・油症患者において、咳嗽・喀痰・喘鳴などの気道症状、いわゆる慢性閉塞性気道疾患や慢性気管支炎の症状があらわれることがわかっている[1)]が、ダイオキシン類化合物による呼吸器症状（咳・痰）への関与については不明な点が多い。

本研究の目的は、ダイオキシン類化合物が、呼吸器症状に与える影響について検討することである。特に、咳・痰症状に関与する気道上皮細胞からのムチン産生について検討する。

B．研究方法

１、気道上皮細胞株(NCI-H292)および正常ヒト気道上皮細胞におけるダイオキシン類化合物受容体(AhR)発現

気道上皮細胞株(NCI-H292)および正常ヒト気道上皮細胞の AhR 発現を RT-PCR 法および Western blot 法にて、メッセージ・タンパクレベルで解析を行った。

２、気道上皮細胞株(NCI-H292)からのサイトカイン産生

気道上皮細胞株(NCI-H292)を AhR agonist であるベンゾピレン（BaP）で 24 時間刺激し、その後上清中のサイトカインを cytokine array (ELISA)法で測定した。

３、気道上皮細胞株(NCI-H292)の接着分子 E-cadherin 発現

気道上皮細胞株(NCI-H292)を AhR agonist であるベンゾピレン（BaP）で 24 時間刺激し、その後 E-cadherin 発現を RT-PCR 法および Western blot 法にて、メッセージ・タンパクレベルで解析を行った。

４、気道上皮細胞株(NCI-H292)からのムチン産生

気道上皮細胞株(NCI-H292)を AhR agonist であるベンゾピレン（BaP）で刺激し、その後ムチン発現を real time RT-PCR 法および PAS 染色法にて、メッセージ・タンパクレベルで解析を行った。

（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判断した。

C. 研究結果

１、 気道上皮細胞株(NCI-H292)および正常ヒト気道上皮細胞におけるダイオキシン類化合物受容体(AhR)をメッセージ・タンパクレベルで確認した（図１）

２、気道上皮細胞株(NCI-H292)を AhR agonist であるベンゾピレン（BaP）で 24 時間刺激し、その後上清中の IL-1α、IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-13、IFN-γ、TNF-α、TNF-b、TIMP-1、TIMP-2、VEGF、GM-CSF、MCP-1、MIP-1α、IP-10、GROα、FGF を測定したが、いずれも産生増強は認められなかった。

３、気道上皮細胞株(NCI-H292)を AhR agonist であるベンゾピレン(BaP)で 6、12、24 時間刺激したが、E-cadherin の発現は、メッセージ・タンパクレベルでも変化が認められなかった。

４、AhR agonist であるベンゾピレン（BaP）刺激（6 時間）により濃度依存性に MUC5AC mRNA の発現増強が認められた（図２）。24 時間後には、ムチン（PAS 染色）の産生が増強された（図３）。また、これらの効果は、AhR antagonist である resveratrol によって、抑制された（図４）。

D. 考察

喫煙などによるダイオキシン類化合物の体内摂取が呼吸器系へ様々な悪影響を及ぼすことが報告されている。これまで、喫煙者と慢性気管支炎・閉塞性肺疾患との関連を示唆する報告が数多く報告され、煙草抽出液などを用いた in vivo の実験によりダイオキシン類化合物による気道上皮細胞からのムチン産生増強、炎症性サイトカイン産生、EGFR（表成長因子受容体）活性化などが明らかとなっている[2)3)]。しかし、これまで煙草に含まれるダイオキシン類化合物が、どのようなシグナル経路を介し、呼吸器障害を引き起こすのか不明な点が多かった。今回、我々は、ダイオキシン類化合物受容体(AhR)を刺激することにより、気道上皮細胞からのムチン産生が増強することを確認した。ムチン産生の増強は、気管支喘息・慢性気管支炎・閉塞性肺疾患の発症・増悪因子に関与することが明らかとなっている[4)5)]。喫煙などにより持続的な気道上皮のダイオキシン類化合物受容体(AhR)の活性化がおこり、これら呼吸器疾患の発生・増悪に関与している可能性が示唆された。ただ、ダイオキシン類化合物受容体(AhR)の活性化が、直接的にムチン産生を誘導するのか、何らかのサイトカインや受容体のシグナル活性を介して誘導されるのか、いまだ不明であり現在、そのシグナル経路について検討中である。

E. 結論

AhR 刺激により、気道上皮細胞株からムチン産生の増強が確認されたが、サイトカイン産生・接着分子 E-cadherin 発現には影響を与えなかった。

F. 研究発表

１、学会発表

千葉貴人、辻　学、内　博史、師井洋一、古江増隆　ベンゾピレンによるヒト気道上皮からのムチン産生機構　第 59 回　日本アレルギー学会総会　2009.10.29-31（秋田）

参考文献

１、 小栗一太他：油症研究 30 年の歩み 2004

２、 Baginski TK, Dabbagh K, Satjawatcharaphong C, Swinney DC.

Cigarette smoke synergistically enhances respiratory mucin induction by proinflammatory stimuli. Am J Respir Cell Mol Biol 2006; 35: 165-174

3、 Baginski TK, Dabbagh K, Satjawatcharaphong C, Swinney DC. Cigarette smoke synergistically enhances respiratory mucin induction by proinflammatory stimuli. Am J Respir Cell Mol Biol 2006; 35: 165-174

4、Nadel JA. Role of epidermal growth factor receptor activation in regulating mucin synthesis. Respir Res 2001;2:85-89. Review

5、 Shao MX, Nakanaga T, Nadel JA. Cigarette smoke induces MUC5AC mucin overproduction via tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme in human airway epithelial (NCI-H292) cells. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2004;287:L420-427

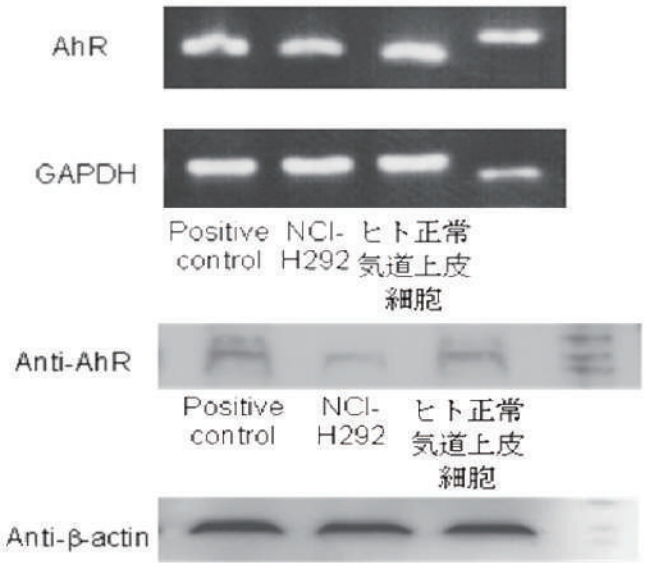

AhR
GAPDH
Positive control
NCI-H292
ヒト正常気道上皮細胞
Anti-AhR
Positive control
NCI-H292
ヒト正常気道上皮細胞
Anti-β-actin

図 1

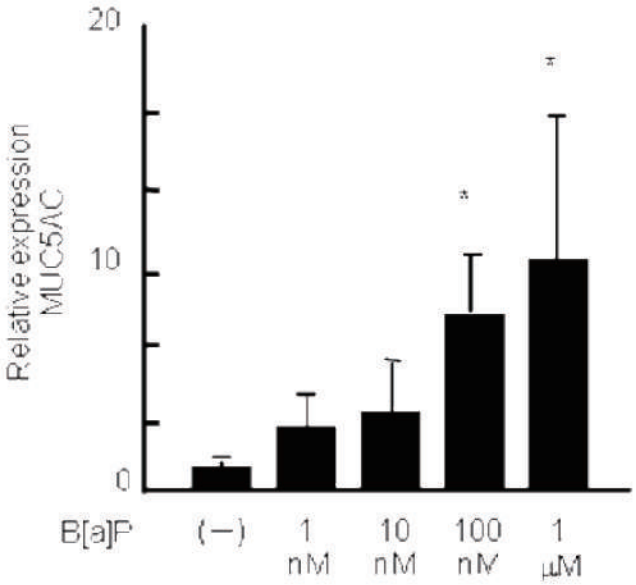

Relative expression MUC5AC
20
10
0
B[a]P
(−)
1 nM
10 nM
100 nM
1 μM
*
*
*

図 2

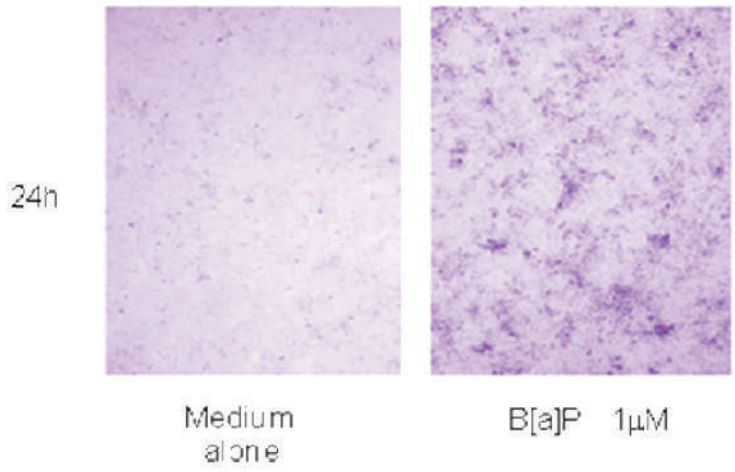

24h
Medium alone
B[a]P 1μM

図 3

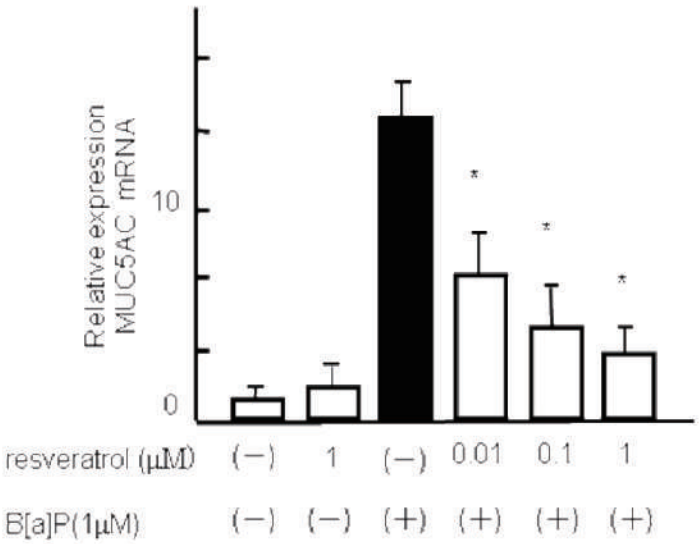

Relative expression MUC5AC mRNA
10
0
*
*
*
resveratrol (μM) (−) 1 (−) 0.01 0.1 1
B[a]P(1μM) (−) (−) (+) (+) (+) (+)

図 4

分 担 研 究 報 告 書

2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル(CB138)のモルモットにおけるin vivo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、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。一方、ヒト肝では代謝物のうち、3'-OH-CB138が特異的に高濃度分布することが報告されている。そこで本研究では、CB138のモルモットにおけるin vivo代謝、すなわちCB138代謝物の血中、肝中および糞中への分布を調べた。その結果、CB138投与後4日目の血清中では3'-OH体と5'-OH-CB85が、また肝中では3'-OH体のみが、さらに4日間の糞中からは3'-OH体と6'-OH-CB105が検出された。しかしながら、2'-OH-CB157はすべての試料で全く検出されなかった。このように各代謝物はそれぞれ分布が異なっていたが、3'-OH体は、特に肝への分布が多かった。この結果から、3'-OH-CB138はモルモットにおいてもヒトと同様に、肝に高い親和性を有することが示唆された。

A. 研究目的

2,4,5-三塩素置換 PCB の CB153、CB138 および CB180 は、ヒトをはじめとする哺乳動物の肝、血液、脂肪組織および母乳などに高濃度蓄積している。特に、ヒト血中では前述の PCB に加え、4-OH-CB187、4-OH-CB146 および 4-OH-CB107 などの 4-OH 体や 3-OH-CB153 や 3'-OH-CB138 などの 3-OH 体も検出されている [1-5]。さらに、Guvenius らによって、3'-OH-CB138 が肝に特異的に高濃度分布することが報告された [6]。

当研究室では、これまでに CB138 のモルモット、ラ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、次のことを明らかにした [7]。まず、①モルモットが最も高い CB138 代謝活性を有すること、また、Fig. 1 に示すように、②4種類の代謝物が生成されること(3'-OH-CB138、2'-OH-CB157, 6'-OH-CB105、5'-OH-CB85)、さらに、③これらの生成にはフェノバルビタール(PB)誘導性のチトクロム P450(P450)が関与することを明らかにした。そこで本研究では、これら CB138 代謝物のモルモットにおける体内分布を調べた。

B. 研究方法

① CB138 の合成:2,4,5-トリクロロアニリンおよび 1,2,3-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、CB138 を含む画分を濃縮後、HPLC に付して精製した(保持時間 42.4 min;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 PCB 投与:実験動物は、Hartley 系雄性モルモット(体重約 290g)5匹を用いた。CB138 をモルモット1匹当たり、10 mg 腹腔内に投与した。本 PCB を 1 匹当たり 10mg 腹腔内に投与した。投与後 4 日間の糞を採取するとともに、4 日目には屠殺して血液および肝を採取した。血液は、血清分離剤にて処理後、分析するまで血清として－

80℃で保管した。肝は摘出後、生理食塩水で灌流後、−80℃で保管した。

③代謝物の分析：肝中代謝物は、肝 1g をアセトン−*n*−ヘキサン(2:1, v/v)でホモジネートして抽出した。また、血中代謝物は血清 0.5 ml に硫酸を加えて酸性にした後、クロロホルム−メタノール(2:1, v/v)および *n*−ヘキサンで抽出した。これらの抽出液はジアゾメタンでメチル化後、GC−ECD および GC−MS に供した。一方、糞中代謝物は糞を乾燥後、粉砕し、糞 5g につきアセトン−*n*−ヘキサン(2:1, v/v)で 16 時間ソックスレー抽出した。抽出液はジメチル硫酸でメチル化後、以下同様に GC−ECD および GC−MS により分析した。代謝物の定量は CB138 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、モルモットの屠殺に際しては、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. 2には、CB138投与後4日目の血清と肝、および投与後4日間の糞に分布する未変化体および代謝物（メチル化）のガスクロマトグラムを示した。以前報告したin vitro代謝物のGC保持時間と比べたところ、未変化体およびM−3 (3'−OH−CB138)は血清、肝および糞のいずれにおいても検出された。また、これら以外に血清ではM−2 (5'−OH−CB85)が、また糞中ではM−1 (6'−OH−CB105)が同時に検出された。一方、M−4（2'−OH−CB157）はいずれの試料中からも、全く検出されなかった。

次に、各代謝物ピークのマススペクトルを測定し、化学構造の確認を行った。M−1とM−2のメチル化体は、いずれも分子量354であることから、両代謝物は塩素が1個脱離したOH体であることが確認された。さらに、M−1およびM−2はそれぞれ特徴的なフラグメントイオン[M^+−50]および[M^+−43]を示したことから、M−1のOH基はオルト位に、またM−2はメタ位に置換されていることが確認された。さらに、M−3（メチル化）は分子量388を有しており、フラグメントイオン[M^+−43]を示したことから、3'−OH−CB138であると推定された。

Table 1には、CB138および各代謝物の定量結果を示す。血清中の未変化体、M−3およびM−2の濃度はそれぞれ0.22、0.17および0.04 nmol/ml serumであった。肝中の未変化体とM−3の濃度はそれぞれ1.87と2.00 nmol/g wet liver であった。なお、投与後4日目の肝に残留していた未変化体の総量は投与量の約0.1％に相当した。一方、糞中の未変化体、M−3およびM−1の濃度は、それぞれ4.30、3.45および1.33 nmol/g dry fecesであった。なお、4日間のCB138未変化体の総排泄量は投与量の約0.3％に相当した。

D. 考察

CB138投与モルモットにおいて、3種類の代謝物が検出されたが、各代謝物はそれぞれ分布パターンが異なっていた。すなわち、3'−OH−CB138は今回測定したすべての試料で検出されたが、投与後4日目では特に肝への分布が多かった。この結果から、3'−OH−CB138はモルモットにおいてもヒトと同様に、肝に高い親和性を有することが示唆された。また、2種類の脱塩素化OH体のうち、5'−OH−CB85は血中に分布していたが、6'−OH−CB105は糞中に排泄されていた。一方、in vitro代謝研究で主代謝物であった2'−OH−CB157 (M−4)は今回全く検出されなかった。この理由として、M−4が生成されていない、あるいは今回調べた組織以外に分布している、などが考えられるが現在のところ不明である。

E. 結論

モルモットにおけるCB138の主代謝物は3'-OH-CB138であり、血中、肝中および糞中に広く分布していたが、ヒトと同様に肝への分布が顕著であった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Y. Kato, K. Haraguchi, M. Kubota, Y. Seto, T. Okura, S. Ikushiro, N. Koga, S. Yamada, and M. Degawa, A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by a TCDD-like PCB congener, 3,3',4,4',5- pentachlorobiphenyl in mice. Drug Metab. Dispos., **38**, 150-156 (2010).

2) Y. Kato, K. Haraguchi, M. Kubota, Y. Seto, S. Ikushiro, T. Sakaki, N. Koga, S. Maeda, S. Yamada, and M. Degawas, 4-Hydroxy-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (4-OH-CB187)-mediated decrease in serum thyroxine level in mice occurs through Increase in accumulation of thyroxine in the liver. Drug Metab. Dispos., **37**, 2095-2102 (2009).

3) 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸, 2,2',5,5'-四塩素化ビフェニル(CB52)のウサギ肝ミクロゾームによる代謝. 福岡医誌, 100, 200-209 (2009).

4) C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo and N. Koga, Metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans. Organohalogen Compounds, **71**, 308-311 (2009).

2. 学会発表

1)「A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by TCDD-like PCB, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in mice.」第29回 国際学会 Dioxin 2009 (BICC, 北京市, 中国) 平成21年8月23～28日

2)「Metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachloro-biphenyl (CB149) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans.」第29回 国際学会 Dioxin 2009 (BICC, 北京市, 中国) 平成21年8月23～28日

3)「2,2',3,4,4',5,5'-七塩素化ビフェニル(PCB180)の動物肝ミクロゾームによるin vitro代謝」フォーラム2009:衛生薬学・環境トキシコロジー(沖縄コンベンションセンター, 沖縄) 2009年11月6, 7日

4)「2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル(PCB138)のモルモットにおけるin vivo代謝」日本薬学会第130年会(岡山市) 平成22年3月28～30日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

1. Å. Bergman, E. Klasson-Wehler and H. Kuroki, *Environ. Health Perspect.*, **102**, 464-469 (1994).
2. C. D. Sandau, P. Ayotte, E. Dewailly, J. Duffe and R. J. Norstrom, *Environ. Health Perspec.*, **108**, 611-616 (2000).
3. B. Fängström, M. Athanasiadou, P. Grandjean, P. Weihe, Å. Bergman, *Environ. Health Perspec.*, **110**, 895-899 (2002).
4. G. M. Sandala, C. Sonne-Hansen, R. Dietz, D. C. Muir, K. Valters, E. R. Bennett, E. W. Born and R. J. Letcher, *Sci. Total Environ.*, **331**, 125-141 (2004).
5. J.-S. Park, L. Linderholm, M. J. Charles, M. Athanasiadou, J. Petrik, A. Kocan, B. Drobna, T. Trnovec, Å. Bergman, I. Hertz-Picciotto, *Environ. Health Perspect.*, **115**, 20-27 (2007).

6. D. M. Guvenius, P. Hassanzadeh, Å. Bergman, K. Noren, Environ. Toxicol. Chem., **21**, 2264-2269 (2002).
7. 古賀信幸, 金丸知代, 大石奈穂子, 加藤善久, 木村良平, 原口浩一, 増田義人, 福岡医誌, **92**, 167-176 (2001).

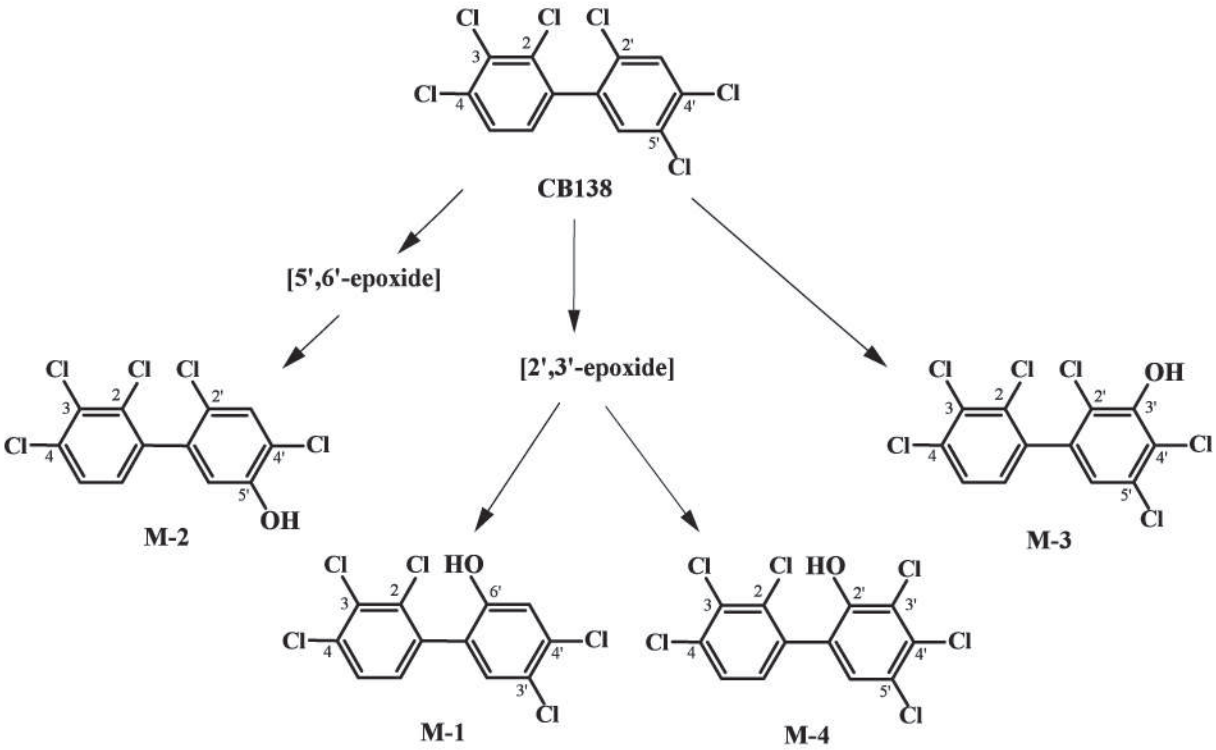


Fig. 1 Postulated metabolic pathways of CB138 in guinea pig liver.

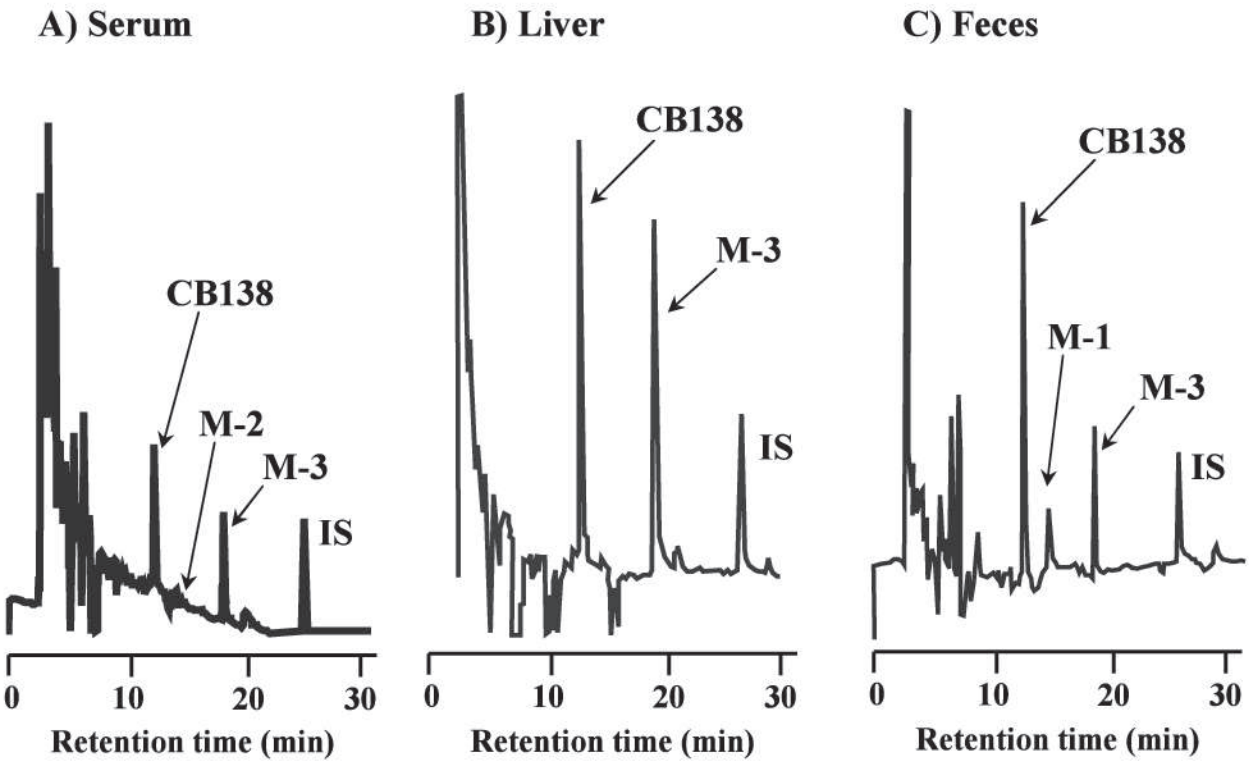


Fig. 2 GC-ECD chromatograms of CB138 and its metabolites extracted from serum (A), liver (B) and feces (C) of guinea pigs given CB138.
2,2',3,3',4,5,5',6,6'-nonachlorobiphenyl (CB208) was used as an internal standard (IS).

Table 1 Mass spectral data and retention times of the methylated derivatives of CB138 metabolites detected in serum, liver and feces of guinea pigs

Metabolite	Molecular weight	Mass spectral data (Relative abundance, %)				Retention time (min) in GC-MS
		$[M^+]$	$[M^+-15]$	$[M^+-43]$	$[M^+-50]$	
Serum						
M-2	354	100	2	38	-	13.81
M-3	388	100	1	38	-	15.08
Liver						
M-3	388	100	6	33	-	15.08
Feces						
M-1	354	100	-	-	80	13.75
M-3	388	100	3	30	-	15.08

Table 2 Distribution of CB138 and its metabolites in serum, liver and feces of guinea pigs 4 days after exposure of CB138

Compound	Serum (nmol/ml serum)	Liver (nmol/g liver)	Feces (nmol/g feces)
CB138	0.22 ± 0.05	1.87 ± 0.35	4.30 ± 0.89
M-1	N.D.	N.D.	1.33 ± 0.46
M-2	0.04 ± 0.01	N.D.	N.D.
M-3	0.17 ± 0.07	2.00 ± 0.22	3.45 ± 0.38

N.D., not detected.

Each value represents the mean ± S.D. of five guinea pigs.

分担研究報告書

α-リポ酸の TCDD 急性毒性に対する効果

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、ダイオキシンの急性毒性に対する α-リポ酸の効果について検証した。6 週令の Wistar 系雄性ラットに α-リポ酸（10 mg、20 mg および 40 mg/kg）を 1 日 1 回、5 日間尾静脈内投与した結果、体重増加や臓器重量に影響は認められなかった。次に、TCDD (30 μg/kg)を経口投与したのち、α-リポ酸（20 mg および 40 mg/kg）を 1 日 1 回、5 日間尾静脈内投与した。その結果、TCDD による体重増加抑制、肝肥大、および胸腺の萎縮に対して α-リポ酸による軽減効果は認められなかった。また、α-リポ酸は、TCDD による芳香族炭化水素受容体の活性化に対して影響を示さなかったが、酸化的ストレスの惹起に対して用量依存的な軽減効果を示した。以上の結果から、α-リポ酸は、ダイオキシンによる酸化的ストレスの抑制に有効であるが、急性毒性を軽減する効果は持たないか、または乏しいことが明らかとなった。

A. 研究目的

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に代表されるダイオキシン類の毒性は、曝露量、曝露時期、性別、あるいは動物種などの違いによって、その内容や程度が変化する。一般に、成熟動物が比較的高用量のダイオキシン曝露を受けた場合、体重増加抑制に代表される wasting syndrome や胸腺・脾臓の萎縮、免疫機能の抑制、発ガンプロモーション作用や脂肪肝の惹起など多岐に亘る影響が引き起こされる（1-3)。これらの発症には、ダイオキシンの結合によって惹起される芳香族炭化水素受容体（aryl hydrocarbon receptor: AhR）の活性化と、それを契機とする機能性タンパク質の発現変動が深く関与すると考えられている（4,5)。また、最近では酸化的ストレスとの関連に注目した研究も展開されている（6,7)。しかし、これらの報告にも関わらず、その詳細については不明な点が多く、有効な対処法は未だ開発されていない。

当研究室におけるこれまでの検討から、TCDD の母体曝露に伴う胎児の後世代影響が、補酵素の一つである α-リポ酸により改善されることが明らかとなった（平成 20 年度総括・分担研究報告書)。この機構については不明な点が多いが、α-リポ酸は抗酸化物質であり、かつエネルギー代謝における補酵素として働くビタミンであることから、いずれかの作用によってダイオキシンの後世代影響に拮抗すると推測される。TCDD の胎児毒性に対し効果を示した α-リポ酸が、成熟動物における急性毒性に対しても効果を有するか否かについては、興味が持たれるところである。

そこで本研究では、ラット成獣におけるTCDD の急性毒性に対する α-リポ酸の効果について検討した。

B. 方法・結果

α-リポ酸による生体への影響と TCDD 投与量の決定

6 週令の Wistar 系雄性ラットを 1 週間ほど馴化したのち、dimethyl sulfoxide (DMSO) に溶解した α-リポ酸を、10、20 および 40 mg/kg/200 μL の用量で尾静脈内投与した。その翌日より 1 日 1 回、5 日間、同量の α-リポ酸を投与し、体重変化を観察した。その結果、いずれの投与群においても投与期間中の体重変化に有意な変化は認められなかった（Fig. 1）。 さらに、最終投与 30 分後における肝臓、脾臓、並びに胸腺の重量を測定したが、いずれの群においても対照群に比べ変化は認められなかった（Table 1）。次に、TCDD の投与量を決定するため、corn oil に溶解した TCDD (30 および 60 μg/kg/2 mL) を経口投与し、その翌日より 1 日 1 回、5 日間、 α-リポ酸の溶媒である DMSO を 200 μL/kg の用量で尾静脈内投与した。その結果、両投与群において、対照群に比べ投与 1 日目より有意な体重増加の抑制、さらに、投与 5 日後における肝肥大と胸腺萎縮が観察された（Fig. 1, Table 1）。しかし、両投与群間におけるこれらの指標に差は認められなかった。TCDD の毒性に対する α-リポ酸の効果の検証において、毒性の過剰発現は、α-リポ酸の効果をマスクしてしまう可能性が考えられる。そこで、TCDD の投与量として、毒性指標に影響が認められた２つの投与量のうち、低用量の 30 μg/kg を、また、α-リポ酸の投与量として、生体への影響が認められなかった 20 と 40 mg/kg を採用した。

TCDD の急性毒性に対する α-リポ酸の影響

6 週令の Wistar 系雄性ラットに α-リポ酸（20 および 40 mg/kg）を尾静脈内投与し、その 30 分後に TCDD 30 μg/kg を経口投与した。その翌日より、同量の α-リポ酸を、1 日 1 回、5 日間尾静脈内投与し、TCDD の毒性指標に対する影響を観察した。その結果、α-リポ酸の併用は、いずれの投与群においても TCDD による体重増加抑制、肝肥大、および胸腺の萎縮に対して軽減効果を示さなかった（Fig. 2, Table 2）。α-リポ酸が、TCDD の急性毒性に対して軽減効果を示さなかった原因として、TCDD による毒性の強度が強かったため、α-リポ酸の効果を上回ってしまった可能性は否定できない。前述のように、ダイオキシン毒性の発現には、AhR の活性化に伴う機能性タンパク質の発現変動や酸化的ストレスの関与が示唆されている（4-7）。そこで、TCDD の毒性発現機構に対する α-リポ酸の影響を明らかにするため、AhR 応答性のタンパク質である cytochrome P450 1A1 の活性の指標である ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) 活性(8)、および酸化的ストレスの指標である thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)値(9)を測定した（測定方法は既報条件を参照）。その結果、TCDD を処理したラットでは、対照群に比べ肝臓における EROD 活性と TBARS 値の有意な上昇が認められた（Fig. 3）。一方、α-リポ酸のみを処理した場合、両指標に変化は認められなかった。TCDD と α-リポ酸を併用した場合、α-リポ酸は、TCDD による EROD 活性の上昇に対して軽減効果を示さなか

った。しかし、TBARS 値は、α-リポ酸 20 mg/kg の併用により軽減傾向を、さらに 40 mg/kg の併用で有意な低下を示した。従って、α-リポ酸は、TCDD による酸化的ストレスの惹起に対して有効であるものの、AhR の活性化に対して影響を及ぼさないことが明らかとなった。

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

本研究では、ダイオキシンによる後世代影響に対して有効性が認められた α-リポ酸を用い、TCDD の急性毒性に対する効果を検討した。その結果、TCDD による体重増加抑制、肝肥大、および胸腺の萎縮に対して α-リポ酸による軽減効果は認められなかった（Fig. 2, Table 2）。また、α-リポ酸は、TCDD による AhR の活性化に対して影響を及ぼさなかったが、酸化的ストレスの惹起に対して用量依存的な軽減効果を示した（Fig. 3）。これは、α-リポ酸の抗酸化作用に起因していると考えられる。以上の結果から、α-リポ酸は、ダイオキシンによる酸化的ストレスの惹起に対して有効であるが、その急性毒性に対して効果を示さないことが明らかとなった。TCDD による後世代影響や急性毒性に対して α-リポ酸の効果に違いが生じた理由は不明である。しかし、一つの可能性として両毒性に対する α-リポ酸の作用点の違いが挙げられる。本検討において、ダイオキシン毒性の発現に最も寄与していると考えられている AhR の活性化に対して、α-リポ酸は影響を与えなかった（Fig. 3）。従って、α-リポ酸の作用点は、AhR 自身ではなく、その活性化の下流のシグナルや機能性タンパク質であると予想される。α-リポ酸は脳下垂体ゴナドトロピンの発現環境や発現因子の亢進を通してホルモン合成を促すのに対し、急性毒性に対しては AhR 活性化のみならずその下流シグナリングに拮抗できないものと考えられる。さらに、α-リポ酸が TCDD の急性毒性に対して効果を示さなかった原因として、投与期間の短さが挙げられる。TCDD の急性毒性に対して軽減効果を有する成分の探索については、これまでにも多くの研究報告がなされている。当研究室においても curcumin（10）、quercetin（11）、および piperine（12）などを用いて検討を行い、TCDD 曝露マウスにおける体重増加抑制に対する抑制作用を明らかにしている。これら食物成分による軽減効果は、投与 10 日目前後より観察される。また、その改善効果にも関わらず、TCDD による肝臓肥大や胸腺・脾臓の萎縮、並びに肝臓の EROD 活性の増加は、いずれも改善されない。同様の傾向は、抗酸化物質である butylated hydroxyanisole（13）やビタミン C（14）を用いた研究においても観察されている。従って、TCDD の急性毒性に対して、5 日間の α-リポ酸の投与では効果が発揮されなかった可能性が考えられる。

今回の研究から、少なくとも TCDD による体重増加抑制、肝肥大、および胸腺の萎縮に対して、肝臓における酸化的ストレスの惹起は寄与が低いと考えられた。しかし、これは、肝臓における TBARS 値の測定結果からのみ推測される仮説であり、他の臓器における影響については不明である。従って、TCDD の急性毒性に対する α-リポ酸の軽減効果を検証するため

には、毒性発現の作用点の解明が不可欠であると共に、投与期間などについても詳細な検討を加える必要がある。

D. 結論

α-リポ酸は、TCDD による体重増加抑制、肝肥大、並びに胸腺の萎縮に対して軽減効果を示さなかった。また、TCDD による AhR の活性化に対しても影響を及ぼさなかった。一方、α-リポ酸は、TCDD による酸化的ストレスの惹起に対して用量依存的な軽減効果を示した。以上の結果から、α-リポ酸は、ダイオキシンによる後世代影響に対しては有効であるものの、急性毒性に対する効果は低いと考えられた。

E. 参考文献

1. Poland, A. and Knutson, J. C., 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 22, 517-554 (1982).
2. Albro, P. W., Corbett, J. T., Harris, M. and Lawson, L. D., Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on lipid profiles in tissue of the Fischer rat. Chem. Biol. Interact., 23, 315-330 (1987).
3. Remillard, R. B. J. and Bunce, N. J., Linking dioxins to diabetes: epidemiology and biologic plausibility. Environ. Health Perspect., 110, 853-858 (2002).
4. 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).
5. Yoon, C. Y., Park, M., Kim, B. H., Park, J. Y., Park, M. S., Jeong, Y. K., Kwon, H., Jung, H. K., Kang, H., Lee, Y. S. and Lee, B. J., Gene expression profile by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in the liver of wild type (AhR+/+) and aryl hydrocarbon receptor-deficient (AhR-/-) mice. J. Vet. Med. Sci., 68, 663-668 (2006).
6. Yoshida, R. and Ogawa, Y., Oxidative stress induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin: application of oxidative stress markers to cancer risk assessment of dioxins. Ind. Health, 38, 5-14 (2000).
7. Hassoun, E. A., Al-Ghafri, M. and Abushabam, A., The role of antioxidant enzymes in TCDD-induced oxidative stress in various brain regions of rats after subchronic exposure. Free Radic. Biol. Med., 35, 1028-1036 (2003).
8. Burke, M. D. and Mayer, R. T., Inherent specificities of purified cytochrome P-450 and P-448 toward biphenyl hydroxylation and ethoxyresorufin deethylase. Drug Metab. Dispos., 3, 245-253 (1975).
9. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem., 95, 351-358 (1979).
10. Ishida, T., Taketoh, J., Nakatsune, E., Kan-o, S., Naito, E., Takeda, S., Mutoh, J., Ishii, Y. and Yamada, H., Curcumin

anticipates the suppressed body weight gain with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice. J. Health Sci., 50, 474-482 (2004).
11. Ishida, T., Naito, E., Mutoh, J., Takeda, S., Ishii, Y. and Yamada, H., The plant flavonoid, quercetin, reduced some forms of dioxin toxicity by mechanism distinct from aryl hydrocarbon receptor activation, heat-shock protein induction and quenching oxidative stress. J. Health Sci., 51, 410-417 (2005).
12. Ishida, T., Ishizaki, M., Tsutsumi, S., Ishii, Y. and Yamada, H., Piperine, a pepper ingredient, improves the hepatic increase in free fatty acids caused by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. J. Health Sci., 54, 551-558 (2008).
13. Hassan, M. Q., Stohs, M. Q. and Murray, W. J., Inhibition of TCDD-induced lipid peroxidation, glutathione peroxidase activity and toxicity by BHA and glutathione. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 34, 787-796 (1985).
14. Hassan, M. Q., Mohammadpour, H., Hermansky, S. J., Murray, W. J. and Stohs, S. J., Comparative effects of BHA and ascorbic acid on the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in rats. Gen. Pharmacol., 18, 547-550 (1987).

F. 研究発表

1. フォーラム 2009：衛生薬学・環境トキシコロジー（沖縄、2009 年 11 月）

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

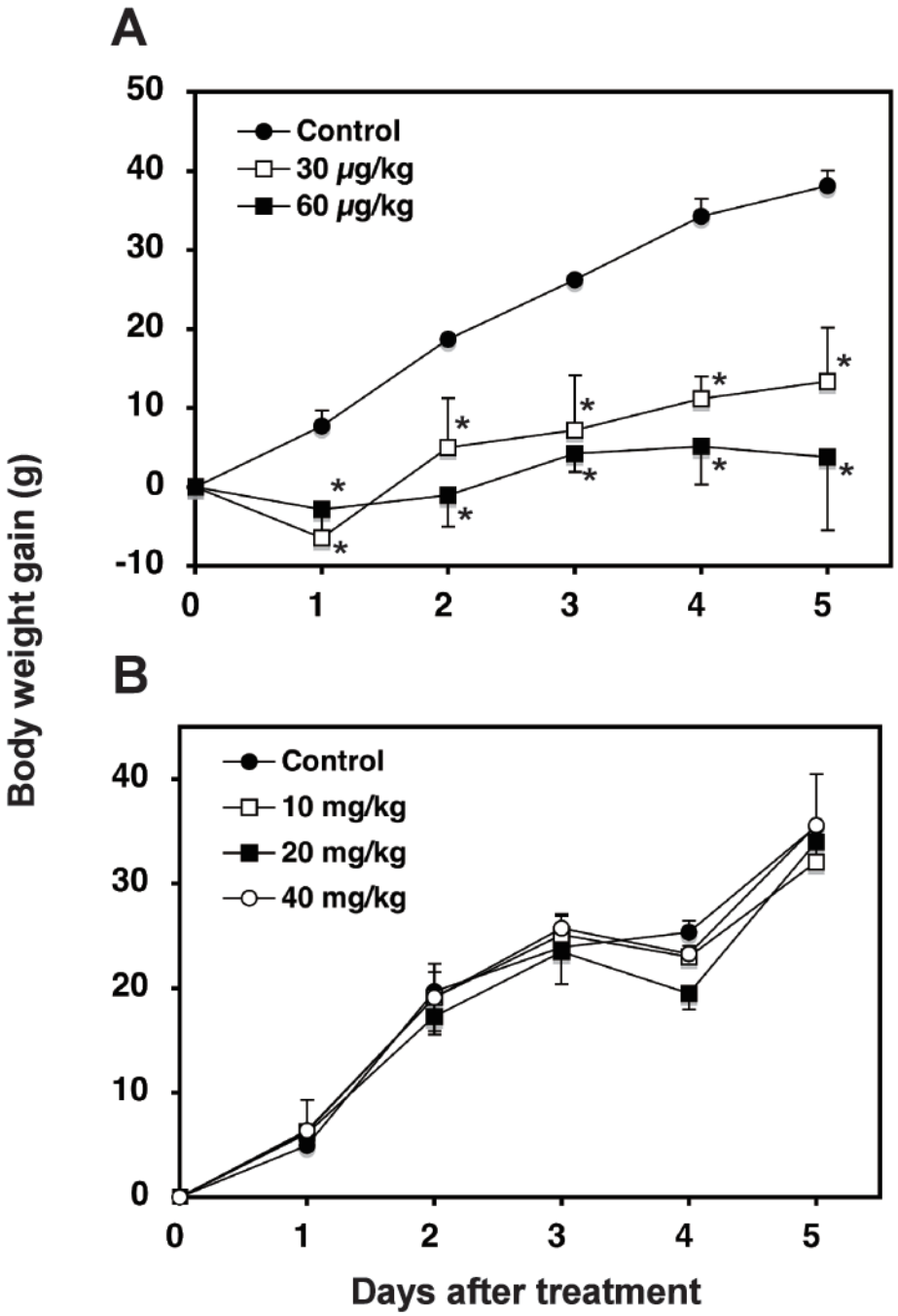


Fig. 1. The effect of TCDD (A) and α-lipoic acid (B) on the body weight gain of rats. The values represent the mean ± S.D. of 3 rats. Significantly different from each control group: *, $p<0.05$.

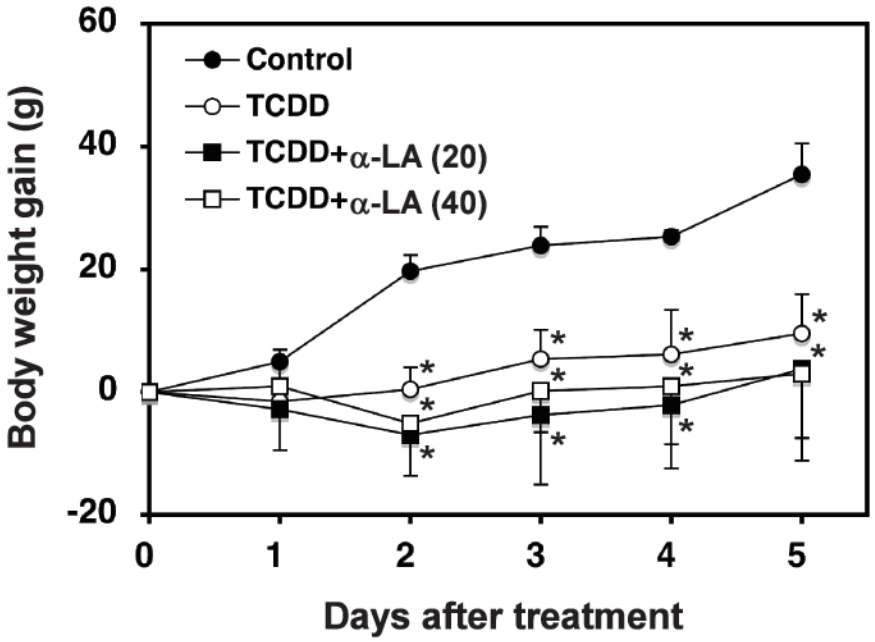


Fig. 2. The effect of α-lipoic acid (α-LA) on the body weight gain of TCDD-treated rats. The values represent the mean ± S.D. of 3 rats. Significantly different from each control group: *, $p<0.05$. α-LA (20): α-LA 20 mg/kg treatment. α-LA (40): α-LA 40 mg/kg treatment.

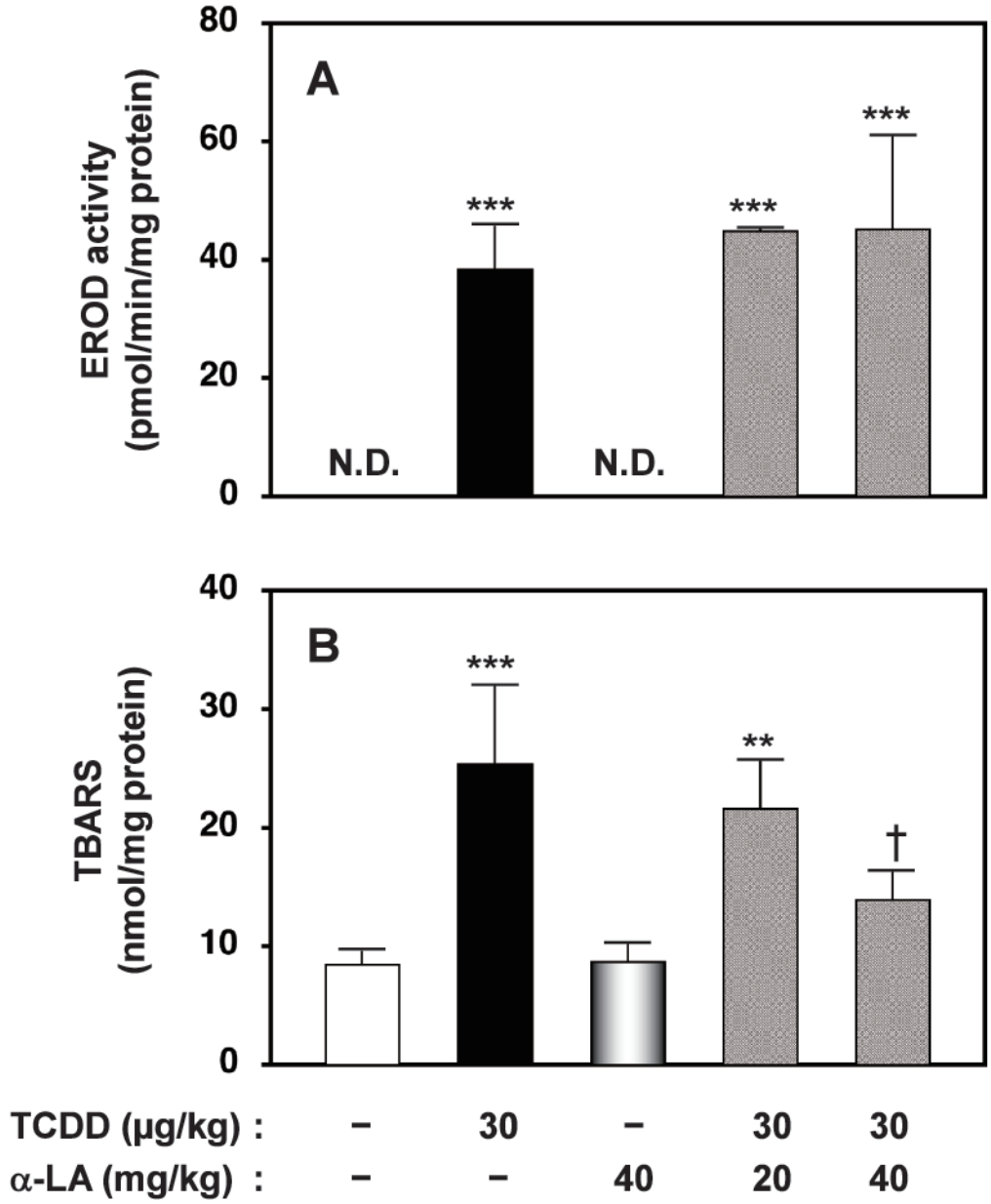


Fig. 3. The effect of a-lipoic acid (a-LA) on hepatic EROD activity (A) and TBARS concentration (B) in TCDD-treated rats. The values represent the mean ± S.D. of 3 rats. Significantly different from each control group: **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$. Significantly different from each TCDD-treated group: †, $p<0.05$.

Table 1. The effect of TCDD and α-lipoic acid (α-LA) on the organ weights of rats.

Treatment	Organ weight (% of body weight)		
	Liver	Spleen	Thymus
Control	4.85 ± 0.15	0.31 ± 0.03	0.26 ± 0.01
TCDD			
30 μg/kg	6.17 ± 0.51*	0.30 ± 0.01	0.13 ± 0.02**
60 μg/kg	6.48 ± 0.55**	0.29 ± 0.02	0.10 ± 0.01**
Control	4.56 ± 0.23	0.27 ± 0.04	0.25 ± 0.05
α-LA			
10 mg/kg	4.36 ± 0.23	0.30 ± 0.04	0.28 ± 0.04
20 mg/kg	4.25 ± 0.22	0.29 ± 0.03	0.24 ± 0.06
40 mg/kg	4.38 ± 0.13	0.32 ± 0.03	0.23 ± 0.01

The values represent the mean ± S.D. of 3 rats. Significantly different from each control group: *, $p<0.05$; **, $p<0.01$.

Table 2. The effect of α-lipoic acid (α-LA) on the changes of organ weights of TCDD-treated rats.

Treatment	Organ weight (% of body weight)		
	Liver	Spleen	Thymus
Control	4.56 ± 0.21	0.27 ± 0.04	0.25 ± 0.04
TCDD	6.35 ± 0.50**	0.27 ± 0.05	0.10 ± 0.02**
TCDD+α-LA			
α-LA (20 mg/kg)	6.49 ± 0.20***	0.30 ± 0.02	0.09 ± 0.01***
α-LA (40 mg/kg)	5.82 ± 0.06**	0.29 ± 0.02	0.09 ± 0.01***

The values represent the mean ± S.D. of 3 rats. Significantly different from each control group: **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$.

分担研究報告書

Resveratrol によるダイオキシン毒性軽減の試み：食物成分の併用に伴う resveratrol の bioavailability への影響

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　赤ワインなどに含まれる食物成分の一つ resveratrol は、ダイオキシンの中毒症状に対して有効であることが明らかとなっている。本研究では、食物成分の併用が resveratrol の生物学的利用率（bioavailability）に及ぼす影響を明らかにするため、ラットを用いて検討を行った。赤ワインの抽出物である赤ワイン効果 R を 5 週令の Wistar 系雄性ラットに経口投与した場合、resveratrol 純品を投与した群に比べ、最高血中濃度が低下する傾向を示し、投与 6 時間後までにおける血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve: $AUC_{0\sim6}$）が有意な低下を示した。同様の傾向は、エタノールと resveratrol を併用した場合においても観察された。以上の結果から、その機構については不明であるが、赤ワイン中のポリフェノールやエタノールは、resveratrol の bioavailability を軽減させる因子となりうることが明らかとなった。

A. 研究目的

当研究室における以前の検討から、食物ポリフェノールの一つである resveratrol が、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 曝露による体重増加や脂肪肝に対して有効であることが明らかになっている(1)。さらに最近、Jang らは、resveratrol が TCDD による催奇形性に対して有効であることを明らかにした (2)。これらの事実は、resveratrol が、TCDD の毒性の一部に対して有効であること意味している。この resveratrol によるダイオキシン毒性の軽減機構については未解明な点が多い。しかし、resveratrol は、ダイオキシン毒性の発現に重要である芳香族炭化水素受容体の活性化に対する antagonist 様作用 (3,4)、並びに抗酸化的ストレス作用 (5,6) を有しているとの報告があることから、これらの作用が関与している可能性が高いと考えられている。Resveratrol の代謝速度は速く、経口投与 1~2 時間以内に未変化体の血中濃度はほぼ消失する（7）。Resveratrol の臨床応用を考える上でこの問題は極めて重要であり、事実、bioavailability の改善は、ダイオキシン毒性軽減効果の増強につながる (1)。従って、resveratrol の bioavailability の改善、並びにその毒性軽減機構の解明は、ダイオキシン中毒症状に対する治療薬の開発に向け非常に有効であると考えられる。

食物成分の bioavailability は、投与経路、投与量、さらに共に摂取する成分との相互作用により変化する。例えば、resveratrol の投与方法を経口投与から経皮吸収に変

更した場合、bioavailability は大きく改善される（平成 20 年度　総括・分担研究報告書）。しかし、経皮吸収の場合、その吸収が不安定であり、かつ動物種差が大きいことから、油症患者などを対象にした臨床応用に向け未だ多くの課題を残している。一方、経口的な投与は、食事などの共雑物質による影響や腸管における初回通過効果の改善など解決すべき問題が多いものの、確実な bioavailability を得ることのできる方法の一つである。そこで、本検討では、resveratrol を含む食品の一つである赤ワインをモデルとして、経口投与時における共雑物質が resveratrol の bioavailability に対して及ぼす影響について検討した。

B. 研究方法

検討に用いた赤ワイン抽出物は、メディエンス株式会社より供与された（赤ワイン効果 R、Resveratrol 5.4% 含有）。5 週令の Wistar 系雄性ラットに 20% (2-Hydroxypropyl)-b-cyclodextrin 水溶液に溶解した赤ワイン効果 R を 556 mg/kg/4 mL（resveratrol 量に換算した場合、30 mg/kg/4 mL）の用量で経口投与した。対照群には、同溶媒に溶解した精製 resveratrol を 30 mg/kg/4 mL 経口投与した。0.1% EDTA を加えたサンプルチューブ中に経時的に尾部より約 750 µL 採血したのち、2,000 r.p.m. x 15 分間遠心分離して血漿を調製した。分取した血漿 50 µL に内標準物質である 7-ethoxycoumarin (10 µg/mL) を 10 µL 添加し、酢酸エチル 100 µL を加え撹拌したのち、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たのち、残渣をメタノール 100 µL に溶解して HPLC 用のサンプルとした。HPLC の分析条件は次の通り。

装置： intelligent pump（日立製作所株式会社製 model L-7100）、UV 検出器（日立製作所株式会社製 model L-2400）、オートサンプラー（日立製作所株式会社製 model L-7200）、data integrator（日立製作所株式会社製 model D-2500）

カラム：YMC Pak C8 (6 mm x 100 mm i.d., 10 µm)（株式会社 YMC 製）

プレカラム：Nova-Pack C18 を含む Guard-Pak™ precolumn module（ウォーターズ 株式会社製）

移動相：1% 酢酸を含む 50% methanol

流速：2 mL/min

検出波長：303 nm

なお、この条件下における精製 resveratrol と内標準物質である 7-ethoxycoumarin の保持時間は、それぞれ 3.40 分と 8.20 分であった。また、精製 resveratrol の検量線は、4.0 µg/mL まで直線性が保たれていた。

次に、resveratrol の吸収におけるアルコールの影響を検討した。5 週令の Wistar 系雄性ラットに、20% (2-Hydroxypropyl)-b-cyclodextrin を含む 10% エタノール溶液に溶解した resveratrol（7.5 mg/mL）を 30 mg/kg/4 mL 経口投与した。対照群には、エタノールによるカロリー摂取量の増加を考慮して、20% (2-Hydroxypropyl)-b-cyclodextrin を含む 0.39 M スクロース溶液を溶媒として（エタノール：1 g＝7 kcal, スクロース：1 g＝4 kcal として計算）、同量の resveratrol を溶解して投与した。投与後、経時的に採血を行い、上記と同様の方法で resveratrol の血中濃度を測定した。なお、HPLC の分析条件等は、上記の内容と同とした。

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. 研究結果

精製 resveratrol を経口投与した場合、その血中濃度は、投与 10 分後に最高血中濃度に達し、1 時間後にその約 10 分の 1 に低下した（Fig. 1(A)）。その後、6 時間後まで、resveratrol の血中濃度に顕著な変動は認められなかった。これに対し、赤ワイン効果 R を投与した群では、同様の血中濃度の推移が観察されたが、投与 10 分後における最高血中濃度と投与 2 時間後以降における血中濃度が、精製 resveratrol 投与群に比べ低くなる傾向にあった（Fig. 1(B)）。投与 6 時間までにおける血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積（area under the curve: $AUC_{0\sim6}$）、初回吸収後の消失速度定数（ke）、および半減期（$t_{1/2}$）を算出した結果、赤ワイン効果 R 投与群の $AUC_{0\sim6}$ と ke において、対照群に比べ有意な低下、並びに低下傾向がそれぞれ観察された（Table 1）。

Resveratrol の吸収におけるアルコールの影響の検討において、対照群（スクロース併用群）における resveratrol の血中濃度は、投与 10 分後に最高血中濃度に達したのち、1 時間後にかけて減少しそのほとんどが消失した（Fig. 2(A)）。さらに、投与 6 時間後において resveratrol の未変化体は血中よりほぼ消失していた。これに対し、エタノールを併用した場合、投与 6 時間後までにおける resveratrol 血中濃度の推移は、対照群とほぼ同じであった（Fig. 2(B)）。しかし、投与 1 時間後における最高血中濃度は、対照群に比べ低下する傾向が認められた。投与 6 時間までにおける $AUC_{0\sim6}$、ke、および $t_{1/2}$ を算出した結果、エタノール併用群の $AUC_{0\sim6}$ と ke において、対照群に比べ有意な低下、並びに増加傾向が認められた（Table 1）。

D. 考察

本検討では、赤ワイン抽出物中の resveratrol、およびエタノールの併用時における resveratrol の bioavailability への影響を観察した。その結果、いずれの場合も、bioavailability は精製品を投与した場合より低下することが明らかとなった。本検討で用いた赤ワイン抽出物中に存在する成分の詳細については不明である。しかし、赤ワイン中にはカテキン、エピカテキン、ケルセチン、およびルチンなどのポリフェノール類が含まれており、これらは他の食品からでも摂取可能なものである。従って、通常の食事等から摂取される成分によって、resveratrol の bioavailability が抑制されることが示唆された。

一般的な概念として、経口投与後の血中濃度の推移は、腸管における吸収速度や吸収後の代謝速度等の要素により決定される。赤ワイン効果 R を投与した場合、吸収後の消失速度定数は、精製品投与群に比べむしろ低下する傾向を示した（Table 1）。従って、赤ワイン効果 R による血中濃度の低下は、resveratrol の代謝速度の亢進というより、吸収効率の低下に起因している可能性が考えられる。Resveratrol の細胞内への取り込み機構ついては不明な点が多いが、受動的な拡散、並びにある種の carrier の関与が示唆されている（8）。先に述べたように、赤ワイン中には多くのポリフェノール類が存在しており、これらも resveratrol と同様の機構を介して吸収されることが予想される。従って、赤ワイン

効果 R を投与した場合、他のポリフェノールが存在することによる resveratrol の受動拡散の飽和、もしくは resveratrol と他のポリフェノールとの carrier に対する競合が生じ、これが resveratrol の吸収を低下させた可能性が考えられる。一方、ポリフェノールの多くは第二相反応による代謝を受けるため、主にグルクロン酸抱合や硫酸抱合を受ける resveratrol （7）の代謝と競合することも予想される。しかし、これが生起すれば、resveratrol の代謝速度が低下して血中濃度は増加しなければならない。本検討ではそのような結果は得られなかった。この矛盾の原因については不明であるが、ポリフェノールが競合反応を発揮する濃度に達していなかった可能性が考えられる。

エタノールとの併用においても、resveratrol の bioavailability は有意に低下した（Table 1）。しかし、赤ワイン効果 R 投与時とは異なり、初回吸収後の ke の値は、対照群に比べ増加傾向を示した。従って、エタノール併用時における血中濃度の低下は、吸収の阻害よりむしろ代謝の促進に起因している可能性が考えられる。この点に関して、エタノールは、肝臓におけるグルクロン酸転移酵素を誘導することが報告されている（9,10）。ただ、エタノールによる酵素誘導に一定の時間を要することを考えると、これをレスベラトロール代謝率亢進の主要な機構とするのには問題もある。

Resveratrol が、ダイオキシン毒性に対して有効であるという事実は、これまでの研究報告より明らかである。しかし、臨床応用を考えた場合、食事などから摂取される他の食物成分との相互作用の回避は重要な課題の一つである。本検討では、resveratrol を容易に摂取することが可能である赤ワインをモデルとして、resveratrol の bioavailability に対する含蓄成分の影響を検討した。このような基礎的な研究は、臨床応用に向け今後も必要であろうと考えられる。

E. 結論

赤ワイン抽出物を経口投与した場合、resveratrol の bioavailability は、resveratrol のみを摂取した場合に比べ有意に低下した。さらに、エタノールと resveratrol を併用した場合も、その bioavailability は有意な低下を示した。以上の結果から、resveratrol の bioavailability は他の食物成分による影響を受けることが明らかとなった。

F. 参考文献

1. Ishida, T., Takeda, T., Koga, T., Yahata, M., Ike, A., Kuramoto, C., Taketoh, J., Hashiguchi, I., Akamine, A., Ishii, Y. and Yamada, H., Attenuation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin toxicity by resveratrol: A comparative study with different routes of administration. Biol. Pharm. Bull., 32, 876-881 (2009).
2. 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).
3. 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).
4. 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).
5. Frankel, E. N., Waterhouse, A. L. and Kinsella, J. E., Inhibitory of human LDL oxidation by resveratrol . Lancet, 341, 1103-1104 (1993).
6. 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).
7. Yu, C., Shin, Y. G., Chow, A., Li, Y., Kosmeder, J. W., Lee, Y. S., Hirschelman, W. H., Pezzuto, J. M., Mehta, R. G. and Breemen, R. B., Human, rat, and mouse metabolism of resveratrol. Pharmaceut. Res., 19, 1907-1914 (2002).
8. Lançon, A., Delmas, D., Osman, H., Thénot, J. P., Jannin, B. and Latruffe, N., Human hepatic cell uptake of resveratrol: involvement of both passive diffusion and carrier-mediated process. Biochem. Biophys. Res. Commun., 316, 1132-1137 (2004).
9. Kardon, T., Coffey, M. J., Bånhegyi, G., Conley, A. A., Burchell, B., Mandl, J. and Braun, L., Transcriptional induction of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase by ethanol in rat liver. Alcohol, 21, 251-257 (2000).
10. Kardon, T., Mile, V., Bånhegyi, G., Csala, M., Burchell, B., Mandl, J. and Braun, L., Ethanol-dependent induction of bilirubin UDP-glucuronosyl-transferase in rat liver is mediated by Kupffer cells. Life Sci., 70, 1205-1212 (2002).

G. 研究発表

1. 日本薬学会第 130 年会（岡山、2010 年 3 月）

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

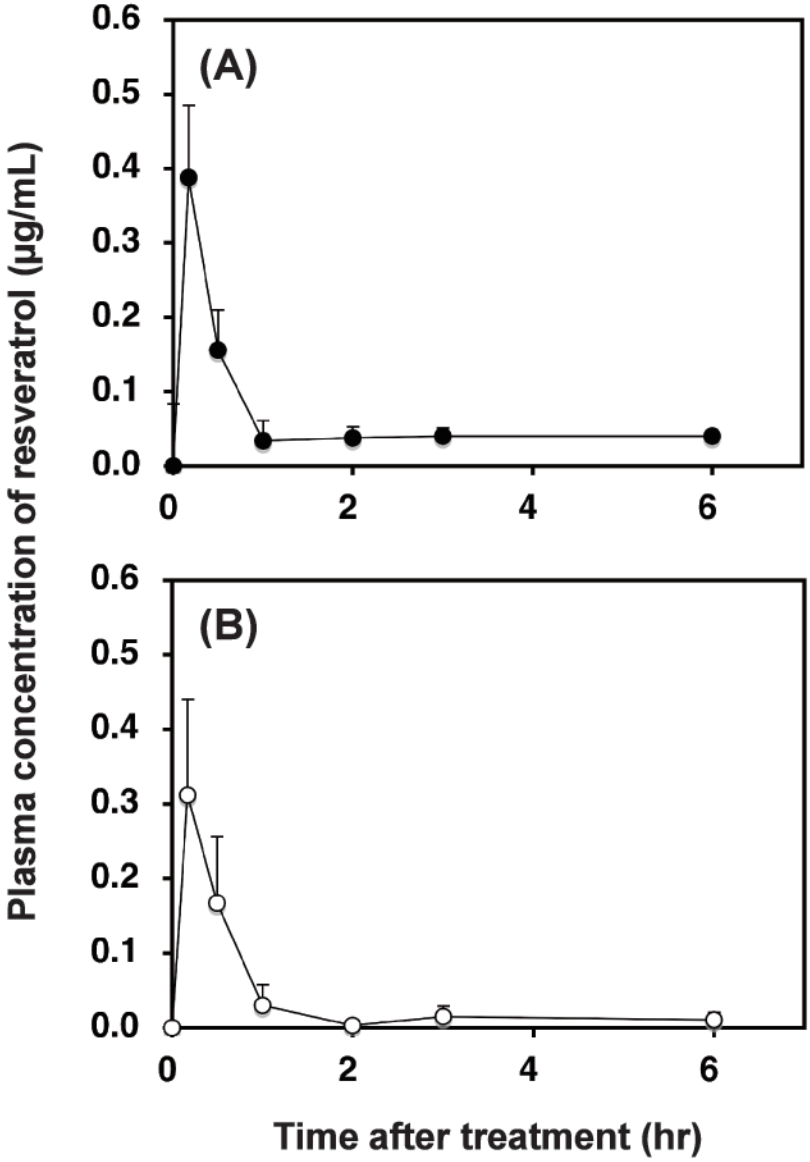


Fig. 1. Change in the concentration of resveratrol in rat plasma following oral administration of resveratrol (A), or red wine extract (B). The values represent the mean ± S.D. (5 rats).

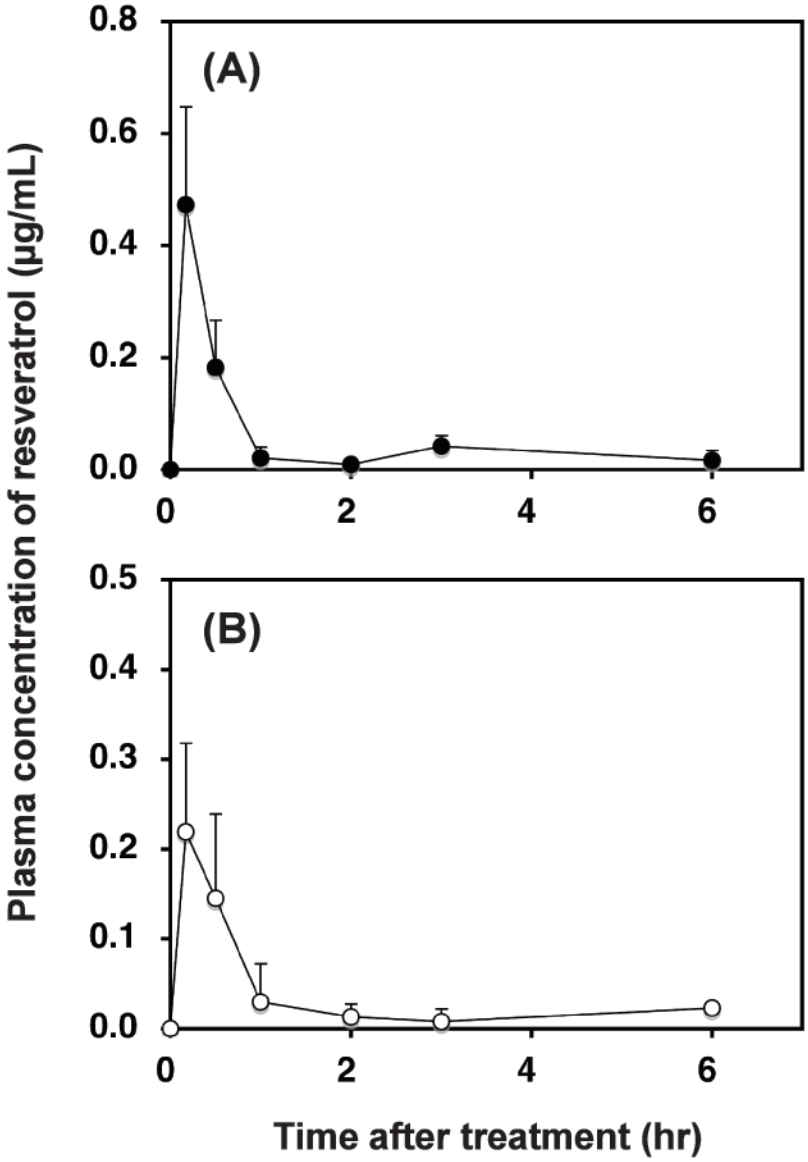


Fig. 2. Change in the concentration of resveratrol in rat plasma following oral administration of resveratrol with sucrose (A), or resveratrol with ethanol (B). The values represent the mean ± S.D. (3 rats).

Table 1. Pharmacokinetics parameters of resveratrol given by oral administration with or without other food ingredients.

Treatment	Pharmacokinetics parameters		
	$AUC_{0\sim6}$ (μg•hr/mL)	ke	$t_{1/2}$ (hr)
Experiment 1			
Resveratrol (30 mg/kg)	0.37 ± 0.11	3.87 ± 1.31	0.21 ± 0.11
Red wine extract (555.6 mg/kg)	0.22 ± 0.07*	2.86 ± 0.72	0.25 ± 0.07
Experiment 2			
Resveratrol (30 mg/kg) + 21.9 mM Sucrose	0.33 ± 0.05	2.86 ± 0.61	0.25 ± 0.05
Resveratrol (30 mg/kg) + 10% EtOH	0.20 ± 0.06*	3.46 ± 2.13	0.27 ± 0.19

The pharmacokinetics parameters were obtained by non-compartmental analysis. The values represent the mean ± S.D of 5 (Experiment 1) or 3 (Experiment 2) rats. Significantly different from each control group: *, $p<0.05$. $AUC_{0\sim6}$, area under the curve from 0 to 6 hour after treatment; ke, elimination rate constant; $t_{1/2}$, elimination half-life.

研究成果の刊行に関する一覧表

※ 厚生労働科学研究費の補助を受けたことが明記されたもの

【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

【厚生労働科学研究費により刊行】
古江増隆，赤峰昭文，佐藤伸一，山田英之，吉村健清　編
「油症研究Ⅱ－治療と研究の最前線－」，九州大学出版社，福岡市，2010，3-249

第1部 生体濃度

第1章　油症検診での血液中化学物質（PCB，PCQ，PCDF）の濃度測定法の開発と変遷
飯田隆雄，戸高尊… 3-13

第2章　油症検診受診者における血液中PCB 濃度の測定
堀就英… 14-28

第3章　油症検診受診者における血液中PCQ濃度の測定
中川礼子… 29-33

第4章　油症患者の血液中PCDF 濃度の測定
梶原淳睦… 34-39

第4章補論　長崎県における油症患者の血液中PCB・PCQ濃度の測定
山之内公子… 40-45

第5章　油症検診データベース　―システムの構築と変遷―
片岡恭一郎，髙尾佳子，小野塚大介，吉村健清… 46-59

第6章　全国油症検診結果の総括
片岡恭一郎，髙尾佳子，小野塚大介，吉村健清… 60-71

第7章　油症患者におけるPeCDF の残留濃度と半減期
松本伸哉，赤羽学，神奈川芳行，小池創一，今村知明… 72-78

第8章　全国油症検診受診者における2，3，4，7，8-五塩化ジベンゾフラン（PeCDF）レベルの時間変化
徳永章二… 79-88

第9章　胎児性油症の原因物質もポリ塩化ダイベンゾフラン
長山淳哉… 89-95

第2部 臨床

第1章　油症診断基準改訂（2004年）の経緯
古江増隆，三苫千景，内博史… 99-103

第2章　油症患者における血中PeCDF 値と症状や血液検査等との関係
神奈川芳行，松本伸哉，赤羽学，小池創一，今村知明… 104-114

第3章　油症患者における骨・関節症状の実態
岩本幸英，福士純一… 115-119

第4章　油症における産科・婦人科系の異常
月森清巳，諸隈誠一，大寺由佳… 120-129

第5章　油症における内分泌機能と免疫機能
辻　博… 130-138

第6章　油症患者の死因分析
小野塚大介，吉村健清… 139-143

第７章　油症における酸化ストレス
清水和宏… 144-148

第8章　油症におけるクレアチンキナーゼ
吉村俊朗，中野治郎，沖田実，北村喬… 149-172

第9章　油症における皮膚症状　―特に血中ダイオキシン類濃度との関連性について―
内博史，三苫千景，古江増隆，中山樹一郎… 173-182

第3 部 基礎研究
第1章　ダイオキシンの後世代影響とその機構
山田英之，石井祐次，石田卓巳… 185-191

第2章　ダイオキシン毒性を軽減する物質の探索　―食用食物成分を中心として―
石田卓巳，石井祐次，山田英之… 192-199

第3章　高残留性PCB 類の代謝および代謝物の毒性評価
古賀信幸，太田千穂… 200-218

第4部 治療
第1章　油症に対する漢方治療
内博史，徳永章二，三苫千景，古江増隆… 221-227

第2章　玄米発酵食品の摂取による油症原因物質の体外排泄促進
長山淳哉… 228-235

［特別寄稿］　子どもの健康と環境に関する全国調査（エコチル調査）について
塚本直也，丹藤昌治… 239-249

【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，

【厚生労働科学研究費により刊行】
油症研究報告２２集（福岡医学雑誌 特集号）福岡医学雑誌，100(5) ： 111-216，2009.

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(第七報)
橋口勇，吉嶺嘉人，前田英史，後藤康治，藤井慎介，友清淳，吉田桐枝，西垣奏一郎.
福岡医学雑誌，100(5) ： 111-117，2009.

2005-2007 年度の福岡県年次検診における皮膚症状
三苫千景，内博史，中山樹一郎，旭正一，古江増隆.
福岡医学雑誌，100(5) ： 118-123，2009.

油症認定患者血清中抗 SS-A 抗体，抗 SS-B 抗体の検討
穐山雄一郎，小川文秀，清水和宏，佐藤伸一.
福岡医学雑誌，100(5) ： 124-126，2009.

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
内博史，古江増隆.
福岡医学雑誌，100(5) ： 127-130，2009.

油症における末梢血リンパ球亜集団の検討
辻　博
福岡医学雑誌，100(5) ： 131-135，2009.

カネミ油症検診者の骨密度と PCB，PCQ，PCDF
吉村俊朗，中野治郎，枡田智子，徳田昌紘，榊原淳，片岡英樹，沖田実.
福岡医学雑誌，100(5) ： 136-140，2009.

油症などにみられる PCB，PCDF の人体に対する毒性影響
増田義人
福岡医学雑誌，100(5) ： 141-155，2009.

平成 16 年から 19 年度におけるカネミ油症検診者の血液中ポリ塩化ビフェニール濃度
戸高尊，堀就英，安武大輔，吉冨秀亮，平川博仙，小野塚大介，梶原淳睦，飯田隆雄，吉村健清，古江増隆.
福岡医学雑誌，100(5) ： 156-165，2009.

2001 年度～2004 年度に血中 PeCDF 値を測定したカネミ油症認定患者の血液検査等の集計結果とその関係に関する研究
神奈川芳行，松本伸哉，赤羽学，小池創一，吉村健清，内博史，古江増隆，今村知明.
福岡医学雑誌，100(5) ： 166-171，2009.

油症患者における PeCDF 半減期の推定および二つの再吸収機構を考慮した排泄シミュレーション
赤羽学，松本伸哉，神奈川芳行，梶原淳睦，戸高尊，平川博仙，小池創一，古江増隆，今村知明.
福岡医学雑誌，100(5) ： 172-178，2009.

油症患者の保存さい帯(へその緒)中のダイオキシン類濃度
梶原淳睦，戸高尊，平川博仙，堀就英，安武大輔，中川礼子，飯田隆雄，長山淳哉，吉村健清，古江増隆.
福岡医学雑誌，100(5) ： 179-182，2009.

保存さい帯(へその緒)を利用した油症被害者の PCB 汚染評価に関する検討
宮田秀明，青笹治，中尾晃幸，太田壮一
福岡医学雑誌，100(5) ： 183-191，2009.

発酵玄米健康補助食品摂取による油症原因物質の体外排泄促進 -PCDFs と PCDDs の場合-
長山淳哉，平川博仙，梶原淳睦，飯田隆雄，戸高尊，上ノ土武，柴田智子，辻博，岩崎輝明.
福岡医学雑誌，100(5) ： 192-199，2009.

2,2',5,5'-四塩素化ビフェニル(CB52)のウサギ肝ミクロゾームによる代謝
太田千穂，原口浩一，加藤善久，遠藤哲也，古賀信幸.
福岡医学雑誌，100(5) ： 200-209，2009.

Cholebine による 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran 排泄促進
石田卓巳，坂井雄一，石井祐次，古江増隆 2，山田英之.
福岡医学雑誌，100(5) ： 210-216，2009.

Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Yasutake D., Onozuka D., Iida T., Furue M., Concentarations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident, Chemosphere, 74(7), 902-909, 2009

Uchi H, Tokunaga S, Mitoma C, Shibata S, Hamada N, Nakanishi Y, Kajiwara J, Yoshimura T, Furue M. A Clinical Trial of Kampo Formulae for the Treatment of Symptoms of Yusho, a Poisoning Caused by Dioxins and Related Organochlorine Compounds. Evid Based Complement Alternat Med, 2009 Dec 8. [Epub ahead of print]

Imamura T, Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Tajima B, Matsuya S, Uchi H, Shibata S, Furue M. Cutaneous symptoms such as acneform eruption and pigmentation are closely associated with blood levels of 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofurans in Yusho patients, using data mining analysis. BMC Res Notes. 25:2(27). 20009

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Yoshimura T, Mitoma C, Shibata S, Uchi H, Furue M, Imamura T. Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. Chemosphere.; 77(5): 658-662. 2009

C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo and N. Koga, Metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans. Organohalogen Compounds, 71, 308-311 (2009).

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 TCDD-like PCB, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in mice. Organohalogen Compounds, 71, 119-122 (2009).

Manabu Akahane, Shinya Matsumoto, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Chikage Mitoma, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Takesumi Yoshimura, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura. ESTIMATION OF PENTA-CHLORODIBENZOFURAN (PECDF) HALF LIFE IN YUSHO PATIENTS. DIOXIN 2009 Organohalogen Compounds. 71:800-804. 2009

Nagayama J., Hirakawa H., Kajiwara J., Todaka T., Shibata S., Tsuji H., Iwasaki T.: Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins by FBRA in patients with Yusho. Organohalogen Compounds 71: 398-403, 2009.