平成22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22年度　総括・分担研究報告書

研究代表者　古江　増隆

平成23（2011）年3月

平成２２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２２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科保存学研究分野　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）

宇谷　厚志　　（長崎大学医学部皮膚科　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　　（長崎大学病院眼科　講師）

古賀　信幸　　（中村学園大学栄養科学部　教授）

重藤　寛史　　（九州大学大学院医学研究院神経内科　講師）

月森　清巳　　（福岡市立こども病院　産科科長）

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　講師）

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）

平田　輝昭　　（福岡県保健環境研究所　所長）

松本　主之　　（九州大学大学院病態機能内科学　講師）

山田　英之　　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　教授）

吉村　俊朗　　（長崎大学医歯薬学総合研究科保健学専攻　教授）

吉村　惠　　（熊本保健科学大学大学院保健科学研究科　教授）

（五十音順）

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）
旭　　正一	（産業医科大学　名誉教授）
芦塚 由紀	（福岡県保健環境研究所　生活化学課　研究員）
東　　晃一	（九州大学大学院病態機能内科学）
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分野　准教授）
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）
梶原 淳睦	（福岡県保健環境研究所　生活化学課　課長）
片岡 恭一郎	（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　研究員）
神奈川 芳行	（東京大学大学院医学系研究科社会医学専攻 客員研究員）
川崎 涼子	（長崎大学医歯薬学総合研究科保健学専攻　助教）
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　計測技術課　課長）
鍬塚 大	（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
櫻井 利彦	（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　課長）
清水 和宏	（長崎大学医学部皮膚科　准教授）
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）
高橋 浩司	（福岡県保健環境研究所　生活化学課　研究員）
高原 正和	（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　講師）
武田 知起	（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　助教）
千々和 勝己	（福岡県保健環境研究所　保健科学部　部長）
千葉 貴人	（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　特任助教）
辻　　学	（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野）
戸高 尊	（九州大学医学部　学術研究員）
飛石 和大	（福岡県保健環境研究所　水質課　研究員）
中川 礼子	（福岡県保健環境研究所　生活化学課　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科保存学研究分野　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	（東京大学大学院医学系研究科社会医学専攻 客員研究員
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）
安川 史子	（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
安武 大輔	（福岡県保健環境研究所　計測技術課　主任技師）

（五十音順）

目　　次

Ⅰ．平成２２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２２年度分担研究報告書

01. 油症の健康影響に関する疫学的研究……０８
研究分担者　平田輝昭
研究協力者　片岡恭一郎，髙尾佳子，小野塚大介，梶原淳睦

02. 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……１６
研究分担者　赤峰昭文
研究協力者　橋口　勇

03. 福岡県油症検診における油症患者の皮膚症状の推移……２１
研究分担者　古江増隆，中山樹一郎，内　博史
研究協力者　安川史子，旭　正一

04. 平成 22 年度油症皮膚検診における皮膚所見のデータ解析に関する研究……２５
研究分担者　中山　樹一郎

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……２７
研究分担者　石橋達朗

06. 油症患者における網膜細動脈硬化性変化と血中 PCB 濃度に関する研究……２８
研究分担者　隈上武志
研究協力者　北岡　隆

07. 油症患者における骨密度の解析……３０
研究分担者　岩本幸英
研究協力者　福士純一，徳永章二

08. 長崎県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
骨密度と骨代謝マーカー……３５
研究分担者　吉村俊朗
研究協力者　川崎涼子，中野治郎

09. 油症における甲状腺機能の検討……４７
研究分担者　辻　博

10. 油症患者における血清ケモカイン濃度に関する研究……５２
研究分担者　内　博史
研究協力者　安川史子，千葉貴人

11. 油症認定患者における炎症性サイトカイン TNF-αの検討……５８
研究分担者　宇谷厚志
研究協力者　鍬塚　大

12. 油症患者血中 Heat shock protein 90αの検討……６２
研究分担者　宇谷厚志
研究協力者　清水和宏，穐山雄一郎

13. 油症患者における婦人科疾患に関する研究……６５
研究分担者　月森清巳

14. 胎児性油症の原因物質に関する研究……７２
研究分担者　長山淳哉

15. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査……７７
研究分担者　平田輝昭
研究協力者　梶原淳睦，平川博仙，堀　就英，中川礼子，
芦塚由紀，高橋浩司，飛石和大，黒川陽一，
安武大輔，宮脇　崇，櫻井利彦，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

16. 油症についての疫学・統計学的研究- 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：個人変動からのアプローチ -　……８６
研究分担者　徳永章二

17. カネミ油症患者の症状と 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の関係に関する研究……９２
研究分担者　赤羽　学，
研究協力者　松本伸哉，今村知明，神奈川芳行

18. ダイオキシンと胃悪性リンパ腫の関係……９６
研究分担者　松本主之
研究協力者　東　晃一

19. 油症患者の自覚症状と他覚的神経障害の変化の検討……９８
研究分担者　重藤寛史
研究協力者　吉良潤一，大八木 保政

20. ダイオキシンの末梢神経および脊髄神経に及ぼす作用に関する研究……１０６
研究分担者　吉村　惠

21. ダイオキシン類による気道症状を引き起こすメカニズムに関する検討……１０８
研究分担者　中西　洋一

22. 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……１１２
研究分担者　内　博史
研究協力者　千葉貴人，安川史子，古江増隆

23. ヒト表皮細胞におけるケトコナゾールによる AhR を介した
Nrf2 活性化による抗炎症作用……１１７
研究分担者　古江増隆
研究協力者　辻　学　，高原正和，内　博史，師井洋一

24. 2,3,4,7,8-PenCDF および 2,3,7,8-TCDD 母体曝露による胎児脳下垂体／
性腺・性ホルモン合成系への影響……１２３
研究分担者　山田英之
研究協力者　石井祐次，武田知起

25. ダイオキシンおよび 3-メチルコランスレンによるマウス・
セレン結合性タンパク質の誘導とその機構……１３２
研究分担者　山田英之
研究協力者　石井祐次，武田知起

26. 2,2’,3,4’,4,5’,6-七塩素化ビフェニル(CB183)の in vivo 代謝……１４１
研究分担者　古賀信幸
研究協力者　太田千穂

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表……１４７

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 年以上経過した。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 (以下 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 14 名を含めると、2010 年 12 月末における全認定患者数は 1,947 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。油症の諸症状を軽減する目的で施行した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と、ざ瘡の治療薬であるアダパレンの外用試験は 2009 年度で終了し、現在解析中である。
歯科検診・皮膚科検診・眼科検診で、油症に特徴的な所見について検討した。また、検診情報は一元管理され、2009 年度までのデータはデータ化終了しているが、2010 年度データについては現在データ化作業中である。ダイオキシン類濃度と網膜細動脈硬化性変化・骨密度・甲状腺機能・血清ケモカイン濃度との相関関係についても検討した。また、サイトカインの TNF-a・酸化ストレスで出現すると考えられる Heat shock protein (Hsp)などについても油症患者と健常者での比較検討を行った。
次世代への影響を調べるために、油症患者より出生した児を栄養方法により人工栄養群と母乳栄養群の 2 群に分け、母児双方のダイオキシン類血中濃度について比較検討した。また、油症の母親から出生した未認定者（男性 4 名）と健常な母親から誕生した健常者（男性 2 名）の保存臍帯に残存するダイオキシン類の濃度を測定し、比較検討した。
油症患者の 2001 年度から 2009 年度までの PeCDF 血中レベルの時間的変化を調べた。また 2009 年度に実施された油症実態調査の結果と 2001 年度から 2008 年度の油症一斉検診の PeCDF 濃度の測定結果を用いて、調査項目や症状と PeCDF 濃度の関係の有無や関係の強さを分散分析により調査した。
油症患者における *Helicobacter pylori* 感染、および胃悪性リンパ腫の研究を開始ために、胃悪性リンパ腫患者における *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を作成中である。
油症患者に自覚的末梢感覚異常が多く、また増加傾向にあることは報告しているがまだ客観的な評価方法はない。今回、脳磁図と Phase locking 解析法が評価方法の一つになりえるかどうかについて検討を行った。ラットに対するダイオキシンの慢性投与は、末梢神経細胞体の末梢電気刺激によって誘起された活動電位

に対して、伝導速度を変化させることが明らかになった。
基礎的研究ではダイオキシン類による肺傷害の動物実験モデルの確立のための研究を行った。またダイオキシン類化合物による AhR 活性化は、気道上皮細胞からの活性酸素産生を促進していることを示した。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)の作用機序について更なる解析を行った。
2,3,4,7,8-PenCDF および 2,3,7,8-TCDD 母体曝露による胎児脳下垂体／性腺・性ホルモン合成系への影響を検討した。ラットへのダイオキシン曝露により肝臓においてセレン結合性タンパク質（SeBP1）が顕著に誘導される機構を検討した。
CB183 をラットおよびモルモットに投与し、血液、肝、糞における CB183 代謝物を調べた。
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は患者への広報のため、パンフレットや油症新聞とし、発行している。また論文化したものは、日本語、英語でホームページに掲載している。

Ａ．研究目的

PCB と PCDF の混合中毒である油症が発生して 40 年以上が経過した。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 年度の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 9 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

<u>I.班長が担当する研究</u>
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の解析
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施行したが、現在その結果を解析中である。

Ⅱ．九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究
１．検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、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。

２．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。

３.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 14 名を含めると、2010 年 12 月末現在における全認定患者数は 1,947 名になった。このうち、死亡の確認がとれている者が 537 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。2009 年度データベースには 1986 年度から 2009 年度検診までの検診受診者 1,482 名が登録されている。

４.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は終了し、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終了し、現在解析、検討中である。

５．油症患者検診結果
2009年度に新たに認定された14名を含めると、2010 年 12 月末現在における全認定患者数は 1,947 名であった。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が、2009 年度の結果と比較するといずれも減少していた。皮膚科検診では 30－40%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。また油症患者と非認定者を比較したところ、最近の化膿傾向・かつての座瘡様皮疹および顔面の瘢痕化の３項目が有意に認定患者に高かった。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。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評価したところ、網膜細動脈硬化性変化には年齢が影響し、血中 PCB 濃度は影響がなかった。また、2009 年度までにデータ化された情報を用い、2008 年度と 2009 年度の検診集計結果を示した。
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。

６．検診時の血液検査、尿検査など検査項目の解析
2010 年度福岡県油症一斉検診の受診者 177 例についての甲状腺機能の検討において PCB の T_3，Free T_3 に対する慢性的影響および PeCDF の Free T_3 に対する慢性的影響が考えられた。しかし，油症患者において Free T_3 値が低下しているものは少なく，その影響は潜在性なものと考えられた。

７．油症患者における骨密度の解析
2007 年度福岡県および長崎県の油症一斉検診の受診者の内、骨粗鬆症治療歴のない 204 名における骨密度とダイオキシン類濃度との関連の解析を行った。複数の異性体においてダイオキシン類濃度と骨密度との間に正の関連を認めた。しかしその傾向は福岡県と長崎県の間で異なり、また性別によっても異なるものであった。2009 年度のカネミ油症検診者、194 名において、骨密度の低下は認められなかった。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る。

８．油症患者における血清サイトカイン・ケモカイン濃度に関する研究
2006 年度から 2009 年度に福岡県油症検診を受診し、かつ 1697 年以前に出生した認定者 230 名と未認定者 97 名での血清ケモカイン濃度（MCP-1/CCL2，RANTES/CCL5，TARC/CCL17，MDC/CCL22，CTACK/CCL27，IL-8/CXCL8，Mig/CXCL9，IP10/CXCL10）を ELISA 法で測定し、血中ダイオキシン類濃度との相関を調べた。CCL5/RANTES，CCL17/TARC，CCL27/CTACK の血清濃度は，認定者が未認定者より有意に低値であった。さらに認定者の CCL5 濃度では，男性が女性より有意に低値であった。油症認定者でアトピー性皮膚炎に関連するケモカインの有意な増加は認められなかった。長崎県の油症検診受診の認定者と健常人の比較では、有意差をもって油症認定患者血清において TNF-a 値の上昇を認めた。

９．油症認定患者における血中 Heat shock protein 90α の検討
PCB はその代謝過程で superoxide を発生するため、高 PCB 血症である油症患者は酸化ストレスを長期間受け続けているといえる。ストレスたんぱく質の一つで、ストレスが付加されたときに細胞外に分泌される Heat shock protein 90α を認定患者と健常人の血清中で測定して比較したが、有意差は認めなかった。

１０．油症患者における婦人科疾患に関する研究
また次世代への影響を調べるために、油症患者より出生した児を栄養方法により人工栄養群と母乳栄養群の 2 群に分け、

母児双方のダイオキシン類血中濃度について比較検討した（人工栄養群 11 例(母親 9 例)、母乳栄養群 15 例(母親 10 例)）。油症患者より出生した児のなかには出生後 30 数年経過した時点でも PeCDF が血中に高濃度に存在するものがあり、その主要な曝露源は母乳を介する母児間移行であることが示唆された。

１１．胎児性油症の原因物質に関する研究
油症の母親から出生した未認定者（男性 4 名）と健常な母親から誕生した健常者（男性 2 名）の保存臍帯に残存するダイオキシン類の濃度を測定し、比較した。その結果、PCDFs はいずれの検体からも検出されなかった。時系列的濃度変化を比較・検討したところ、結果はいずれのダイオキシン様 PCBs についても、油症関連群での濃度低下が顕著であり、体外への排泄がより促進されたことが示された。

１２．油症患者血液中の PCDF 類実態調査
2009 年度は受診者のうち未認定者 189 名と油症認定患者のうち過去 3 年以内に受診歴の無い認定者 72 名の血中ダイオキシン濃度を測定した。2009 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(WHO2005)は 65.7 pg/g lipid、PeCDF 濃度の平均は 106.5pg/g lipid であった。2001 年から 2009 年までの 9 年間のダイオキシン類検査希望者中の油症認定患者の検体総数は 1678 件であるが、受診認定患者の実数は 649 名で、油症認定患者の約 34%のダイオキシン類濃度を測定した。内訳は男性 312 名、女性 337 名、平均年齢は 66.0 歳、血中 PeCDF 濃度の平均は 138pg/g lipid であった。受診認定患者の血液中 PeCDF 濃度の分布は 2.9～1792pg/g lipid と広範囲であるが約 50%の患者は 50pg/g lipid 以下であった。

１３．油症患者血液中ダイオキシン類分析法の改良およびその評価に関する研究
分析ロットごとにブランク補正を行い、またコントロール血清の分析を行った。

１４．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
2001 年から 2008 年までの受診者のうち 4 回以上 PeCDF レベルが測定された 340 人を解析の対象者とし、PeCDF 血中レベルの時間的変化を調べた。。重み付き非線形モデルによる解析によると、男女とも PeCDF レベル濃度が高いほど PeCDF がより減少する傾向があった。しかし、PeCDF レベルの高い対象者でも PeCDF レベルの減少は平均して年に 5% 以下と推定された。時間の経過による減少を待つだけでは、高 PeCDF レベルの対象者の PeCDF レベルが一般住民のレベルまで減少する事を期待し難い。

１５．カネミ油症患者の症状と PeCDF 濃度の関係に関する研究
平成 21 年度に実施された油症実態調査の結果と平成 12 年から 20 年の油症一斉検診の PeCDF 濃度の測定結果を用いて、調査項目や症状と PeCDF 濃度の関係の有無や関係の強さを分散分析により調査した。関係が強いと考えられた項目や症状の多くは、現在までに報告されているものと同様の症状であった。また、「がん」など人数の少ない疾患でも PeCDF 濃度との関係が疑われた。

１６．油症における末梢神経障害について
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く、評価方法の開発が必要である。今回、脳磁

図と Phase locking 解析法を用いて、微細な皮質機能障害をもつと想定される疾患でコントロールとの差を検出することができた。今後、今回用いた正中神経電気刺激よりも触覚刺激で刺激すれば、より詳細な大脳皮質知覚認知機能を客観的に評価できると考えられた。
また、正常ラットとダイオキシン投与ラットの後根神経節細胞から記録を行い、A-beta 線維の伝導速度が有意に緩徐化していることを見いだした。伝導速度の変化がしびれなどの感覚異常に関与している可能性が示唆された。

１７．油症発症機構と PCB/ダイオキシン類の毒性軽減に関する基礎的検討

１）ダイオキシン類による気道症状を引き起こすメカニズムに関する検討

マウスに Benzo(a)pyrene を経気管的に投与することにより、気道分泌物が増加するマウスモデルを作成した。ダイオキシン類による肺傷害の動物実験モデルとして有用と考えられた。

２）ダイオキシン受容体（AhR）シグナルによる気道上皮細胞の機能解析

AhR 刺激によるムチン産生のシグナル経路について検討した。AhR 刺激による（NCI-H_{292}）からの活性酸素産生を測定したところ、その産生が増強され、活性酸素中和剤により、ムチン産生が抑制された。以上より、ダイオキシン類化合物による AhR 活性化は、気道上皮細胞からの活性酸素産生を促進し、気道粘液産生を増強させることにより、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。

３）ヒト表皮細胞における KCZ による AhR を介した Nrf2 活性化による抗炎症作用

ケトコナゾール(ketoconazole:KCZ) は、タバコに含まれるダイオキシン類であるベンゾピレン（benzo(a)pyrene: BaP）による活性酸素の産生を抑制し、BaP 誘導性の IL-8（炎症反応に関わるケモカイン)、８-OHdG（DNA 障害のマーカー）産生を抑制した。さらに TNF-α誘導性の活性酸素の産生、IL-８の産生も抑制した。TNF-α誘導性の酸化ストレスを軽減するメカニズムについては、AhR と Nrf２が重要である可能性が示唆された。これらの結果は、AhR を介した Nrf２活性化による抗炎症作用というメカニズムを示すものであり、このメカニズムを発揮する薬剤・化学物質を検証していくことで、ダイオキシン類を含め様々な要因による酸化ストレスに効果のある薬剤の開発につながるものと考えられる。

４）2,3,4,7,8-PenCDF および 2,3,7,8-TCDD 母体曝露による胎児脳下垂体／性腺・性ホルモン合成系への影響

ダイオキシンの一種である 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF)の妊娠ラットへの投与により、胎児脳下垂体ゴナドトロピンの発現が低下し、精巣における性ホルモン合成系が障害されるか否かを検証した。その結果、PenCDF による性ホルモン合成系の低下は 5 mg/kg より有意に観察された。一方、TCDD による障害出現は、0.1 mg/kg より認められ、両者の障害発現に要する用量には少なくとも 20 倍以上の差があることが明らかとなった。このように、PenCDF も TCDD と同様の機構により胎児障害を発現するものの、その効果発現には従来の毒性等価係数では説明できない要因が存在することが示唆された。

５）ダイオキシンおよび 3-メチルコランスレンによるマウス・セレン結合性タンパク質の誘導とその機構

ラットへのダイオキシン曝露により肝臓においてセレン結合性タンパク質 (SeBP1) が顕著に誘導される機構を検討し、リガンドとの親和性が異なるダイオキシン受容体（AhR）を発現する二系統のマウス（C57BL/6J：高親和性 AhR、DBA/2J：低親和性 AhR）に、3-methylcholanthlene あるいは

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin を腹腔内投与し、肝臓中の SeBP1 mRNA を解析した。その結果、C57BL/6J マウスの方に顕著な誘導が観察され、ダイオキシンは AhR を介して SeBP1 を誘導することが示された。

６）2,2',3,4',4,5',6-七塩素化ビフェニル(CB183)のin vivo代謝

CB183 をラットおよびモルモットに投与し、血液、肝、糞における CB183 代謝物を調べた。その結果、両動物の血液、肝および糞のいずれからも 4-OH-CB187 は検出されなかった。このことから、4-OH-CB187 はラットおよびモルモットの in vivo 代謝系においても、CB183 からは生成されないことが確認された。なお、CB183 の in vivo 代謝において、ラットとモルモットで大きな種差が明らかになった。すなわち、CB183 投与動物の糞中 CB183 量の比較から、ラットの方が CB183 未変化体の排泄能力がはるかに高いことが示唆された。また、各組織中の代謝物（3'-OH 体、5-OH 体）をみると、モルモットでは 3'-OH-183 の生成量がラットよりはるかに多いことも示唆された。

Ｄ．結論

2009 年度に新たに認定された 14 名を含めて、全認定患者数は 1,947 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。また、データベース化した情報を用い、2008 年度と 2009 年度の検診集計結果を示した。

血液中ダイオキシン類濃度測定が開始し、9 年経過し、結果の蓄積、解析が進んでいる。2010 年度は、ダイオキシン類濃度と網膜細動脈硬化性変化・骨密度・甲状腺機能・血清ケモカイン濃度との相関関係について検討した。サイトカインの TNF-a・酸化ストレスで出現すると考えられる Heat shock protein (Hsp)などについても油症患者と健常者での比較検討を行った。

次世代への影響を調べるために、油症患者と油症 2 世との比較検討研究も行っている。

油症患者の 2001 年度から 2009 年度までの PeCDF 血中レベルの時間的変化の解析、2009 年度に実施された油症実態調査の結果と PeCDF 濃度の測定結果を用た調査項目や症状と PeCDF 濃度の関係の解析も進めている。

基礎的実験では、ダイオキシンが及ぼす呼吸器症状の病態解明・ダイオキシン類である CB183 の代謝・新い治療薬になる可能性のあるケトコナゾールの作用機序・胎児脳下垂体／性腺・性ホルモン合成系への影響・ダイオキシン曝露により肝臓において誘導されるセレン結合性タンパク質（SeBP1)の誘導機構などについて、知見が集積してきている。

このように、継続的に油症患者の臨床症状を把握しダイオキシン濃度との関連を分析・評価、また基礎実験でダイオキシンが生体に及ぼす影響・作用機序を研究することにより、総合的にダイオキシン類（短期・長期）暴露による影響の解明、また新しい治療薬の発見・開発につながると考える。

Ｅ．健康危険情報

なし。

分担研究報告書

油症の健康影響に関する疫学的研究

研究分担者　平　田　輝　昭　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　課長

研究要旨　2008 年度検診の集計及び 2009 年度検診のデータ確定を行った。2008 年度は 606 名が受診し、認定者 431 名（71.1%）、未認定者 175 名（28.9%）であった。各項目の有所見率は、自覚症状は高く、他覚所見は低い傾向が見られ、これまでの報告と同様の傾向であった。2009 年度は 558 名が受診し、認定者 370 名（66.3%）、未認定者 188 名（33.7%）で、2008 年度より 48 名減少した。

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、統一検診票を用いた一斉検診（以下、検診とする）が実施されたことに伴い、検診情報は一元管理することになった。

当研究班では、検診受診者情報の維持管理及び各年度の検診情報をもとにした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。

B．研究方法

検診は、全国 11（関東以北、千葉県、愛知県、大阪府、島根県、広島県、山口県、高知県、福岡県、長崎県、鹿児島県）の追跡調査班において、年 1 回もしくは複数回行われている。全国で統一された検診票を用い、検診後、結果の記入が行われ、福岡県追跡調査班へ検診票の写しが送付される。全追跡調査班の検診票が集められた後、データ入力業者により電子データ化され、当研究所へ搬入される。搬入後、個人照合作業及びデータチェックを行い、データを確定する。確定したデータは、次年度、各追跡調査班へ送付する。また、研究班会議において集計結果を報告する。

（倫理面への配慮）

本研究は「福岡県保健環境研究所疫学研究倫理審査委員会要綱」に基づき、審査を受け承認されたものである（受付番号第 21-3 号（１）平成 22 年 5 月 10 日承認）。

C．研究結果及び考察

2008 年度の検診結果及び 2009 年度の検診受診状況を報告する。

2008 年度検診は、8 月 19 日に長崎県追跡調査班で第 1 回目が行われ、11 月 27 日に高知県追跡調査班の検診で終了した。受診者の内訳を表 1 に示す。受診者は 606 名で、認定者は 431 名（71.1%）、未認定者は 175 名（28.9%）である。また、男は 289 名（47.7%）、女は 317 名（52.3%）である。年齢については、検診票に記入された生年月日と検診年月日を用い、検診受診時の年齢を計算で求めた。年齢階級別では、70～79 歳（26.9%）が一番多く、次いで、

60～69 歳（23.1%）、50～59 歳（18.6%）となっており、50～79 歳で 68.6%と 7 割近くを占めている。

表 2 に内科検診の集計結果を示す。自覚症状については、＋または＋＋を有所見とすると有所見率は、全身倦怠感（70.4%）、しびれ感（63.1%）、関節痛（62.9%）が高い。一方、他覚所見において、正常及び検査なし以外を有所見とすると、心電図（30.6%）、栄養（20.4%）、胸部レ線（18.2%）が高い。

表 3 に皮膚科検診の集計結果を示す。問診項目においては、有を、他覚所見においては、＋、＋＋、＋＋＋を有所見とすると、問診項目の中では、かつてのざ瘡様皮疹（53.1%）、かつての色素沈着（34.0%）が、他覚所見の中では、黒色面皰（躯幹）（9.4%）、瘢痕化（躯幹）（7.3%）が高い。ざ瘡様皮疹は油症診断基準の重要な所見に挙げられているが、問診項目であるかつてのざ瘡様皮疹項目が有のものは 53.1%であるものの、他覚所見のざ瘡様皮疹の有所見率は、顔面 4.7%、外陰部 2.2%、臀部 2.8%、躯幹 5.5%、その他 0.7%となっており、現在では症状が確認できる者は減少している。また、色素沈着においても、かつての色素沈着は 34.0%であるが、他覚所見では、顔面 0.5%、指爪 2.5%、趾爪 5.2%、その他 1.3%と、こちらも同様に現在の所見で症状が確認できる者が減少している。

表 4 に眼科検診の集計結果を示す。＋、＋＋、＋＋＋を有所見とすると、主訴の眼脂過多（11.1%）は有所見率が高く、他覚所見の中では、眼瞼結膜色素沈着が最も高いが 1.5%（594 名中 9 名）と少ない。

表 5 に歯科検診の集計結果を示す。主訴、口腔所見については、有を、色素沈着所見は、＋、＋＋、＋＋＋を有所見とすると、主訴（36.9%）、口腔所見の中では、辺縁性歯周炎（38.1%）、歯肉炎（11.8%）、色素沈着所見の中では、下歯肉（23.5%）、上歯肉（18.3%）が高い。

検診受診者は、年度によって異なるものの、2008 年度検診集計結果は、2007 年度検診集計結果と同様の傾向を示している。

次に 2009 年度の受診者の内訳を表 6 に示す。受診者は 558 名で、認定者は 370 名（66.3%）、未認定者は 188 名（33.7%）である。また、男は 255 名（45.7%）、女は 303 名（54.3%）である。年齢階級別では、70～79 歳（27.1%）が一番多く、次いで、60～69 歳（21.9%）、50～59 歳（20.1%）となっており、50～79 歳で 69.0%と 7 割近くを占めている。2004 年度検診以降、受診者は連続して増加していたが、2009 年度検診では、前年度より 48 名減少した。認定者が 61 名減少し、未認定者は 13 名増加した。

D．結論

2008 年度、2009 年度の検診受診数及び 2008 年度検診集計結果を示した。検診受診者は、50～79 歳で 7 割近くを占め、発生から 40 年以上が経過し、受診者の年齢が徐々に上昇している事が伺える。受診者数は、2004 年度以降連続して増加していたが、2009 年度は、認定者の受診者が減少し、前年と比べ 48 名少なくなった。

2008 年度検診集計結果では、自覚症状や、問診、主訴の項目は、半数以上が症状を訴えているものの、他覚所見については、低く、これまでの報告と同様の傾向である。

E．研究発表

１．論文発表

なし

F．知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1　2008年度検診受診者内訳

	総数						男						女					
	総数		認定		未認定		総数		認定		未認定		総数		認定		未認定	
	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%
総数	606	100.0%	431	71.1%	175	28.9%	289	100.0%	220	76.1%	69	23.9%	317	100.0%	211	66.6%	106	33.4%
0 - 9歳	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%	1	100.0%	0	0.0%	1	100.0%	1	100.0%	0	0.0%	1	100.0%
10 - 19歳	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
20 - 29歳	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%	1	100.0%	0	0.0%	1	100.0%
30 - 39歳	27	100.0%	10	37.0%	17	63.0%	12	100.0%	6	50.0%	6	50.0%	15	100.0%	4	26.7%	11	73.3%
40 - 49歳	89	100.0%	64	71.9%	25	28.1%	46	100.0%	38	82.6%	8	17.4%	43	100.0%	26	60.5%	17	39.5%
50 - 59歳	113	100.0%	75	66.4%	38	33.6%	56	100.0%	36	64.3%	20	35.7%	57	100.0%	39	68.4%	18	31.6%
60 - 69歳	140	100.0%	107	76.4%	33	23.6%	66	100.0%	50	75.8%	16	24.2%	74	100.0%	57	77.0%	17	23.0%
70 - 79歳	163	100.0%	128	78.5%	35	21.5%	71	100.0%	66	93.0%	5	7.0%	92	100.0%	62	67.4%	30	32.6%
80 - 89歳	57	100.0%	45	78.9%	12	21.1%	27	100.0%	23	85.2%	4	14.8%	30	100.0%	22	73.3%	8	26.7%
90歳以上	2	100.0%	2	100.0%	0	0.0%	1	100.0%	1	100.0%	0	0.0%	1	100.0%	1	100.0%	0	0.0%

表 2　2008 年度内科検診集計結果

			総数						認定						未認定					
			総数		男		女		総数		男		女		総数		男		女	
			人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%
自覚症状	全身倦怠感	－	160	29.6%	77	31.7%	83	27.9%	112	29.3%	58	32.0%	54	26.9%	48	30.4%	19	30.6%	29	30.2%
		＋	242	44.8%	115	47.3%	127	42.8%	173	45.3%	87	48.1%	86	42.8%	69	43.7%	28	45.2%	41	42.7%
		＋＋	138	25.6%	51	21.0%	87	29.3%	97	25.4%	36	19.9%	61	30.3%	41	25.9%	15	24.2%	26	27.1%
	頭重・頭痛	－	231	41.8%	137	53.9%	94	31.5%	163	41.8%	99	52.1%	64	32.0%	68	42.0%	38	59.4%	30	30.6%
		＋	240	43.5%	95	37.4%	145	48.7%	168	43.1%	72	37.9%	96	48.0%	72	44.4%	23	35.9%	49	50.0%
		＋＋	81	14.7%	22	8.7%	59	19.8%	59	15.1%	19	10.0%	40	20.0%	22	13.6%	3	4.7%	19	19.4%
	咳嗽	－	334	60.5%	158	62.7%	176	58.7%	235	60.3%	115	61.2%	120	59.4%	99	61.1%	43	67.2%	56	57.1%
		＋	175	31.7%	78	31.0%	97	32.3%	127	32.6%	61	32.4%	66	32.7%	48	29.6%	17	26.6%	31	31.6%
		＋＋	43	7.8%	16	6.3%	27	9.0%	28	7.2%	12	6.4%	16	7.9%	15	9.3%	4	6.3%	11	11.2%
	喀痰	－	337	61.3%	155	62.0%	182	60.7%	231	59.2%	112	59.3%	119	59.2%	106	66.3%	43	70.5%	63	63.6%
		＋	166	30.2%	75	30.0%	91	30.3%	124	31.8%	62	32.8%	62	30.8%	42	26.3%	13	21.3%	29	29.3%
		＋＋	47	8.5%	20	8.0%	27	9.0%	35	9.0%	15	7.9%	20	10.0%	12	7.5%	5	8.2%	7	7.1%
	腹痛	－	387	69.4%	188	72.0%	199	67.0%	267	67.3%	137	69.2%	130	65.3%	120	74.5%	51	81.0%	69	70.4%
		＋	138	24.7%	62	23.8%	76	25.6%	111	28.0%	54	27.3%	57	28.6%	27	16.8%	8	12.7%	19	19.4%
		＋＋	33	5.9%	11	4.2%	22	7.4%	19	4.8%	7	3.5%	12	6.0%	14	8.7%	4	6.3%	10	10.2%
	下痢	－	358	64.9%	159	62.8%	199	66.6%	243	62.6%	115	60.8%	128	64.3%	115	70.1%	44	68.8%	71	71.0%
		＋	163	29.5%	79	31.2%	84	28.1%	123	31.7%	63	33.3%	60	30.2%	40	24.4%	16	25.0%	24	24.0%
		＋＋	31	5.6%	15	5.9%	16	5.4%	22	5.7%	11	5.8%	11	5.5%	9	5.5%	4	6.3%	5	5.0%
	便秘	－	338	61.0%	191	74.0%	147	49.7%	231	58.9%	139	71.3%	92	46.7%	107	66.0%	52	82.5%	55	55.6%
		＋	142	25.6%	50	19.4%	92	31.1%	106	27.0%	42	21.5%	64	32.5%	36	22.2%	8	12.7%	28	28.3%
		＋＋	74	13.4%	17	6.6%	57	19.3%	55	14.0%	14	7.2%	41	20.8%	19	11.7%	3	4.8%	16	16.2%
	しびれ感	－	199	36.9%	101	41.7%	98	33.0%	136	35.8%	69	38.3%	67	33.5%	63	39.6%	32	51.6%	31	32.0%
		＋	244	45.3%	101	41.7%	143	48.1%	177	46.6%	79	43.9%	98	49.0%	67	42.1%	22	35.5%	45	46.4%
		＋＋	96	17.8%	40	16.5%	56	18.9%	67	17.6%	32	17.8%	35	17.5%	29	18.2%	8	12.9%	21	21.6%
	関節痛	－	202	37.1%	106	42.7%	96	32.3%	136	35.1%	73	39.2%	63	31.3%	66	41.8%	33	53.2%	33	34.4%
		＋	209	38.3%	93	37.5%	116	39.1%	149	38.5%	72	38.7%	77	38.3%	60	38.0%	21	33.9%	39	40.6%
		＋＋	134	24.6%	49	19.8%	85	28.6%	102	26.4%	41	22.0%	61	30.3%	32	20.3%	8	12.9%	24	25.0%
	月経異常	－	114	82.0%	-	-	114	82.0%	75	83.3%	-	-	75	83.3%	39	79.6%	-	-	39	79.6%
		＋	14	10.1%	-	-	14	10.1%	8	8.9%	-	-	8	8.9%	6	12.2%	-	-	6	12.2%
		＋＋	11	7.9%	-	-	11	7.9%	7	7.8%	-	-	7	7.8%	4	8.2%	-	-	4	8.2%
	自覚症その他	－	92	67.2%	59	73.8%	33	57.9%	73	73.7%	50	79.4%	23	63.9%	19	50.0%	9	52.9%	10	47.6%
		＋	30	21.9%	15	18.8%	15	26.3%	19	19.2%	10	15.9%	9	25.0%	11	28.9%	5	29.4%	6	28.6%
		＋＋	15	10.9%	6	7.5%	9	15.8%	7	7.1%	3	4.8%	4	11.1%	8	21.1%	3	17.6%	5	23.8%
他覚所見	栄養	正常	467	79.6%	239	84.8%	228	74.8%	334	79.7%	182	83.9%	152	75.2%	133	79.2%	57	87.7%	76	73.8%
		肥満	96	16.4%	37	13.1%	59	19.3%	66	15.8%	30	13.8%	36	17.8%	30	17.9%	7	10.8%	23	22.3%
		痩せ	24	4.1%	6	2.1%	18	5.9%	19	4.5%	5	2.3%	14	6.9%	5	3.0%	1	1.5%	4	3.9%
	心音	純	572	97.6%	278	98.6%	294	96.7%	407	97.6%	213	98.6%	194	96.5%	165	97.6%	65	98.5%	100	97.1%
		不純	14	2.4%	4	1.4%	10	3.3%	10	2.4%	3	1.4%	7	3.5%	4	2.4%	1	1.5%	3	2.9%
	呼吸音	正常	582	99.3%	280	99.3%	302	99.3%	415	99.3%	215	99.1%	200	99.5%	167	99.4%	65	100.0%	102	99.0%
		異常	4	0.7%	2	0.7%	2	0.7%	3	0.7%	2	0.9%	1	0.5%	1	0.6%	0	0.0%	1	1.0%
	肝腫	－	570	98.1%	270	96.8%	300	99.3%	408	98.6%	209	97.7%	199	99.5%	162	97.0%	61	93.8%	101	99.0%
		＋	11	1.9%	9	3.2%	2	0.7%	6	1.4%	5	2.3%	1	0.5%	5	3.0%	4	6.2%	1	1.0%
	脾腫	－	578	99.7%	278	99.6%	300	99.7%	412	100.0%	214	100.0%	198	100.0%	166	98.8%	64	98.5%	102	99.0%
		＋	2	0.3%	1	0.4%	1	0.3%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	2	1.2%	1	1.5%	1	1.0%
	浮腫	－	571	97.6%	279	98.6%	292	96.7%	410	98.3%	214	98.6%	196	98.0%	161	95.8%	65	98.5%	96	94.1%
		＋	14	2.4%	4	1.4%	10	3.3%	7	1.7%	3	1.4%	4	2.0%	7	4.2%	1	1.5%	6	5.9%
	リンパ節腫大	－	574	99.3%	275	98.9%	299	99.7%	411	99.8%	214	99.5%	197	100.0%	163	98.2%	61	96.8%	102	99.0%
		＋	4	0.7%	3	1.1%	1	0.3%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	3	1.8%	2	3.2%	1	1.0%
	四肢けん反射	正常	500	86.5%	230	82.7%	270	90.0%	355	86.4%	178	83.6%	177	89.4%	145	86.8%	52	80.0%	93	91.2%
		低下	59	10.2%	40	14.4%	19	6.3%	43	10.5%	30	14.1%	13	6.6%	16	9.6%	10	15.4%	6	5.9%
		亢進	19	3.3%	8	2.9%	11	3.7%	13	3.2%	5	2.3%	8	4.0%	6	3.6%	3	4.6%	3	2.9%
	感覚障害	正常	487	85.1%	237	85.9%	250	84.5%	350	86.2%	184	87.2%	166	85.1%	137	82.5%	53	81.5%	84	83.2%
		異常	85	14.9%	39	14.1%	46	15.5%	56	13.8%	27	12.8%	29	14.9%	29	17.5%	12	18.5%	17	16.8%
	胸部レ線	正常	464	78.6%	220	78.6%	244	78.7%	339	80.5%	172	80.4%	167	80.7%	125	74.0%	48	72.7%	77	74.8%
		肺野	50	8.5%	28	10.0%	22	7.1%	38	9.0%	20	9.3%	18	8.7%	12	7.1%	8	12.1%	4	3.9%
		縦隔・心	46	7.8%	18	6.4%	28	9.0%	33	7.8%	15	7.0%	18	8.7%	13	7.7%	3	4.5%	10	9.7%
		肺野＋縦隔・心	7	1.2%	6	2.1%	1	0.3%	6	1.4%	5	2.3%	1	0.5%	1	0.6%	1	1.5%	0	0.0%
		検査なし	23	3.9%	8	2.9%	15	4.8%	5	1.2%	2	0.9%	3	1.4%	18	10.7%	6	9.1%	12	11.7%
	心電図	正常	370	66.9%	171	64.3%	199	69.3%	265	67.4%	133	65.5%	132	69.5%	105	65.6%	38	60.3%	67	69.1%
		異常	163	29.5%	88	33.1%	75	26.1%	126	32.1%	69	34.0%	57	30.0%	37	23.1%	19	30.2%	18	18.6%
		検査なし	20	3.6%	7	2.6%	13	4.5%	2	0.5%	1	0.5%	1	0.5%	18	11.3%	6	9.5%	12	12.4%
	肝胆脾エコー	正常	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		異常	1	0.6%	0	0.0%	1	1.4%	1	0.8%	0	0.0%	1	2.1%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		検査なし	164	99.4%	92	100.0%	72	98.6%	123	99.2%	77	100.0%	46	97.9%	41	100.0%	15	100.0%	26	100.0%

※　本文中の有所見率は、「検査なし」を除外して計算。

※　「肝胆脾エコー」は受診者 1 名のため、本文中の比較から除外。

表 3　2008 年度皮膚科検診集計結果

			総数						認定						未認定					
			総数		男		女		総数		男		女		総数		男		女	
			人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%
問診	最近の化膿傾向	無	487	81.6%	238	83.5%	249	79.8%	342	80.7%	181	83.4%	161	77.8%	145	83.8%	57	83.8%	88	83.8%
		有	110	18.4%	47	16.5%	63	20.2%	82	19.3%	36	16.6%	46	22.2%	28	16.2%	11	16.2%	17	16.2%
	最近の粉りゅう再発傾向	無	468	78.4%	212	74.1%	256	82.3%	328	77.5%	161	74.2%	167	81.1%	140	80.5%	51	73.9%	89	84.8%
		有	129	21.6%	74	25.9%	55	17.7%	95	22.5%	56	25.8%	39	18.9%	34	19.5%	18	26.1%	16	15.2%
	かつてのざ瘡様皮疹	無	280	46.9%	140	49.0%	140	45.0%	185	43.7%	104	47.9%	81	39.3%	95	54.6%	36	52.2%	59	56.2%
		有	317	53.1%	146	51.0%	171	55.0%	238	56.3%	113	52.1%	125	60.7%	79	45.4%	33	47.8%	46	43.8%
	かつての色素沈着	無	391	66.0%	206	72.5%	185	60.1%	252	60.3%	150	69.8%	102	50.2%	139	79.9%	56	81.2%	83	79.0%
		有	201	34.0%	78	27.5%	123	39.9%	166	39.7%	65	30.2%	101	49.8%	35	20.1%	13	18.8%	22	21.0%
他覚所見	黒色面皰	顔面	−	496	82.8%	230	80.1%	266	85.3%	349	82.1%	175	80.3%	174	84.1%	147	84.5%	55	79.7%	92	87.6%
			＋−	63	10.5%	37	12.9%	26	8.3%	49	11.5%	30	13.8%	19	9.2%	14	8.0%	7	10.1%	7	6.7%
			＋	37	6.2%	18	6.3%	19	6.1%	25	5.9%	12	5.5%	13	6.3%	12	6.9%	6	8.7%	6	5.7%
			＋＋	3	0.5%	2	0.7%	1	0.3%	2	0.5%	1	0.5%	1	0.5%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		耳介	−	527	88.0%	239	83.3%	288	92.3%	367	86.4%	179	82.1%	188	90.8%	160	92.0%	60	87.0%	100	95.2%
			＋−	43	7.2%	30	10.5%	13	4.2%	36	8.5%	26	11.9%	10	4.8%	7	4.0%	4	5.8%	3	2.9%
			＋	27	4.5%	17	5.9%	10	3.2%	21	4.9%	13	6.0%	8	3.9%	6	3.4%	4	5.8%	2	1.9%
			＋＋	2	0.3%	1	0.3%	1	0.3%	1	0.2%	0	0.0%	1	0.5%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		躯幹	−	492	82.3%	226	79.0%	266	85.3%	343	80.9%	171	78.8%	172	83.1%	149	85.6%	55	79.7%	94	89.5%
			＋−	50	8.4%	29	10.1%	21	6.7%	42	9.9%	26	12.0%	16	7.7%	8	4.6%	3	4.3%	5	4.8%
			＋	53	8.9%	29	10.1%	24	7.7%	37	8.7%	19	8.8%	18	8.7%	16	9.2%	10	14.5%	6	5.7%
			＋＋	3	0.5%	2	0.7%	1	0.3%	2	0.5%	1	0.5%	1	0.5%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		その他	−	536	97.5%	260	98.1%	276	96.8%	388	97.2%	200	98.5%	188	95.9%	148	98.0%	60	96.8%	88	98.9%
			＋−	4	0.7%	2	0.8%	2	0.7%	4	1.0%	2	1.0%	2	1.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋	6	1.1%	1	0.4%	5	1.8%	4	1.0%	0	0.0%	4	2.0%	2	1.3%	1	1.6%	1	1.1%
			＋＋	4	0.7%	2	0.8%	2	0.7%	3	0.8%	1	0.5%	2	1.0%	1	0.7%	1	1.6%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	ざ瘡様皮疹	顔面	−	520	86.8%	241	84.0%	279	89.4%	365	85.9%	185	84.9%	180	87.0%	155	89.1%	56	81.2%	99	94.3%
			＋−	51	8.5%	26	9.1%	25	8.0%	42	9.9%	21	9.6%	21	10.1%	9	5.2%	5	7.2%	4	3.8%
			＋	24	4.0%	16	5.6%	8	2.6%	17	4.0%	11	5.0%	6	2.9%	7	4.0%	5	7.2%	2	1.9%
			＋＋	3	0.5%	3	1.0%	0	0.0%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	2	1.1%	2	2.9%	0	0.0%
			＋＋＋	1	0.2%	1	0.3%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
		外陰部	−	567	94.8%	278	96.9%	289	92.9%	402	94.8%	213	97.7%	189	91.7%	165	94.8%	65	94.2%	100	95.2%
			＋−	18	3.0%	5	1.7%	13	4.2%	13	3.1%	5	2.3%	8	3.9%	5	2.9%	0	0.0%	5	4.8%
			＋	12	2.0%	3	1.0%	9	2.9%	9	2.1%	0	0.0%	9	4.4%	3	1.7%	3	4.3%	0	0.0%
			＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	1	0.2%	1	0.3%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
		臀部	−	557	93.1%	261	90.9%	296	95.2%	397	93.6%	201	92.2%	196	95.1%	160	92.0%	60	87.0%	100	95.2%
			＋−	24	4.0%	17	5.9%	7	2.3%	15	3.5%	12	5.5%	3	1.5%	9	5.2%	5	7.2%	4	3.8%
			＋	14	2.3%	7	2.4%	7	2.3%	11	2.6%	5	2.3%	6	2.9%	3	1.7%	2	2.9%	1	1.0%
			＋＋	2	0.3%	1	0.3%	1	0.3%	1	0.2%	0	0.0%	1	0.5%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
			＋＋＋	1	0.2%	1	0.3%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
	皮疹	躯幹	−	524	87.6%	237	82.6%	287	92.3%	374	88.2%	184	84.4%	190	92.2%	150	86.2%	53	76.8%	97	92.4%
			＋−	41	6.9%	26	9.1%	15	4.8%	30	7.1%	21	9.6%	9	4.4%	11	6.3%	5	7.2%	6	5.7%
			＋	29	4.8%	20	7.0%	9	2.9%	19	4.5%	12	5.5%	7	3.4%	10	5.7%	8	11.6%	2	1.9%
			＋＋	3	0.5%	3	1.0%	0	0.0%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	2	1.1%	2	2.9%	0	0.0%
			＋＋＋	1	0.2%	1	0.3%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
		その他	−	541	98.7%	262	98.5%	279	98.9%	391	98.5%	201	98.5%	190	98.4%	150	99.3%	61	98.4%	89	100.0%
			＋−	3	0.5%	2	0.8%	1	0.4%	3	0.8%	2	1.0%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋	3	0.5%	1	0.4%	2	0.7%	3	0.8%	1	0.5%	2	1.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋	1	0.2%	1	0.4%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.7%	1	1.6%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	瘢痕化	顔面	−	506	84.5%	233	81.2%	273	87.5%	350	82.4%	177	81.2%	173	83.6%	156	89.7%	56	81.2%	100	95.2%
			＋−	52	8.7%	29	10.1%	23	7.4%	42	9.9%	24	11.0%	18	8.7%	10	5.7%	5	7.2%	5	4.8%
			＋	32	5.3%	19	6.6%	13	4.2%	27	6.4%	14	6.4%	13	6.3%	5	2.9%	5	7.2%	0	0.0%
			＋＋	9	1.5%	6	2.1%	3	1.0%	6	1.4%	3	1.4%	3	1.4%	3	1.7%	3	4.3%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		躯幹	−	501	83.6%	227	79.1%	274	87.8%	349	82.1%	172	78.9%	177	85.5%	152	87.4%	55	79.7%	97	92.4%
			＋−	54	9.0%	37	12.9%	17	5.4%	43	10.1%	30	13.8%	13	6.3%	11	6.3%	7	10.1%	4	3.8%
			＋	36	6.0%	20	7.0%	16	5.1%	27	6.4%	15	6.9%	12	5.8%	9	5.2%	5	7.2%	4	3.8%
			＋＋	6	1.0%	1	0.3%	5	1.6%	6	1.4%	1	0.5%	5	2.4%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	2	0.3%	2	0.7%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	2	1.1%	2	2.9%	0	0.0%
		その他	−	521	94.6%	248	93.2%	273	95.8%	375	93.8%	191	93.2%	184	94.4%	146	96.7%	57	93.4%	89	98.9%
			＋−	10	1.8%	6	2.3%	4	1.4%	10	2.5%	6	2.9%	4	2.1%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋	18	3.3%	12	4.5%	6	2.1%	13	3.3%	8	3.9%	5	2.6%	5	3.3%	4	6.6%	1	1.1%
			＋＋	2	0.4%	0	0.0%	2	0.7%	2	0.5%	0	0.0%	2	1.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	色素沈着	顔面	−	572	95.7%	275	95.8%	297	95.5%	402	94.8%	208	95.4%	194	94.2%	170	97.7%	67	97.1%	103	98.1%
			＋−	23	3.8%	12	4.2%	11	3.5%	19	4.5%	10	4.6%	9	4.4%	4	2.3%	2	2.9%	2	1.9%
			＋	3	0.5%	0	0.0%	3	1.0%	3	0.7%	0	0.0%	3	1.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		指爪	−	546	91.2%	262	91.3%	284	91.0%	385	90.6%	199	91.3%	186	89.9%	161	92.5%	63	91.3%	98	93.3%
			＋−	38	6.3%	18	6.3%	20	6.4%	27	6.4%	13	6.0%	14	6.8%	11	6.3%	5	7.2%	6	5.7%
			＋	15	2.5%	7	2.4%	8	2.6%	13	3.1%	6	2.8%	7	3.4%	2	1.1%	1	1.4%	1	1.0%
			＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	爪甲下出血沈着	趾爪	−	516	86.4%	254	88.5%	262	84.5%	367	86.6%	195	89.4%	172	83.5%	149	86.1%	59	85.5%	90	86.5%
			＋−	50	8.4%	22	7.7%	28	9.0%	36	8.5%	17	7.8%	19	9.2%	14	8.1%	5	7.2%	9	8.7%
			＋	31	5.2%	11	3.8%	20	6.5%	21	5.0%	6	2.8%	15	7.3%	10	5.8%	5	7.2%	5	4.8%
			＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		その他	−	526	96.0%	253	96.2%	273	95.8%	380	95.7%	195	96.5%	185	94.9%	146	96.7%	58	95.1%	88	97.8%
			＋−	15	2.7%	7	2.7%	8	2.8%	12	3.0%	5	2.5%	7	3.6%	3	2.0%	2	3.3%	1	1.1%
			＋	7	1.3%	3	1.1%	4	1.4%	5	1.3%	2	1.0%	3	1.5%	2	1.3%	1	1.6%	1	1.1%
			＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	爪変形		−	490	81.8%	229	79.8%	261	83.7%	346	81.4%	171	78.4%	175	84.5%	144	82.8%	58	84.1%	86	81.9%
			＋−	67	11.2%	37	12.9%	30	9.6%	47	11.1%	28	12.8%	19	9.2%	20	11.5%	9	13.0%	11	10.5%
			＋	42	7.0%	21	7.3%	21	6.7%	32	7.5%	19	8.7%	13	6.3%	10	5.7%	2	2.9%	8	7.6%
			＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
			＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%

表 4　2008 年度眼科検診集計結果

			総数						認定						未認定					
			総数		男		女		総数		男		女		総数		男		女	
			人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%
主訴	眼脂過多	－	360	60.7%	171	60.4%	189	61.0%	241	57.7%	121	56.5%	120	58.8%	119	68.0%	50	72.5%	69	65.1%
		＋－	167	28.2%	74	26.1%	93	30.0%	124	29.7%	59	27.6%	65	31.9%	43	24.6%	15	21.7%	28	26.4%
		＋	49	8.3%	27	9.5%	22	7.1%	39	9.3%	25	11.7%	14	6.9%	10	5.7%	2	2.9%	8	7.5%
		＋＋	17	2.9%	11	3.9%	6	1.9%	14	3.3%	9	4.2%	5	2.5%	3	1.7%	2	2.9%	1	0.9%
		＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
他覚所見	眼瞼浮腫	－	571	96.1%	272	96.1%	299	96.1%	399	95.2%	204	95.3%	195	95.1%	172	98.3%	68	98.6%	104	98.1%
		＋－	20	3.4%	9	3.2%	11	3.5%	17	4.1%	8	3.7%	9	4.4%	3	1.7%	1	1.4%	2	1.9%
		＋	3	0.5%	2	0.7%	1	0.3%	3	0.7%	2	0.9%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	眼瞼結膜色素沈着	－	560	94.3%	263	92.9%	297	95.5%	389	92.8%	196	91.6%	193	94.1%	171	97.7%	67	97.1%	104	98.1%
		＋－	25	4.2%	14	4.9%	11	3.5%	21	5.0%	12	5.6%	9	4.4%	4	2.3%	2	2.9%	2	1.9%
		＋	9	1.5%	6	2.1%	3	1.0%	9	2.1%	6	2.8%	3	1.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	瞼板腺嚢胞形成	－	547	92.1%	250	88.3%	297	95.5%	380	90.7%	184	86.0%	196	95.6%	167	95.4%	66	95.7%	101	95.3%
		＋－	41	6.9%	29	10.2%	12	3.9%	34	8.1%	27	12.6%	7	3.4%	7	4.0%	2	2.9%	5	4.7%
		＋	5	0.8%	3	1.1%	2	0.6%	5	1.2%	3	1.4%	2	1.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋	1	0.2%	1	0.4%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
		＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	瞼板腺ﾁｰｽﾞ様分泌物圧出	－	554	93.4%	258	91.5%	296	95.2%	387	92.6%	194	91.1%	193	94.1%	167	95.4%	64	92.8%	103	97.2%
		＋－	14	2.4%	8	2.8%	6	1.9%	14	3.3%	8	3.8%	6	2.9%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋	1	0.2%	1	0.4%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.6%	1	1.4%	0	0.0%
		＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		検査せず	24	4.0%	15	5.3%	9	2.9%	17	4.1%	11	5.2%	6	2.9%	7	4.0%	4	5.8%	3	2.8%

※　本文中の有所見率については、「検査せず」を除外して計算。

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金

表 5　2008年度歯科検診集計結果

			総数						認定						未認定					
			総数		男		女		総数		男		女		総数		男		女	
			人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%
口腔所見	主訴有無	無	365	63.1%	184	66.7%	181	59.9%	248	60.9%	133	63.6%	115	58.1%	117	68.4%	51	76.1%	66	63.5%
		有	213	36.9%	92	33.3%	121	40.1%	159	39.1%	76	36.4%	83	41.9%	54	31.6%	16	23.9%	38	36.5%
	歯肉炎	無	510	88.2%	240	87.3%	270	89.1%	362	89.2%	183	88.0%	179	90.4%	148	86.0%	57	85.1%	91	86.7%
		有	68	11.8%	35	12.7%	33	10.9%	44	10.8%	25	12.0%	19	9.6%	24	14.0%	10	14.9%	14	13.3%
	辺縁性歯周炎	無	358	61.9%	137	49.8%	221	72.9%	252	62.1%	102	49.0%	150	75.8%	106	61.6%	35	52.2%	71	67.6%
		有	220	38.1%	138	50.2%	82	27.1%	154	37.9%	106	51.0%	48	24.2%	66	38.4%	32	47.8%	34	32.4%
	歯牙萌出異常	無	577	99.8%	275	100.0%	302	99.7%	405	99.8%	208	100.0%	197	99.5%	172	100.0%	67	100.0%	105	100.0%
		有	1	0.2%	0	0.0%	1	0.3%	1	0.2%	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	歯牙着色	無	570	98.8%	271	98.5%	299	99.0%	400	98.5%	204	98.1%	196	99.0%	170	99.4%	67	100.0%	103	99.0%
		有	7	1.2%	4	1.5%	3	1.0%	6	1.5%	4	1.9%	2	1.0%	1	0.6%	0	0.0%	1	1.0%
	歯牙形成不全	無	576	99.8%	275	100.0%	301	99.7%	405	99.8%	208	100.0%	197	99.5%	171	100.0%	67	100.0%	104	100.0%
		有	1	0.2%	0	0.0%	1	0.3%	1	0.2%	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	咬合異常	無	567	99.1%	271	99.3%	296	99.0%	397	99.0%	205	99.5%	192	98.5%	170	99.4%	66	98.5%	104	100.0%
		有	5	0.9%	2	0.7%	3	1.0%	4	1.0%	1	0.5%	3	1.5%	1	0.6%	1	1.5%	0	0.0%
	その他	無	564	98.8%	269	98.5%	295	99.0%	393	98.3%	202	98.1%	191	98.5%	171	100.0%	67	100.0%	104	100.0%
		有	7	1.2%	4	1.5%	3	1.0%	7	1.8%	4	1.9%	3	1.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
色素沈着所見	上歯肉	−	440	76.1%	192	69.8%	248	81.8%	305	74.9%	146	69.9%	159	80.3%	135	78.9%	46	69.7%	89	84.8%
		＋−	32	5.5%	20	7.3%	12	4.0%	22	5.4%	16	7.7%	6	3.0%	10	5.8%	4	6.1%	6	5.7%
		＋	80	13.8%	42	15.3%	38	12.5%	62	15.2%	33	15.8%	29	14.6%	18	10.5%	9	13.6%	9	8.6%
		＋＋	22	3.8%	17	6.2%	5	1.7%	14	3.4%	10	4.8%	4	2.0%	8	4.7%	7	10.6%	1	1.0%
		＋＋＋	4	0.7%	4	1.5%	0	0.0%	4	1.0%	4	1.9%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	下歯肉	−	407	70.3%	179	64.9%	228	75.2%	280	68.8%	134	64.1%	146	73.7%	127	73.8%	45	67.2%	82	78.1%
		＋−	36	6.2%	20	7.2%	16	5.3%	26	6.4%	15	7.2%	11	5.6%	10	5.8%	5	7.5%	5	4.8%
		＋	109	18.8%	59	21.4%	50	16.5%	83	20.4%	47	22.5%	36	18.2%	26	15.1%	12	17.9%	14	13.3%
		＋＋	25	4.3%	16	5.8%	9	3.0%	16	3.9%	11	5.3%	5	2.5%	9	5.2%	5	7.5%	4	3.8%
		＋＋＋	2	0.3%	2	0.7%	0	0.0%	2	0.5%	2	1.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	右頬粘膜	−	529	91.7%	242	88.0%	287	95.0%	368	90.6%	180	86.5%	188	94.9%	161	94.2%	62	92.5%	99	95.2%
		＋−	11	1.9%	6	2.2%	5	1.7%	9	2.2%	6	2.9%	3	1.5%	2	1.2%	0	0.0%	2	1.9%
		＋	30	5.2%	22	8.0%	8	2.6%	25	6.2%	20	9.6%	5	2.5%	5	2.9%	2	3.0%	3	2.9%
		＋＋	6	1.0%	4	1.5%	2	0.7%	3	0.7%	1	0.5%	2	1.0%	3	1.8%	3	4.5%	0	0.0%
		＋＋＋	1	0.2%	1	0.4%	0	0.0%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	左頬粘膜	−	527	91.3%	239	86.9%	288	95.4%	366	90.1%	177	85.1%	189	95.5%	161	94.2%	62	92.5%	99	95.2%
		＋−	13	2.3%	9	3.3%	4	1.3%	9	2.2%	8	3.8%	1	0.5%	4	2.3%	1	1.5%	3	2.9%
		＋	29	5.0%	20	7.3%	9	3.0%	24	5.9%	17	8.2%	7	3.5%	5	2.9%	3	4.5%	2	1.9%
		＋＋	7	1.2%	6	2.2%	1	0.3%	6	1.5%	5	2.4%	1	0.5%	1	0.6%	1	1.5%	0	0.0%
		＋＋＋	1	0.2%	1	0.4%	0	0.0%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	口蓋粘膜	−	560	97.2%	264	96.4%	296	98.0%	391	96.5%	198	95.7%	193	97.5%	169	98.8%	66	98.5%	103	99.0%
		＋−	2	0.3%	2	0.7%	0	0.0%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	1	0.6%	1	1.5%	0	0.0%
		＋	11	1.9%	6	2.2%	5	1.7%	10	2.5%	6	2.9%	4	2.0%	1	0.6%	0	0.0%	1	1.0%
		＋＋	2	0.3%	2	0.7%	0	0.0%	2	0.5%	2	1.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋＋	1	0.2%	0	0.0%	1	0.3%	1	0.2%	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	上口唇粘膜	−	562	97.2%	265	96.0%	297	98.3%	396	97.3%	199	95.2%	197	99.5%	166	97.1%	66	98.5%	100	96.2%
		＋−	9	1.6%	5	1.8%	4	1.3%	5	1.2%	4	1.9%	1	0.5%	4	2.3%	1	1.5%	3	2.9%
		＋	5	0.9%	5	1.8%	0	0.0%	5	1.2%	5	2.4%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋	2	0.3%	1	0.4%	1	0.3%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	1	0.6%	0	0.0%	1	1.0%
		＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
	下口唇粘膜	−	552	95.7%	256	92.8%	296	98.3%	385	94.6%	190	90.9%	195	98.5%	167	98.2%	66	98.5%	101	98.1%
		＋−	12	2.1%	8	2.9%	4	1.3%	10	2.5%	8	3.8%	2	1.0%	2	1.2%	0	0.0%	2	1.9%
		＋	12	2.1%	11	4.0%	1	0.3%	11	2.7%	10	4.8%	1	0.5%	1	0.6%	1	1.5%	0	0.0%
		＋＋	1	0.2%	1	0.4%	0	0.0%	1	0.2%	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
		＋＋＋	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%

表 6　2009 年度検診受診者内訳

	総数						男						女					
	総数		認定		未認定		総数		認定		未認定		総数		認定		未認定	
	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%	人	%
総数	558	100.0%	370	66.3%	188	33.7%	255	100.0%	172	67.5%	83	32.5%	303	100.0%	198	65.3%	105	34.7%
0 - 9歳	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
10 - 19歳	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
20 - 29歳	7	100.0%	0	0.0%	7	100.0%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
30 - 39歳	28	100.0%	8	28.6%	20	71.4%	17	100.0%	6	35.3%	11	64.7%	11	100.0%	2	18.2%	9	81.8%
40 - 49歳	71	100.0%	42	59.2%	29	40.8%	32	100.0%	21	65.6%	11	34.4%	39	100.0%	21	53.8%	18	46.2%
50 - 59歳	112	100.0%	69	61.6%	43	38.4%	45	100.0%	27	60.0%	18	40.0%	67	100.0%	42	62.7%	25	37.3%
60 - 69歳	122	100.0%	92	75.4%	30	24.6%	54	100.0%	41	75.9%	13	24.1%	68	100.0%	51	75.0%	17	25.0%
70 - 79歳	151	100.0%	112	74.2%	39	25.8%	70	100.0%	57	81.4%	13	18.6%	81	100.0%	55	67.9%	26	32.1%
80 - 89歳	57	100.0%	45	78.9%	12	21.1%	26	100.0%	19	73.1%	7	26.9%	31	100.0%	26	83.9%	5	16.1%
90歳以上	2	100.0%	2	100.0%	0	0.0%	1	100.0%	1	100.0%	0	0.0%	1	100.0%	1	100.0%	0	0.0%

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金

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　歯科保存学研究分野　　教授
研究協力者　橋口　勇　　〃　　准助教

研究要旨　平成22年度の福岡県における油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者を対象に、歯周炎ならびに口腔内色素沈着の罹患率を調べた結果、いずれも健常者に対して高い割合を示したが、平成 21 年度の結果と比較するといずれも減少していた。また、上記疾患と PCDF 等の原因物質との間に明らかな関連は認められなかった。

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22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 121 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、義歯不適合や歯肉腫脹等が挙げられたが、色素沈着による審美障害はなかった。また、例年挙げられていた歯肉出血もなかった。

歯周ポケット診査において 3mm 以上のいわゆる病的歯周ポケットを 1 歯でも有している患者は、検査対象歯を 1 本以上有する 116 名中 104 名（89.7%）と高い割合を示した。また、3mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は、551 の総被検歯のうち 314 歯（57.0%）であった。性別でみると男性 64.1%、女性 51.2%で、過半数の歯牙が罹患していた（表 3）。年齢別の総被検歯に占める 3 ㎜以上の歯周ポケットの罹患率をみると、全ての年代で 50%以上の値を示した。また、性別でみると、80 歳以上を除く各年齢において男性の方が罹患率は高く、60 歳代では女性に比べて約 2 倍の罹患率を示した（図 1）。歯種別の総被検歯に占める 3 ㎜以上の歯周ポケットの罹患率をみると、下顎左側第一大臼歯、下顎右側第一小臼歯や上顎左側第一小臼歯では 60%以上の罹患率を示したが、上顎左側中切歯、上顎右側第一大臼歯や下顎右側中切歯では 40%台であった（表 3）。歯種別の歯牙残存率と３㎜以上の歯周ポケット発現率を平成21年度と比較すると、歯牙残存率には変化はみられないのに対し、全ての歯種で前年より罹患率が低くなっていた。（図 2）。

口腔粘膜に色素沈着を有する者の割合は 52.1%(男性 53.6%、女性 50.8%)で、以前の結果と同様に男性の発現率が高い傾向を示した。発現率を年齢別にみると、70 歳未満の患者ではすべての年代で 60%以上の高い発現率を示した。一方、70 歳以上の患者では発現率は低く、30%前後の値を示した。色素沈着の発現率を平成 21 年度と比較すると、ほぼ同程度か低い値を示した（図 3)。

D. 考察

前回までの報告と同様に、高齢者はもとより 50 歳未満の若年者でも高い歯周ポケット罹患率を示すことが明らかになった。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ことから、PCDF 等の油症発症原因物質によって、歯周炎症状が惹起された可能性も考えられる。しかし、各歯種ともわずか 1 年で約 15～30%の急激な罹患率の低下を示していることから、PCDF 中毒の直接的な関与によって歯周炎が発症したとは考えにくい。歯種別の歯周ポケット罹患率をみると、臼歯に比べて清掃しやすく、また咬合負担の少ない前歯部で罹患率が低かった。これらのことから、油症患者においても歯周病の発症にはデンタルプラーク等の局所因子が直接的な因子として働き、骨代謝異常は間接的に作用すると思われる。今回、前年に比べて歯周ポケット罹患率の低下がみられたことより、油症患者の口腔内健康を維持するために適切な口腔衛生指導をより徹底して行う必要性が示唆された。

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く、平成 21 年度の発現率は平均 63.2%、男性 70.0%、女性 57.9%であった。今回、男性ならびに女性の両者とも発現率が低下していた。眼科や皮膚科領域では油症発症後経年的に色素沈着は減少していることが報告されているが、歯周組織においても色素沈着の減少が生じているのかもしれない。しかし、歯肉色素沈着については平成 5 年度までは経年的な減少が観察されたがその後発現率が上昇したことに加えて、PCDF 濃度の高い高齢者で口腔内色素沈着発現率が低いことから、PCDF の直接的な関与については不明な点が多く、今後の更なる観察が必要と思われる。

E. 結論

平成 22 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 3mm 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 21 年度に比べていずれも低下していた。

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	12 (12*)	7 (7)	19 (19)
50 ～ 59	6 (6)	13 (13)	19 (19)
60 ～ 69	12 (11)	19 (18)	31 (29)
70 ～ 79	19 (19)	18 (18)	37 (37)
80 ～ 99	7 (6)	8 (6)	15 (12)
計	56 (54)	65 (62)	121(116)

＊：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	4	5	9
義歯不適	3	4	7
歯肉腫脹	4	1	5
齲蝕	2	1	3
修復物脱離	2	1	3
歯牙動揺	1	2	3
食片圧入	0	3	3
その他	2	4	6

表３．歯種別の３㎜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	21	24	26	37	25	26	159
	総被検歯数	37	38	40	50	47	36	248
	罹患率（%）	56.8	63.2	65.0	74.0	53.2	72.2	64.1
女性	罹患歯数	19	20	32	35	21	28	155
	総被検歯数	45	52	51	57	54	44	303
	罹患率（%）	42.2	38.5	62.7	61.4	38.9	63.6	51.2
計	罹患歯数	40	44	58	72	46	54	314
	総被検歯数	82	90	91	107	101	80	551
	罹患率（%）	48.8	48.9	63.7	67.3	45.5	67.5	57.0

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

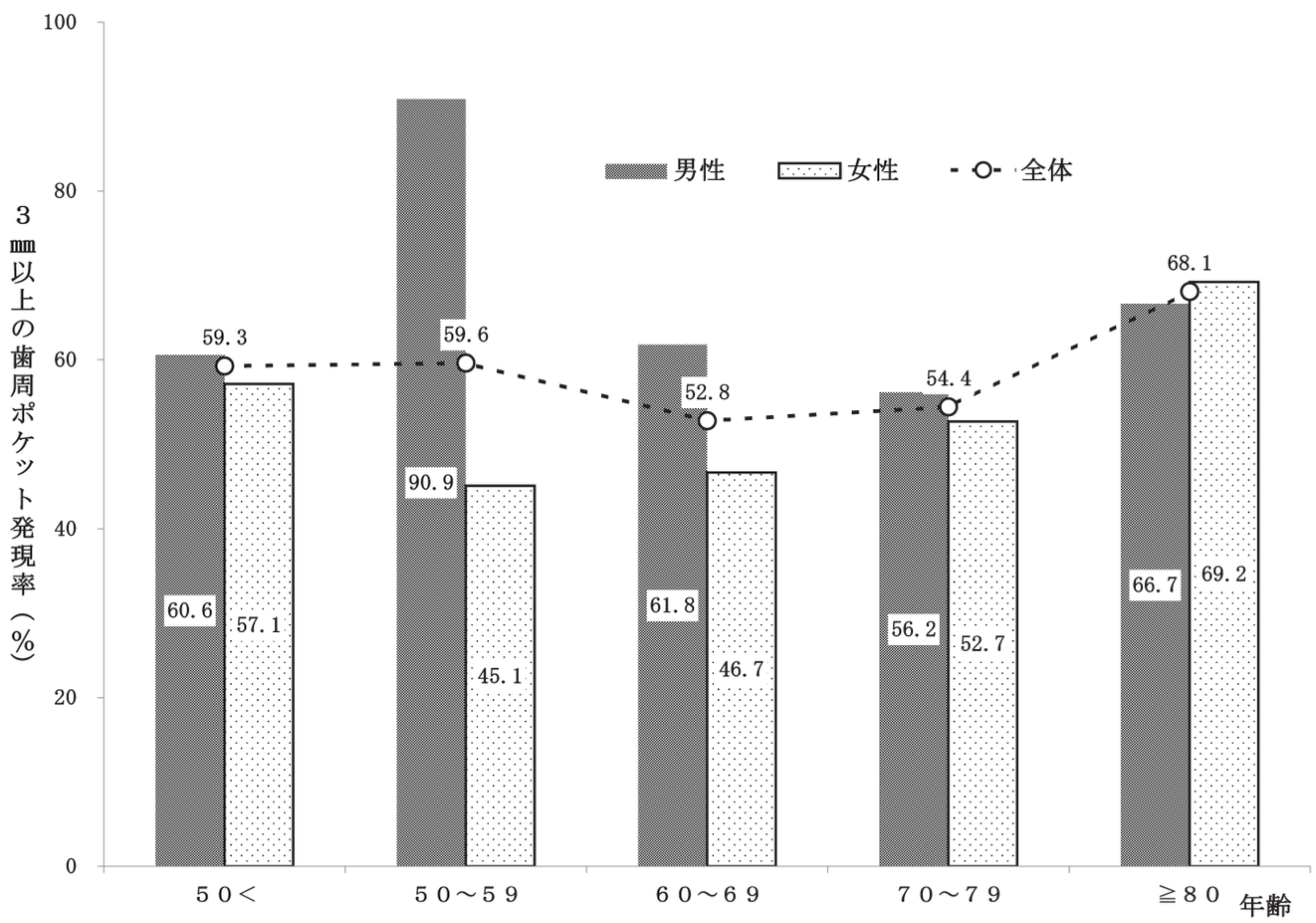


図１．年齢別にみた３㎜以上の歯周ポケット罹患率

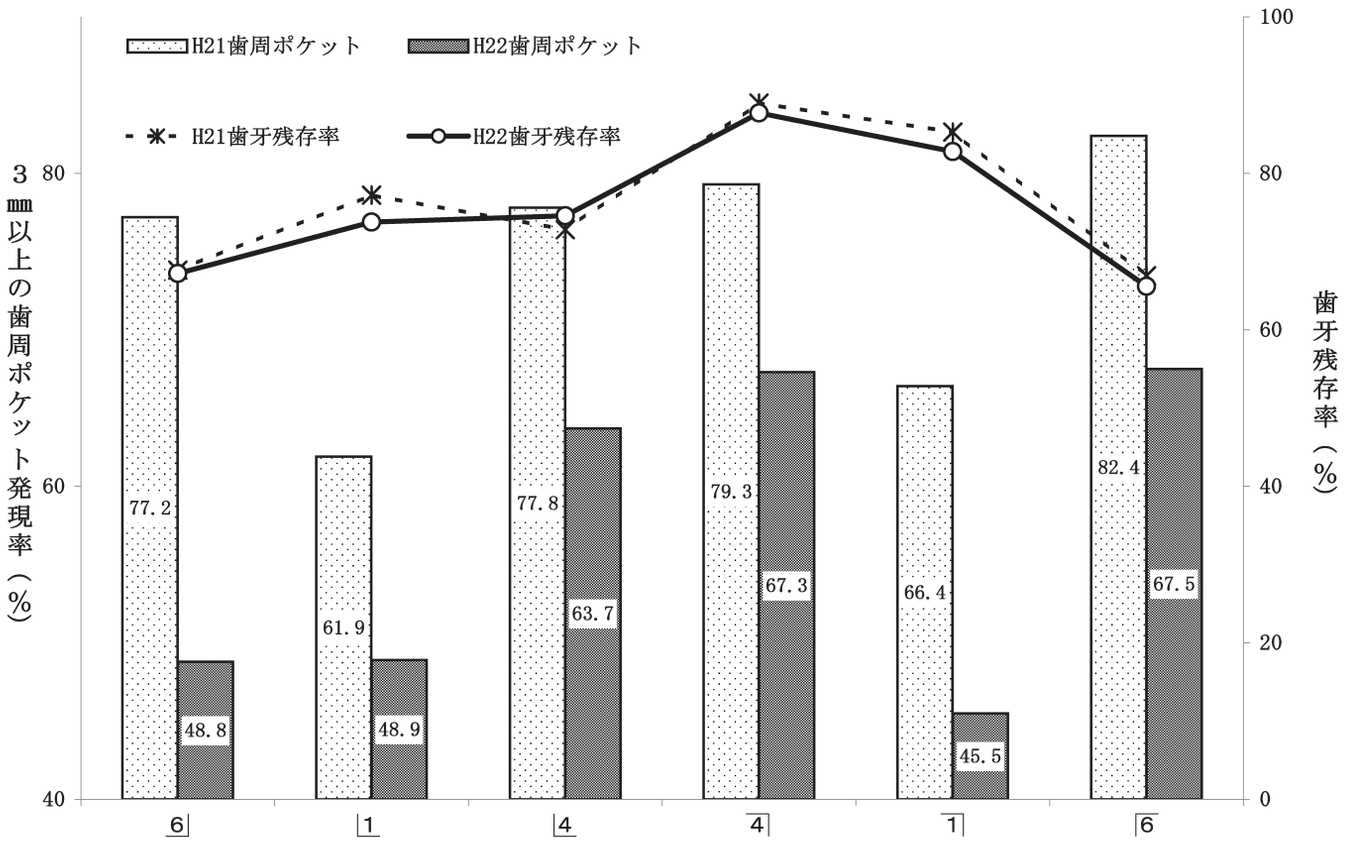


図２.平成２１年度、２２年度における歯種別にみた歯周ポケット発現率と歯牙残存率

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

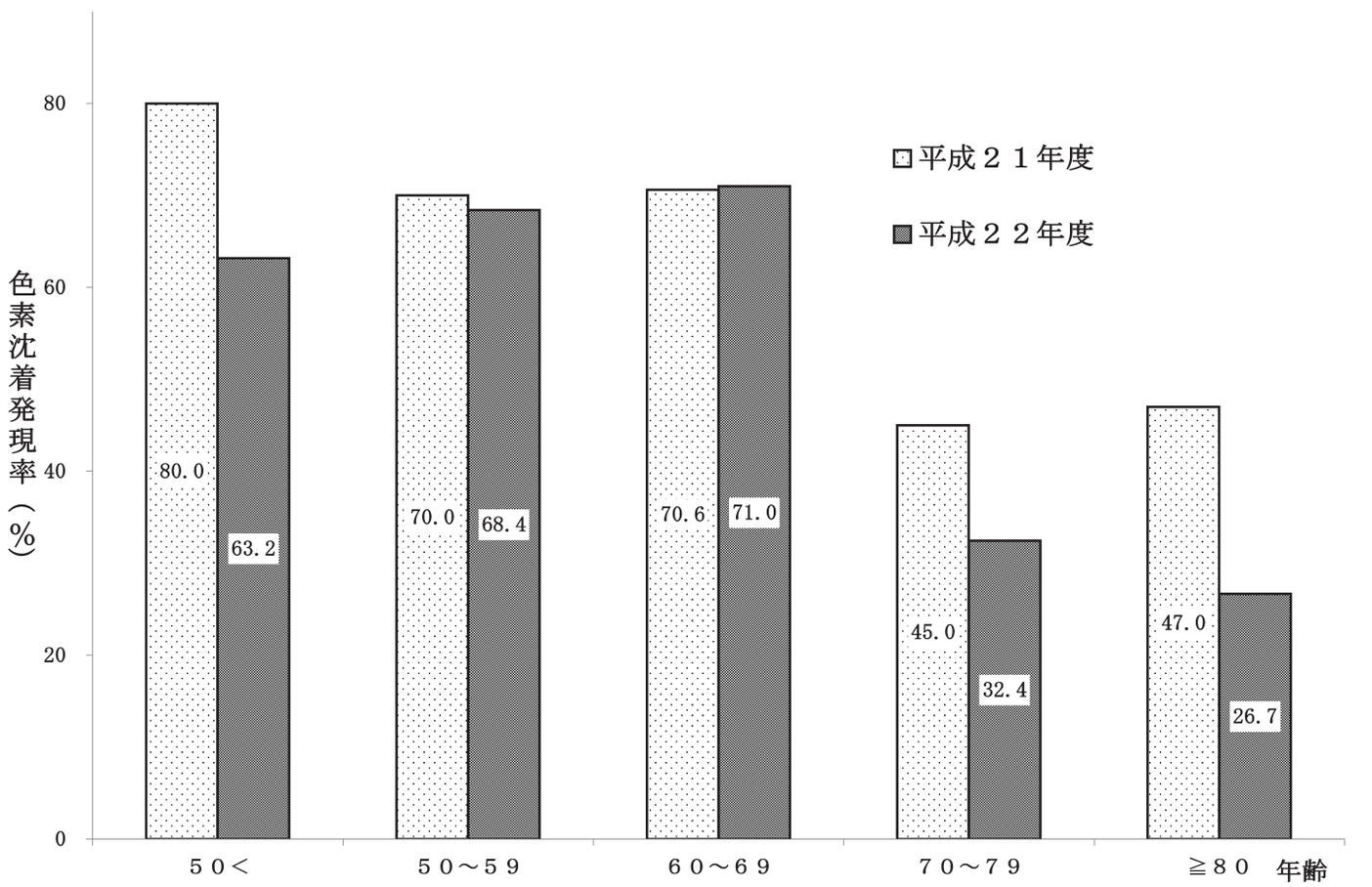


図３.平成２１年度と平成２２年度における年齢別の色素沈着発現率

分担研究報告書

福岡県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
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　安川史子　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 21 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 60％の患者に症状をほとんど認めないが、約 40％の患者には依然として面皰やざ瘡様皮疹などの症状が残存していた。この傾向に近年大きな変化はない。油症患者が高齢化しており、加齢による影響も含め、ダイオキシン類が長期間にわたって皮膚に及ぼす影響について、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 年以上が経過し、急性期から認められた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．D．研究結果・考察

1. 福岡県油症検診皮膚科受診者数と年齢分布

平成 21 年度の皮膚科受診者数は 202 名、うち認定患者は 139 名（男性 61 名、女性 78 名）、未認定患者は 63 名（男性 24 名、女性 39 名）だった。なお、初診患者は 28 名だった。検診受診者数はここ数年横ばい状態が継続しているが、平成 21 年度は未認定者の受診が増え、認定者の受診が減っている（表１）。平成 21 年度の認定患者の年齢分布を表 2 に示す。受診者の高齢化が

進んでいるのが明らかである。

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。母集団が毎年変化するため、単純な比較はできないが、ここ数年で大きな変化はない。平成 21 年度では約 40％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 2 名の患者には全身に皮膚症状の残存を認めた。依然として皮膚症状が残存している患者が存在する。

Ｅ．結論

福岡県油症検診における皮膚症状を検討した。約 60％の患者に皮膚症状をほとんど認めないが、約 40％の患者には面皰やざ瘡様皮疹などの症状が残存していた。この傾向は近年あまり変化が認められない。ダイオキシン類と発がん性についての報告もあり、加齢による影響も含め、上記評価項目だけでなく、ダイオキシン類が長期間にわたって皮膚に及ぼす影響について、今後も皮膚症状の推移を注意深く観察する必要がある。

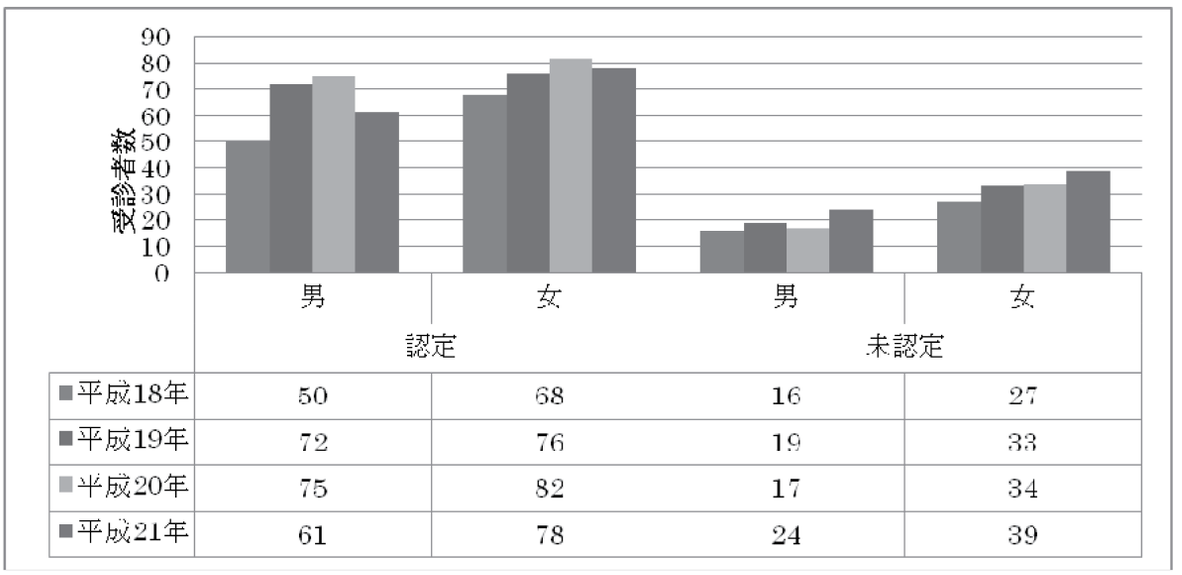
Ｆ．研究発表

なし

Ｇ．知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 福岡県皮膚科検診受診者数の推移



	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
■平成21年	61	78	24	39

表 2. 福岡県皮膚科検診受診者（認定患者）数の年齢分布

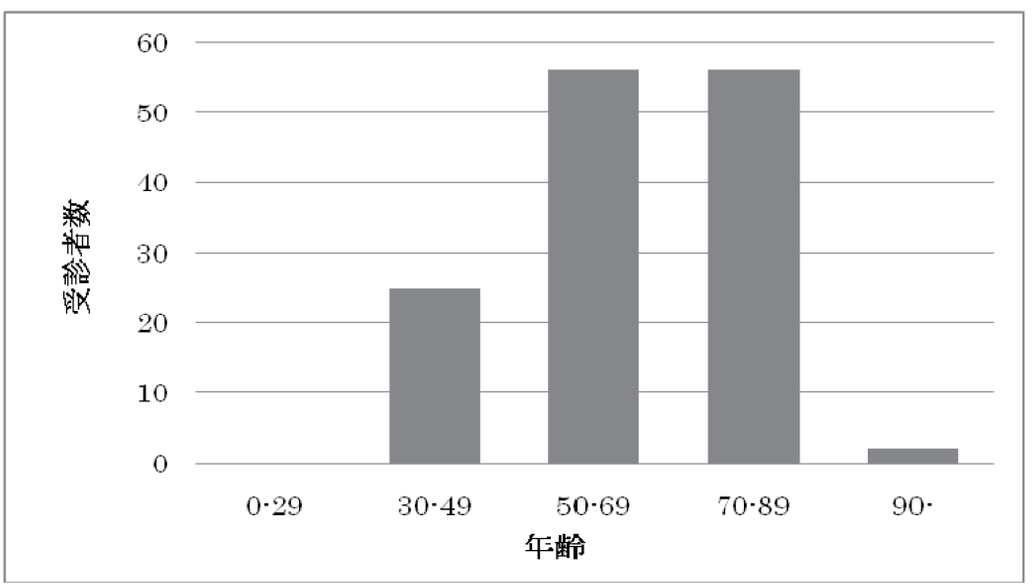


表 3. 皮膚重症度の推移

年度	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		2009 年 平成 21 年	
重症度	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
0	34	54	43	64.8	68	68.6	66	72.9	77	67.3	82	62.5
0 I	13		16		13		42		30		5	
I	9	18.4	3	3.3	6	5.1	2	4.1	3	3.2	1	12.2
I II	7		0		0		4		2		16	
II	12	23.0	11	15.4	7	11.9	8	10.8	27	20.5	6	20.9
II III	8		3		7		8		4		23	
III	3	4.6	10	16.5	5	11.9	14	11.5	11	8.3	4	2.9
III IV	1		5		9		3		2		0	
IV	0		0		3	2.5	1	0.7	1	0.6	2	1.4
計	87		91		118		148		157		139	

分担研究報告書

平成 22 年度油症皮膚検診における皮膚所見のデータ解析に関する研究

研究分担者　　中山　樹一郎　　福岡大学医学部皮膚科　教授

研究要旨　平成22年度に福岡と久留米保健所で検診した27名の受診者について油症認定患者と非認定者の皮膚症状を比較検討した。最近の化膿傾向、かつてのざ瘡様皮疹及び顔面の瘢痕化の 3 項目が有意に認定患者に高かった。この結果は、カネミ油摂取量の差によるものか、ダイオキシンほかの代謝・解毒能の差によるものか、さらなる検討が必要と思われた。

A．研究目的

油症認定基準の改定で血中ダイオキシン濃度が大きな認定因子となっているが、現時点で油症認定患者と非認定者間で皮膚症状に差があるのかどうかについて検討することを目的とした。

B．研究方法

平成 22 年度の油症検診に受診した油症認定患者および非認定者の皮膚病変の程度を従来の評価項目を用いて点数化し、統計学的に比較し、どの項目に有意な差があるのかどうかを検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は純学問的な比較検討であり、倫理面での問題はないと判断した。

C．研究結果

毎年検診時に用いる皮膚所見記載用紙の各項目（表 1）を 1 から 5 まで症状の程度を点数化し、14 名の認定者と 13 名の非認定者の群に分け、それぞれの平均値を求め、有意差検定（t-検定）を行った。結果は最近の化膿傾向、かつてのざ瘡様皮疹及び顔面の瘢痕化の 3 項目が有意に認定患者に高かった（表 1）。

D．考察

油症発症後 40 年以上がたつが、いまだに皮膚病変のため日常生活が困窮している患者が多数みられる。以前は油症認定の基準が皮膚病変の有無が大きな要因の一つであったが、近年それが改定され、血中ダイオキシン濃度が大きな因子となった。それに伴い、非認定者の検診受診が増加している。そこで現時点で認定者と非認定者の間で皮膚病変に何か差があるのかどうかを今回検討した。結果は過去に皮膚症状が高度に生じたことを示す項目、たとえば顔面の瘢痕化に有意な差がみられた。この結果は発症当時の診断基準が大きく影響しているのか、あるいは個人的なダイオキシンほかの解毒能の差によるものか、今後さらに検討すべき課題と思われた。

E．結論

油症認定患者が非認定者より有意に過去に皮膚病変が高度に生じたことが示唆された。

F．研究発表

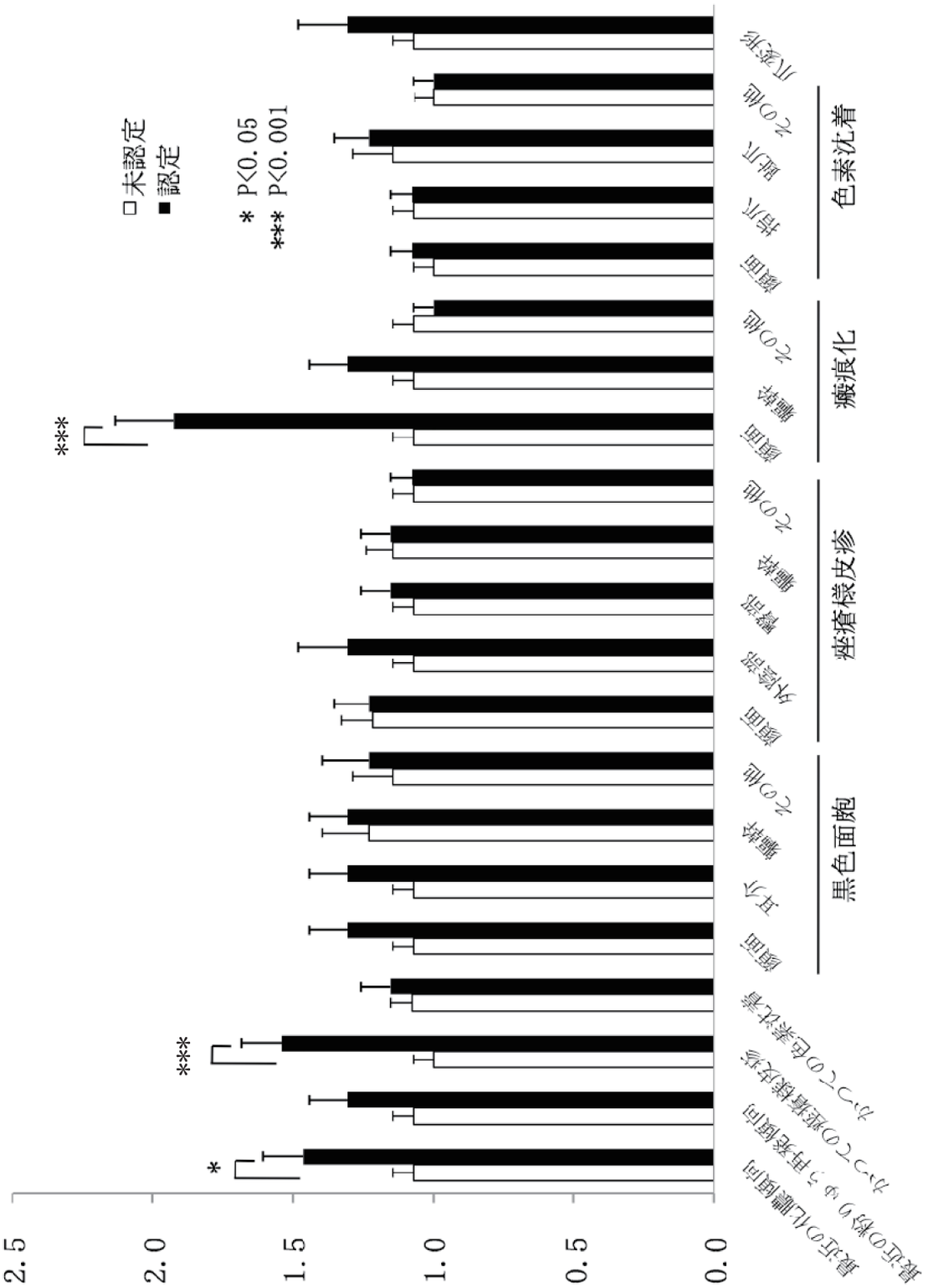
なし

G．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

なし

表 1


□未認定
■認定
＊ P<0.05
＊＊＊ P<0.001
＊
＊＊＊
＊＊＊
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
最近の化膿傾向
最近の粉ふき再発傾向
かつての難治皮疹
かつての色素沈着
顔面
耳介
鼻部
その他
顔面
外陰部
臀部
鼡径
その他
顔面
鼡径
その他
顔面
指爪
陰爪
その他
爪変形
黒色面皰
痤瘡様皮疹
瘢痕化
色素沈着

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 22 年度油症患者の眼症状を追跡調査した。

A．研究目的

研究の目的は、油症患者の眼所見の把握および治療法の確立である。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である。

B．研究方法

平成 22 年度の油症検診が 9 月 1 日久留米会場、9 月 4 日福岡会場、9 月 8 日北九州会場、9 月 11 日福岡会場、9 月 16 日北九州会場で行われた。受診者はそれぞれ 23 名、48 名、31 名、53 名、26 名で、合計は 181 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 181 名であった。一昨年・昨年は 200 名を超えたが、今年は少し減少していた。

自覚症状では眼脂過多を訴えるものが多かったが、その程度は軽く、油症の影響とは考えにくかった。他覚所見として慢性期の油症患者において診断的価値が高い眼症状である眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物は観察できなかった。

D．考察

受診者の高齢化が進み臨床所見は捉えにくくなってきている。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

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

1．特許取得　なし
2．実用新案登録　なし
3．その他　なし

分担研究報告書

油症患者における網膜細動脈硬化性変化と血中 PCB 濃度に関する研究

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た。そのうち、網膜細動脈硬化性変化と年齢、血中 PCB 濃度、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を重回帰分析を用い検討した。年齢が上がると有意に網膜細動脈硬化性変化が進む（p＜0.0001）という結果が得られた。血中 PCB 濃度（p=0.733）、血清中性脂肪濃度（p=0.304）、血清総コレステロール濃度（p=0.984）、血清 HDL コレステロール濃度（p=0.768）で有意差はなかった。網膜細動脈硬化性変化には年齢が影響し、血中 PCB 濃度は影響がなかった。

A．研究目的

油症事件が発生して 40 年以上が経過し、慢性期の油症患者において診断的価値が高い眼症状である眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物は、ほとんど観察されなくなった。そこで、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)]。今回、血中 PCB 濃度が網膜細動脈硬化性変化に及ぼす影響を検討した。

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１１４名、未認定患者７７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。２００９年度の油症検診時に得られた血中 PCB 濃度、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が２００９年度の網膜細動脈硬化スコア値に及ぼす影響を比較検討した。統計学的検討には重回帰分析を行い、目的変数に網膜細動脈硬化スコア値を用い、説明変数には年齢、血中 PCB 濃度、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

検診受診者の平均年齢は 62.8±14.4 歳であった。また、認定患者で 66.3±12.1 歳、未認定患者で 57.2±16.2 歳と認定患者の方が有意に高齢であった（p=0.0002）。

重回帰分析の結果は、年齢で有意差があった（p＜0.0001）が、血中 PCB 濃度（p=0.733）、血清中性脂肪濃度（p=0.304）、血清総コレステロール濃度（p=0.984）、血清 HDL コレステロール濃度（p=0.768）で有意差はなかった。認定患者においては、年齢で有意差があった（p＜0.0001）が、血中 PCB 濃度（p=0.873）、血清中性脂肪濃

度（p=0.292）、血清総コレステロール濃度（p=0.784）、血清 HDL コレステロール濃度（p=0.835）で有意差はなかった。また、未認定患者においても、年齢で有意差があった（p＜0.0001）が、血中 PCB 濃度（p=0.606）、血清中性脂肪濃度（p=0.479）、血清総コレステロール濃度（p=0.955）、血清 HDL コレステロール濃度（p=0.742）で有意差はなかった。

D．考察

今回、血中 PCB 濃度と網膜細動脈硬化性変化との関連を調べたが、油症検診受診者全員、認定患者のみ、未認定患者のみでも有意な関連はみられなかった。動脈硬化と関連があると思われる血清中性脂肪濃度、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も関連がなかった。関連があったのは年齢のみで、年齢が高くなると網膜細動脈硬化性変化スコア値が有意に高くなった。これは、過去の我々の報告と一致する[2)]。

油症患者のダイオキシン類曝露から 40 年以上が経過し、血中のダイオキシン類濃度が減少してきている。このため、現時点での血中 PCB 濃度がダイオキシン類の量的時間的曝露を正確に反映していない可能性が考えられる。

さらに、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直接的、間接的にどのように影響している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．結論

血中 PCB 濃度と網膜細動脈硬化性変化との関連はなかった。

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

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

分担研究報告書

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　講師

研究要旨　2007 年度の福岡県および長崎県油症一斉検診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。油症発生前に誕生し、かつ骨粗鬆症に対する治療歴のない 204 名において、末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を解析すると、複数の異性体においてダイオキシン類濃度と骨密度との間に正の関連を認めた。今後は他県の検診結果も含めた、より大規模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 年度に福岡県および長崎県の油症一斉検診に参加し、骨密度測定を行った受診者は 357 名であった。骨粗鬆症の治療による骨密度への影響を考慮し、骨粗鬆症治療歴の有無についての聞き取り調査を行い、230 名において治療歴がないことを確認した。この中から、油症発生前に出生した26名を除いた204名を対象に解析した。

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。

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多重直線回帰による解析を行った。多重直線回帰モデルにより年齢で調整し、末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を検討した。検出限界未満の測定値は検出限界の 1/2 を代入した。対象者の過半数が検出限界未満の異性体は解析を行わなかった。交互作用の検定の結果から、県別に関連を推定した。両側 $p<0.05$ をもって統計学的に有意と判定した。

（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. 研究結果

解析対象者は男性105名、女性109名、合計 204 名であった。平均年齢は男性64.1 才 (40-90)、女性 63.1 才(40-83)であった。このうち未認定者は男性 17 名、女性 27 名で、計 44 名であった。解析対象者の骨密度およびダイオキシン類濃度の分布を表１に、年齢と T スコアの散布図を図１に示す。

多重直線回帰による解析を行った異性体のうち、有意差の出た項目を表２に示す。福岡県の男性で 1,2,3,7,8,9-HxCDD が、長崎県の女性で 2,3,7,8-TCDF が、長崎県の男性で 1,2,3,4,7,8-HxCDD 、2,3,7,8- TCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8 -HxCDF, 3,3’,4,4’,5-PeCB(#126)が骨密度と正に関連していた。

D. 考察

2007 年の一斉検診の結果から、①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、②ダイオキシン類濃度とＴスコアの間には強い負の関連を認めるが、Ｚスコアとの間には明らかな関連を認めないことを、我々は以前に報告している。今回、年齢で調整した多重解析を行ったところ、複数のダイオキシン類異性体と骨密度の間に、正の関連を認める結果となった。

ヒト生体内で検出されるレベルのダイオキシン類濃度が骨密度にどのように影響するのかは、不明な点が多い。グリーンランドのイヌイットにおける調査では、PCB-153 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重直線回帰モデルによる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いる(Cote *et al*, 2006)。Hodgson らは、PCB 汚染を受けたスウェーデン住人 325 名の検討から、ダイオキシン様異性体 CB-118 と骨密度との間に男性では負の、女性では正の関連があったことを報告している(Hodgson *et al*, 2008)。

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。ダイオキシン類は、骨芽細胞、破骨細胞それぞれに抑制作用が報告されており(Gierthy *et al*, 1994, Korkalainen *et al*, 2009)、生体内でどちらをより強く抑制するかによって、骨密度を増加、あるいは減少させる可能性が考えられる。動物実験においても、ラットやマウスでは TCDD が骨形成を低下させる一方で、ヤギやヒツジにおいては PCB-153 が牝の胎児の骨密度を増加させることも報告されており(Gutleb *et al*, 2010)、動物種や異性体の種類、性差などによって、骨密度への影響が異なることが示唆されている。

今回の解析では、複数のダイオキシン類異性体と骨密度との間に正の関連を認めたが、その傾向は福岡県と長崎県の間で異なり、また性別によっても異なるものであった。今後は、2008 年以降に行われた他県での検診結果も対象に加え、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、より詳細な解析を計画している。

E. 結論

福岡県および長崎県の油症検診受診者において骨密度を測定し、複数のダイオキシン類異性体と骨密度の間に、正の関連を認めた。

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

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.

Hodgeson S, Thomas J, Fattore E et al (2008). Bone mineral density changes in relation to environmental PCB exposure. Environ Health Perspect 116:1162-6.

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.

B Gutleb AC, Arvidsson D, Orberg J et al(2010). Effects of bone tissue in ewes (Ovies aries) and their fetuses exposed to PCB118 and PCB153. Toxicology Letters 192:126-133.

図1：年齢とTスコアの散布図

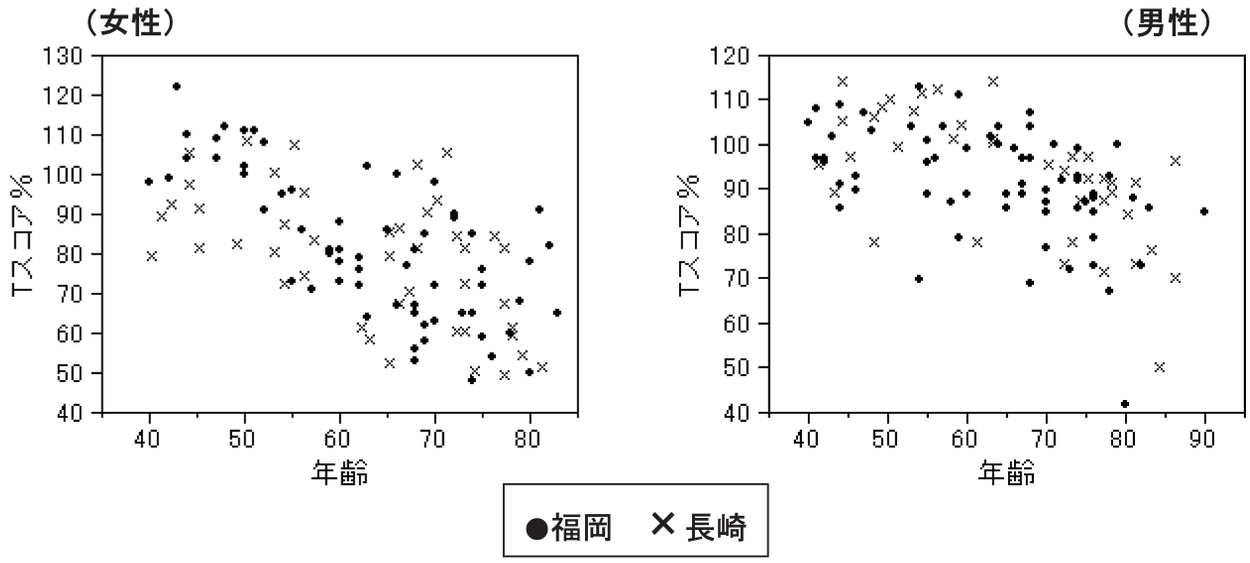


表1：年齢・骨密度・ダイオキシン類濃度の分布

	女性	男性
年齢	63.1 (40 – 83)	64.1 (40 – 90)
BMD	0.44 (0.23 – 0.78)	0.66 (0.29 – 0.87)
T-score (%)	81.0 (48.0 – 122)	93.0 (42.0 – 114)
Z-score (SD)	0.10 (-2.8 – 5.6)	0.45 (-4.8 – 3.7)
1,2,3,7,8-PeCDD	8.84 (1.99 – 34.76)	7.65 (2.42 – 20.80)
1,2,3,4,7,8-HxCDD	3.07 (0.50 – 11.67)	2.71 (0.50 – 9.10)
1,2,3,6,7,8-HxCDD	34.0 (6.5 – 242.4)	24.3 (3.9 – 110.0)
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.53 (0.50 – 15.94)	3.09 (0.50 – 13.46)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	47.6 (22.9 – 366.6)	40.5 (0.5 – 179.2)
OCDD	762.7 (277.7 – 5061.5)	631.3 (234.7 – 2089.7)
2,3,7,8-TCDF	1.36 (0.25 – 9.66)	1.16 (0.25 – 6.46)
2,3,4,7,8-PeCDF	39.4 (3.7 – 1237.5)	25.4 (4.3 – 561.1)
1,2,3,4,7,8-HxCDF	9.18 (0.50 – 562.11)	5.74 (0.50 – 203.44)
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.96 (0.50 – 166.59)	5.92 (0.50 – 77.45)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.51 (0.50 – 28.97)	0.50 (0.50 – 15.50)
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	71.8 (16.4 – 516.4)	79.9 (13.3 – 358.0)
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	109.9 (13.2 – 731.0)	120.7 (23.7 – 530.9)

中央値（最小値－最大値）

表2：末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連

		福岡				長崎			
		女性		男性		女性		男性	
		slope	p	slope	p	slope	p	slope	p
1,2,3,4,7,8-HxCDD	BMD	-1.800	0.739	10.50	0.091	6.8	0.368	**12.1**	**0.044**
	T スコア(%)	-0.329	0.699	1.34	0.095	1.441	0.36	**2.075**	**0.045**
	Z スコア(SD)	-0.023	0.753	0.149	0.094	0.216	0.31	**0.299**	**0.048**
1,2,3,7,8,9-HxCDD	BMD	1.100	0.786	**13.1**	**0.037**	2.9	0.479	4.4	0.262
	T スコア(%)	0.153	0.805	**1.668**	**0.041**	0.639	0.461	0.758	0.265
	Z スコア(SD)	0.007	0.903	**0.185**	**0.039**	0.094	0.422	0.103	0.3
2,3,7,8-TCDF	BMD	-3.700	0.497	-1.000	0.902	**15.6**	**0.044**	**15.5**	**0.049**
	T スコア(%)	-0.602	0.473	-0.174	0.869	**3.302**	**0.042**	**2.698**	**0.047**
	Z スコア(SD)	-0.045	0.542	-0.019	0.871	**0.482**	**0.027**	0.379	0.056
2,3,4,7,8-PeCDF	BMD	0.000	0.704	0.000	0.8	0.1	0.431	**0.5**	**0.034**
	T スコア(%)	-0.003	0.704	-0.003	0.806	0.015	0.417	**0.078**	**0.035**
	Z スコア(SD)	0.000	0.744	0.000	0.759	0.003	0.299	**0.011**	**0.04**
1,2,3,4,7,8-HxCDF	BMD	0.000	0.838	-0.100	0.758	0.4	0.218	**1.9**	**0.031**
	T スコア(%)	-0.003	0.837	-0.014	0.75	0.089	0.204	**0.322**	**0.032**
	Z スコア(SD)	0.000	0.868	-0.002	0.713	0.014	0.144	**0.045**	**0.038**
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	BMD	0.400	0.162	0.100	0.537	0.2	0.097	**0.23**	**0.046**
	T スコア(%)	0.064	0.175	0.019	0.533	0.035	0.093	**0.040**	**0.047**
	Z スコア(SD)	0.005	0.215	0.002	0.543	0.005	0.093	0.006	0.059

分担研究報告書

長崎県カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ、血清 CK 年次変化と骨密度と骨代謝マーカー

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　川崎 涼子　　長崎大学医歯薬学総合研究科保健学専攻　助教
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、骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ、血清骨型アルカリフォスファターゼ、尿中血清Ⅰ型コラーゲン架橋N-テロペプチドと血液PCB濃度、血液PCQ濃度との関係を検討した。その結果、女性で前腕骨と踵の骨密度は血液PCB濃度と負の弱相関を示した。骨代謝マーカーは、カネミ油症検診者で尿中のNTXの値が低下していた。PCBは骨代謝に影響を及ぼしている可能性があるが、カネミ認定者の骨密度の低下は認められない。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。

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。2009 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。

そこで今年度も，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-linked N-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影響を検討したので報告する。また、血中 PCB 濃度と骨密度の関係について統計学的に検討した。

対象と方法

１，血清 ALD と血清 CK 異常率の年次推移

1995 年～2009 年までのカネミ油症検診者データ全てを使用し、血清 ALD と血清 CK の異常率を各年度ごとに算出した。各年度の検診者の血液 PCB 濃度の平均と異常率の相関も検討した。

２，血中 PCBs と骨代謝マーカーの関係

平成 21 年のカネミ油症検診者、194 名を対象とし下記にあげる骨密度・代謝に関連する項目が測定できた検診者において、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 PCQ 濃度については、過去測定値（1995～2007）の平均値を採用した。

1．骨密度　(BMD)：前腕部、DXA(dual energy X ray absorptiometry)
2．骨密度　(BMD)：踵部、超音波
3．血清骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)

4.血清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）

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

下記にあげる骨密度・代謝に関連する項目が測定できた平成 21 年のカネミ油症検診者を対象とし、雲仙地区の住民 127 名と比較した。 カネミ油症検診者、雲仙地区の住民ともに、男性 30 歳以上、女性 55 歳以上を対象とした。また、カネミ油症検診者は、認定患者と未認定患者に分けて検討した。雲仙地区の住民との比較は、踵骨の超音波法による骨密度 踵骨スティフネスと尿中Ⅰ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド(NTX/Cr)を比較した。

結果

1，血清 CK 血と清 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、2009 年には 7.7％まで減少してきている。検診受診者の血液 PCB 濃度とその年の CK の異常率の相関をみると相関係数 0.73(p<0.05)で相関を認めた（図２）。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、2009 年には、2.6％に減少した。

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(相関係数男性
R=0.55(p<0.001)；女性
R=0.62(p<0.001))相関を認めている。図４に示すように男性では血液 PCBs 濃度との相関は認めなかった。図５に女性の骨密度と PCB の散布図を示す。今年度は、橈骨、踵骨ともに相関を認めた（R=-0.31(p<0.05)；(R=-0.29(p<0.05))。血液 PCQ に関しては橈骨遠位端での骨密度と踵骨のスティフネスと相関は男女ともに認めなかった。橈骨遠位端での骨密度と踵骨スティフニスと骨アルカリフォスファターゼ（BAP）血中 TRACP-5b との関係は明らかにできなかった（図６，図７，図８，図９）。尿 NTX は雲仙住民で女性では、骨密度と相関を示しているが(図 10)、カネミ認定者の尿 NTX と骨密度では、相関を明らかに出来なかった（図 11)。

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住民、カネミ認定者群、カネミ未認定群の身長、体重、年齢ともにカネミ油症検診者群と有意差はない。その結果は、図 12 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 3 群間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 13)。血中の TRACP-5b と BAP の骨代謝マーカーを男女に分けて、認定者と未認定者で比較したが、有意差はなかった（図 14,図 15)。

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、検診受診者の血液PCB濃度とその年のCKの異常率に相関があるので、検診者の平均血中PCBs濃度の低下などと関係している可能性があり、今後も経過観察が必要である。

昨年報告したように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。そして、カネミ認定者

の前腕骨骨密度、踵骨スティフネスは未認定者、雲仙地区の住民と比較しても低下していなかった。昨年、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。しかし、今年度は男性では血液PCB濃度と骨密度は相関を認めず、女性で軽度相関を認めた。血液TRACP-5b,BAP,尿中NTXでも明らかな異常を認めていない。

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）を尿中で測定した。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は高値をしめすと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。

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。

今回の骨密度、骨代謝マーカーの検討では、正常群と比べカネミ認定者で尿中のNTXが低下しているが、血中のTRAC-5bの低下を認めていない。また、PCBの血液濃度との相関など、昨年のデーターの再現性が認められていない。男性と女性で骨密度の低下の機序が異なる可能性、前腕骨と踵骨でPCBの影響が異なる可能性も考えられる。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密度には差はなかった。PCBの骨代謝への影響を明確にすることはできなかったが、その影響がないとも結論できない。

結論

カネミ油症検診者において、骨密度の低下は認められない。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。

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)Chaki O , Yoshikata I, Kikuchi R ,et al ：The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in postmenopausal Japanese women. J Bone Miner Res 15(8):1537-44, 2000
2) Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, Riggs BL：Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. Science, 241 :84 - 86, 1988
3) Komm BS, Terpening CM, Benz DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O'Malley BW, Haussler MR:Estrogen binding,receptor mRNA,and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. Science, 241:81-84, 1988
4) Oursler MJ, Osdoby P, Pyfferoen J,

Riggs BL, Spelsberg TC : Avian osteoclasts as estrogen target cells. Proc. Natl. Acad.Sci. USA, 88:6613-6617, 1991
5) Shimada T,Kakitani M,Yamazaki Y et al:Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. J ClinInvest 113:561-568,2004
6) 田中郁子、大島久二:骨粗鬆症診療における骨代謝マーカー測定の意義 1―ステロイド性骨粗鬆症への骨代謝マーカーの利用。Osteoporosis Jpn 14(2):51-54,2006
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異常率の年次推移

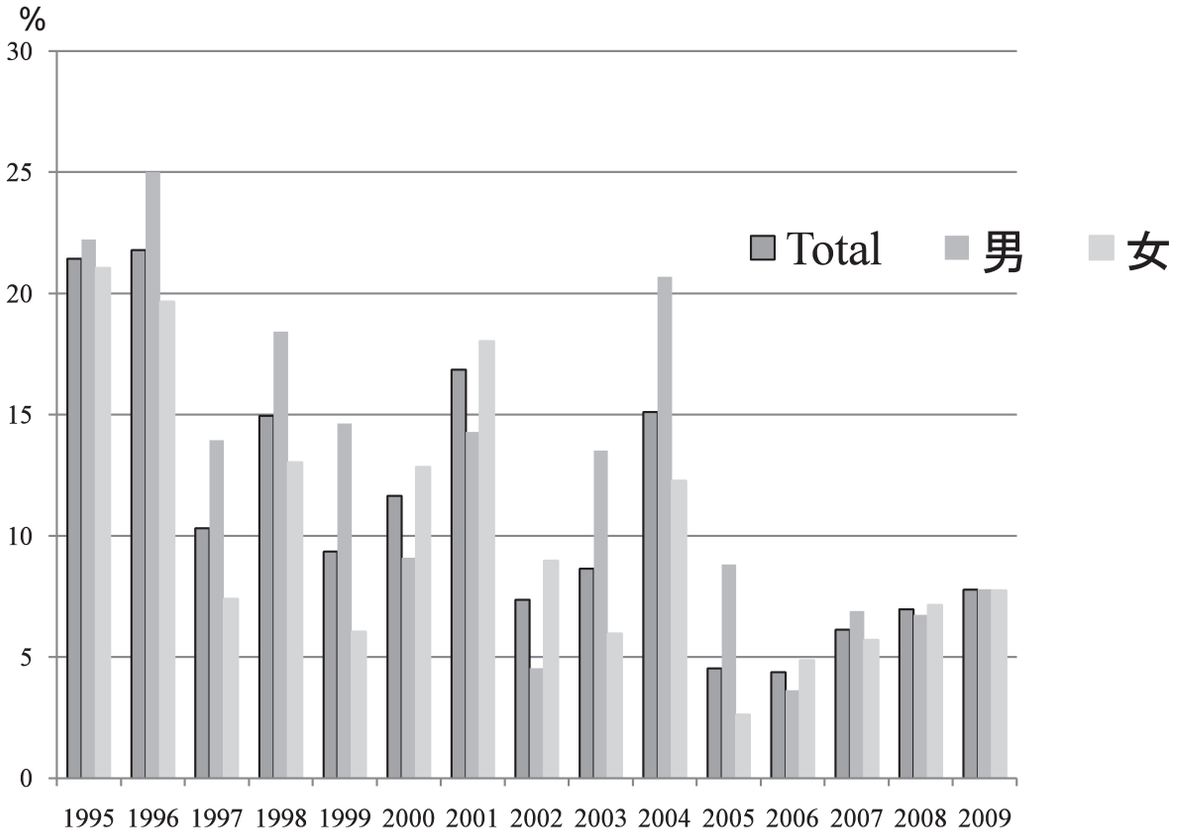
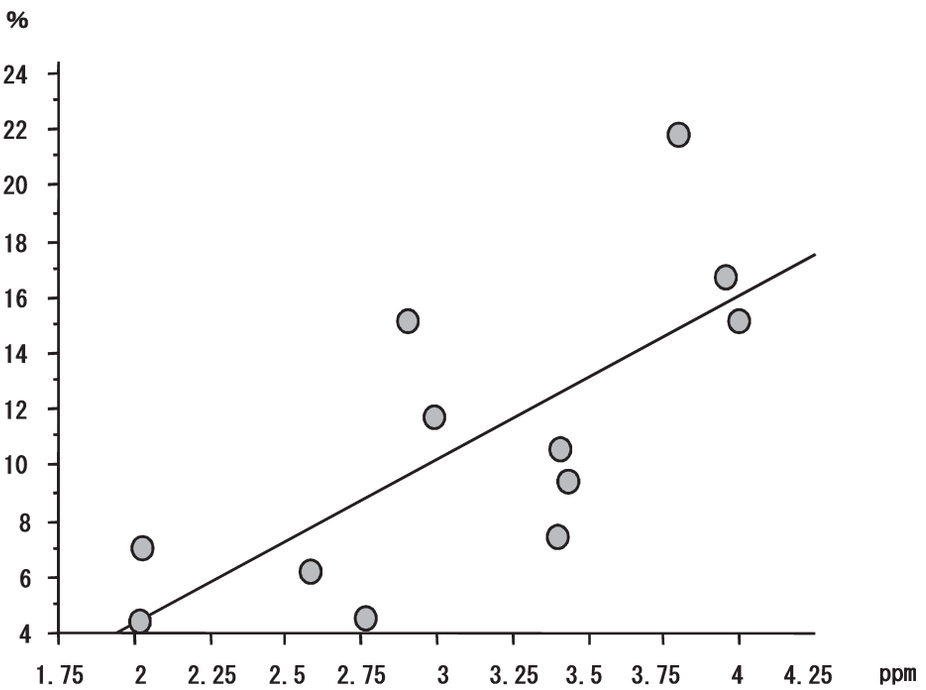


図２　CK異常率と血液PCB濃度の相関



血液PCB濃度

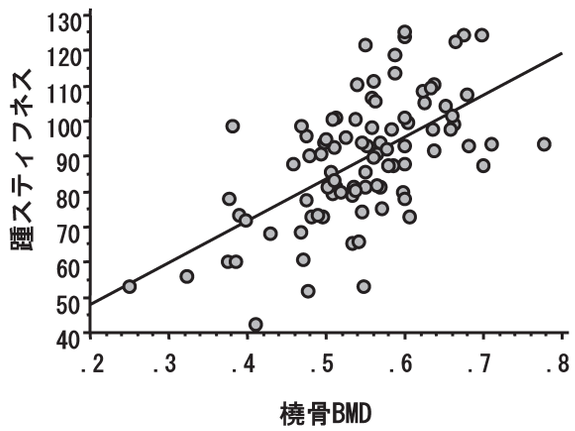
CK異常率 = -7.358 + 5.852 * PCB総; R^2 = .535

R=0.73　p<0.05

図３　橈骨BMDと踵骨スティフネス

散布図と回帰直線

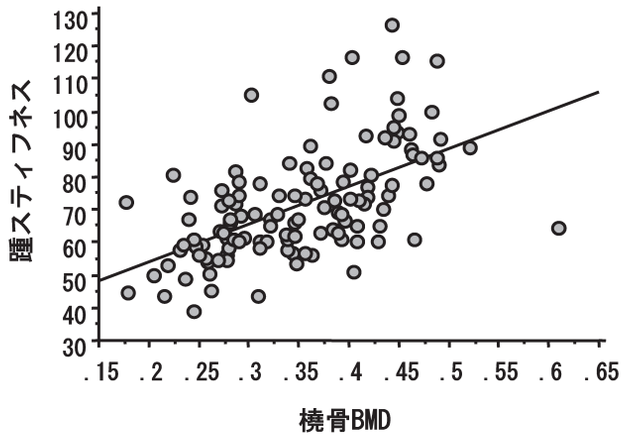
男性



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

R=0.55　p<0.001

女性

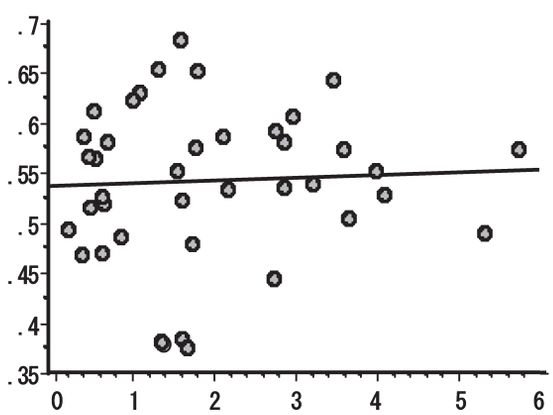


踵スティフネス = 30.816 + 116.044 * BMD; R^2 = .337

R=0.62　p<0.001

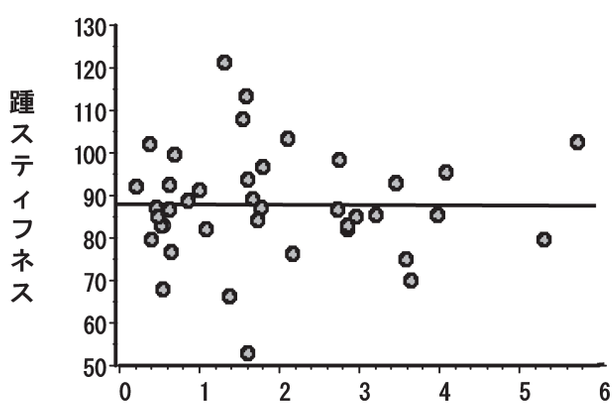
図４　骨密度とPCB濃度：男性

橈骨



BMD=0.357-0.008xPCB;R^2=0.031

踵骨

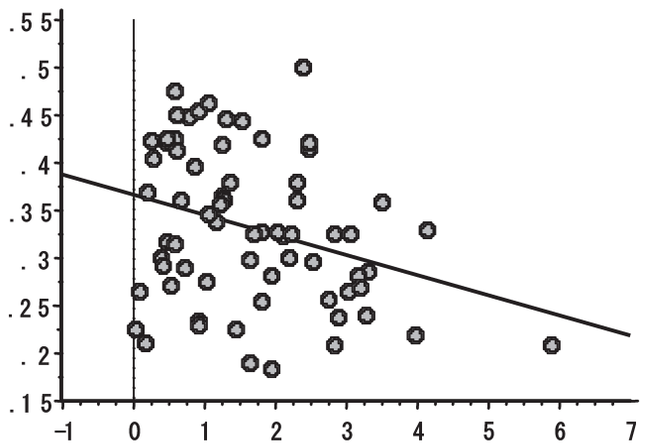


踵スティフニス=76.05-2.558xPCB;R^2=0.065

図５　骨密度とPCB濃度：女性

散布図と回帰直線

橈骨

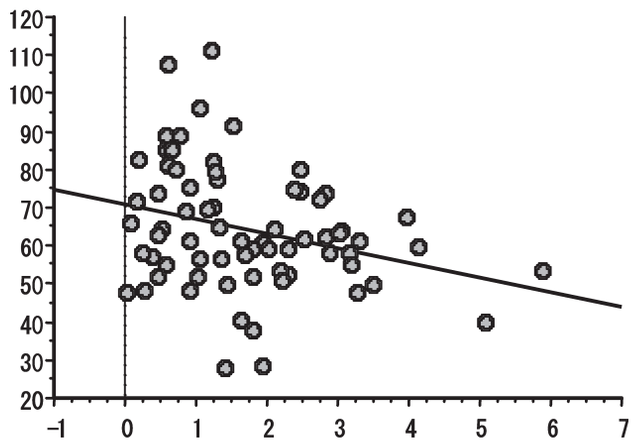


PCB濃度

BMD=0.367-0.021xPCB;R^2=0.095

R=-0.31　p<0.05

踵骨

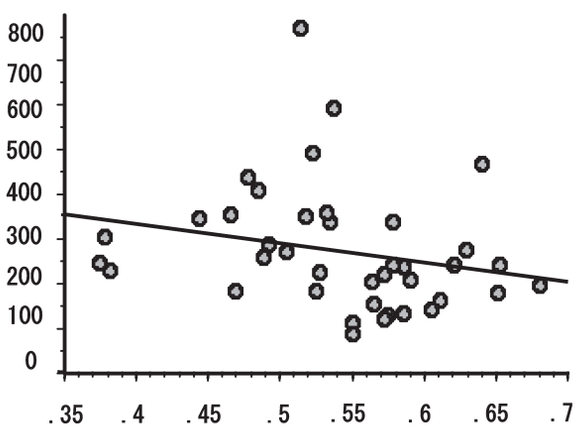


PCB濃度

踵スティフニス=70.86-3.829xPCB;R^2=0.082

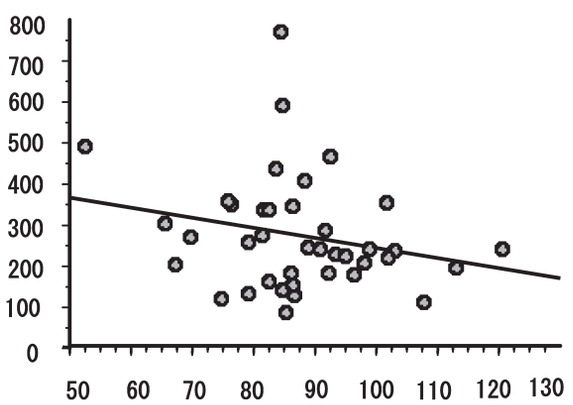
R=-0.29　p<0.05

図６　骨密度とTRACP-5b：男性



橈骨骨密度

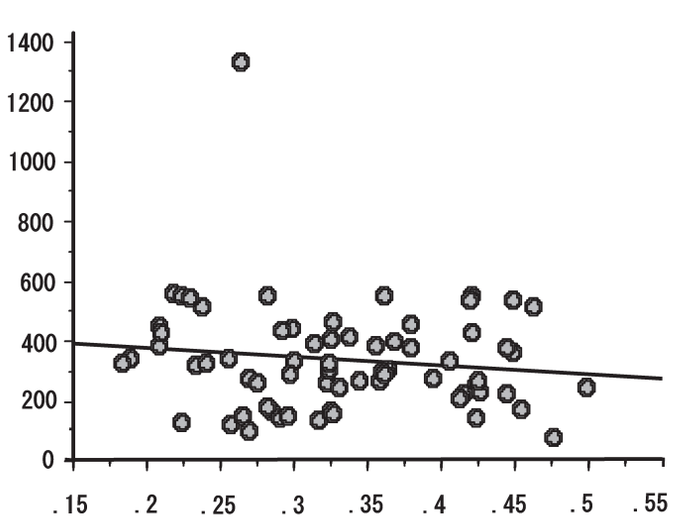
TRACP-5b=506.468-434.777xBMD;R2=0.053



踵スティフネス

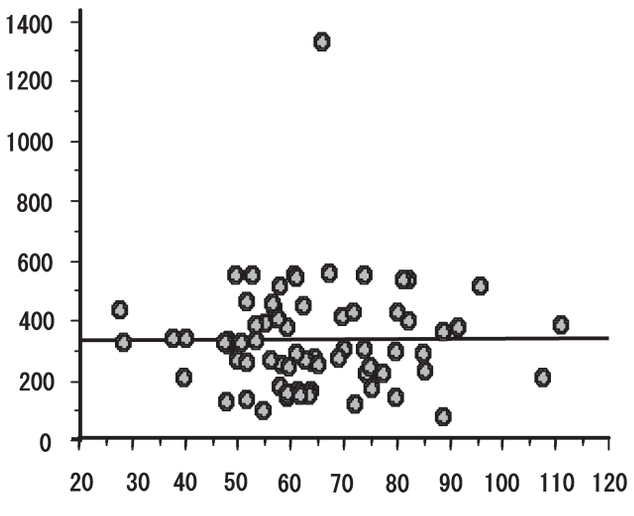
TRACP-5b=485.79-2.457x踵スティフネス;R2=1.0234

図７　骨密度とTRACP-5b：女性



橈骨骨密度

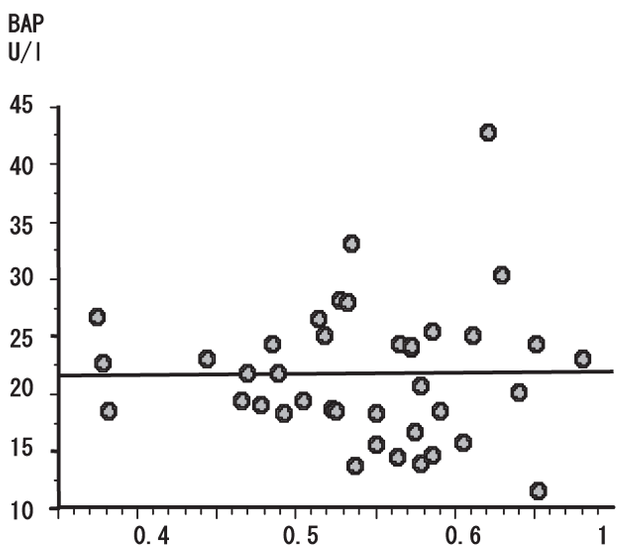
TRACP-5b=434.663-305.784xBMD;R2=0.019



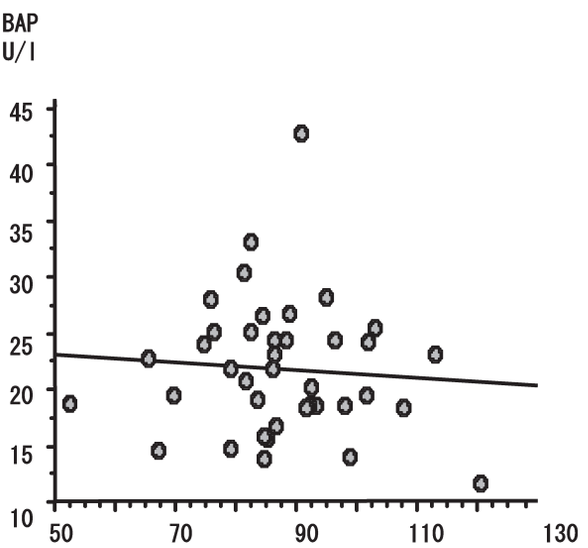
踵骨骨密度

TRACP-5b=327.265-0.045x踵スティフネス;R2=1.6995

図８骨密度とBAP：男性

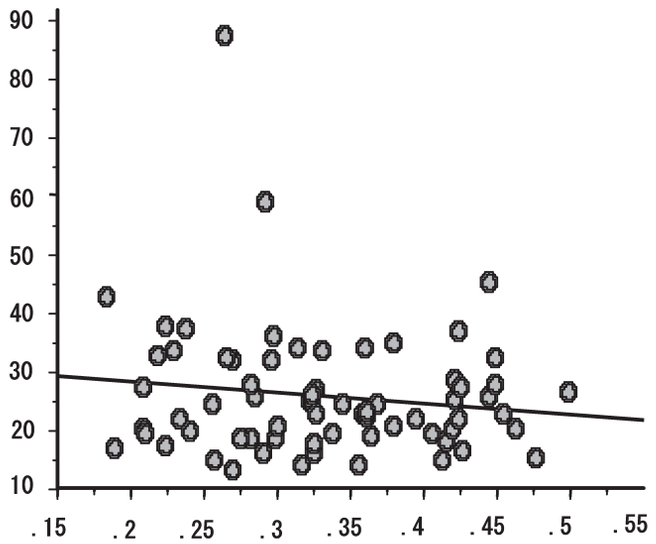


橈骨骨密度



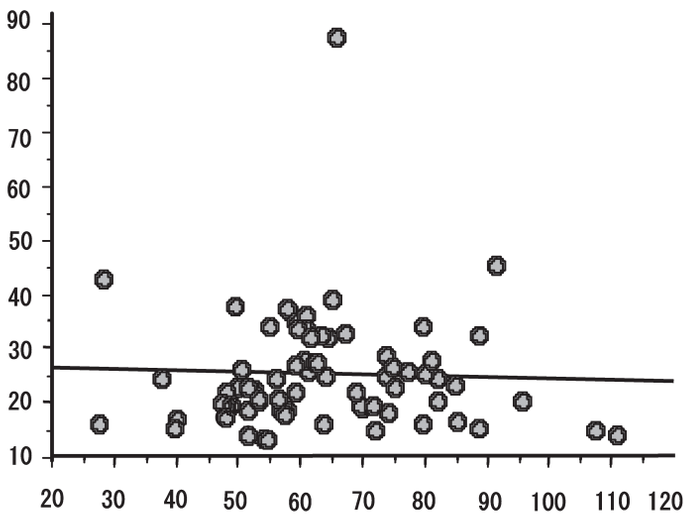
踵骨骨密度

図９　骨密度とBAP：女性



橈骨骨骨密度

BAP=31.982-18.709xBMP;R2=0.018



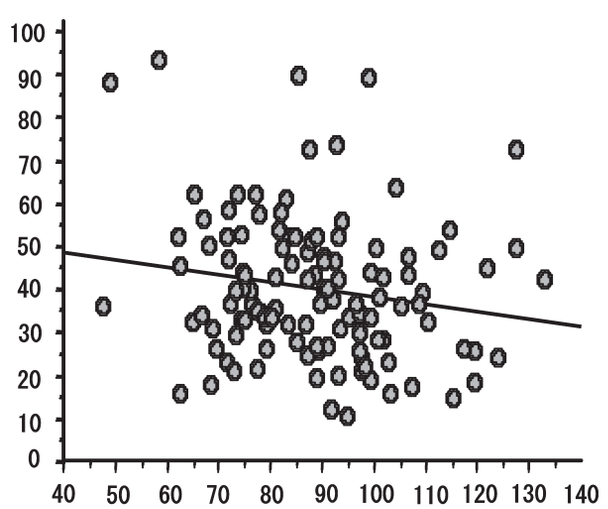
踵骨スティフニス

BAP=26.643-0.023x踵骨スティフニス;R2=0.018

図１０　骨密度と尿NTX/Cr

正常（雲仙地区）

男性

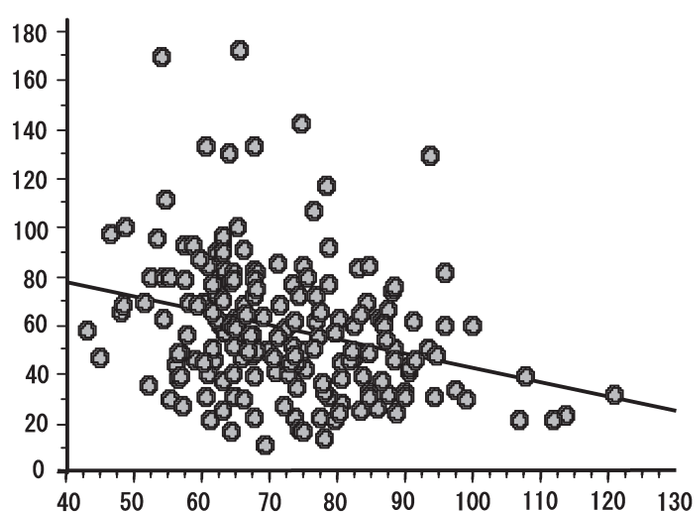


踵骨骨密度

NTx/Cr=55.681-0.175x踵スティフネス；R2=0.021

R=-0.18　p=0.06

女性

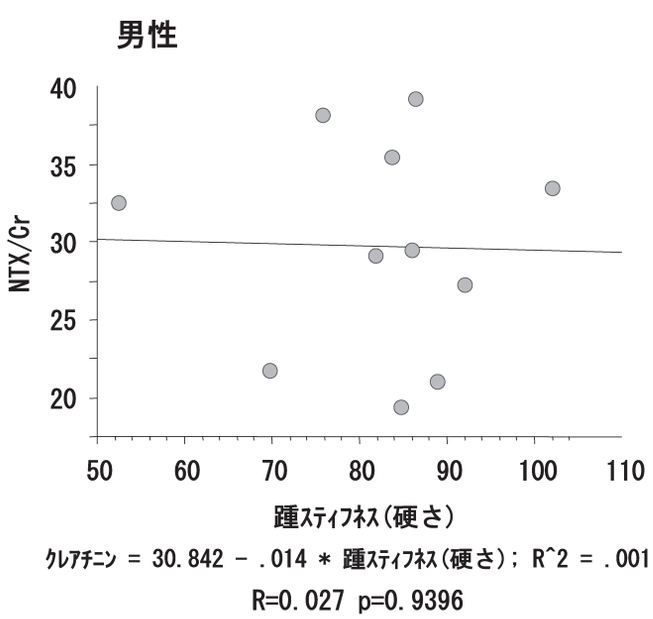


踵骨骨密度

NTx/Cr=100.521-0.588x踵スティフネス；R2=0.121

R=-0.291　p<0.001

図１１　踵骨と尿NTX/Cr：カネミ認定者



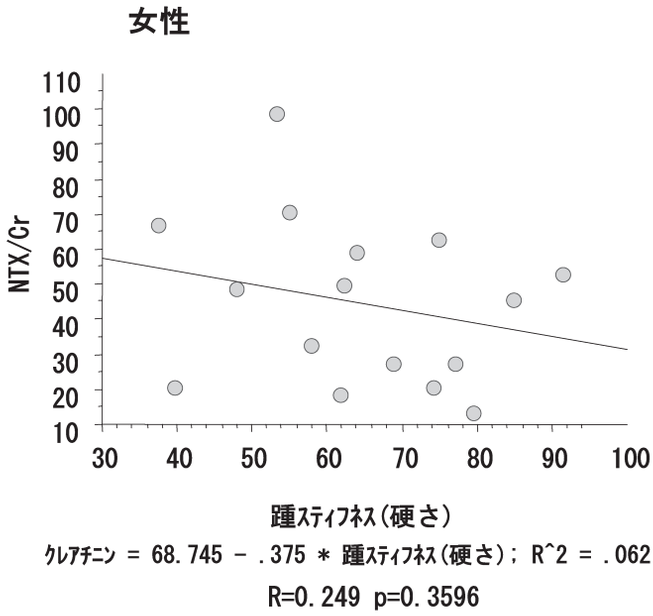


表１　踵骨スティフネスと骨代謝マーカーの健常者との比較

対象者の比較

		雲仙地区住民	カネミ認定	未認定
男性	N	167	58	32
	平均年齢	62.7±9.7	62.9±14.7	58.8±11.8
	身長	163.6±6.1	163.0±6.1	165.8±8.5
	体重	62.7±9.2	63.5±11.1	63.7±11.13
女性	N	216	68	31
	平均年齢	66.1±6.3	71.5±7.0	68.8±9.1
	身長	150.5±6.3	150.2±5.5	150.7±6.1
	体重	51.9±8.6	61.8±10.6	55.2±6.9

図１２　踵骨スティフネス（平均：±標準誤差）

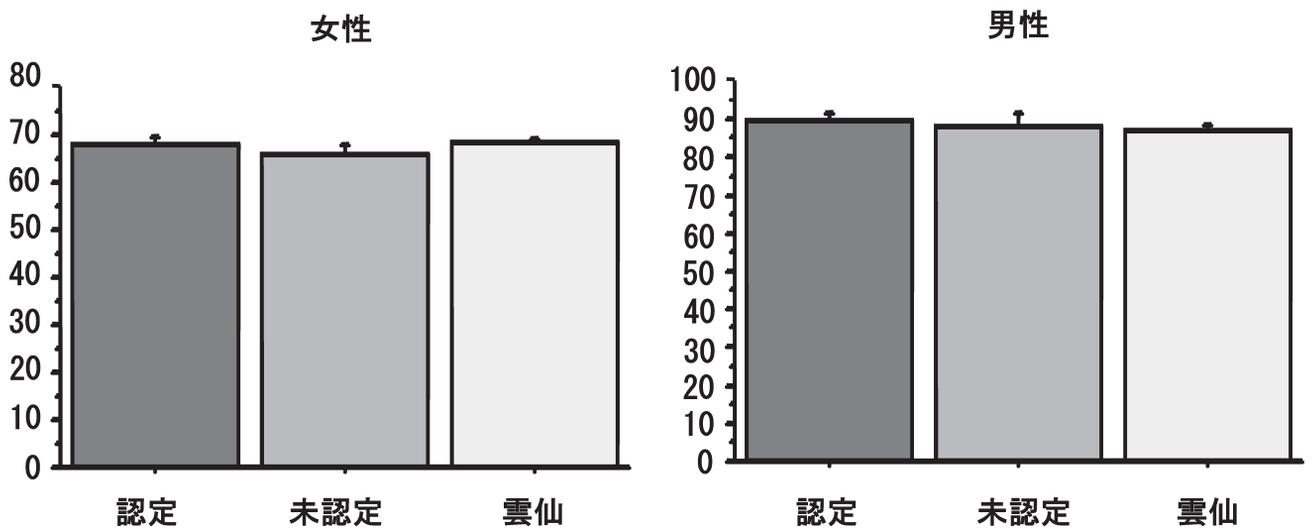


図１３　尿NTX/Cr(平均：±標準誤差)

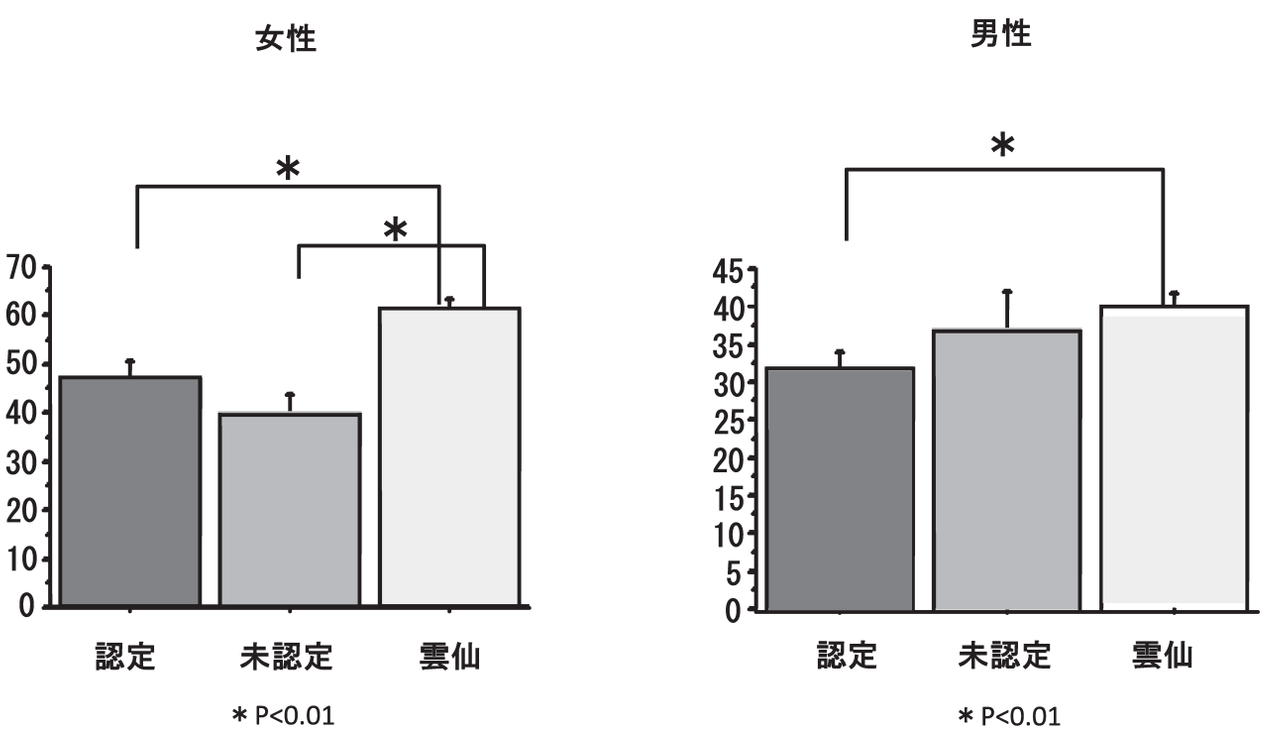


図１４　認定者と未認定者のTRACP-5bの比較（平均±標準誤差）

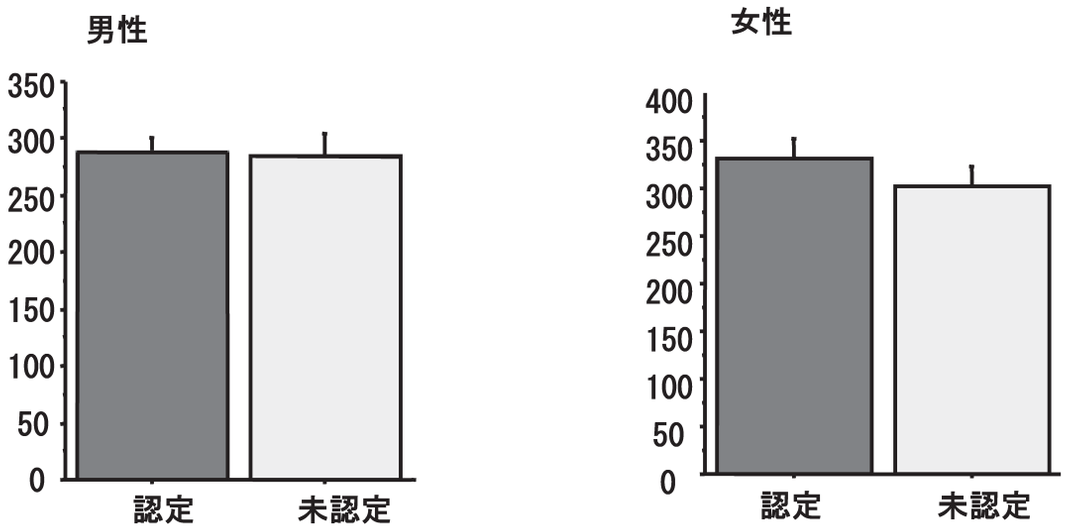
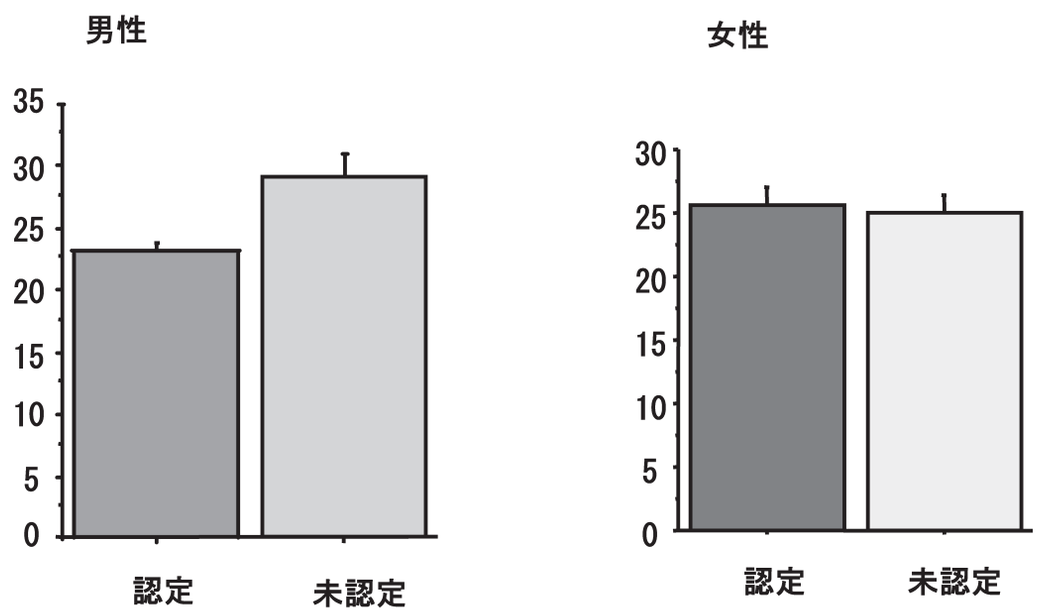


図１５　認定者と未認定者のBAP（平均±標準誤差）



分担研究報告書

油症における甲状腺機能の検討

研究分担者　辻　博　　北九州津屋崎病院内科

研究要旨　2010 年度福岡県油症一斉検診の受診者 177 例について甲状腺機能検査を行い, 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 濃度とトリヨードサイロニン, 遊離トリヨードサイロニン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トリヨードサイロニン, 遊離トリヨードサイロニンの有意の低下を認めた。そして, 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と遊離トリヨードサイロニンの間に有意の負の相関を認め, 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群において低濃度群に比べ遊離トリヨードサイロニン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。油症患者における甲状腺機能については油症発生 16 年後の 1984 年度福岡県油症一斉検診において対照者に比べトリヨードサイロニンおよびサイロキシンの上昇を認めることが報告されている [5]。さらに, 1996 年度福岡県油症一斉検診では血中 PCB 濃度が高値の油症患者において抗サイログロブリン抗体が高頻度に認められた [6]。抗サイログロブリン抗体は慢性甲状腺炎や Graves 病などの自己免疫性甲状腺疾患に高率に出現することより, 油症患者では甲状腺機能の経過を注意深く追跡する必要があると考えられた。

今回我々は, 2010 年度福岡県油症一斉検診において甲状腺機能検査を行い, PCB および PCDF の甲状腺機能に対する慢性的影響について検討した。

B．方法

2010 年度福岡県油症一斉検診の受診者 181 例中, 甲状腺機能検査に同意が得られた油症認定患者 131 例, 未認定患者 46 例の計 177 例を対象者とした。

甲状腺機能検査として甲状腺刺激ホルモン（TSH），トリヨードサイロニン（T_3），サイロキシン（T_4），遊離トリヨードサイロニン（Free T_3）および遊離サイロキシン（Free T_4）は電気化学発光免疫測定(Electrochemiluminescence Immunoassay：ECLIA)法（エクルーシス試薬 TSH，エクルーシス試薬 T_3，エクルーシス試薬 T_4Ⅱ，エクルーシス試薬 FT_3Ⅱおよびエクルーシス試薬 FT_4，ロシュ・ダイアグノスティックス社）によりモジュラーアナリティクス E170（株式会社日立ハイテクノロジーズ）にて測定した。

また，PCB の測定は福岡県保健環境研究所，福岡市保健環境研究所，北九州市環境科学研究所および北九州生活科学センターで，2,3,4,7,8-pentachlorodiben- zofuran（PeCDF）の測定は福岡県保健環境研究所で行なった。血中 PCB 濃度は 2010 年度福岡県油症一斉検診において測定した 177 例の測定値を用い，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 2010 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2004 年度 1 例，2005 年度 1 例，2006 年度 72 例，2007 年度 17 例，2008 年度 15 例，2009 年度 15 例，2010 年度 53 例の計 174 例の測定値を用い，甲状腺機能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

2010 年度福岡県油症一斉検診を受診し，甲状腺機能検査に同意が得られた 177 例の内訳は女性 104 例，男性 73 例で，平均年齢は 62.0±16.3（9－92）歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関（r=0.518, 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=0.352, P＜0.001）を認めた。

甲状腺機能検査に同意が得られた油症患者 131 例中，甲状腺機能検査において TSH 値，T_3 値，T_4 値，Free T_3 値あるいは Free T_4 値のいずれか 1 項目以上の異常を認めたものは 27 例（20.6%）であった。TSH 値の上昇を 15 例（11.5%）と最も多く認め，T_3 値の低下を 8 例(6.1%)に，T_4 値の低下を 2 例（1.5%）に，Free T_3 値の低下を 1 例(0.8%）に， Free T_4 値の低下を 11 例（8.4%）に認めた。TSH 値の低下あるいは T_3 値，T_4 値，Free T_3 値，Free T_4 値の上昇を認めたものはなかった。

2010 年度福岡県油症一斉検診受診者 177 例について血中 PCB 濃度と甲状腺機能の関連について検討した。血中 PCB 濃度と T_3 値（r=－0.236, P＜0.005），Free T_3 値（r=－0.243, P＜0.005）の間に有意の負の相関を認めたが，TSH 値(r=0.010)，T_4 値（r=－0.0004），Free T_4 値（r=－0.092）との間に相関をみなかった。血中 PCB 濃度 1.5 ppb 未満の 115 例を PCB 低濃度群，血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上の 62 例を PCB 高濃度群として，両群間の甲状腺機能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 0.76±0.41 ppb，PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 2.42±0.98 ppb であった。T_3 値は PCB 高濃度群において 1.03±0.16 ng/ml と PCB 低濃度群 1.12±0.18 ng/ml に比べ有意の低下を認めた（P＜0.001）。そして，Free T_3 値も PCB 高濃度群において 2.88±0.33 pg/ml と PCB 低濃度群 3.10±0.42 pg/ml に比べ有意の低下を認めた（P＜0.001）。両群の TSH 値，T_4 値，Free T_4 値に差をみなかった。

2010 年度福岡県油症一斉検診を受診し，甲状腺機能検査に同意が得られた 177 例中，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が測定された 174 例について 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と甲状腺機能の関連について検討した。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と Free T_3 値（r=－

0.171, P＜0.05）の間に有意の負の相関を認めたが, TSH 値（r=－0.019）, T_3 値（r=－0.056）, T_4 値（r=0.016）, Free T_4 値（r=－0.013）との間に相関をみなかった。次に，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 未満の 93 例を 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群，30 pg/g lipids 以上の 81 例を 2,3,4,7,8- PeCDF 高濃度群として両群の甲状腺機能について検討した。2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 12.39±6.71 pg/g lipids，高濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 230.22±213.05 pg/g lipids であった。Free T_3 値は 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群において 2.94±0.33 pg/ml と低濃度群 3.11±0.45 pg/ml に比べ有意の低下を認めた（P＜0.01）。両群の TSH 値，T_3 値，T_4 値，Free T_4 値に差をみなかった。

D．考察

油症患者における甲状腺機能に対する慢性的影響について，油症発生 16 年後の 1984 年度福岡県油症一斉検診において油症患者 124 例と対照者 43 例を比較し油症患者に T_3 値および T_4 値の有意の上昇を認めることが報告されている [5]。油症患者に甲状腺機能亢進症を 4 例(3.2%)，甲状腺機能低下症を 6 例（4.8%）認めたが，対照者に比べその頻度に差はみられず, 血中 PCB 濃度と TSH 値, T_3 値および T_4 値の間に相関はみられなかった。そして，油症発生 28 年後の 1996 年度福岡県油症一斉検診において油症患者 81 例を対象に甲状腺機能を検討し, TSH 値の低下を 2 例（2.5%）に，上昇を 7 例（8.6%）に認めた [6]。T_3 値の低下を 1 例（1.2%），T_4 値の低下を 1 例(1.2%)，上昇を 1 例（1.2%）に認め，血中 PCB 濃度が 3.0ppb 未満の油症患者 40 例と 3.0ppb 以上の 41 例の甲状腺機能異常および甲状腺自己抗体の出現頻度を比較し TSH 値，T_3 値および T_4 値には差をみなかったが，血中 PCB 濃度が 3.0ppb 以上の油症患者に有意に高頻度の抗サイログロブリン抗体の出現を認めた。抗サイログロブリン抗体陽性者の血中 TSH 値は陰性者に比べ高く，血中 TSH 値の上昇を認める抗サイログロブリン抗体陽性者では原発性甲状腺機能低下症に陥る頻度が高いとの報告がみられる [7][8]。血中 PCB 高濃度の油症患者において抗サイログロブリン抗体を有意に高頻度に認めることより、甲状腺機能の経過を注意深く追跡する必要があると考えられた。油症発生 34 年後の 2002 年度福岡県油症一斉検診において油症患者 115 例を対象に甲状腺機能検査所見を検討し, TSH 値, T_3 値あるいは T_4 値のいずれか 1 項目以上の異常を認めたものは 20 例（17.4%）であり，TSH 値の低下を 6 例（5.2%）に，上昇を 13 例（11.3%）と最も多く認め，T_4 値の上昇を 1 例(0.9%）に認めた。TSH 値の上昇を認めた 13 例では，全例 T_3 値および T_4 値は正常であり潜在性の甲状腺機能低下状態と考えられた。

今回の甲状腺機能の検討では 2010 年度福岡県油症一斉検診受診者 177 例について血中 PCB 濃度と T_3 値，Free T_3 値の間に有意の負の相関を認め，血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上の高濃度群では 1.5 ppb 未満の低濃度群に比べ T_3 値，Free T_3 値の有意の低下を認めた。PCB の T_3 および Free T_3 に対する慢性的影響が考えられた。また，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と Free T_3 値の間に有意の負の相関を認め，血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 以上の高濃度群では 30 pg/g lipids 未満の低濃度群に比べ Free T_3 値の有意の低下を認めたことより PCDF の Free T_3 に対する慢性的影響が考えられた。しかし，油症患者において Free T_3 値が低下しているものは少

なく，PCB の T_3，Free T_3 に対する慢性的影響および 2,3,4,7,8-PeCDF の Free T_3 に対する慢性的影響は潜在性なものと考えられる。

甲状腺機能と PCB の関連について，PCB を投与した実験動物に甲状腺機能低下や甲状腺腫がみられることが報告されている。PCB（Aroclor 1254）を投与したラットに ^{125}I-T_4 を投与すると対照に比べ血中 ^{125}I-T_4 値が速やかに低下し，胆汁中に主としてグルクロン酸抱合を受けた ^{125}I-T_4 の排泄が増加することが報告されている [9]。そして，PCB 投与による血中 T_4 値の低下は下垂体の TSH 分泌を促進し，血中 TSH 値の上昇により甲状腺重量の増加が認められることが報告されている [10]。さらに，PCB を投与したラットや marmoset monkey において甲状腺ろ胞細胞の腫大，過形成，甲状腺ろ胞の縮小などの組織学的変化が報告されており [11][12]，血中 TSH 値の上昇によるものと考えられる。しかし，PCB の投与による甲状腺機能低下や甲状腺の組織学的変化は可逆的なものであり，投与中止により改善することが報告されている [11]。PCB 投与による甲状腺の機能低下および組織学的変化は，PCB の投与中止により改善する急性あるいは亜急性中毒症状と考えられる。また，PCB による甲状腺機能低下の機序として PCB や PCDF の水酸化体と T_4 との構造類似性による T_4 結合蛋白質への結合が阻害されることが報告されている [13]。今回の甲状腺機能の検討において認められた PCB の T_3, Free T_3 に対する慢性的影響および PCDF の Free T_3 に対する慢性的影響が同様の機序に起因するかは不明であるが，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では T_3 あるいは Free T_3 が潜在性に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，今回の甲状腺機能の検討において PCB の T_3，Free T_3 に対する慢性的影響および 2,3,4,7,8-PeCDF の Free T_3 に対する慢性的影響が考えられた。しかし，油症患者において Free T_3 値が低下しているものは少なく，その影響は潜在性なものと考えられた。

E．参考文献

1. Masuda Y，Yoshimura H：Polychlo- rinated biphenyls and dibenzo- furans 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. 村井宏一郎，辻博，梶原英二，赤木公博，藤島正敏：油症患者の甲状腺機能．福岡医誌 76：233-238, 1985.
6. 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.
7. Gordin, A., Heinonen, O. P., Saarinen, P. and Lamberg, B. A. : Serum-thyrotrophin in symptom- less autoimmune thyroiditis. Lancet

1 : 551-554, 1972.

8. Tunbridge, W. M. G., Brewis, M., French, J. M., Appleton, D., Bird, T., Clark, F., Evered, D. C., Evans, J. G., Hall, R., Smith, P., Stephenson, J. and Young, E. : Natural history of autoimmune thyroiditis. Br. Med. J. 282 : 258- 262, 1981.
9. Bastomsky, C. H. : Effects of a polychlorinated biphenyl mixture (Aroclor 1254) and DDT on biliary thyroxine excretion in rats. Endocrinology 95 : 1150-1155, 1974.
10. Bastomsky, C. H. : Goitres in rats fed polychlorinated biphenyls. Can. J. Physiol. Pharmacol. 55 : 288－292, 1977.
11. Collins, Jr. W. T., Capen, C, C., Kasza, L., Carter, C. and Dailey, R. E. : Effect of polychlorinated biphenyl(PCB) on the thyroid gland of rats . Ultrastructural and biochemical investigations. Am. J. Pathol. 89 : 119－136, 1977.
12. Van den Berg, K. J., Zurcher, C. and Brouwer, A. : Effects of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl on thyroid function and histology in marmoset monkeys. Toxicol. Lett. 41 : 77-86, 1988.
13. Brouwer, A. : Inhibition of thyroid hormon transport in plasma of rats by polychlorinated biphenyls. Arch Toxicol（Suppl）13 : 440-445, 1989.

分担研究報告書

油症患者における血清ケモカイン濃度に関する研究

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
研究協力者　安川史子　九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助授
千葉貴人　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　特任助教

研究要旨　過去福岡県油症検診を受診し血中ダイオキシン類濃度の測定歴があり，かつ１９６７年以前に出生した認定者 230 名と未認定者 97 名を対象に，血清ケモカイン濃度の測定を行った。CCL5/RANTES, CCL17/TARC, CCL27/CTACK の血清濃度は，認定者が未認定者より有意に低値であった。さらに認定者の CCL5 濃度では，男性が女性より有意に低値であった。

A．研究目的

ダイオキシン類の慢性毒性の一つとして免疫系への影響があげられ，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、アトピー性皮膚炎患者で高値を示すことが知られているものを中心に各種血清ケモカイン濃度を測定し、ダイオキシン類の影響について検討することである。

B．研究方法

平成 18 年度から 21 年度に福岡県油症検診を受診し、かつ 1967 年以前に出生した認定者 233 名（女性 132 名、男性 101 名、平均年齢 65.8 ± 13.0)、未認定者 97 名（女性 65 名、男性 32 名、平均年齢 63.9 ± 11.3）について血清ケモカイン濃度（MCP-1/CCL2, RANTES/CCL5, TARC/CCL17, MDC/CCL22, CTACK/CCL27, IL-8/CXCL8, Mig/CXCL9, IP10/CXCL10）を ELISA 法で測定し、血中ダイオキシン類濃度（ 1,2,3,4,5-PCDD, 1,2,3,6,7,8-HCDD, 1,2,3,7,8,9-HCDD, 2,3,4,6,7,8-HCDD, OCDD, 2,3,7,8-TCDF, 2,3,4,7,8-PCDF, 1,2,3,4,7,8-HCDF, 1,2,3,6,7,8-HCDF, 3,3’,4,4’,5-PCB, 3,3’,4,4’,5,5’-HCB, Total-PCDDs-TEQ, Total-PCDFs-TEQ, Total-Co-PCBs-TEQ, Total-TEQ）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

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。また認定女性の血中ダイオキシン類濃度は、認定男性より有意に高値であった（図 1)。血清ケモカイン濃度の比較では CCL5, CCL17, CCL27 で認定者が未認定者より有意に低値であった。(CCL5: 40803 ± 22089 pg/ml vs 59282 ± 31313 pg/ml, CCL17: 304.5 ± 205.7 pg/ml vs 384.9 ± 278.0 pg/ml, CCL27: 387.8 ± 122.6 pg/ml vs 443.1 ± 155.0 pg/ml)。また性差による比較では、

認定者の CCL5 のみ男性が女性より有意に低値であった（35474 ± 17558 pg/ml vs 44879 ± 24293 pg/ml）（表 1)。また各ケモカイン濃度と血中ダイオキシン類濃度、血液学的検査値、生化学的検査値との相関を検討したところ、認定者では CXCL9, CXCl10 のみ一部のダイオキシン類と弱い正の相関を認めた。一方未認定者では CCL5, CCL17, CCL22 と一部のダイオキシン類で弱い負の相関を、CCL2, CXCL9, CXCL10 と弱い正の相関を認めた（表 2)。

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。ケモカインは濃度勾配によって特定の白血球を遊走させる活性を持つサイトカインで、アトピー性皮膚炎患者では CCL2, CCL5, CCL17, CCL22, CCL27, CXCL8 の高発現, CXCL9, CXCL10 の低発現が報告されている [1)-3)]。一方 TCDD の経胎盤曝露によりラット精巣の RANTES 発現が減弱するという報告や, TCDD 投与によりマウスの肝臓, 脾臓における CCL2 の発現が増強するという報告など、ダイオキシン類によりケモカインの発現が修飾されるという報告が散見される [4),5)]。

今回の報告では CCL5, CCL17, CCL27 の血清濃度は認定者が未認定者より有意に低値であった。また認定者の CCL5 濃度は男性が女性より有意に低値であった。血清ケモカイン濃度とダイオキシン類濃度との相関では, 未認定者の CCL5 濃度が検討した全てのダイオキシン類に関する項目と弱いながらも負の相関を示した。また未認定者の CCL17 濃度も多くのダイオキシン類項目と負の相関を示した。しかし認定者の CCL5, CCL17 とダイオキシン類濃度との間に相関は認めなかった。一方, CXCL9, CXCL10 濃度は認定者, 未認定者とも一部のダイオキシン類と弱い正の相関を認めた。未認定者の血中ダイオキシン類濃度は健常者と差はなく, 代謝, 排泄される量と食物などから摂取される量が概ね均衡していると考えられるのに対し, 認定者の血中ダイオキシン類濃度は過去の高濃度の曝露を反映していると考えられる。認定者では、油症発症早期に一部の CCL5, CCL17 産生細胞が非可逆的に障害されている可能性があると考えられる。

昨年報告したように、認定患者と未認定患者とで IgE 産生にも差は認められなかった。ダイオキシン類がアトピー性皮膚炎の発症に影響を及ぼしているという仮説を肯定するデータは今回も得られなかった。今後は, 今回症例が少ないため検討に含めなかった、1968 年以降に生まれた油症患者, および油症患者の児についても広く検討し、全貌の解明につなげることが望まれる。

E．結論

油症認定者でアトピー性皮膚炎に関連するケモカインの有意な増加は認められなかった。

F．研究発表

1．論文発表

Matsumoto S, Kanagawa Y, Koike S, Akahane M, Uchi H, Shibata S, Furue M, Imamura T. Twenty-year changes of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) level and symptoms in Yusho patients, using association analysis. BMC Research

Notes 2010;3(1):129.

２．学会発表

内博史，三苫千景，古江増隆．油症患者における血中ダイオキシン類濃度と血清 IgE 値の相関およびアトピー性皮膚炎有病率について　第 22 回日本アレルギー学会春期臨床大会 2010 年 05 月 08 日　京都

内博史．油症認定者における血清ケモカイン濃度の検討　第 60 回日本アレルギー学会秋期学術大会　2010 年 11 月 25 日　東京

内博史，安川史子，古江増隆．油症患者におけるアトピー性皮膚炎有病率および血清 IgE 値について　第 40 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2010 年 12 月 12 日　広島

内博史，安川史子，古江増隆，桐生美麿，橋本健．油症患者に生じた特異な嚢腫　第 134 回徳島地方会 2011 年 01 月 29 日　徳島

文献

1) Hijnen D, et al. J Allergy CLin Immunol 2004;113:334-40.
2) Kaburagi Y, et al. Arch Dermatol Res 2001;293:350-5.
3) Narbutt J, et al. Mediators Inflamm 2009;2009:269541.
4) Vogel CFA, et al. Arch Biochem Biophys 2007;461:169-75.
5) Rebourcet D, et al. Int J Androl 2010;33:413-24

図 1　認定者と未認定者の血中ダイオキシン類濃度の比較
認定者および未認定者を性別に分け，血中ダイオキシン類濃度を t 検定で比較した。* p<0.05

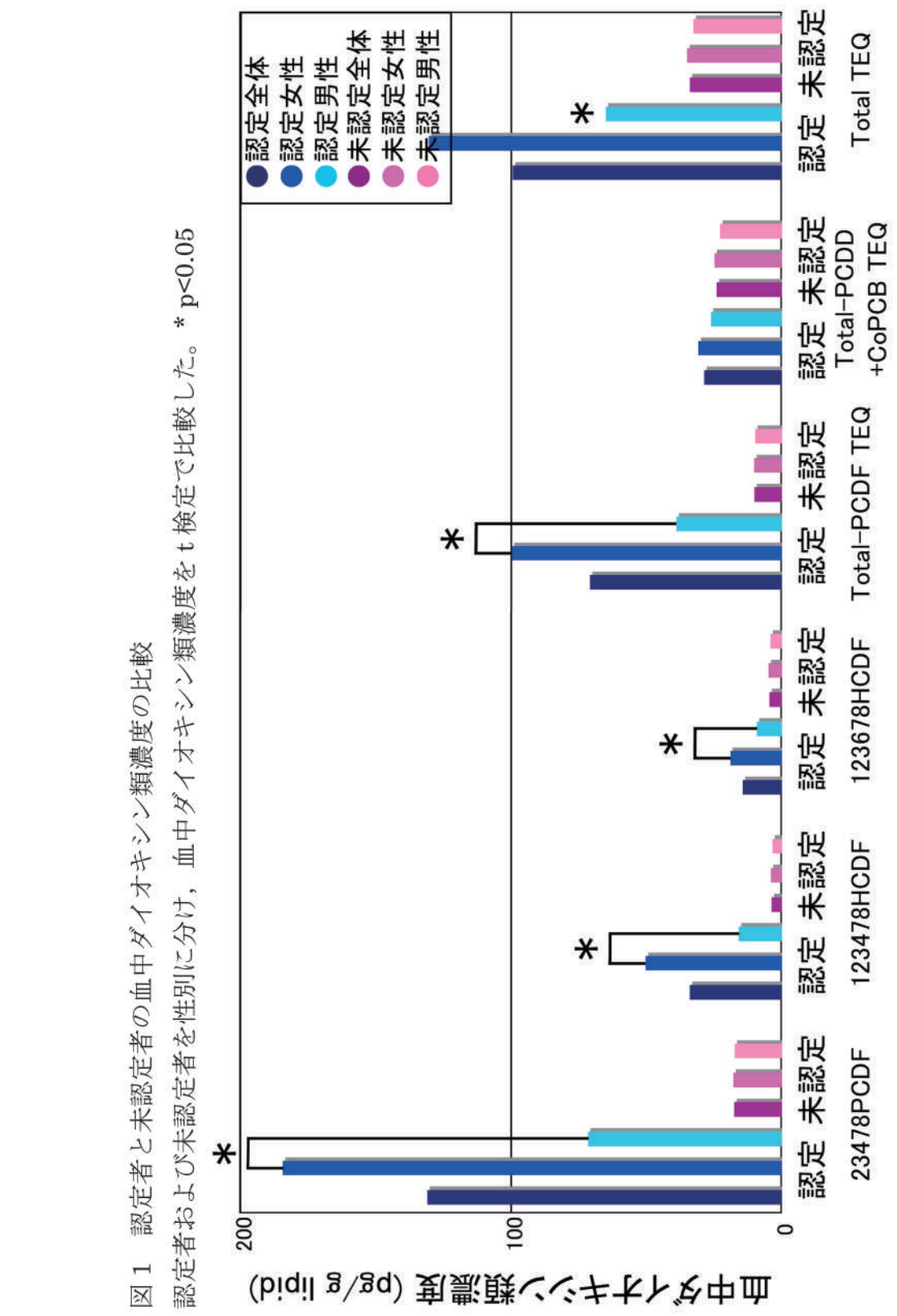


表 1　認定者と未認定者の血清ケモカイン濃度の比較

各群の血清ケモカイン濃度（pg/ml）を平均値±標準偏差で示し，t 検定で比較した。* p<0.05

ケモカイン	CCL2	CCL5	CCL17	CCL22	CCL27	CXCL8	CXCL9	CXCL10
認定	405.4±493.5	40803±22090	304.5±205.7	685.1±309.6	387.9±122.6	1027.3±3324.0	152.3±131.9	124.6±91.2
未認定	364.5±275.2	59283±31314	384.9±228.0	705.9±282.3	443.1±155.0	554.8±1111.0	159.5±139.0	121.5±124.1
p	0.34	<0.001	0.012	0.55	0.002	0.054	0.67	0.83
認定女性	379.9±402.7	44880±24294	302.2±211.5	698.6±342.2	380.6±123.8	1190.7±4028.4	155.8±117.9	133.4±96.9
認定男性	438.8±592.2	35475±17558	309.3±199.4	667.4±261.5	397.3±120.9	805.4±2010.5	147.7±148.6	113.1±82.3
p	0.73	0.001	0.85	0.63	0.13	0.34	0.72	0.12
未認定女性	357.7±298.4	59470±32484	352.5±264.0	702.7±306.2	419.3±129.7	460.3±914.5	149.2±134.2	118.1±113.0
未認定男性	378.3±224.6	58902±29289	450.5±297.9	712.4±230.6	491.3±189.9	746.7±230.6	180.3±148.4	128.5±145.9
p	0.06	0.12	0.93	0.32	0.86	0.31	0.32	0.73

表 2　認定者および未認定者におけるケモカイン濃度とダイオキシン類濃度との相関

相関係数の絶対値が 0.2 以上あるものを抽出した。

認定	Mig	相関係数	IP10	相関係数
	123678HCDF	0.22	33445PCB	0.21
	T PCDDs-TEQ	0.25		
	T PCDFs-TEQ	0.25		
	33445PCB	0.26		
	12378PCDD	0.26		
	23478PCDF	0.26		
	Total TEQ	0.26		
	T Coplanar PCBs-TEQ	0.27		

未認定	TARC	相関係数	RANTES	相関係数	Mig	相関係数	MDC	相関係数	IP10	相関係数	MCP-1	相関係数
	33445PCB	−0.33	Total TEQ	−0.37	Total TEQ	0.22	33445PCB	−0.21	123789HCDD	0.22	334455HCB	0.23
	T Coplanar PCBs-TEQ	−0.33	123678HCDF	−0.36	12378PCDD	0.25	T Coplanar PCBs-TEQ	−0.21	123678HCDD	0.26		
	Total TEQ	−0.32	T PCDDs-TEQ	−0.35	T PCDDs-TEQ	0.25			OCDD	0.26		
	23478PCDF	−0.32	12378PCDD	−0.34	123678HCDD	0.26						
	T PCDFs-TEQ	−0.32	123789HCDD	−0.33	334455HCB	0.32						
	12378PCDD	−0.26	T Coplanar PCBs-TEQ	−0.32								
	334455HCB	−0.25	33445PCB	−0.32								
	T PCDDs-TEQ	−0.23	T PCDFs-TEQ	−0.31								
	123478HCDF	−0.22	123678HCDD	−0.31								
	123678HCDF	−0.20	23478PCDF	−0.30								
			334455HCB	−0.29								
			123478HCDF	−0.28								
			OCDD	−0.23								

分担研究報告書

油症認定患者における炎症性サイトカイン TNF-αの検討

研究分担者　宇谷厚志　長崎大学医学部皮膚科　教授
研究協力者　鍬塚　大　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　ヘルパーT 17 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、さらにこの細胞の分化にダイオキシン類の受容体である Aryl hydrocarbon receptor が関与していることが報告されている。さらに、長崎県玉之浦地区油症認定患者においてIL-17 値の上昇が確認されているため、今回我々はIL-17 によって誘導されると考えられる TNF-αに関して検討を行った。その結果、油症認定患者 40 名、健常人 39 名において TNF-αはそれぞれ 10.89 ± 6.98 pg/ml、7.39 ± 3.77 pg/ml であり有意差をもって油症認定患者血清において TNF-α値の上昇を認めた。

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が残存している。油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB), Polychlorinated quarterphenyls (PCQ) 及び Polychlorinated dibenzofurans (PCDF)を含む dioxin 類の混在している事がわかっている [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]。以前我々は油症認定患者においてIL-17 値が上昇していることを確認しており、今回我々は、IL-17 によって誘導されると考えられる TNF-αに関して検討を行った。また、動物実験ではダイオキシンの一種である TCDD が TNF-α を介して塩素性ざ瘡症状を引き起こすと報告がある [4]。そこで、油症患者における臨床症状と TNF-α値との相関を検討した。

B.　研究方法

①対象 : 2005 年から 2008 年に施行された長崎県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 40 名および年齢をあわせた健常人 39 名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し TNF-α測定用サンプルとした

②TNF-αの測定;ヒト TNF-α測定キット（Quantikine 社製）を用いて測定を行った。

③臨床症状、検査値との相関；油症患者データーベースを元に血清採取時の症状を数値化した。

④統計的処理：測定した TNF-α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

長崎県の油症患者 40 名，および健常人 39 名の平均年齢は各々 72.1 ± 7.1 歳および 70.3 ± 9.7 歳で有意差はなかった。検討した油症患者におけるダイオキシン濃度は PCB 3.03 ± 1.26 ppb、PCQ 0.33 ± 0.39 ppb、PCDF 228.1 ± 154.4 pg/g lipids であった。TNF-α値は油症患者 10.89 ± 6.98 pg/ml および健常人 7.39 ± 3.77 pg/ml であり、油症認定患者血清において有意な上昇が認められた（図 1)。つづいて、油症認定患者血清中の TNF-α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)。また、ざ瘡症状を含め臨床症状との相関もみられなかった。

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、などの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 [5]。最近の研究により、T 細胞には AhR が存在し AhR を介した刺激は IL-17 産生を抑制する STAT 1 の機能を阻害することで、IL-17 の産生を亢進させることが報告されている [3]。

以前我々は油症認定患者において IL-17 値が上昇していることを確認しており、TNF-α の誘導には IL-17 を介した系が存在することから、油症認定患者で TNF-α値が増加していることを予想した。今回の研究において、健常人と比較し油症患者において TNF-α値が有意差をもって上昇していることが確認された。しかし、PCQ, PCDF, PCB いずれとも相関はみられなかった。

近年報告された、動物実験における検討ではナイーブ T 細胞の分化段階において、TCDD は Th17 細胞への分化を抑制していると報告され [6]、また、Th17 細胞に多くの AhR が存在するがゆえにダイオキシンの毒性が働き Th17 細胞を死に至らしているのではないか [7]とする考えもある。PCB、PCQ、PCDF といったダイオキシン類の複合中毒である油症患者では TCDD と異なり Th17 細胞への分化促進に働くとも考えられる。また、Th17 細胞の細胞死で誘導されるネガティブフィードバックを起こし、IL17 産生が増したのではないかとも考えられる。今後も Th17 細胞の分化メカニズムに関してさらなる検討が必要と考えられる。

一方、動物実験ではダイオキシンの一種である TCDD が TNF-α を介して塩素性ざ瘡症状を引き起こすと報告されている [4]。今回、油症患者においても同様のメカニズムが働いている可能性があり、血清採取時期の塩素性ざ瘡症状と TNF-

α値との臨床相関を検討したが、相関はみられなかった。しかし、患者の多くは発症当時塩素性ざ瘡の症状を呈していたことから、発症初期には TNF-αと塩素性ざ瘡に何らかの相関があったことが十分考慮されるため、今後検討が必要と思われる。

油症患者は現在でもダイオキシン類の血中濃度が高く、様々な症状で苦しむ方が多いのが現状である。マウスでは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

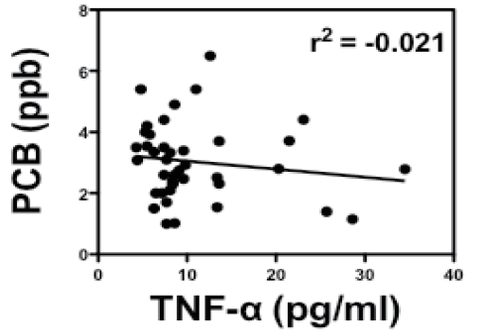
4) Connor MJ, Nanthur J, Puhvel SM: Influence of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on TNF-alpha levels in the skin of congenic haired and hairless mice. Toxicol Appl Pharmacol 129(1):12-15,

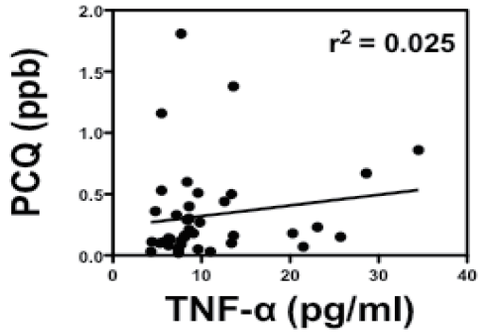
5) Kramer JM, Gaffen SL: Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. J Periodontol. 78(6):1083-1093, 2007

6) 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

7) Stockinger B: Beyond toxicity: aryl hydrocarbon receptor-mediated functions in the immune system. J Biol. 8(7):61, 2009

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





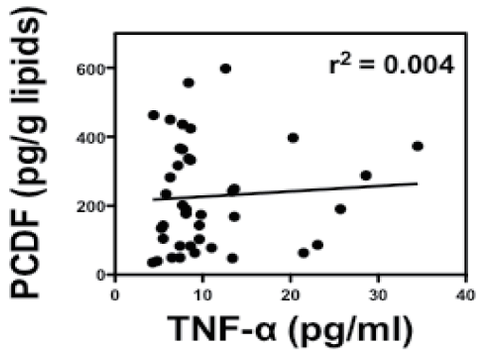
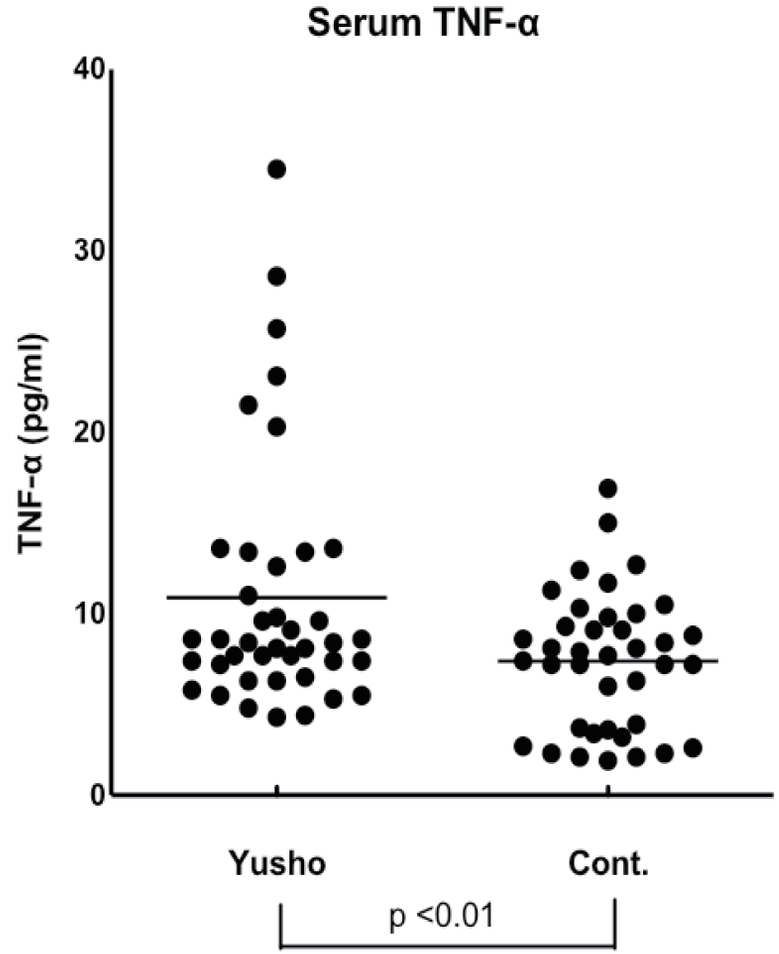


図１　油症認定患者、健常人血清における TNF-α値の比較



平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金

分担研究報告書

油症患者血中 Heat shock protein 90α の検討

研究分担者　宇谷厚志　長崎大学医学部皮膚科　教授
研究協力者　清水和宏　長崎大学医学部皮膚科　准教授
稲山雄一郎　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　カネミ油症患者は PCB による酸化ストレスの影響を受けているが、酸化ストレスは Heat shock protein (Hsp)にも誘導をかける。今回、Hsp の中でも Hsp90、特に誘導型と考えられている isoform の Hsp90α に注目し、認定油症患者と正常健常人血清を用いて Hsp90α を測定した。油症認定患者 21 名、健常人 31 名の血清値は油症患者血中で 21.87±1.55ng/ml、対照群では 26.24±1.74ng/ml で有意差を認めなかった。

A.　研究目的

1968 年カネミ油症事件発生後 40 年以上経過し、初期に認められた激しい症状は現在ほとんど認められなくなっている。以前より油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB) 、Polychlorinated quaterphenyls (PCQ) 及び Polychlorinated dibenzofurans (PCDF)を含む dioxin 類の混在している事がわかっていた。近年、血中 dioxin 類の微量濃度測定が可能になった事により油症患者認定の新たな認定基準として血中 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]、血中の 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ている。[3]

一方温熱刺激によって誘導がかかる Heat shock protein (Hsp)は蛋白質動態を速やかに進行させる介添えの蛋白質（分子シャペロン）のほとんどを占めるストレス蛋白質であることがわかってきた。即ち、Hsp は温熱ストレスだけでなく、酸化ストレスなど種々のストレスにより誘導がかかる。[4] Hsp の中で Hsp70、Hsp90、small Hsp は大量に合成されており、特に Hsp90 は平時総蛋白の 1%程を占め、ストレスにより 4%ほどに増加する。Hsp90 は homodimer として存在し、90α と 90β の isoform が確認され、細胞増殖、分化における key regulator として注目されている。90α と 90β は 85%の相同性を有し、90α が誘導型で細胞質に、90β が恒常型で小胞体に存在している。またストレスがかかると Hsp90α は細胞外環境へと分泌され、ストレスに対応した働きをするものと考えられている。[5]今回我々は Hsp90 の中で誘導型とされている Hsp90α をマーカーとして選択し、油症患者における酸化ストレスの影響を検討した。

B.　研究方法

①対象：2010 年 7 月の長崎、玉之浦、奈留地区油症検診受診者のうち同意を得られた認定患者 21 名を対象とし、検診時に採血を行い、凍結保存し Hsp90α 測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人 31 名を対照とした。

②血中 Hsp90α 値測定：血中 Hsp90α 値は StressMarq Biosciences Inc.の Hsp90α ELISA kit を用いて測定した。

③統計的処理：測定した Hsp90α 値は Mann-Whitney's U test にて検討した。

C． 研究結果

長崎、玉之浦より油症患者 21 名、健常人 31 名を選択し、その平均年齢は各々 74.33±2.03 及び 72.48±1.32 才で有意差を認めなかった。血中 Hsp90α の平均値は各々 21.87±1.55 ng/ml 及び 26.24±1.74 ng/ml で有意差を認めなかった。(図)

D． 考察

我々はすでに脂質酸化のマーカーである 8-Isoprostane の油症患者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]更に新しい酸化ストレスのマーカーである Hexanoyl Lysine が油症患者血中で高値を示している事も報告しており油症自体が酸化ストレスである事に疑問はない。

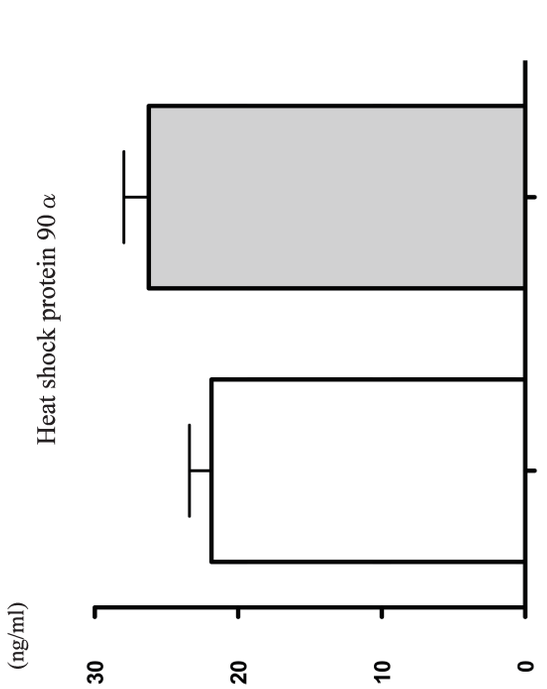
Hsp の誘導は熱ストレスだけでなく種々のストレスにより生ずる蛋白質の変性が生じて引き起こされる。その誘導の特徴はストレスによってもたらされる変性蛋白質の蓄積する部位に応じて Hsp の中で特異的誘導がもたらされる。[4]

今回 Hsp family の中で誘導型の Hsp90α を選択し血中濃度を測定したが、年齢をあわせた油症患者と健常人との間に有意差を認めなかった。その理由として、変性蛋白質と Hsp90α の局在が異なる、もしくは Hsp90α の細胞外環境への分泌において有意差を認めなかった等の可能性があがってくる。[5]正確な機序を解明するに更なる検索が必要と考えられる。

事件発症より 40 年以上油症患者は酸化ストレスにさらされてきた事になり、今後も血中 PCB の高値が続くならば酸化ストレスにさらされ続ける事になる。体内蓄積 dioxin 類の排泄促進治療法の速やかな開発が望まれる事は言うまでもないが、今後とも厳重なフォローアップが必要と考えられる。その一つのチェック項目としての酸化ストレスをキーワードとして今後とも検討を加えていきたいと考えている。

E. 文献

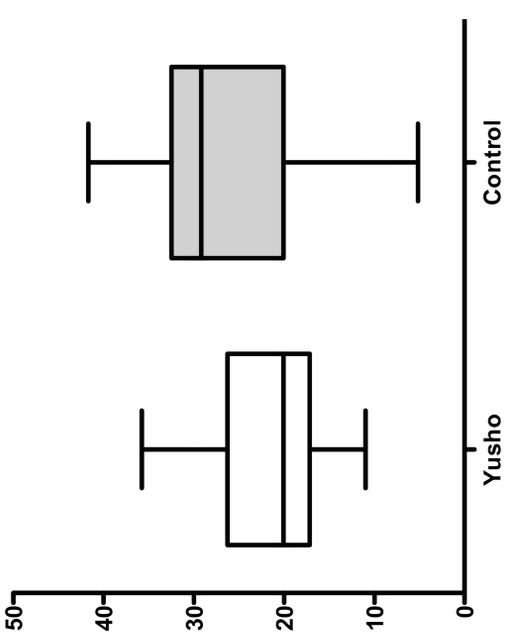
1) 油症の健診と治療の手引き 2004 全国油症治療研究班・追跡調査班
2) Oakley G et al, Oxidative DNA Damage Induced by Activation of Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implications for PCB-Induced Oxidative Stress in Breast Cancer. Chem. Res. Toxicol., 9, 1285-1292 (1996)
3) Shimizu K et al, Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. J Appl. Toxicol. 27, 195-197 (2007)
4) 岩坂日出男 ストレス蛋白研究の現状と展望 ICU と CCU 30(5), 327-335 (2006)
5) Li W et al, Extracellular heat shock protein-90α: linking hypoxia to skin cell motility and wound healing. EMBO Journal 26, 1221-1233 (2007)



(21.87±1.55)
Yusho
(n=21)

(26.24±1.74)
Control
(n=31)

(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　産科科長

研究要旨　油症患者より出生した児を栄養方法により人工栄養群と母乳栄養群の 2 群に分け、母児双方のダイオキシン類血中濃度について比較検討した。対象は人工栄養群 11 例(母親 9 例)、母乳栄養群 15 例(母親 10 例)とした。血中ダイオキシン類検査は、7 種類の PCDDs、10 種類の PCDFs、4 種類の coplanar PCBs を測定した。児の血中 total PCDDs、total PCDFs、total coplanar PCBs の TEQ 濃度は両群ともに母親の値に比して有意に低値を示し、母親の血中レベルの各々36～44%、4～10%、30～31%であった。油症母児と健常者における血中ダイオキシン類濃度を比較すると、母親の血中 total PCDDs および total PCDFs の TEQ 濃度は両群ともに健常者の値と比して有意に高値を示したが、児の血中 total PCDDs および total PCDFs の TEQ 濃度は健常者の値と比して有意な差はなかった。母乳栄養群における児の血中 2,3,4,7,8-PentaCDF TEQ 濃度は健常者の値と比して有意に高値を示したが、人工栄養群の児の値は有意な差はなかった。また、母乳栄養群における児の血中 total TEQ、total PCDFs TEQ、2,3,4,7,8-PentaCDF TEQ 濃度は人工栄養群の値と比して有意に高値を示した。これらの成績から、油症患者より出生した児のなかには出生後 30 数年経過した時点でも 2,3,4,7,8-PentaCDF が血中に高濃度に存在するものがあり、その主要な曝露源は母乳を介する母児間移行であることが示唆された。

A．研究目的

体内に取り込まれた PCB やダイオキシン類は胎盤や母乳を介して胎児、新生児へ移行することから [1,2]、これら化学物質の出生前あるいは出生後曝露による次世代への健康影響が懸念されている。われわれは油症曝露では、流産、早産、死産の発症頻度が高くなること、母体ダイオキシン類濃度が高いほどこれらの異常の発症率が有意に高くなることを報告した [3]。また、油症患者では母乳中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が健常者の値に比べ 36～88 倍高い値を示すことが報告されている [4]。しかしながら、油症患者より出生した児にどの程度のダイオキシン類が胎盤あるいは母乳を介して移行しているのかは明らかとなっていない。

本研究では、油症患者より出生した児を栄養方法により母乳栄養群と人工栄養群の 2 群に分類し、母児双方のダイオキシン類血中濃度を比較検討することにより、油症患者におけるダイオキシン類の胎盤および母乳を介する母児間移行を明らかにすることを目的とした。

B．研究方法

油症患者より出生した児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 26 例(母親 19 例)を対象とした。その内訳は、人工栄養群 11 例(母親 9 例)、母乳栄養群 15 例(母親 10 例)であった。油症一斉検診受診時に母児双方から血液を採取した。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。各群における母児間の血中ダイオキシン類濃度差

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健常者の値(n=152)[5]と比較検討した。さらに、両群間における母児それぞれの血中ダイオキシン類濃度について比較検討した。

統計学的解析には、母児間の差異には paired t-検定を、健常者との比較および両群間の比較には 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、人工栄養群で各々64.3 ± 4.1、35.5 ± 2.3 歳、母乳栄養群で各々58.5 ± 3.2、32.6 ± 4.7 歳であった。児の出生年[中央値(範囲)]は人工栄養群で 1971 年(1968-1976 年)、母乳栄養群で 1972 年(1968-1983 年)であった。

人工栄養群における母親の血中 total PCDDs、total PCDFs、total coplanar PCBs の TEQ 濃度(平均値)は各々22.74、90.05、12.98 TEQ pg/g lipid であった(表 1)。児における血中 total PCDDs、total PCDFs、total coplanar PCBs の TEQ 濃度(平均値)は各々 8.15、4.04、3.90 TEQ pg/g lipid で、母親の血中レベルの 36%、4%、30%であった。これら児の血中ダイオキシン類濃度は母親の値と比して有意に低値を示した。

母乳栄養群における児の血中 total PCDDs、total PCDFs、total coplanar PCBs の TEQ 濃度(平均値)は各々7.68、4.68、3.28 TEQ pg/g lipid で、母親の濃度レベル(各々 17.52、49.20、10.55 TEQ pg/g lipid)の 44%、10%、31%であった(表 1)。これら児の血中ダイオキシン類濃度は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、両群ともに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。

油症母児と健常者における血中ダイオキシン類濃度を比較すると、両群ともに母親の血中 total TEQ 濃度、total PCDDs および total PCDFs の TEQ 濃度は健常者の値と比して有意に高値を示した(表 2)。異性体毎にみると、両群ともに母親の血中 1,2,3,7,8-PentaCDD、1,2,3,6,7,8-HexaCDD、1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD 、 OctaCDD 、 2,3,4,7,8-PentaCDF、1,2,3,4,7,8-HexaCDF、1,2,3,6,7,8-HexaCDF および 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)の TEQ 濃度は、健常者の値と比して有意に高値を示した。一方、児の血中 total TEQ および total PCDF TEQ 濃度は、両群ともに健常者の値と比して有意な差はなかった。児の血中 1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD および OctaCDD TEQ 濃度は、両群ともに健常者の値と比して有意に高値を示した。血中 2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度については母乳栄養群の児の値は健常者の値と比して有意に高値を示したが、人工栄養群の児の値は有意な差はなかった。

母親の血中 2,3,4,7,8-PentaCDF TEQ 濃度をマッチさせた人工栄養群(8 例)と母乳栄養群(6 例)における児の血中ダイオキシン類濃度を比較すると、母乳栄養群における児の血中 total TEQ、total PCDFs TEQ および 2,3,4,7,8-PentaCDF TEQ 濃度は人工栄養群の値と比して有意に高値を示した(図 1)。

D．考察

油症患者より出生した児を栄養方法により母乳栄養群と人工栄養群の 2 群に分け、母児双方のダイオキシン類血中濃度について比較検討した。油症患者より児へのダイオキシン類の移行経路としては、人工栄養群では胎盤を介する移行、母乳栄養群では胎盤＋母乳を介する移行が考えられる。

ダイオキシン類の胎盤を介する母児間

移行については、正常妊娠を対象とした出生直後の母体血および臍帯血(胎児血)のダイオキシン類濃度の解析から、臍帯血の血中濃度は母体血の濃度レベルと比べ total PCDDs は 50～54%、total PCDFs は 40～54%、total coplanar PCBs は 25～48%であると報告されている [6,7]。今回の検討では、人工栄養群における児の血中ダイオキシン類濃度は母親の値と比して有意に低値を示し、total PCDDs、total PCDFs、total coplanar PCBs 濃度は母親の血中レベルの各々36%、4%、30%であった。また、児の血中 total PCDDs、total PCDFs、2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度は健常者と比して有意な差はなかった。これらの成績から、油症曝露においては原因物質であると考えられている 2,3,4,7,8-PentaCDF の胎盤を介する母児間移行は少ないことが示唆された。

一方、母乳栄養群における児の血中 2,3,4,7,8-PentaCDF TEQ 濃度は人工栄養群の児ならびに健常者の値と比して有意に高値を示した。松枝ら [4]は 2 名の油症患者(1988 年 4 月と 1990 年 5 月に検体採取)および 9 名の健常者の母乳中の PCDDs、PCDFs、Coplanar PCBs 濃度を比較検討した。その結果、油症患者の母乳は健常者の母乳と比較して PCDDs レベルは 2.2～3.5 倍、Coplanar PCBs レベルは 1.1～2.5 倍であるが、PCDFs レベルは 33～82 倍、2,3,4,7,8-Penta CDF レベルは 36～88 倍と顕著に高い値を示すことを報告している。これらの成績から、油症患者より出生した児のなかで母乳栄養を行った児は出生後 30 数年経過した時点でも 2,3,4,7,8-PentaCDF は血中に高濃度に存在し、その曝露源としては母乳を介する母児間移行であることが示唆された。

今後、油症患者より出生した児についても追跡調査を継続して行い、健康状態を注意深くモニターしていくことが必要であると考える。

E．結論

油症患者より出生した児のなかには出生後 30 数年経過した時点でも 2,3,4,7,8-PentaCDF が血中に高濃度に存在するものがあり、その主要な曝露源は母乳を介する母児間移行であ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

参考文献

1) Ando M, Saito H, Wakisaka I. Transfer of polychlorinated biphenyls (PCBs) to newborn infants through the placenta and mothers' milk. Arch Environ Contam Toxicol 14(1):51-57,1985.
2) Päpke O. PCDD/PCDF: human back ground data for Germany, a 10-year experience. Environ Health Perspect 106 Suppl 2:723-731,1998.
3) Tsukimori K, Tokunaga S, Shibata S, Uchi H, Nakayama D, Ishimaru T, Nakano H, Wake N, Yoshimura T, Furue M. Long-term effects of polychlorinated biphenyls and dioxins on pregnancy outcomes in women affected by the Yusho incident. Environ Health Perspect. 116(5): 626-630,2008.
4) 松枝隆彦，飯田隆雄，平川博仙，深町和美，常盤博，長山淳哉．油症患者及び対照者の母乳中の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCBs 濃度の比較． 福岡医誌 84(5):263-272,1993.

5) Masuda Y, Haraguchi K, Kono S, Tsuji H, Päpke O. Concentrations of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents. Chemosphere 58(3):329-344,2005.
6) Schecter A, Kassis I, Päpke O. Partitioning of dioxins, dibenzofurans, and coplanar PCBs in blood, milk, adipose tissue, placenta and cord blood from five American women. Chemosphere 37(9-12):1817-1823, 1998.
7) Suzuki G, Nakano M, Nakano S. Distribution of PCDDs/ PCDFs and Co-PCBs in human maternal blood, cord blood, placenta, milk, and adipose tissue: dioxins showing high toxic equivalency factor accumulate in the placenta. Biosci Biotechnol Biochem 69(10):1836- 1847,2005.

表 1 母児の血中 PCDDs、PCDFs、Coplanar-PCBs 濃度

Congeners	Mother					Child					Ratio	
	Numbers	TEQ concentration (TEQ pg/g lipid)				Numbers	TEQ concentration (TEQ pg/g lipid)				(Child/	p-value [a]
	detected	Mean	SD	Min	Max	detected	Mean	SD	Min	Max	Mother)	
Formula feeding	9					11						
2,3,7,8-TCDD	8	1.84	0.76	0.50	3.18	1	0.55	0.16	0.50	1.04	0.30	<0.001
1,2,3,7,8-PeCDD	9	13.15	5.98	5.51	24.16	11	4.60	1.77	1.40	7.11	0.35	<0.001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	9	0.36	0.14	0.21	0.62	5	0.10	0.08	0.10	0.30	0.46	0.003
1,2,3,6,7,8-HxCDD	9	6.21	4.18	1.79	16.46	11	1.93	1.03	0.78	3.87	0.31	0.006
1,2,3,7,8,9-HxCDD	9	0.44	0.16	0.20	0.76	9	0.30	0.15	0.10	0.57	0.69	0.042
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	9	0.51	0.14	0.37	0.84	11	0.42	0.14	0.24	0.67	0.81	0.189
OCDD	9	0.22	0.07	0.12	0.33	11	0.17	0.05	0.09	0.26	0.77	0.147
2,3,7,8-TCDF	9	0.29	0.14	0.05	0.46	2	0.06	0.03	0.05	0.12	0.22	<0.001
1,2,3,7,8-PeCDF	7	0.04	0.02	0.02	0.06	0	0.02	0.00	0.02	0.02	NA	NA
2,3,4,7,8-PeCDF	9	81.05	65.55	5.53	209.13	11	3.14	1.48	1.08	6.38	0.04	0.002
1,2,3,4,7,8-HxCDF	9	6.15	5.89	0.33	18.10	8	0.29	0.15	0.10	0.54	0.05	0.007
1,2,3,6,7,8-HxCDF	9	2.27	1.79	0.22	5.91	8	0.30	0.16	0.10	0.55	0.13	0.005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0	0.10	0.00	0.10	0.10	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1	0.11	0.04	0.10	0.23	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	7	0.04	0.03	0.01	0.08	6	0.02	0.01	0.01	0.05	0.62	0.081
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0	0.01	0.00	0.01	0.01	0	0.01	0.00	0.01	0.01	NA	NA
OCDF	0	0.001	0.00	0.001	0.001	0	0.001	0.00	0.001	0.001	NA	NA
3,3',4,4'-TCB(#77)	2	0.001	0.00	0.001	0.002	2	0.001	0.00	0.001	0.002	NA	NA
3,4,4',5-TCB(#81)	0	0.002	0.00	0.002	0.002	0	0.002	0.00	0.002	0.002	NA	NA
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	9	6.71	3.39	2.84	13.59	10	2.87	1.58	0.50	5.35	0.43	0.007
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	9	6.26	2.88	2.42	11.24	11	1.02	0.38	0.51	1.94	0.16	<0.001
Total PCDDs TEQ		22.74	9.86	8.71	41.22		8.15	3.08	3.38	12.88	0.36	<0.001
Total PCDFs TEQ		90.05	72.86	7.43	233.90		4.04	1.72	1.57	7.57	0.04	0.002
Total coplanar PCBs TEQ		12.98	5.32	7.45	22.95		3.90	1.79	1.01	6.32	0.30	<0.001
Total TEQ		125.77	83.28	32.39	291.81		16.08	5.55	5.97	26.16	0.13	<0.001
Breast feeding	10					15						
2,3,7,8-TCDD	8	1.55	0.71	0.50	2.78	3	0.65	0.32	0.50	1.45	0.42	<0.001
1,2,3,7,8-PeCDD	10	8.95	3.10	4.79	15.35	15	4.09	1.49	1.93	5.94	0.46	<0.001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8	0.31	0.14	0.10	0.48	8	0.19	0.10	0.10	0.40	0.60	0.064
1,2,3,6,7,8-HxCDD	10	5.39	3.43	2.44	12.30	15	1.91	0.87	0.78	3.75	0.36	0.003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	10	0.53	0.16	0.38	0.91	13	0.29	0.10	0.10	0.48	0.54	<0.001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	10	0.54	0.16	0.19	0.73	15	0.40	0.11	0.25	0.62	0.74	0.045
OCDD	10	0.25	0.10	0.09	0.45	15	0.15	0.03	0.11	0.21	0.62	0.016
2,3,7,8-TCDF	7	0.16	0.10	0.05	0.29	3	0.07	0.04	0.05	0.17	0.41	0.023
1,2,3,7,8-PeCDF	3	0.02	0.01	0.02	0.04	1	0.02	0.01	0.02	0.04	NA	NA
2,3,4,7,8-PeCDF	10	44.14	49.90	2.28	143.96	15	3.69	4.01	0.97	16.04	0.08	0.031
1,2,3,4,7,8-HxCDF	10	3.18	4.13	0.21	11.22	10	0.32	0.34	0.10	1.43	0.10	0.050
1,2,3,6,7,8-HxCDF	10	1.41	1.42	0.37	4.35	15	0.35	0.16	0.10	0.70	0.25	0.031
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0	0.10	0.00	0.10	0.10	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1	0.14	0.12	0.10	0.49	0	0.10	0.00	0.10	0.10	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	8	0.03	0.02	0.01	0.07	9	0.02	0.01	0.01	0.04	0.72	0.099
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0	0.01	0.00	0.01	0.01	0	0.01	0.00	0.01	0.01	NA	NA
OCDF	0	0.001	0.00	0.001	0.001	0	0.001	0.00	0.001	0.001	NA	NA
3,3',4,4'-TCB(#77)	2	0.001	0.00	0.001	0.002	1	0.001	0.00	0.001	0.001	NA	NA
3,4,4',5-TCB(#81)	0	0.002	0.00	0.002	0.002	0	0.002	0.00	0.002	0.002	NA	NA
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	10	6.40	2.71	3.18	11.51	11	2.28	1.54	0.50	5.50	0.36	<0.001
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	10	4.15	3.73	0.97	11.19	14	0.99	0.55	0.15	2.18	0.24	0.177
Total PCDDs TEQ		17.52	6.75	9.11	30.74		7.68	2.47	4.49	11.20	0.44	<0.001
Total PCDFs TEQ		49.20	55.33	3.16	160.52		4.68	4.44	1.68	18.46	0.10	0.031
Total coplanar PCBs TEQ		10.55	4.70	5.20	19.35		3.28	1.74	1.02	6.92	0.31	<0.001
Total TEQ		77.26	65.33	17.47	210.61		15.64	7.10	7.68	30.86	0.20	0.009

[a] paired Student's t-test

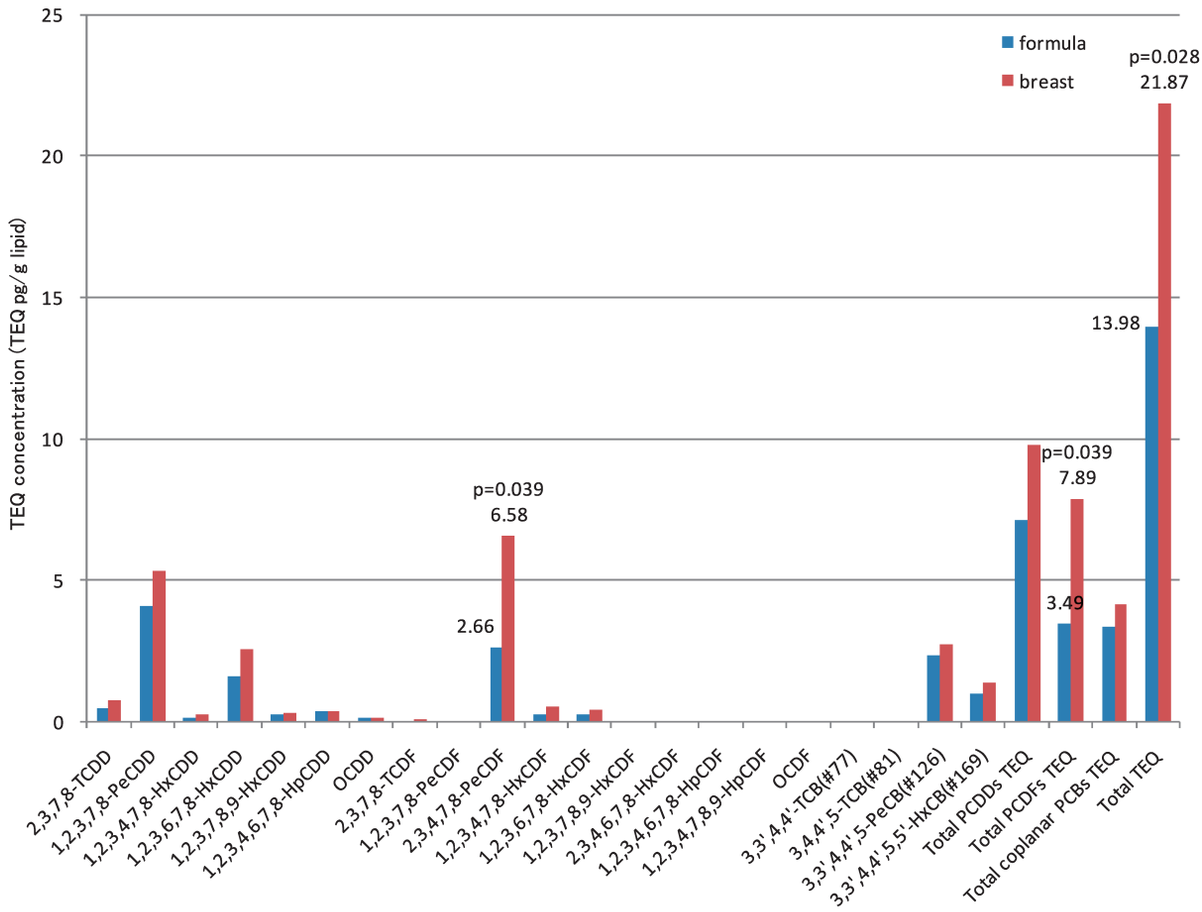
NA, not applicable because many values were under the detection limit.

表 2 油症母児と健常者における血中ダイオキシン類濃度の比較

Congeners	Formula feeding		Breast feeding	
	Mother p-value [a]	Child p-value [a]	Mother p-value [a]	Child p-value [a]
2,3,7,8-TetraCDD	0.609	NA	0.722	0.056
1,2,3,7,8-PentaCDD	**<0.001**	0.128	**<0.001**	0.009[b]
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	0.274	0.088	0.810	0.069
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	**<0.001**	0.694	**<0.001**	0.595
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	0.114	0.615	0.003	0.309
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**
OctaCDD	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**
2,3,7,8-TetraCDF	**<0.001**	0.520	0.106	0.493
1,2,3,7,8-PentaCDF	NA	NA	NA	NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	**<0.001**	0.119	**<0.001**	**0.011**
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	**<0.001**	0.040[b]	**<0.001**	0.056
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	**<0.001**	0.079	**<0.001**	0.120
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	NA	NA	NA	NA
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	NA	NA	NA	NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	0.666	0.671	0.999	0.719
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	NA	NA	NA	NA
OctaCDF	NA	NA	NA	NA
3,3',4,4'-TetraCB(#77)	NA	NA	NA	NA
3,4,4',5-TetraCB(#81)	NA	NA	NA	NA
3,3',4,4',5-PentaCB(#126)	0.764	0.061	0.657	0.027[b]
3,3',4,4',5,5'-HexaCB(#169)	**<0.001**	0.233	**<0.001**	0.147
Total PCDDs TEQ	**<0.001**	0.085	**<0.001**	0.016[b]
Total PCDFs TEQ	**<0.001**	0.505	**<0.001**	0.082
Total coplanar PCBs TEQ	0.695	0.061	0.990	0.014[b]
Total TEQ	**<0.001**	0.231	**<0.001**	0.163

[a] paired Student's t-test, [b] significantly lower TEQ concentrations
NA, not applicable because many values were under the detection limit. Bold fonts show $p<0.05$.
CDD, chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls

図 1 人工栄養群と母乳栄養群における児の血中ダイオキシン類濃度の比較



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　油症の母親から 1995 年～2002 年に出生した未認定者（男性 4 名）（油症関連群）と 1993 年と 1996 年に健常な母親から誕生した健常者（男性 2 名）（健常群）の保存臍帯に残存するダイオキシン類の濃度を測定し、比較した。その結果、PCDFs はいずれの検体からも検出されなかったが、PCDDs とダイオキシン様 PCBs のある同族体は検出された。しかし、いずれの化学物質でも健常群のほうが高濃度であり、胎児性油症患者で特に高濃度であった三種のダイオキシン様 PCBs（#156、#157、#189）についても、油症関連群のほうが 25%～40%低濃度であった。このように 1995 年～2002 年に誕生した未認定者の保存臍帯では、最早、油症に特徴的な同族体パターンは観察されなかった。そこで、上記三種のダイオキシン様 PCBs と、胎児性油症患者でそれほど高濃度ではなかった三種のダイオキシン様 PCBs（#118、#123、#167）の時系列的濃度変化を比較・検討した。結果はいずれのダイオキシン様 PCBs についても、油症関連群での濃度低下が顕著であり、体外への排泄がより促進されたことが示された。この原因の一つとして、母体や胎児の薬物代謝酵素等の誘導が考えられる。いずれにしても、検体数をさらに増やすこと等により、上記の点について詳細に研究する必要がある。

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者および 1981 年～1992 年と 1995 年～2002 年に生まれた未認定者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、油症原因物質の特性を究明する。

今年度の研究では、1995 年～2002 年に誕生した未認定者と 1993 年と 1996 年に誕生した健常者の保存臍帯に残存する油症原因物質濃度を比較するとともに、これまでに分析した各年代の保存臍帯に存在する油症原因物質の濃度の変遷を時系列的に健常者のものと比較・検討することにより、油症原因物質の臍帯残留特性についても考察した。

B．研究方法

油症の母親から 1995 年～2002 年に生まれた未認定者（男性 4 名）（油症関連群）および 1993 年と 1996 年に健常な母親から誕生した健常者（男性 2 名）（健常群）の保存臍帯を化学分析用検体とした。これらの保存臍帯中のダイオキシン類（PCDDs、PCDFs、ダイオキシン様 PCBs）および PCBs の濃度を HRGC-HRMS を用いて分析・定量し、両グループの分析結果を Student の t 検定により統計的に比較した。

また、油症の母親から 1970 年～1973 年に生まれた胎児性油症患者（男性 4 名、女性 2 名）、1981 年～1992 年に生まれた未認定者（男性 4 名、女性 3 名）および今回の未認定者（男性 4 名）と、それぞれ同時期に健常な母親から誕生した健常者（1966 年

～1975 年；男性 2 名、女性 3 名、1980 年～1989 年；男性 6 名、女性 2 名）および今回の健常者（男性 2 名）の保存臍帯に存在する油症原因物質濃度の時系列的変化についてもStudentの t検定により比較･検討し、それらの残留特性を評価した。

（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 に油症関連群と健常群の保存臍帯に存在するダイオキシン類同族体と PCBs の化学分析結果を示す。PCDDs については未認定者と健常者のそれぞれ 1 人で 33pg/g、25 pg/g 検出されたが、これらの検体以外では、いずれも検出限界(0.02pg/g)以下であった。未認定者で検出された同族体は OCDD であり、健常者では 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と OCDD が検出された。PCDFs については、両群ともいずれの同族体も検出限界(0.02pg/g)以下であった。ダイオキシン様 PCBs で検出されなかったのは健常群では#77、#81、#126 と#169 であり、油症関連群では#81、#126 と#169 であった。健常群の平均総濃度は 335pg/g であり、油症関連群の 184pg/g よりも 1.8 倍高かった。これまでの研究で#156、#157 および#189 は胎児性油症患者や 1981 年～1992 年に誕生した未認定者で、それぞれの健常者よりも高濃度であった。しかし、1995 年～2002 年に誕生した未認定者では、いずれの同族体も健常者よりも 25%～40%低濃度であり、その特徴は最早認められなかった。今後さらに検体数を増やすこと等により、より正確な評価が必要である。PCBs については油症関連群は 22904pg/g であり、健常者の 9691pg/g よりも 2.4 倍高濃度であったが、これは 80882pg/g という極めて高濃度の未認定者が 1 人いたためである。

これまでの研究結果より、胎児性油症等で特徴的に高濃度であったダイオキシン様 PCBs(#156、#157、#189)と、そうではなかったダイオキシン様 PCBs(#118、#123、#167)について、それらの濃度の変遷を時系列的に調べた。まず、前者の例として#156 の結果を Fig. 1 に示す。今回の一連の研究で胎児性油症として誕生したのは 1972 年前後であり、未認定者が出生したのは 1986 年前後と 1998 年前後であるので、それらの時系列における油症関連群と健常群での濃度が示されている。まず、油症関連群の場合、1972 年の濃度は 642pg/g であるが、これが 1986 年には 158pg/g、そして 1998 年には 34pg/g と減少している。つまり、14 年後には 4 分の 1 に、そして 26 年後には 19 分の 1 に低下している。一方、健常群では 1972 年の濃度は 101pg/g と、油症関連群の 6 分の 1 以下の濃度であるが、14 年後には 3 分の 1 に低下しているのに、23 年後には逆に上昇して、2 分の 1 になっている。これにより、1995 年から 1998 年には油症関連群よりも健常群のほうが高濃度となったのである。

次に後者の例として、#118 の結果を Fig. 2 に示す。1972 年当時の濃度は油症関連群 1949 pg/g、健常群 1032pg/g で、油症関連群のほうが、約 2 倍高かった。それが 1986 年にはそれぞれ 301pg/g と 234pg/g になり、1998 年と 1995 年には 74pg/g と 170pg/g に低下した。つまり、油症関連群では 14 年後 6.5 分の 1、26 年後には 26 分の 1 と極めて減少している。それに対して、健常群では 14 年後 4.4 分の 1、23 年後には 6 分の 1 になっただけである。このような傾向は他のそれぞれの同族体についてもほぼ同様であった。以上のように油症に特徴的なダイオキシン様 PCBs にしても、そうではないダイ

オキシン様 PCBs にしても、油症関連群の濃度の減少が健常群よりも際立っている。これは妊娠中の母親が高濃度の PCDFs に曝露することにより、母体と胎児の薬物代謝酵素活性が上昇し、体外への排泄がより促進された結果である可能性を示唆している。さらに分析検体数を増やすこと等により、胎児や次世代への PCDFs の影響を詳細に研究する必要がある。

D．結論

今回分析した油症関連群および健常群の保存臍帯のいずれからも PCDFs は検出されなかった。また、1972 年前後に生まれた胎児性油症患者および 1986 年前後に誕生した未認定者の保存臍帯において、油症関連群で特に高濃度であった三種のダイオキシン様 PCBs(#156、#157、#189)だけでなく、その他のいずれのダイオキシン様 PCBs、さらには PCDDs についても健常群よりもかなり低濃度であった。これは母体が PCDFs に曝露することにより、母体と胎児からの油症原因物質の排泄が高められた結果である可能性がある。この一つの原因として、両者での薬物代謝酵素等の誘導が考えられる。さらに各年代の分析検体を増やし、上記の点等につき詳細に研究する必要がある。

E．研究発表

1．論文発表

1. Nagayama J., Todaka T., Hirakawa H., Hori T., Kajiwara J., Yoshimura T., Furue M.: Polychlorinated dibenzofurans as a causal agent of fetal Yusho. *Chemosphere* 80: 513-518, 2010.

Table 1. 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 1993 to 2002

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 -	ND	ND	–
1,2,3,7,8,9 -	ND	ND	–
1,2,3,4,6,7,8 -	4.1 ± 5.8	ND	–
OCDD	8.6 ± 12	8.1 ± 16	0.94
Total	13 ± 18	8.1 ±16	0.62
PCDFs			
2,3,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,7,8 -	ND	ND	–
2,3,4,7,8 -	ND	ND	–
1,2,3,4,7,8 -	ND	ND	–
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	ND	ND	–
Dioxin-like PCBs			
3, 3’, 4,4’ - (#77)	ND	9.9 ± 20	–
3, 4,4’,5 - (#81)	ND	ND	–
3,3’,4,4’,5 - (#126)	ND	ND	–
3,3’,4,4’,5,5’ - (#169)	ND	ND	–
2,3,3’,4,4’ - (#105)	56 ± 3.8	33 ± 21	0.59
2,3,4,4’,5 - (#114)	10 ± 7.1	6.0 ± 6.9	0.60
2,3’,4,4’,5 - (#118)	170 ± 16	74 ± 55	0.44
2’,3,4,4’,5 - (#123)	3.4 ± 0.8	3.0 ± 2.0	0.88
2,3,3’,4,4’,5 - (#156)	46 ± 14	34 ± 30	0.74
2,3,3’,4,4’,5’ - (#157)	16 ± 17	9.5 ± 11	0.59
2,3’,4,4’,5,5’ - (#167)	20 ± 6.6	5.4 ± 2.7	0.27
2,3,3’,4,4’,5,5’ - (#189)	14 ± 8.0	9.3 ± 11	0.66
Total	335 ± 42	184 ± 104	0.55
PCBs	9691 ± 1676	22904 ± 38726	2.4

a : Mean ± SD

ND : Less than the detection limit of 0.02 pg/g dry weight

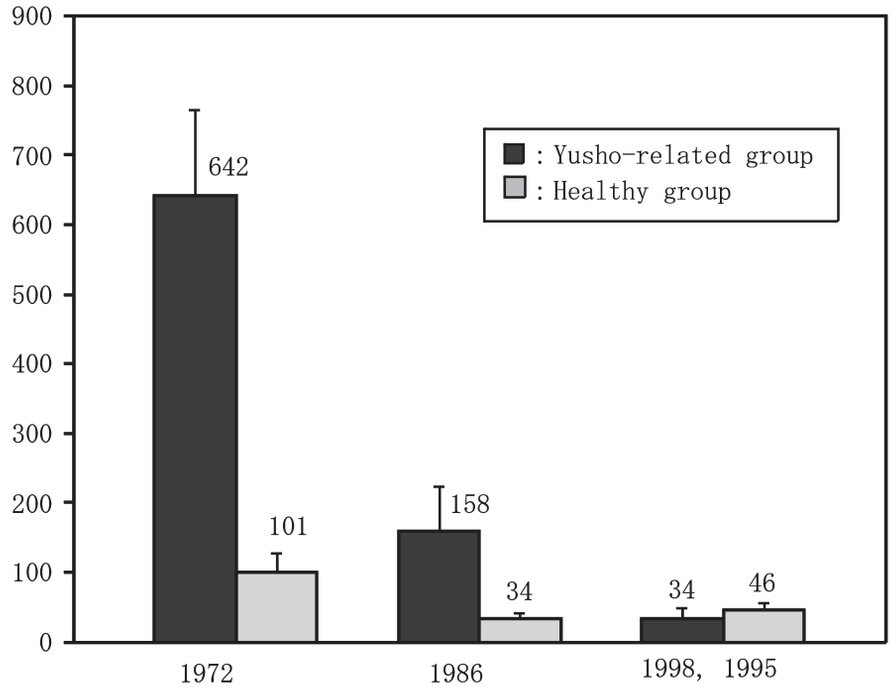


Fig. 1. Time series in concentrations of 2,3,3',4,4',5-hexaCB (#156)

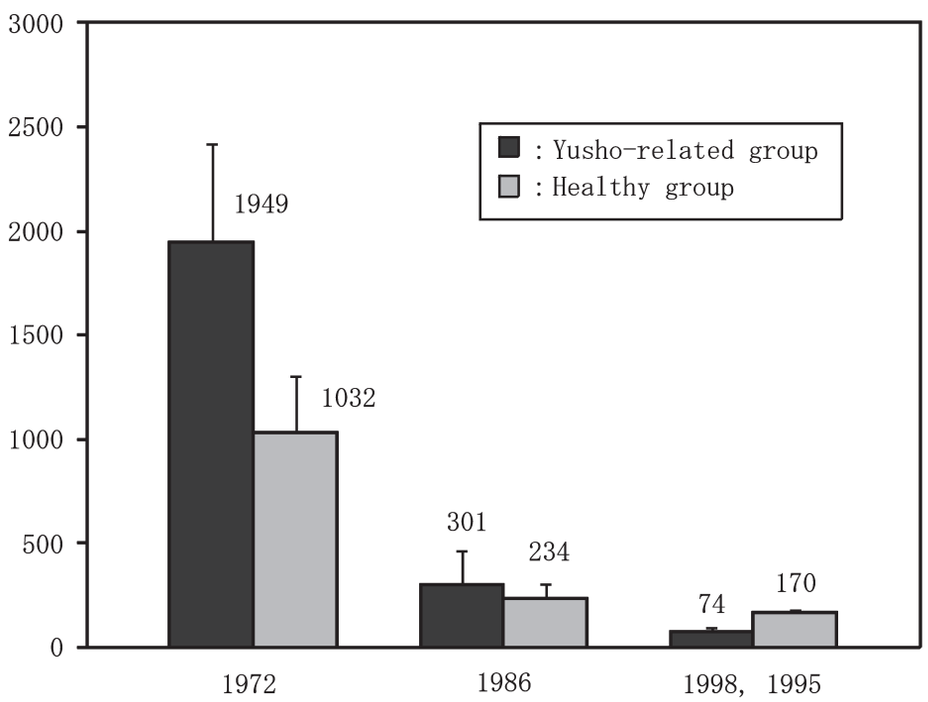


Fig. 2. Time series in concentrations of 2,3',4,4',5-pexaCB (#118)

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	平田輝昭	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　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
	高橋浩司	福岡県保健環境研究所	生活化学課　研究員
	飛石和大	福岡県保健環境研究所	水　質　課　研究員
	黒川陽一	福岡県保健環境研究所	計測技術課　課長
	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
	櫻井利彦	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の血液中ダイオキシン類濃度を明らかにした。平成 21 年度（2009 年）は受診者のうち未認定者 189 名と油症認定患者のうち初回及び過去 3 年以内に測定歴の無い認定患者 72 名の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。2009 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(WHO2005)は 65.7 pg/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 106.5pg/g lipid であった。2001 年から 2009 年までの 9 年間の血液中ダイオキシン類検査希望者中の油症認定患者の検体総数は 1678 名分であるが、受診認定患者の実数は 649 名で、油症認定患者（1941 名）の約 33%の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。内訳は男性 312 名、女性 337 名、平均年齢は 66.0 歳、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 138pg/g lipid であった。受診認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.9～1792pg/g lipid と広範囲であるが約 50%の患者は 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）までに汚染油の摂食歴、臨床症状および血液中に残留する PCB 濃度の特徴、PCQ 濃度を基準に約 1,860 人が油症患者として認定された。その後、分析技術の進歩に伴い、油症原因物質がダイオキシン類であることが明らかになり、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、2004-09 年に新たに 74 名の患者が認定されている。

全国油症追跡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を行っている。我々も、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患者のうち初回及び過去 3 年以内に測定歴の無い認定患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、油症認定患者に対しては血液中ダイオキシン類濃度の経年推移の解析[3)]と油症認定患者中のダイオキシン濃度分布の解明を目指した。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類濃度の測定に測定対象を拡大させ、2007 年からはコレスチラミンによる治療研究の効果判定のための基礎資料作成を行っている。

本年度は 2009 年度油症一斉検診を受診した未認定者と認定患者の検査対象者の血液中ダイオキシン類濃度を測定し、油症診定会議の判定資料の作成および油症認定患者中の血液中ダイオキシン類濃度分布の解析を行った。

B．研究方法

（１）ダイオキシン類分析法及び信頼性確保

血液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。油症一斉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 年以降は国内分析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）血液中ダイオキシン類検査試料

2009 年度は油症一斉検診受診者のうち未認定者 189 名と油症認定患者のうち初回及び過去 3 年以内に測定歴の無い認定患者で血液中ダイオキシン類検査の希望者 72 名から血液を採取した。2009 年度に初めて血液中ダイオキシン類検査を実施した油症認定患者は 37 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 22 年度（2010 年）調査（452 名）については現在、分析中である。

（3）油症認定患者血液中ダイオキシン類濃度の解析

2001 年度から 2009 年度までの 9 年間に血液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 1678 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 649 名であった。これら血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の血液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 312 名、女性 337 名であった。患者の年齢は 2009 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液中ダイオキシン濃度として解析した。

(倫理面への配慮)

血液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。また、本研究は「福岡県保健環境研究所疫学研究倫理審査委員会要綱」に基づき、審査を受け承認されたものである(受付番号第 21-3 号(1)平成 22 年 5 月 10 日承認)。

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

2009 年度の油症ダイオキシン類検査では 11 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。 2,3,7,8-TCDD 、1,2,3,7,8-PeCDD 、 1,2,3,4,7,8-HxCDD 、OCDD、2,3,7,8-TCDF、では CV 値が 10%以上であるが、その他の異性体濃度の CV 値は約 10%以下と良好な結果であった。特に、油症診定基準に採用されている 2,3,4,7,8-PeCDF の CV 値は 9.7%で、今年度も血液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液中ダイオキシン類分析

表 2 に 2009 年度の油症一斉検診の油症認定患者及び未認定者の血液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液中ダイオキシン類濃度を示した。2009 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、未認定者の平均 Total TEQ（WHO2005）はそれぞれ 65.7 、31.0pg/g lipid であった。2002-2006 年度は受診認定患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)]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 年以内に測定歴の無い認定患者の血液中ダイオキシン類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 を超える血液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(WHO2005)は 36.8 pg/g lipid であり、2009 年度の受診認定患者の血液中ダイオキシン類濃度は一般住民より約 1.8 倍高く、未認定者はほぼ同等であった。血液中ダイオキシン類化合物の種類別の構成を比較すると受診認定患者は一般住民と比べて、PCDF 類の濃度が高く、同属体別では 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 同属体が特に高い油症認定患者に特徴的な同属体パターンを示している。また、未認定者の中に 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50pg/g lipid を超える受診者が 10 名存在した。

（2）油症一斉検診受診者の血液中ダイオキシン類濃度の解析

2001 年度から 2009 年度までの 9 年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者 649 名の 2009 年現在の平均年齢は 66 歳（31-97 歳）であった。内訳は男性 312 名、女性 337 名、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 137.8pg/g lipid であった。表 3 に男女別各年齢群の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を示した。男女別では女性の方が各年齢群とも血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値、中央値および最大値が高い。年齢群別では 1968 年の事件発生時に 10 歳以上で汚染油を大量に摂取したと推定される 50 歳代以上の年齢群の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値が高かった。

受診認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の濃度分布を図 1 に示した。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.9～1792pg/g lipid と広範囲であるが約 50%の認定患者は 50pg/g lipid 以下であった。

2001 年から 2009 年までの 9 年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者 649 名は全認定患者（1941 名）の約 33%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 47%に相当する。従って油症認定患者の約 5 割の血液中ダイオキシン濃度を明らかにしたことになる。2007 年の「カネミ油症事件関係仮払金返還債権の免除についての特例に関する法律」制定以来、油症に対する関心が高まり、2008 年は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したと推察されたが、2009 年は減少した。2008 年 10 月より油症ダイオキシン研究診療センターで油症一斉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、2010 年からは長崎県五島市でも窓口を開設した。今後も、未受診者の検診を進め、油症認定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．結論

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[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。また、国内の分析機関とクロスチェックを実施し分析データの信頼性を確保した。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、2004 年の血液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し、2004 年から 2009 年に新たに 74 名の患者が認定されている。

本分析法を用いて、2001 年から 2009 年までの 9 年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者は 649 名であった。これら血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の血液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、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 137.8pg/g lipid であり、男女とも高年齢の方が血液中 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。受診認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.9～1792pg/g lipid と広範囲であるが約 50%の患者は 50pg/g lipid 以下であった。これまでの分析の結果、油症認定患者の約 5 割の血液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、油症認定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. 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
6. 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
7. T.Todaka, H.Hirakawa, J.Kajiwara, K. Tobiishi, T.Iida, T.Yoshimura, M.Furue : Follow-up survey of Dioxins and Related Chemicals in the Blood of Yusho Patients in 2002-2005. 26th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants. August 20-25, 2006, Oslo Norway

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

Lot. No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Mean	SD	Min	Max	CV
脂肪含量(%)	0.337	0.324	0.330	0.352	0.295	0.288	0.326	0.327	0.308	0.337	0.313	0.321	0.019	0.288	0.352	5.9%
2,3,7,8-TCDD	1.4	1.5	1.8	1.6	1.6	1.4	2.2	2.4	1.7	2.3	1.7	1.8	0.35	1.4	2.4	19.6%
1,2,3,7,8-PeCDD	7.2	7.4	8.3	9.9	7.4	6.7	6.6	6.6	7.9	8.9	7.7	7.7	1.03	6.6	9.9	13.4%
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7.5	7.4	6.9	7.2	7.0	4.6	7.2	6.7	4.7	6.4	6.1	6.5	1.02	4.6	7.5	15.6%
1,2,3,6,7,8-HxCDD	55.1	56.3	49.6	48.2	60.3	57.0	53.3	51.5	49.4	44.0	49.8	52.2	4.67	44.0	60.3	8.9%
1,2,3,7,8,9-HxCDD	9.8	10.5	10.8	8.8	10.8	10.5	10.2	9.8	11.3	9.8	11.7	10.4	0.83	8.8	11.7	8.0%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	133.2	134.2	133.0	131.0	155.2	156.6	148.5	143.5	147.9	116.0	139.5	139.9	12.00	116.0	156.6	8.6%
OCDD	1995.0	1191.8	1426.8	1391.8	1454.3	1335.7	1557.5	1514.8	1379.4	1209.8	1698.2	1468.7	227.34	1191.8	1995.0	15.5%
2,3,7,8-TCDF	ND	ND	ND	1.0	1.5	ND	1.2	ND	1.3	1.1	ND	1.2	0.19	1.0	1.5	16.1%
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	ND	ND	ND	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	0.06	1.1	1.1	5.3%
2,3,4,7,8-PeCDF	5.6	5.7	5.2	5.4	4.5	5.8	5.2	6.1	6.3	6.1	6.2	5.7	0.55	4.5	6.3	9.7%
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7.6	7.3	6.3	6.6	6.9	6.6	6.6	7.0	5.9	7.7	6.9	6.9	0.54	5.9	7.7	7.8%
1,2,3,6,7,8-HxCDF	5.9	6.7	6.6	7.1	7.4	5.8	6.8	6.5	7.4	7.0	6.7	6.7	0.52	5.8	7.4	7.8%
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	2.2	ND	2.3	ND	ND	ND	ND	2.3	0.06	2.2	2.3	2.7%
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	15.0	16.5	13.5	14.0	15.1	16.0	16.8	16.2	16.7	13.5	16.4	15.4	1.28	13.5	16.8	8.3%
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	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	-	-	-	-
344'5-TCB(#81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
33'4,4'-TCB(#77)	42.1	38.3	36.0	36.4	44.3	44.9	41.0	42.2	38.9	42.7	40.4	40.7	2.97	36.0	44.9	7.3%
33'44'5-PenCB(#126)	22.9	22.0	22.7	20.5	24.7	23.2	21.8	23.7	23.1	23.5	26.4	23.1	1.55	20.5	26.4	6.7%
33'44'55'-HxCB(#169)	19.1	19.9	18.2	17.7	18.2	22.7	19.8	21.2	18.8	18.8	20.6	19.5	1.51	17.7	22.7	7.7%
Total PCDDs	2209.2	1409.2	1637.3	1598.5	1696.6	1572.5	1785.5	1735.3	1601.1	1397.2	1914.6	1687.0	229.90	1397.2	2209.2	13.6%
Total PCDFs	40.8	42.2	37.6	39.6	42.7	40.2	43.4	41.7	43.1	40.8	42.2	41.3	1.72	37.6	43.4	4.2%
Total Non-ortho PCBs	89.1	85.2	81.9	79.5	92.1	95.9	87.6	92.0	85.8	90.1	92.5	88.3	4.91	79.5	95.9	5.6%
Total	2339.0	1536.6	1756.9	1717.6	1831.4	1708.6	1916.6	1869.0	1730.1	1528.1	2049.3	1816.6	231.13	1528.1	2339.0	12.7%
◆【WHO-98】◆																
T PCDDs-98TEQ	17.4	17.8	18.3	19.4	18.5	17.0	17.6	17.4	16.5	18.5	17.7	17.8	0.82	16.5	19.4	4.6%
T PCDFs-98TEQ	4.6	4.7	4.3	4.6	4.4	4.6	4.6	4.8	5.0	5.0	4.9	4.7	0.23	4.3	5.0	5.0%
T Non-ortho PCBs-98TEQ	2.5	2.4	2.5	2.2	2.7	2.6	2.4	2.6	2.5	2.5	2.9	2.5	0.16	2.2	2.9	6.4%
Total 98TEQ	24.5	24.9	25.1	26.2	25.5	24.1	24.6	24.8	24.0	26.1	25.5	25.0	0.72	24.0	26.2	2.9%
◆【WHO-05】◆																
T PCDDs-05TEQ	17.8	18.1	18.6	19.7	18.8	17.3	17.9	17.7	16.8	18.8	18.0	18.1	0.81	16.8	19.7	4.5%
T PCDFs-05TEQ	3.5	3.6	3.3	3.5	3.4	3.4	3.6	3.6	3.7	3.8	3.7	3.5	0.15	3.3	3.8	4.2%
T Non-ortho PCBs-05TEQ	2.9	2.8	2.8	2.6	3.0	3.0	2.8	3.0	2.9	2.9	3.3	2.9	0.17	2.6	3.3	6.0%
Total-05TEQ	24.2	24.4	24.7	25.8	25.2	23.7	24.2	24.3	23.4	25.5	25.0	24.6	0.73	23.4	25.8	3.0%

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:tetrachlorobipheny;TCDD:tetrachlorodibenzo-p-dioxin;TCDF:tetrachlorodivenzofuran;TEQ:toxic equivalent quantity.

表２　　油症認定患者及び未認定者血液中ＰＣＤＤｓ、ＰＣＤＦs及びノンオルソコプラナーＰＣＢs濃度測定結果（2009年）

	Concentration (pg/g lipid)											
	油症認定患者(N=72)				未認定者(N=189)				一般人（N=127，2004年）			
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.3	ND	8.6	1.4	0.9	ND	5.2	1.9	0.8	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	8.6	5.7	ND	25.7	7.5	3.9	1.1	20.2	9.0	3.4	3.2	19.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.3	2.1	ND	14.7	2.5	1.9	ND	17.8	3.6	1.9	ND	13.4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	42.1	39.0	6.1	212.7	22.8	15.0	2.9	90.1	27.7	11.0	7.3	70.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.1	3.7	ND	23.4	4.0	2.9	ND	16.9	4.5	2.8	ND	16.4
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	38.7	26.5	12.7	216.1	48.3	31.8	13.2	262.2	78.5	55.4	17.6	470.5
OCDD	645.7	498.0	184.6	3991.6	720.7	566.7	139.8	4786.6	1216.6	938.3	181.2	7613.9
Total PCDDs	743.4	548.6	244.0	4381.8	807.3	608.2	169.5	5121.1	1341.7	1003.4	214.4	8170.8
2,3,7,8-TCDF	2.0	1.7	ND	7.7	1.0	0.8	ND	6.7	1.0	0.7	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	0.9	0.6	ND	4.4	0.8	0.7	ND	4.6	0.7	0.5	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	106.5	156.7	3.4	1055.5	19.5	17.1	1.3	105.6	17.5	7.7	6.0	63.4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	28.9	52.4	ND	315.9	4.4	4.2	ND	28.9	5.0	2.7	ND	19.8
1,2,3,6,7,8-HxCDF	13.7	18.0	ND	111.0	4.9	3.6	ND	22.7	5.7	2.6	ND	15.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.8	ND	6.6	1.2	0.9	ND	8.6	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	2.5	3.4	ND	25.5	2.5	4.2	ND	46.4	2.2	2.1	ND	14.2
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND				ND				ND			
OCDF	ND				2.0	0.5	ND	9.1	2.1	1.4	ND	17.8
Total PCDFs	159.6	225.6	13.7	1496.0	38.4	26.1	10.7	194.8	37.3	14.1	15.0	85.8
344'5-TCB(81)	5.2	1.2	5.0	11.4	5.2	1.6	ND	23.5	5.6	2.3	ND	24.0
33'44'-TCB(77)	7.0	4.9	5.0	33.8	5.9	3.1	ND	31.1	8.4	4.8	ND	31.2
33'44'5-PenCB(126)	86.7	66.3	5.0	318.2	88.6	81.6	ND	496.9	112.5	80.5	16.8	518.8
33'44'55'-HxCB(169)	150.3	107.0	10.4	509.2	81.8	67.6	ND	494.2	63.9	27.0	16.4	191.5
Total Non-ortho PCBs	249.2	150.4	43.8	725.8	181.5	140.3	ND	852.5	190	106	59	744
Total	1152.2	732.7	395.0	4986.6	1027.2	693.1	228.5	5874.9	1569	1045	293	8452
◆【WHO-98】◆												
PCDDs-TEQ	15.7	10.5	2.7	50.8	12.4	6.3	2.6	31.4	15.3	5.7	5.0	34.5
PCDFs-TEQ	58.0	85.1	2.3	571.2	11.1	9.2	1.2	56.5	10.2	4.3	3.5	33.5
Non-ortho PCBs-TEQ	10.2	7.2	1.0	35.7	9.7	8.7	0.6	51.3	11.9	8.2	2.0	53.8
Total TEQ	83.9	94.7	7.6	624.7	33.2	20.4	4.3	121.3	37.4	15.9	12.3	99.7
◆【WHO-2005】◆												
PCDDs-TEQ	15.9	10.6	2.8	51.6	12.5	6.4	2.6	31.5	15.6	5.9	5.1	35.3
PCDFs-TEQ	36.7	53.8	1.6	360.1	7.2	5.8	0.9	36.1	6.6	2.5	2.3	14.4
Non-ortho PCBs-TEQ	13.2	8.6	2.1	43.5	11.3	9.7	0.7	54.6	13.2	8.6	2.6	57.6
Total-TEQ	65.7	65.6	7.4	420.4	31.0	18.8	4.2	111.0	36.8	16.0	11.8	103.3
Lipid(%)	0.32	0.05	0.20	0.50	0.34	0.06	0.23	0.54	0.33	0.05	0.2	0.5
Age(years)	62.5	14.1	31	94	55.7	17.3	7	87	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:tetrachlorobipheny;TCDD:tetrachlorodibenzo-p-dioxin;TCDF:tetrachlorodivenzofuran;TEQ:toxic equivalent quantity.

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金

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=649)						女性(n=337)						男性(n=312)					
	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	15	13	10	12.5	3.0	53	5	23	14	18.0	11	53	10	7.5	8.2	3.7	3.0	13
40歳代	88	20	14	19.1	2.9	108	40	23	16	22.9	2.9	108	48	17	13	14.9	3.8	85
50歳代	113	79	40	123.0	3.4	903	56	119	77	157.6	6.1	903	57	40	22	52.2	3.4	283
60歳代	132	148	58	211.7	5.5	1441	74	216	150	254.1	10	1441	58	61	34	81.1	5.5	511
70歳代	178	198	106	223.2	6.5	1792	96	268	233	260.0	9.2	1792	82	116	66	130.7	6.5	561
80歳以上	123	194	89	248.2	7.6	1238	66	285	180	302.2	16	1238	57	88	51	83.3	7.6	363
	649	138	50	203.4	2.9	1792	337	202	97	251.0	2.9	1792	312	68	31	93.7	3.0	561

(pg/g lipid)

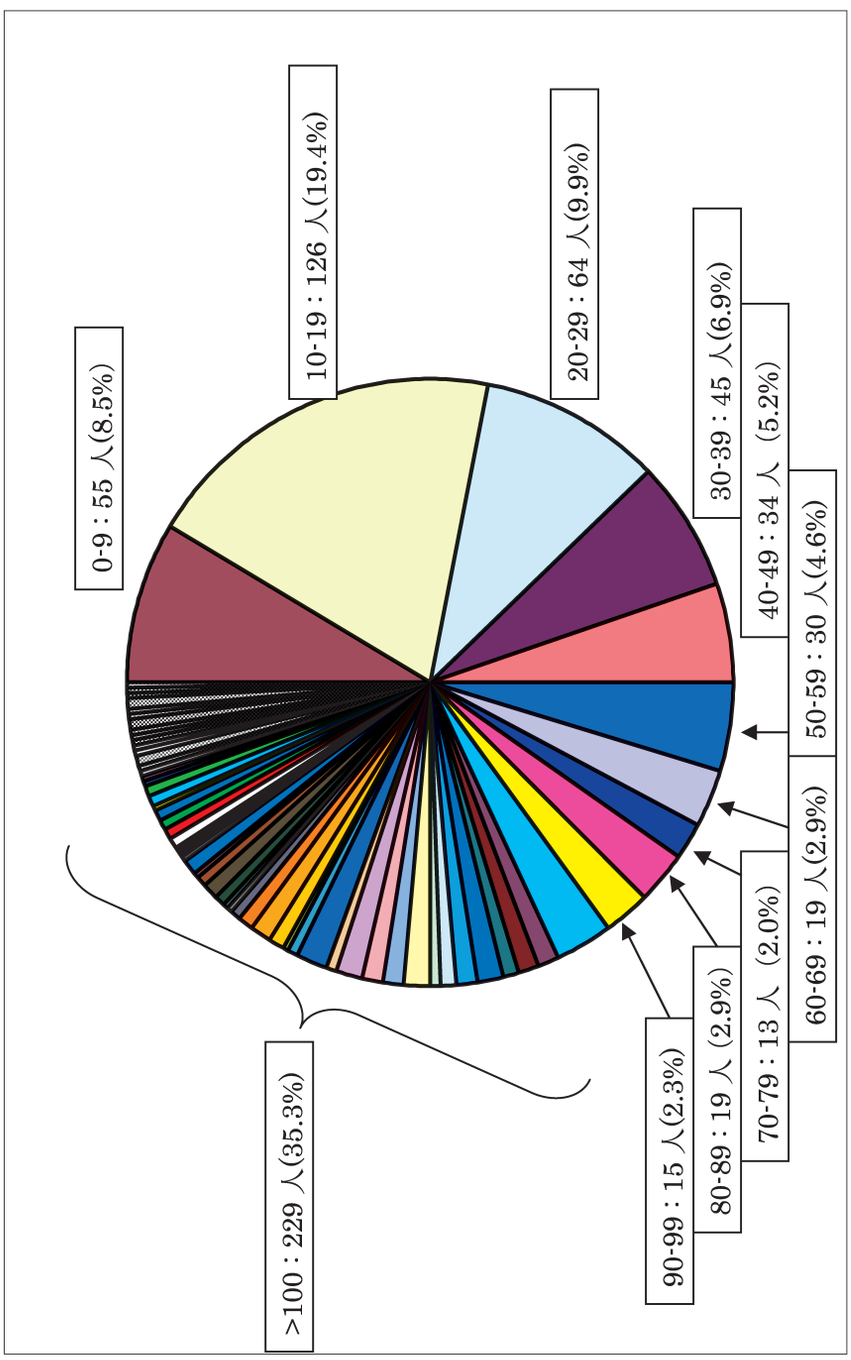


図 1 油症認定患者の血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度分布（n=649）
(pg/g lipid)

分担研究報告書

油症についての疫学・統計学的研究
－ 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：個人変動からのアプローチ －

研究分担者　徳永章二　九州大学病院医療情報部　講師

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、2,3,4,7,8-PCDF（以下、PeCDF と略す）血中レベルの時間的変化を調べた。2001 年から 2008 年までの受診者のうち 4 回以上 PeCDF レベルが測定された 340 人を解析の対象者とした。重み付き非線形モデルによる解析によると、男女とも PeCDF レベル濃度が高いほど PeCDF がより減少する傾向があった。しかし、PeCDF レベルの高い対象者でも PeCDF レベルの減少は平均して年に 5% 以下と推定された。時間の経過による減少を待つだけでは、高 PeCDF レベルの対象者の PeCDF レベルが一般住民のレベルまで減少する事を期待し難い。

A. 研究目的

油症発生から 40 年以上経過しているが、油症認定者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)。PeCDF レベルの変化速度には様々な要因が影響していると考えられている(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。昨年度は random-effects level model という統計学的手法を用い、集団全体の傾向を推定したが、今回は個人 PeCDF レベルの時間的変化から全体の傾向を推定した。

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 2001 年から 2008 年までの全国油症検診受診者で、これまでに４回以上血中ダイオキシン類濃度が測定され、かつ、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。ただし、3 名のみは PeCDF 時間変動が他の対象者に比べ例外的に大きかったので、解析から除外した。

統計学的方法

各個人の PeCDF レベルの時間変化は、対数変換した PeCDF レベルを測定年に対して直線回帰を行い、その傾きから推定した。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)。本解析では、各個人の観察期間中の平均 PeCDF レベル、年齢、体脂肪割合、喫煙習慣、飲酒習慣と PeCDF 変化速度との関連を解析した。

各個人の観察期間中の PeCDF レベルは対数変換後の測定値の平均値で代表し、以下の非線形モデルにあてはめた。

$$y = c - a \cdot e^{b \cdot level}$$

y は PeCDF レベルの時間変化、$level$ は平均 PeCDF レベルで、観察データより係数 c,

a, b が推定された。

さらに、PeCDF レベルの時間変化と年齢、体脂肪割合、喫煙習慣、飲酒習慣との関連を以下の非線形多重回帰モデルにより検討した。

$$y = c - a \cdot e^{b \cdot level} + d_1 x_1 + d_2 x_2 + d_3 x_3 + d_4 x_4$$

x_1, x_2, x_3, x_4 は検討する各項目、d_1, d_2, d_3, d_4 は係数である。年齢は観察中の平均値を用い、体脂肪割合の推定は Gallagher らの方法により求めた。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、二値変数として解析した。

なお、PeCDF レベルの時間変化の推定において、対象者により直線回帰モデルへの適合度が異なっていた。そこで、非線形モデルでの回帰に当たっては、傾きの標準誤差の二乗の逆数で重み付けを行った。統計解析は Stata MP version 11.1（StataCorp, Texas）を用いて行いた。検定は両側検定で、有意水準（α）は 0.05 である。

（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

解析対象者は男性 118 人、女性 140 人の計 258 人であった。表１に対象者の背景を示す。観察期間中の平均年齢は男性 68 歳、女性 67 歳で、油症発生時の年齢平均値は男性 32 歳、女性 30 歳であった。PeCDF レベルの幾何平均値及び最大値は女性が男性の２倍程度であった。PeCDF レベルの変化を図１に示す。

各対象者における平均 PeCDF レベルと PeCDF レベル変化速度の関連を図２と表２に示す。PeCDF レベル変化速度は対象者により差異があるが、平均すると PeCDF レベル変化速度は僅かである。c の推定値より平均 PeCDF レベルが低い時に PeCDF レベルは男性で 1.43 %／年の減少、女性で 1.03 %／年の増加とごく僅かの時間変化と推定された。男女共に a が負である事から、PeCDF レベルが高いほど減少速度が増す傾向が認められた。

多重非線形回帰モデルに当てはめた結果を表 3 に示す。PeCDF レベルの時間変化に関連する要因に性差が見られ、男性では観察中の平均年齢が PeCDF レベルの時間的増加と、喫煙経験有りが PeCDF レベルの時間的減少と統計学的に有意に関連していた。これらは、それぞれ、年あたり 0.21%の増加, 7.3%の減少に換算される。女性では、飲酒経験有りが PeCDF レベルの時間的減少（年あたり 2.9%減少）と関連していた。

D. 考察

油症検診受診者における血中 PeCDF レベルの時間変化については、対象者間で大きなばらつきがあることが知られている(5)。しかし、そのばらつきの一部はランダムな変動によるものと考えられる。そこで、本研究では、直線回帰への適合度で加重する事により、パラメーターの推定の際にランダム変動の程度を考慮した。直線回帰に適合している事はランダム変動が小さい事と完全に一致してはいないが、ランダム変動による外れ値の影響を小さくする事は期待できる。

今回の解析結果から、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非常に小さい事が分かった。高い血中 PeCDF レベルの対象者は

低PeCDF レベルの者よりPeCDF レベルの減少の程度が大きかったが、それでも年に５％程度の減少に留まっていた。また、対象者の背景のうち男性の喫煙経験はPeCDF レベルの減少と関連していたが、年に 7%程度であり、減少の程度は小さかった。

以上のように今回の解析でも前年度の解析結果と同様に近年の血中 2,3,4,7,8-PCDF レベルの減少傾向は非常に小さいと推定された。対象者の平均年齢は現在既に 65 歳以上である。油症検診受診者の大部分を占めている PeCDF レベルが比較的高い油症認定患者において、一般住民の範囲まで PeCDF レベルが低下する事を期待する事は難しいであろう。

E. 結論

血中 PeCDF レベルの減少は非常に緩やかであった。油症研究班で進行中の血中 PeCDF レベル低下や油症の症状緩和に関する臨床研究は、今後も重要性が増すと思われる。

F. 研究発表

徳永章二.「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－. 九州大学出版会, 2010. 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

(5) 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-chloridibensofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. Chemosphere 77:658-662, 2009.

表１．患者背景

		男性（n = 118）	女性（n = 140）
観察期間中の平均年齢		68（38 - 88）	67（37 - 90）
年齢（油症発生時）		32（1 - 51）	30（0 - 53）
BMI		23（18 - 30）	23（17 - 32）
体脂肪割合（%）		22（12 - 29）	32（22 - 42）
喫煙経験		96（82）	13（9）
飲酒経験		91（78）	42（30）
2,3,4,7,8-PCDF レベル（初回測定時 pg/g lipid）		40（5.4 - 789）	73（3.6 - 1771）
測定回数	4	38（32）	41（29）
	5	59（50）	55（39）
	6	16（14）	36（26）
	7	5（4）	8（6）
受診班	福岡県	41（35）	59（42）
	長崎県	17（14）	46（33）
	その他	60（51）	35（25）

※中央値（範囲）または 人数（%）

表２． 2,3,4,7,8-PCDF レベル変化速度の非線形回帰モデルへのあてはめ.

	男性		女性	
項	回帰係数	SE	回帰係数	SE
c	-0.006259	0.003656	0.004429	0.002587
a	-3.98×10^{-06}	0.00008	-0. 000011	0.000037
b	2.854	7.471	2.523	1.181

※ 非線形回帰モデル $y = c - a \cdot e^{b \cdot level}$ にあてはめた。y は 2,3,4,7,8-PCDF レベル(pg/g lipid)変化速度（常用対数変換値の年あたりの変化)、*level* は各対象者の観察期間中の 2,3,7,8-PCDF 血中濃度（pg/g lipid)常用対数値の平均である。各対象者の 2,3,4,7,8-PCDF レベル(pg/g lipid)の常用対数値を経過時間に対して直線回帰を行って変化速度を求め、その回帰係数の分散の逆数で加重している。

表３． 多重非線形回帰モデルへのあてはめによる対象者の背景と. 2,3,4,7,8-PCDF レベル変化速度の関連.

	男性		女性	
	回帰係数	p	回帰係数	p
観察中の平均年齢（年)	0.0009	<0.001	0.00023	0.28
体脂肪割合（%)	-0.0008	0.22	-0.00007	0.85
喫煙経験（有/無)	-0.033	<0.001	0.0061	0.41
飲酒経験(有/無)	0.011	0.08	-0.013	<0.001

※ () 内は単位。観察期間中の平均 2,3,4,7,8-PCDF レベルを非線形モデルにより統計学的に調整している。

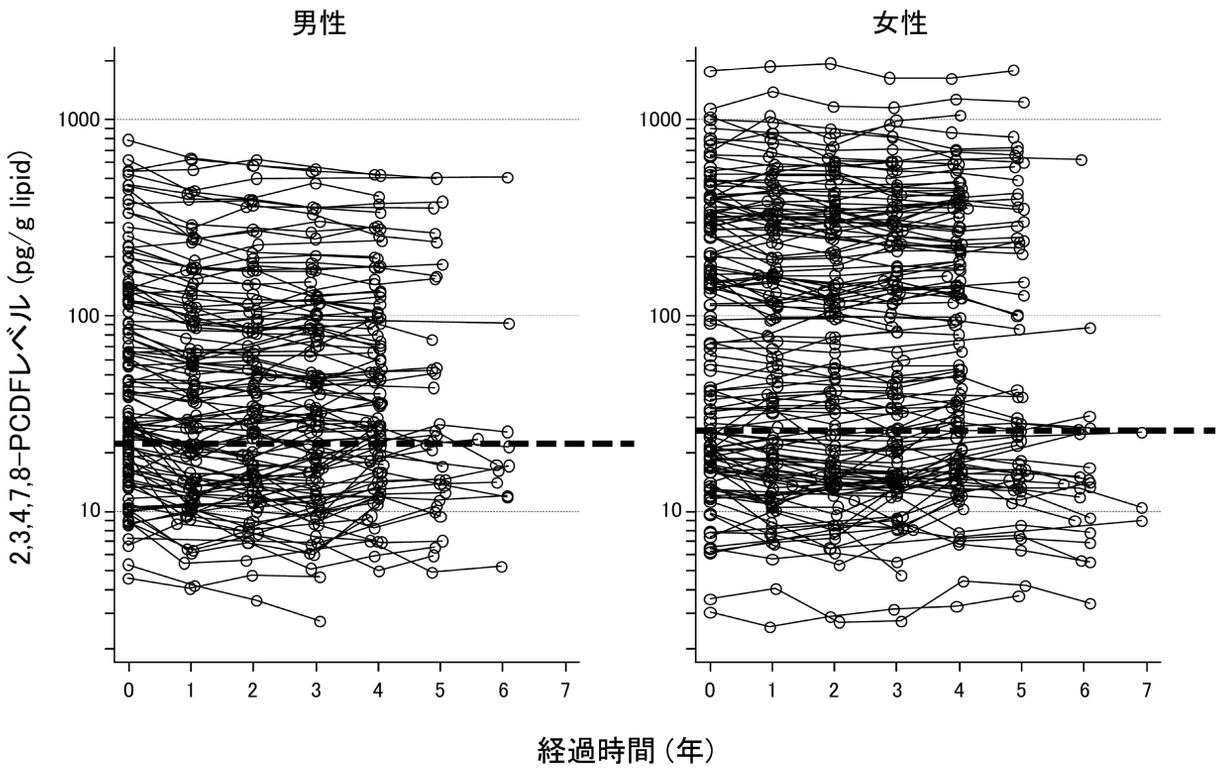


図1. 2,3,4,7,8-PCDFレベルの時間変化. 波線は一般住民で報告された値の最大値である.

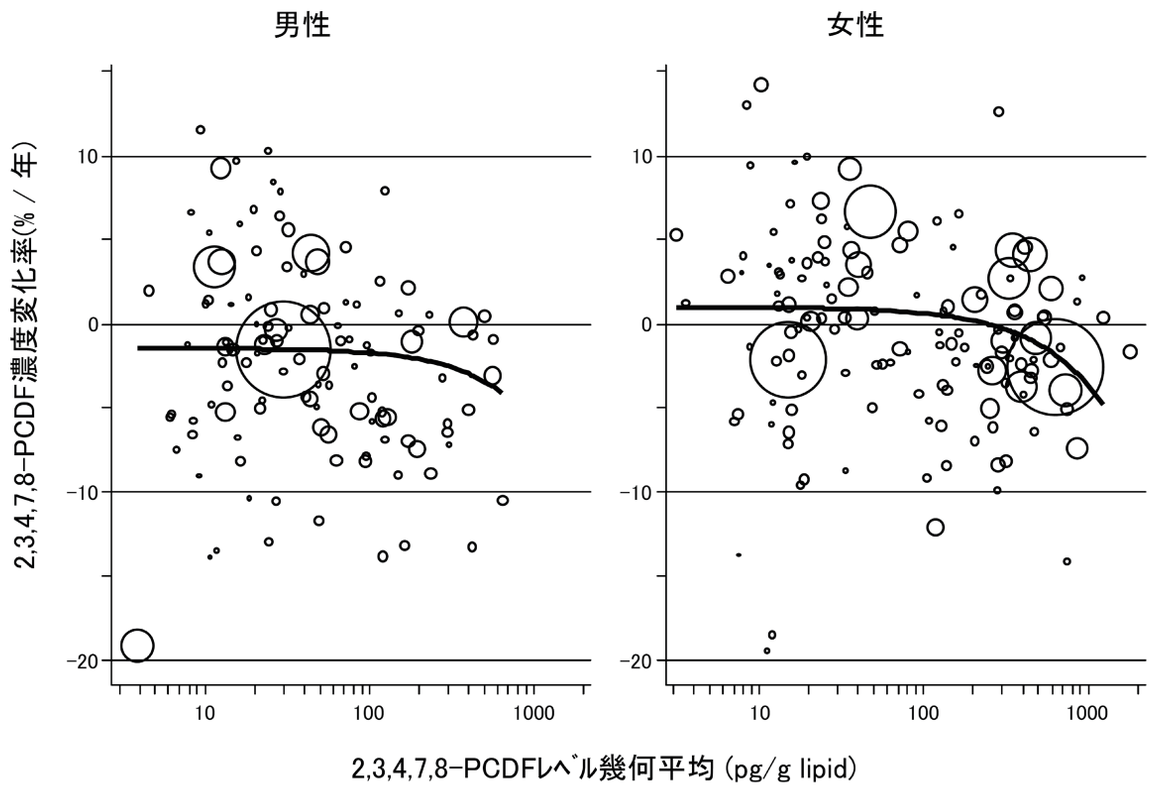


図2. 2,3,4,7,8-PCDFレベルの変化率と各対象者の観察期間中の平均 2,3,4,7,8-PCDFレベルとの関連.

分担研究報告書

カネミ油症患者の症状と 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度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　東京大学大学院医学系研究科社会医学専攻　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
神奈川芳行　東京大学大学院医学系研究科社会医学専攻　客員研究員

研究要旨　平成 21 年度に実施された油症実態調査の結果と平成 12 年から 20 年の油症一斉検診の PeCDF 濃度の測定結果を用いて、調査項目や症状と PeCDF 濃度の関係の有無や関係の強さを分散分析により調査した。関係が強いと考えられた項目や症状の多くは、現在までに報告されているものと同様の症状であった。また、「がん」など人数の少ない疾患でも PeCDF 濃度との関係が疑われた。

A．研究目的

油症患者に特有の症状と PeCDF 濃度の関係については、現在までにいくつかの解析がなされてきた[1,2]。平成 21 年度に油症認定患者を対象に大規模なアンケート調査が実施された[3]。今回、この回答結果と油症の原因物質の一つである 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と関連を調査することを目的とする。

B．研究方法

B.1 対象および検討項目

対象は、平成 21 年度に実施された油症実態調査に回答された患者 1,131 名の内、平成 13 年度～20 年度までの油症患者一斉検診を受診し、PeCDF 濃度を測定した患者 585 名を対象とした。PeCDF 濃度を測定した患者は、測定結果の単純平均をもって代表値とした。

B.2 分析手法

油症実態調査のアンケート項目と PeCDF 濃度を用いて分散分析を行い、PeCDF 濃度と症状の関係の強さの指標を計算し、濃度と関連の強さを検討した。また、油症患者の症状等は、加齢に伴う要因も大きいと考えられるため、60 歳未満、60 歳以上 75 歳未満、75 歳以上の三つの年齢別に分散分析を実施した。さらに、症状の有無により、PeCDF 濃度の平均値を計算した。

C．研究結果

C.1 PeCDF 濃度

表 1 に対象者の PeCDF 濃度を示す。平均濃度は、全体では 137.6 pg/g lipid であった。年齢別に見た場合、60 歳未満では 63.1 pg/g lipid、60 歳以上 75 歳未満では 161.7pg/g lipid、75 歳以上では 192.7 pg/g lipid であった。年齢が高いほど、血中 PeCDF 濃度が高い傾向が見られた。さらに、全年齢で症状の有無により、血中 PeCDF 濃度の平均値を見た場合、「鼻血が止まりにくい」、「近視」、「十二指腸潰瘍」では、「症状なし」と回答した患者の方が高かった。

C.2 調査項目と PeCDF 濃度の関係

分散分析でアンケート調査の項目の中で、PeCDF 濃度との関連が強い（$P<0.05$）と評価された項目を示す（表 2）。分散分析による P 値が小さい順に、全年齢で症状があると回答した人数を示す。さらに、症状の有無により、年齢別の分散分析の結果を比較した結果を表 2 に示す。

P 値が 1 番小さい静脈炎は、症状ありが 2 名と少ないため、PeCDF との関連の強さは不明である。2 番目の骨粗しょう症は、特に 60 歳未満で関係が強くなっていた。3 番目の歯肉の色素沈着は、60 歳未満と 75 歳以上で関係がみられた。4 番目の高血圧は、60 歳以上 75 歳未満で関係が見られた。5 番目の白内障は、全体での P 値は小さい

が、年齢別に見た場合にはP値は大きくなっていた。6番目以降の「眼瞼腺からのチーズ状分泌物」、「頭痛」、「結膜の色素沈着」、「高脂血症」、「爪の変形」は、複数の年代でP値が0.05未満を示しており、違いがあるものと考えられる。人数は少ないものの、「膵臓がん」、「大腸がん」、「胃がん」等の悪性腫瘍も、P値が0.05未満を示していた。

症状がないと回答した患者においてPeCDF濃度が高かった項目を表2に示す。年代別に見た場合、60歳未満では、白内障、粉瘤、動脈硬化、鼻血が止まりにくい、認知症、近視、十二指腸潰瘍であった。60歳以上75歳未満では、もの忘れ、シェーグレン症候群、メニエール病、脳精神神経、手足のしびれ、鼻血が止まりにくい、近視、十二指腸潰瘍であった。75歳以上では、大腸がん、糖尿病、緑内障、脳梗塞、鼻血が止まりにくい、多汗症、近視、十二指腸潰瘍であった。

D．考察

アンケートへの回答と、血中PeCDF濃度の関係については、今までに関連が強いと報告されている項目と、症状ありと回答した人数が少ない項目が多くを占めた。今回の結果、PeCDF濃度との関連が示唆されたが、症状ありとした人数が少ない静脈炎や膵臓の病気強皮症、シェーグレン症候群、アレルギー疾患、脳精神神経、悪性リンパ腫等の項目については、今後の検討が必要と考えられる。

今回、全体で見た場合、白内障が5番目に小さいP値を示した理由として、白内障が加齢に伴い罹患率が増加する病気であることや、PeCDF濃度も高い年代ほど高い傾向があることが考えられる。

「鼻血が止まりにくい」、「近視」、「十二指腸潰瘍」の症状が無いものの方が、全ての年代でPeCDF濃度が高くなっていたが、これに関しては今後さらに詳しい検討が必要である。

また、今回のアンケートは油症患者を対象としたものであるため、今後は非油症患者である一般住民を対象とした同様のアンケート調査を行い、それぞれの項目の回答に関して油症患者群と非油症患者群で比較する必要があると考えられる。これにより、油症患者における様々な症状や疾患に関して、これまでより詳細な分析が行えるのではないかと考えられる。

E．参考文献

1) Kanagawa Y, Imamura T: Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood levels of PCDFs in patients with Yusho. J Dermatol Sci 2005, (Suppl 1):S85-S93.
2) Imamura T, Kanagawa Y, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S, Furue M: Relationship between clinical features and blood levels of pentachlorodibenzofuran in patients with Yusho. Environ Toxicol 2007, 22:124-131.
3) 油症患者健康実態調査の解析に関する懇談会:油症患者に係る健康実態調査結果の報告：平成22年3月

表１　対象者 PeCDF 濃度

	人数	PeCDF濃度(pg/g lipid)	
		平均	標準偏差
年齢不明	7	141.6	162.5
60歳未満	196	63.1	119.0
60歳以上75歳未満	205	161.7	189.7
75歳以上	177	192.0	233.1
全体	585	137.6	192.5

表２．症状の有無による PeCDF 濃度の差異

No	症状	症状あり人数				P-value				症状なし患者平均PeCDF濃度				症状あり患者平均PeCDF濃度			
		全体	60未満	60-75	75以上	全体	60未満	60-75	75以上	全体	60未満	60-75	75以上	全体	60未満	60-75	75以上
1	静脈炎	2	0	1	1	0.0000 **	--------	0.1341	0.0000 **	134.2	63.1	160.3	186.1	838.5		446.1	1231.0
2	骨粗しょう症	93	5	40	47	0.0000 **	0.0009 **	0.0890 *	0.0705 *	120.0	58.6	150.5	172.9	226.0	235.5	207.5	244.8
3	歯肉の色素沈着（歯茎が黒い）	130	47	48	33	0.0000 **	0.0011 **	0.9589	0.0002 **	124.8	47.6	161.3	165.8	186.9	112.1	162.9	338.3
4	高血圧	238	33	95	107	0.0000 **	0.6540	0.0834 *	0.5416	109.9	61.4	140.3	178.7	176.7	71.6	186.4	200.7
5	白内障	181	3	67	109	0.0000 **	△ 0.5301	0.3271	0.9886	115.2	63.8	152.6	191.6	185.6	20.1	180.4	192.2
6	眼瞼腺からのチーズ状分泌物	98	23	41	32	0.0000 **	0.5763	0.0278 **	0.0079 **	122.4	61.4	147.1	170.2	208.3	76.2	220.0	290.8
7	頭痛	255	73	98	81	0.0001 **	0.8424	0.0424 **	0.0030 **	109.6	61.8	135.9	144.0	172.2	65.3	189.8	247.4
8	結膜の色素沈着	37	8	14	15	0.0001 **	0.0495 **	0.6103	0.0014 **	128.8	59.7	159.8	175.1	253.7	144.1	186.7	374.6
9	高脂血症	110	26	54	30	0.0001 **	0.0392 **	0.1721	0.0094 **	122.3	56.2	150.8	171.5	199.5	108.0	192.0	292.4
10	爪の変形	255	71	97	84	0.0003 **	0.0351 **	0.2142	0.0684 *	112.3	49.6	146.0	161.6	169.0	86.9	179.1	225.6
11	紫斑（内出血）	79	11	35	31	0.0004 **	0.0808 *	0.2357	0.0763 *	125.7	59.5	154.5	177.6	207.7	124.1	196.4	259.5
12	*膵臓の病気	1	1	0	0	0.0004 **	0.0000 **	--------	--------	135.4	59.3	161.7	192.0	812.6	812.6		
13	もの忘れ	205	37	78	87	0.0006 **	0.0001 **	△ 0.8429	0.4638	117.1	47.1	163.7	179.3	173.6	131.8	158.3	205.1
14	粉瘤（皮膚のふくろ）	129	35	57	36	0.0011 **	△ 0.4907	0.0114 **	0.0499 **	123.1	65.8	140.9	174.6	185.2	50.5	215.6	260.1
15	動脈硬化	37	1	11	24	0.0017 **	△ 0.7023	0.1243	0.4720	130.2	63.3	156.8	186.9	232.0	17.5	247.5	224.0
16	強皮症	3	0	1	2	0.0019 **	--------	0.9360	0.0074 **	134.8	63.1	161.6	187.0	478.5	0.0	177.0	629.2
17	シェーグレン症候群	3	1	1	1	0.0020 **	0.9491	△ 0.8670	0.0000 **	134.8	63.1	161.8	186.1	477.2	70.7	129.8	1231.0
18	眼脂過多（めやに）	290	80	118	88	0.0050 **	0.0114 **	0.4732	0.4378	115.2	45.3	150.5	178.4	159.1	89.0	169.9	205.7
19	膵臓がん	1	0	1	0	0.0054 **	--------	0.0072 **	--------	135.6	63.1	159.2	192.0	668.5		668.5	
20	*アレルギー疾患	2	1	0	1	0.0056 **	0.0019 **	--------	0.0864 *	135.3	61.2	161.7	189.7	510.7	429.6		591.8
21	大腸がん	13	0	10	3	0.0073 **	--------	0.3188	△ 0.6052	136.1	63.1	160.9	193.1	200.1		223.3	122.6
22	糖尿病	72	7	29	35	0.0078 **	0.0223 **	0.0875 *	△ 0.8013	128.8	59.4	152.4	194.2	192.8	164.0	217.6	183.0
23	心肥大	48	6	21	20	0.0079 **	0.0015 **	0.3736	0.5137	130.4	58.3	157.7	187.9	206.9	213.7	196.7	224.2
24	骨の変形	94	14	38	40	0.0080 **	0.0072 **	△ 0.8559	0.2997	127.5	56.8	162.8	182.1	184.5	145.2	156.6	225.8
25	メニエール病	59	11	25	22	0.0104 **	0.0024 **	0.5319	0.5234	129.9	56.9	158.6	187.7	197.1	168.1	184.0	221.8
26	緑内障	31	0	15	16	0.0106 **	--------	0.0003 **	△ 0.2057	131.8	63.1	148.4	199.0	222.0		329.5	121.3
27	*脳精神神経	6	3	2	1	0.0126 **	0.0008 **	△ 0.6826	0.0022 **	134.5	59.6	162.2	187.9	330.4	289.7	106.8	899.9
28	脳梗塞	35	4	14	17	0.0153 **	0.5149	0.0017 **	△ 0.4946	131.8	62.3	150.5	195.9	212.6	101.7	314.3	155.0
29	風邪が治りにくい	183	53	81	45	0.0166 **	0.0233 **	0.0997 *	0.6234	124.0	51.4	144.0	186.9	164.8	94.8	188.7	206.8
30	不眠	173	40	68	62	0.0184 **	0.2189	0.8097	0.3971	124.7	57.8	159.4	181.0	165.4	83.8	166.2	212.3
31	胃癌	1	0	0	1	0.0256 **	--------	--------	0.1111	135.8	63.1	161.7	189.9	563.6			563.6
32	神経痛	134	24	45	64	0.0309 **	0.5774	0.7626	0.8337	127.4	61.3	159.5	189.2	168.0	75.9	169.3	196.9
33	手足のしびれ	394	107	159	123	0.0364 **	0.0291 **	△ 0.5064	0.6434	112.4	42.8	177.2	179.6	148.7	80.0	156.1	197.4
34	鼻血が止まりにくい	17	7	8	2	△ 0.0394 **	△ 0.2829	△ 0.1230	△ 0.4391	139.3	64.9	165.8	193.4	42.1	15.5	59.9	64.4
35	動悸	158	38	65	52	0.0423 **	0.0193 **	0.6048	0.9105	127.0	53.4	157.0	190.7	163.0	103.6	171.8	195.0
36	認知症	23	2	3	17	0.0431 **	△ 0.7517	0.3845	0.3703	133.3	63.4	160.2	186.8	215.7	36.5	256.7	240.4
37	多汗症	115	23	56	33	0.0442 **	0.1838	0.3000	△ 0.8665	128.8	59.0	153.2	193.4	168.8	94.2	184.2	185.8
38	近視	141	74	40	26	△ 0.0454 **	△ 0.3199	△ 0.9994	△ 0.6384	145.2	69.7	161.7	195.4	108.3	52.2	161.6	172.0
39	十二指腸潰瘍	60	14	31	13	△ 0.0508 *	△ 0.2839	△ 0.0251 **	△ 0.6601	141.6	65.6	174.2	194.2	90.7	30.1	91.4	164.4
40	悪性リンパ腫（扁桃部）	1	0	1	0	0.0518 *	--------	0.0671 *	--------	135.9	63.1	160.0	192.0	508.9		508.9	

**P<0.05、*P<0.10、△症状なしの方が PeCDF 濃度が高い。

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金

分担研究報告書

ダイオキシンと胃悪性リンパ腫の関係

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、および胃悪性リンパ腫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、胃悪性リンパ腫患者における *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悪性腫瘍のリスクであることが示されている．一方、我々の診療科では、胃悪性リンパ腫症例が増加しつつあり、なかでも組織学的に低悪性度 B-cell lymphpoma of mucosa-associated lymphoid tissue type (MALT リンパ腫) が高率である．今回、胃悪性リンパ腫に着目し、ダイオキシンと胃悪性リンパ腫の関係、および胃 MALT リンパ腫の最も重要な環境要因である *Helicobacter pylori*（以下 *H. pylori*）感染の観点から現状の文献的データについて分析した．

Ｂ．研究方法

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、胃悪性リンパ腫、*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・治療する胃悪性リンパ腫症例を対象に、*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）従来より、ダイオキシン、あるいは PCB 暴露により血液・リンパ組織系腫瘍の危険率が上昇する可能性が示されてきた．一方、ダイオキシン、PBC、PCDF はいずれも TLC とそれに続くサイトカインを介したシグナル伝達を抑制し、B リンパ球の活性化や形質細胞への分化を抑制することが明らかとなっている．逆に、B 細胞性リンパ腫細胞においてはダイオキシン受容体遺伝子のプロモーター領域がメチル化を受け、蛋白発現低下する．

最近の疫学研究のなかでは、欧州のダイオキシン暴露者において B 細胞性非ホジキン悪性リンパ腫のリスク上昇が示され、さらに Baccarelli らは、ダイオキシン暴露例の末梢血 B 細胞において、t(14:18) の染色体転座が高率に誘導されていることを報告している．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線検査で胃悪性リンパ腫と診断されたものはなかった．

３）胃病変を認め，生検組織で胃悪性リ

ンパ腫と診断された非ダイオキシン暴露例を対象とし、病変内から蛋白および 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.一方,胃悪性リンパ腫のなかでも低悪性度のMALTリンパ腫は*H.pylori*感染によって惹起される MALT を母地として発生し、一部はびまん性大細胞性悪性リンパ腫などの高悪性度へ形質転化する．すなわち、*H.pylori* 感染は胃悪性リンパ腫の原因の一つであるが､本菌の感染者における悪性リンパ腫の発生率は極めて低いのが事実である. 以上のことから､胃悪性リンパ腫の発生においては他の環境要因が存在すると推測される.

今回集積された疫学的データと実験結果のなかでも､特にダイオキシン類が染色体転座を惹起する事実は極めて重要と思われる.染色体転座はリンパ系細胞の腫瘍化の第一段階であり、*H.pylori* 感染によるリンパ濾胞にダイオキシンが作用することで､胃悪性リンパ腫が発生する可能性が強く示唆される.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 年度は胃悪性リンパ腫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悪性リンパ腫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

油症患者の自覚症状と他覚的神経障害の変化の検討

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

研究要旨　目的：我々のこれまでの報告で、①経過 33 年後の油症認定患者・非認定対象における自覚的末梢感覚異常は油症認定患者の 6 割、非認定患者の 5 割に認められ、対象群の 1 割弱に比べ圧倒的に多かった。他覚的感覚異常は自覚的感覚異常の出現率より低かった。②自覚的感覚異常、他覚的感覚異常、アキレス腱反射低下を発症時と 33 年後で比較すると、自覚的感覚異常は発症時には 4 割であったものが 6 割と増加した。一方で他覚的感覚異常は発症時 2 割強であったものが 1 割 7 分弱と大きな変化はなく、アキレス腱反射の低下を認める人数は発症時 3 割 5 分であったものが 33 年後には 1 割 8 分弱と、正常対照と同等になっていた。という結果を得ている。自覚的感覚異常が多く、また増加傾向にあることに関しては小径神経線維や大脳での感覚認知障害が起因しているのではないかと仮定し、今回は Phase locking 法という新しい解析法を用いて大脳感覚関連皮質の連関の抽出を試みた。**方法：**初期の多発性硬化症の患者さんと健常コントロールに対して正中神経を刺激し、全頭型脳磁計で記録。100～120 回の反応を記録し 1 次感覚野および 2 次感覚野の反応を抽出。刺激毎のγ域（30～40 Hz）の反応に対し Phase locking value(PLV) を算出しコントロールと比較した。**結果：**刺激対側 1 次感覚野と対側 2 次感覚野の PLV 解析では、コントロールの場合、刺激後 20～50 ms において 50～70 Hz、20～100 ms において 30～40 Hz の領域で PLV の増大が記録されるのに対し、患者ではこの増大がみられなかった。**結論：**微細な皮質障害をもつ疾患とコントロールで反応差を生じることを検出できた。今後は、客観的な大脳認知機能を解析できる今回のような手法に加え、神経心理検査やアンケート調査など認知機能障害を簡便に抽出できる方法の開発が必要であると思われた。

A．研究目的

我々のこれまでの報告では、経過 33 年後の油症認定患者・非認定対象における自覚的末梢感覚異常は油症認定患者の 59.4%、非認定患者の 49.3% に認め、対象群の 8.0% に比べ圧倒的に多かった。他覚的感覚異常は認定患者で 16.7%、非認定患者で 7.2%、対象群で 4.4%存在し、いずれも自覚的感覚異常の出現率より低く特に非認定患者で低かった[1-5]。また、自覚症状、他覚的感覚神経異常、アキレス腱反射低下を経時的変化という点からみると、四肢遠位部の自覚的感覚異常は発症時には 39.1 %であったものが、11 年後には 46.2 %、33 年後には 59.4 %と増加した一方で、他覚的感覚異常は発症時 21.7%であったものが 11 年後にはいったん 7.7%にまで減少し、33 年後には 16.7%と再び増加した。アキレス腱反射の低下を認める人数は発症時 34.8%、11 年後 34.6%、33 年後 17.4%と経時的に減少し、2002 年に集計された正常対照でのアキレス腱反射低下 14.6 %に近くなっていた[1-5]。感覚認知が認知されるまでには多種の皮膚受容器，腱受容器，小径から大径の末梢神経線維，

脊髄の知覚伝導路，視床から大脳皮質１次感覚野および２次感覚野と，様々な伝導・認知機構が関係している．末梢神経の電気刺激による神経伝導速度検査や、感覚誘発電位検査では末梢神経中の大径神経線維の伝導や、脊髄の後索の伝導を評価するのに有用であるが、痛みやしびれ感など小径線維末梢神経障害に起因する感覚障害を検出するのは困難であった。これに対して我々は小径線維末梢神経障害を検出する方法として電気生理学的手法では電流知覚閾値測定や温度閾値テスト、病理学手的手法として皮膚パッチ生検を対神経抗体（protein-gene-productor 9.5 抗体）で免疫染色して無随 C 線維を定量する方法などを提示してきた[6]。痛みやしびれに対する主観的感覚認知と客観的評価の乖離は感覚認知の変化から生じている可能性がある。この乖離を埋め、高次脳機能の変化として経時的に感覚認知障害を評価する方法として、今回我々は全頭型脳磁計を用いて複数の皮質反応を同時記録し、Phase locking 法を用いて解析を行った。Phase locking 法は一般の誘発電位記録が反応の加算平均を記録するのに対して、刺激毎の各皮質の反応相の連関を抽出することにより、加算平均では相殺しあって消えてしまう皮質の連関を抽出できる新しい解析方法である[7,8]。

Ｂ．研究方法

皮質に軽度の障害があると想定されている初期の多発性硬化症の患者さんと健常コントロールに対して、各左右の正中神経を最小運動閾値で電気刺激。刺激は刺激幅 0.2ms の矩形波、刺激間隔 2.5 秒～3.5 秒。全頭型脳磁計（Vectorview, ELEKTA, Neuromag, Helsinki）で記録。サンプリングレートは 5 KHz。被検者は検査中ベッドに仰臥して開眼状態で眠らず覚醒度を一定に保つように指示される。100～120 回の反応を記録し１次感覚野および２次感覚野の反応を抽出。刺激毎のγ域（30～40 Hz）の反応に対し Phase locking value(PLV) を算出しコントロールと比較した。

（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

刺激対側に１次感覚野の反応と刺激対側および同側に２次感覚野の反応が記録された（図１）。患者とコントロールでは２次感覚野の潜時に差は見られなかった。刺激対側１次感覚野と対側２次感覚野の PLV 解析では、コントロールの場合刺激後 20～50 ms において 50～70 Hz、20～100 ms において 30～40 Hz 領域で PLV の増大が記録されるのに対し、患者ではこの増大がみられなかった（図２）。

Ｄ．考察

急性薬物中毒では急性期を過ぎた後，徐々に神経障害が改善してくることが多い[9]。我々が以前の報告で示したように[5]、PCB（polychlorinated biphenyl）あるいは PCDF（polychlorinated dibenzofuran）ヘヒトが暴露することによって生じた末梢神経障害は、一旦出現した後に徐々に改善するという報告がある。一方暴露後 8 年経ても進行するという報告もあった[10]。また、PCB, PCDF, dioxin による末梢神経障害は感覚神経障害が主であるが、神経伝導速度検査まで行っている報告は少なく[11-15]、障害の程度の判断は対象の主観によるものが主であった。診察者間で差を生じる可能性がある他覚的感覚検査にくらべてアキレス腱反射検査は手技的なばらつきが少なく結果の出る検査である点、末梢神経障害は腱反射を構成する Ia, Ib, α運動神経においては急性時よりも改善している可能性があ

った。これに対して自覚的感覚異常は経年的に増加しており、腱反射を構成する太い神経線維以外の神経、もっと小径の神経線維の障害が改善していない可能性や、痛みやしびれを認知する大脳皮質機能の障害の可能性が考えられた。今回、脳磁界計測と Phase locking 解析法を用いて、微小な皮質障害を抽出することが可能であることが示唆されたが、点字のように詳細な形態をした触覚刺激で刺激すれば、正中神経電気刺激による反応よりもより詳細な大脳皮質知覚認知機能を客観的に評価できると考えられた。

一方、大脳皮質認知機能を簡便に経時的に評価するためには一般的に行われている脳波や認知機能バッテリーを使用すればコントロールとの比較を取りやすい。我々は認知症の評価バッテリーとして長谷川式認知機能検査、ミニメンタルテスト、三宅式記銘力検査、レーブン色彩マトリクス検査、脳血流検査、脳 MRI 検査、脳波検査を行っている。ただしこれらの検査をすべて行うと多大な時間を要することもあり、スクリーニングとしてアンケート形式の質問表を用いている。本人用、家族用に加え、現在本人用と家族用をあわせた簡易アンケートを準備しつつある（図３，４，５）。アンケートは主観的なものであり、客観的な評価を求める場合は、今回用いた電気生理学的手法や神経放射線画像、神経心理検査を含む神経診察と合わせて評価していくことが望ましいと思われる。

E．結論

今回、脳磁図と Phase locking 解析法を用いて、微細な皮質機能障害をもつと想定される疾患でコントロールとの差を検出することができた。今後、今回用いた正中神経電気刺激よりも触覚刺激で刺激すれば、より詳細な大脳皮質知覚認知機能を客観的に評価できると考えられた。また認知機能障害の評価として、今回用いた電気生理学的手法以外にも神経放射線画像、神経心理検査を含む神経診察と合わせて評価していくことが望ましいと思われた。

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) 重藤ら：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 19 年度総括・分担研究報告書, 2008
6) 栄ら：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, 2010
7) Lachaux JP, et al: Hum. Brain Mapp 8: 194-208, 1999
8) Hagiwara K, et al: Neuroimage 51: 412-420, 2010
9) Kim JS, Ind Health 41: 149-157, 2003
10) Chia LG, et al: J Neurol Neurosurg Psychiatry 48: 894-901, 1985
11) Michalek JE, et al: Neurotoxicology 22: 479-490, 2001
12) Thömke F, et al: Acta Neurol Scand 100: 1-5, 1999
13) Barbieri S, et al: Neuroepidemiology 7: 29-37, 1988
14) Chia LG, et al: J Neurol Neurosurg Psychiatry 48: 894-901, 1985
15) Murai Y, et al: Neurology 21: 1173-1176, 1971

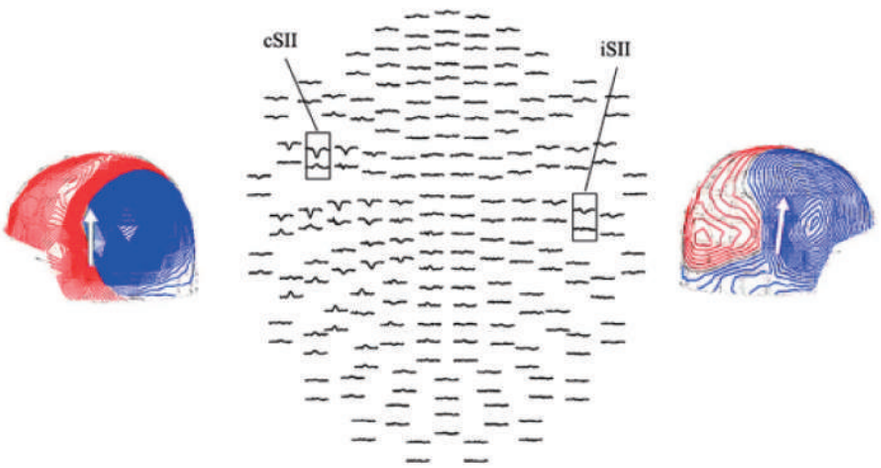
G．研究発表

なし

H．知的所有権の取得状況

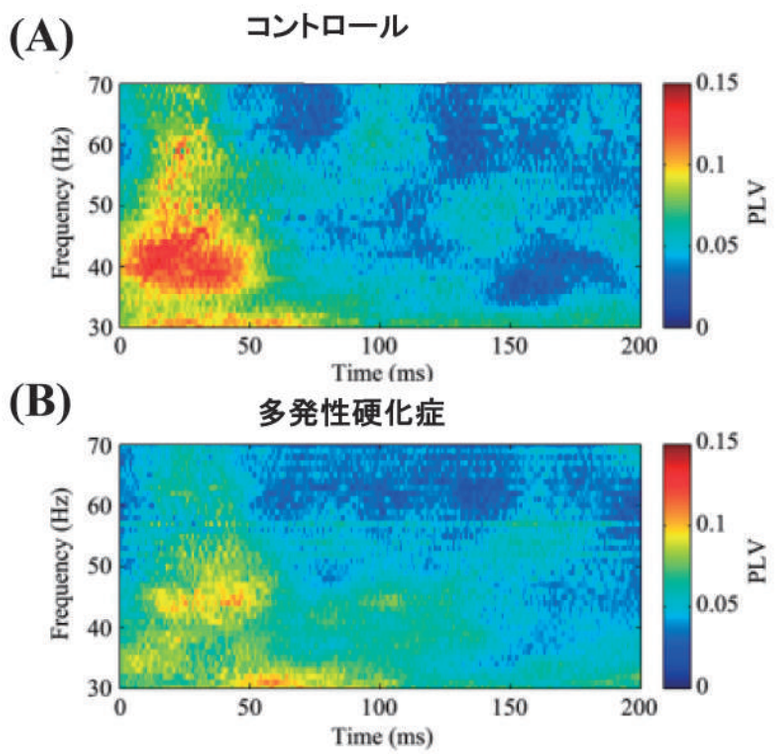
なし

図１　右正中神経刺激時の脳磁界反応



左が刺激対側の２次感覚野(cSII)、右が同側の２次感覚野の反応(iSII)。矢印は推定電流源の位置と方向を示す。

図２　コントロールと多発性硬化症患者での Phase locking valueの比較



横軸：反応時間（ms)。
縦軸：Phase locking value；値が大きいほど反応相の一致度が高い。

図３　九州大学病院もの忘れ外来問診票（本人用）

氏名＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿住所＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

各問に対し、はい、いいえのどちらかで答えてください。わからないところは何もつけないで結構です。

１．

（１） 最近、物の置き場所をよく忘れる

（２） 知っている人の名前をしばしば思い出せない

（３） 大切なものをなくしたことがある

（４） 大事な約束を忘れたことがある

（５） あった出来事をすっかり忘れていたことがある

（６） 買い物で、同じものを買ってしまったこと何度もある

（７） 字を書く時に、字が思い出せないことがよくある

２

（１） 新しい電化製品の使い方が覚えられない

（２） 新しく知り合いになった人の名前を覚えられない

３

（１） 仕事や家事がうまく出来なくなった

（２） 計算力が落ちた

（３） 文章や字がうまく書けないようになっている

（４） 話す時に、言葉が思い浮かばず、「あの」とか「あれ」といった言葉が増えてきた

（５） １人で旅行や遠くに行くことが出来ない

４

（１） ぼんやりすることが多くなった

（２） やる気が出ない

（３） ゆううつだ

（４） イライラしやすくなった

５

（１） 夜あまり眠れなくなっている

（２） 昼間うとうとすることが多い

（３） 食欲がない、食事が美味しく感じられない

（４） やせてきている

（５） 性欲がない

（６） 外出する気にならない

（７） 趣味や好きなことをやめた

図４　九州大学病院もの忘れ外来問診票（家族用）

患者さんの氏名＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿あなたの氏名＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿
続柄＿＿＿＿＿＿＿＿　　同居（している、していない）

下記の各事項について、患者さんに当てはまるかどうかをお聞きします
はい、いいえ、わからない、のいずれかで答えてください。

1
（1）　先刻あったこともすっかり忘れることがある
（2）　しばらく前にあった出来事をすっかり忘れる
（3）　同じ事を何度も言ったり、尋ねたりする
（4）　大事な物を何度かなくした
（5）　よく何か探しものをしている
（6）　火の消し忘れや戸締り忘れなどが多い
（7）　大事な約束や伝言も忘れてしまう
（8）　久しぶりにあった人の名前を全く覚えていない
（9）　言葉が思い浮かばず、あれ、これと言いよどむ
2
（1）　日付や曜日がわからない
（2）　季節にあわない服装をする
3
（1）　知らない場所や旅行先で迷子になったことがある
（2）　近所でも迷子になることがある
（3）　家の中でも場所が判らなくなることがある
4
（1）　家族を別の家族の名前で呼ぶことがある
（2）　家族を他人のように勘違いすることがある
5
（1）　今まで出来ていた家事や仕事ができない
（2）　１人では必要な買い物ができない
（3）　計算ができない
（4）　テレビや新聞などの内容が判らないことがある
（5）　適切な服を選ぶことができない
（6）　自分で着脱衣することができない
（7）　字を書けなくなっている

6
（１） 性格や行動パターンが変わってきた
（２） 最近元気がなく、ぼんやりしていることが多い
（３） 何事にも無関心になってきた
（４） 無精、不潔になってきた
（５） 怒りっぽくなった
（６） 疑い深くなった
7
その他、特に気になることの詳細をお書きください

図５　認知症早期発見のめやす

□ 少し前のことが思い出せない
□ 同じ事を何度も言う・問う・する
□ 大切な物をなくしたり、置き忘れたりする
□ 物の名前が出にくく「あれ」「これ」と言うことが多い
□ 料理、片付け、運転などの失敗が多くなった
□ 簡単な計算を間違えたり、小銭の計算ができなくなった
□ 前に買ったことを忘れ、同じ物を何個も重ねて買ってくることがある
□ 月・日・曜日が判らない
□ 慣れているところで道に迷う
□ イライラ・不安・落ち込みなど、情緒が不安定になった
□ 昼間ウトウトすることが増え、睡眠リズムが不規則になった
□ 身だしなみを気にしなくなった
□ 人との交流が減り、外出をおっくうがるようになった
□ 今まで好きだったことへの興味・関心が薄くなった
□ 物を盗られたなどと、被害的になることがある
□ 実際にはない物や人がいると言うことがある

＊チェック数が多くご心配な場合はご相談ください

分担研究報告書

ダイオキシンの末梢神経および脊髄神経に及ぼす作用に関する研究

研究分担者　　吉村　惠　　熊本保健科学大学大学院保健科学研究科　教授

研究要旨　末梢神経細胞体から細胞内記録を行い、末梢電気刺激によって誘起された活動電位に対して、ダイオキシンの慢性投与はその伝導速度を変化させることが明らかになった。

A. 研究目的

油症患者には手足のしびれや多発神経炎、自律神経失調症などの末梢神経障害および中枢神経障害が多く報告されているが、その発生機序については未だ明らかではない。そこで、ラットにダイオキシンを経口投与し、1週間後に後根神経節細胞から記録を行い、末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれらと比較検討することによってダイオキシンの末梢神経に対する作用を検討した。

B. 研究方法

成熟ラットにダイオキシン 30 mg/Kg を経口投与し、一週間後にウレタン痲酔下に後根神経節に末梢神経を付した標本を作製した。後根神経節を覆う結合組織を注意深く除去し、記録用チェンバーに設置したシルガードに微細なピンで固定した。末梢神経を刺激用の吸引電極に設置した後、記録用チェンバーを加温した Krebs 液で持続的に灌流した。微小ガラス電極を用いて神経節細胞から細胞内記録を行い、静止膜電位や末梢神経刺激によって誘起される活動電位の振幅と伝導速度を調べ、正常ラットから得られたものと比較検討した。神経節細胞は A-beta, A-delta および C ニューロンを含むため、各々のニューロンから記録を行い正常ニューロンとの相違を観察した。尚、今年度は A-beta と A-delta ニューロンを主にして解析を行った。

全身痲酔下にラットの後根神経節を取り出し、その後、過量のウレタンを腹腔内に追加投与して死に至らしめるため痛みなどの侵襲は殆ど無い。

C. 研究結果

後根神経節に存在する２種類の細胞から細胞内記録を行い、静止膜電位、入力抵抗、自発性活動電位を記録した。次いで、末梢神経線維刺激によって誘起される活動電位の振幅、および刺激からの潜時と刺激部位からの距離を指標にして伝導速度を計算した。先ず正常ラット後根神経節細胞から記録を行い、活動電位の振幅およびそれぞれの線維の伝導速度を調べた。A-beta 線維は活動電位が 71 ± 4 mV でその伝導速度は 20.6 ± 1.1 m/s であった。また、A-delta 線維はそれぞれ 75 ± 4 mV,

8.8 ± 0.8 m/s であった。C 線維の活動電位および伝導速度は細胞が微小なため安定した記録が困難で、十分な数の細胞からデータが得られていない。今後、記録電極をより細いものにすることによって安定した記録が可能になるものと考えられた。

次いで、ダイオキシンを経口投与したラットから摘出した後根神経節細胞を用いて同様の実験を行った。その結果、活動電位の振幅には若干の差が見られるものの有意ではなかった。次に伝導速度を計測した。A-beta 線維ではその伝導速度は 17.3 ± 3.1 m/s で有意にコントロールラットより遅かった。また、A-delta 線維では 7.9 ± 4.1 m/s で遅い傾向はあったが有意ではなかった。これらのパラメータ以外では、静止膜電位、活動電位の幅などは有意差が見られなかった。今後、記録細胞の数を増やしてより詳細に検討したい。また、C 線維において如何なる変化が見られるかを明らかにしていきたい。

D. 考察

ダイオキシン投与ラット後根神経節の A-beta 細胞では伝導速度が有意に遅い結果を得たが、A-delta 線維では緩徐化傾向はあったが有意差は見られなかった。記録を行った細胞数が未だ少ないため結論を出すには細胞数を増やし、有意差があるか検討する必要があると考える。また、C 線維からの記録は細胞数が少ないため今後細胞数を増やして詳細に検討したい。いずれにしても A-beta 細胞での伝導速度の緩徐化は、末梢のしびれ感の原因となっている可能性は否定出来ない。今後 A-delta および C 線維についてデータが得ることが必要である。

E. 結論

正常ラットとダイオキシン投与ラットの後根神経節細胞から記録を行い、A-beta 線維の伝導速度が有意に緩徐化していることを見いだした。その他の静止膜電位、活動電位の振幅およびその幅などには有意な差を見いだすことは出来なかった。伝導速度の変化がしびれなどの感覚異常に関与している可能性が示唆された。

F. 研究発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

分担研究報告書

ダイオキシン類による気道症状を引き起こすメカニズムに関する検討

研究分担者　　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

研究要旨　マウスに Benzo(a)pyrene を経気管的に投与することにより、気道分泌物が増加するマウスモデルを作成した。ダイオキシン類による肺傷害の動物実験モデルとして有用と考えられた。

A．研究目的

油症の主な原因物質と考えられる PCDFs を投与した動物実験モデルでは、電子顕微鏡にてクララ細胞の壊死が認められており、病変の主座はクララ細胞を中心とした細気管支領域と考えられている。クララ細胞は Aryl hydrocarbon receptor (AhR)を発現しており、それを介してダイオキシン類が肺傷害を引き起こすと考えられるが不明な点も多い。当科では、そのメカニズムを解明するために、まずは動物実験モデルの作成を目指して研究を進めてきた。これまでマウスに TCDD を経口あるいは経腹腔内に投与することで検討を繰り返してきたが、気管支肺胞洗浄(BAL)液の解析、肺組織の免疫組織学的解析では、一部の肺胞上皮細胞に SP-D 発現の亢進を認めるのみで、蛋白レベルで解析可能な十分な動物実験モデルの作成ができたとはいえなかった。

ダイオキシン類は、消化管、皮膚、肺から吸収されることが知られている。そこで今回我々は、経気管的にダイオキシン類を直接肺に投与することにより、肺傷害の動物実験モデルの確立と肺傷害のメカニズム解明を目指すことを目的とした。

B．研究方法

Benzo(a)pyren (BaP)をマウスに経気管的に投与し、組織、BAL 液の解析を行った。

具体的には、C57BL/6 マウス雄、8 週齢に、Tricaprylin で溶解した BaP を 1 匹あたり 400μg、50μl、3 日間連続で経気管的に投与した[1)2)]。対照群には Tricaprylin を 50μl 投与した。最終投与の 24 時間後に BAL を施行し、また肺を取り出し、HE 染色、Alcian blue-PAS (AB-PAS)染色、CYP1A1、CC10、 SP-D による免疫染色を施行した。

（倫理面への配慮）

九州大学動物実験実施規則に従って実験を行った。

C．研究結果

BaP 投与群では、対照群と比較して、BAL 液中の好中球数は増加傾向にあった(図 1a)。BAL 液中の蛋白濃度は有意に上昇していた(図 1 b)。また組織学的には、HE 染色では明らかな差を認めなかったが(図 2)、AB-PAS 染色にて、BaP 投与群では中枢側気管支の気道上皮細胞に多数の陽性細胞を認め(図 3)、気道分泌物が増加していると考えられた。免疫染色では CYP1A1 陽性細胞は、対照群では主にクララ細胞を中心とした細気管支上皮に認められたが(図 4a)、BaP 投与群では、クララ細胞のみならず、肺胞上皮細胞にも強く認められた(図 4b)。CC10 陽性細胞はクララ細胞に認められたが、対照群と BaP 投与群とに明らかな差を認めなかった(図 5)。SP-D 陽性細胞はクララ細胞に認められたが、BaP 投与群ではそれに加えてⅡ型肺胞上皮細胞にも強く認められた(図 6)。

Ｄ．考察

今回我々は、マウスに BaP を経気管的に投与することにより AB-PAS 染色陽性の気道上皮細胞の増加を認めた。これらはムチン類の増加、即ち気道分泌物の増加を表していると考えられる[3]。油症患者に喀痰の増加が認められる点からも、このモデルは動物実験モデルとして有用と思われる。また、BAL 液中の蛋白濃度の増加を認めたことと、肺胞上皮細胞で CYP1A1 や SP-D の発現が亢進していたことは、肺傷害のメカニズムを解明する点から重要な知見と考えられ、こちらに関しても解析を進めていく予定である。

今回、投与するダイオキシン類を TCDD から BaP に変更した点と、投与法を経口、経腹腔内投与法から経気管投与法に変更した点とが以前と異なる。TCDD よりも BaP の方が一般に毒性は軽いと考えられており、経気管投与法に変更し肺に直接ダイオキシン類を投与した点が、より影響が強いと思われる。しかし経口投与等の方が、実際の病態には近いと考えられ、経気管投与では実際の病態とは必ずしも一致しないことに留意する必要がある。

また、近年、TCDD をマウスの腹腔内に投与し、全肺を mRNA レベルで検討すると、CYP1A1、MUC5AC の上昇や、IL-1β 等のサイトカインの上昇が認められ、かつそれらは AhR の発現を変異させたマウスでは抑制されていたという報告があった[3]。我々の結果と一致すると考えるが、気道分泌増加のメカニズムについては未だ不明な点が多く、今後 mRNA レベルでの解析も併せて施行していく予定である。

以上、我々が作成した BaP 経気管投与によるマウス肺傷害モデルは、再現性も高く、蛋白レベルでも評価可能な動物実験モデルであると考える。更に検討を加えていくと同時に、油症患者の呼吸器症状が漢方薬の麦門冬湯で改善された報告[4]を参考に、麦門冬湯の効果に関してもこの動物実験モデルを使用して検討予定である。

Ｅ．結論

マウスに Benzo(a)pyrene を経気管的に投与することによって気道分泌物が増加するマウスモデルを作成した。ダイオキシン類による肺傷害の動物実験モデルとして有用と考えられた。そのメカニズムの解明が、油症患者の咳、痰等の呼吸器症状の原因解明に役立つ可能性がある。

Ｆ．研究発表

なし

Ｇ．知的財産権の出願・登録状況

なし

Ｈ．参考文献

1) Podechard N, et al. Interleukin-8 induction by the environmental contaminant benzo(a)pyrene is aryl hydrocarbon receptor-dependent and leads to lung inflammation. Toxicol Lett. 2008;177(2):130-7

2) N'Diaye M, et al. Aryl hydrocarbon receptor-and calcium-dependent induction of the chemokine CCL1 by the environmental contaminant benzo(a)pyrene. J Biol Chem. 2006;281(29):19906-15.

3) Wong PS, et al. Arylhydrocarbon receptor activation in NCI-H441 cells and C57BL/6 mice: possible mechanisms for lung dysfunction. Am J Respir Cell Mol Biol. 2010;42(2):210-7.

4) Uchi H, et al. 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.

図 1　気管支肺胞洗浄液(BALF)

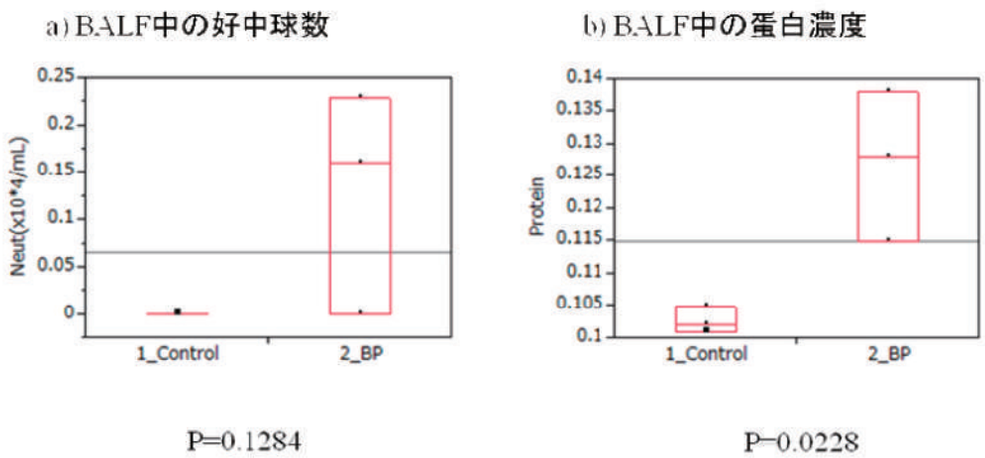


図 2　HE 染色　a) 対照群, b) Benzo(a)pyrene 投与群　(x100)

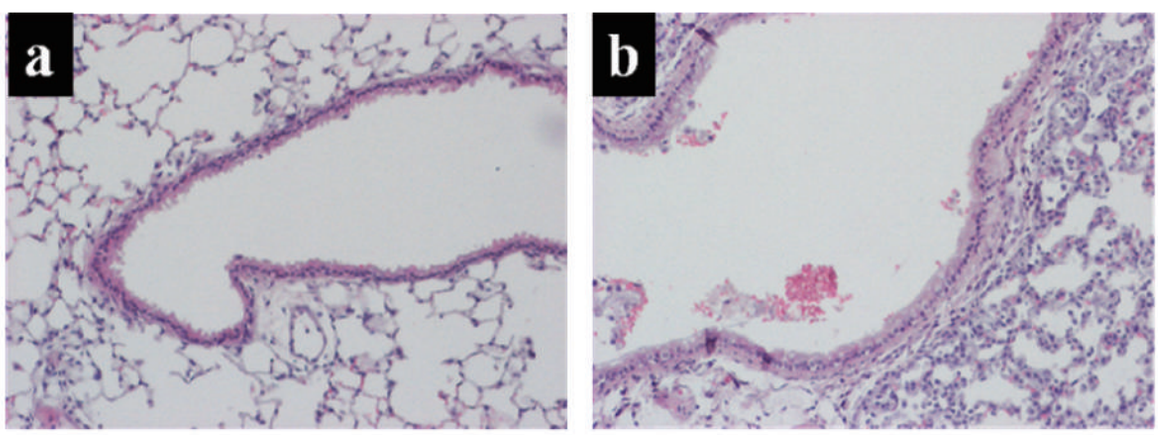


図 3　Alcian blue-PAS 染色 a) 対照群, b)Benzo(a)pyrene 投与群 (x100)

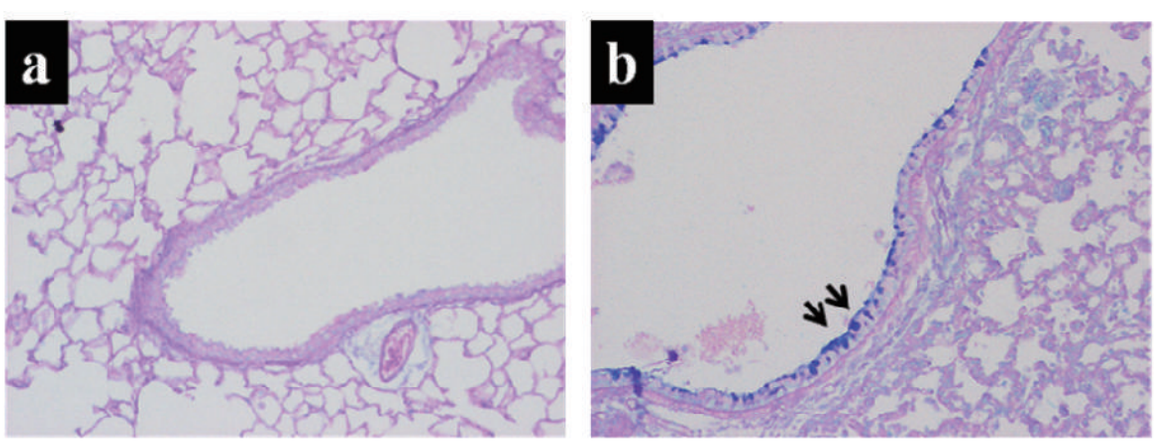


図 4　CYP1A1 免疫染色　a）対照群，b）Benzo(a)pyrene 投与群（x200）

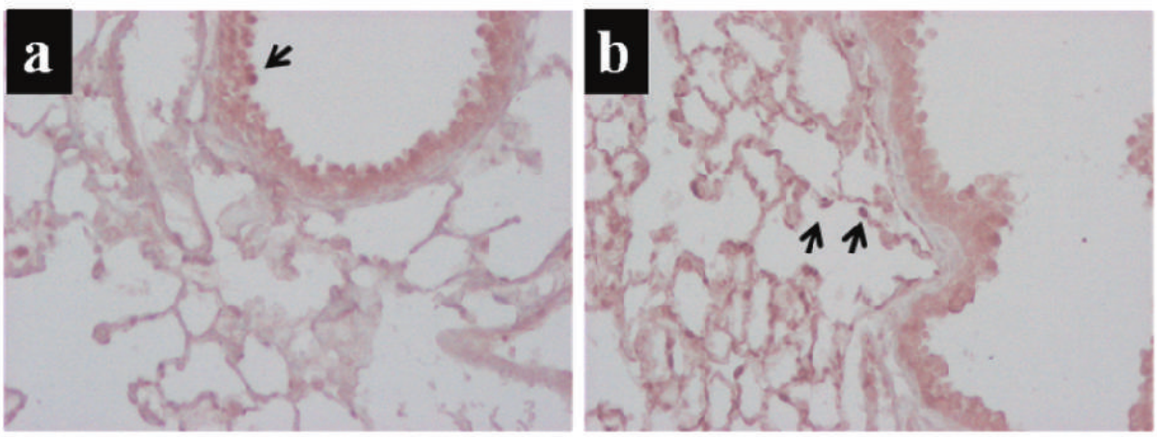


図 5　CC10 免疫染色　a）対照群，b）Benzo(a)pyrene 投与群（x100）

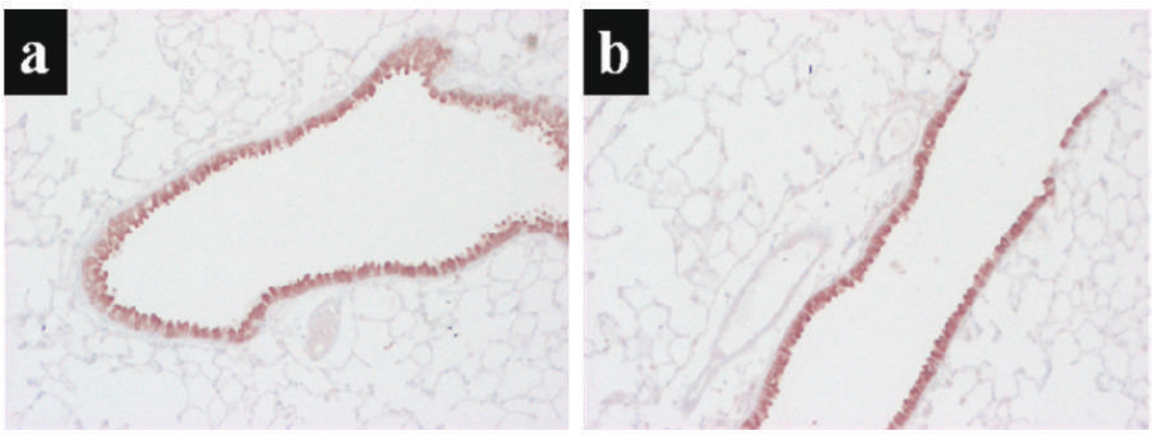
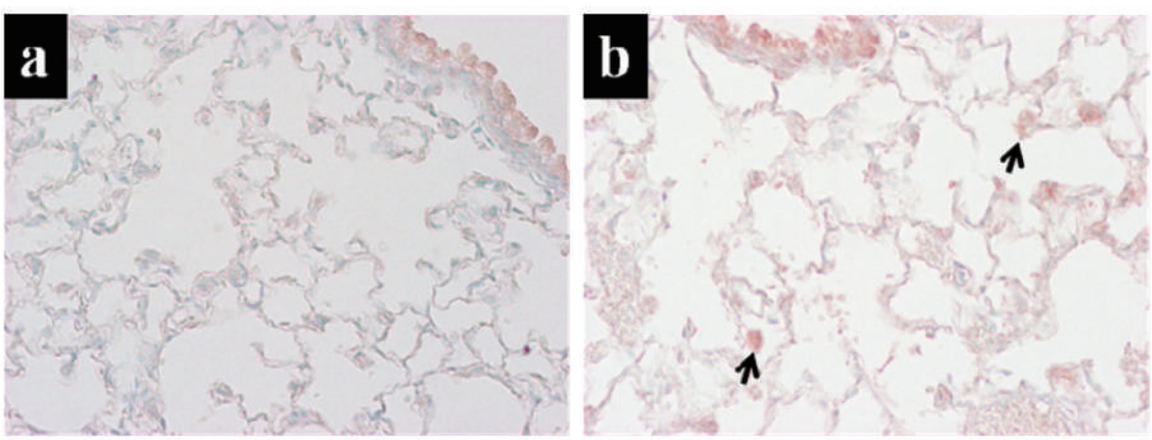


図 6　SP-D 免疫染色　a）対照群，b）Benzo(a)pyrene 投与群（x200）



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
　　安川　史子　九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教
　　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　これまでわれわれは、ダイオキシン類化合物受容体である Arylhydrocarbon Receptor（AhR）刺激によりヒト気道上皮細胞株（NCI-H_{292}）からムチン産生が増強することを報告した。そこで、AhR 刺激によるムチン産生のシグナル経路について検討した。AhR 刺激による（NCI-H_{292}）からの活性酸素産生を測定したところ、その産生が増強され、活性酸素中和剤により、ムチン産生が抑制された。以上より、ダイオキシン類化合物による AhR 活性化は、気道上皮細胞からの活性酸素産生を促進し、気道粘液産生を増強させることにより、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、呼吸器系にも様々な作用を及ぼすことが報告されている。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。

実際、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に類似した症状があらわれることが知られている[1)]が、これら喫煙や油症により体内へ取り込まれたダイオキシン類化合物の呼吸器症状（咳・痰）への関与については不明な点が多い。これまで、我々はダイオキシン類化合物受容体である Arylhydrocarbon Receptor（AhR）刺激によりヒト気道上皮細胞株（NCI-H_{292}）からムチン産生が増強することを報告した。

本研究の目的は、ダイオキシン類化合物刺激による気道上皮細胞からのムチン産生のシグナル経路について検討する。

B．研究方法

気道上皮細胞からのムチン産生に関与する因子としてサイトカイン、活性酸素、上皮成長因子受容体（EGFR）の関与について解析した。

１、気道上皮細胞株（NCI-H_{292}）からのサイトカイン産生

NCI-H_{292} を AhR アゴニスト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サイトカインアレイ（ELISA）法で測定した。

２、気道上皮細胞株（NCI-H_{292}）からの活性酸素産生

NCI-H_{292} を AhR アゴニストであるベンゾピレン（BaP）で 12 時間刺激し、その後活性酸素発現を蛍光染色法にて解析を行った。

３、ムチン産生における EGFR の関与

NCI-H_{292} を EGFR 拮抗薬にて前処理した後に、AhR アゴニストであるベンゾピレン

（BaP）で 24 時間刺激し、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。

４、NAC（抗酸化剤）を用いたムチン産生の検討

NCI-H_{292} を NAC にて前処理した後に、AhR アゴニストであるベンゾピレン（BaP）で 24 時間刺激し、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。

５、siRNA（低分子干渉 RNA）を用いたムチン産生の検討

siRNA 法を用い、NCI-H_{292} 細胞の AhR をノックダウンし活性酸素産生・ムチン産生が抑制されるか検討を行った。

（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-H_{292})を AhR アゴニスト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産生を測定した。ムチン産生に関与する可能性のある IL-4、IL-13、TNF-・、TGF-a、EGF を測定したが、いずれも産生増強は認められなかった。

２、AhR アゴニストであるベンゾピレン（BaP）で 12 時間刺激により NCI-H_{292} から活性酸素産生を認めた（図１）。

３、EGFR リン酸化阻害剤前処理を行った後、AhR アゴニストであるベンゾピレン（BaP）24 時間刺激を行ったが、MUC5AC mRNA の発現増強およびムチン（PAS 染色）の産生を抑制できなかった。

４、NCI-H_{292} を抗酸化剤である NAC にて前処理することにより AhR アゴニストであるベンゾピレン（BaP）による MUC5AC mRNA の発現増強およびムチン（PAS 染色）の産生を抑制した（図２）。

５、siRNA 法を用い、AhR ノックダウン細胞を作製した。AhR ノックダウン NCI-H_{292} 細胞を AhR アゴニストであるベンゾピレン（BaP）で刺激すると、コントロール細胞（通常 NCI-H_{292}）と比較し、ムチン産生および活性酸素産生が減弱した（図３）。

Ｄ．考察

これまで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)]。さらに近年、これらダイオキシン化合物によるムチン産生は、AhR を介して産生されることが報告され[3)]、我々も同様の結果を得た。しかし AhR 刺激が、どのようなシグナル経路を介し、ムチン産生を引き起こすのか不明であった。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活性酸素産生が増強することを確認した。また、ムチン産生の増強は、抗酸化剤の添加にて抑制された。これらの結果は、AhR 活性によるムチン産生が活性酸素産生を介し惹起している可能性が示唆された。以上から、喫煙やダイオキシン類化合物などによる咳・喀痰などの気管支症状に、抗酸化剤を治療に応用することで、症状改善につながる可能性を見出した[4)]。

Ｅ．結論

AhR 刺激により気道上皮細胞株からのムチン産生を確認したが、これらの作用は、AhR 刺激による活性酸素産生を介して惹起されることが分かった。

Ｆ．研究発表

１、論文発表

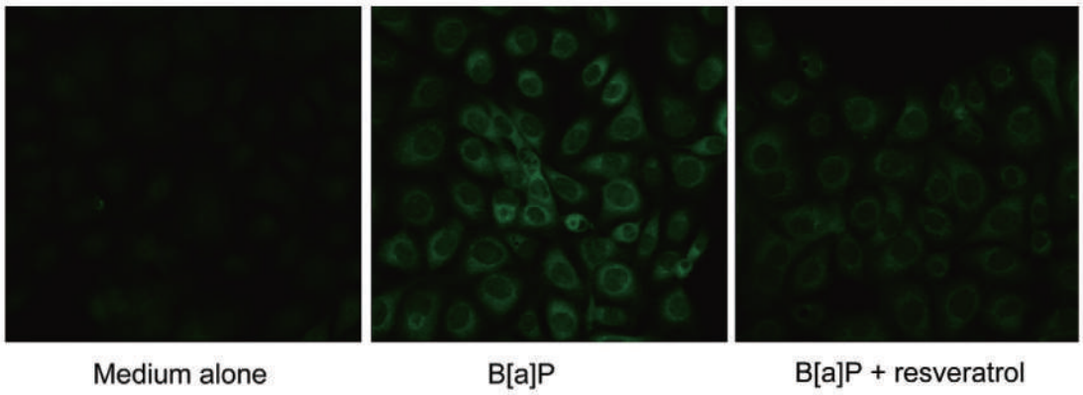
Chiba T, Uchi H, Tsuji G, Gondo H, Moroi Y, Furue M. Arylhydrocarbon receptor (AhR) activation in airway epithelial

cells induces MUC5AC via reactive oxygen species (ROS) production. Pulm Pharmacol Ther. 2010 (in press)

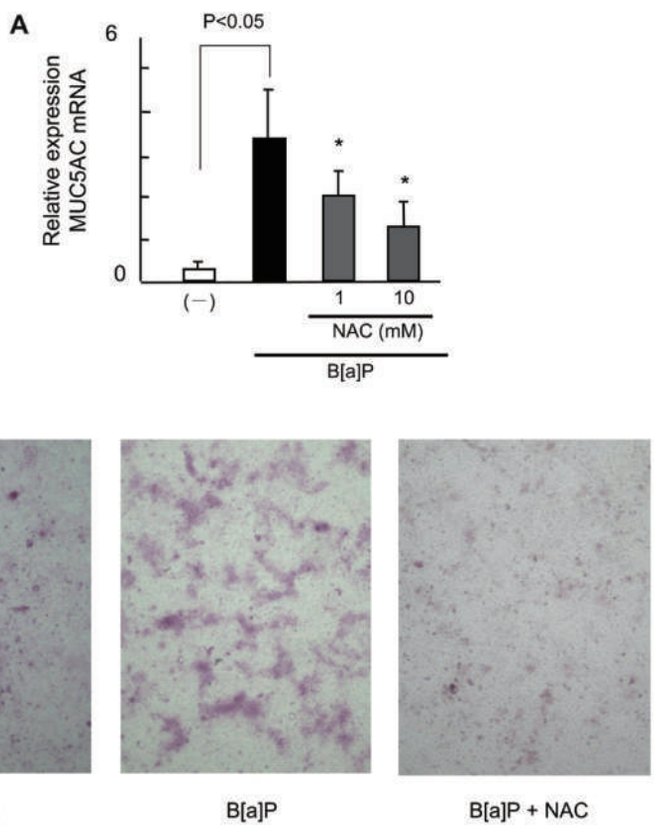
２、学会発表
千葉貴人、辻　学、内　博史、師井洋一、古江増隆　ベンゾピレンによるヒト気道上皮からのムチン産生機構　アレルギー・好酸球研究会　2010.6.19　（東京）

参考文献

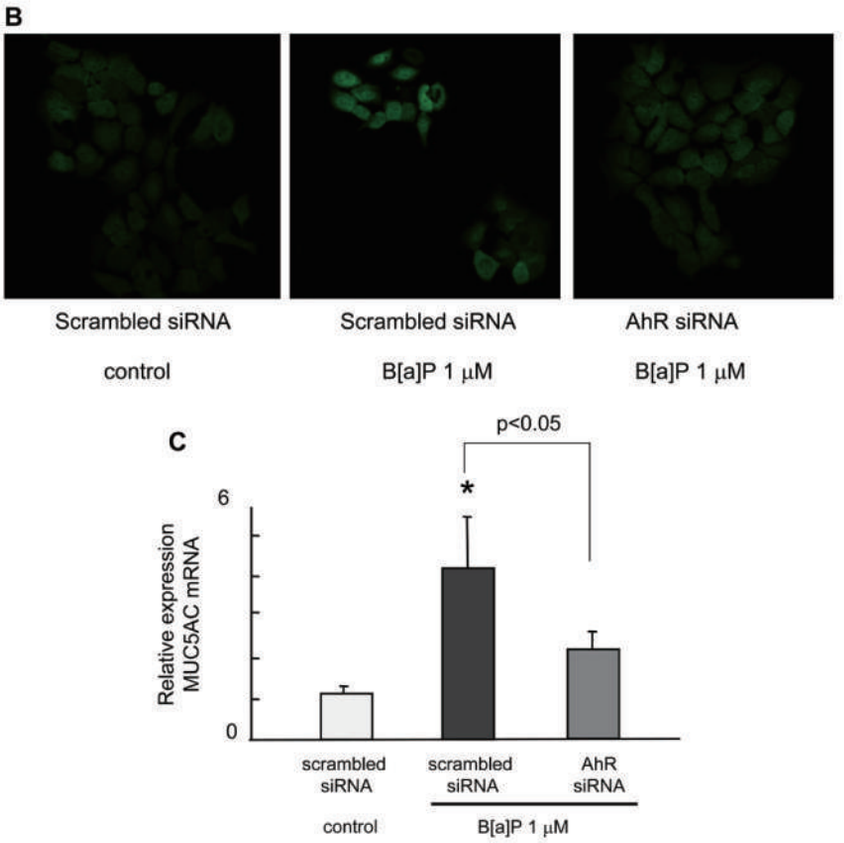
1. 小栗一太他：油症研究 30 年の歩み 2004
2. Baginski TK, Dabbagh K, Satjawatcharaphong C, Swinney DC. Cigarette smoke synergistically enhances respiratory mucin induction by proinflammatory stimuli. Am J Respir Cell Mol Biol 2006; 35: 165-174
3. Wong PS, Vogel CF, Kokosinski K, Matsumura F. Arylhydrocarbon receptor activation in NCI-H441 cells and C57BL/6 mice: possible mechanisms for lung dysfunction. Am J Respir Cell Mol Biol. 2010; 42: 210-217
4. Sprenger L, Goldmann T, Vollmer E, Steffen A, Wollenberg B, Zabel P, Hauber HP. Dexamethasone and N-acetyl-cysteine attenuate Pseudomonas aeruginosa-induced mucus expression in human airways. Pulm Pharmacol Ther. 2010 (in press)
5. Mata M, Ruíz A, Cerdá M, Martinez-Losa M, Cortijo J, Santangelo F, Serrano-Mollar A, Llombart-Bosch A, Morcillo EJ. Oral N-acetylcysteine reduces bleomycin-induced lung damage and mucin Muc5ac expression in rats. Eur Respir J. 2003; 22: 900-905



B[a]P:AhR アゴニスト
Resveratrol：AhR アンタゴニスト
図 1



(*p < 0.05 vs. B[a]P alone)
B[a]P:AhR アゴニスト
NAC：抗酸化剤
図 2



B[a]P:AhR アゴニスト
Scrambled siRNA:通常 NCI-H_{292} 細胞
AhR siRNA:AhR ノックアウト NCI-H_{292} 細胞
図 3

分担研究報告書

ヒト表皮細胞におけるケトコナゾールによるAhRを介したNrf2活性化による抗炎症作用

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

研究要旨　我々は、抗真菌薬であるケトコナゾール（ketoconazole:KCZ）に抗炎症作用があることに着目し、そのメカニズムについて研究を行ってきた。前年度の研究報告で、ヒト表皮細胞においてKCZはダイオキシン類の受容体であるaryl hydrocarbon receptor（AhR）の核内移行を誘導し、AhR signalingを活性化することを報告した。さらに、KCZはAhR依存性に解毒性酵素を誘導するNrf２を活性化することを報告し、ダイオキシン類による酸化ストレスを軽減する可能性を示した。本年度は、KCZによるこれらの効果を検証し、また炎症性サイトカイン（TNF-α）による酸化ストレスに対する効果について検討を行った。KCZは、タバコに含まれるダイオキシン類であるベンゾピレン（benzo(a)pyrene: BaP）による活性酸素の産生を抑制し、BaP誘導性のIL-8（炎症反応に関わるケモカイン）、８-OHdG（DNA障害のマーカー）産生を抑制した。さらにTNF-α誘導性の活性酸素の産生、IL-８の産生も抑制した。TNF-α誘導性の酸化ストレスを軽減するメカニズムについては、RNA干渉によってAhR、Nrf２の発現が抑制されたヒト表皮細胞では、KCZはその抑制効果を発揮しないことから、AhRとNrf２が重要である可能性が示唆された。これらの結果は、AhRを介したNrf２活性化による抗炎症作用というメカニズムを示すものであり、このメカニズムを発揮する薬剤・化学物質を検証していくことで、ダイオキシン類を含め様々な要因による酸化ストレスに効果のある薬剤の開発につながるものと考えられる。

A．背景と目的

前年度の研究成果で、抗真菌薬であるケトコナゾール（ketoconazole: KCZ）は、イオキシン類の受容体であるaryl hydrocarbon receptor（AhR）の核内移行を誘導し、AhR signalingを活性化することを報告した。さらに、KCZはAhR依存性に解毒性酵素を誘導するNrf２を活性化することを報告し、ダイオキシン類による酸化ストレスを軽減する可能性を示した。

本年度は、まずKCZによるダイオキシン類による酸化ストレスの軽減効果を検証した。具体的には、タバコに含まれるダイオキシン類であるベンゾピレン(benzo(a)pyrene: BaP)によって活性酸素を誘導し、これに対するKCZの抑制効果を確認した。また、BaP誘導性のIL-8（炎症反応に関わるケモカイン）及び８-OHdG（DNA障害のマーカー）に対する抑制効果を検証した。

次に、炎症性サイトカインによる酸化ストレスに対してKCZが抑制効果を発揮するかを検討した。具体的には、代表的な炎症性サイトカインであるTNF-αによって活性酸素及びIL-8の産生を誘導し、KCZがこれらを抑制するかを検討した。さらに、KCZによる抑制効果がAhR･Nrf２によるものかを確かめるため、RNA干渉によってこれらの発現を抑制したヒト表皮細胞を用

いて検証を行った。

Ｂ．研究方法

○ 使用した薬剤

BaP 及び 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、BaP と KCZ の最終濃度は、100nM～1μM 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。

○ 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。

○ H2DCF による細胞内活性酸素の測定

H2DCF を加えて細胞内の活性酸素を測定した。H2DCF は細胞内に活性酸素が存在すると、450nm 波長で励起する化合物を生じるため、これを共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

○ ELISA 法による８-OHdG、IL-８産生の測定

８-OHdG は８-OHdG ELISA kit（日本加齢制御研究所社）を用いて、細胞溶解液中の濃度を測定した。IL-８は、培養液を回収し IL-８ ELISA kit（invitrogen 社）を用いて測定を行った。

○ ウエスタンブロット

ヒト表皮細胞より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（Santa cruz 社）、抗 Nrf2 抗体（Santa cruz 社）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。

○ siRNA(small interfering RNA) による RNA 干渉

24 穴シャーレに 6.0×10^4個のヒト表皮細胞を培養した。AhR・Nrf２の si RNA(Ambion 社)及び Control siRNA(Ambion 社)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。siRNA の導入効率は、ウエスタンブロット法で確認した。

（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

KCZ は BaP 誘導性の活性酸素、IL-８、８－OHdG の産生を抑制した

ヒト表皮細胞に BaP（１μM）を 24 時間投与すると活性酸素の産生が認められた(図１ｂ)。しかしながら、KCZ を 48 時間前投与したヒト表皮細胞では、この BaP による活性酸素の産生は抑制された（図１ｃ）。さらに、ヒト表皮細胞に BaP（１μM）を 24 時間投与すると、培養液中の IL-８、細胞内の８-OhdG の産生が誘導されるが、これらは KCZ を 48 時間前投与することで、KCZ の用量依存性に抑制が認められた（図１ｄ、e)。なお、KCZ 単独投与による活性酸素、IL-８及び８-OHdG の産生の増加は認められなかった。

KCZ は AhR 及び Nrf２依存性に TNF-α誘導性の活性酸素、IL-８の産生を抑制した

ヒト表皮細胞に TNF-α(50ng/ml)を３時間投与すると活性酸素の産生が認められた（図２ｂ）。しかしながら、KCZ を 48 時間前投与したヒト表皮細胞では、この TNF-α誘導性の活性酸素の産生は抑制が認められた。さらに、この KCZ による抑制は、AhR 及び Nrf２の発現を siRNA のトランスフェクションによって低下させた細胞ではキャンセルされ、これらの細胞では TNF-αによって活性酸素の産生が認められた。（図ｆ、ｇ）培養液中の IL-８の産生について検討を行ったところ、TNF-αは

IL-８の産生を増加させたが、KCZ を 48 時間前投与することで、KCZ は用量依存性に IL-8 の産生を抑制した。また、前述した活性酸素の産生と同様に、AhR 及び Nrf２の発現を低下させた細胞では TNF-α誘導性の IL-８産生に対する KCZ による抑制効果はキャンセルされた。

Ｄ．考察

本年度は、前年度の研究成果を踏まえ、KCZ によって活性化された Nrf２がどの程度、抗炎症効果を発揮するかについて評価を行った。

図１に示したように、KCZ は BaP 誘導性の酸化ストレスを軽減する可能性が示された。この効果については KCZ が BaP の AhR への結合を競合的に阻害すること、また KCZ が Nrf２を活性化することが大きな要因であると考えられる。しかしながら、後者については BaP も同様に Nrf２を活性化することが報告されている(1)ことから、この実験系では正確に検証を行うことは困難であると考えられる。また、最近の報告では、AhR を不活化させる要素である AhRR（AhR repressor）の存在が指摘されており(2)、KCZ が AhRR を誘導して BaP による酸化ストレスを抑制している可能性もあり、今後の検討課題であると考えられる。

さらに、本年度は、ダイオキシン類のみならず炎症性サイトカインによる酸化ストレスを KCZ が軽減するかについて検討を行った。TNF-α は代表的な炎症性サイトカインであり、ヒト表皮細胞において活性酸素を産生し、酸化ストレスを生じることが既にヒト表皮細胞では示されている(3)。図２に示すように、KCZ は AhR 及び Nrf２の発現を抑制した細胞では TNF-α誘導性の酸化ストレスに対して抑制効果を示さないことから、AhR 及び Nrf２依存性に抗炎症作用を発揮することが明らかとなった。このメカニズムは、AhR を介して Nrf２を活性化して抗炎症作用を発揮するという新しいものである。今後、このメカニズムを発揮する薬剤・化学物質を探索・効果検証していくことで、ダイオキシン類を含め様々な要因による酸化ストレスに効果のある薬剤の開発につながるものと考えられる。

Ｅ．　研究発表

１．論文発表

Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Takeuchi S, Mitoma C, Moroi Y and Furue M. An environmental contaminant, benzo(a)pyrene, induces oxidative stress-mediated interleukin-8 production in human keratinocytes via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway. J Dermatol Sci. (in press, 2011)

２．学会発表

国内学会）

2010 年 1 月 23 日、
第 30 回福岡臨床免疫研究会、福岡市

2010 年 9 月 3-4 日、
第 25 回日本乾癬学会学術大会、宇部市

2010 年 10 月 19 日、
第 156 回福岡アレルギー研究会、福岡市

国際学会）

2010.5.5-8,
Society of Investigative Dermatology 2010 Annual Meeting Atlanta, USA,

2010.8.22-27,
14TH International Congress of Immunology Kobe, Japan,

2010.9.12-17,
DIOXIN 2010 San Antonio, USA,

2010.9.30-10.1
The First Eastern Asia Dermatology Congress, Fukuoka, Japan,

2010.12.3-5
The 35th annual meeting of Japanese Society for Investigative Dermatology, Wakayama, Japan

Ｆ．知的財産権の出願・登録状況
なし

Ｇ．参考文献
1. Benzo[a]pyrene increases the Nrf2 content by downregulating the Keap1 message. Nguyen PM, Park MS, Chow M, Chang JH, Wrischnik L, Chan WK. Toxicol Sci. 2010 Aug;116(2):549-61.
2. Single and concerted effects of benzo[a]pyrene and flavonoids on the Ahr and Nrf2-pathway in the human colon carcinoma cell line Caco-2. Niestroy J, Barbara A, Herbst K, Rode S, van Liempt M, Roos PH. Toxicol In Vitro. 2011 Jan 20.
3. Reactive oxygen species in tumor necrosis factor-alpha-activated primary human keratinocytes: implications for psoriasis and inflammatory skin disease. Young CN, Koepke JI, Terlecky LJ, Borkin MS, Boyd Savoy L, Terlecky SR. J Invest Dermatol. 2008 Nov;128(11):2606-14.

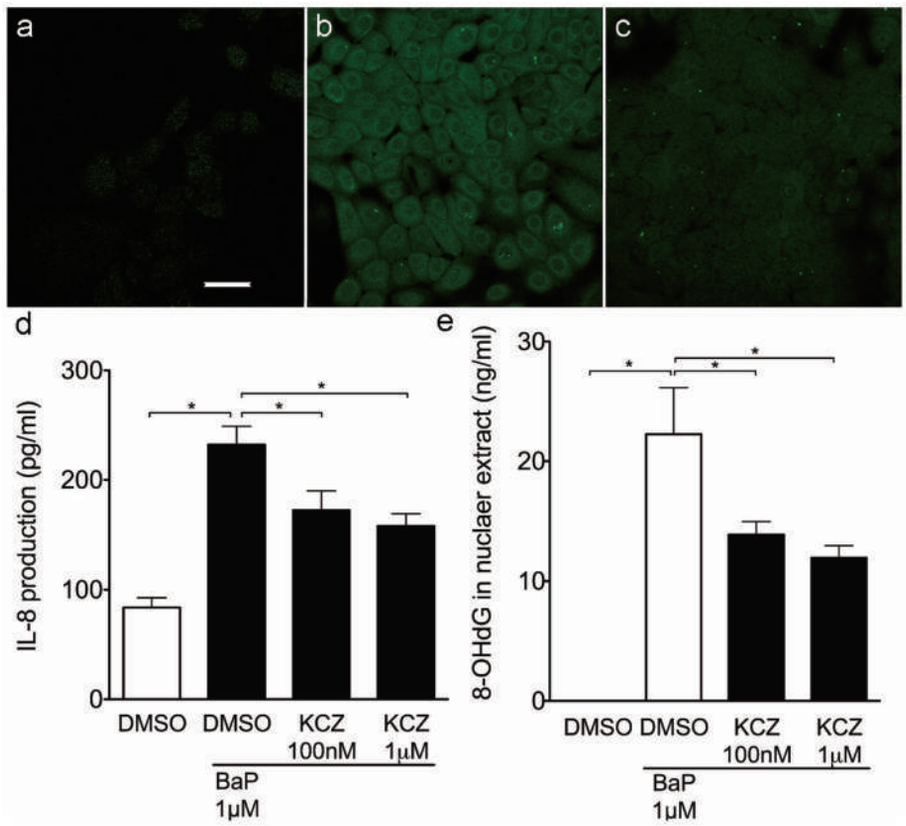


図 1　KCZ inhibited BaP-induced reactive oxygen species-IL-8 production in NHEKs.

After treatment with KCZ (100 nM, 1 μM) or DMSO (control) for 48 h, normal human keratinocytes (NHEKs) were exposed to BaP (1 μM) for 24 h. Reactive oxygen species production was evaluated using DCFH-DA. (a) Confocal laser scanning microscopic analysis. Scale bar = 50 μm. DMSO (control) did not induce reactive oxygen species production in NHEKs. (b) BaP induced reactive oxygen species production in DMSO-treated NHEKs (control). (c) BaP-induced reactive oxygen species production was inhibited in KCZ (100 nM)-treated NHEKs. Data represent experiments repeated three times with similar results (a-c). (d) ELISA for 8-OHdG production in nuclear extract from NHEKs. BaP induced 8-OHdG production in DMSO (control)-treated NHEKs, which was inhibited in KCZ (100 nM, 1 μM)-treated NHEKs in a dose-dependent manner. * $p<0.05$. (e) ELISA for IL-8 production in culture supernatant. BaP induced IL-8 production in DMSO-treated NHEKs (control), which was inhibited in KCZ (100 nM, 1 μM)-treated NHEKs in a dose-dependent manner. Representative results (means in triplicates ± SD) from three separate experiments are shown (d, e). * $p<0.05$.

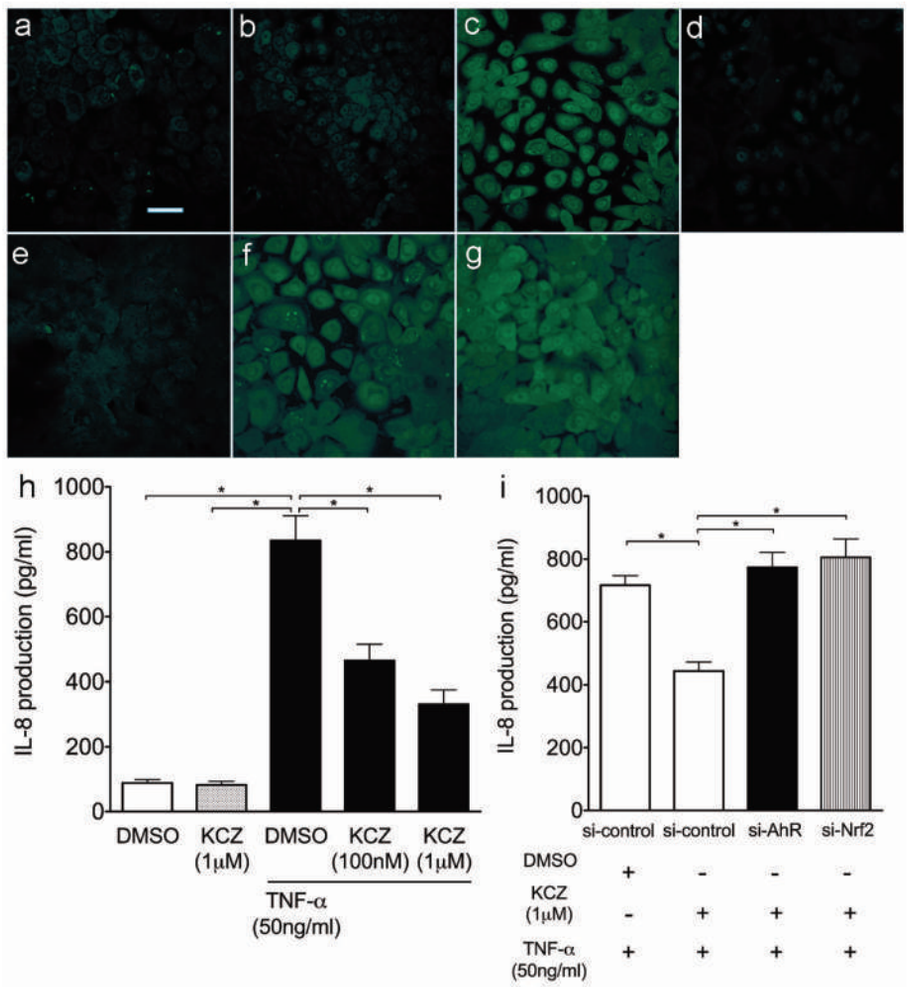


図 2　AhR and Nrf2 accounted for the inhibitory effect of KCZ on TNF-α-induced reactive oxygen species-IL-8 production.

After treatment with DMSO (control) or KCZ (1 μM) for 48 h, NHEKs were exposed to TNF-α (10 ng/ml) for 30 min. Reactive oxygen species production of NHEKs was evaluated. In NHEKs treated with DMSO (control) (a) or KCZ (1 μM) alone (b), reactive oxygen species production was undetectable. TNF-α induced reactive oxygen species production in DMSO-treated NHEKs (control) (c) but not in KCZ-treated NHEKs (d). Compared with si-control-transfected NHEKs (e), KCZ-inhibited reactive oxygen species production was restored in si-AhR- (f) or si-Nrf2- (g) transfected NHEKs in the presence of TNF-α. Data represent experiments repeated three times with similar results (a-g).

TNF-α-induced IL-8 production in the culture supernatant was measured by ELISA. After treatment with DMSO (control) or KCZ (100 nM, 1 μM) for 48 h, NHEKs were exposed to TNF-α (50 ng/ml) for 3 h. (h) TNF-α treatment induced IL-8 production, which was inhibited by KCZ in a dose-dependent manner. * $p<0.05$. (i) After si-control-, si-AhR- or si-Nrf2-transfected NHEKs were treated with DMSO or KCZ (1 μM) for 48 h, NHEKs were exposed to TNF-α (50 ng/ml) for 3 h. TNF-α induced IL-8 production in si-control-transfected NHEKs treated with DMSO, which was inhibited by KCZ treatment. However, such inhibition was restored in si-AhR- or si-Nrf2-transfected NHEKs. Representative results (means in triplicates ± SD) from three separate experiments are shown (h, i). * $p<0.05$.

分担研究報告書

2,3,4,7,8-PenCDF および 2,3,7,8-TCDD 母体曝露による胎児脳下垂体／性腺・性ホルモン合成系への影響

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分野　准教授
武田　知起　九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　助教

研究要旨　当研究室のこれまでの研究により、ダイオキシンの一種である 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD: 1 μg/kg) の妊娠ラットへの投与により、胎児脳下垂体ゴナドトロピンの発現が低下し、精巣における性ホルモン合成系が障害されることを既に見出している。本研究では、同様の障害が 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) においても認められるか否かを検証した。妊娠 15 日目の Wistar rat に、PenCDF (1, 2, 5, 10, 15, 25 および 50 μg/kg) あるいは TCDD (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 および 3 μg/kg) を経口投与し、妊娠 20 日目の雄胎児より臓器を摘出し解析を行った。その結果、PenCDF による性ホルモン合成系の低下は 5 μg/kg より有意に観察された。一方、TCDD による障害出現は、0.1 μg/kg より認められ、両者の障害発現に要する用量には少なくとも 20 倍以上の差があることが明らかとなった。このように、PenCDF も TCDD と同様の機構により胎児障害を発現するものの、その効果発現には従来の毒性等価係数では説明できない要因が存在することが示唆された。

A．研究目的

ダイオキシン類による毒性は多岐にわたるが、中でも生殖毒性は妊娠期の比較的低用量の曝露により児に生じることから問題が大きい。代表的な生殖毒性としては精子産生能の低下、性周期異常、排卵低下(妊娠率低下)、あるいは性行動障害等が知られている (1)。これらの毒性発現機構としては、性ホルモンあるいはそのレセプターに対する影響を介する機構を推定している研究例が多い。具体的には、性ホルモンレセプターに対する作用を介したシグナル伝達経路への影響 (2, 3)、性ホルモンレセプターの発現低下 (4, 5)、あるいはステロイド代謝酵素の誘導 (6) 等による可能性である。しかし、いずれの機構も毒性に直結するとの証拠までは得られておらず、毒性への寄与はよく理解されていない。

当研究室では、ダイオキシンの生殖毒性発現機構の解明を目指して研究を行っており、最強のダイオキシンである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD; 1 μg/kg、経口) の妊娠ラットへの曝露により、胎児脳下垂体において luteinizing hormone (LH) の発現が β サブユニット特異的に低下することを報告した (7)。更に、これを起点として精巣の steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) 等の性ホルモン合成系タンパク質の発現低下ならびに成長後の性行動障害が生じることを実証した (7-9)。しかし、LH や StAR 等の発現に与える障害が TCDD 以外のダイオキシン類においても同様に発現するか否かは明らかではない。そこで本研究では、油症の主要な原因物質である 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) に注目し、TCDD と同様な機構で障害を発現するか否かを検討するとともに、これらの効果

の強弱を比較することを目的とした。

B．研究方法

1. 実験動物および薬物処理

Wistar 系雌性ラット (7-10 週齢) を、雄性ラット (10-30 週齢) と一晩交配し、翌日に膣内精子が確認された場合、その日を妊娠 0 日目とした。全ての実験において、妊娠 15 日目に PenCDF (1, 2, 5, 10, 15, 25 および 50 μg/kg/2 mL コーン油) あるいは TCDD (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 および 3 μg/kg/2 mL コーン油) を経口投与した。また、対照群には、ダイオキシンの代わりにコーン油を投与した。妊娠 20 日目の雄胎児および母体より臓器 (精巣および脳下垂体) を摘出し、解析に供した。

2. リアルタイム RT-PCR 法

摘出臓器より total RNA を抽出し、PrimeScript RT reagent kit (タカラバイオ社) を用いて cDNA を調製した (10)。これを鋳型とし、SYBR Green I Master Mix (Applied Biosystems 社) を用いて目的タンパク質の mRNA 発現変動を解析した。解析は、ターゲット mRNA の threshold cycle (Ct) 値を β-actin mRNA の Ct 値で補正したのち、対照群に対する割合として算出した。

3. ウエスタンブロット解析

Steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) の発現を、β-actin を内部標準として解析した。母体一匹分の胎児精巣をまとめてホモジナイズし、1,000 x g、10 分間、次いで 9,000 x g、25 分間遠心分離した。得られたペレットを PBS 溶液 (5 mM EDTA, 1% nonidet P-40; 10 μL/one testis) に懸濁してミトコンドリア画分を調製し、Bradford 法にてタンパク定量を行った。

電気泳動に用いるミトコンドリア画分のタンパク質量は、StAR は 20 μg、β-actin は 4 μg とした。一次抗体は、Rabbit anti-rat StAR antibody (Abcam 社) および Anti-β-Actin Mouse Mono antibody (BioVision 社) を用いた。各 StAR 発現は β-actin で補正したのち、対照群に対する割合として算出した。PCR 増幅には以下の配列のプライマーを使用した: StAR (forward), 5'-ACACTTTGGGGAGATGCCTG-3'; StAR (reverse): 5'-CGTGAGTTTGGTCTTTGAGG-3'; CYP1A1 (forward): 5'-CCATGACCAGGAACTATGGG-3'; CYP1A1 (reverse): 5'-ATGACCTTCTCACTCAGGTG-3'; β-actin (forward): 5'-CACCATGTACCCAGGCATCGC-3'; β-actin (reverse): 5'-AGCCACCAATCCACACAGAG-3'。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認の下に、動物の苦痛を可能な限り軽減して実施した。

C. 研究結果

TCDD の用量は、すでに当研究室において影響が確認されている 1 μg/kg を基準とし、これより低用量 (0.05, 0.1, 0.25 および 0.5 μg/kg) および高用量の 3 μg/kg を使用した。PenCDF に関しては、毒性等価係数 (TEF) が 0.3 であることを考慮し、2 および 5 μg/kg を基準として用量を設定し解析を行った。

まず、胎児組織へのダイオキシン類の移行性を確認するために、ダイオキシン曝露により顕著に誘導されることが知られている cytochrome P450 (CYP) 1A1 の mRNA 発現変動を解析した。その結果、胎児精巣および脳下垂体において用量依存的な CYP1A1 mRNA の発現誘導が観察され (Fig. 1)、母体に投与した両ダイオキシンは胎児にも用量依存的に移行することが示唆された。

次に、性ホルモン合成系への影響を検討するために、性ステロイドホルモン合成の律速段階に関与する StAR の mRNA 発現変動を解析した。その結果、胎児精巣の

StAR 発現は 15 μg/kg 以上の PenCDF により有意に抑制された (Fig. 2A)。一方、TCDD による StAR 発現低下は 0.25 μg/kg より有意に認められた (Fig. 2B)。StAR 発現低下はタンパク質レベルにおいても確認されたが、この場合は mRNA 変動よりも低用量で効果が出現した。すなわち、PenCDF は 5 μg/kg、TCDD は 0.1 μg/kg より有意な発現抑制が観察された (Fig. 3)。さらに、性ホルモン合成の制御因子である脳下垂体 LH の mRNA 発現変動を解析したところ、PenCDF では 15 μg/kg、TCDD では 0.25 μg/kg より β サブユニット特異的に発現低下が認められた (Figs. 4 および 5)。

D. 考察

PenCDF 母体曝露による胎児精巣 StAR mRNA 発現低下は、15 μg/kg より認められ、PenCDF においても TCDD と同様に性ホルモン合成系障害を引き起こすことが明らかとなった。さらに、性ホルモン合成の制御因子である脳下垂体 LH の mRNA 発現低下も、15 μg/kg より β サブユニット特異的に認められ、精巣における StAR mRNA 発現低下とよく符合した。これらの結果から、PenCDF も TCDD と同様に脳下垂体 LHβ 発現低下を起点として障害を発現することが示唆された。一方、StAR タンパク質レベルでの低下は、mRNA 低下よりもさらに低用量の 5 μg/kg より認められ、ダイオキシン類は LH 非依存的な機構に対しても作用し、ステロイドホルモン合成系タンパク質の発現量を低下させる可能性が考えられた。ダイオキシンは、ユビキチン・プロテアソーム系に作用してタンパク質分解を促進することが示唆されており (3)、同様の現象が胎児精巣の StAR にも起こっている可能性がある。今後、この影響に注目して解析を進める必要がある。

TCDD による胎児精巣 StAR mRNA および脳下垂体 LHβ mRNA の発現低下はともに、0.25 μg/kg より観察されたが、PenCDF による有意な減少の惹起には 20 倍以上もの高用量を要することが明らかとなった。従来、ダイオキシン類の TEF は TCDD=1 に対して PenCDF=0.3 とされており (12)、胎児脳下垂体-性腺制御系への影響に関する量-作用関係は、従来の TEF とは大きく乖離する。つまり、ダイオキシン類による生殖毒性に関しては従来の TEF での評価が問題であることが示唆された。

PenCDF の胎児脳下垂体-性腺への効果が弱い理由の一つとして、本ダイオキシンの体内動態特性が考えられる。すなわち、PenCDF は母体肝臓への集積性が TCDD よりも高く、そのため他組織への分布や胎児への移行性が低いことが示唆されている (13, 14)。PenCDF の肝臓への蓄積に深く関与すると推定されているのが、肝臓中に高発現する CYP1A2 である。CYP1A2 は、PenCDF に対する吸着能が高く (15)、また CYP1A2 ノックアウトマウスを用いた解析から、CYP1A2 を欠損することによりダイオキシンの肝臓集積、ならびにダイオキシン間での体内分布の差が消失する (14)。これらのことから、ダイオキシン類による胎児毒性の発現には、母体 CYP1A2 の発現状況が深く関わると考えられた。

E. 結論

PenCDF 母体曝露も、TCDD と同様に胎児脳下垂体 LH 分泌低下を介して精巣における性ホルモン合成系障害を引き起こすことが示唆された。しかし、その効果発現には TCDD の少なくとも 20 倍以上の高用量を要することが明らかとなった。またその用量差として、母体肝臓への蓄積性の違いによる可能性が考えられた。

以上の結果より、生殖／後世代に対する毒性に注目した場合、従来の TEF で評価

するのには問題があることが示された。

F. 研究発表

1. フォーラム 2010: 衛生薬学・環境トキシコロジー (東京、2010 年 9 月 9 日)

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

H. 参考文献

1) Peterson, R. E., Theobald, H. M., Kimmel, G. L., Crit. Rev. Toxicol., **23**: 283-335 (1993).
2) Ohtake, F., Takeyama, K., Matsumoto, T., Kitagawa, H., Yamamoto, Y., Nohara, K., Tohyama, C., Krust, A., Mimura, J., Chambon, P., Yanagisawa, J., Fujii-Kuriyama, Y, Kato, S., Nature, **423**: 545-550 (2003).
3) Khan, S., Barhoumi, R., Burghardt, R., Liu, S., Kim, K., Safe, S., Mol. Endocrinol., **20**: 2199-2214 (2006).
4) Ohsako, S., Miyabara, Y., Nishimura, N., Kurosawa, S., Sakaue, M., Ishimura, R., Sato, M., Takeda, K., Aoki, Y., Sone, H., Tohyama, C., Yonemoto, J., Toxicol. Sci., **60**: 132-143 (2001).
5) Ohtake, F., Baba, A., Takeda, I., Okada, M., Iwasaki, K., Miki, H., Takahashi, S., Kouzmenko, A., Nohara, K., Chiba, T., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S., Nature, **446**: 562-566 (2007).
6) Badawi, A. F., Cavalieri, L. C., Rogan, E. G., Carcinogenesis, **21**: 1593-1599 (2000).
7) Mutoh, J., Taketoh, J., Okamura, K., Kagawa, T., Ishida, T., Ishii, Y., Yamada, H., Endocrinology, **147**: 927-936 (2006).
8) Taketoh, J., Mutoh, J., Takeda, T., Ogishima, T., Takeda, S., Ishida, T., Ishii, Y., Yamada, H., Life Sci., **80**: 1259-1267 (2007).
9) Takeda, T., Matsumoto, Y., Koga, T., Mutoh, J., Nishimura, Y., Shimazoe, T., Ishii, Y., Ishida, T., Yamada, H., J. Pharmacol. Exp. Ther., **329**: 1091-1099 (2009).
10) Matsumoto, Y., Ishida, T., Takeda, T., Koga, T., Fujii, M., Ishii, Y., Fujimura, Y., Miura, D., Wariishi, H., Yamada, H., J. Toxicol. Sci., **35**: 365-373 (2010).
11) Bose, M., Whittal, R. W., Miller, W. L., Bose, H. S., J. Biol. Chem., **283**: 8837-8845 (2008).
12) Van den Berg, M., Birnbaum, L. S., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Trischer, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N., Peterso, R. E., Toxicol. Sci., **93**: 223-241 (2006).
13) Chen, C. Y., Hamm, J. T., Hass, J. R., Birnbaum, L. S., Toxicol. Appl. Pharmacol., **173**: 65-88 (2001).
14) Diliberto, J. J., Burgin, D. E., Birnbaum, L. S., Toxicol. Appl. Pharmacol., **159**: 52-64 (1999).
15) Kuroki, J., Koga, N., Yoshimura, H., Chemosphere, **15**: 731-738 (1986).

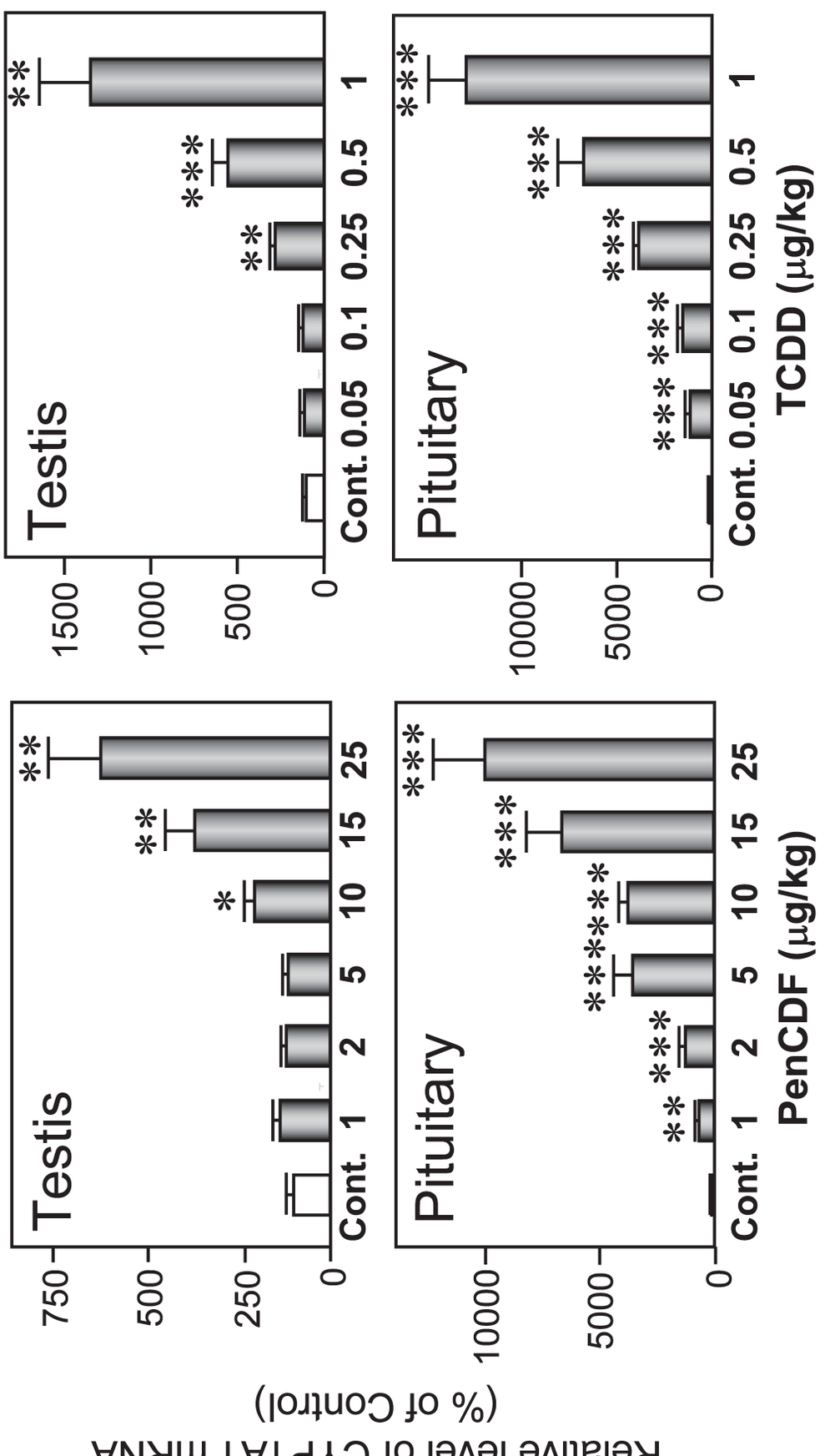


Fig. 1. Dose-dependent change in the expression of testicular and pituitary CYP1A1 mRNA in male fetal rats by maternal exposure to PenCDF or TCDD. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 12 fetuses each 2 of which were removed from 6 different dams. Significantly different from control: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

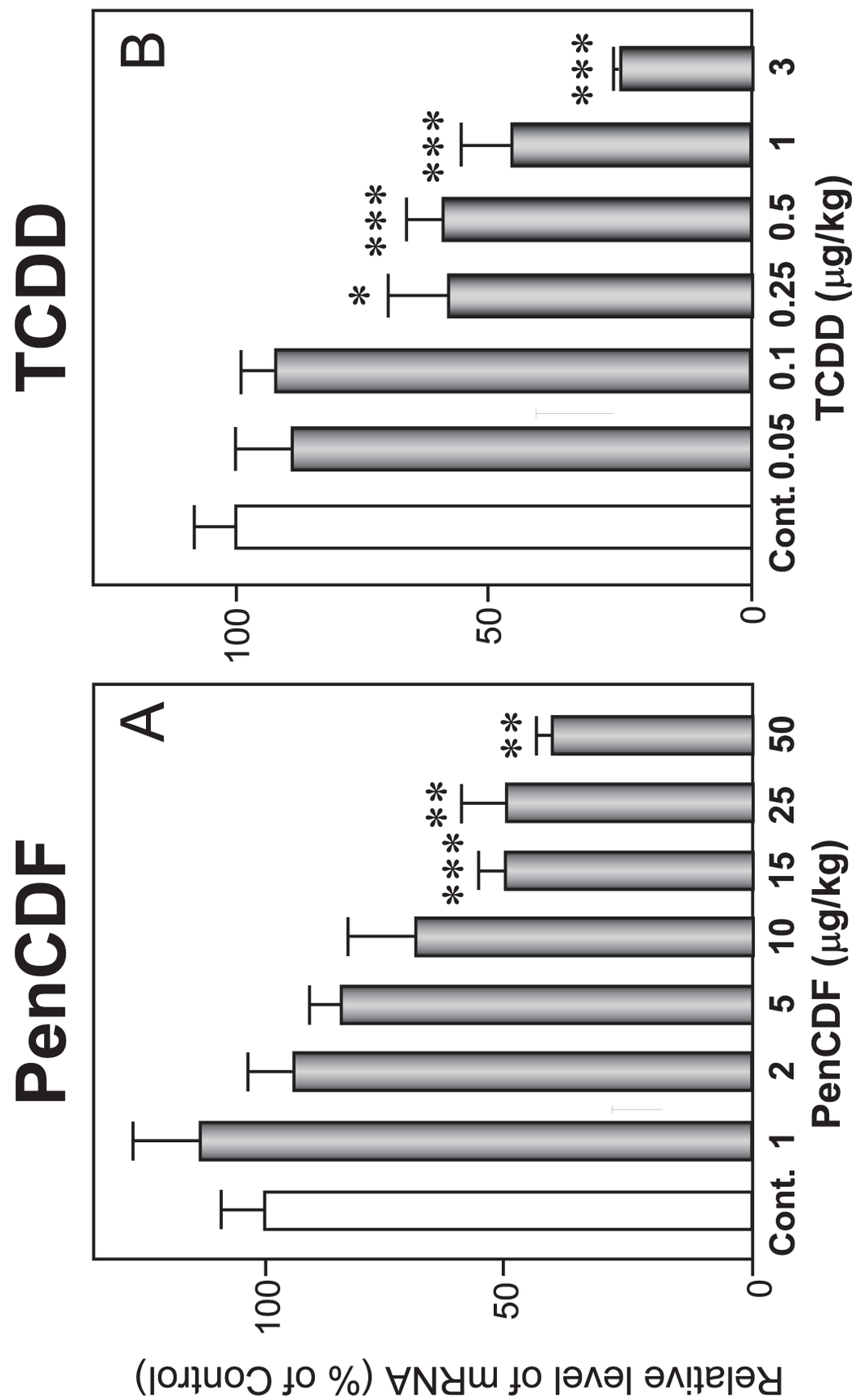


Fig. 2. Dose-dependent change in the expression of testicular StAR mRNA in male fetal rats by maternal exposure to PenCDF (A) or TCDD (B). Each bar represents the mean ± S.E.M. of 6-12 fetuses each 2 of which were removed from 3-6 different dams. Significantly different from Control: *$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$.

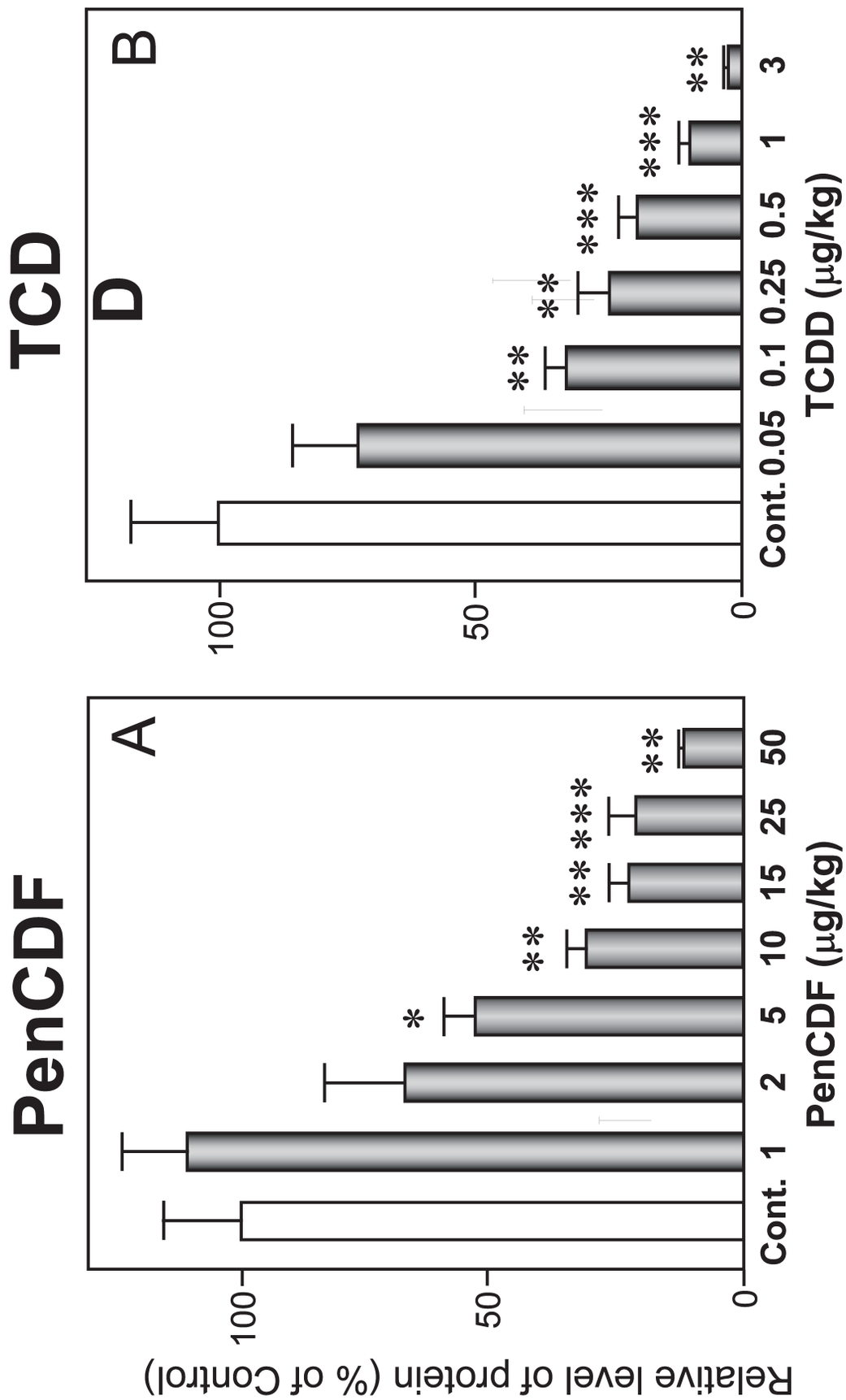


Fig. 3. Dose-dependent change in the expression of testicular StAR protein in male fetal rats by maternal exposure to PenCDF (A) or TCDD (B). Each bar represents the mean ± S.E.M. of pooled fetal testes which were removed from 3-6 different dams. Significantly different from control: *$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$.

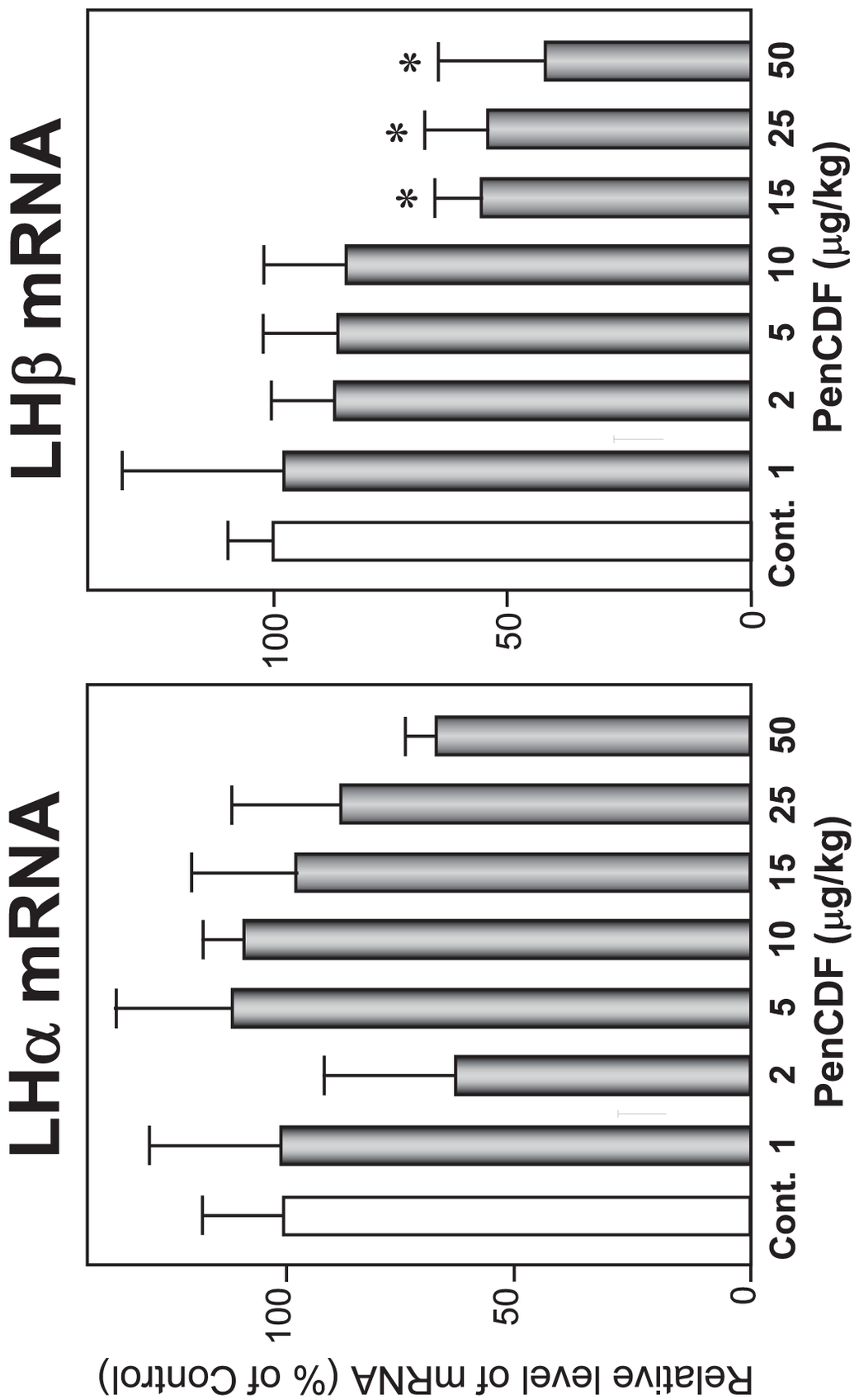


Fig. 4. Dose-dependent change in the expression of pituitary LH subunit mRNAs in male fetal rats by maternal exposure to PenCDF. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 3-12 pooled fetal pituitaries which were removed from 3-12 different dams. Significantly different from control: *$p<0.05$.

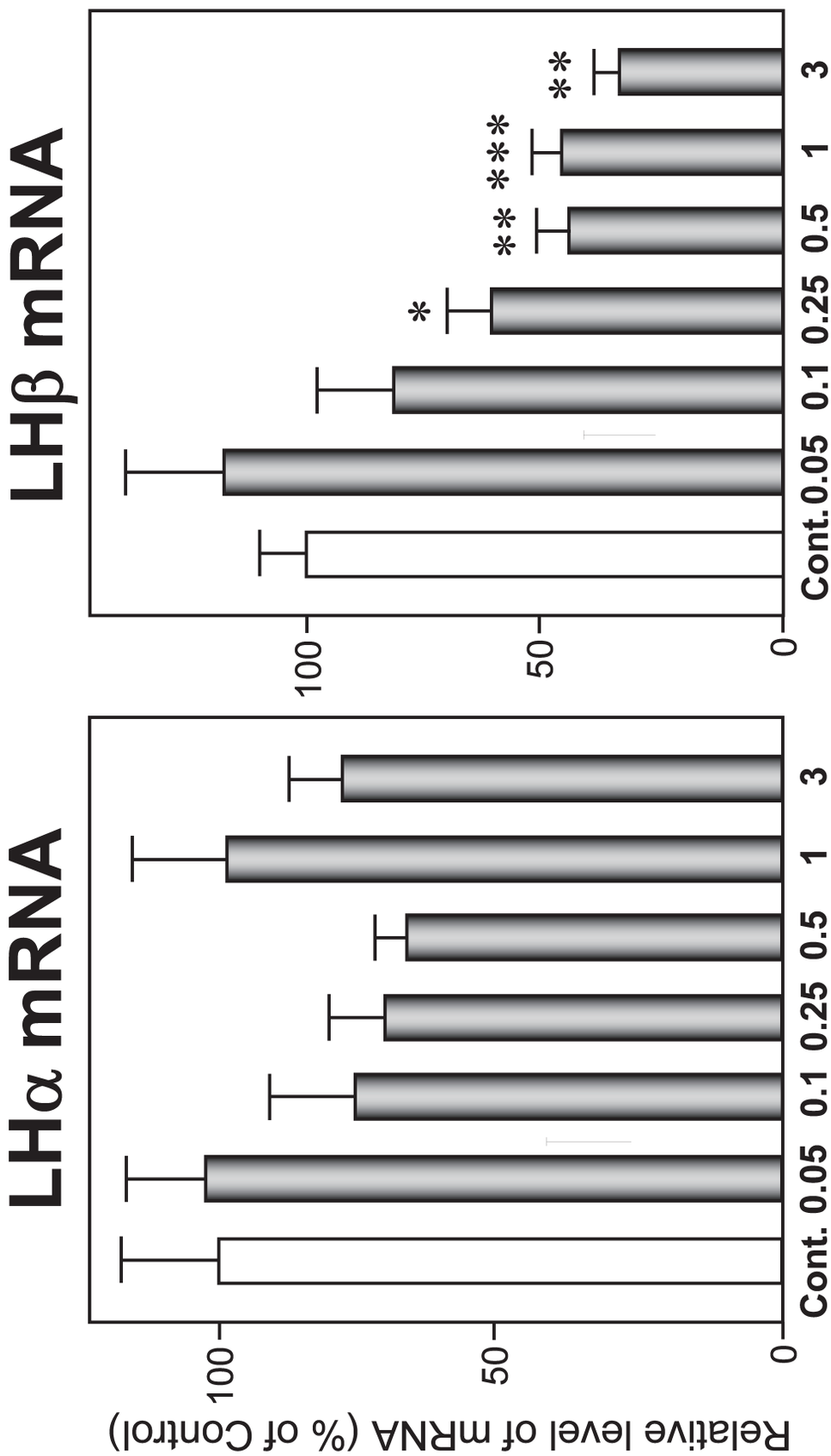


Fig. 5. Dose-dependent change in the expression of pituitary LH subunit mRNAs in male fetal rats by maternal exposure to TCDD. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 3-12 pooled fetal pituitaries which were removed from 3-12 different dams. Significantly different from Control: *$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$.

分担研究報告書

ダイオキシンおよび 3-メチルコランスレンによるマウス・セレン結合性タンパク質の誘導とその機構

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分野　准教授
武田　知起　九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　助教

研究要旨　当研究室では、ラットへのダイオキシン曝露により肝臓においてセレン結合性タンパク質 (SeBP1) が顕著に誘導されることを見出している。本研究では、その機構を明らかにすることを目的として検討を行った。リガンドとの親和性が異なるダイオキシン受容体 (AhR) を発現する二系統のマウス (C57BL/6J : 高親和性 AhR、DBA/2J : 低親和性 AhR) に、3-methylcholanthlene あるいは 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin を腹腔内投与し、肝臓中の SeBP1 mRNA を解析した。その結果、C57BL/6J マウスの方に顕著な誘導が観察され、ダイオキシンは AhR を介して SeBP1 を誘導することが示された。

A．研究目的

セレン結合性タンパク質 (SeBP1) は、肝臓、腎臓および性腺などに多く発現するサイトゾルタンパク質である (1)。SeBP1 は、その名の通り、セレンとの結合能を有し、セレンの生理的役割に関わるものと推定されている。これまでに、本タンパク質は抗酸化的作用 (2)、増殖抑制作用 (3)、あるいはゴルジ層板間のタンパク質構成因子 (4) 等に関与することが推定されているが、決定的証拠に乏しく、その生理的機能は未だ明確には理解されていない。当研究室では、ダイオキシン類の一種である 3,3',4,4'5-pentachlorobiphenyl（PCB126）、および多環芳香族炭化水素の 3-methylcholanthlene (3MC) がラット肝臓の SeBP1 タンパク質および mRNA 発現を顕著に誘導することをすでに報告している (5-7)。

ダイオキシン類は、免疫抑制、肝障害、発がんプロモーション作用等、多彩な毒性を引き起こすが (8)、それらは細胞の可溶性画分に存在する芳香族炭化水素受容体 (AhR) の活性化を通して生起すると考えられている (9)。ダイオキシン類は細胞質の AhR に結合してこれの核への移行を促進し、AhR は核内で AhR nuclear translocator とヘテロダイマーを形成する。この複合体が様々な遺伝子上流に存在するコンセンサス配列 [xenobiotic responsive element (XRE)] に結合することでそれらの遺伝子発現を変動させることが知られている (10)。ダイオキシン類により変動する遺伝子は数百種類にものぼるが、どの遺伝子変動が毒性発現に重要であるのかなど詳細は未だ明らかではない。

前述の通り、ラット肝臓の SeBP はダイオキシン類によって顕著に発現増加する。しかし、SeBP の生理的意義が不明確なため、これがダイオキシンによって増加することの意義もよく分からない。一方、ダイオキシン毒性には AhR が中心的な役割を果たし、多く場合、活性化 AhR は遺伝子転写促進を惹起することも知られている。従って、もし SeBP の誘導が AhR 活性化を介するのであれば、本誘導は毒性発現に寄与する可能性が浮上してくる。そこで本研究では、SeBP 誘導と

AhR の関連性を明らかにすることを目的に検討を行った。検討の方法としては、ダイオキシン類に高感受性の AhR を発現するマウス (C57BL/6J 系統) と低感受性 AhR 発現マウス (DBA/2J 系統) を用い、SeBP 誘導の系統差の有無を調べることにより解析した。本法は、古くから知られる AhR 関与の判別法であり (11)、ダイオキシンへの感受性に系統差が認められれば、AhR の関与が示唆される。

マウスにおいては SeBP1 と異なる遺伝子の産物であり臓器分布等も多少異なる SeBP2 (SeBP1 のアミノ酸配列との相同性 : 97%) が存在することが知られている (12)。SeBP2 も肝臓に多く発現し、アセトアミノフェン代謝物との結合を介して肝障害発現に関わると推定されているが (13)、その相同性の高さから SeBP1 との機能的な関連性も示唆されている。したがって、本研究で注目する SeBP1 のダイオキシン毒性に対する意義を知る上で、SeBP2 の発現状況も明らかにしておくことが望ましいと考えられる。ついては、本研究では 2 系統マウスにダイオキシン類を処理後、SeBP1 のみならず、SeBP2 の状況についても併せて検討を加えた。

B．研究方法

3 週齢の C57BL/6J および DBA/2J 雄性マウスを一週間馴化させたのち、3MC あるいは最強毒性のダイオキシンである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) を腹腔内投与した。3MC は、10, 50 および 100 mg/kg/10 mL corn oil で一日一回、3 日間連続投与を行った。TCDD に関しては、C57BL/6J マウスには 10, 50 および 100 μg/kg/10 mL、DBA/2J マウスには 50, 100 および 500 μg/kg/10 mL の投与量でそれぞれ単回投与を行った。また、対照群には、corn oil を投与した。最終投与 24 時間後に臓器を摘出し、解析に供した。

SeBP1 および 2 の mRNA 発現変動は、リアルタイム reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて解析した。摘出した肝臓より、total RNA を抽出し、PrimeScript RT reagent kit (タカラバイオ社) を用いて cDNA を調製した (14)。これを鋳型とし、TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems 社) を用いて目的タンパク質の mRNA 発現を定量した。解析は、ターゲット mRNA の Ct 値を β-actin mRNA の Ct 値で補正したのち、対照群に対する割合として算出した。PCR 増幅には以下の配列のプライマーを使用した: SeBP1 (forward), 5'-GCACGAAGTCACGCAACAAGC-3'; SeBP1 (reverse): 5'- AGCCCACATCCACCACGTA-3'; SeBP1 (probe): 5'-CTGCCTGGTCTCATCTCCTCCCGC-3'; SeBP2 (forward): 5'-CATCACTGTACAGCGACTGG-3'; SeBP2 (reverse): 5'-AGCCCACATCCACCACGTA-3'; SeBP2 (probe): 5'-CCCTGACCTCATTAGGGAAGGCTCC-3'; β-actin (forward): 5'-GCAAGCAGGAGTACGATGAG-3'; β-actin (reverse): 5'-CCATGCCAATGTTGTCTCTT-3'; β-actin (probe): 5'-TCCATCGTGCACCGCAAGTG-3'。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認を受け、可及的に動物の苦痛を排除して実施した。

C. 研究結果

先ず、AhR のリガンドである 3MC 処理による検討を行った。C57BL/6J マウスでは、3MC の用量に依存して有意な体重増加抑制が観察されたが、DBA/2J マウスにおいては、投与期間中における有意な影響は観察されなかった (Fig. 1)。臓器重量に関しても、C57BL/6J マウスでは、10 mg/kg で有意な肝臓肥大および脾臓、胸腺萎縮が認められ、用量依存的に変化が増

大した (Table 1)。一方、DBA/2J マウスにおいては、脾臓でのみしか用量依存的な萎縮が観察されなかった (Table 1)。この結果から、3MC の毒性はダイオキシン感受性の C57BL マウスの方に強く現れることが明らかであり、従前からの知見を再現することができた。

次に、3MC 処理による SeBP1 発現誘導の解析を行った。その結果、両系統のマウスともに用量依存的な SeBP1 mRNA の誘導が認められたが、誘導度には 3 倍程度の差があり、C57BL/6J 系統での誘導の方が顕著であった (Fig. 2)。TCDD 処理実験では、C57BL/6J マウスにおいては最低用量の 10 μg/kg で最大 (約 14 倍) の SeBP1 mRNA 発現誘導が認められた (Fig. 3A)。一方、DBA/2J マウスでも、最低用量の 50 μg/kg で 5 倍程度の誘導が認められ、用量依存的にその発現誘導が上昇したが、C57BL/6J マウスと比較するとその誘導は小さかった (Fig. 3B)。このように、3MC と TCDD ともに、両系統間で顕著な誘導度の違いが認められたことから、SeBP1 mRNA 誘導には AhR が関与することが強く示唆された。SeBP2 mRNA の発現変動を解析したところ、3MC 処理後の肝 SeBP2 mRNA レベルには両系統ともに有意な変動は観察されなかった (Fig. 4)。従って、SeBP2 はダイオキシン類に非応答性であり、C57BL/6J と DBA/2J 間に差がないことから、これの発現には AhR は関与しないことが示唆された。

D. 考　察

当研究室におけるこれまでの成果から、ラットにおける SeBP1 の誘導には、AhR-XRE を介する機構、並びに遺伝子プロモーター上の antioxidant response element (ARE) を介する機構の関与が示唆されている (7)。そこで、SeBP1 および 2 の遺伝子上流における XRE (5'-CACGC-3') と ARE (5'-TGAC/TXXXGC-3') の配列を検索したところ、SeBP1 では -4,000 base pair までの間に、XRE のコア配列が 2 ヶ所 (-1,412 および -3,585)、また ARE のコア配列は -3,894 に存在が確認された。一方、SeBP2 に関しては、ARE のコア配列が -824 に一ヶ所存在するものの、XRE は確認できなかった。このように、SeBP1 だけが遺伝子上流に XRE を有しており、本タンパク質の AhR 依存的機構での誘導を支持した。しかし、SeBP1 遺伝子の詳細な転写制御機構については、今後の更なる研究を要する。

C57BL/6J マウスでの、TCDD による SeBP1 誘導には用量依存性が認められず、10 μg/kg で最大誘導を示した。しかし、ダイオキシン類の急性毒性の特徴的症状とされる胸腺や脾臓の萎縮はどの用量でも観察されなかった (成績未掲載)。この矛盾は、今回の研究で TCDD 処理 24 時間後の SeBP／毒性発現状況を観察したことに原因がある可能性がある。すなわち、上記の毒性状況から考えると、投与後の経過日数が短く、十分な SeBP1 誘導や毒性発現に達する前に観察した可能性が否定できない。従って、SeBP 誘導に要する正確な TCDD 投与量については、実験条件を改めての解析が望まれる。このような問題は解決を積み残したが、C57BL/6J と DBA/2J 間で SeBP1 誘導に関する感受性に違いがある点は確認できたと考える。

D. 結論

ダイオキシンは、マウス肝臓において AhR を介して SeBP1 の発現誘導を引き起こすことが強く示唆された。

E. 研究発表

1. 日本薬学会第 131 年会 (静岡、2011 年 3 月)

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

G. 参考文献

1) Bansal, M. P., Oborn, C. J., Danielson, K. G., Medina, D. Carcinogenesis, **10**: 541-546 (1989).
2) Jamba, L., Nehru, B., Bansal, M. P. Mol. Cell. Biochem., **177**: 169-175 (1997).
3) Pohl, N. M., Tong, C., Fang, W., Bi, X., Li, T., Yang, W. PLoS One, **4**: e7774 (2009).
4) Porat, A., Sagiv, Y., Elazar, Z. J. Biol. Chem., **275**: 14457-14465 (2000).
5) Ishii, Y., Hatsumura, M., Ishida, T., Ariyoshi, N., Oguri, K. Chemosphere, **32**: 509-515 (1996).
6) Ishii, Y., Hatsumura, M., Ishida, T., Ariyoshi, N., Oguri, K. Toxicol. Lett., **87**: 1-9 (1996).
7) Ishida, T., Tasaki, A., Fukuda, Y., Ishii, Y., Oguri, K. Environ, Toxicol. Pharmacol., 6: 249-255 (1998).
8) Poland, A., Knutson, J. C., Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., **26**: 371-399 (1982).
9) Fernandez-Salguero, P. M., Hilbert, D. M., Rudikoff, S., Ward, J. M., Gonzalez, F. J. Toxicol. Appl. Pharmacol. **140**: 173-179 (1996).
10) Mimura, J., Fujii-Kuriyama, Y., Biochim. Biophys. Acta, **1619**: 263-268 (2003).
11) Poland, A. P., Glover, E., Robinson, J. R., Nebert, D. W., J. Biol. Chem., **249**: 5599-5606 (1974).
12) Bartolone, J. B., Sparks, K., Cohen, S. D., Khairallah, E. A., Biochem. Pharmacol., **36**: 1193-1196 (1987).
13) Pumford, N. R., Martin, B. M., Hinson, J. A., Biochem. Biophys. Res. Commun., **182**: 1348–1355 (1992).
14) Matsumoto, Y., Ishida, T., Takeda, T., Koga, T., Fujii, M., Ishii, Y., Fujimura, Y., Miura, D., Wariishi, H., Yamada, H., J. Toxicol. Sci., **35**: 365-373 (2010).

Table 1. The effect of 3-methylcholanthlene (3MC) on the organ weights of male mice.

		Organ weight (% of body weight)		
Strain	Treatment	Liver	Spleen	Thymus
C57BL	Control	5.03 ± 0.08	0.44 ± 0.02	0.34 ± 0.01
	3MC (10 mg/kg)	5.50 ± 0.06**	0.33 ± 0.02**	0.31 ± 0.01*
	3MC (50 mg/kg)	6.06 ± 0.13***	0.28 ± 0.01***	0.26 ± 0.01***
	3MC (100 mg/kg)	5.79 ± 0.12***	0.26 ± 0.01***	0.23 ± 0.01***
DBA	Control	4.93 ± 0.08	0.55 ± 0.03	0.37 ± 0.01
	3MC (10 mg/kg)	4.77 ± 0.09	0.45 ± 0.01**	0.34 ± 0.01
	3MC (50 mg/kg)	5.09 ± 0.06	0.37 ± 0.01***	0.36 ± 0.01
	3MC (100 mg/kg)	5.19 ± 0.09	0.35 ± 0.01***	0.32 ± 0.01*

Each value represents the mean ± S.E.M. of 6-7 mice. Significantly different from the control: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

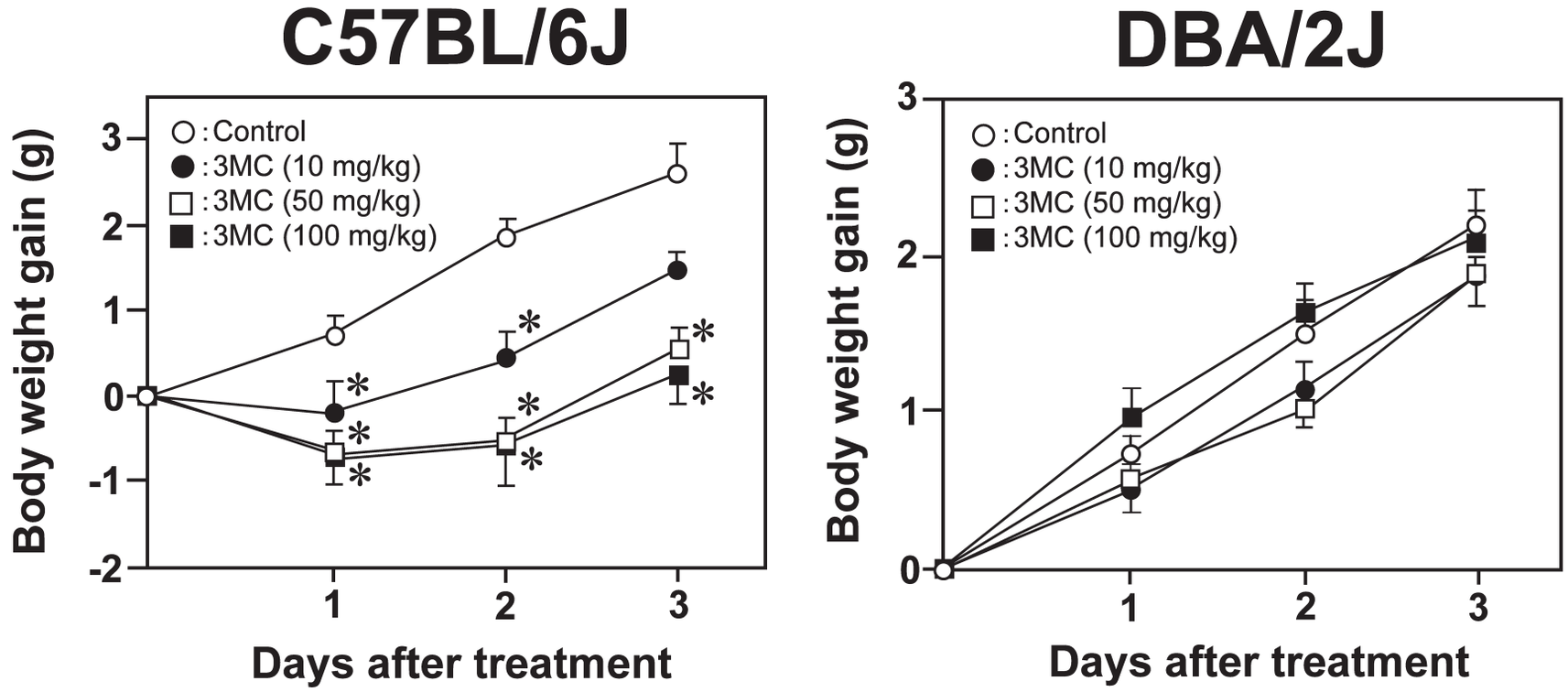


Fig. 1. The effect of 3-methylcholanthlene (3MC) on the body weight gain of C57BL/6J and DBA/2J mice. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 6-7 mice. Significantly different from the control; *$p<0.05$.

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金

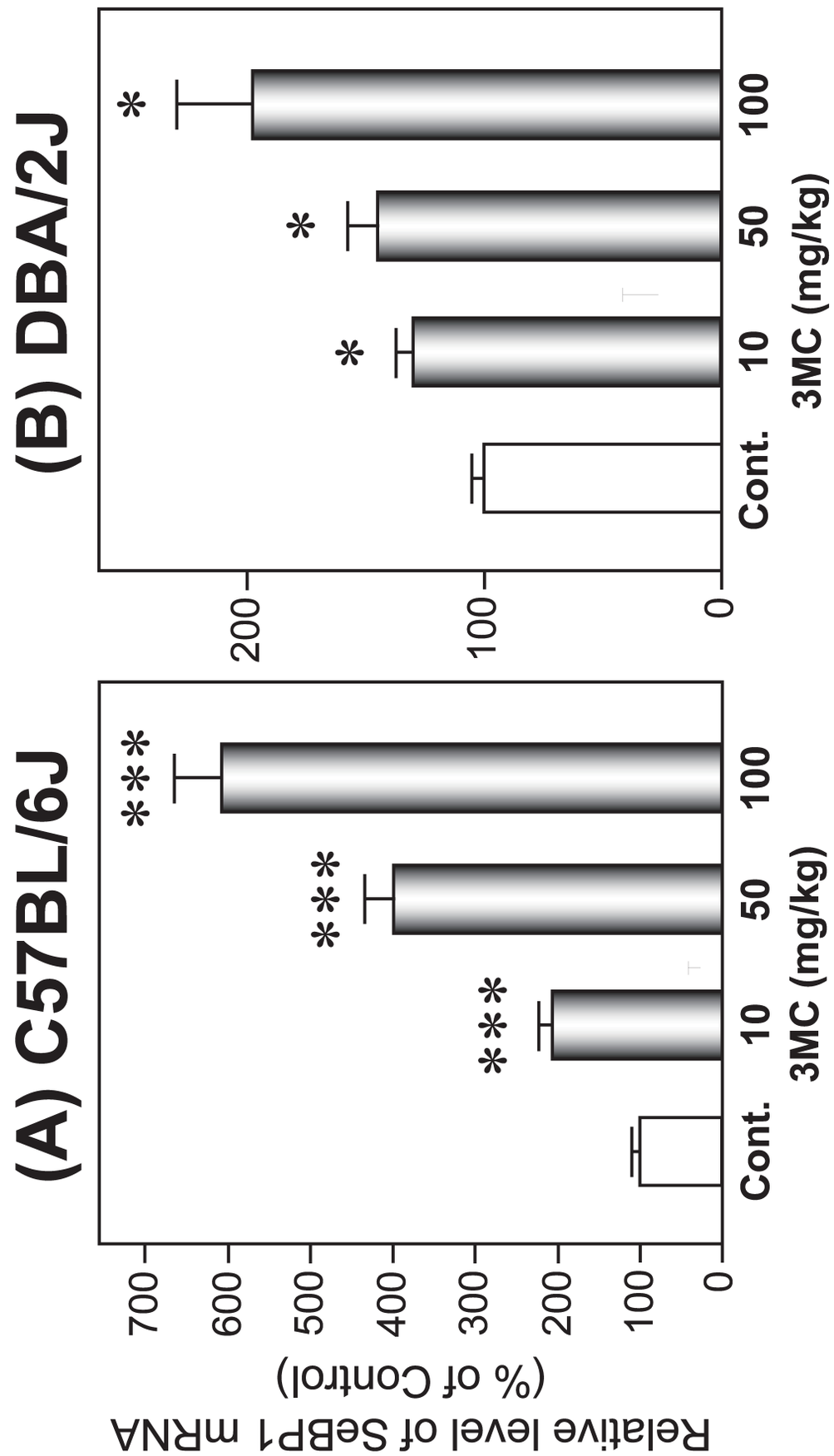


Fig. 2. Dose-dependent change in the hepatic expression of selenium-binding protein 1 (SeBP1) mRNA in the male mice exposed to 3-methylcholanthlene (3MC). Each bar represents the mean ± S.E.M. of 6 mice. Significantly different from the control; $*p<0.05$, $***p<0.001$.

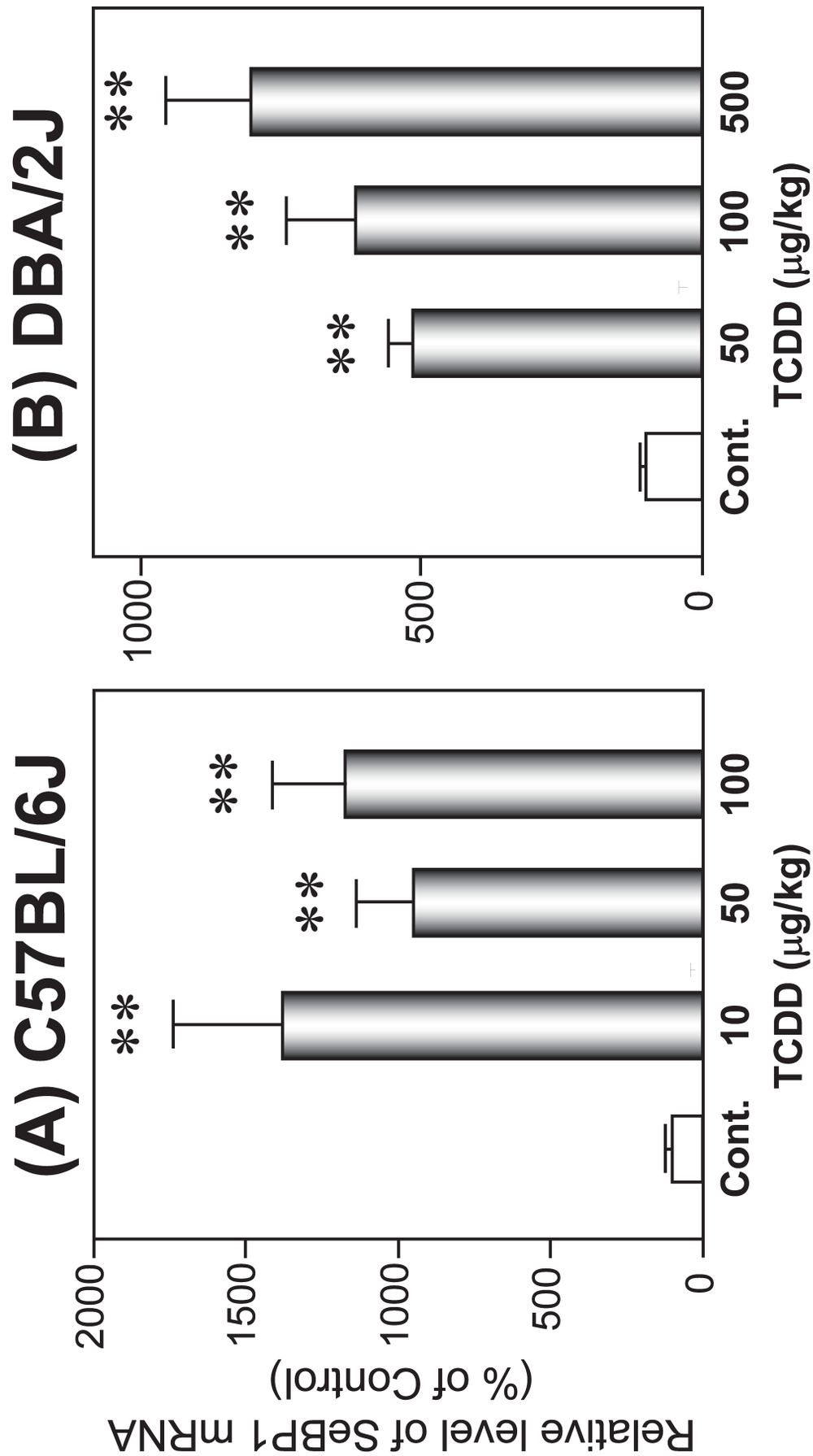


Fig. 3. Induction of of hepatic SeBP1 mRNA in the male mice by TCDD. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 6 mice. Significantly different from the control; $^{**}p<0.01$.

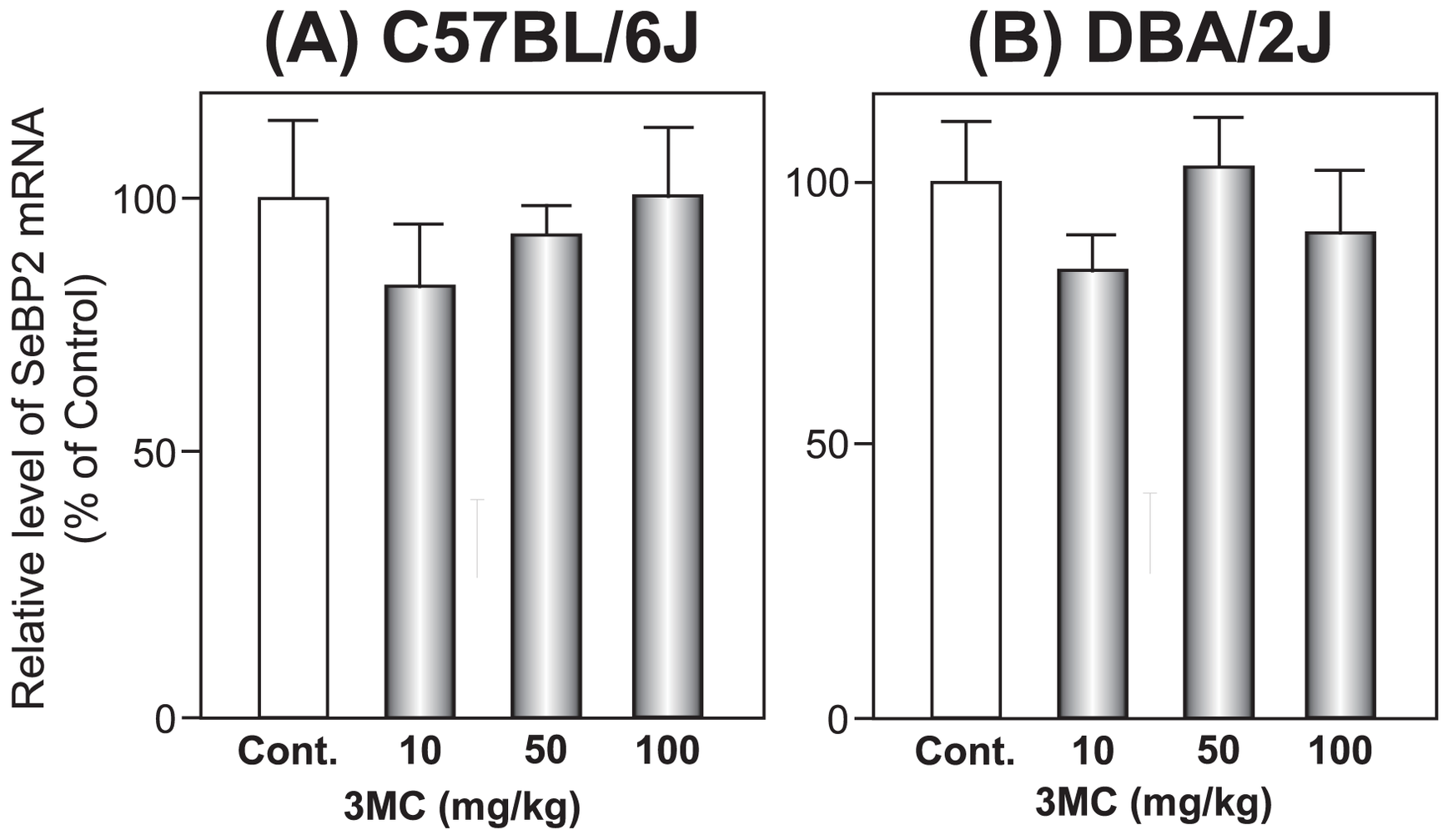


Fig. 4. Absence of the effect of 3-methylcholanthrene (3MC) on the hepatic expression of selenium-binding protein 2 (SeBP2) mRNA in male mice. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 6 mice.

分 担 研 究 報 告 書

2,2',3,4',4,5',6-七塩素化ビフェニル(CB183)のin 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　4-Hydroxy (OH)-CB187はヒト血液中で最も高濃度で検出されるPCB代謝物である。昨年までに親PCBとして可能性があるCB187とCB183のin vitro代謝を調べた結果、4-OH-CB187はCB187からのみ生成され、CB183からは生成されないことが明らかとなった。そこで、この点をさらに確認するため、本年度はCB183をラットおよびモルモットに投与し、血液、肝、糞におけるCB183代謝物を調べた。その結果、両動物の血液、肝および糞のいずれからも4-OH-CB187は検出されなかった。このことから、4-OH-CB187はラットおよびモルモットのin vivo代謝系においても、CB183からは生成されないことが確認された。なお、CB183のin vivo代謝において、ラットとモルモットで大きな種差が明らかになった。すなわち、CB183投与動物の糞中CB183量の比較から、ラットの方がCB183未変化体の排泄能力がはるかに高いことが示唆された。また、各組織中の代謝物（3'-OH体、5-OH体）をみると、モルモットでは3'-OH-183の生成量がラットよりはるかに多いことも示唆された。

A. 研究目的

4-Hydroxy (OH)-CB187 は、哺乳動物血液中で最も高濃度に存在する PCB 代謝物として、注目されている[1-5]。本代謝物の親 PCB としては CB187 と CB183 が考えられるが、昨年までに CB187 の代謝をラットおよびモルモット肝ミクロゾーム(Ms)を用いて検討したところ、微量ながらも本代謝物が生成されることを確認した[6]。さらに、4-OH-CB187 が CB183 から生成されるか否か明らかにするため、同様に動物肝 Ms による CB183 の in vitro 代謝を調べた結果、**Fig. 1** に示すように、いずれの動物肝でも２種類の代謝物、すなわち 3'-OH-CB183(M-1) および 5-OH-CB183(M-2)が生成されるが、4-OH-CB187 は CB183 から生成されないことが示唆された[7,8]。そこで本研究では、この事実をさらに in vivo 代謝系で確認するため、CB183 をラットおよびモルモットに腹腔内投与し、上記代謝物の血液、肝および糞への分布を調べるとともに、4-OH-CB187 の生成の有無を調べた。

B. 研究方法

① 実験動物と薬物前処理：未処理あるいは薬物(PB、MC)前処理 Wistar 系雄性ラット(体重約 200 g)および Hartley 系雄性モルモットに CB183 (80 μmol/kg)を１回腹腔内投与した。投与後、４日間の糞を集めるとともに、４日目に屠殺し、肝臓および血液を採取した。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 24 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 CB183 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、ラットおよび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

CB183投与後４日目の血液中への代謝物の分布をラットとモルモットで比較した(Table 1)。まず、未処理ラットでは、CB183、M-1およびM-2の濃度はそれぞれ5.4、0.2および0.3 nmol/ml serumであった。PB前処理によりM-1とM-2がいずれも約1.8倍に増加したが、MC前処理によりいずれも約60%に減少した。一方、未処理モルモットでは、CB183はラットと同程度であったが、M-1はラットより４倍高く、逆にM-2はラットの半分であった。PB前処理ではM-2のみ3.3倍に増加したが、MC前処理ではラットと同様に両代謝物とも50%以下に顕著に減少した。

次に、肝への分布をラットとモルモットで比較した(Table 1)。ラット肝では、すべての処理群でCB183未変化体が大部分を占めており(67.9 nmol/g wet liver)、代謝物は極微量であった（M-1＜M-2）。PBとMC前処理の場合、両代謝物の変動は血中の場合と同じであった。一方、モルモット肝では、CB183がラットの半分以下と少ないものの、両代謝物はラットより多く、特にM-1量はラットの40～100倍であった。なお、PBおよびMC前処理では肝中の両代謝物が有意に減少した。

さらに、CB183投与後４日間の糞中のCB183と両代謝物をラットおよびモルモットで比較した(Table 2)。未処理ラットではCB183は27.6 nmol/g dry fecesで、投与量の約3％相当分が検出された。また、PBおよびMC前処理ラットではいずれも約2倍に増加した。しかし、未処理モルモットではCB183は18.4 nmol/g dry fecesであったが、PBおよびMC前処理により、それぞれ未処理の63%および46%に有意に減少した。糞中代謝物は、M-1とM-2が検出されたが、ラットではM-1とM-2が同程度かM-1が若干高いのに対し、モルモットではM-1がM-2の約5倍多く検出された。また、PB前処理の場合、ラットではM-1とM-2はそれぞれ未処理の2.3倍と3.4倍に顕著に増加したが、モルモットではほとんど影響は見られなかった。MC前処理の場合、ラットでは両代謝物は未処理の約50%まで低下したが、モルモットではM-2のみ有意に減少した。

D. 考察

ラットとモルモットにおける CB183 とその代謝物 3’-OH 体(M-1)および 5-OH 体(M-2)の分布を調べたところ、大きな種差が明らかになった。すなわち、CB183 は腹腔内投与であることから、血管内へと吸収された後、肝を経由し胆汁からあるいは小腸壁から糞中へ排泄されると考えられる。糞中 CB183 量の比較から、ラットの方が CB183 の排泄能力がはるかに高いことが示唆された。また、各組織中の両代謝物の生成量をみると、モルモットでは 3’-OH 体がラットよりはるかに多いことも示唆された。なお、4-OH-CB187 は in vivo 代謝系でも全く検出されなかったことから、ラットおよびモルモットのいずれにおいても CB187 由来であり、CB183 から生成されないことが確認された。

E. 結論

本研究により、ヒト血中で最も高濃度で検出されるPCB代謝物の4-OH-CB187はラットおよびモルモットのin vivo代謝系でも、CB183からは生成されないことが明らかとなった。

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, Y. Ito, A. Fujii, T. Yamazaki, T. Endo, N. Koga, S. Yamada, and M. Degawa, Polychlorinated Biphenyl-Mediated Decrease in Serum Thyroxine Level in Rodents. *Drug Metab. Dispos.*, **38**, 697-704 (2010).

2) C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, F. Matsubara, and N. Koga, Species difference in the *in vitro* metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (CB180). *Organohalogen Compds*, **72**, 1796-1799 (2010)

2. 学会発表

1)「Species difference in the in vitro metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl(CB180)」第 30 回国際学会 Dioxin 2010 (Hotel Rivercenter, San Antonio, 米国) 平成 22 年 9 月 12～17 日

2)「2,3',4,5,5'-五塩素化ビフェニル(PCB120)のラットおよびモルモット肝ミクロゾームによる代謝」フォーラム 2010：衛生薬学・環境トキシコロジー（星薬科大学, 東京）2010 年 9 月 9,10 日

3)「PCB149 のラット肝による in vitro 代謝：CYP3A 酵素の関与」 日本薬学会第 131 年会(岡山市) 平成 23 年 3 月 28～31 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, H. Kuroki, *Environ. Health Perspect.*, **102**, 464-469 (1994).
2. C. D. Sandau, P. Ayotte, E. Dewailly, J. Duffe, 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, 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. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, N. Koga, *Xenobiotica*, **35**, 319-330 (2005).
7. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, M. Ozaki, N. Koga, *Organohalogen Compds.*, **68**, 1733-1736 (2006).
8. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, M. Matsuoka, T. Endo, N. Koga, *Organohalogen Compds.*, **69**, 1761-1764 (2007).

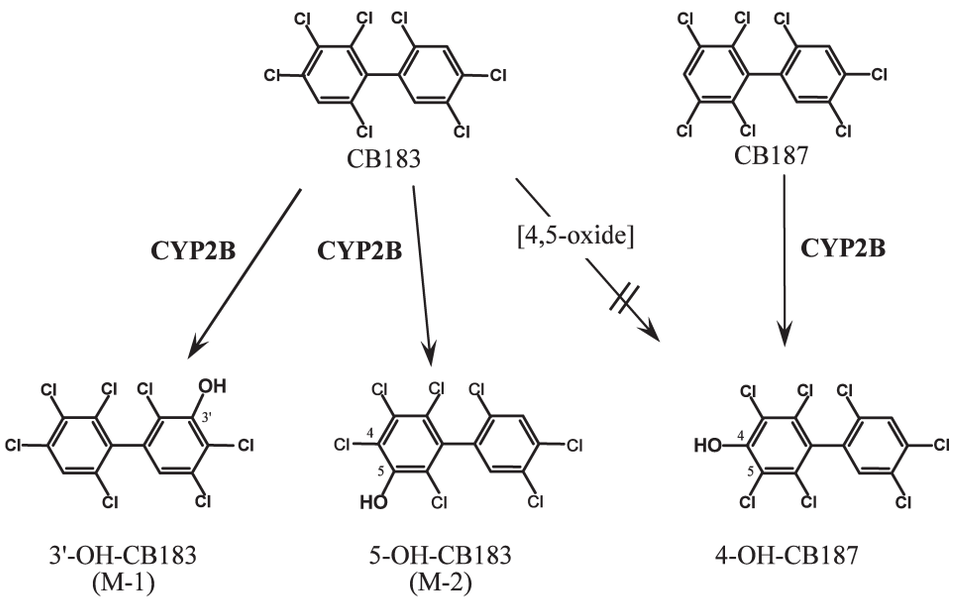


Fig. 1　Metabolic pathways of CB183 in animal liver.

Table 1 Concentration of CB183 metabolites in the serum and liver of untreated, PB- and MC-treated rats and guinea pigs administered with CB183.

			Concentration (nmol/g wet weight)		
Animal	Tissue	Treatment	CB183	M-1	M-2
Rat	Serum	Untreated	5.44 ± 3.70 (100)	0.21 ± 0.17 (100)	0.32 ± 0.36 (100)
		PB-treated	5.76 ± 1.40 (106)	0.39 ± 0.18 (186)	0.57 ± 0.31 (178)
		MC-treated	5.12 ± 2.13	0.13 ± 0.11 (94)	0.21 ± 0.16 (62)(65)
	Liver	Untreated	67.90 ± 9.19 (100)	0.06 ± 0.10 (100)	0.31 ± 0.07 (100)
		PB-treated	69.96 ± 3.77 (103)	0.18 ± 0.07 (314)	0.44 ± 0.10 (140)
		MC-treated	80.82 ± 21.09 (119)	0.02 ± 0.03 (34)	0.17 ± 0.11 (55)
Guinea pig	Serum	Untreated	5.28 ± 1.09 (100)	0.92 ± 0.39 (100)	0.17± 0.08 (100)
		PB-treated	3.26 ± 0.84* (62)	0.78 ± 0.21 (85)	0.56 ± 0.32 (329)
		MC-treated	4.59 ± 1.44	0.41 ± 0.17 (87)	0.04 ± 0.04* (45) (24)
	Liver	Untreated	27.47 ± 6.61 (100)	7.88 ± 0.72 (100)	1.33 ± 0.11 (100)
		PB-treated	15.96 ± 4.66* (58)	4.51 ± 1.75* (57)	0.86 ± 0.35 (65)
		MC-treated	13.89 ± 1.22* (51)	2.15 ± 0.81* (27)	0.32 ± 0.16* (24)

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

* Significantly different from untreated animals, $p<0.05$.

Table 2 Concentration of CB183 metabolites in the feces of untreated, PB- and MC-treated rats and guinea pigs administered with CB183.

	Concentration (nmol/g dry feces)		
Treatment	CB183	M-1	M-2
Rat			
Untreated	27.57 ± 10.41	4.79 ± 3.68	3.39 ± 3.08
	(100)	(100)	(100)
PB-treated	65.02 ± 9.35*	10.87 ± 3.05*	11.41 ± 2.28*
	(236)	(227)	(337)
MC-treated	60.67 ± 31.30	2.33 ± 0.58	1.91 ± 0.37
	(220)	(49)	(56)
Guinea pig			
Untreated	18.38 ± 1.23	4.11 ± 0.59	0.81 ± 0.12
	(100)	(100)	(100)
PB-treated	11.52 ± 4.41*	5.01 ± 1.85	1.07 ± 0.47
	(63)	(122)	(132)
MC-treated	8.45 ± 2.02*	3.95 ± 2.65	0.57 ± 0.08*
	(46)	(96)	(70)

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

* Significantly different from untreated animals, $p<0.05$.

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】　なし

【雑誌】
発表者氏名，論文タイトル名，発表誌名，巻号，ページ，出版年，

古江増隆
Chiba T, Uchi H, Tsuji G, Gondo H, Moroi Y, Furue M. Arylhydrocarbon receptor (AhR) activation in airway epithelial cells induces MUC5AC via reactive oxygen species (ROS) production. Pulm Pharmacol Ther. 2010 Aug 13. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20709182.

Nagayama J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Yoshimura T, Furue M. Polychlorinated dibenzofurans as a causal agent of fetal Yusho. Chemosphere. 2010 Jul;80(5):513-8. Epub 2010 May 21. PubMed PMID: 20494401.

Matsumoto S, Kanagawa Y, Koike S, Akahane M, Uchi H, Shibata S, Furue M, Imamura T. Twenty-year changes of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) level and symptoms in Yusho patients, using association analysis. BMC Res Notes. 2010 May 5;3:129. PubMed PMID: 20444288; PubMed Central PMCID: PMC2880124.

Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Yasutake D, Onozuka D, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Furue M. Relationship between the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in maternal blood and those in breast milk. Chemosphere. 2010;78(2):185-92.

赤羽　学
Matsumoto S, Kanagawa Y, Koike S, Akahane M, Uchi H, Shibata S, Furue M, Imamura T. Twenty-year changes of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) level and symptoms in Yusho patients, using association analysis. BMC Res Notes. 5;3:129, 2010.

内　博史
Chiba T, Uchi H, Tsuji G, Gondo H, Moroi Y, Furue M. Arylhydrocarbon receptor (AhR) activation in airway epithelial cells induces MUC5AC via reactive oxygen species (ROS) production. Pulm Pharmacol Ther. 2010 Aug 13. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20709182.

古賀信幸

C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, F. Matsubara and N. Koga, Species difference in the *in vitro* metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (CB180). Organohalogen Compounds, 72, 1796-1799 (2010).

Y. Kato, K. Haraguchi, Y. Ito, A. Fujii, T. Yamazaki, T. Endo, N. Koga, S. Yamada, M. Degawa, Polychlorinated biphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in rodents. Drug Metab. Dispos., 38(4), 697-704 (2010).

長山淳哉

Nagayama J., Todaka T., Hirakawa H., Hori T., Kajiwara J., Yoshimura T and Furue M.: Polychlorinated dibenzofurans as a causal agent of fetal Yusho. Chemosphere, 80(5): 513-518, 2010.

福岡県保健環境研究所（平田輝昭）

Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Hori T., Tobiishi K., Yasutake D., Onozuka D., Assaki S., Miyashita C., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Furue M.: Relationship between the concdentrations of plychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in maternal blood and those in breast milk. Chemosphere 78: 185-192, 2010.

Tobiishi K. , Todaka T., Hirakawa H and Kajiwara J. Improvement of the Measurement Method for Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls (OH-PCBs) in Blood by LC/MS/MS.: Organohalogen Compounds. 72: in press 2010.

Kajiwara J. , Todaka T. , Hirakawa H. ,Hori T. , Tobiishi K., Yasutake D. , Onozuka D. , Takao Y., Uchi H., and Furue M.: Concentrations of Yusho-related polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans in blood of Yusho patients.: Organohalogen Compounds, 72: in press 2010

山田英之

Koga, T., Takeda, T., Ishii, Y., Ishida, T., and Yamada, H., Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with a vitamin, α-lipoic acid. submitting.