平成26年度厚生労働科学研究費補助金
食品の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24～26年度　総合研究報告書
平成26年度　総括・分担研究報告書

研究代表者　古江　増隆

平成 27（2015）年3月

平成 24～26 年度　総 合 研 究 報 告 書

平成 26 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 24 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　准教授）
赤峰　昭文　（九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野　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）
上松　聖典　（長崎大学病院眼科　講師）
宇谷　厚志　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学　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）
古賀　信幸　（中村学園大学栄養科学部　教授）
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　（九州大学病院メディカル・インフォメーションセンター　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　（福岡工業大学環境科学研究所　客員研究員）
林　信太郎　（九州大学大学院医学研究院神経内科　助教）
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　准教授）
山田　英之　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　教授）
吉冨　泉　　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科口腔腫瘍治療学分野　助教）
吉村　健清　（福岡女子大学国際文理学部　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

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）
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　講師）
大八木 保政　（九州大学大学院医学研究院神経内科　准教授）
岡元 冬樹　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　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）
川﨑 五郎　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科口腔腫瘍治療学分野　准教授）
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）
久保 達彦　（産業医科大学公衆衛生学教室　講師）
小池 雄太　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
古賀 沙緒里　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　学術研究員）
櫻井 利彦　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　課長）
里村 暁子　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
清水 和宏　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学　准教授）
鈴木 邦裕　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野）
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）
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）
竹中 重幸　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　課長）
千々和 勝己　（福岡県保健環境研究所　保健科学部　部長）
塚谷 裕子　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　研究員）
戸高　尊　（九州大学医学部　学術研究員）
飛石 和大　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　研究員）
中川 礼子　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　研究員）
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）
濵田 直樹　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　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）
藤野 善久　（産業医科大学公衆衛生学教室　准教授）
堀川 和美　（福岡県保健環境研究所　病理細菌課　課長）
堀　就英　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　専門研究員）
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）
横山 哲也　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野）

（五十音順）

平成 25 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　准教授）

石橋　達朗　　（九州大学大学院医学研究院眼科学分野　教授）

今福　信一　　（福岡大学医学部皮膚科　准教授）

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）

上松　聖典　　（長崎大学病院眼科　講師）

宇谷　厚志　　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学　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）

江崎　幹宏　　（九州大学大学院病態機能内科学　講師）

古賀　信幸　　（中村学園大学栄養科学部　教授）

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　　（九州大学病院メディカル・インフォメーションセンター　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）

林　信太郎　　（九州大学大学院医学研究院神経内科　助教）

平田　輝昭　　（福岡県保健環境研究所　所長）

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）

吉冨　泉　　（諫早総合病院歯科口腔外科　部長、
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科口腔腫瘍治療学分野　客員研究員）

吉村　健清　　（福岡女子大学国際文理学部　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

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）
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　講師）
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）
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）
川﨑 五郎　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科口腔腫瘍治療学分野　准教授）
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）
久保 達彦　（産業医科大学公衆衛生学教室　講師）
鍬塚 大　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学　助教）
古賀 沙緒里　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　学術研究員）
小木曽 俊孝　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　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）
里村 暁子　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
謝　篤傑　（熊本保健科学大学大学院保健科学研究科）
新谷 依子　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）
世良 暢之　（福岡県保健環境研究所　病理細菌課　課長）
髙尾 佳子　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　主任技師）
高橋 浩司　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　研究員）
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）
竹中 重幸　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　課長）
塚谷 裕子　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　研究員）
戸高 尊　（九州大学医学部　学術研究員）
飛石 和大　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　専門研究員）
濵田 直樹　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　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）
藤野 善久　（産業医科大学公衆衛生学教室　准教授）
堀川 和美　（福岡県保健環境研究所　保健科学部　部長心得）
堀　就英　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　専門研究員）
松本 伸哉　（奈良県立医科大学　健康政策医学講座　専修生）
峯　嘉子　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
宮脇 崇　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　主任技師）
村田 さつき　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）

（五十音順）

平成 26 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　准教授）

石橋　達朗　（九州大学大学院医学研究院眼科学分野　教授）

今福　信一　（福岡大学医学部皮膚科　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）

上松　聖典　（長崎大学病院眼科　講師）

宇谷　厚志　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学　教授）

内　博史　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学　准教授）

江崎　幹宏　（九州大学大学院病態機能内科学　講師）

川崎　五郎　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科　准教授）

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　周産期センター長）

辻　博　（北九州津屋崎病院内科　部長）

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）

二宮　利治　（九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンター研究計画管理部門　教授）

林　信太郎　（九州大学大学院医学研究院神経内科　講師）

平田　輝昭　（福岡県保健環境研究所　所長）

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　健清　（福岡女子大学国際文理学部　教授）

吉村　惠　（熊本保健科学大学大学院　教授）

（五十音順）

研究協力者

東　晃一　（九州大学大学院病態機能内科学）
飯田　隆雄　（㈶北九州生活科学センター　理事長）
石井　祐次　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　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　講師）
小野塚　大介　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　研究員）(*)
梶原　淳睦　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　課長）
神奈川　芳行　（奈良県立医科大学　健康政策医学講座　非常勤講師）
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）
久保　達彦　（産業医科大学公衆衛生学教室　講師）
鍬塚　大　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学　助教）
小木曽　俊孝　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　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）
新谷　依子　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）
申　敏哲　（熊本保健科学大学　准教授）
世良　暢之　（福岡県保健環境研究所　病理細菌課　課長）
高橋　浩司　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　研究員）
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）
竹中　重幸　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　課長）
塚谷　裕子　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　研究員）
坪内　和哉　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野）
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　計測技術課　専門研究員）
新谷　俊二　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　専門研究員）
濵田　直樹　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　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）
藤野　善久　（産業医科大学公衆衛生学教室　准教授）
堀川　和美　（福岡県保健環境研究所　保健科学部　部長心得）
松本　伸哉　（奈良県立医科大学　健康政策医学講座　博士研究員）
峯　嘉子　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
宮脇　崇　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　研究員）
村田　さつき　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）
安武　大輔　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）

（五十音順）

(*):九州大学医学研究院に転出

目　　次

Ⅰ．平成 24～26 年度総合研究報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……1
研究代表者　古江 増隆

Ⅱ．平成 26 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……14
研究代表者　古江 増隆

Ⅲ．平成 26 年度分担研究報告書

01. 油症認定患者追跡調査の基盤情報の構築 ……22
研究分担者　吉村　健清
研究協力者　藤野　善久，久保　達彦

02. 地域住民における血中ダイオキシン類濃度と
疾病および疾病マーカーに関する疫学調査……26
研究分担者　二宮　利治

03. 油症の健康影響に関する疫学的研究……29
研究分担者　平田　輝昭
研究協力者　櫻井　利彦，新谷　俊二，小野塚　大介，梶原　淳睦

04. 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……37
研究分担者　石橋　達朗

05. 油症患者における口腔乾燥症に関する研究 ……39
研究分担者　川崎　五郎

06. 油症検診受診者におけるマイボーム腺欠損の変化 ……41
研究分担者　上松　聖典
研究協力者　北岡　隆

07. 油症患者における骨密度の解析……44
研究分担者　岩本 幸英
研究協力者　福士 純一

08. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査……50
研究分担者　平田　輝昭
研究協力者　梶原　淳睦，平川　博仙，高橋　浩司，安武　大輔，
村田　さつき，新谷　依子，小木曽　俊孝，竹中　重幸，
飛石　和大，塚谷 裕子，宮脇　崇，櫻井 利彦，新谷 俊二，
世良 暢之，堀川 和美，戸高　尊

09. 油症患者血液中 PCB 等追跡調査における分析法の改良
およびその評価に関する研究……61
研究分担者　平田　輝昭
研究協力者　梶原　淳睦，平川　博仙，戸高　尊，飯田　隆雄

10. 油症における免疫機能に関する研究……64
研究分担者　辻　博

11. 油症認定患者における soluble EGFR の検討……70
研究分担者　宇谷　厚志
研究協力者　鍬塚　大

12. 長崎県油症認定患者における末梢血リンパ球分画、Treg 細胞の検討……74
研究分担者　宇谷　厚志
研究協力者　峯　嘉子

13. 油症患者における血清微量金属濃度に関する研究……79
研究分担者　内　博史，今福　信一

14. 大脳認知機能の客観的評価法の開発
および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討……82
研究分担者　重藤 寛史，林　信太郎
研究協力者　吉良 潤一

15. 油症曝露による継世代健康影響に関する研究
- 油症患者における AhR 遺伝子多型と
児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連 -……89
研究分担者　月森　清巳

16. カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期の変化と
体重の変化の関係に関する研究……95
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

17. ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける
surfactant protein についての検討……101
研究分担者　中西　洋一
研究協力者　濵田　直樹，坪内　和哉

18. ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響……106
研究分担者　江崎　幹宏
研究協力者　東　晃一

19. 2,2’,3,3’,4,4’,5-七塩素化ビフェニル(PCB170)の
動物肝ミクロゾームによる代謝……108
研究分担者　古賀　信幸
研究協力者　太田　千穂

20. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による
leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析：遺伝子改変動物での検討
……114
研究分担者　山田　英之
研究協力者　石井　祐次，武田　知起

21. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響
：機構解析および改善方策についての検討……122
研究分担者　山田　英之
研究協力者　石井　祐次，武田　知起

22. ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用の研究……129
研究分担者　吉村　惠
研究協力者　申　敏哲

Ⅳ. 研究成果の刊行に関する一覧表……130

総合研究報告書

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

研究代表者　古江増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授

研究要旨　油症は polychlorinated biphenyl (PCB)と polychlorinated dibenzofuran (PCDF)の混合中毒である。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-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF)に関する項目を追加した新しい診断基準を作成した。また 2012 年 12 月に国からの要請を受け、同居家族認定者に関する条件を追補した。新たに認定されたのは、2012 年度 41 名、2013 年度 4 名、2014 年度 4 名、同居家族認定は 2012 年度 171 名、2013 年度 74 名、2014 年度 12 名（2015 年 1 月末まで）で、全認定患者数は 2,277 名であった。油症患者の症状を把握し、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改良測定方法・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アダパレン臨床試験と治頭瘡一方内服試験を行った。認定患者追跡調査実施のための調査ファイルの基盤整備を進めた。2012 年から 2014 年度油症一斉検診を行い、内科、眼科、歯科、皮膚科受診者の情報収集・管理し、所見を把握した。2013 年度受診認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.7～1,792 pg/g lipid と広範囲であるが、約 50%の患者は 50　pg/g lipid 以下であった。また、男性より女性の方が血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い傾向にあった。骨密度・自己抗体検査・血中 surfactant protein・IL-26・IL-33・heat shock protein (HSP)27・可溶性 EGFR・制御性 T 細胞数など、さらに血清アディポカイン濃度・微量金属濃度についてダイオキシン類濃度との相関を検討した。ダイオキシン類の継世代影響を検討するために、次世代、次々世代の男児出生比率、アレルギー性疾患発症、ダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型と児への健康影響との関連について検討した。油症患者の生体内におけるダイオキシン類の動態を調べるため、ダイオキシン類の体内負荷量変化率と AhR の SNP（一塩基多型）の関係、ダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係について解析した。大脳レベルの感覚認知機能の変化に関する研究を行った。基礎的研究では、１）ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響についての研究、２）各種 PCB 代謝に関する研究、３）2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義の検討、４）TCDD による胎児脳下垂体ホルモンへの影響についての検討、５）2,3,4,7,8-PeCDF の *in vivo* 毒性再評価、６）ダイオキシン長期投与による末梢神経伝導速度に対する作用の解析などを行った。また患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表、および次年度の実態調査票の改正点の検討を行った。加えて、医療者向けのパンフレットを油症対策委員会で検討し作成した。

最後に研究を通じて明らかになった様々な事実について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 46 年が経過した。油症は人類が PCB とダイオキシン類を直接摂取した、人類史上きわめてまれな事例である。ダイオキシン類が人体にこれほど長期間にわたって及ぼす影響については明確になっていない。2002 年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 13 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改良測定方法・排泄方法や、様々な症状を緩和する方法について開発するために、ダイオキシン類の患者生体内での半減期、代謝動態に対する解析や、基礎的研究も継続する。

（倫理面に対する配慮）

研究によって知りえた事実については患者のプライバシーに十分配慮しながら、公表可能なものは極力公表する。

B．研究方法

I. 班長が担当する研究

１．班長は、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター（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した。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．臨床試験の解析

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、解析する。

９．油症対策委員会の開催

患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および次年度の実態調査票の改正点の検討、医療者向けのパンフレット案の検討を行う。

Ⅱ．九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究

１．検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法などを用いて、統計学的に解析し、経年変化の傾向について調査する。

２．油症患者体内に残存する PCBs，PCQ や PCDFs 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

パンフレットの更新作成、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、
油症の現況と治療の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/member/index.html に、
カネミ油症の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html に、
油症研究 - 30 年の歩み - は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html に
油症研究 II 治療と研究の最前線は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html に、
1 年おきに福岡医学雑誌の特集号として発行している油症研究報告集は
http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html に
厚生労働省科学研究費補助金による研究結果は
http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html にそれぞれ掲載している。

３．油症認定患者追跡調査およびデータベースの構築

研究班申請手順に従い、油症検診データ、油症患者実態調査データを許可を得て入手した。現在、データファイルの照合、油症相談員担当地区での認定患者現状調査を終了し、その結果をもとに相談員情報に基づいた油症認定患者の一元化ファイルを作成した。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。

４．患者の実態把握と情報発信に関する研究

カネミ油症患者の意見を伺いつつ、
2012-2014 年度の健康実態調査票及びカネミ油症に関する啓発パンフレット案の作成を行った。カネミ油症に関する研究と連動して、患者の実態把握と情報発信を行うことが重要と考えられた。

５．台湾油症追跡研究の最新の知見および死因追跡調査

日本油症、台湾油症それぞれ事件発生から 46 年、35 年経過し、死因追跡調査が進んできた。今年度、台湾油症 30 年後の死亡調査結果が報告された。その結果、両油症事例は、ほぼ同じ食用油にダイオキシン類が混入して患者発生を見たにもかかわらず、悪性新生物死亡など、両事例の死因追跡調査の結果は必ずしも同じでないことが観察された。

６．地域住民における血中ダイオキシン類濃度と疾病および疾病マーカーに関する疫学調査

ダイオキシン類は細胞に酸化ストレスを与えるため、様々な病態を引き起こすと考えられている。しかしながら、ダイオキシン類による人体影響の実態は未だ不明な点が多い。本研究は、地域住民において血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾病マーカーとの関連を検討する。本年度は、次年度に疫学調査を施行するための準備として、研究究計画の立案や調査場所の選定、リサーチアシスタントの教育などを行った。

７．油症患者の臨床症状を軽減するための臨床試験

１）アダパレン臨床試験

油症患者 15 名を対象に、尋常性痤瘡に有効であるアダパレン（ディフェリンゲル®）外用の効果を検討した。15 名全員が 12 週間の外用を終了し、重大な有害事象は発生しなかった。他覚的皮膚症状重症度では、面疱は重症例ではほとんど改善を認めなかったが、中等症、軽症では 1 段階程度の改善が認められた。痤

瘡様皮疹は 3 例では開始時から症状を認めなかったが、多くの症例で 1 段階から 2 段階の改善を認めた。いずれも増悪した例はなかった。全般改善度では悪化した例はなく、6 例で不変、その他は軽快あるいはかなり軽快と判断された。満足度はすべての質問項目で比較的高く、一定の効果を実感したことが推察された。

２）治頭瘡一方内服試験

2013 年に行った治頭瘡一方の内服試験は終了し、現在結果を解析中である。

８．油症患者検診結果

2011 年度の油症検診は、559 名が受診し、認定者 357 名(63.9%)、未認定者 202 名(36.1%)であった。2012 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、辺縁性歯周炎罹患率ならびに口腔内色素沈着発現率を調べた結果、いずれも健常者に対して高い割合を示した。辺縁性歯周炎罹患率ならびに口腔内色素沈着発現率とも、女性に比べて男性で、また、高齢者より若い世代で高い値を示した。2012 年度長崎県地区における検診を受診した 187 名中９名に顎関節症の症状が認められた。顎関節の症状として、疼痛、開口障害および顎関節雑音が認められた。発生率は 4.8％で、一般の顎関節症の発症と比較しほぼ同程度の発生率であった。皮膚科検診では油症特有の症状が残存している受診者が確認された。眼科検診では、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。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、年齢が上がると有意に網膜細動脈硬化性変化が進むという結果が得られた。また認定患者において血清中性脂肪濃度が、未認定患者において高血圧症の有無が有意に関連した。

2012 年度の油症一斉検診は、664 名が受診し、認定者は 415 名(62.5%)、未認定者は 249 名(37.5%)、性別では、男性は 311 名(46.8%)、女性は 353 名（53.2%）であった。年齢階級別では、70～79 歳（24.1%）が一番多く、次いで、60～69 歳（21.7%）、50～59 歳（21.5%）の順で、50 歳以上は全体の 81.6%であった。自覚症状で最も訴えが多かったのは全身倦怠感で 7 割以上であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が最も高かった。2013 年度の福岡県における油症一斉検診で眼科の受診者は 276 名で、自覚症状では眼脂過多を訴えるものが多かった。

2013 年度の検診受診者は 746 名で、50 歳以上が全体の 8 割以上であった。自覚症状で最も訴えが多かったのは全身倦怠感で 7 割以上であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が最も高かった。眼科受診者は 255 名であり、前年度よりも 21 名少なかった。

９．油症検診受診者におけるマイボーム腺欠損についての研究

１）マイボーム腺欠損の程度と年齢、及び血中 PeCDF 濃度

2013 年度の長崎県における油症一斉検診で眼科を受診した 132 名について、マイボーム腺の欠損の程度をマイボスコアとして 13 段階にスコアリングした。マイボスコアと年齢及び血中 PeCDF 濃度の相関を重回帰分析で検討した。その結果、油症患者におけるマイボーム腺欠損の程度には年齢が関与するが、血中 PeCDF 濃度は関与しなかった。

２）マイボーム腺欠損の変化

マイボーム腺機能異常は油症に特異的な病態である。マイボーム腺欠損の経時的変化を評価し、マイボーム腺欠損の進行が血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度に影響されるか検討した。その結果、油症検診受診者において血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度はマイボーム腺欠損の１年間の変化に関与しなかった。

１０．油症患者における口腔内症状に関する研究

１）唾液の性状に関する研究

油症地区における唾液の性状について検討するために、2012 年度長崎県地区における検診の際に唾液を採取し分析可能であった症例についてメタボローム解析を行った。121 種の代謝産物が同定され、対照と比較して平均し

て 2 倍以上の値を示したものが 38 産物、うち 4 倍以上の値を示したものが 11 産物みられた。高い値を示した代謝産物のなかにはアミノ酸が多く含まれており、唾液腺細胞におけるプロテアーゼ活性の上昇との因果関係が示唆された。

２）油症患者における口腔乾燥症に関する研究

油症の歯科検診において口腔乾燥症を訴える患者はしばしば認められる。しかしながら、実際には口腔乾燥があまり認められないにもかかわらず、口腔乾燥感を訴える場合もみられる。そこで、今回、口腔乾燥状態を客観的に調べるため口腔水分計を用いて研究を行った。長崎県地区における油症の認定者と未認定者を対象に、歯科検診時に任意に選んだ患者について測定し検討を行った。今回の結果では、測定値は 23.1 から 31.2 とばらつきはみられたが、平均値に関しては地域間や認定者未認定者間に有意な差は認められなかった。

１１．油症患者における骨密度の解析

2010 年度全国油症一斉検診の受診者 489 名において骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との関連について検討した。女性の 36%、男性の 4%に YAM%70 未満の骨密度低下を認め、骨粗鬆症と判定された。末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を男女別に解析すると、居住地および body mass index で調整した場合、女性において 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と骨密度(Z スコア)との間に負の関連を認めた。

１２．カネミ油症検診者の体重減少と成長ホルモン・骨密度の関係、及び CK・アルドラーゼの経年変化について

身長、体重、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。カネミ油症検診者において、男性では低身長，低体重を認めた。PCB は踵骨強度を低下させる可能性があるが，ソマトメジン C や成長ホルモンの関与は明らかではなかった。また、ソマトメジン C は閉経後女性の前腕骨骨密度と正の相関関係をしめしている。

１３．油症における免疫機能に関する研究

2012 年度福岡県油症検診を受診し、免疫機能検査に同意が得られた 251 例について抗核抗体を構成する特異自己抗体を測定し、血中 PCB 濃度および血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との関連について検討した。抗セントロメア抗体を油症患者 3 例、観察者 1 例の計 4 例と最も多く認め、次いで抗 DNA 抗体を油症患者 2 例に認めた。抗セントロメア抗体と血中 PCB 濃度あるいは血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との関連については、血中 PCB 低濃度群に比べ高濃度群において抗セントロメア抗体の出現を有意に高頻度に認めた。2013 年度は 276 例について検討し、抗 SS-A/Ro 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者において血中 PCB 低濃度患者と出現頻度に差をみなかったが、抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者のみに認められ、低濃度患者にみられなかった。2014 年度は 252 例について検討し、抗 Scl-70 抗体は同居家族を含む油症患者 194 例中 5 例（2.6%）、未認定患者 46 例中 3 例（6.5%）に、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は同居家族を含む油症患者 4 例（2.1%）、未認定患者 1 例（2.2%）に認め、ともに出現率に差をみなかった。

１４．油症曝露による継世代健康影響に関する研究

１）次世代、次々世代の男児出生比率

カネミ油症発生後に油症患者より出生した次世代、次々世代の男児の占める割合(男児出生比率)について検討した。対象は油症発生後に児を得た油症患者 437 例(次世代 572 例、次々世代 344 例)とした。油症患者、なかでも 20 歳未満で油症に曝露した患者が母親となった場合には、出生した児(次世代)の男児出生比率(男児数を男児数と女児数の和で除したもの)は 0.450 と低い傾向($p = 0.06$)を示し、さらにこの次世代が母親となった場合の児（次々世代）の男児出生比率は 0.348 と一般集団の

値(0.514)と比較して有意に低値($p = 0.02$)を示した。一方、油症に曝露した患者が父親となった場合には、次世代、次々世代の男児出生比率は一般集団と比較して差異はなかった。

２）油症患者から出生した児のアレルギー性疾患発症に関する検討

カネミ油症発生後に油症患者（母体）から出生した児のアレルギー性疾患（気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アトピー性鼻炎）の発症と母体血中ダイオキシン類濃度との関連について検討した。油症発生後に油症患者 64 例より出生した児 117 例のなかで、気管支喘息は 11 例(9.4%)、アトピー性皮膚炎は 16 例(13.7%)、アレルギー性鼻炎は 11 例(9.4%)に認められた。母体の血中ダイオキシン類濃度と児の気管支喘息およびアトピー性皮膚炎の発症との関連はなかったが、母体の血中ダイオキシン類濃度が 10 倍増加すると児のアレルギー性鼻炎の発症リスクは 0.37 倍に低下する傾向($p = 0.080$)を示した。油症患者から出生した児では一般健常人と比較して気管支喘息有病率が高く、逆にアレルギー性鼻炎有病率は低い傾向にあることが示された。

３）油症患者における AhR 遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連-

油症患者におけるダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連について検討した。油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)における AhR 遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)の頻度は、C/C 型が 53 妊娠(37.3%)、C/T 型が 71 妊娠(50.0%)、T/T 型が 18 妊娠(12.7%)であった。油症発生前 10 年間に妊娠した油症患者 50 例(102 妊娠)における AhR 遺伝子多型の頻度(C/C 型 47.1%、C/T 型 46.1%、T/T 型 6.9%)と比較して有意な差はなかった。油症発生後に妊娠した油症患者における児への健康影響としては、人工流産が 15 例(10.6%)、自然流産が 19 例(15.0%)、胎児死亡（自然流産+死産)が 22 例(17.3%)に認められた。油症発生前の発症頻度と比較すると、人工流産は 1.89 倍、自然流産は 1.94 倍、胎児死亡は 1.47 倍増加したが、有意な差はなかった。油症発生後の児への健康影響(人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生)の有無と AhR 遺伝子多型(C/C 型、C/T 型、T/T 型の各遺伝子型の頻度）との関連について検討したが、いずれの健康影響においても明らかな傾向はなかった。

１５．油症患者血液中の PCDF 類実態調査

2011 年度は、未認定者 202 名、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 76 名の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 73 pg/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 110 pg/g lipid であった。

2012 年度は、未認定者 249 名、認定患者 139 名の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総 TEQ（WHO2005）は 68 pgTEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 110 pg/g lipid であった。

2013 年度は、未認定者 165 名、認定患者 219 名の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総 TEQ(WHO2005)は 53 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 83 pg/g lipid であった。今回から同居家族認定者 51 名が検診を受診したが、同居家族認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 31 pg/g lipid で認定患者全体の平均値より低く、一般人とほぼ同じ値であった。2001 年から 2013 年の 13 年間に血液中ダイオキシン類検査を実施した油症認定患者の実数は 854 名で前年度と比べ 103 名増加し、油症認定患者 2,251 名(平成 25 年 12 月末現在）の約 37.9%の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。内訳は男性 403 名、女性 451 名、平均年齢は 65.1 歳、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 124 pg/g lipid であった。検診受診認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.7～1,792 pg/g lipid と広範囲であるが、約 55%の患者は 50 pg/g lipid 以下であった。また、男性より女性の方が血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い傾向にあった。

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

１）PCB 代謝物の分析法の改良

油症認定患者は体内のダイオキシン、PCB 濃度が高いため PCB 代謝活性が変化していると推察されている。PCB の代謝物である水酸化（OH)PCB を測定するため血液中ダイオキシン及び PCB 類一斉分析法の精製工程を検討し、OH-PCB 類を同時に測定できる分析法を開発した。本分析法を用いて、平成 22 年度油症一斉検診の油症認定患者（総数 230 名）の一部(180 名)の血液中 OH-PCB 濃度を測定した結果、油症認定患者の血液中総 OH-PCB 濃度は一般人の約 4 倍であり、最も濃度の高い OH-PCB 異性体は 4-OH-CB187 であることが明らかになった。さらに、油症認定患者の血液中 OH-PCB とダイオキシン、PCB 類濃度との関連を解析したところ、OH-PCB と PCB 濃度には正の関係が認められたが、OH-PCB と PCDD/DF の濃度には有意な関係は認められなかった。

２）PCB 測定における検体保存期間の影響についての解析

血液中ダイオキシン、PCB 類濃度分析において採血から分析までの血液保存期間の影響を確認するため、コレスチラミンなど治療研究時の脂肪やダイオキシン類濃度の測定値を用いて解析した。その結果、16 カ月程度の 4℃以下の冷蔵保存では血液中脂肪やダイオキシン類濃度は変化せずに測定できていると考えられた。

１７．油症患者における免疫制御に関する研究（１）

１）抑制性サイトカイン IL-35 の検討

AhR を発現する、制御性 T 細胞（regulatory T cell, Treg）から産生され、抑制性サイトカインとして機能している IL-35 に関して検討を行った。その結果、油症認定患者 26 名、健常人 26 名において血清中 IL-35 はそれぞれ 76.0±15.7 pg/ml、51.0±16.2 pg/ml と、有意差（$p < 0.01$）をもって油症患者で高値をしめした。

２）血中 Heat shock protein 27 の検討

高 PCB 血症を示すカネミ油症患者は 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)に誘導をかけると考えられている。油症認定患者 39 名、健常人 39 名において血清 HSP27 値は油症認定患者で 2.58 ± 0.91 ng/ml、対照群では 6.49±2.14 ng/ml の値を示し有意差を認めなかった。

３）IL-26 の検討

Th17 細胞は新規のヘルパーT 細胞サブセットの一つで、その分化に Aryl hydrocarbon receptor (AhR)が関与している。Th17 細胞と深い関わりをもつサイトカインの一つである IL-26 に関して検討を行った結果、油症認定患者 29 名、健常人 28 名において血清中 IL-26 はそれぞれ 34.08±30.45 pg/ml、67.9 ± 59.7 pg/ml であり、有意差をもって油症認定患者血清中での IL-26 の減少がみられた。

４）油症患者における IL-33 の検討

IL-1 family に属する IL-33 に関して検討を行った結果、油症認定患者31名、健常人31名において血清中IL-33はそれぞれ 8.758±1.174 pg/ml、6.774±0.721 pg/ml であり、油症患者でやや高値であったが、有意差は認めなかった($p = 0.155$)。

５）soluble EGFRの検討

TCDD により誘発された塩素性痤瘡の組織中では EGFR が高発現していたと報告された。油症患者血清中では可溶性 EGFR（soluble EGFR)に何らかの変動が生じているものと考え、正常人との比較を行った。その結果、血清中 sEGFR 値は油症患者で 63.10±23.52 ng/ml、健常人で 58.81±16.84 ng/ml であった。油症患者血清中でやや上昇傾向が見られたが、2 群間に有意な差はなかった。

６）末梢血リンパ球分画、Treg 細胞の検討

2014年度長崎県油症検診（五島　玉之浦地区）受診者の末梢血中Treg細胞に関して検討を行った結果、油症認定患者53名（認定45名、家族認定8名）、未認定患者3名において血清中Treg細胞数はそれぞれ51.93±25.4/μl、62.49±25.79/μl、58.89±19.48/μlで有意差はなかった。また各種採血項目とTreg値の関連について検討を行ったところ、血中の中性脂肪値が高い人ほどTreg細胞数が有意に高いという相関が見られた。

１８．油症患者における免疫制御に関する研

究（２）

１）油症患者における血清アディポカイン濃度に関する研究

油症患者 232 名および健常者 96 名を対象に、アディポカインである RBP4, resistin, PAI-1, IGF-1, IL-6, TNF-αの血清濃度を ELISA 法で測定した。油症患者の血清 RBP4 濃度は、健常者に較べ有意に上昇していた。一方他のアディポカイン濃度は油症患者と健常人とに差はなかった。ダイオキシン類によってアディポカインの産生バランスが障害され、油症患者の耐糖能異常に関与している可能性があると考えられ、今後さらに検討を行う予定である。

２）油症患者における血清微量金属濃度に関する研究

慢性ダイオキシン類中毒である油症患者 39 名および健常者 39 名を対象に、血清マグネシウム、鉄、銅、亜鉛、カルシウム、リチウム濃度をキレート試薬を用いたメタロアッセイで測定したところ、油症患者の血清銅濃度は、健常者に較べ有意に低下していた。銅は superoxide dismutase の活性中心に存在し、活性酸素の処理に重要な元素であることから、油症患者の酸化ストレス状態を増悪させている可能性があると考えられ、今後さらに検討を行う予定である。

１９．油症患者における血中 Surfactant protein に関する検討

肺サーファクタントは、肺胞表面を覆って肺胞の虚脱を防ぎ、呼吸を円滑に進行させている物質で、リン脂質と 4 種類の特異蛋白 Surfactant Protein(SP)-A、B、C、D からなり、中でも SP-A と SP-D は、気道-肺胞系における生体防御作用などの機能ももっており注目されている。これまでの検討で、Benzo[a]pyrene 投与マウスモデルにて SP-D がクララ細胞やⅡ型肺胞上皮細胞で高発現していること示した。今回、油症患者血中の SP-A、SP-D の濃度を測定し、油症患者の呼吸器症状、ダイオキシン類の濃度との関連を統計学的に解析した結果、SP-D 濃度と咳嗽、喀痰といった症状、また SP-A 濃度と一部のダイオキシン類の濃度に有意な関連が認められた。

２０．PCBs/ダイオキシン類の油症患者生体内動態に関する研究

１）カネミ油症患者のダイオキシン類の体内負荷量変化率と AhR の SNP の関係に関する研究

2011 年度に油症患者を対象に AhR の SNP(一塩基多型）に関する調査が実施された。ダイオキシン類は AhR と結合し、チトクローム P450 などの解毒酵素を産生することが知られている。その SNP と半減期の関係を確認した。T/T 型は人数が少なく、状況が確認できなかった。C/C 型と C/T 型間の比較では、C/T 型の患者の方が半減期が長いという結果であった。両型間での半減期の差が SNP よるものかは今後の検討が必要である。

２） 油症患者における AhR 遺伝子多型に関する研究

平成 23 年度に油症患者を対象に AhR の SNP(一塩基多型)に関する調査が実施された。ダイオキシン類は AhR と結合し、チトクローム P450 などの解毒酵素を産生することが知られている。本研究で SNPs と疾患の関係を調査したところ、T/T 型の女性の年齢分布が、男性や他の遺伝子型と異なっていた。さらに、T/T 型の女性では重篤な疾患の人数が少なかった。T/T 型の女性の年齢分布が異なるのは、既に死亡しているのではないかと推測された。

３）カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係に関する研究

ダイオキシン類の半減期の変化と体重の変動の関係を確認したところ、患者の体重が減少すると、半減期が伸びる可能性があることが示された。まだ、傾向として弱いものであり、今後、追加の測定結果を用いて、より安定した結果を得ることが必要である。

２１．大脳レベルの感覚認知機能の変化に関する研究

PCB, PCDF, dioxin による神経障害は感覚神経障害が主であり、末梢神経障害によるものと考えられている。油症患者では、末梢神経

障害の客観的指標であるアキレス腱反射の低下を認める人数は経時的に減少する一方、自覚的感覚異常は発症時には 39.1%であったものが、33 年後には 59.4%と増加しており客観的感覚障害と自覚的感覚障害に乖離がある。この一因として大脳レベルの感覚認知機能の変化が考えられる。

１）大脳認知機能の客観的評価法の開発

手触り(テクスチャー)弁別課題を用いて得られた脳磁界反応を記録することにより、大脳レベルの感覚認知機能に関わる脳活動を客観的に評価する方法を試みた。方法：対象は健常成人 11 名。テクスチャーを実験的に再現した刺激を用いて右母指を刺激し、テクスチャー弁別課題に伴う刺激誘発脳磁界を計測。得られた脳磁波形について解析し、電流源を推定して脳 MRI 上に重畳した。結果：両大脳半球に低周波（5 Hz 以下）の刺激誘発脳磁界を認めた。刺激の弁別をしている時は、していない時に比べて、右頭頂部に強い脳活動を認め、これがテクスチャー弁別に関与している脳活動であると考えられた。電流源は右大脳半球の二次体性感覚野(SII)、側頭頭頂接合部（TPJ)に同定された。結論:脳磁図によって、テクスチャー弁別に関わる脳活動を同定することができた。

２）大脳感覚認知機能の標準化解析法の開発

大脳レベルの感覚認知機能に関わる脳活動を客観的に捉え、解析する方法の標準化を行った。方法：対象は健常成人 10 名。テクスチャーを実験的に再現した刺激を用いて右母指を刺激し、テクスチャー弁別課題に伴う刺激誘発脳磁界を同定した。MNE 法による電流源推定を行い、MRI から抽出した脳表上に重畳した。ソフトウェア(FreeSurfer)を用いて、個々人の脳表を標準脳表に形態変換し、活動部位を比較した。共通する活動部位を関心領域とし、その時系列信号を詳細に解析した。結果：刺激によって低周波（5 Hz 以下）の脳磁界が誘発された。脳表の標準化を行い比較したところ、右大脳半球の二次体性感覚野(SII)に共通した活動部位を認めた。SII の活動は、刺激の弁別をしている時はしていない時に比べて増大していた。結論：脳磁図による計測、MNE 法と FreeSurfer を用いた解析手法によって、健常者に共通するテクスチャー弁別に関わる脳領域を同定することができた。今回確立した解析手法は、油症患者と健常者の比較に有用であり、油症患者における異常感覚の病態解明への寄与が期待される。

２２．油症発症機構と PCB/ダイオキシン類に関する基礎的検討

１）ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルの作成とその解析

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。麦門冬湯により油症患者の呼吸器症状が改善した報告を受けて、同モデルにおける麦門冬湯の効果を検討したが、気管支肺胞洗浄液中の総細胞数の低下を認めたものの、効果は限定的であった。また、同モデルにおいて surfactant protein の発現は亢進しており病態への関与が示唆された。

２）PCB 代謝に関する研究

①PCB149 代謝に関与する新たなチトクロム P450 分子種の解明

PCBの代謝(水酸化反応)には、チトクロムP450のCYP1A、CYP2BおよびCYP2A酵素が関与することが知られている。CYP3A酵素の誘導剤(DEX)および阻害剤（KCZ）を用いてPCB149の代謝に及ぼす影響を調べた。DEX前処理ラット肝ミクロゾーム（Ms）を用いて、PCB149代謝を調べたところ、未処理Msに比べ、5-OH体の顕著な増加と4,5-diOH体の新たな生成が観察された。さらに、これら代謝物の増加は、CYP3A1タンパクの顕著な増加とよく一致した。また、阻害剤KCZを添加したところ、5-OH体と4,5-diOH体の生成が強く阻害された。これらの結果から、ラットにおけるPCB149代謝には、CYP2B1とともに、CYP3A1が関与することが示唆された。

②PCB101代謝に関与する新たなチトクロム P450分子種の解明

PCB52、PCB101 および PCB149 は、phenobarbital (PB) 誘導性チトクロム P450(CYP2B)により代謝され、主に meta 位が

水酸化される。一方、PB は CYP2B 酵素以外にも CYP3A 酵素も誘導することが知られている。PCB101 代謝における CYP3A 酵素の関与を明らかにするため、CYP3A 誘導剤（DEX: dexamethasone）と CYP3A 阻害剤（KCZ: ketoconazole)の効果を調べた。PCB101 は、主に 3’-OH 体へと代謝されるが、その他 4’-OH 体と 3’,4’-diOH 体も生成される。その結果、DEX 前処理ラット肝 Ms では、3’-OH 体が未処理ラット肝 Ms の 18 倍に増加し、新たに 3’,4’-diOH 体の生成も見られた。次に、KCZ を添加したところ、25μM で 3’-OH 体の生成が約 40%までに阻害された。以上の結果から、PCB101 の 3’位水酸化において、ラット CYP2B1 だけではなくラット CYP3A1 も強く関与することが明らかになった。

③2,2’,3,3’,4,4’,5-七塩素化ビフェニル(PCB170)の動物肝ミクロゾームによる代謝

PCB170 は、PCB153、PCB180 および PCB138 とともに高残留性の PCB 異性体として知られている。PCB170 が代謝されるか否かについて、ラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾーム(Ms)を用いて調べた。その結果、ラットおよびヒト肝 Ms では、代謝物は全く生成されなかった。一方、モルモット肝 Ms では、phenobarbital 前処理の場合のみ、代謝物が極微量検出された。以上の結果から、PCB170 は非常に代謝されにくいことが明らかになった。また、既報を総合すると、PCB170 代謝物の化学構造は、5’-OH 体であり、モルモット肝での生成には CYP2B18 が関与していることが示唆された。

３） 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)によるロイコトリエン B4（LTB4） 蓄積の毒性学的意義の検討

①肝 LTB4 蓄積機構についての検討

これまでの研究で、ラットへの（TCDD; 60 mg/kg）の経口投与が、尿・糞および組織中のメタボロームプロフィールを大きく変動させることを見出した。それらの中で肝臓のロイコトリエン B4 (LTB4) 増加に着目し、その発現機構ならびに毒性との関連性を検討した。LTB4 の合成および代謝酵素の発現に及ぼす TCDD の影響を解析した結果、アラキドン酸を LTA4 に変換する 5-lipoxygenase（5-LOX）の誘導と、LTA4 を LTC4 に変換する LTC4 synthase の減少が観察され、これらは代表的な急性毒性である肝肥大の発現とほぼ相関した。一方、LTB4 代謝酵素である cytochrome P450 4F1 には有意な変化は観察されなかった。肝と同様な変動は肺においては観察されず、TCDD による影響は肝臓に特異性が高いことが示唆された。リガンド親和性が異なる AhR を有する二系統のマウス（C57BL/6J: 高親和性、DBA/2J: 低親和性）への TCDD 曝露による 5-LOX 発現変動を解析したところ、C57BL/6J マウスでより低用量より誘導が観察された。以上の成果から、TCDD は肝臓において AhR 依存的な 5-lipoxygenase の誘導、ならびに LTC4 synthase の減少を介して LTB4 を蓄積させ、これが肝障害の発現あるいは増悪に寄与する可能性が見出された。

さらに、LTB4 作用のマーカーである myeloperoxidase（MPO）活性はTCDD 曝露により有意に増加し、LTB4 の肝への蓄積を支持した。続いて、LTB4 を充填した浸透圧ポンプを腹腔内に埋め込むことで LTB4 を持続的に処理し、ダイオキシンと同様の毒性が生じるか否かを解析した結果、LTB4 持続注入により、肝 MPO 活性が TCDD 曝露時と同程度にまで増加し、肝において LTB4 作用が生じていることが確認された。しかし、TCDD において認められる肝肥大、胸腺萎縮ならびに体重増加抑制は LTB4 処理では出現しなかった。

②LTB4 受容体（BLT1）遺伝子改変動物での検討―

LTB4 受容体（BLT1）遺伝子欠損マウスへ TCDD 投与したところ、野生型マウスと同様に LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase の誘導が惹起し、LTB4 合成が増加していることが示唆された。しかし、野生型マウスへの TCDD 投与で見られる顕著な好中球浸潤ならびに炎症および肝障害マーカーの増大は、BLT1 欠損によって大きく抑制された。さらに、AhRの遺伝子欠損ラットを用いて、LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase誘導状況を検討した結果、野生型ラットで見られる TCDD 依存的な

5-lipoxygenase の誘導は、AhR 遺伝子欠損によって完全に消失した。以上の結果から、ダイオキシンは AhR を介する 5-lipoxygenase 誘導によって LTB4 を肝臓に蓄積させ、これが好中球浸潤による炎症亢進ひいては肝毒性を規定する一つの要因であるとの新規機構が明らかになった。

４）油症原因物質 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran(PenCDF)の in vivo 毒性再評価

今までに妊娠ラットへの 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)により、周産期児の脳下垂体 luteinizing hormone (LH) が低下し、これを起点として精巣の性ホルモン合成系低下ならびに成長後の交尾行動障害が惹起されることを実証した。これを受けて、油症原因物質である 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) が TCDD と同様に LH 低下を起点として交尾行動障害を惹起しうるかを検証すると共に、上記の胎児障害や急性毒性に対する 50% 効果量 (ED_{50}) および TCDD に対する相対毒性強度 (RelE-P/T) を算出し、両種の毒性強度を正確に評価した。PenCDF (1-1,000 mg/kg) または TCDD (0.05-60 mg/kg) 母体曝露により、胎児脳下垂体 LH および精巣・性ホルモン合成系の用量依存的な低下が観察され、この低下と合致して出生雄児の交尾行動障害が惹起された。このことから、PenCDF も TCDD と同様に胎児脳下垂体 LH 低下を起点として児の性成熟を障害することが示唆された。両ダイオキシンによる障害の ED_{50} を基に RelE-P/T を算出したところ、RelE-P/T=0.016-0.06 となり、ダイオキシン毒性の評価に汎用されている毒性等価係数での PenCDF 毒性 (TEF=0.3) よりもかなり低いことが判明した。一方、急性毒性である消耗症に対しても、TCDD および PenCDF 間で予想以上の毒性差が認められたものの (RelE-P/T=0.058-0.145)、胎児毒性に比較すると TEF に近い傾向を示した。以上の成果から、今回の指標で見る限り、PenCDF も TCDD と共通した in vivo 毒性を示すが、毒性によっては TEF との乖離が大きいことが明らかになった。

５）2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)による胎児脳下垂体ホルモンへの影響:機構解析および改善方策についての検討

今までの研究で、2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)曝露により、胎児脳下垂体の黄体形成ホルモン (LH) 低下を起点として性ホルモン合成が障害され、成長後の性未成熟が固着されること、さらに、TCDD 曝露母体にクエン酸回路の必須補酵素である α-リポ酸 (LA) を補給することで、胎児視床下部におけるクエン酸回路の停滞および ATP 減少のみならず、上記の LH 低下も回復することが明らかになっている。しかし、LA による LH 低下の回復機構は不明である。そこで本研究では、LA と同様にクエン酸回路の必須補酵素である thiamine を用いて、LA による回復機構におけるエネルギー産生低下の寄与を検討した。その結果、TCDD による ATP 産生低下は、胎児視床下部および全脳において認められたが、TCDD 曝露母体への thiamine の補給によって LA 同様に改善することが明らかになった。しかし、胎児 LH ならびに性ホルモン合成系に対しては、thiamine 補給は部分的な回復効果を示すに止まった。これらの結果から、胎児 LH 低下に対する LA の回復機構は、ATP 増加と LA 特異的機能の複合的な作用に基づくことが示唆された。さらに、胎児脳の LA 低下の機構解析のため、合成ならびに利用に関わる酵素の発現水準を検討した結果、いずれの発現にも影響を認めなかった。従って、少なくとも TCDD はこれらの酵素の変動以外によって LA を減少させ、LH 低下を惹起することが示された。

６）ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響

ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響を研究するための基礎実験を行った。１）大腸癌の化学予防効果を有するスリンダクは、ヒ

ト結腸癌由来細胞株 HCT-116 の増殖を抑制すること、細胞周期の G0/G1 期へ拘束されること、さらにこれらの作用が Wnt/β カテニン系への影響を介することが確認できた。２）HCT-116 ならびに MUTYH 関連ポリポーシスモデルを用いて大腸癌に対する化学予防効果を有する celecoxib と 2,5-dimethyl-celecoxib (DMC)の腫瘍抑制効果を検討した。両薬剤は Wnt/β カテニン系を介した細胞増殖抑制とアポトーシス亢進により腫瘍抑制効果を発揮した。さらには MUTYH 関連ポリポーシスモデルにおいて腫瘍数ならびに腫瘍径が抑制されることを確認した。３）潰瘍性大腸炎合併大腸癌ならびに散発性大腸癌の切除材料を用いて activation-induced cytidine deaminase (AID)の発現を評価した。潰瘍性大腸炎合併大腸癌、散発性大腸癌のいずれも AID 陽性率は高く、両者で差を認めなかったが、潰瘍性大腸炎炎症部粘膜では炎症が高度になるにつれて AID 陽性率が上昇した。以上から、慢性炎症により誘導される酸化ストレスは遺伝子突然変異を誘導する一因となることが示唆された。

７）ダイオキシンによる末梢神経伝達機能、および脊髄後角シナプス応答に対する作用機序の解析

１）ダイオキシンの慢性投与によって、ラット末梢神経のなかで触覚などの情報を伝える Ab 線維の伝導速度は減弱したが、脊髄内膠様質でのシナプス応答には顕著な変化が見られなかった。２）ダイオキシンを単回投与したラットの Ab 線維では伝導速度の有意な低下が見られた。この低下は長期投与を行ったラットと有意な差は見られなかった。さらに、Ab および C 線維の伝導速度について比較したが有意な差は見られなかった。３）ダイオキシンの経口投与によって、ラット末梢神経の太い有髄線維の伝導速度が選択的に抑制された。また、その作用は長期に渡り回復はあまり見られなかた。しかし、脊髄内での可塑的な変化は見いだし得なかった。

２３．油症対策委員会の開催

2010 年度から患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および次年度の実態調査票の改正点の検討を行った。加えて、医療者向けのパンフレットを油症対策委員会で検討し作成した。

D．結論

検診結果では、全科とも患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による影響が伴っていた。血中ダイオキシン類濃度測定が開始してから 14 年経過し、結果の蓄積、解析が進んでいる。2012 年度から 2014 年度は、ダイオキシン類濃度と骨密度・自己抗体検査・血中 Surfactant Protein・IL-26・IL-33 などサイトカイン・HSP27・制御性Ｔ細胞数、および血清アディポカイン濃度・微量金属濃度との相関について検討を行った。

ダイオキシン類の継世代への影響を検討するために、次世代、次々世代の男児出生比率についての解析、次世代のアレルギー性疾患発症、AhR 遺伝子多型と児への健康影響との関連について検討した。油症患者の生体内におけるダイオキシン類の動態を調べるため、ダイオキシン類の体内負荷量変化率と AhR の SNP(一塩基多型)の関係、ダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係についても解析を進めている。

基礎的研究では、１）ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響、２）各種 PCB 代謝、３）2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義の検討、４）2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran の *in vivo* 毒性再評価、５）2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響についての検討、６）ダイオキシン長期投与による末梢神経伝導速度に対する作用の解析などについて、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類濃度との関連を分析・評価、また基礎研究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。

総括研究報告書

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

研究代表者　古江増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授

研究要旨　油症は polychlorinated biphenyl (PCB)と polychlorinated dibenzofuran (PCDF)の混合中毒である。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-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF)に関する項目を追加した新しい診断基準を作成した。また 2012 年 12 月に国からの要請を受け、同居家族認定者に関する条件を追補した。2014 年度に新たに認定された 4 名、同居家族認定者と認定された 12 名（2015 年 1 月末まで）を含めると、全認定患者数は 2,277 名であった（2015 年 2 月現在)。油症患者の症状を把握し、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改良測定方法・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。認定患者追跡調査実施のための調査ファイルの基盤整備を進めた。2014 年度油症一斉検診受診者の情報を収集・管理し、その所見を把握した。歯科や眼科検診で、油症に特徴的な所見について検討した。血液中 PCBs/ダイオキシン類濃度を測定し解析した。骨密度・自己抗体検査・可溶性 EGFR 受容体・制御性Ｔ細胞数・血清微量金属濃度などについて血液中ダイオキシン類濃度との相関を検討した。ダイオキシン類の継世代影響を検討するために、油症患者における aryl hydrocarbon receptor（AhR）遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連を解析した。患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係を検討し、大脳認知機能の客観的評価法の開発および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討を行った。基礎的研究では、１）マウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討、２）ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響についての研究、３）PCB170 の動物肝ミクロゾームによる代謝の研究、４）2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析、５）2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響についての検討、６）ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用の研究を行った。また患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および、2015 年度の実態調査票の改正点の検討を行った。加えて、医療者向けのパンフレットを油症対策委員会で検討し作成した。
最後に研究を通じて明らかになった様々な事実について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 46 年が経過した。油症は人類が PCB とダイオキシン類を直接摂取した、人類史上きわめてまれな事例である。ダイオキシン類が人体にこれほど長期間にわたって及ぼす影響については明確になっていない。2002 年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 13 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改良測定方法・排泄方法や、様々な症状を緩和する方法について開発するために、ダイオキシン類の患者生体内での半減期、代謝動態に対する解析や、基礎的研究も継続する。

（倫理面に対する配慮）
研究によって知りえた事実については患者のプライバシーに十分配慮しながら、公表可能なものは極力公表する。

B．研究方法

I. 班長が担当する研究

１．班長は、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター（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した。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. 臨床試験の解析
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。
９．油症対策委員会の開催
患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および次年度、平成 27 年度の実態調査票の改正点の検討、医療者向けのパンフレット案の検討を行う。

Ⅱ．九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究

１．検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法などを用いて、統計学的に解析し、経年変化の傾向について調査する。
２．油症患者体内に残存する PCBs，PCQ や PCDF を含めたダイオキシン類を把握するために、血中濃度分析を行う。患者の症状、検査結果と血中ダイオキシン類濃度との相関について分析、検討する。
３．油症の次世代に及ぼす影響に関する検討を行う。
４．油症原因物質などの体外排泄促進に関する研究を行う。
５．油症発症機構に関する基礎的研究を行う。

C．結果および考察

１．油症相談員制度
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
パンフレットの更新作成、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、
油症の現況と治療の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/member/index.html に、
カネミ油症の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html に、
油症研究 - 30 年の歩み - は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html に
油症研究 II 治療と研究の最前線は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html に、
1 年おきに福岡医学雑誌の特集号として発行している油症研究報告集は
http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html に
厚生労働省科学研究費補助金による研究結果は
http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html にそれぞれ掲載している。

３．患者の実態把握と情報発信に関する研究

カネミ油症患者の意見を伺いつつ、平成 27 年度の健康実態調査票及びカネミ油症に関する啓発パンフレット案の作成を行った。カネミ油症に関する研究と連動して、患者の実態把握と情報発信を行うことが重要と考えられた。

４．油症認定患者追跡調査の基盤情報の構築

昨年度から今年度にかけて分担者管理の 5 種の油症患者ファイル（総数：7127 件）の統合作業を終了し、各油症患者について、氏名、性、生年月日、死亡年月日、最新住所の一致、不一致を相談員等の協力を得て、調査、検証して住民票調査のための基盤調査ファイルを作成した。このリストの完成により油症患者死因調査の調査体制を確立することができた。

５．地域住民における血中ダイオキシン類濃度と疾病および疾病マーカーに関する疫学調査

ダイオキシン類は細胞に酸化ストレスを与えるため、様々な病態を引き起こすと考えられている。しかしながら、ダイオキシン類による人体影響の実態は未だ不明な点が多い。本研究は、地域住民において血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾病マーカーとの関連を検討する。本年度は、次年度に疫学調査を施行するための準備として、研究究計画の立案や調査場所の選定、リサーチアシスタントの教育などを行った。

６．油症患者検診結果

2013 年度の油症検診受診者は 746 名で、50 歳以上が全体の 8 割以上であった。自覚症状で最も訴えが多かったのは全身倦怠感で 7 割以上であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が最も高かった。眼科検診受診者は 255 名であり、前年度よりも 21 名少なかった。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。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。

７．油症患者における口腔乾燥症に関する研究

油症の歯科検診において口腔乾燥症を訴える患者はしばしば認められる。しかしながら、実際には口腔乾燥があまり認められないにもかかわらず、口腔乾燥感を訴える場合もみられる。そこで、今回、口腔乾燥状態を客観的に調べるため口腔水分計を用いて研究を行った。長崎県地区における油症の認定者と未認定者を対象に、歯科検診時に任意に選んだ患者について測定し検討を行った。今回の結果では、測定値は 23.1 から 31.2 とばらつきはみられたが、平均値に関しては地域間や認定者未認定者間に有意な差は認められなかった。

８．油症検診受診者におけるマイボーム腺欠損の変化

マイボーム腺機能異常は油症に特異的な病態である。マイボーム腺欠損の経時的変化を評価し、マイボーム腺欠損の進行が血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度に影響されるか検討した。その結果、油症検診受診者において血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度はマイボーム腺欠損の１年間の変化に関与しなかった。

９．油症患者における骨密度の解析

2010 年度全国油症一斉検診の受診者 489 名において骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との関連について検討した。女性の 36%、男性の 4%に YAM%70 未満の骨密度低下を認め、骨粗鬆症と判定された。末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を男女別に解析すると、居住地および body mass index で調整した場合、女性において 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と骨密度(Z スコア)との間に負の関連を認めた。

１０.油症患者血液中の PCDF 類実態調査

平成 25 年度（2013 年）の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 165 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 219 名であった。平成 25 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総 TEQ（WHO2005）は 53 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 83 pg/g lipid であった。今回から同居家族認定者 51 名が検診を受診したが、同居家族認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 31 pg/g lipid で認定患者全体の平均値より低く、一般人とほぼ同じ値であった。平成 13 年から 25 年の 13 年間に血液中ダイオキシン類検査を実施した油症認定患者の実数は 854 名で前年度と比べ 103 名増加し、油症認定患者 2,251 名(平成 25 年 12 月末現在）の約 37.9%の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。内訳は男性 403 名、女性 451 名、平均年齢は 65.1 歳、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 124 pg/g lipid であった。検診受診認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.7～1,792 pg/g lipid と広範囲であるが、約 55%の患者は 50 pg/g lipid 以下であった。

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

血液中ダイオキシン、PCB 類濃度分析において採血から分析までの血液保存期間の影響を確認するため、コレスチラミンなど治療研究時の脂肪やダイオキシン類濃度の測定値を用いて解析した。その結果、16 カ月程度の 4℃以下の冷蔵保存では血液中脂肪やダイオキシン類濃度は変化せずに測定できていると考えられた。

１２．油症における免疫機能に関する研究

2014 年度福岡県油症一斉検診を受診し、免疫機能検査に同意が得られた 252 例について抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体を測定し、血中 PCB 濃度との関連について検討した。抗 Scl-70 抗体は同居家族を含む油症患者 194 例中 5 例（2.6%）、未認定患者 46 例中 3 例（6.5%）に、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は同居家族を含む油症患者 4 例(2.1%)、未認定患者 1 例（2.2%）に認め、ともに出現率に差をみなかった。抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は血中 PCB 高濃度油症患者と血中 PCB 低濃度患者において出現率に差をみなかった。

１３．油症認定患者における soluble EGFRの検討

EGFR阻害剤による皮膚障害として痤瘡様皮疹や爪囲炎が生じる。発症当時、多くの油症患者に激烈な痤瘡様皮疹が認められた。現在症状は軽減してきているが、一部の油症患者においては痤瘡様皮疹によるQOLの低下が見受けられる。TCDDにより誘発された塩素性痤瘡の組織中ではEGFRが高発現していたという報告がみられたことから、我々は油症患者においてEGFRの変動が何らかの形で生じている可能性を考えた、正常人との比較を行った。その結果、血清中sEGFR値は油症患者で63.10±23.52 ng/ml、健常人で58.81±16.84 ng/ml

であった。油症患者血清中でやや上昇傾向が見られたが、2群間に有意な差はなかった。

１４．長崎県油症認定患者における末梢血リンパ球分画、Treg細胞の検討(H.26)

平成２６年長崎県油症検診（五島　玉之浦地区)受診者の末梢血中制御性T細胞(Treg細胞)に関して検討を行った。その結果、油症認定患者53名(本人認定45名、家族認定8名)、未認定患者3名において血清中Treg細胞数はそれぞれ51.93 ± 25.4/μl、62.49 ± 25.79/μl、58.89 ± 19.48/μlで有意差はなかった。また各種採血項目とTreg値の関連について検討を行ったところ、血中の中性脂肪値が高い人ほどTreg細胞数が有意に高いという相関が見られた。

１５．油症患者における血清微量金属濃度に関する研究

慢性ダイオキシン類中毒である油症患者 39 名および健常者 39 名を対象に、血清マグネシウム、鉄、銅、亜鉛、カルシウム、リチウム濃度をキレート試薬を用いたメタロアッセイで測定したところ、油症患者の血清銅濃度は、健常者に較べ有意に低下していた。銅は superoxide dismutase の活性中心に存在し、活性酸素の処理に重要な元素であることから、油症患者の酸化ストレス状態を増悪させている可能性があると考えられ、今後さらに検討を行う予定である。

１６．大脳認知機能の客観的評価法の開発および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討

目的：①油症認定患者では約 6 割に自覚的感覚障害が存在するが末梢神経伝導速度検査や神経学的診察で客観的な末梢神経障害を示すものは 2 割程度であり、この主観的認知と客観的認知が乖離している。この原因として末梢神経伝導検査やベッドサイドにおける末梢神経検査では感知できない、もっと高次の脳機能が障害されている可能性が否定できない。そこで，触覚刺激を用いた脳磁界反応を計測し、主観的意識下での誘発脳磁界と非意識下での誘発脳磁界との相違を抽出し、一般の末梢神経伝導速度検査では検出できない高次脳機能障害を抽出できるか否かを検討する。②油症患者組織における感覚伝導路の病理学的変化について現時点で未解明である。感覚伝導路の病理変化の検出に有用なマーカー蛋白について検討した。**方法：**①点字にプラスチック製 2×4 ピンで構成されたピエゾ型触覚刺激装置を用いた。規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激を作成し、この 2 種の刺激を刺激間隔 1.2～1.6 秒の間隔で各刺激約 100 回ずつランダムオーダーで右示指に与えた。主観・注意状態の影響を検討するために、この 2 種類の刺激を弁別するようにタスクを与えた注意下刺激セットと、タスクを与えない環境下での非注意下刺激セットを行い、全頭型脳磁図で計測、 204-ch のグラジオメーターの波形について解析した。計測結果は MRI 皮質上に電流源が平面分布すると仮定した最小ノルム法を用いて誘発電流源を推定した。②正常コントロールと疾患コントロールの剖検標本を用いて、ヒトの中枢神経系ニューロンで発現が確認されているカルシウム結合蛋白(CaBP)、カルビンディン (CB)、カルレチニン(CR)、パルブアルブミン (PV)に対する一次抗体を用いて免疫染色を施行した。**結果：**①非注意下では規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激で差を認めなかったが、注意下では右側半球において規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激の反応の振幅に有意差を認め、不規則触覚刺激の反応の方が振幅が高く、その電流源は右半球の 2 次体性感覚野に推定された。②脊髄剖検標本では Rexed I-II 層の後角ニューロンにおいて CB と CR が免疫陽性であった。脳幹（延髄)においては、CaBP のいずれもが内側毛帯で免疫陽性であり CB と CR は横走線維，PV は縦走線維に局在が分かれて存在した。一方、脊髄後索においては何れの CaBP も免疫陰性であった。**結論：**触覚刺激を弁別するという能動的なタスクを与えた時に、一次体性感覚野では差が出ないが、右半球の二次体性感覚野における脳磁界反応に差が認められた。これは弁別という能動的な意識の影響を客観

的に抽出できる可能性を示唆しており、感覚認知の高次脳機能レベルでの評価に有用であると考えられた。以前の我々の研究で電気生理学的に後索-内側毛帯系の波形を検出し得る方法を確立したが、CaBP に着目すると患者剖検組織の内側毛帯における病理変化を検出できること、同時に生前の患者に施行した電気生理学的異常所見と剖検病理所見との比較検討が可能になる事が示唆された。

１７．油症曝露による継世代健康影響に関する研究 - 油症患者における AhR 遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連-

油症患者におけるダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連について検討した。油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)における AhR 遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)の頻度は、C/C 型が 53 妊娠(37.3%)、C/T 型が 71 妊娠(50.0%)、T/T 型が 18 妊娠(12.7%)であった。油症発生前 10 年間に妊娠した油症患者 50 例(102 妊娠)における AhR 遺伝子多型の頻度(C/C 型 47.1%、C/T 型 46.1%、T/T 型 6.9%)と比較して有意な差はなかった。油症発生後に妊娠した油症患者における児への健康影響としては、人工流産が 15 例(10.6%)、自然流産が 19 例(15.0%)、胎児死亡（自然流産+死産）が 22 例(17.3%)に認められた。油症発生前の発症頻度と比較すると、人工流産は 1.89 倍、自然流産は 1.94 倍、胎児死亡は 1.47 倍増加したが、有意な差はなかった。油症発生後の児への健康影響(人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生)の有無と AhR 遺伝子多型(C/C 型、C/T 型、T/T 型の各遺伝子型の頻度）との関連について検討したが、いずれの健康影響においても明らかな傾向はなかった。

１８．油症患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係に関する研究

ダイオキシン類は徐々に排出され、濃度は低下していくものと考えられているが、その排出経路や濃度の変化に関して不明な点も多い。半減期の変化と体重の変動の関係を確認した。体重が減少すると、半減期が伸びる可能性があることが示された。まだ、傾向として弱いものであり、今後、追加の測定結果を用いて、より安定した結果を得ることが必要である。

１９．油症発症機構と PCB/ダイオキシン類に関する基礎的検討

１）ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討

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。麻酔と投与法を改良し、以前より再現性が向上しており、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。同モデルにおいて surfactant protein の発現が亢進しており病態への関与が示唆された。

２）ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響

ダイオキシンが誘導する酸化ストレスが遺伝子突然変異を誘導する要因となることを検討するために、潰瘍性大腸炎合併大腸癌ならびに散発性大腸癌の切除材料を用いて activation-induced cytidine deaminase (AID)の発現を評価した。潰瘍性大腸炎合併大腸癌、散発性大腸癌のいずれも AID 陽性率は高く、両者で差を認めなかったが、潰瘍性大腸炎炎症部粘膜では炎症が高度になるにつれて AID 陽性率が上昇した。以上から、慢性炎症により誘導される酸化ストレスは遺伝子突然変異を誘導する一因となることが示唆された。

３）2,2’,3,3’,4,4’,5-七塩素化ビフェニル(PCB170)の動物肝ミクロゾームによる代謝

PCB170 は、PCB153、PCB180 および PCB138 とともに高残留性の PCB 異性体として知られている。本研究では、PCB170 が代謝されるか否かについて、ラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾーム(Ms)を用いて調べた。その結果、ラットおよびヒト肝 Ms では、代謝物は全く生成されなかった。一方、モルモット肝 Ms では、phenobarbital 前処理の場合のみ、代謝物が極微量検出された。以上の結果から、

PCB170 は非常に代謝されにくいことが明らかになった。また、既報を総合すると、PCB170 代謝物の化学構造は、5’-OH 体であり、モルモット肝での生成には CYP2B18 が関与していることが示唆された。

４） 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析：遺伝子改変動物での検討

昨年度までの解析により、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) がラット肝臓において leukotriene (LT) B4 合成系亢進を介して LTB4 を蓄積させ、好中球を活性化させる可能性を見出した。LTB4 は好中球活性化を通して炎症反応に重要であるため、これの異常蓄積は TCDD による炎症亢進ひいては肝毒性に直結する可能性が高い。そこで本研究では、LTB4 受容体 (BLT1) 遺伝子欠損マウスを用いてこの可能性を検証した。BLT1 欠損マウスへの TCDD 投与も、野生型マウスと同様に LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase の誘導が惹起し、LTB4 合成が増加していることが示唆された。しかし、野生型マウスへの TCDD 投与で見られる顕著な好中球浸潤ならびに炎症および肝障害マーカーの増大は、BLT1 欠損によって大きく抑制された。さらに、芳香族炭化水素受容体 (AhR) の遺伝子欠損ラットを用いて、LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase 誘導状況を検討した。その結果、野生型ラットで見られる TCDD 依存的な 5-lipoxygenase の誘導は、AhR 遺伝子欠損によって完全に消失した。以上の結果から、ダイオキシンは AhR を介する 5-lipoxygenase 誘導によって LTB4 を肝臓に蓄積させ、これが好中球浸潤による炎症亢進ひいては肝毒性を規定する一つの要因であるとの新規機構が明らかになった。

５） 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響：機構解析および改善方策についての検討 これまでに，2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)曝露により、胎児脳下垂体の黄体形成ホルモン (LH) 低下を起点として性ホルモン合成が障害され、成長後の性未成熟が固着されることを実証した。さらに、TCDD 曝露母体にクエン酸回路の必須補酵素である α-リポ酸 (LA) を補給することで、胎児視床下部におけるクエン酸回路の停滞および ATP 減少のみならず、上記の LH 低下も回復することを明らかにした。しかし、LA による LH 低下の回復機構は不明である。そこで本研究では、LA と同様にクエン酸回路の必須補酵素である thiamine を用いて、LA による回復機構におけるエネルギー産生低下の寄与を検討した。検討の結果、TCDD による ATP 産生低下は、胎児視床下部および全脳において認められたが、TCDD 曝露母体への thiamine の補給によって LA 同様に改善することが明らかになった。しかし、胎児 LH ならびに性ホルモン合成系に対しては、thiamine 補給は部分的な回復効果を示すに止まった。これらの結果から、胎児 LH 低下に対する LA の回復機構は、ATP 増加と LA 特異的機能の複合的な作用に基づくことが示唆された。さらに、胎児脳の LA 低下の機構解析のため、合成ならびに利用に関わる酵素の発現水準を検討した結果、いずれの発現にも影響を認めなかった。従って、少なくとも TCDD はこれらの酵素の変動以外によって LA を減少させ、LH 低下を惹起することが示された。

６） ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用の研究

ダイオキシンの経口投与によってラット末梢神経の太い有髄線維の伝導速度が選択的に抑制された。また、その作用は長期に渡り回復はあまり見られなかった。脊髄内での可塑的な変化は見いだし得なかった。

２０．油症対策委員会の開催

患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および平成 27 年度の実態調査票の改正点の検討を行った。加えて、医療者向けのパンフレットを油症対策委員会で検討し作成した。

D．結論

検診結果では、全科とも患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による影響が伴ってい

た。血中ダイオキシン類濃度測定が開始してから 13 年経過し、結果の蓄積、解析が進んでいる。2014 年度は、骨密度・自己抗体検査・可溶性 EGFR 受容体・制御性Ｔ細胞の数・血清微量金属濃度などについてダイオキシン類濃度との相関を検討した。ダイオキシン類の継世代影響を検討するために、ダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型と児への健康影響(流産、胎児死亡、性別) との関連、患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係、大脳認知機能の客観的評価法の開発および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討を行った。基礎的研究では、マウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討、ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響や、PCB170 の動物肝ミクロゾームによる代謝の研究、
2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析、
2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響についての検討、ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用などについて、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類濃度との関連を分析・評価、また基礎研究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

油症認定患者追跡調査の基盤情報の構築

研究分担者　吉村　健清　　福岡女子大学国際文理学部　　教授
研究協力者　藤野　善久　　産業医科大学公衆衛生学教室　准教授
研究協力者　久保　達彦　　産業医科大学公衆衛生学教室　講師

研究要旨：
昨年度から今年度にかけて分担者管理の 5 種の油症患者ファイル（総数：7127 件）の統合作業を終了し、各油症患者について、氏名、性、生年月日、死亡年月日、最新住所の一致、不一致を相談員等の協力を得て、調査、検証して住民票調査のための基盤調査ファイルを作成した。この分担者管理の統合リストと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターが保管するリストとの照合をセンターの協力により、作成した。このリストの完成により油症患者死因調査の調査体制を確立することができた。

A．研究目的

油症認定患者の死因追跡調査は、油症患者のこれからの健康管理やダイオキシン類経口摂取の健康影響を知る上で重要な調査である。そこで、昨年に続き、認定患者追跡調査実施のための調査ファイルの基盤整備をすることを目的とした。

（倫理面への配慮）

現在、追跡調査のための情報収集について、個人情報保護法、疫学倫理指針など調査対象者への倫理面の十分な配慮をしつつ、必要な手続きを進める準備を行い、調査情報の構築ならびに調査体制の整備を進めている。従って、倫理上の問題は特に生じない。

B．研究方法

1．調査ファイル（5 種）の統合一元化

油症研究班データ取扱規約に基づき、九大油症研究班の患者情報ファイル、福岡県保健環境研究所の検診・受診者ファイルの使用申請を行い、許可を得てそれぞれのファイルを入手した。さらに、油症検診データ、油症患者実態調査データを研究班申請手順に従い、許可を得て入手した。

そして、これらの情報ファイルと、産業医科大学在任当時の油症認定患者追跡調査情報ファイル等とを個人識別情報に基づいて照合し、ファイル専門家の支援を得て一元化した。

2．油症相談員による現地調査実施

油症患者の認定地情報に基づき、全油症認定患者を、福岡県内を認定地とするもの、長崎県内を認定地とするもの、広島等その他の府県を認定地とするもの、さらに、認定地不明分の 4 群にファイルを分割し、油症相談員の実地調査資料として配布し、該当認定患者の住所・生存状況の調査を油症相談員に実施してもらった。

3．現地調査結果に基づき、一元化ファイルの修正作業

福岡地区、五島・長崎地区、広島・その他地区担当の 3 名の油症相談員に油症認定患者の調査時の現住所、生死の情況（死亡の場合は死亡年月日）ならびに、性、生年月日の確認をした結果を用いて、一元化したファイルの修正作業を実施した。

4．修正一元化ファイルと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管情報ファイルとの照合

前述の通り、分担研究者の修正一元化ファイルと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管の油症患者ファイルとの照合作業を研究センター職員の協力を得て実施した。

5．住民票調査への準備

住民票による生死確認作業は死因調査のための人口動態統計死亡ファイルとの照合のために不可欠となるが、個人情報保護法により、各自治体の住民票情報の取得が厳しくなりつつある。そこで、現在生存者に対し、調査への同意確認をとるべく、患者団体、厚労省担当部局と相談を行った。

C．研究結果および考察

1．調査ファイル（5 種）の統合一元化

油症検診データ、油症患者実態調査データ、研究分担者調査データ等のファイルを氏名により照合し、認定地別に 4 つに分類したところ、福岡県分 2502 件、長崎県分 2678 件、広島県その他分 940 件、認定地情報がないもの 1007 件得られた。

2．油症相談員による現地調査実施

この全データ統合ファイルをもとに油症認定患者について、調査時点（平成 25 年 1 月）での生死状況、現住所情報を確認、調査するため、各油症相談員担当地区および認定地情報未記載分をそれぞれ印刷ファイルとし、3 人の油症相談員に研究班長の許可を得て調査を依頼した。

平成 25 年 3 月末に各相談員の調査が終了し、現時点での住所、生死情報が入手できた。

3．現地調査結果に基づき、一元化ファイルの修正作業

各相談員から調査結果が記載された情報を 1 件 1 件確認し、疑問、不明の点を再度各相談員に問い合わせた。この結果により現時点で判明した情報を過去の情報と照合を行い、現段階で正しいと思われる情報を確定し、ファイルの修正作業を実施した。

この研究分担者作成のファイルは、追跡調査対象の油症認定患者 1909 名について、ID、氏名、住所、生年月日、性別、生死、死亡年月日、住所情報の情報を記載している。

4．修正一元化ファイルと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管情報との照合

2014 年 9 月、研究分担者調査により作成したファイル 1909 名（ID あり 1883 名、ID なし 26 名）を九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管の認定患者ファイルとの照合を依頼した。平成 26 年 12 月、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターの多大な協力により照合結果の報告を受けた。

その結果、2 つのファイル情報の大半は合致していたが、生年月日の不一致 73 件、性別の不一致 18 件が明らかになったため、この点を 1 件 1 件について、検討し、油症認定患者のデータの統一をはかり、今後の油症研究班での油症認定患者死因調査の基盤を作成することとする。

5．住民票調査への準備

現在のところ、油症認定患者について、各自治体で住民票が得られるか否かは、個人情報保護法の観点から微妙な問題である。生存している認定患者に対し、個人同意を求める方法はあるものの、一部同意が得られない場合が考えられ、調査集団選択の偏りをおこす可能性があり、油症認定患者の死因の検討が偏りのため十分にできない可能性がでてくる。一方、「カネミ油症患者に関する施策の総合的な推進に関する法律」によれば、「カネミ油症に関する専門的、学際的又は総合的な研究を推進する」ことが謳われていることから、各自治体に協力を求めることも考えられるが認定患者へ十分な理解を求めつつ、実施していく必要がある。

現在のところ、住民票取得の方針について、関係者と十分な時間をかけて検討をしていく必要があると考える。

今後へ向けて

個人情報保護の問題が解決すれば、その住民票情報により、生年月日、生死情報、死亡年月日、住所が確認できた死亡者について死因調査を実施する。方法は、油症認定患者全死亡者 1 人 1 人についての原死因を得るために、新統計法（平成 21 年 4 月から施行）の「統計法第 33 条の運用に関するガイドライン」に従い人口動態統計死亡ファイル（昭和 48 年から最新年度まで）の利用許可申請を厚生労働省担当部局に行う。

照合項目（各認定死亡患者の生年月日、死亡年

月日、性、住所地）に基づいて、厚生労働省死亡ファイルと照合し、照合できた原死亡を当該油症患者の死亡原因とする。

そして、コホート分析により、標準化死亡比（SMR）を用いて全国の死亡状況を比較することを目的に、現在までの全調査ファイルの九州大学病院ダイオキシン研究診療センターへのデータ移管を目指す。

D．結論

研究班申請手順に従い、油症検診データ、油症患者実態調査データを許可を得て入手した。データファイルの照合、油症相談員担当地区での認定患者現状調査を終了し、その結果をもとに相談員情報に基づいた油症認定患者の一元化ファイルを作成した。現在、研究分担者が作成した油症認定患者修正一元化ファイルと九州大学病院症ダイオキシン研究診療センターとの照合が終了し、情報の確認が必要な点が若干判明した。今後この点を 1 件 1 件検討した後、住民票情報取得への方策を検討する。しかし、昨今の個人情報保護法の強化のため、住民票取得に困難が予想されるので、現在、同意書の取得に向け、具体的方法を関係機関と協議している状況にある。

E．研究発表

1. 論文発表

Onozuka D, Yoshimura T, Kaneko S, Furue M.
Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans: a 40-year follow-up study of Yusho patients.
Am J Epidemiol. Jan 1;169(1):86-95, 2009.

Tsukimori,T.,Uchi,H.,Mitoma,C.,Yasukawa,F.,Chiba,T.,Todaka,T.,Kajiwara,J.,Yoshimura ,T.,Hirata,T.,Fukushima,K.,Wake,N., Furue,M.
Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease.
Environmental International, 38;79-86, 2012.

吉村健清.
EBM と臨床研究－疫学の役割－.
JOHNS, Feb;28(2):156-158, 2012.

Pham TM, Ozasa K, Kubo T, Fujino Y, Sakata R, Grant EJ, Matsuda S, Yoshimura T.
Age-Period-Cohort Analysis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Mortality in Japan, 1950-2004.
J Epidemiol. 22(4):302-7, 2012.

Takesumi Yoshimura.
Yusho: 43 years later.
Kaohsiung Journal of Medical Sciences 28,(2), S49-S52, 2012.

二塚信，吉村健清.
食品汚染による中毒の認定をめぐる最近の動向－水俣病・カネミ油症.
医学のあゆみ，244（10）（2013. 3 月）

2. 著書

古江増隆，赤峰昭文，佐藤伸一，山田英之，吉村健清（2010）油症研究Ⅱ－治療と研究の最前線.
九州大学出版会，福岡

3. 学会発表

Takesumi YOSHIMURA, Yusho-After 43 years Present and Future, （ ’2011 International Conference on Food and Drug Safety Assessment’） Kaohsiung Medical Univ. Taiwan, 2011.Apr.15-16

Takesumi YOSHIMURA, Fumiko YASUKAWA, Hiroshi UCHI, and Masutaka FURUE,
The First Fact Finding Survey of All the Yusho Patients in Japan - after 40 years of the accident - ,
Dioxin 2011, Aug.21-25, Brussels

吉村健清，疫学から行動変容へ－ヘルスコミュニケーションの役割と課題－,
第４回日本ヘルスコミュニケーション学会　特別

講演(2012.09.07), 慶應大学藤沢キャンパス

A Review: Medical Social Issues Faced by Yusho Patients and Implemented Countermeasures: 45 years later, DIOXIN 2013, Daegu, Korea. (2013.08.27.)

Takesumi YOSHIMURA, Hiroshi UCHI, and Masutaka FURUE,
A Review: Medical and Social Issues Faced by Yusho Incident and Their Countermeasures: 45 Years Later,
Dioxin 2013, Aug.25-30, Daegu, Korea

Ｆ．知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の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
分担研究報告

地域住民における血中ダイオキシン類濃度と疾病および疾病マーカーに関する疫学調査

研究分担者 二宮 利治
（九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンター研究計画管理部門・教授）

研究要旨 ダイオキシン類は細胞に酸化ストレスを与えるため、様々な病態を引き起こすと考えられている。しかしながら、ダイオキシン類による人体影響の実態は未だ不明な点が多い。本研究は、地域住民において血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾病マーカーとの関連を検討する。本年度は、次年度に疫学調査を施行するための準備として、研究究計画の立案や調査場所の選定、リサーチアシスタントの教育などを行った。

A. 研究目的

ダイオキシン類は、ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン（PCDD）、ポリ塩化ジベンゾフラン（PCDF）、ダイオキシン様ポリ塩化ビフェニル（DL-PCB）の総称である。主に物が燃焼するときに生成されるため、自然界に環境汚染物質として拡散し、食物連鎖のなかで微量ながらも人体を汚染している。

ダイオキシン類は、ダイオキシン受容体に結合することにより細胞に強い酸化ストレスを与える。そのため、様々な病態を引き起こすと考えられているが、地域住民におけるダイオキシン類による人体影響の実態は未だつかめていない。

本研究では、地域一般住民を対象に断面調査を行い、血中ダイオキシン類濃度と疾病の有無および疾病マーカーとの関連を検討する。

B. 研究方法

本研究では、2015 年に本研究に書面にて同意の得られた地域一般住民約 500 人を対象として断面調査を実施する予定である。断面調査では検診票を用いて自覚症状、既往歴、現病歴、生活歴等の調査を行い、内科、眼科、皮膚科の医師の診察により身体所見を検査する。さらに、胸部Ｘ線写真、心電図、腹部エコー、骨密度測定を実施する。採血により血中ダイオキシン類濃度および血液生化学検査、免疫学的検査、ホルモン学的検査を行う。

統計解析は、血中ダイオキシン類濃度と心血管病や悪性腫瘍の既往歴、生活習慣病・眼科的・皮膚科的疾患の有病率、血液や尿の測定データに基づく疾患マーカーとの関連を検討する。これらの解析には重回帰分析やロジスティック回帰分析を用いる。

（倫理面の配慮）

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」に基づき研究計画書を作成し、九州大学医学部倫理委員会の承認を得て行われる。本研究は、研究対象者から書面にて研究参加への同意を取得した上で実施する。研究者は、対象者の個人情報の漏洩を防ぐ上で細心の注意を払い、その管理に責任を負う。

C. 研究結果

本年度は、次年度に疫学調査を施行するための準備として、研究計画の立案や調査場所の選定、リサーチアシスタントの教育などを行った。

まず、「B. 研究方法」に記したような研究計画の概要を設定した。続いて、断面調査の実施場所として、福岡県糟屋郡久山町を選択した。選択の理由として、久山町の年齢構成・職業構成・栄養摂取状況が全国のデータとよく一致しているため、久山町住民は日本人の代表的なサンプル集団と考えられること、この町では地域住民を対象に 50 年以上にわたり精度の高い疫学調査（久山町研究）が継続されていることが挙げられる。

具体的な研究対象者の選定は以下のように行う予定である。2015 年 4 月 1 日時点で久山町に在住する 40 歳以上の全住民のうち、本研究に同意した約 500 人を対象とする。毎年 6-8 月に定期的に実施されている久山町生活習慣病健診時に医師もしくは訓練を受けた看護師が研究説明を行い、研究参加への同意を得る。同意取得は書面にて行う。本研究の断面調査は、2015 年 10 月頃に行う予定である。

以上の点を考慮した研究計画書を作成し、久山町役場および町長に研究実施の承諾を得た。さらに、研究計画書を九州大学医学部倫理委員会に提出した。

D. 考察

ダイオキシン類は、脂質・蛋白質・核酸の酸化による代謝障害を引き起こすことにより、さまざまな病態を引き起こすと考えられている。1968 年、高濃度ダイオキシン類に汚染された米ぬか油を摂食したことによる健康被害（カネミ油症）が西日本一帯に発生した。この時に摂取されたダイオキシン類濃度は健常人の数万倍という極めて多量のダイオキシン濃度であった。一方、健常人における微量のダイオキシン類による人体影響の実態は未だつかめていない。その一因として、血中ダイオキシン類濃度を高精度に微量測定する技術の難しさと測定コストが高いという壁があったためであろう。

油症治療研究班は、これまでに高精度かつ低コストに血中ダイオキシン類濃度を測定する方法を開発し、油症患者研究に応用してきた。本研究では、この測定法を用いて、地域住民における血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾患マーカとの関連を検討する予定である。本研究の成果により、ダイオキシン類による人体影響が明らかになることが期待される。

E. 結論

本研究では、地域住民において血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾病マーカーとの関連を検討する。本年度は、次年度に疫学調査を行うための準備を行った。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

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　櫻　井　利　彦　福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　課長
新　谷　俊　二　福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　専門研究員
小野塚　大　介　福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　研究員(*)
梶　原　淳　睦　福岡県保健環境研究所　生活化学課　課長

(*)：九州大学医学研究院に転出

研究要旨　2013 年度に実施された油症検診受診者の傾向把握のため、検診票を収集し集計を行った。検診受診者は 746 名で、50 歳以上が全体の 8 割以上であった。自覚症状で最も訴えが多かったのは全身倦怠感で 7 割以上であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が最も高かった。

A．研究目的

油症は発生から 40 年以上経過しているが、患者の健康管理や改善のため、また、健康への影響を明らかにするため、現在でも継続して検診が実施されている。この検診の情報収集及び管理を行い、検診受診者の傾向を明らかにすることを目的とした。

B．研究方法

全国 11 追跡調査班（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）において、全国油症一斉検診（以下、油症検診）が行われている。また、九州大学病院、長崎大学病院、長崎県五島中央病院の 3 施設に油症外来が設置され、随時検診が行われている。2013 年度は、7 月から 12 月の間に全国各地及び油症外来で検診が実施された。

油症検診では、1985 年に作成された統一の検診票を用いており、内科、小児科、皮膚科、眼科、歯科及び検査票がある。これら検診票を追跡調査班の協力を得て、収集、電子データ化し、項目別に集計した。

（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 25-1 号（１）平成 25 年 8 月 28 日承認）。

C．研究結果及び考察

受診者の内訳を表 1 に示す。2013 年度は、746 名が受診し(油症外来での受診者 7 名を含む)、認定者は 589 名（79.0%）、未認定者は 157 名（21.0%）であった。この内、男性は 352 名（46.9%）であり、認定者は 292 名（認定者の内訳 49.6%）であった。一方、女性は 394 名（53.1%）であり、認定者は 297 名（認定者の内訳 50.4%）であった。

年齢階級別では、60～69 歳が一番多く、次いで、70～79 歳、50～59 歳の順で多く、50 歳以上は全体の 8 割以上（82.0%）を占めていた。

表 2 及び 3 に内科検診の集計結果を示す。自覚症状については、＋、＋＋を所見有、他覚所見では、正常、純（心音）、－以外を所見有とし、全体に占める所見有の割合を有所見率として集計した。自覚症状は、全身倦怠感（74.9%）、関節痛(67.3%)、その他(68.6%)で、7 割近くの受診者が訴えていた。

他覚所見では、肝・胆・脾エコー（64.2%）、心電図(33.7%)、胸部レ線(27.0%)が高かった。

表 4 に皮膚科検診の集計結果を示す。皮膚科所見は、問診項目においては、有を、他覚所見においては、＋、＋＋、＋＋＋を所見有とし、黒色面皰、ざ瘡様皮疹、瘢痕化、色素沈着の項目については、いずれかの部位に所見が認められれば、所見有として集計を行った。問診項目では、かつてのざ瘡様皮疹(47.9%)は半数弱が訴えており、次いで、かつての色素沈着（26.3%）の訴えが多かった。他覚所見は、黒色面皰の有所見率が最も高く（14.0%)、その他の項目の有所見率は 1 割未満であった。

表 5 に眼科検診の集計結果を示す。＋、＋＋、＋＋＋を所見有とすると、主訴である眼脂過多の訴えは 16.9%で、他覚所見の中で最も有所見率の高い、眼瞼結膜色素沈着が 4.9%、その他の項目は 3.2%以下であり、症状を示す人の割合は少なかった。

表 6 に歯科検診の集計結果を示す。主訴、口腔所見は、有を、色素沈着所見は、＋、＋＋、＋＋＋を所見有りとし、色素沈着所見は、上歯肉、下歯肉を歯肉、右頬粘膜と左頬粘膜を頬粘膜、上口唇粘膜と下口唇粘膜を口唇粘膜として集計した。主訴は 28.0%で、口腔所見は、辺縁性歯周炎（31.6%)、歯肉炎（11.6%）が高く、それら以外の項目は、4%以下と低かった。色素沈着の有所見率は、歯肉の色素沈着（20.1%）が高く、それ以外は、8.8%以下であった。

D．結論

2013 年度の油症検診受診者は 746 名で、50 歳以上が全体の 8 割以上であった。自覚症状で最も訴えが多かったのは全身倦怠感で 7 割以上であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が最も高かった。

E．研究発表

１．論文発表

なし

２．学会発表

なし

F．知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1　2013 年度検診受診者内訳

受診者区分及び年齢	計		男性		女性	
	n	%	n	%	n	%
総数	746	100.0	352	100.0	394	100.0
0 - 9 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
10 - 19 歳	8	1.1	5	2.3	3	0.8
20 - 29 歳	8	1.1	2	0.6	6	1.5
30 - 39 歳	23	3.1	8	2.3	15	3.8
40 - 49 歳	95	12.7	46	13.0	49	12.4
50 - 59 歳	164	22.0	84	23.7	80	20.3
60 - 69 歳	181	24.3	83	23.4	98	24.9
70 - 79 歳	170	22.8	72	20.3	98	24.9
80 - 89 歳	94	12.6	50	14.1	44	11.2
90 歳以上	3	0.4	2	0.6	1	0.3
認定	589	100.0	292	100.0	297	100.0
0 - 9 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
10 - 19 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
20 - 29 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
30 - 39 歳	2	0.3	2	0.7	0	0.0
40 - 49 歳	71	12.1	36	12.3	35	11.8
50 - 59 歳	146	24.8	74	25.3	72	24.2
60 - 69 歳	147	25.0	69	23.6	78	26.3
70 - 79 歳	140	23.8	64	21.9	76	25.6
80 - 89 歳	80	13.6	45	15.4	35	11.8
90 歳以上	3	0.5	2	0.7	1	0.3
未認定	157	100.0	60	100.0	97	100.0
0 - 9 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
10 - 19 歳	8	5.1	5	12.7	3	3.1
20 - 29 歳	8	5.1	2	3.2	6	6.2
30 - 39 歳	21	13.4	6	9.5	15	15.5
40 - 49 歳	24	15.3	10	15.9	14	14.4
50 - 59 歳	18	11.5	10	15.9	8	8.2
60 - 69 歳	34	21.7	14	22.2	20	20.6
70 - 79 歳	30	19.1	8	12.7	22	22.7
80 - 89 歳	14	8.9	5	7.9	9	9.3
90 歳以上	0	0.0	0	0.0	0	0.0

表 2　2013 年度内科検診の自覚症状集計結果

自覚症状		総数						認定						未認定					
		計		男性		女性		計		男性		女性		計		男性		女性	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
全身倦怠感	計	732	100.0	345	100.0	387	100.0	576	100.0	286	100.0	290	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	184	25.1	98	28.4	86	22.2	136	23.6	77	26.9	59	20.3	48	30.8	21	35.6	27	27.8
	有	548	74.9	247	71.6	301	77.8	440	76.4	209	73.1	231	79.7	108	69.2	38	64.4	70	72.2
頭重・頭痛	計	736	100.0	346	100.0	390	100.0	580	100.0	287	100.0	293	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	301	40.9	181	52.3	120	30.8	228	39.3	145	50.5	83	28.3	73	46.8	36	61.0	37	38.1
	有	435	59.1	165	47.7	270	69.2	352	60.7	142	49.5	210	71.7	83	53.2	23	39.0	60	61.9
咳嗽	計	737	100.0	346	100.0	391	100.0	581	100.0	287	100.0	294	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	361	49.0	172	49.7	189	48.3	287	49.4	139	48.4	148	50.3	74	47.4	33	55.9	41	42.3
	有	376	51.0	174	50.3	202	51.7	294	50.6	148	51.6	146	49.7	82	52.6	26	44.1	56	57.7
喀痰	計	736	100.0	346	100.0	390	100.0	580	100.0	287	100.0	293	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	392	53.3	174	50.3	218	55.9	310	53.4	140	48.8	170	58.0	82	52.6	34	57.6	48	49.5
	有	344	46.7	172	49.7	172	44.1	270	46.6	147	51.2	123	42.0	74	47.4	25	42.4	49	50.5
腹痛	計	735	100.0	345	100.0	390	100.0	579	100.0	286	100.0	293	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	473	64.4	232	67.2	241	61.8	372	64.2	188	65.7	184	62.8	101	64.7	44	74.6	57	58.8
	有	262	35.6	113	32.8	149	38.2	207	35.8	98	34.3	109	37.2	55	35.3	15	25.4	40	41.2
下痢	計	736	100.0	346	100.0	390	100.0	580	100.0	287	100.0	293	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	443	60.2	191	55.2	252	64.6	353	60.9	157	54.7	196	66.9	90	57.7	34	57.6	56	57.7
	有	293	39.8	155	44.8	138	35.4	227	39.1	130	45.3	97	33.1	66	42.3	25	42.4	41	42.3
便秘	計	734	100.0	345	100.0	389	100.0	578	100.0	286	100.0	292	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	393	53.5	215	62.3	178	45.8	305	52.8	174	60.8	131	44.9	88	56.4	41	69.5	47	48.5
	有	341	46.5	130	37.7	211	54.2	273	47.2	112	39.2	161	55.1	68	43.6	18	30.5	50	51.5
しびれ感	計	736	100.0	346	100.0	390	100.0	580	100.0	287	100.0	293	100.0	156	100.0	59	100.0	97	100.0
	無	270	36.7	123	35.5	147	37.7	197	34.0	92	32.1	105	35.8	73	46.8	31	52.5	42	43.3
	有	466	63.3	223	64.5	243	62.3	383	66.0	195	67.9	188	64.2	83	53.2	28	47.5	55	56.7
関節痛	計	734	100.0	345	100.0	389	100.0	579	100.0	286	100.0	293	100.0	155	100.0	59	100.0	96	100.0
	無	240	32.7	124	35.9	116	29.8	179	30.9	92	32.2	87	29.7	61	39.4	32	54.2	29	30.2
	有	494	67.3	221	64.1	273	70.2	400	69.1	194	67.8	206	70.3	94	60.6	27	45.8	67	69.8
月経異常	計	175	100.0	－	－	175	100.0	129	100.0	－	－	129	100.0	46	100.0	－	－	46	100.0
	無	135	77.1	－	－	135	77.1	111	86.0	－	－	111	86.0	24	52.2	－	－	24	52.2
	有	40	22.9	－	－	40	22.9	18	14.0	－	－	18	14.0	22	47.8	－	－	22	47.8
その他	計	102	100.0	46	100.0	56	100.0	80	100.0	34	100.0	46	100.0	22	100.0	12	100.0	10	100.0
	無	32	31.4	17	37.0	15	26.8	22	27.5	10	29.4	12	26.1	10	45.5	7	58.3	3	30.0
	有	70	68.6	29	63.0	41	73.2	58	72.5	24	70.6	34	73.9	12	54.5	5	41.7	7	70.0

表 3　2013 年度内科検診の他覚所見集計結果

自覚症状		総数						認定						未認定					
		計		男性		女性		計		男性		女性		計		男性		女性	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
栄養	計	719	100.0	341	100.0	378	100.0	566	100.0	282	100.0	284	100.0	153	100.0	59	100.0	94	100.0
	無	605	84.1	294	86.2	311	82.3	482	85.2	247	87.6	235	82.7	123	80.4	47	79.7	76	80.9
	有	114	15.9	47	13.8	67	17.7	84	14.8	35	12.4	49	17.3	30	19.6	12	20.3	18	19.1
心音	計	723	100.0	341	100.0	382	100.0	571	100.0	282	100.0	289	100.0	152	100.0	59	100.0	93	100.0
	無	695	96.1	329	96.5	366	95.8	545	95.4	271	96.1	274	94.8	150	98.7	58	98.3	92	98.9
	有	28	3.9	12	3.5	16	4.2	26	4.6	11	3.9	15	5.2	2	1.3	1	1.7	1	1.1
呼吸音	計	724	100.0	340	100.0	384	100.0	571	100.0	281	100.0	290	100.0	153	100.0	59	100.0	94	100.0
	無	712	98.3	334	98.2	378	98.4	563	98.6	275	97.9	288	99.3	149	97.4	59	100.0	90	95.7
	有	12	1.7	6	1.8	6	1.6	8	1.4	6	2.1	2	0.7	4	2.6	0	0.0	4	4.3
肝腫	計	721	100.0	339	100.0	382	100.0	568	100.0	280	100.0	288	100.0	153	100.0	59	100.0	94	100.0
	無	713	98.9	333	98.2	380	99.5	560	98.6	274	97.9	286	99.3	153	100.0	59	100.0	94	100.0
	有	8	1.1	6	1.8	2	0.5	8	1.4	6	2.1	2	0.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0
脾腫	計	717	100.0	338	100.0	379	100.0	565	100.0	280	100.0	285	100.0	152	100.0	58	100.0	94	100.0
	無	716	99.9	338	100.0	378	99.7	564	99.8	280	100.0	284	99.6	152	100.0	58	100.0	94	100.0
	有	1	0.1	0	0.0	1	0.3	1	0.2	0	0.0	1	0.4	0	0.0	0	0.0	0	0.0
浮腫	計	719	100.0	338	100.0	381	100.0	567	100.0	280	100.0	287	100.0	152	100.0	58	100.0	94	100.0
	無	688	95.7	324	95.9	364	95.5	542	95.6	269	96.1	273	95.1	146	96.1	55	94.8	91	96.8
	有	31	4.3	14	4.1	17	4.5	25	4.4	11	3.9	14	4.9	6	3.9	3	5.2	3	3.2
リンパ節腫大	計	713	100.0	338	100.0	375	100.0	561	100.0	279	100.0	282	100.0	152	100.0	59	100.0	93	100.0
	無	711	99.7	337	99.7	374	99.7	560	99.8	279	100.0	281	99.6	151	99.3	58	98.3	93	100.0
	有	2	0.3	1	0.3	1	0.3	1	0.2	0	0.0	1	0.4	1	0.7	1	1.7	0	0.0
四肢けん反射	計	708	100.0	334	100.0	374	100.0	558	100.0	277	100.0	281	100.0	150	100.0	57	100.0	93	100.0
	無	576	81.4	261	78.1	315	84.2	451	80.8	214	77.3	237	84.3	125	83.3	47	82.5	78	83.9
	有	132	18.6	73	21.9	59	15.8	107	19.2	63	22.7	44	15.7	25	16.7	10	17.5	15	16.1
感覚障害	計	710	100.0	334	100.0	376	100.0	560	100.0	277	100.0	283	100.0	150	100.0	57	100.0	93	100.0
	無	586	82.5	271	81.1	315	83.8	457	81.6	221	79.8	236	83.4	129	86.0	50	87.7	79	84.9
	有	124	17.5	63	18.9	61	16.2	103	18.4	56	20.2	47	16.6	21	14.0	7	12.3	14	15.1
胸部レ線	計	637	100.0	310	100.0	327	100.0	518	100.0	263	100.0	255	100.0	119	100.0	47	100.0	72	100.0
	無	465	73.0	229	73.9	236	72.2	372	71.8	191	72.6	181	71.0	93	78.2	38	80.9	55	76.4
	有	172	27.0	81	26.1	91	27.8	146	28.2	72	27.4	74	29.0	26	21.8	9	19.1	17	23.6
心電図	計	709	100.0	335	100.0	374	100.0	568	100.0	280	100.0	288	100.0	141	100.0	55	100.0	86	100.0
	無	470	66.3	205	61.2	265	70.9	367	64.6	166	59.3	201	69.8	103	73.0	39	70.9	64	74.4
	有	239	33.7	130	38.8	109	29.1	201	35.4	114	40.7	87	30.2	38	27.0	16	29.1	22	25.6
肝・胆・脾エコー	計	274	100.0	125	100.0	149	100.0	209	100.0	100	100.0	109	100.0	65	100.0	25	100.0	40	100.0
	無	98	35.8	42	33.6	56	37.6	74	35.4	31	31.0	43	39.4	24	36.9	11	44.0	13	32.5
	有	176	64.2	83	66.4	93	62.4	135	64.6	69	69.0	66	60.6	41	63.1	14	56.0	27	67.5

表 4　2013 年度皮膚科検診集計結果

問診及び他覚所見		総数						認定						未認定					
		計		男性		女性		計		男性		女性		計		男性		女性	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
問診																			
最近の化膿傾向	計	718	100.0	340	100.0	378	100.0	564	100.0	281	100.0	283	100.0	154	100.0	59	100.0	95	100.0
	無	608	84.7	283	83.2	325	86.0	475	84.2	232	82.6	243	85.9	133	86.4	51	86.4	82	86.3
	有	110	15.3	57	16.8	53	14.0	89	15.8	49	17.4	40	14.1	21	13.6	8	13.6	13	13.7
最近の粉りゅう再発傾向	計	719	100.0	340	100.0	379	100.0	565	100.0	281	100.0	284	100.0	154	100.0	59	100.0	95	100.0
	無	593	82.5	272	80.0	321	84.7	454	80.4	221	78.6	233	82.0	139	90.3	51	86.4	88	92.6
	有	126	17.5	68	20.0	58	15.3	111	19.6	60	21.4	51	18.0	15	9.7	8	13.6	7	7.4
かつてのざ瘡皮疹	計	716	100.0	337	100.0	379	100.0	564	100.0	280	100.0	284	100.0	152	100.0	57	100.0	95	100.0
	無	373	52.1	167	49.6	206	54.4	281	49.8	136	48.6	145	51.1	92	60.5	31	54.4	61	64.2
	有	343	47.9	170	50.4	173	45.6	283	50.2	144	51.4	139	48.9	60	39.5	26	45.6	34	35.8
かつての色素沈着	計	714	100.0	337	100.0	377	100.0	563	100.0	279	100.0	284	100.0	151	100.0	58	100.0	93	100.0
	無	526	73.7	261	77.4	265	70.3	399	70.9	212	76.0	187	65.8	127	84.1	49	84.5	78	83.9
	有	188	26.3	76	22.6	112	29.7	164	29.1	67	24.0	97	34.2	24	15.9	9	15.5	15	16.1
他覚所見																			
黒色面皰	計	728	100.0	346	100.0	382	100.0	572	100.0	286	100.0	286	100.0	156	100.0	60	100.0	96	100.0
	無	626	86.0	286	82.7	340	89.0	493	86.2	236	82.5	257	89.9	133	85.3	50	83.3	83	86.5
	有	102	14.0	60	17.3	42	11.0	79	13.8	50	17.5	29	10.1	23	14.7	10	16.7	13	13.5
ざ瘡様皮疹	計	728	100.0	346	100.0	382	100.0	572	100.0	286	100.0	286	100.0	156	100.0	60	100.0	96	100.0
	無	657	90.2	303	87.6	354	92.7	521	91.1	253	88.5	268	93.7	136	87.2	50	83.3	86	89.6
	有	71	9.8	43	12.4	28	7.3	51	8.9	33	11.5	18	6.3	20	12.8	10	16.7	10	10.4
瘢痕化	計	727	100.0	346	100.0	381	100.0	572	100.0	286	100.0	286	100.0	155	100.0	60	100.0	95	100.0
	無	666	91.6	308	89.0	358	94.0	522	91.3	253	88.5	269	94.1	144	92.9	55	91.7	89	93.7
	有	61	8.4	38	11.0	23	6.0	50	8.7	33	11.5	17	5.9	11	7.1	5	8.3	6	6.3
色素沈着	計	728	100.0	346	100.0	382	100.0	572	100.0	286	100.0	286	100.0	156	100.0	60	100.0	96	100.0
	無	689	94.6	332	96.0	357	93.5	539	94.2	274	95.8	265	92.7	150	96.2	58	96.7	92	95.8
	有	39	5.4	14	4.0	25	6.5	33	5.8	12	4.2	21	7.3	6	3.8	2	3.3	4	4.2
爪変形	計	725	100.0	346	100.0	379	100.0	571	100.0	286	100.0	285	100.0	154	100.0	60	100.0	94	100.0
	無	681	93.9	320	92.5	361	95.3	534	93.5	264	92.3	270	94.7	147	95.5	56	93.3	91	96.8
	有	44	6.1	26	7.5	18	4.7	37	6.5	22	7.7	15	5.3	7	4.5	4	6.7	3	3.2

表 5　2013 年度眼科検診集計結果

主訴及び他覚所見		総数						認定						未認定					
		計		男性		女性		計		男性		女性		計		男性		女性	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
主訴																			
眼脂過多	計	721	100.0	343	100.0	378	100.0	566	100.0	283	100.0	283	100.0	155	100.0	60	100.0	95	100.0
	無	599	83.1	282	82.2	317	83.9	468	82.7	230	81.3	238	84.1	131	84.5	52	86.7	79	83.2
	有	122	16.9	61	17.8	61	16.1	98	17.3	53	18.7	45	15.9	24	15.5	8	13.3	16	16.8
他覚所見																			
眼瞼浮腫	計	718	100.0	343	100.0	375	100.0	564	100.0	283	100.0	281	100.0	154	100.0	60	100.0	94	100.0
	無	703	97.9	331	96.5	372	99.2	552	97.9	273	96.5	279	99.3	151	98.1	58	96.7	93	98.9
	有	15	2.1	12	3.5	3	0.8	12	2.1	10	3.5	2	0.7	3	1.9	2	3.3	1	1.1
眼瞼結膜色素沈着	計	718	100.0	343	100.0	375	100.0	564	100.0	283	100.0	281	100.0	154	100.0	60	100.0	94	100.0
	無	683	95.1	316	92.1	367	97.9	532	94.3	257	90.8	275	97.9	151	98.1	59	98.3	92	97.9
	有	35	4.9	27	7.9	8	2.1	32	5.7	26	9.2	6	2.1	3	1.9	1	1.7	2	2.1
瞼板腺嚢胞形成	計	718	100.0	343	100.0	375	100.0	564	100.0	283	100.0	281	100.0	154	100.0	60	100.0	94	100.0
	無	702	97.8	332	96.8	370	98.7	551	97.7	273	96.5	278	98.9	151	98.1	59	98.3	92	97.9
	有	16	2.2	11	3.2	5	1.3	13	2.3	10	3.5	3	1.1	3	1.9	1	1.7	2	2.1
瞼板腺チーズ様分泌物圧出	計	718	100.0	343	100.0	375	100.0	564	100.0	283	100.0	281	100.0	154	100.0	60	100.0	94	100.0
	無	695	96.8	327	95.3	368	98.1	545	96.6	269	95.1	276	98.2	150	97.4	58	96.7	92	97.9
	有	23	3.2	16	4.7	7	1.9	19	3.4	14	4.9	5	1.8	4	2.6	2	3.3	2	2.1

表 6　2013 年度歯科検診集計結果

主訴及び他覚所見		総数						認定						未認定					
		計		男性		女性		計		男性		女性		計		男性		女性	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
主訴	計	422	100.0	211	100.0	211	100.0	334	100.0	173	100.0	161	100.0	88	100.0	38	100.0	50	100.0
	無	304	72.0	171	81.0	133	63.0	244	73.1	139	80.3	105	65.2	60	68.2	32	84.2	28	56.0
	有	118	28.0	40	19.0	78	37.0	90	26.9	34	19.7	56	34.8	28	31.8	6	15.8	22	44.0
口腔所見																			
歯肉炎	計	431	100.0	213	100.0	218	100.0	342	100.0	175	100.0	167	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	381	88.4	183	85.9	198	90.8	301	88.0	150	85.7	151	90.4	80	89.9	33	86.8	47	92.2
	有	50	11.6	30	14.1	20	9.2	41	12.0	25	14.3	16	9.6	9	10.1	5	13.2	4	7.8
近縁性歯周炎	計	431	100.0	213	100.0	218	100.0	342	100.0	175	100.0	167	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	295	68.4	127	59.6	168	77.1	236	69.0	104	59.4	132	79.0	59	66.3	23	60.5	36	70.6
	有	136	31.6	86	40.4	50	22.9	106	31.0	71	40.6	35	21.0	30	33.7	15	39.5	15	29.4
歯牙萌出異常	計	431	100.0	213	100.0	218	100.0	342	100.0	175	100.0	167	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	428	99.3	211	99.1	217	99.5	340	99.4	174	99.4	166	99.4	88	98.9	37	97.4	51	100.0
	有	3	0.7	2	0.9	1	0.5	2	0.6	1	0.6	1	0.6	1	1.1	1	2.6	0	0.0
歯牙着色	計	431	100.0	213	100.0	218	100.0	342	100.0	175	100.0	167	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	420	97.4	206	96.7	214	98.2	335	98.0	171	97.7	164	98.2	85	95.5	35	92.1	50	98.0
	有	11	2.6	7	3.3	4	1.8	7	2.0	4	2.3	3	1.8	4	4.5	3	7.9	1	2.0
歯牙形成不全	計	430	100.0	212	100.0	218	100.0	341	100.0	174	100.0	167	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	427	99.3	211	99.5	216	99.1	339	99.4	173	99.4	166	99.4	88	98.9	38	100.0	50	98.0
	有	3	0.7	1	0.5	2	0.9	2	0.6	1	0.6	1	0.6	1	1.1	0	0.0	1	2.0
咬合異常	計	428	100.0	213	100.0	215	100.0	340	100.0	175	100.0	165	100.0	88	100.0	38	100.0	50	100.0
	無	411	96.0	205	96.2	206	95.8	328	96.5	168	96.0	160	97.0	83	94.3	37	97.4	46	92.0
	有	17	4.0	8	3.8	9	4.2	12	3.5	7	4.0	5	3.0	5	5.7	1	2.6	4	8.0
その他	計	428	100.0	213	100.0	215	100.0	340	100.0	175	100.0	165	100.0	88	100.0	38	100.0	50	100.0
	無	417	97.4	210	98.6	207	96.3	330	97.1	172	98.3	158	95.8	87	98.9	38	100.0	49	98.0
	有	11	2.6	3	1.4	8	3.7	10	2.9	3	1.7	7	4.2	1	1.1	0	0.0	1	2.0
色素沈着所見																			
歯肉	計	433	100.0	214	100.0	219	100.0	344	100.0	176	100.0	168	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	346	79.9	169	79.0	177	80.8	276	80.2	141	80.1	135	80.4	70	78.7	28	73.7	42	82.4
	有	87	20.1	45	21.0	42	19.2	68	19.8	35	19.9	33	19.6	19	21.3	10	26.3	9	17.6
頬粘膜	計	433	100.0	214	100.0	219	100.0	344	100.0	176	100.0	168	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	395	91.2	190	88.8	205	93.6	309	89.8	154	87.5	155	92.3	86	96.6	36	94.7	50	98.0
	有	38	8.8	24	11.2	14	6.4	35	10.2	22	12.5	13	7.7	3	3.4	2	5.3	1	2.0
口蓋粘膜	計	433	100.0	214	100.0	219	100.0	344	100.0	176	100.0	168	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	423	97.7	210	98.1	213	97.3	335	97.4	173	98.3	162	96.4	88	98.9	37	97.4	51	100.0
	有	10	2.3	4	1.9	6	2.7	9	2.6	3	1.7	6	3.6	1	1.1	1	2.6	0	0.0
口唇粘膜	計	433	100.0	214	100.0	219	100.0	344	100.0	176	100.0	168	100.0	89	100.0	38	100.0	51	100.0
	無	402	92.8	197	92.1	205	93.6	319	92.7	161	91.5	158	94.0	83	93.3	36	94.7	47	92.2
	有	31	7.2	17	7.9	14	6.4	25	7.3	15	8.5	10	6.0	6	6.7	2	5.3	4	7.8

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　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 26 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 26 年度の油症検診が下記の通り行われた。
8 月 27 日久留米会場・受診者数 41 名（うち患者 25 名・未認定者 16 名）、8 月 30 日福岡会場・受診者 71 名（うち患者 58 名・未認定者 13 名）、9 月 3 日北九州会場・受診者 43 名（うち患者 34 名・未認定者 9 名）、9 月 6 日福岡会場・受診者 65 名（うち患者 48 名・未認定者 17 名）、9 月 11 日北九州会場・受診者 35 名（うち患者 32 名・未認定者 3 名）。受診者合計は 255 名（うち患者 197 名・未認定者 58 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．研究結果

今年の受診者は 255 名であり、前年度よりも 21 名少なかった。

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・E．考察・結論

受診者の高齢化が進み臨床所見は少なくなってきている。また、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。さらに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。

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

油症患者における口腔乾燥症に関する研究

研究分担者　　川崎　五郎　長崎大学大学院医歯薬学総合研究科　准教授

研究要旨　油症の歯科検診において口腔乾燥症を訴える患者はしばしば認められる。しかしながら、実際には口腔乾燥があまり認められないにもかかわらず、口腔乾燥感を訴える場合もみられる。そこで、今回、口腔乾燥状態を客観的に調べるため口腔水分計を用いて研究を行った。長崎県地区における油症の認定者と未認定者を対象に、歯科検診時に任意に選んだ患者について測定し検討を行った。今回の結果では、測定値は 23.1 から 31.2 とばらつきはみられたが、平均値に関しては地域間や認定者未認定者間に有意な差は認められなかった。

A．研究目的

油症患者における口腔領域の症状のうちのひとつとして口腔乾燥症があげられる。現在でも、検診時口腔乾燥を訴える患者は少なくないが、主観的な症状も含まれ、実際に口腔内の乾燥がおきているか否かは不明である。本研究では、口腔水分計を用いて口腔内を測定することにより、油症患者の口腔乾燥の程度を測定することを目的として研究を行った。

B．研究方法

平成 26 年度長崎地区における油症検診において、通常の歯科検診時、ランダムに選んだ患者のうち同意の得られた患者で測定を行った。測定は、口腔水分計ムーカスを用い、各人において 3 回測定を行い、その平均値をデータとして用いた。測定は、舌尖部から 10 ㎜ の舌背部分で行った。

（倫理面への配慮）

本研究の解析結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C．研究結果

対象者は、平成 26 年度長崎県油症検診で歯科検診を行った患者のうち、長崎地区 31 名、五島玉之浦地区 39 名、五島奈留地区 27 名の計 97 名であった。対象者全員の値は 23.1 から 31.2 に分布しており、その平均値は 28.2 であった。地区別では、長崎地区 28.3、玉之浦 28.1、奈留 28.5 で地区別での有意差はみられなかった。また、性別では男性28.6女性27.9と男女間の差はみられなかった。油症の認定および未認定別では、認定者が 65 名で未認定者が 32 名であった。測定値は認定者 28.1、未認定者 28.3 であった。口腔乾燥感を訴える患者は、認定者に多くみられる傾向があったが、実際の口腔内の湿潤度の計測では有意差はみられなかった。

D．考察

油症発症当時から、歯科口腔外科的主訴の一つとして口腔乾燥症があげられている。これまで我々は、マウスを用いた実験で、PCB 投与したマウスにおいて特に耳下腺における形態変化および生化学的な変化を認めた。そしてこれらの結果から、油症患者の唾液腺でも何らかの形態的ならびに機能的変化がおこり、それが口腔乾燥症の症状に影響を及ぼしている可能性があることを示唆した。一方、一般の歯科治療時において唾液の流出が十分であるにもかかわらず口腔乾燥感を訴える患者も

しばしばみられる。そこで、今回は、油症患者において実際に口腔乾燥がおきているのか否かを、口腔内の湿潤状態を測定することによって口腔乾燥症に関する客観的なデータをみる研究を行った。今回の結果からは、口腔乾燥に関し、地域的な差はみられず、また、油症患者においても認定および未認定の患者間に有意差は認められなかった。今回の結果からは、認定者と未認定者の間での比較であるため十分な検討はできていないものの、差がでなかった原因として、油症発生から時間がたっているため唾液腺の機能が回復していること、基礎的疾患との関係についての検討が不十分であったこと、測定した患者数が少なかった、などが考えられた。

今後は、油症地区での一般の患者での計測結果との比較検討、PCB 血中濃度との関係、油症患者における複数年度での計測、糖尿病などの全身疾患との関わりなどについても検討していく予定である。

E．結論

油症患者における口腔乾燥症を客観的に評価するために口腔水分計ムーカスを用いて検討をおこなった。認定患者に口腔乾燥を訴える人は多い傾向にあったが、実際の測定結果では、認定者と未認定者間に口腔乾燥に関する有意な差はみられなかった。

F．研究発表

学会発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

なし

分担研究報告書

油症検診受診者におけるマイボーム腺欠損の変化

研究分担者　上松 聖典　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：マイボーム腺機能異常は油症に特異的な病態である。マイボーム腺欠損の経時的変化を評価し、マイボーム腺欠損の進行が血中 PeCDF 濃度に影響されるか検討した。その結果、油症検診受診者において血中 PeCDF 濃度はマイボーム腺欠損の１年間の変化に関与しなかった。

A. 研究目的

油症患者における慢性的な血中ダイオキシン類濃度の上昇がマイボーム腺欠損の進行に関与するか調査するため、油症検診受診者のマイボーム腺欠損の程度の変化量と、血中 PeCDF 濃度の相関を検討した。

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 2013 年度と 2014 年度に油症検診の眼科部門を受診した患者のうち、マイボグラフィーでの評価が可能で、血中 PeCDF 濃度が得られた 94 名を研究対象とした。両眼の上下眼瞼をマイボグラフィー観察しマイボーム腺の欠損の程度を 4 段階、すなわち(0)マイボーム腺の欠損なし、(1) マイボーム腺の欠損が 1/3 未満、(2)マイボーム腺の欠損が 1/3 以上 2/3 未満、(3)マイボーム腺の欠損が 2/3 以上、にマイボスコアとしてスコアリングした。左右上下の眼瞼のマイボスコアの合計値（0～12）を算出した。さらに血中 PeCDF 濃度と 2013 年度から 2014 年度へのマイボスコアの変化量に相関がないか検討した。血中 PeCDF 濃度は 2003 年度から 2011 年度における直近の測定値を用いた。統計解析には StatFlexV6®を使用した。

（倫理面への配慮）

本研究のデータ解析においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C. 研究結果

対象者は男性 46 名、女性 46 名で、年齢は中央値 69 歳(15～90 歳)であった。血中 2,3,4,7,8PeCDF 濃度の中央値は 26.0 pg/g-lipid (4.3 ～ 543.4 pg/g-lipid) であった。2013 年度から 2014 年度にかけてのマイボスコアの変化量は平均-0.4 であった。血中 PeCDF 濃度と 2013 年度から 2014 年度にかけてのマイボスコアの変化量の単相関係数は -0.139 であり、血中 PeCDF 濃度はマイボスコアの変化量と有意に相関していなかった（P=0.18）（図 1）。

D. 考察

平成 22 年 3 月の厚生労働省による報道発表資料「油症患者に係る健康実態

調査結果の報告」によると油症患者の調査票における「眼の病気」の罹患状況は、眼脂過多（めやに）が 43.9%と最多であった。慢性的な血中ダイオキシン類濃度の上昇により、マイボーム腺が持続的に障害される可能性も考えられる。マイボーム腺は障害されると次第に欠損していき、その形態はマイボグラフィーで観察できる[1,2]。

2013 年度は油症検診受診者について、マイボーム腺欠損の指標であるマイボスコアと血中 PeCDF 濃度の相関を検討したが、血中 PeCDF 濃度はマイボスコアと有意に相関していなかった。今回はマイボーム腺欠損の 1 年間での変化が血中 PeCDF 濃度と関連するか検討した。2013 年度から 2014 年度にかけてのマイボスコアの変化量と血中 PeCDF 濃度の関係を検討したが、マイボスコアの変化量と血中 PeCDF 濃度に明らかな相関関係は認められなかった。今回の研究では血中 PeCDF 濃度はマイボーム腺欠損の進行に関与するという結論は得られなかった。1 年という短期間においては、慢性的に緩徐に進行するマイボーム腺欠損の進行をとらえることが困難であった可能性も考えられる。

E. 結論

油症検診受診者におけるマイボーム腺欠損の 1 年間の変化に血中 PeCDF 濃度は関与しなかった。

F. 研究発表　なし

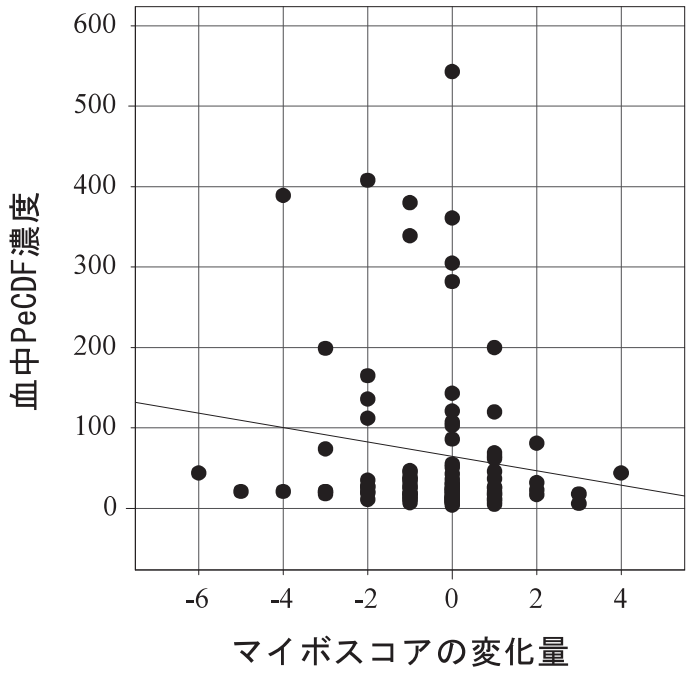
G. 知的財産権の出願・登録状況　なし

参考文献

1) Arita R, Itoh K, Inoue K, et al. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. Ophthalmology. 115:911-915. 2008

2) Arita R, Itoh K, Maeda S, et al. Proposed diagnostic criteria for seborrheic meibomian gland dysfunction. Cornea. 29:980-984. 2010

図１　2013 年度から 2014 年度にかけてのマイボスコアの変化量と血中 PeCDF 濃度



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

研究要旨　2010年度全国油症一斉検診の受診者489名において骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との関連について検討した。女性の 36%、男性の 4%に YAM%70 未満の骨密度低下を認め、骨粗鬆症と判定された。末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を男女別に解析すると、居住地および body mass index で調整した場合、女性において 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と骨密度(Z スコア)との間に負の関連を認めた。

A. 研究目的

油症患者へのアンケート結果から、血中ダイオキシン類濃度の増加と、身長の縮みとの間に正の関連があることが判明し、2007 年度より福岡県および長崎県の油症検診において、2009 年度からは全国の検診会場にて骨密度測定が施行されている。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

2010 年度に油症一斉検診に参加した489名のうち、二重Ｘ線吸収法(DXA)にて骨密度測定を行った受診者を対象とした。検診においては、骨粗鬆症の治療歴の有無を、油症相談員より聴取、もしくは問診票を用いて確認した。

骨密度は非利き腕の橈骨遠位端を DXA 法にて測定した。機材は ALOKA DCS-600EX(福岡県、大阪府、高知県)、東洋メディック Discovery Wi (広島県、島根県)、DTX-200 (長崎県)、ホロジック　Delphi A (埼玉県) 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、2010 年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。居住地および body mass index (BMI)で調整し、末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度Ｚスコア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。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 227 名、女性 262 名で、福岡県 156 名（男性 62 名、女性 94 名)、長崎県 207 名 (男性 90 名、女性 117 名)、その他の県 126 名（男性 75 名、女性 51 名）であった。未認定者は男性 69 名、女性 101 名で計 170 名であった。このうち、骨密度測定およびダイオキシン類濃度測定がなされたのは、男性 170 名、女性 213 名であった（表１)。

平均年齢は男性 66.9 才、女性 66.3 才、平均 BMI は男性 23.8、女性 23.1 であった。骨粗鬆症と判定される、YAM 70%未満の低下を男性 7 名(4.1%)、女性では 80 名(35.9%)に認めた。認定者と未認定者の間で、骨密度に有意な差はなかった。

BMI は、諸家の報告と同様、骨密度 Z スコアと有意に正に関連していた（表２)。

骨密度とダイオキシン類濃度との関連を検討した結果を、表３に示す。居住地および BMI にて調整すると、男性においては有意な関連を認めなかった。女性においては、骨粗鬆症の治療歴の有無に関わらず、Z スコアと 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD に有意な負の関連を認めた。

D. 考察

生体内で検出されるレベルのダイオキシン類濃度が骨代謝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, 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, 2008)。ごく最近では、Seveso での TCDD 曝露において、骨密度と TCDD 濃度との間に有意な負の関連がないことが報告されている(Eskenazi, 2014)。

我々は以前、複数のダイオキシン類異性体と骨密度との間に、単回帰分析において正の関連があることを報告した (岩本、2014)。今回の解析では、居住地域に加えて、BMI を用いて調整したところ、男性においては有意な関連を認めず、女性において一つの異性体と Z スコアの間に、有意な負の関連を認めた。しかしながら、有意差を認めた異性体 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD は、対照群と油症患者との間で、平均血中濃度に違いがないことが報告されており (Todaka, 2009)、結果の解釈は慎重に行う必要がある。今後は精製した異性体を用いての in vitro/in vivo での検証や、実際の骨折発生率の調査を行い、油症が骨代謝に及ぼす影響の有無を検討する予定である。

E. 結論

2010 年度の全国油症検診受診者において骨密度を測定し、女性において一つのダイオキシン類異性体と骨密度の間に、負の関連を認めた。

F. 研究発表

第 84 回日本整形外科学会・学術集会（2014. 5.22-25、神戸）
ダイオキシン類が骨代謝におよぼす影響の検討
福士純一、徳永章二、古江増隆、岩本幸英

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

Cote S, 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, et al. 2008. Bone mineral density changes in relation to environmental PCB exposure. Environ Health Perspect 116:1162-6.

Eskenazi B, et al. 2014. Serum dioxin concentrations and bone density and structure in the seveso women's health study. Environ Health Perspect 122:51-57.

岩本幸英, 福士純一.油症患者における骨密度の解析. 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 25 年度　総括・分担研究報告書. 62-65, 2014.

Todaka T, et al. 2009. Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. Chemosphere 74:902-909.

表 1：Demographic characteristics

	Woman with osteoporosis medication						Woman without osteoporosis medication						All women						Men					
	n	median	min	max	mean	SD	n	median	min	max	mean	SD	n	median	min	max	mean	SD	n	median	min	max	mean	SD
Age (years)	40	73.5	49	85	73.1	7.5	222	64.0	42	96	65.1	11.9	262	66.0	42	96	66.3	11.7	227	68.0	42	93	66.9	11.8
BMI (kg/m^2)	40	23.5	16.7	30.1	23.0	3.3	214	22.7	15.5	34.7	23.1	3.7	254	22.8	15.5	34.7	23.1	3.7	221	23.7	13.8	34.4	23.8	3.1
BMD (g/cm^2)	38	0.34	0.19	0.50	0.35	0.08	186	0.45	0.21	0.93	0.47	0.14	224	0.44	0.19	0.93	0.45	0.14	172	0.64	0.34	1.09	0.64	0.13
Z-score (SD)	38	0.01	-2.56	6.10	0.19	1.54	186	0.60	-3.18	7.00	0.60	1.58	224	0.51	-3.18	7.00	0.53	1.57	172	0.70	-3.80	7.40	0.68	1.77
T score (%)	38	65.0	39.0	99.0	65.7	12.9	186	80.0	44.0	128.0	81.2	18.5	224	77.0	39.0	128.0	78.5	18.6	172	95.5	58.0	139.0	94.2	13.3
Lipid (%)	34	0.31	0.24	0.48	0.33	0.07	179	0.31	0.21	0.49	0.33	0.06	213	0.31	0.21	0.49	0.33	0.06	170	0.30	0.20	0.49	0.30	0.05
Congeners (pg/g lipid)																								
2,3,7,8-TCDD	34	1.79	0.25	4.01	1.95	0.78	179	1.66	0.25	6.30	1.67	1.00	213	1.71	0.25	6.30	1.71	0.97	170	1.62	0.25	4.22	1.60	1.00
1,2,3,7,8-PeCDD	34	10.39	4.69	31.92	10.97	5.06	179	8.38	1.61	47.61	9.87	6.24	213	8.76	1.61	47.61	10.05	6.07	170	7.47	1.49	23.85	8.29	4.31
1,2,3,4,7,8-HxCDD	34	2.71	0.50	6.57	3.08	1.68	179	2.76	0.50	10.00	2.88	1.96	213	2.76	0.50	10.00	2.91	1.92	170	2.43	0.50	14.05	2.36	1.92
1,2,3,6,7,8-HxCDD	34	26.93	10.82	176.21	41.11	37.17	179	29.69	7.02	266.59	41.76	38.62	213	29.28	7.02	266.59	41.66	38.31	170	22.23	2.46	173.20	30.19	27.42
1,2,3,7,8,9-HxCDD	34	4.05	0.50	25.84	4.95	4.90	179	3.50	0.50	18.95	4.35	3.34	213	3.51	0.50	25.84	4.45	3.63	170	2.87	0.50	23.80	3.15	2.74
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	34	37.76	12.45	171.13	47.70	35.09	179	34.03	13.29	624.05	44.12	53.58	213	34.63	12.45	624.05	44.69	51.02	170	27.75	9.01	268.54	34.92	25.63
OCDD	34	660.24	232.47	4078.94	846.89	716.60	179	598.79	197.90	4926.46	716.24	532.67	213	600.45	197.90	4926.46	737.09	566.10	170	516.73	151.75	2881.27	639.50	402.00
2,3,7,8-TCDF	34	1.37	0.25	4.91	1.68	1.38	179	1.11	0.25	9.48	1.56	1.74	213	1.16	0.25	9.48	1.58	1.69	170	1.27	0.25	12.64	1.70	2.08
1,2,3,7,8-PeCDF	34	1.19	0.25	2.77	1.16	0.83	179	0.25	0.25	6.44	0.81	0.97	213	0.25	0.25	6.44	0.87	0.96	170	0.25	0.25	10.86	1.01	1.23
2,3,4,7,8-PeCDF	34	51.73	9.29	969.49	142.61	220.15	179	33.29	4.56	1494.28	126.97	216.55	213	35.63	4.56	1494.28	129.47	216.68	170	23.27	2.80	673.25	57.77	91.30
1,2,3,4,7,8-HxCDF	34	9.08	0.50	324.52	33.25	63.90	179	7.05	0.50	487.60	27.22	55.15	213	7.49	0.50	487.60	28.19	56.52	170	4.24	0.50	186.79	10.69	22.60
1,2,3,6,7,8-HxCDF	34	9.02	2.72	136.10	16.14	24.50	179	6.25	0.50	198.56	12.48	19.36	213	6.45	0.50	198.56	13.06	20.25	170	5.02	0.50	77.30	7.33	9.03
2,3,4,6,7,8-HxCDF	34	0.50	0.50	4.15	1.00	1.05	179	0.50	0.50	9.62	0.77	0.99	213	0.50	0.50	9.62	0.81	1.00	170	0.50	0.50	7.03	0.89	1.03
1,2,3,7,8,9-HxCDF	34	0.50	0.50	0.50	0.50	0.00	179	0.50	0.50	0.50	0.50	0.00	213	0.50	0.50	0.50	0.50	0.00	170	0.50	0.50	0.50	0.50	0.00
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	34	1.25	0.50	12.59	2.44	3.07	179	0.50	0.50	39.13	2.11	3.88	213	0.50	0.50	39.13	2.16	3.76	170	0.50	0.50	24.61	1.87	2.72
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	34	0.50	0.50	0.50	0.50	0.00	179	0.50	0.50	3.32	0.52	0.21	213	0.50	0.50	3.32	0.51	0.19	170	0.50	0.50	0.50	0.50	0.00
OCDF	34	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00	179	1.00	1.00	5.11	1.02	0.31	213	1.00	1.00	5.11	1.02	0.28	170	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
3,4,4',5-TCB(#81)	34	2.50	2.50	16.67	3.64	3.30	179	2.50	2.50	15.09	2.83	1.80	213	2.50	2.50	16.67	2.96	2.12	170	2.50	2.50	30.80	3.70	4.14
3,3',4,4'-TCB(#77)	34	2.50	2.50	31.85	7.06	7.15	179	2.50	2.50	25.27	4.71	4.84	213	2.50	2.50	31.85	5.09	5.33	170	2.50	2.50	38.29	6.39	6.39
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	34	123.59	34.17	520.99	145.92	109.52	179	82.59	2.50	491.57	101.95	74.20	213	85.95	2.50	520.99	108.96	82.16	170	98.91	2.50	684.12	124.33	110.48

平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金

表 2：Z スコアと BMI の関連（居住地で調整）

	Regression Coefficient (b)				
	b	SE of b	lower 95%	upper 95%	P
Women without osteoporosis medication	0.139	0.029	0.081	0.197	<0.0001
All women	0.151	0.027	0.098	0.204	<0.0001
Men	0.132	0.041	0.051	0.213	0.001

表３：Ｚスコアとダイオキシン類濃度の関連（BMI と居住地で調整）

log10 congeners (pg/g lipid)	Regression Coefficient (b)				
Women without osteoporosis medication	b	SE of b	lower 95%	upper 95%	P
2,3,7,8-TCDD	0.247	0.336	-0.418	0.911	0.46
1,2,3,7,8-PeCDD	0.022	0.538	-1.041	1.085	0.97
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-0.587	0.310	-1.199	0.025	0.06
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.560	0.434	-1.418	0.297	0.20
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-0.549	0.341	-1.223	0.125	0.11
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-1.129	0.478	-2.074	-0.184	0.020
OCDD	-0.799	0.537	-1.861	0.263	0.14
2,3,7,8-TCDF	0.116	0.246	-0.371	0.602	0.64
2,3,4,7,8-PeCDF	0.094	0.212	-0.324	0.513	0.66
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.111	0.198	-0.280	0.503	0.57
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.015	0.301	-0.580	0.609	0.96
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.387	0.419	-0.441	1.215	0.36
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.450	0.361	-0.264	1.164	0.21
All women	b	SE of b	lower 95%	upper 95%	P
2,3,7,8-TCDD	0.223	0.319	-0.407	0.852	0.49
1,2,3,7,8-PeCDD	0.075	0.493	-0.898	1.049	0.88
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-0.535	0.285	-1.098	0.028	0.06
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.377	0.387	-1.141	0.386	0.33
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-0.407	0.299	-0.996	0.183	0.18
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-1.123	0.431	-1.974	-0.272	0.010
OCDD	-0.841	0.472	-1.772	0.089	0.08
2,3,7,8-TCDF	0.258	0.222	-0.181	0.696	0.25
2,3,4,7,8-PeCDF	0.141	0.191	-0.235	0.517	0.46
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.178	0.176	-0.169	0.524	0.31
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.109	0.269	-0.421	0.639	0.69
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.281	0.382	-0.473	1.035	0.46
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.427	0.328	-0.220	1.074	0.19
Men	b	SE of b	lower 95%	upper 95%	P
2,3,7,8-TCDD	0.471	0.361	-0.244	1.185	0.19
1,2,3,7,8-PeCDD	0.537	0.601	-0.653	1.726	0.37
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.525	0.355	-0.178	1.228	0.14
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.157	0.529	-1.205	0.890	0.77
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.438	0.371	-0.295	1.172	0.24
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.852	0.608	-0.351	2.055	0.16
OCDD	0.723	0.590	-0.446	1.892	0.22
2,3,7,8-TCDF	0.522	0.283	-0.038	1.082	0.07
2,3,4,7,8-PeCDF	0.047	0.301	-0.549	0.642	0.88
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.047	0.259	-0.466	0.559	0.86
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.142	0.332	-0.515	0.800	0.67
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.665	0.383	-0.092	1.423	0.08
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.367	0.451	-0.525	1.259	0.42

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
	高橋浩司	福岡県保健環境研究所	生活化学課　研究員
	安武大輔	福岡県保健環境研究所	生活化学課　主任技師
	村田さつき	福岡県保健環境研究所	生活化学課　主任技師
	新谷依子	福岡県保健環境研究所	生活化学課　主任技師
	小木曽俊孝	福岡県保健環境研究所	生活化学課　主任技師
	竹中重幸	福岡県保健環境研究所	計測技術課　課長
	飛石和大	福岡県保健環境研究所	計測技術課　専門研究員
	塚谷裕子	福岡県保健環境研究所	計測技術課　研究員
	宮脇　崇	福岡県保健環境研究所	計測技術課　研究員
	櫻井利彦	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課　課長
	新谷俊二	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課　専門研究員
	世良暢之	福岡県保健環境研究所	病理細菌課　課長
	堀川和美	福岡県保健環境研究所	保健科学部　部長心得
	戸高　尊	九州大学医学部	学術研究員

研究要旨

油症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測定した。平成 25 年度（2013 年）の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 165 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 219 名であった。平成 25 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総 TEQ（WHO2005）は 53 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 83 pg/g lipid であった。今回から同居家族認定者 51 名が検診を受診したが、同居家族認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 31 pg/g lipid で認定患者全体の平均値より低く、一般人とほぼ同じ値であった。平成 13 年から 25 年の 13 年間に血液中ダイオキシン類検査を実施した油症認定患者の実数は 854 名で前年度と比べ 103 名増加し、油症認定患者 2,251 名（平成 25 年 12 月末現在）の約 37.9%の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。内訳は男性 403 名、女性 451 名、平均年齢は 65.1 歳、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 124 pg/g lipid であった。検診受診認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.7～1,792 pg/g lipid と広範囲であるが、約 55%の患者は 50 pg/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、平成 24 年(2012 年)12 月に油症診断基準追補(同居家族の条件追補)が加わったことから、平成 25 年(2013 年)12 月末の認定患者の総数は 2,251 名になった。

全国油症追跡研究班では、油症認定患者には治療と追跡調査のために、また油症未認定者には、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を用いて、油症一斉検診受診者の内、平成 13 年（2001 年）度は福岡県の受診者中の希望者、14-18 年（2002-2006 年）度の 5 年間は全国の検診受診者中の全希望者、19 年（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てきた。未認定者の測定結果は油症診定委員会の判定資料に供し、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、平成 18 年度からは漢方薬等による治療研究等、油症治療のための基礎資料作成を行っている。

本年度は、平成 25 年度油症一斉検診を受診した未認定者と検査対象の認定患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及び油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の解析を行った。また、平成 13 年度から 25 年度までの 13 年間に測定した 854 名の油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を、対照群（福岡県内の 60 歳以上の 127 名の一般人、平成 16 年度に採取）と比較し、油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の特徴を性別、年齢群別に解析した。さらに今年度から同居家族認定者が検診に参加したため、同居家族認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度等を集計し解析した。

B．研究方法

１．ダイオキシン類分析法及び信頼性確保

血液中ダイオキシン類の測定は、平成 13 年度に開発した超高感度分析法で行った。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、平成 19 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

平成 25 年度は、油症一斉検診受診者のうち未認定者 165 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

219 名から血液を採取した。血液はヘパリン入り真空採血管を用いて採血し、検査まで 4℃以下で冷蔵保存した。平成 25 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 103 名で、同居家族認定者は 51 名であった。

平成 26 年度（2014 年）調査（400 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

平成 13 年度から 25 年度までの 13 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 2,343 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 854 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。患者の年齢は採血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．研究結果・考察

１．ダイオキシン類分析の信頼性確保

１－１．ブランク補正

平成 25 年度の油症ダイオキシン類検査では 18 ロットの分析を行い、その度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、3,3',4,4'-TCB(#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(SC1～SC18)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。1,2,3,4,7,8-HxCDD、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、OCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDF 等では CV 値が比較的大きいが、その他の異性体濃度の CV 値は 10%程度と良好な結果であった。油症診定基準に採用されている 2,3,4,7,8- PeCDF の CV 値も 7.7%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小さく抑えることができている。

２．平成 25 年度油症一斉検診受診者の血液中ダイオキシン濃度分析

表２に平成 25 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 16 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。平成 19 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。平成 25 年度の油症認定患者の血液中ダイオキシン類測定対象者は 219 名であり、103 名が新たに検診を受診した。この中で 51 名が同居家族による認定者であった。また、未認定者は 165 名で前年と比べ 84 名減少し、2009 年以来 4 年ぶりに 200 名を下回った。平成 24 年 12 月に油症認定基準に同居家族条項が追加され、多くの患者同居家族が患者に認定されたため、未認定者の検診受診が減少し、新たに検診を受診した認定者が増加したものと思われる。

油症認定患者、未認定者の血液中ダイオキシン類濃度の総 2,3,7,8-TCDD 毒性等価量(TEQ)(WHO2005)の平均はそれぞれ 53 、25 pg TEQ/g lipid であった。対照群の一般住民 127 名の Total TEQ (WHO2005) は 37 pg TEQ/g lipid であり、平成 25 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 1.4 倍高く、未認定者は低い値であった。今回の認定患者には 51 名の同居家族認定者が含まれているが、同居家族認定者の Total TEQ (WHO2005) は 33 pg TEQ/g lipid であり、同居家族認定者を除いた油症認定患者(168 名)の Total TEQ (WHO2005) は 59 pg TEQ/g lipid であった。従って、同居家族認定者の血液中ダイオキシン類濃度は、一般住民の濃度と同レベルでこれまでの認定患者の Total TEQ (WHO2005)より低いと考えられる。しかし、同居家族認定者の内 7 名は 50 pg TEQ/g lipid 以上であり、従来の認定基準でも患者認定されると考えられた。

次に、未認定者の Total TEQ (WHO2005) の平均値は 25 pg TEQ/g lipid であり、対照群の一般住民 37 pg TEQ/g lipid より低い。平成 25 年に受診した未認定者は平均年齢が 56 才で 10 代の 7 名を含め 165 名中 45 名が油症事件以後に生まれたいわゆる油症 2 世の世代であった。油症 2 世世代の血液中ダイオキシン類濃度が同世代の一般人と比較して異なるか、今後調査する必要がある。また、未認定者の中に 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid を超える受診者が 2 名存在した。

３．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

平成 13 年度から 25 年度までの 13 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 854 名の平成 25 年末現在の平均年齢は 65.2 歳 (31-97 歳) で、内訳は男性 403 名、女性 451 名であり、これは平成 25 年 12 月末現在全認定患者 (2,251 名) の約 37.9%に相当する。

表 3 に油症認定患者 854 名及び平成 16 年度に福岡県で実施した一般住民の男女別血液中ダイオキシン類濃度を示した。油症認定患者(男性, 女性)の平均 Total TEQ (WHO2005) はそれぞれ 48、89 pg-TEQ/g lipid であった。対照群の一般住民(男性、女性)の総 TEQ (WHO2005) はそれぞれ 34、36 pg TEQ/g lipid であり、油症認定患者の総 TEQ (WHO2005) は一般住民より男性で約 1.4 倍高く、女性では約 2.5 倍高かった。また、油症認定患者の男女間で比較すると女性は男性の 2 倍以上高濃度であった。血液中ダイオキシン類化合物の種類別に見ると、一般住民と比べ油症認定患者の血液中濃度が 2 倍以上高い化合物は、

2,3,4,7,8-PeCDF 、 1,2,3,4,7,8-HxCDF 、1,2,3,6,7,8-HxCDF、3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)の 4 化合物であった。この内、一般住民と比較して最も濃度が高い血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は油症診定基準に採用されている。図 1 に血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の濃度分布を示した。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 2.7～1,792 pg/g lipid と広範囲であるが約 55%の認定患者は 50 pg/g lipid 以下であった。

油症患者の血液中濃度が高かった 4 化合物(2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、1,2,3,6,7,8-HxCDF 、 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)) の男女間の血液中濃度を比較すると、女性は男性のそれぞれ 2.9、3.6、2.3 及び 1.2 倍高い濃度であった。一方、一般住民では男女間の血液中ダイオキシン類濃度の差は小さく、油症認定患者でも一般住民との濃度差の小さい化合物では男女間の濃度差も小さかった。従って，油症認定患者の血液中で特徴的に高濃度の 4 化合物は油症認定患者の男性より女性の血液中濃度が高い傾向にあることが分かった。

油症認定患者の血液中ダイオキシン類の測定は平成 13 年以降であり、油症事件の発生から 32 年以上経過していた。事件発生時のダイオキシン類摂食量とその後の血液中ダイオキシン類濃度の推移が不明であるため、男女間の濃度差が大きい原因は不明である。汚染食用油の摂食状況や食品から人体への汚染物質の移行、さらに、人体内でのダイオキシン類の代謝や排泄に関し今後解析する必要がある。

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、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、平成 16 年度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た。また、多数の信頼性の高い油症認定患者の血液中ダイオキシン濃度のデータベースを構築することができ、臨床症状、半減期や遺伝子型との関係の解析に利用されている。

平成 25 年度（2013 年）の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 165 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 219 名であった。平成 25 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総 TEQ（WHO2005）は 53 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 83 pg/g lipid であった。今回から同居家族認定者 51 名が検診を受診したが、同居家族認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 31 pg/g lipid で認定患者全体の平均値より低く、一般人とほぼ同じ値であった。

平成 13 年度から 25 年度までの 13 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 854 名に達した。この 854 名の油症認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 2.7～1,792 pg/g lipid と広範囲であるが約 55%の患者は 50pg/g lipid 以下であった。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・解析すると一般住民と比べ油症認定患者の血液中濃度が 2 倍以上高い化合物は、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8- HxCDF、1,2,3,6,7,8-HxCDF、3,3',4,4',5,5'-

HxCB(#169)の 4 化合物であった。この 4 化合物は女性の方が男性より高い血液中濃度を示した。

新たに始まった油症認定患者の同居家族認定患者や未認定の油症 2 世世代の受診者が増加しており、今後これら受診者の血液中ダイオキシン類濃度の推移を注意深く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. 研究発表

1. 論文発表

1) Miyawaki T, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H, Furue M. Polychlorinated biphenyls concentrations in blood of Yusho patients during medical check-ups performed in 2012. Organohalogen Compounds. 76. 1457-1459. 2014.

2) Jumboku Kajiwara, Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Takashi Miyawaki, Tamiko Ikeno, Cihiro Miyasita, Sachiko Itoh, Seiko Sasaki, Reiko KIshi, Masutaka Furue. Dioxins and PCBs concentrations in umbilical cord blood collected in Hokkaidou, Japan. Organohalogen Compounds. 76. 1481-1484. 2014.

3) Hori Tsuguhide, Takashi Miyawaki, Koji Takahashi, Daisuke Yasutake, Takamitsu Yamamoto, Jumboku Kajiwara, Takahiro Watanabe. Concentration of Dechlorane Plus in fish samples collected in Kyushu district, western Japan. Organohalogen Compounds. 76. 900-903. 2014.

4) Koji Takahashi, Tsuguhide Hori, Jumboku Kajiwara, Takahiro Watanabe. Determination of hexabromocyclododecane in fish samples collected from Japanese markets. Organohalogen Compounds. 76. 930-933. 2014.

5) Onozuka D. Hirata T. Furue M. Net survival after exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins: the Yusho study. Environ Int. 73. 28-32. 2014.

2. 学会発表

1) Miyawaki T, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H, Furue M Polychlorinated biphenyls concentrations in blood of Yusho patients during medical check-ups performed in 2012 34TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Madrid , Spain, (2014 , September)

2) Jumboku Kajiwara, Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Takashi Miyawaki, Tamiko Ikeno, Cihiro Miyasita, Sachiko Itoh, Seiko Sasaki, Reiko KIshi, Masutaka Furue Dioxins and PCBs concentrations in umbilical cord blood collected in Hokkaidou, Japan 34TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Madrid , Spain, (2014 , September)

3) Hori Tsuguhide, Takashi Miyawaki, Koji

Takahashi, Daisuke Yasutake, Takamitsu Yamamoto, Jumboku Kajiwara, Takahiro Watanabe Concentration of Dechlorane Plus in fish samples collected in Kyushu district, western Japan 34TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Madrid , Spain, (2014 , September)

4） Koji Takahashi, Tsuguhide Hori, Jumboku Kajiwara, Takahiro Watanabe Determination of hexabromocyclododecane in fish samples collected from Japanese markets 34TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Madrid , Spain, (2014 , September)

5）梶原 淳睦, 戸高 尊, 平川博仙, 堀 就英, 小木曽 俊孝, 宮脇 崇, 飛石 和大, 高尾 佳子, 平田 輝昭, 岸 玲子, 古江 増隆, 血液中 PCB 濃度のクロスチェック 第 23 回環境化学討論会(京都市)、2014 年 5 月 14-16 日

H. 知的所有権取得

１．特許取得　　なし

２．実用新案登録　なし

３．その他　　なし

表1　コントロール血清中PCDD、PCDF及びノンオルソPCB分析値の再現性
（2013年、SC1～SC18 ）

	Mean	Median	SD	Min	Max	CV（%）
2,3,7,8-TCDD	1.46	1.48	0.39	ND	2.21	
1,2,3,7,8-PeCDD	6.15	6.30	0.60	4.97	7.23	9.8%
1,2,3,4,7,8-HxCDD	5.79	5.93	0.87	4.12	7.39	15.0%
1,2,3,6,7,8-HxCDD	45.39	44.60	3.81	38.75	52.82	8.4%
1,2,3,7,8,9-HxCDD	8.75	8.71	1.18	7.03	12.29	13.5%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	131.18	128.49	15.70	101.96	155.83	12.0%
OCDD	859.16	764.54	264.87	622.98	1579.04	30.8%
Total PCDDs	1057.88	967.78	270.88	809.76	1786.79	25.6%
2,3,7,8-TCDF	0.53	ND	0.14	ND	1.08	
1,2,3,7,8-PeCDF	0.56	ND	0.19	ND	1.09	
2,3,4,7,8-PeCDF	5.71	5.70	0.44	5.10	6.42	7.7%
1,2,3,4,7,8-HxCDF	6.18	6.20	0.75	4.71	7.59	12.1%
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.04	6.06	0.47	5.28	6.97	7.7%
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.07	ND	0.30	ND	2.28	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND					
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	14.31	14.17	1.21	11.94	17.09	8.4%
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND					
OCDF	ND					
Total PCDFs	38.41	38.01	2.12	34.32	42.82	5.5%
344'5-TCB(#81)	ND					
33'44'-TCB(#77)	38.06	37.89	2.29	34.05	43.27	6.0%
33'44'5-PenCB(#126)	22.17	22.07	1.49	20.00	24.83	6.7%
33'44'55'-HxCB(#169)	18.00	18.00	1.29	15.54	20.53	7.1%
Total Non-ortho PCBs	83.23	83.00	4.21	75.67	91.40	5.1%
Total	1179.52	1088.49	270.84	927.73	1906.77	23.0%
◆【WHO-98】◆						
T PCDDs-TEQ	15.00	14.92	0.41	14.47	16.00	2.8%
T PCDFs-TEQ	4.52	4.54	0.29	4.07	5.00	6.4%
T Non-ortho PCBs-TEQ	2.40	2.39	0.16	2.17	2.67	6.6%
Total TEQ	21.92	21.92	0.43	21.08	22.76	1.9%
◆【WHO-05】◆						
T PCDDs-TEQ	15.17	15.06	0.43	14.60	16.23	2.8%
T PCDFs-TEQ	3.36	3.38	0.21	3.04	3.74	6.2%
T Non-ortho PCBs-TEQ	2.76	2.75	0.18	2.50	3.05	6.4%
Total TEQ	21.30	21.31	0.41	20.53	22.10	1.9%
Lipid(%)	0.30	0.30	0.020	0.27	0.33	6.7%

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

表２　油症認定患者及び未認定者血液中PCDDｓ、PCDFｓ及びノンオルソPCB濃度測定結果（2013年）

(pg/g lipid)

	2013年検診結果								一般の人（2004年）			
	油症認定患者(N=219)				未認定者(N=165)				(N=127)			
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.4	1.05	ND	7.4	1.2	0.92	ND	4.9	1.9	0.84	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	8	4.7	1.6	28	6.1	4.0	ND	23	9.0	3.4	3.2	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.9	1.5	ND	13	1.8	1.2	ND	7.6	3.6	1.9	ND	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	29	27	5.3	169	18	15	2.1	78	28	11	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.0	2.6	ND	26	2.6	2.8	ND	28	4.5	2.8	ND	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	44	85	6.7	1224	36	30	5.1	251	78	55	18	470
OCDD	392	556	72	7881	337	281	65	1942	1200	640	180	7600
Total PCDDs	479	647	102	9221	402	316	88	2144	1300	1000	210	8200
2,3,7,8-TCDF	1.1	0.9	ND	7	0.7	0.5	ND	3	1.0	0.72	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	0.9	0.77	ND	8.3	0.70	0.4	ND	3	0.67	0.55	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	83	142	3.5	1113	15	12	1.5	79	17	7.7	6.0	63
1,2,3,4,7,8-HxCDF	18	38	ND	343	3.0	2.1	ND	14	5.0	2.7	ND	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	9	14	ND	107	3.4	2.2	ND	13	5.7	2.6	ND	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.7	ND	7.0	1.0	0.08	ND	2.0	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	2.3	5.4	ND	74	1.5	1.1	ND	9	2.2	2.1	ND	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND				ND				ND			
OCDF	ND				ND				2.1	1.4	ND	18
Total PCDFs	119	192	12	1578	29	16	11	105	37	14	15	86
344'5-TCB(#81)	5.3	1.8	ND	25	5.2	1.0	ND	14	5.6	2.3	ND	24
33'44'-TCB(#77)	5.7	2.6	ND	20	5.1	0.8	ND	12	8.4	4.8	ND	31
33'44'5-PenCB(#126)	83	74	ND	591	78	80	ND	455	110	80	17	520
33'44'55'-HxCB(#169)	141	120	13	630	67	56	ND	308	64	27	16	190
Total Non-ortho PCBs	234	173	37	1125	155	129	ND	703	190	110	59	740
Total	832	778	167	9683	587	403	138	2841	1600	1000	290	8500
◆【WHO-98】◆												
T PCDDs-TEQ	13	8	3.2	48	10	6.1	1.6	34	15	5.7	5.0	34
T PCDFs-TEQ	44	76	2.2	602	8	6	1.3	42	10	4.3	3.5	33
T Non-ortho PCBs-TEQ	10	8.1	0.8	64	8	8	0.6	47	12	8.2	2.0	54
Total-TEQ	67	85	7.5	659	27	19	3.5	92	37	16	12	100
◆【WHO-05】◆												
T PCDDs-TEQ	13	8	3.3	48	10	6.2	1.6	34	16	5.9	5.1	35
T PCDFs-TEQ	28	47	1.5	380	5.4	4	0.9	26	6.6	2.5	2.3	14
T Non-ortho PCBs-TEQ	12	10	1.3	74	10	9	0.7	51	13	8.6	2.6	58
Total-TEQ	53	59	7.2	446	25	18	3.3	89	37	16	12	100
Lipid(%)	0.26	0.05	0.17	0.43	0.28	0.05	0.15	0.41	0.33	0.05	0.2	0.5
Age(years)	61.6	12.1	40	91	56.2	19.3	10	89	68.1	5.4	60	86

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

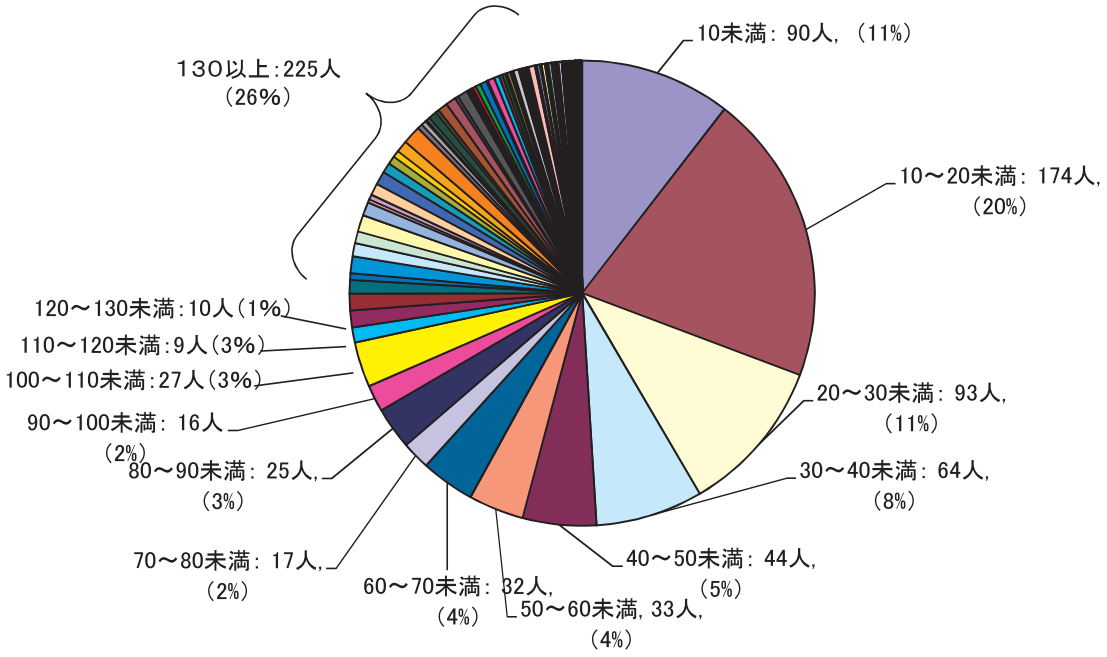
表３　油症認定患者及び一般住民の男女別血液中ダイオキシン類濃度

	油症認定患者（2001-2013年）								一般住民（2004年）							
	男性（N=403）				女性（N=451）				男性（N=51）				女性（N=76）			
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.5	1.0	ND	4.9	1.7	1.1	ND	8.6	1.8	0.9	ND	4.0	2.0	0.8	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	7.9	4.4	1.2	28	11	6.4	1.4	48	8.4	3.4	3.2	19	9.3	3.3	3.3	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.2	1.7	ND	14	2.7	2.0	ND	15	3.3	1.7	ND	7.6	3.7	2.1	ND	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	29	24.3	2.5	173	47	42	4.7	314	26	10.1	7.3	47	29	11.4	13	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.1	2.6	ND	24	4.4	3.8	ND	36	3.7	2.0	ND	9.1	5.1	3.1	ND	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	37	24.4	6.7	269	47	69	ND	1224	65	35.9	17.6	170	88	63.8	22	470
OCDD	591	440.3	72	5245	660	664.9	79.2	7905	1100	676.1	181.2	3300	1300	1066.8	370	7600
Total PCDD	671	476	102	5607	773	733.9	106.8	9221	1200	724.3	214.4	3600	1500	1139.4	430	8200
2,3,7,8-TCDF	1.5	1.7	ND	14	1.8	1.9	ND	14	1.1	0.9	ND	4.5	0.8	0.6	ND	2.9
1,2,3,7,8-PeCDF	1.0	1.0	ND	8	1.1	1.0	ND	8.3	0.8	0.7	ND	4.6	0.6	0.4	ND	2.7
2,3,4,7,8-PeCDF	62	91.8	2.7	673	179	239.2	3.5	1792	16	6.5	6.0	36	18	6.5	7.5	37
1,2,3,4,7,8-HxCDF	12	20.9	ND	187	44	75.6	ND	600	4.7	2.3	ND	13	5.2	3.0	ND	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	7.7	8.6	ND	77	18	24.7	ND	202	5.6	2.6	ND	14	5.7	2.6	ND	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.3	0.9	ND	8.7	1.2	0.8	ND	9.6	1.4	0.9	ND	5.2	1.2	0.6	ND	4.9
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	0.0	1.0	1.0	ND				ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.2				2.6	4.5	ND	74	2.4	2.4	ND	13	2.0	1.8	ND	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.1	ND	2.7	1.0	0.1	ND	3.3	ND				ND			
OCDF	ND				2.1	1.7	ND	38	ND				2.2	1.8	ND	18
Total PCDF	91	119.6	12	854	252	334.9	12	2558	36	13.8	15	86	38	13.3	18	82
3,4,4',5-TCB(#81)	6.0	4.0	ND	37	5.3	1.6	ND	22	5.8	3.0	ND	24	5.4	1.7	ND	14
3,3',4,4'-TCB(#77)	7.5	7.2	ND	81	7.2	8.8	ND	150	8.6	5.4	ND	31	8.3	4.4	ND	21
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	106	101.2	ND	684	93	66.7	ND	428	120	83.6	17	360	110	78.9	26	520
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	156	116.6	ND	839	186	164.1	13	1281	69	27.4	32	160	60	26.3	16	190
Total Non-ortho PCBs	275	203.4	30	1542	291	195.3	37	1524	200	108.4	59	520	190	104.5	64	740
Total	1038	634.1	167	5933	1316	929.0	222	9683	1400	796.1	290	3900	1700	1175.6	550	8500
◆【WHO-98】◆																
T PCDDs-TEQ	13	7.4	2.7	48	18	11.3	2.8	79	14	5.6	5.0	29	16	5.7	6.0	34
T PCDFs-TEQ	33	48.6	1.9	354	96	128.8	2.2	971	9.5	3.8	3.5	22	10	3.7	4.7	21
T Non-ortho PCBs-TEQ	12	10.9	0.7	77	11	7.3	0.8	44	12	8.5	2.0	38	12	8.1	2.9	54
Total TEQ(WHO-98)	59	57.4	6.3	411	126	140.5	7.2	1068	36	16.5	12	83	38	15.5	15	100
◆【WHO-05】◆																
T PCDDs-05-TEQ	13	7.6	2.8	49	18	11.1	2.9	79	14	5.7	5.1	30	16	5.8	6.2	35
T PCDFs-05-TEQ	20	30.1	1.3	219	56	75.2	1.5	519	6.2	2.5	2.3	14	6.8	2.4	3.1	14
T Non-ortho PCBs-05-TEQ	15	13.1	1.0	94	15	9.4	1.5	61	14	8.9	2.6	40	13	8.5	3.5	58
Total -TEQ(WHO-05)	48	42.1	6.3	285	89	90.0	7	634	34	15.9	11	80	36	15.0	14	98
Lipid(%)	0.30	0.06	0.16	0.53	0.31	0.07	0.16	0.64	0.32	0.05	0.22	0.49	0.33	0.05	0.24	0.47
Age(years)	64.9	13.3	31	94	65.5	13.6	32	97	68.1	5.0	60	79	68.0	5.7	60	86

(pg/g lipid)

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

図1　油症認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度分布（n=854）
（pg/g　lipid）



分担研究報告書

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

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
	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

研究要旨

血液中ダイオキシン、PCB 類濃度分析において採血から分析までの血液保存期間の影響を確認するため、コレスチラミンやクロレラを用いた治療研究時の脂肪やダイオキシン類濃度の測定値を用いて解析した。その結果、16 カ月程度の 4℃以下の冷蔵保存では血液中脂肪やダイオキシン類濃度は変化せずに測定できていると考えられた。

A. 研究目的

油症検診の血液中ダイオキシン PCB 分析では血液を分析開始まで数ヶ月間 4℃以下で冷蔵保存している。また、コレスチラミン等を用いた治療研究では薬剤投与前後の血液を同時に分析し、ダイオキシン PCB 測定誤差を最小にするように努めている。このため検査まで最長で 16 カ月程度 4℃以下で冷蔵保存している。凍結融解を行うと油脂分と水分が分離してしまい分取の際に不均一になったことがあるため、冷蔵の方が精度良く測定できると考えられている。また、血液中ではダイオキシンや PCB 等の疎水性有機化合物は脂肪中に溶解していると考えられるため、ダイオキシン類濃度は血液から有機溶媒で抽出された脂肪重量あたりの濃度(pg / g lipid)で表示している。血液保存期間中の血液中ダイオキシン濃度の安定性については精度管理用の血液を用いて確認しているが、検体数が少なく十分ではなかった。また、ダイオキシン類に比べ脂肪は不安定とされており酸化や分解等による濃度の変動が懸念される。そこで保存期間中の血液中の脂肪やダイオキシン類の安定性について、コレスチラミンやクロレラを用いた治療研究時の脂肪やダイオキシン類濃度の測定値を用いて解析した。

B. 研究方法

平成 22 年 6 月から平成 23 年 12 月にかけて行われたクロレラ投与実験で測定した 44 名 123 検体の血液中ダイオキシン濃度と脂肪重量の測定値と平成 19 年 4 月から平成 21 年 10 月に行われたコレスチラミン治療実験で測定した 51 名、91 検体の血液の中性脂肪・コレステロール濃度、ダイオキシン濃度及び脂肪重量の測定値を用いて解析した。

（倫理面への配慮）

研究結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. 研究結果・考察

クロレラ投与実験では被験者を 2 群に分けて 8 ヶ月間クロレラ投与と非投与を交互に行い、試験開始時と 8 ヶ月後、試験終了の 16 ヶ月後に採血を行っている。各被験者の血液中ダイオキシン類濃度を脂肪重量あたりで比較すると、クロレラ投与の前後を含め開始時、8 ヶ月後、16 ヶ月後でほとんど血液中ダイオキシン類濃度に変動が見られなかった（図 1)。血液中脂肪濃度や血液重量あたりのダイオキシン類濃度は採血毎に変動しているが、クロレラ投与の有無や保存期間との関連は見られなかった。しかし、保存期間中の脂肪濃度の変動と 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の変動との間にはきわめて強い正の相関が見られた（図 2)。従って、保存期間中のダイオキシン類と脂肪濃度はどちらか片方が著しく変動することはなく測定されたと考えられる。

コレスチラミン治療実験では被験者を 2 群に分けて 6 ヶ月間コレスチラミン投与と非投与を交互に行い、試験開始時と 6 ヶ月後、試験終了の 12 ヶ月後に採血を行っている。各被験者の血液中ダイオキシン類濃度を脂肪重量あたりで比較すると、コレスチラミン投与の前後では 2%程度血液中ダイオキシン類濃度が低下したが便秘などの副作用もあり、治療薬としての使用は控えられている。コレスチラミンは高コレステロール血症の治療薬として使用されており、実験では採血時に血液の生化学検査が行われ、中性脂肪や総コレステロール濃度が測定されていた。各被験者の採血時に測定された中性脂肪＋総コレステロール濃度と保存後に有機溶媒で抽出された脂肪濃度を表 1 に示した。（中性脂肪＋総コレステロール濃度）と（有機溶媒で抽出された脂肪濃度）の比の平均値は開始時が 0.968、6 ヶ月後 0.968、終了時 0.987 で保存期間の影響はほとんど見られないため保存期間中の脂肪濃度の低下は無く測定されたと推察された。

D. 結論

血液中ダイオキシン、PCB 類検査において 1 カ月から 16 カ月程度の血液保存期間をおいて測定しているが、この間の血液中の脂肪やダイオキシン類濃度の変化について、コレスチラミンやクロレラを用いた治療研究時の脂肪やダイオキシン類濃度の測定値を用いて解析した。その結果、16 カ月程度の 4℃以下の冷蔵保存では血液中脂肪やダイオキシン類濃度は変化せずに測定できていると考えられた。

E. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

F. 研究発表

なし。

H. 知的所有権取得

１．特許取得　　なし
２．実用新案登録　なし
３．その他　　なし

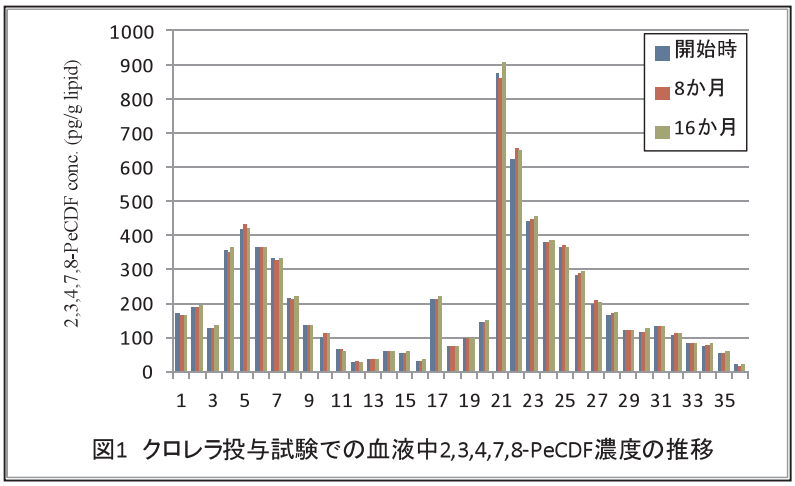


図1 クロレラ投与試験での血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の推移

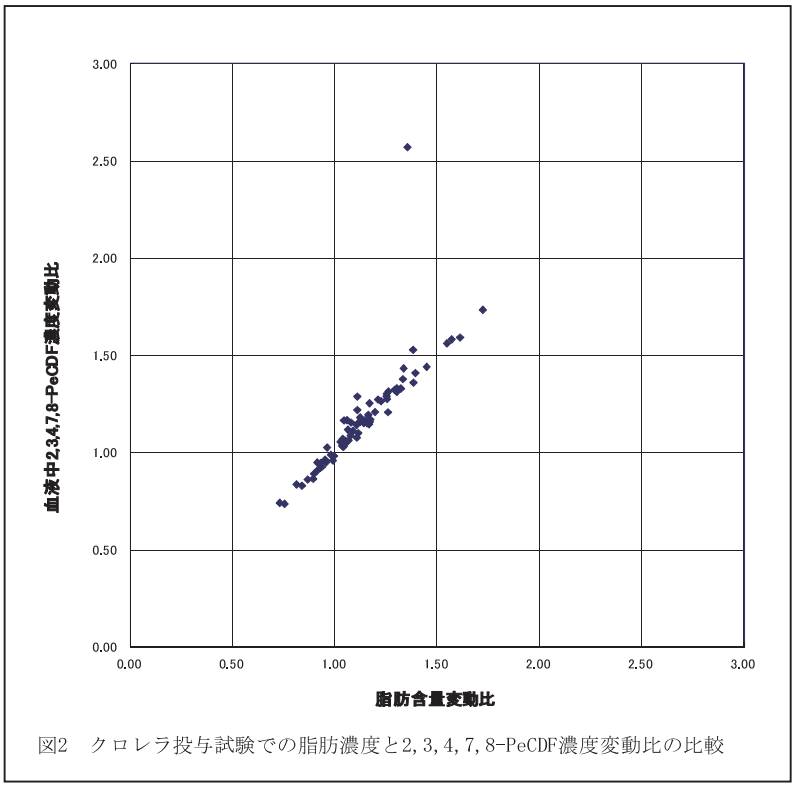


図2 クロレラ投与試験での脂肪濃度と2, 3, 4, 7, 8-PeCDF濃度変動比の比較

表1 コレスチラミン投与試験での血液中脂肪濃度の比較

	開始時			6ヶ月後			終了時		
	A	B	B/A	A	B	B/A	A	B	B/A
Mean	354	331	0.968	372	341	0.968	360	331	0.987
SD	79.3	61.9	0.230	105.6	60.2	0.265	101.2	48.1	0.241
Min	241	227	0.528	224	241	0.552	234	257	0.585
Max	515	492	1.604	711	470	1.645	717	430	1.652

A：採血時、生化学検査により求めた中性脂肪+ｺﾚｽﾃﾛｰﾙ濃度

B：保存後、溶媒抽出により求めた脂肪濃度

分担研究報告書

油症における免疫機能に関する研究

研究分担者　　辻　　博　　北九州津屋崎病院内科　部長

研究要旨　2014 年度福岡県油症一斉検診を受診し、免疫機能検査に同意が得られた 252 例について抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体を測定し、血中 PCB 濃度との関連について検討した。抗 Scl-70 抗体は同居家族を含む油症患者 194 例中 5 例（2.6%）、未認定患者 46 例中 3 例（6.5%）に、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は同居家族を含む油症患者 4 例（2.1%）、未認定患者 1 例（2.2%）に認め、ともに出現率に差をみなかった。抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は血中 PCB 高濃度油症患者と血中 PCB 低濃度患者において出現率に差をみなかった。

A．研究目的

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]。

近年、PCB、ダイオキシン類が内分泌撹乱物質として正常なホルモン作用を撹乱し、生殖機能の阻害、悪性腫瘍の発生、免疫機能の低下等を引き起こす可能性が指摘されている。油症における免疫機能影響については 2007 年度福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度と免疫グロブリン immunoglobulin（Ig）A およびリウマチ因子との間に有意の相関を認め、血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比べ抗核抗体を有意に高頻度に認めた。そして、抗核抗体は血中 2,3,4,7,8-pentachloro-dibenzofuran（PeCDF）低濃度群に比べ高濃度群に有意に高頻度に認め、油症における抗核抗体の出現に PCB および PeCDF の関与が示唆される。抗核抗体は細胞の核に対する自己抗体であり、抗核抗体を構成する特異自己抗体である抗 Scl-70 抗体はⅠ型トポイソメラーゼを対応抗原とする自己抗体であり、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は RNA ポリメラーゼⅢを対応抗原とする自己抗体である。今回は、油症に認められる抗核抗体の性状を明らかにするためにる抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体を測定し、油症原因物質である PCB の慢性的影響について検討した。

B．研究方法

2014 年度福岡県油症一斉検診の受診者 255 例中、免疫機能検査に同意が得られた 252 例を対象者とした。抗 Scl-70 抗体お

よび抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は enzyme linked immunosorbent assay（ELISA）法（抗 Scl-70 抗体(E)[S]、富士レビオおよび MESACUP anti-RNA ポリメラーゼⅢテスト、医学生物学研究所）で測定した。

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行なった。血中 PCB 濃度は 2014 年度福岡県油症一斉検診において測定した 252 例の測定値を用い、抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体との関連について検討した。

結果は平均±標準偏差（mean±S.D.）で表し、異常値の出現頻度の比較は χ^2 検定で行なった。

C．研究結果

2014 年度福岡県油症一斉検診を受診し、免疫機能検査に同意が得られた 252 例の内訳は女性 148 例、男性 104 例で、平均年齢は 62.8±16.1（11－97）歳であり、油症患者 171 例、油症患者（同居家族）23 例、未認定患者 46 例、観察者 1 例、初回受診者 11 例であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関（r=0.5753, P＜0.001）を認めた。

2014 年度福岡県油症一斉検診の受診者 252 例中、抗 Scl-70 抗体が測定下限値 7.0 U/ml を超える上昇を認めたものは 14 例（5.6%）であった。その内訳は女性 10 例、男性 4 例で、油症患者 5 例、油症患者（同居家族）3 例、未認定患者 5 例、初回受診者 1 例であった。そして、抗 Scl-70 抗体が基準値10.0 U/ml を超える上昇を認めるものは 9 例（3.6%）であり、その内訳は女性 7 例、男性 2 例で、油症患者 2 例、油症患者（同居家族）3 例、未認定患者 3 例、初回受診者 1 例であった。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体が測定下限値 5 Index 以上の上昇を認めたものは 39 例（15.5%）であった。その内訳は女性 24 例、男性 15 例で、油症患者 24 例、油症患者（同居家族）6 例、未認定患者 8 例、初回受診者 1 例であった。そして、基準値 28 Index 以上の上昇を認めるものは 6 例（2.4%）であり、その内訳は女性 2 例、男性 4 例で、油症患者 3 例、油症患者（同居家族）1 例、未認定患者 1 例、初回受診者 1 例であった。

同居家族を含む油症患者 194 例について未認定患者 46 例を対照者として抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体が上昇を認めるものの出現頻度について検討した（表 1）。抗 Scl-70 抗体の測定下限値 7.0 U/ml を超える上昇を対照者 5 例（10.9%）に比べ油症患者において 8 例（4.1%）と少ない傾向を認めたが、出現率に差をみなかった。そして、基準値 10.0 U/ml を超える抗 Scl-70 抗体の出現を油症患者 5 例（2.6%）、対照者 3 例（6.5%）に認め、差をみなかった。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体が測定下限値 5 Index 以上の上昇を認めるものは油症患者 30 例（15.5%）、対照者 8 例（17.4%）と出現率に差をみなかった。そして、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体が基準値28 Index 以上の上昇は油症患者 4 例（2.1%）、対照者 1 例（2.2%）に認め、出現率に差をみなかった。

同居家族を含む油症患者 194 例について血中 PCB 濃度 1.0 ppb 未満の 92 例を血中 PCB 低濃度油症患者、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の 102 例を血中 PCB 高濃度油症患者として、両群間の抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体の出現頻度について検討を行なった（表 2）。血中 PCB 低濃度油症患者の平均血中 PCB 濃度は 0.56±0.23 ppb、血中 PCB 高濃度油症患者の平均血中 PCB 濃度は 1.77±0.90 ppb であった。抗 Scl-70 抗体の測定下限値 7.0 U/ml を超える上昇を血中 PCB 低濃度患者 3 例（3.3%）に、血中 PCB 高濃度患者 5 例（4.9%）に認め、両群間に差をみなかっ

た。そして、抗 Scl-70 抗体が基準値 10.0 U/ml を超える上昇を血中PCB低濃度患者2例（2.2%）に、血中 PCB 高濃度患者 3 例（2.9%）に認め、出現率に差をみなかった。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は測定下限値 5 Index 以上の上昇を血中 PCB 低濃度患者 14 例（15.2%）に、血中 PCB 高濃度患者 16 例（15.7%）に認め、出現率に差をみなかった。そして、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体が基準値 28 Index 以上の上昇を血中 PCB 低濃度患者 2 例（2.2%）に、血中 PCB 高濃度患者 2 例（2.9%）に認め、出現率に差をみなかった。

D．考察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されている。油症発症 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査において、甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0 ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかったが、抗サイログロブリン抗体が高濃度群に 19.5%と低濃度群の 2.5%に比べ高頻度に認められた [5]。1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0%に、自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9%、抗核抗体を 45.6%と高率に認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された [6]。2007 年度福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度と免疫グロブリン IgA あるいはリウマチ因子との間に有意の相関を認め、抗核抗体が血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比べ有意に高頻度に認められた。そして、抗核抗体は血中 2,3,4,7,8- PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に有意に高頻度に認められ、油症における抗核抗体の出現に PCB および PeCDF の関与が示唆された。2012 年度福岡県油症一斉検診において、油症患者に抗 Sm 抗体を 0.6%に、抗セントロメア抗体を 2.4%に、抗 dsDNA 抗体を 6.5%に認めたが、いずれの抗体も未認定患者にはみられなかった [7]。そして、抗セントロメア抗体の出現頻度は血中 PCB 低濃度群に比べ血中 PCB 高濃度群において有意に高頻度であり、油症において抗セントロメア抗体の出現に PCB が関与している可能性が考えられた。さらに、2013 年度福岡県油症一斉検診において、抗 SS-A/Ro 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者および血中 PCB 低濃度患者において出現頻度に差をみなかったが、抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 濃度が高い油症患者のみに認められることより、油症において抗 SS-B/La 抗体の出現に PCB が関与している可能性が考えられた。

抗核抗体は細胞の核に対する自己抗体であり、抗 Scl-70 抗体は核内において DNA 複製等の過程で 2 本鎖 DNA の立体構造を変化させる酵素である I 型トポイソメラーゼを対応抗原とする自己抗体である [8]。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は遺伝子発現に関わる転移RNAやリボソームRNAを合成する RNA ポリメラーゼⅢを対応抗原とする自己抗体である。抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は、ともに染色型が斑紋型あるいは核小体型を示し、全身性強皮症に特異性が高いことが知られている。油症に認められる抗核抗体の性状を明らかにするために抗核抗体を構成する特異自己抗体である抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体を測定した。2014 年度福岡県油症一斉検診の受診者 252 例中、抗 Scl-70 抗体が基準値を超える上昇を認めるものは 9 例（3.6%）であり、その内訳は油症患者 2 例、油症患者（同居家族）3 例、未認定患者 3 例、初回受診者 1 例であった。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体の基準値以上の上昇を認めるものは 6 例（2.4%）であり、その内訳は油

症患者 3 例、油症患者（同居家族）1 例、未認定患者 1 例、初回受診者 1 例であった。同居家族を含む油症患者および未認定患者における検討では、抗 Scl-70 抗体が基準値を超えるものを油症患者の 2.6%に、未認定患者の 6.5%に認め、出現率に差をみなかった。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体が基準値以上の上昇を認めるものは同居家族を含む油症患者の 2.1%に、未認定患者の 2.2%に認め、出現率に差をみなかった。そして、血中 PCB 低濃度油症患者および高濃度油症患者における抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体の検討では、抗 Scl-70 抗体は血中 PCB 低濃度患者の 2.2%に、血中 PCB 高濃度油症患者の 2.9%に認め、出現率に差をみなかった。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は血中 PCB 低濃度患者の 2.2%、血中 PCB 高濃度油症患者の 2.0%と出現率に差をみなかった。

今回の検討では、2014 年度福岡県油症一斉検診の受診者において、抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体を検討した。抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は同居家族を含む油症患者と未認定患者に出現率に差をみなかった。また、抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は血中 PCB 高濃度油症患者と血中 PCB 低濃度患者において出現率に差をみなかった。抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体の出現と 2,3,4,7,8- PeCDF の関連についても検討が必要と考えられた。

E．結論

2014 年度福岡県油症一斉検診の受診者 252 例（油症患者 171 例、油症患者（同居家族）23 例、未認定患者 46 例、観察者 1 例、初回受診者 11 例）において抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体を測定した。抗 Scl-70 抗体の基準値を超える上昇を油症患者 2 例、油症患者（同居家族）3 例、未認定患者 3 例、初回受診者 1 例に、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体の基準値以上の上昇を油症患者 3 例、油症患者（同居家族）1 例、未認定患者 1 例、初回受診者 1 例に認めた。同居家族を含む油症患者および未認定患者における検討では、抗 Scl-70 抗体を油症患者 194 例中 5 例（2.6%）に、未認定患者 46 例中 3 例（6.5%）に認め、出現率に差をみなかった。また、抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体の基準値以上の上昇は同居家族を含む油症患者 4 例(2.1%)に、未認定患者 1 例(2.2%)に認め、出現率に差をみなかった。血中 PCB 低濃度油症患者および高濃度油症患者における検討では、抗 Scl-70 抗体は血中 PCB 低濃度患者 92 例中 2 例(2.2%)に、PCB 高濃度油症患者 102 例中 3 例 (2.9%)に認め、出現率に差をみなかった。抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体は血中 PCB 低濃度患者 2 例 (2.2%)、PCB 高濃度油症患者 2 例（2.0%）に認め、出現率に差をみなかった。

F．参考文献

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

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

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

4. 飯田隆男，戸高尊，平川博仙，飛石和大，松枝隆彦，堀就英，中川礼子，古江増隆:油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査（2001 年）．福岡医学雑誌 94 : 126-135, 2003.

5. 辻　博, 佐藤薫, 下野淳哉, 東晃一, 橋口衛, 藤島正敏 : 油症患者における甲状腺機能 : 油症発生 28 年後の検討. 福岡医学雑誌 88 : 231-235, 1997.
6. 辻　博, 平橋高明, 緒方久修, 藤島正敏 : 油症患者における免疫機能の検討. 福岡医誌 90 : 147-149, 1999.
7. 辻 博:油症における特異抗核抗体の検討. 福岡医誌 104 : 73-77, 2013.
8. 濱口儒人 : 全身性強皮症における自己抗体とその臨床的特徴. 日臨免誌 36 : 139-147, 2013.

G. 研究発表

１. 論文発表

辻 博 : 油症における特異抗核抗体の検討. 福岡医誌 104 : 73-77, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表１　油症患者および対照における抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体

	油症	対照
No.	194	46
抗 Scl-70 抗体		
＞ 7.0 U/ml	8 (4.1%)	5 (10.9%)
＞ 10.0 U/ml	5 (2.6%)	3 (6.5%)
抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体		
≧ 5 Index	30 (15.5%)	8 (17.4%)
≧ 28 Index	4 (2.1%)	1 (2.2%)

表２　油症患者 194 例における血中 PCB 濃度による抗 Scl-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体の出現

	血中 PCB 濃度	
	＜ 1.0 ppb	≧ 1.0 ppb
No.	92	102
抗 Scl-70 抗体		
＞ 7.0 U/ml	3 (3.3%)	5 (4.9%)
＞ 10.0 U/ml	2 (2.2%)	3 (2.9%)
抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体		
≧ 5 Index	14 (15.2%)	16 (15.7%)
≧ 28 Index	2 (2.2%)	2 (2.0%)

分担研究報告書

油症認定患者における soluble EGFR の検討

研究分担者　宇谷厚志　　長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授
研究協力者　鍬塚大　　長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 助教

研究要旨　近年種々の悪性腫瘍に対して EGFR 阻害剤による抗腫瘍効果が示され、本邦でも広く用いられている。だが、EGFR 阻害剤による皮膚障害として痤瘡様皮疹や爪囲炎が生じる。一方で多くの油症患者においても、発症当時は激烈な痤瘡様皮疹が認められた。現在症状は軽減してきているが、一部の油症患者においては痤瘡様皮疹による QOL の低下が見受けられる。TCDD により誘発された塩素性痤瘡の組織中では EGFR が高発現していたという報告がみられたことから、我々は油症患者において EGFR の変動が何らかの形で生じている可能性を考えた。一方、非肺小細胞癌や膵癌などにおいて可溶性 EGFR（sEGFR）が血清中で確認され、病勢と関連していることが報告されている。よって、油症患者血清中では sEGFR に何らかの変動が生じているものと考え、正常人との比較を行った。その結果、血清中 sEGFR 値は油症患者で 63.10±23.52 ng/ml、健常人で 58.81±16.84 ng/ml であった。油症患者血清中でやや上昇傾向が見られたが、2 群間に有意な差はなかった。

A. 研究目的

1968 年カネミ油症事件発生後 40 年以上経過し、初期に認められた激しい症状は消退傾向にあるが、現在でも痤瘡様皮疹などの皮膚症状、咳嗽や喀痰過多などの呼吸器症状、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 類が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から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。

近年、医学の進歩により細胞増殖に特徴的な分子を標的とする分子標的薬の開発が進んでいる。中でも、分子標的薬の一つである EGFR 阻害剤は本邦でも大腸癌や肺癌、頭頸部癌などに広く用いられている。だが、その副作用として痤瘡様皮疹が生じることが知られ、痤瘡様皮疹と EGFR の関与が示唆されている。最近の研究によると、TCDD 投与により発症した塩素性痤瘡組織中において EGFR の発現が亢進していることが報告された [2]。したがって、油症患者においても痤瘡様皮疹の発症に EGFR が関与している可能性が考えられる。その一方で、非肺小細胞癌や転移性乳癌などにおいて、血清中に存在する可容性 EGFR（soluble EGFR; sEGFR）値が病勢と相関しているとする報告が散見される [3][4]。以上から、油症認定患者においても血清中 sEGFR に変動が生じている可能性を考え、油症患者血清における sEGFR 値を検討した。

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 29 名および年齢をあわせた健常人 28 名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し sEGFR 測定用サンプルとした

②sEGFR の測定；ヒト EGFR ELISA キット（R&D 社製）を用いてサンプル血清中の EGFR を測定した。

③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 PCB, PCQ, PCDF と sEGFR 値との相関を検討した。

④統計的処理：測定した sEGFR 値の統計的処理に Mann-Whitney の U 検定、Spearman の順位相関係数の検定を使用した。

（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解析を行った。

C. 研究結果

検討した油症患者におけるダイオキシン濃度は PCB 2.89 ± 1.21 ppb、PCQ 0.39 ± 0.43 ppb、PCDF 277.6 ± 150.6 pg/g lipids であった。油症患者血清を用いて、soluble EGFR の検討を行った。長崎県の油症患者 29 名、および健常人 28 名の平均年齢は各々71.7 ± 6.36 歳および 71.4 ± 6.28 歳で有意差はなかった。血清中 soluble EGFR 値はそれぞれ油症患者で 63.10±23.52 ng/ml、健常人で 58.81±16.84 ng/ml であり、2 群間に有意な差は見られなかった (p=0.06)（図 1）。つづいて、油症認定患者血清中の sEGFR 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。

D. 考察

EGFR はチロシンキナーゼファミリーに属する ErbB 受容体の一つである。EGFR は様々な悪性腫瘍に高発現しており、EGFR を標的とした分子標的薬の開発が進んでいる。近年、肺腺癌や大腸癌などで EGFR が高発現していることが判明し、EGFR 阻害薬による治療が臨床応用され、腫瘍の縮小や生存期間の延長をもたらし良好な成績を収めている。だが、EGFR 阻害剤の投与により、痤瘡様皮疹や爪囲炎を始めとした皮膚障害が生じ、大きな問題となっている。一方で、痤瘡様皮疹は油症患者においても高頻度に認められる。発症から 40 数年が経過し、発症当初のような激しい症状はみられないものの一部の患者では現在でも痤瘡様皮疹による QOL の低下がみうけられる。近年、TCDD により誘発された塩素性痤瘡の組織中では EGFR が高発現していることが報告された [2]。そのため、痤瘡様皮疹を有する油症患者においても EGFR が何らかの変動をきたしていると予想された。一方、 種々の疾患において EGFR のアイソフォームが sEGFR という形で血中に存在し、疾患病勢と関連していることが報告されている [3)4)]。例えば、非肺小細胞癌の検討において、血清中 sEGFR 値が低下していると生存率が低下することが報告されている [3]。以上より、油症患者血清においても sEGFR が検出され、正常人と比較して差が存在することが予想された。しかし、今回の検討では油症患者でやや sEGFR が正常人と比較して上昇している傾向がみられたものの、有意差はみられなかった。詳細な理由は不明であるが、発症から時間が経過しており、現時点では血清中に EGFR のアイソフォームが分泌されていない可能性が考えられた。今後、油症患者の痤瘡様皮疹組織中における EGFR の発現を検討することが望まれる。

油症患者は現在でもダイオキシン類の

血中濃度が高く、様々な症状を有しているのが現状である。残念ながら、今回の検討では有意な結果が得られなかったが、今後も更なる検討で痤瘡様皮疹の病態解明を行い、油症患者のQOL向上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。

E. 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, 2001. **86**(1): p. 2-11.
2. Jing Liu, Chun-mei Zhang, Pieter-Jan coenraads, et al., Abnormal expression of MAPK, EGFR, CK17 and TGk in the skin lesions of chloracne patients exposed to dioxins. Toxicol. Lett., 2011. **25;201**(3): p. 230-4.
3. Eloisa J.L, Rafael S., Andrea C. et al., Analysis of the Prognostic Value of Soluble Epidermal Growth Factor Receptor Plasma Concentration in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients. Clinical Lung Cancer., 2011. **12**(5): p. 320-7.
4. Muller V., Witzel I., Pantel K., et al, Prognostic and predictive impact of soluble epidermal growth factor receptor (sEGFR) protein in the serum of patients treated with chemotherapy for metastatic breaast cancer. Anticancer Res, 2006. Mar-Apr: 26(2B): p. 179-87

F. 研究発表

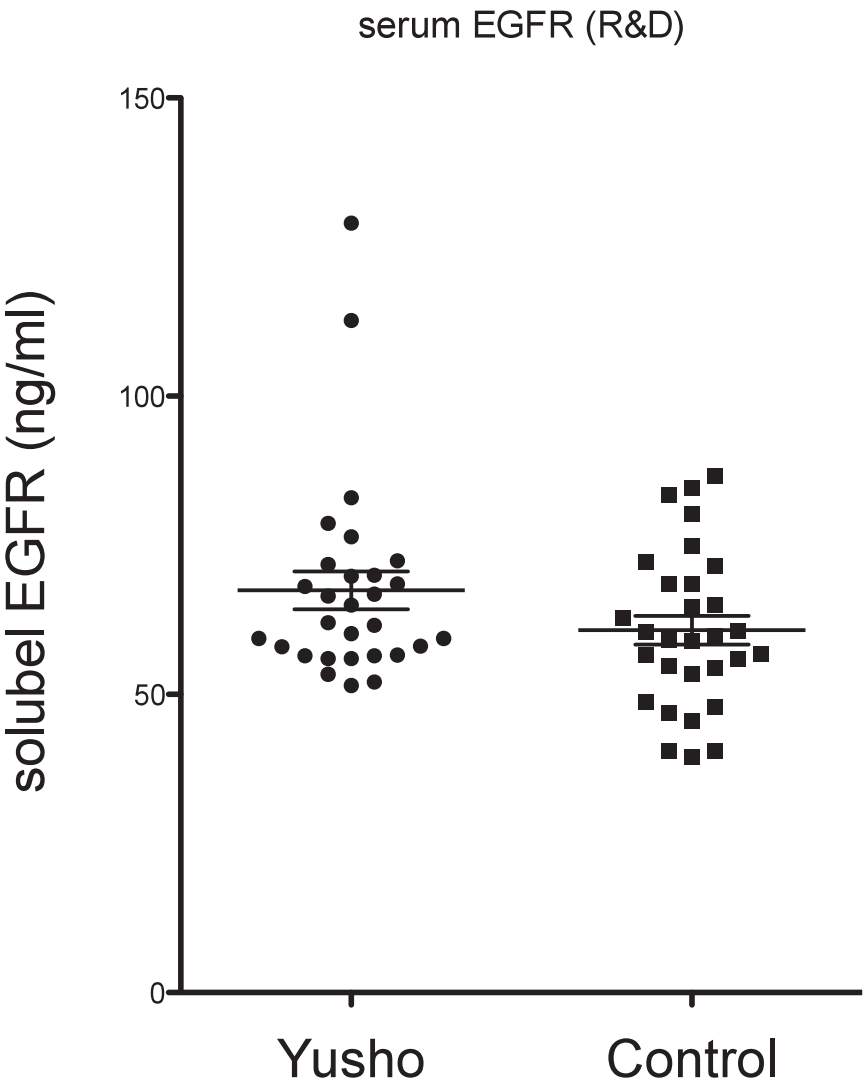
1. 論文発表

Kuwatsuka Y, Shimizu K, Akiyama Y, Koike Y, Ogawa F, Furue M, Utani A: Yusho patients show increased serum IL-17, IL-23, IL-1beta, and TNFalpha levels more than 40 years after accidental polychlorinated biphenyl poisoning. ***J Immunotoxicol*** 11(3): 246-249, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1　油症認定患者、健常人血清におけるsEGFR値の比較



分担研究報告書

長崎県油症認定患者における末梢血リンパ球分画、Treg 細胞の検討

研究分担者　宇谷厚志　　長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授
研究協力者　峯　嘉子　　九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教

研究要旨　以前我々は、長崎県油症認定患者血清において、Treg 細胞由来のサイトカインである IL-10 IL-35 値の上昇を見出した。今回我々は、平成26年長崎県油症検診（五島　玉之浦地区）受診者の末梢血中 Treg 細胞に関して検討を行った。その結果、油症認定患者 53 名(本人認定 45 名、家族認定 8 名)、未認定患者 3 名において血清中 Treg 細胞数はそれぞれ 51.93 ± 25.4/μl、62.49 ± 25.79/μl、58.89 ± 19.48/μl で有意差はなかった。また各種採血項目と Treg 値の関連について検討を行ったところ、血中の中性脂肪値が高い人ほど Treg 細胞数が有意に高いという相関が見られた。

A. 研究目的

油症発生から 40 年以上が経過し、激烈な皮膚症状、眼症状を呈する患者は減少傾向にあるが、依然として油症患者血中には高濃度のダイオキシンが残留している状態である。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 類が混在している事がわかっている[1)]。

ダイオキシンレセプターとして知られる 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)]、T 細胞においては Th17 細胞、Treg 細胞（制御性 T 細胞）に多く発現しているが、Th1 細胞, Th2 細胞にはほとんど発現が見られないことが明らかにされた[3,4)]。我々のグループは油症患者において、Treg 細胞から産生されるサイトカインである CTLA4、IL-10、IL-35 が血清中で上昇していることを示してきた。（しかしながら、これらの免疫異常があるものの、油症患者の炎症性疾患、アレルギー疾患の罹患率は健常人と同程度である。）

Treg 細胞（制御性 T 細胞）は免疫応答の抑制的制御を司る T 細胞の一種であり、免疫応答機構の過剰な免疫応答を抑制するためのブレーキの役割を果たす。油症患者の免疫機能についてさらに検討を進めるべく、今回我々は、血清中の Treg 細胞に注目し、油症患者における血清 Treg 細胞数や、血清中の各種項目との関連について検討を行った。

B. 研究方法

①対象：2014 年 7 月に施行された長崎県油症検診五島玉之浦地区受診者のうち、同意を得られた受診者 56 名を対象とした。油症患者中、認定患者 53 名（家族認定8名）、未認定患者3名)であった。検診時に採血を行い、分離し、血球を取り出した。

②Treg 細胞数の測定：分離した血球からフローサイトメトリーを用いて Treg 細胞数を測定した。

③各種採血数値との相関：平成25年

度の油症患者データベースを元に同一患者のそれぞれの採血各種項目（血算、生化学）と Treg 細胞数の相関を測定した。

④統計的処理：測定した Treg 値の統計的処理に、年齢や性別との関連については Mann-Whitney の U 検定を、各種項目と Treg 細胞数の相関には Spearman の順位相関係数の検定を使用した。

C. 研究結果

長崎県の油症検診受診者 56 名において、認定患者 45 名、未認定患者 3 名および家族認定 8 名の平均年齢は各々 67.84 ± 12.44 歳、73.00±4.359 歳および 63.63 ± 11.24 歳で有意差はなかった。それぞれの群における血清中 Treg 細胞数は認定患者(N) 51.93 ± 25.4/μl、未認定患者(Mi) 58.89 ± 19.48/μl、家族認定(Familiy) 62.49 ± 25.79/μl であった（図 1）。性別と Treg 細胞数の相関をみたところ Treg 数は男性で 57.55 ± 25.21/μl、女性で 48.65 ± 23.72/μl であり、やや男性で高値であったが、有意差はなかった(図 2)。年齢と Treg 細胞値の相関は認めなかった(図 3)。中性脂肪値と Treg 細胞間の関係は、中性脂肪値が高い人ほど、Treg 細胞数が高い傾向がみられ、統計上の有意差を認めた(r=0.2881, p=0.0313)。（図 4）。総コレステロール値と Treg 細胞数の相関はみられなかった。つづいて赤血球、ヘマトクリット、総蛋白、腎機能（クレアチニン値）、尿酸、HbA1c と Treg 細胞値に関し検討を行ったが相関は認められなかった（図 6-11）。

D. 考察

ダイオキシンレセプターである Ahr は免疫系において重要な役割を担っている。Ahr が Th17 細胞や Treg 細胞の分化、Th1/Th2 細胞の分化バランスを調整していることが以下のように報告されている。In vitro で TCDD は Treg と Th17 細胞の分化を促進している [5]。Ahr はダイオキシンと結合したのち、免疫抑制をおこすことが知られており、とくに Treg や Th17 細胞の分化に重要である [6][7]。

今回の研究で、油症患者は健常人と比較し、有意ではないものの Treg 細胞数が低値であった。これまでの Treg 細胞由来サイトカインの高値であることから考えると矛盾した結果と言える。その理由として、①油症患者に比べ、健常人のサンプル数が少なかったこと、②健常人が油症検診を受診した人であり、カネミ油を当時摂取していた可能性のある人である、ことが考えられる。健常人の選定としてカネミ油を摂取していない人を選ぶべきであったと考える。

一方、血清中性脂肪値が高い人ほど Treg 細胞数が有意に高いという結果から、中性脂肪が高い人ほど Ahr を介した Treg 細胞への分化が誘導されている可能性が示された。血清中性脂肪の高値が脂肪肝の発生リスクであることを考慮すると、脂肪肝による肝臓での Ahr の発現上昇や、血清中性脂肪が Ahr による Treg 細胞の分化を直接誘導している可能性がある。

免疫応答は様々な疾患の発症リスクと関連するものであり、今後も油症患者における Treg 細胞や Th17 細胞の働きについてさらなる検討が必要であると考える。

E. 結論

油症患者は現在でもダイオキシン類の血中濃度が高く、様々な症状を有しているのが現状である。油症患者における Treg 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
血算、生化学検査結果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の方々にこの場をかりて御礼申し上げます。

F．参考文献

1) Aoki Y: Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters --what we have learned from Yusho disease. Environ Res. 86(1): 2-11, 2001
2) Dolwick KM, Schmidt JV, Carver LA, Swanson HI, Bradfield CA: Cloning and expression of a human Ah receptor cDNA. Mol Pharmacol. 44(5): 911-917, 1993
3) Kimura A, Naka T, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T: Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 105(28): 9721-9726, 2008
4) Kramer JM, Gaffen SL: Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. J Periodontol. 78(6): 1083-1093, 2007
5) Kimura A, Naka T, Nohara K, Fuji-Kuriyama Y and Kishimoto T: Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th 17 cells. Proc. Nati Acad. Sci. USA 105:9721
6) Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, et al : Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. Nature 453:106, 2008
7) Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Buringham WJ, Bradfield CA. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cell J immurol 185(6):3190-3198, 2010

G．研究発表

なし

H．知的財産権の出願・登録状況

なし

図１認定（本人）、未認定、家族患者（認定）Treg細胞数の比較

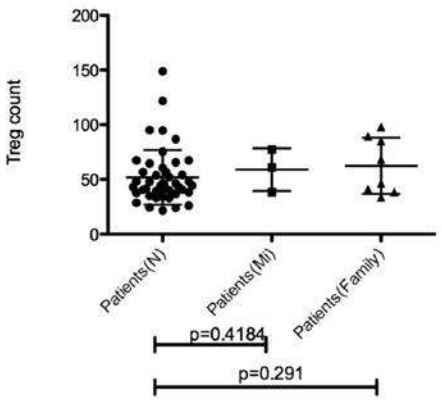


図２　性別とTreg値の相関

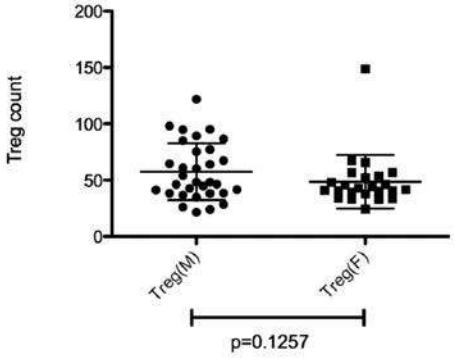


図３　年齢とTreg値の相関

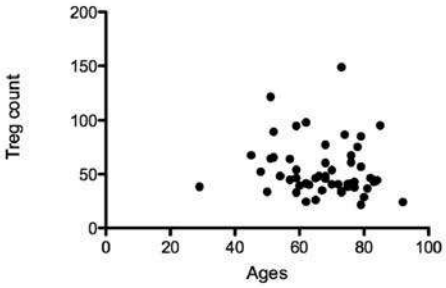


図４中性脂肪とTreg細胞の関係

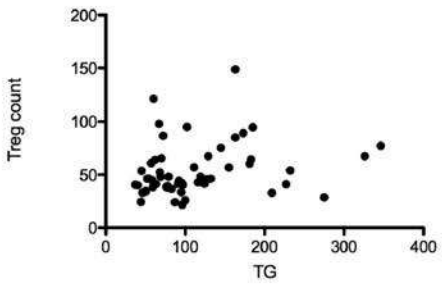


図５　総コレステロール値とTreg細胞の関係

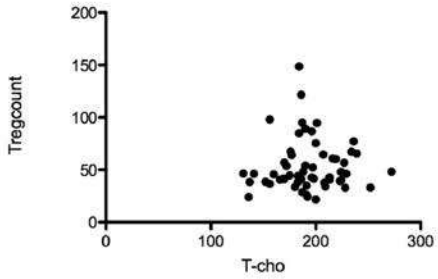


図６　RBCとTreg細胞数の関係

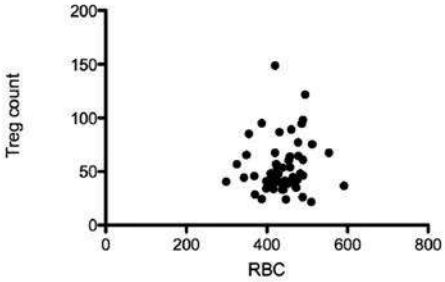


図７　Hct とTreg細胞数の関係

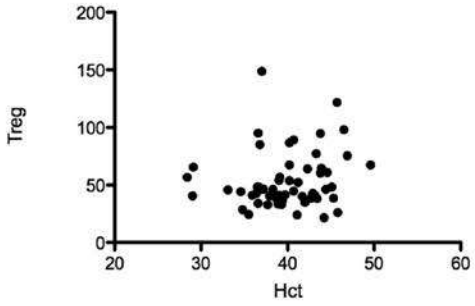


図８　総蛋白とTreg細胞数の関係

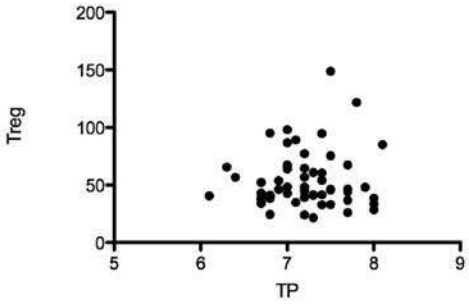


図９腎機能（Cre)とTreg細胞数の関係

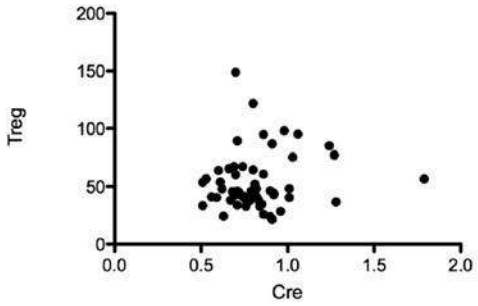


図１０　尿酸（UA)とTreg細胞数の関係

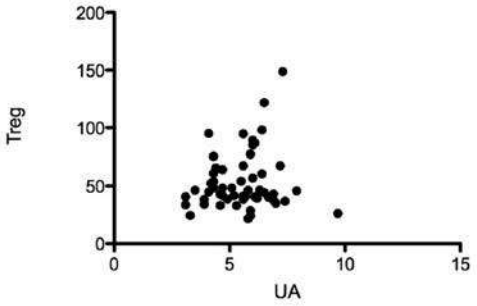
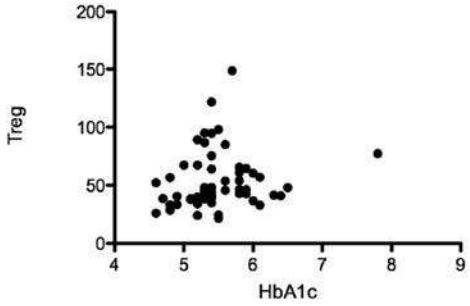


図１１　HbA1cとTreg細胞数の関係



分担研究報告書

油症患者における血清微量金属濃度に関する研究

研究分担者　内　博史　　九州大学大学院医学研究院皮膚科学　准教授
今福　信一　　福岡大学医学部皮膚科　教授

研究要旨　慢性ダイオキシン類中毒である油症患者 39 名および健常者 39 名を対象に、血清マグネシウム、鉄、銅、亜鉛、カルシウム、リチウム濃度をキレート試薬を用いたメタロアッセイで測定したところ、油症患者の血清銅濃度は、健常者に較べ有意に低下していた。銅は superoxide dismutase の活性中心に存在し、活性酸素の処理に重要な元素であることから、油症患者の酸化ストレス状態を増悪させている可能性があると考えられ、今後さらに検討を行う予定である。

A. 研究目的

ダイオキシン類は AhR による CYP1A1 などの誘導を介して、生体内で活性酸素種を発生させることが知られている。生体内で発生した活性酸素を分解する抗酸化酵素には、微量元素を含むものが多くあることから、油症患者血清中の微量金属濃度を測定し、ダイオキシン類の酸化ストレス状態に及ぼす影響について検討した。

B. 研究方法

油症認定患者 39 名（平均年齢 63.4 ± 14.7）、健常者 39 名（平均年齢 64.1 ± 12.9）について血清マグネシウム、鉄、銅、亜鉛、カルシウム、リチウム濃度をメタロアッセイ（メタロジェニクス社）で測定し、血中濃度との相関を検討した。解析には Mann-Whitney U test, Spearman's correlation test を行った。

（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

油症患者の血中濃度(pg/g lipid)は、健常者より有意に高値であった 182.4 ± 208.1 vs 13.2 ± 6.9）。油症患者と健常者との血清微量元素濃度の比較を表 1 に示す。血清銅のみ油症患者で有意に低下していた。しかし血中 2,3,4,7,8-PCDF 濃度との有意な相関を認めなかった。

D. 考察

一般に、生体含有量が鉄以下の元素を微量元素と称するため、厳密には今回測定したなかでは、マグネシウムとカルシウムは必須ミネラルではあるが、微量元素の定義には入らない。またリチウムは生体での機能が明らかではない。今回、油症患者で血清濃度の有意な低下が認められた銅は、ヘモグロビン合成経路において必要であるほか、同タンパク質は cytochrome c oxidase、superoxide dismutase などの重要な抗酸化酵素に含まれる。PCB やダイオキシン類は AhR による CYP1A1 などの誘導を介して生体内で活性酸素種を発生させることが知られている。油症患者でも酸化ストレスマーカーである尿中 8-isoprostane の上昇が報告されている [1]。活性酸素には細胞傷害性があり、発癌や生活習慣病との関連が示唆されている。血清銅の低下は、油症患者の参加ストレス状態を増悪させている可能性があり、今後さらなる検討が必要と考えられる。

E. 結論

油症患者で有意な血清銅濃度の低下が認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Liu G, Asanoma K, Takao T, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Kato K, Wake N. Aryl hydrocarbon receptor SNP -130 C/T associates with dioxins susceptibility through regulating its receptor activity and downstream effectors including interleukin 24. Toxicol Lett. [Epub ahead of print]

2. Taura J, Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Ishii Y, Kuroki H, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Yamada H. 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran is far less potent than 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in disrupting the pituitary-gonad axis of the rat fetus. Toxicol Appl Pharmacol. 281:48-57, 2014.

3. Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Shi W, Furue M. Resveratrol inhibition of human keratinocyte proliferation via SIRT1/ARNT/ERK dependent downregulation of aquaporin 3. J Dermatol Sci. 75:16-23, 2014.

4. Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Nakamura-Satomura A, Kita K, Shi W, Furue M. Z-Ligustilide inhibits benzo(a)pyrene-induced CYP1A1 upregulation in cultured human keratinocytes via ROS-dependent Nrf2 activation. Exp Dermatol. 23:260-5, 2014.

G. 文献

1) Shimizu K, et al. Toxicol Ind Health 2003;19:37-9.

表 1　血清微量元素濃度の比較

	油症	健常者	p 値
Mg (mg/ml)	2.23 ± 0.42	2.38 ± 0.38	0.15
Zn (μg/ml)	94.7 ± 27.2	109.0 ± 41.8	0.11
Cu (μg/ml)	68.2 ± 29.1	88.2 ± 46.0	0.04
Fe (μg/ml)	84.4 ± 28.8	79.1 ± 26.5	0.28
Ca (mg/ml)	6.66 ± 1.34	7.16 ± 1.49	0.16
Li (mM)	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.05	0.23

分担研究報告書

大脳認知機能の客観的評価法の開発および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討

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
　　林　信太郎　　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

研究要旨　目的：①油症認定患者では約 6 割に自覚的感覚障害が存在するが末梢神経伝導速度検査や神経学的診察で客観的な末梢神経障害を示すものは 2 割程度であり，この主観的認知と客観的認知が乖離している．この原因として末梢神経伝導検査やベッドサイドにおける末梢神経検査では感知できない，もっと高次の脳機能が障害されている可能性が否定できない．そこで，触覚刺激を用いた脳磁界反応を計測し，主観的意識下での誘発脳磁界と非意識下での誘発脳磁界との相違を抽出し，一般の末梢神経伝導速度検査では検出できない高次脳機能障害を抽出できるか否かを検討する．②油症患者組織における感覚伝導路の病理学的変化について現時点で未解明であるが，今後患者の高齢化に従い剖検例が増加することは予想される．そこで，感覚伝導路の病理変化の検出に有用なマーカー蛋白について検討した．**方法：**①点字にプラスチック製 2×4 ピンで構成されたピエゾ型触覚刺激装置を用いた．規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激を作成し，この 2 種の刺激を刺激間隔 1.2～1.6 秒の間隔で各刺激約 100 回ずつランダムオーダーで右示指に与えた．主観・注意状態の影響を検討するために，この 2 種類の刺激を弁別するようにタスクを与えた注意下刺激セットと，タスクを与えない環境下での非注意下刺激セットを行い，全頭型脳磁図で計測． 204-ch のグラジオメーターの波形について解析した．計測結果は MRI 皮質上に電流源が平面分布すると仮定した最小ノルム法を用いて誘発電流源を推定した．②正常コントロールと疾患コントロールの剖検標本を用いて，ヒトの中枢神経系ニューロンで発現が確認されているカルシウム結合蛋白（CaBP），カルビンディン（CB），カルレチニン（CR），パルブアルブミン（PV）に対する一次抗体を用いて免疫染色を施行した．**結果：**①非注意下では規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激で差を認めなかったが，注意下では右側半球において規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激の反応の振幅に有意差を認め，不規則触覚刺激の反応の方が振幅が高く，その電流源は右半球の 2 次体性感覚野に推定された．②脊髄剖検標本では Rexed I-II 層の後角ニューロンにおいて CB と CR が免疫陽性であった．脳幹（延髄）においては，CaBP のいずれもが内側毛帯で免疫陽性であり CB と CR は横走線維，PV は縦走線維に局在が分かれて存在した．一方，脊髄後索においては何れの CaBP も免疫陰性であった．**結論：**触覚刺激を弁別するという能動的なタスクを与えた時に，一次体性感覚野では差が出ないが，右半球の二次体性感覚野における脳磁界反応に差が認められた．これは弁別という能動的な意識の影響を客観的に抽出できる可能性を示唆しており，感覚認知の高次脳機能レベルでの評価に有用であると考えられた．以前の我々の研究で電気生理学的に後索-内側毛帯系の波形を検出し得る方法を確立したが，CaBP に着目すると患者剖検組織の内側毛帯における病理変化を検出できること，同時に生前の患者に施行した電気生理学的異常所見と剖検病理所見との比較検討が可能になる事が示唆された．

A. 研究目的

油症患者における末梢神経障害は感覚神経障害が主であるが，筋萎縮や筋線維攣縮を認めることがある末梢運動神経障害と異なり，その評価は患者の主観に頼る部分が多い．客観的な末梢感覚神経障害の評価方法として，神経診察と神経伝導速度検査があるが，我々のこれまでの報告で，客観的末梢神経障害検査の一つとしてのアキレス腱反射の低下を認める人数は発症時 34.8%，33 年後 17.4%と減少し，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]．一方，患者の主観が入る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，33 年後には 59.4 ％と約 6 割に増加していた．この主観的認知と客観的認知が乖離には末梢神経伝導検査やベッドサイドにおける末梢神経診察では評価しきれない，皮膚レベル，脊髄レベル，あるいはもっと高次の脳機能が障害されている可能性が否定できない．そこで，我々は末梢神経障害の高次脳機能客観的評価法として，末梢神経刺激として従来の末梢神経電気刺激では無く，指皮下の触覚受容体を刺激することが可能なピエゾ型非磁性触覚刺激装置を用い，記録として骨や脳脊髄液といった容積伝導の影響を受けやすく歪の多い「脳電場」では無く，容積伝導の影響を受けない「脳磁場」を測定する試み，皮膚刺激による脳における生理学的変化を検出することが可能であることを報告した[6]．一方，患者の脊髄感覚伝導路における病理変化は未解明である．我々が過去に行った病理学的研究で，カルシウム結合蛋白が（CaBP）ヒト脊髄の後角ニューロン（後角先端～膠様質）や後角先端～後根間の髄内線維など，感覚経路と関連のある領域にユニークな分布を呈する事を見出している（一部のデータを 2009 年日本神経学会学術集会で発表）．現在油症患者の高齢化が進んでいるので，今後剖検例が増えることは予想される．油症による被害は直接被爆した患者のみでなく，2 世，3 世にも及んでいる可能性が示唆されているので，患者剖検標本を適切に解析する方法を確立することにより類似症状に苦しむ患者子孫に恩恵をもたらせる可能性が出てくる．

今回の研究では①これまでに確立した脳磁図の測定刺激法と解析法を発展させ，より実際の感覚刺激に近い触覚振動を用いて体性感覚誘発磁界を測定し，触覚の認知機能に刺激パラメーターによる差が出るのか確認した．②剖検組織を用いて感覚系ニューロン･伝導路（特に後索-内側毛帯系）を検討する際に有用なマーカー蛋白を同定する事を目的とした．

B. 研究方法

① 脳磁図を用いた高次脳機能評価：疾患のない成人を対象とした．刺激として．規則的触覚振動刺激と不規則触覚振動刺激の 2 種類の刺激を手触りの感覚を作成できるピエゾ型触覚刺激装置（KGS 製）を用いて作成．2.4 mm の等間隔で配列され，点字様に構成され先端が丸みを帯びたプラスチック製 2×4 ピンで，各ピンの直径は 1.3 mm で 0.7 mm 突出・後退動作する．触圧覚の強さは 1 ピンあたり 0.15～0.18 N．規則的触覚刺激として 10Hz，持続 1.5 秒の等間隔の刺激，不規則的触覚刺激として 1.5 秒の間に 150 個の不規則間隔をもった刺激を作成した．この 2 種の刺激を刺激間隔 1.2～1.6 秒の間隔で各刺激約 100 回ずつランダムオーダーで右示指に与えた．主観・注意状態の影響を検討するために，この 2 種類の刺激を弁別するようにタスクを与えた注意下刺激セットと，タスクを与えない環境下での非注意下刺激セットを行った．誘発脳磁界の測定には 306-ch 全頭型 MEG（Elekta, Neuromag）を用いたが，そのうち 204-ch のグラジオメーターの波形について解析した．計測結果は MRI 皮質上に電流源が平面分布すると仮定した最小ノルム法を用いて誘発電流源を推定した．

② 非神経疾患患者（正常コントロール）7

例のホルマリン固定，パラフィン包埋 5μm 厚の脊髄と脳幹（延髄）の水平断切片を用いてカルシウム結合蛋白であるカルビンディン（CB），カルレチニン（CR），パルブアルブミン（PV）への一次抗体を用いて免疫染色（ABC 法）を施行した．脊髄灰白質は Rexed の分類に従い I-X 層に分け，各領域に含まれる免疫陽性ニューロンの局在･分布を評価した．疾患コントロールとして感覚系は障害されないとされる筋萎縮性側索硬化症（ALS）5 例の剖検組織を用いた．

（倫理面での配慮）

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

C．研究結果

① 規則的触覚刺激，不規則的触覚刺激，注意下刺激，非注意下刺激とも刺激後 1～2 秒に両側側頭部に反応性のゆっくりした低周波反応を認めた．これら 4 種の反応の結果を比較すると，非注意下では規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激で差を認めなかったが，注意下では右側半球において規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激の反応の振幅に有意差を認め，不規則触覚刺激の反応の方が振幅が高かった（図１），その電流源は右半球の 2 次体性感覚野に推定された（図２）．

② **剖検例の免疫染色**

脊髄（図 3，Table）：CB の染色性は脊髄後角の Rexed I-II 層の小型ニューロンに認められたが，他の領域やクラーク柱，中間質外側核のニューロン，大型運動ニューロンには認めなかった．CR の染色性は CB と同様に，Rexed I-II 層に認めたが，染色強度は CB よりも弱かった．更に Rexed VII 層と VIII 層の小型ニューロン，中間質外側核ニューロンに明確な染色性がみられたが，クラーク柱ニューロン，大型運動ニューロンにはなかった．PV の染色性は Rexed VII 層と VIII 層の小型ニューロン，クラーク柱ニューロン，大型運動ニューロンに認められたが何れも染色強度は弱かった．ALS 症例の検討では Rexed の I，II 層における小型ニューロンの染色性は，CB，CR ともにコントロールと比較して著変なく保たれていた．脊髄後索はコントロール，ALS ともに陽性所見はなかった．

脳幹（延髄）（図 4）：延髄を走行する神経線維において何れのカルシウム結合蛋白も内側毛帯に選択的な局在を示した。さらに CB と CR は（脊髄の長軸を基準として）横走線維に、PV は縦走線維に局在が分かれて存在した．

D．考察

①我々はこれまで，二次体性感覚野（SII）と一次体性感覚野（SI）の干渉を解析し，指内の狭い領域内に触覚刺激あるいは形態刺激を与えることが可能であり，感覚認知の微細な差を非侵襲的に評価できる可能性を示してきた．今回，触覚刺激を弁別するという能動的なタスクを与えた時に，一次感覚野では差が出ないが，右半球の二次体性感覚野における脳磁界反応に差が認められた．これは弁別という能動的な意識の影響を客観的に抽出できる可能性を示唆している．右半球はサルの実験においても刺激弁別に関与すると推定されており [7]，今回の結果はそれに類似する二次体性感覚野の働きが人間でも生じていると推定された．これは感覚認知の高次脳機能レベルでの評価に有用であると考えられた．

②今回の免疫組織化学的検討で CB は脊髄灰白質後角（Rexed I，II 層）ニューロンに選択的に局在した．また CR も脊髄灰白質後角の中では Rexed I，II 層のニューロンに局在することが分かった．疾患コントロールとして ALS 標本を用いたが，脊髄後角ニューロンの染色性はコントロールと同様に保たれていた．脊髄後索については全ての検体で免疫陰性であった．延髄内側毛帯にはコントロールや ALS 症例ともに CB、CR、PV の何れもが存在したが，興味深い事に内側毛帯の構造の中で

横走線維はCBとCR，縦走線維はPVによって選択的にラベルされた．カルシウム結合蛋白の種類により内側毛帯で局在が分かれる事はヒトでは過去に報告のない所見であり，今後油症患者の内側毛帯の変化を免疫組織学的に鋭敏に検出できる可能性がある．

脊髄後索はCB, CR, PVの何れも陽性所見はなかった．ラット脊髄の研究ではカルシウム結合蛋白の１つである calmodulin が後索と側索に発現していることが報告されているので[8]，今後ヒト脊髄組織における同蛋白の分布を検討する予定である．

以上より油症患者の剖検組織検索に際してCB, CR, PVに着目すると脳幹内側毛帯の病理変化を検出可能となること，同時に我々が昨年度の研究で確立した電気生理学的手法から得られる異常所見との対比が可能となる可能性が示唆された．今後 in situ hybridizationによる解析も予定している．

E．結論

①触覚刺激を弁別するという能動的なタスクを与え，その磁界反応を測定することにより，弁別という能動的な意識の影響を客観的に抽出できる可能性示が示唆され，感覚認知の高次脳機能レベルでの評価に有用であると考えられた．

②患者組織を用いた免疫組織学的解析に際して、CB、CR、PVは脳幹の内側毛帯のマーカーとして使用できる。

F．文献

1) 黒岩ら：福岡医誌 60：462-463, 1969
2) 岩下ら：福岡医誌 68：139-144, 1977
3) 柴崎ら：福岡医誌 72：230-234, 1981
4) 古谷ら：福岡医誌 96：152-156, 2005
5) 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) 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 23 年度　総括・分担研究報告書，2012
7) Jiang W, et al: J Neurophysiol. 77:1656-62, 1997
8) Kovacs B, et al. Brain Res Mol Brain Res 102: 28-34, 2002

G．研究発表

なし

H．知的所有権の取得状況

なし

図1

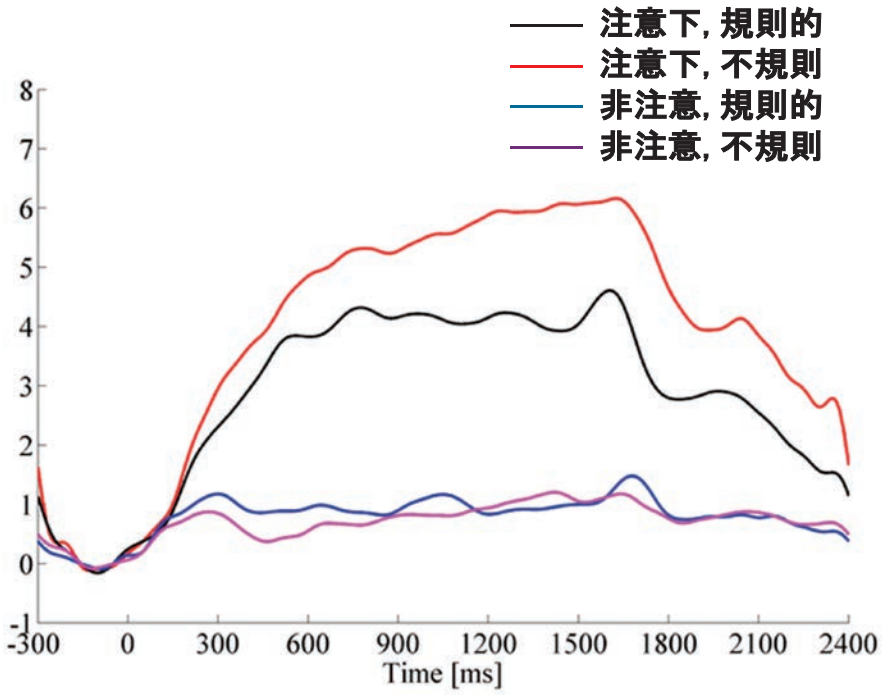

注意下, 規則的
注意下, 不規則
非注意, 規則的
非注意, 不規則
8
7
6
5
4
3
2
1
0
-1
-300
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
Time [ms]

図2

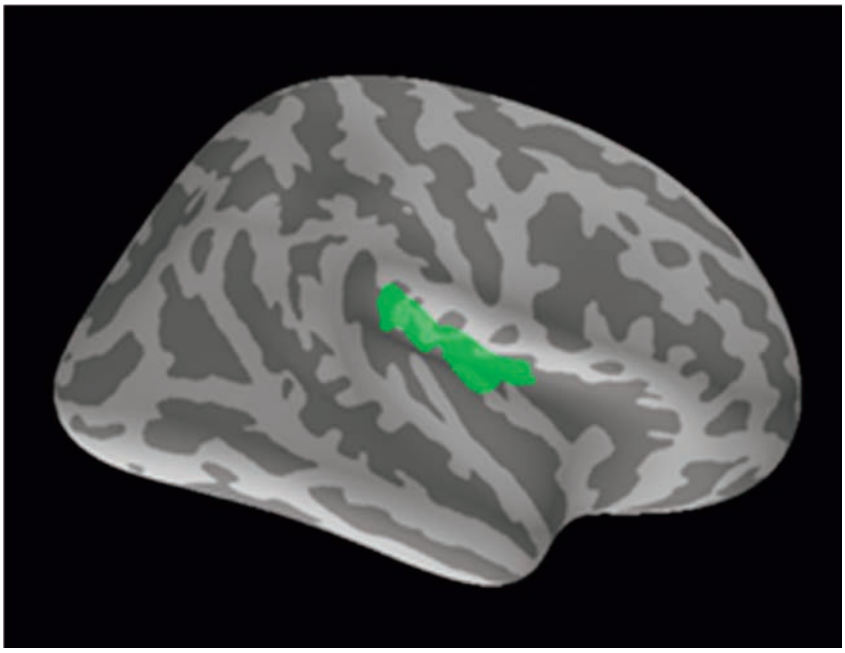
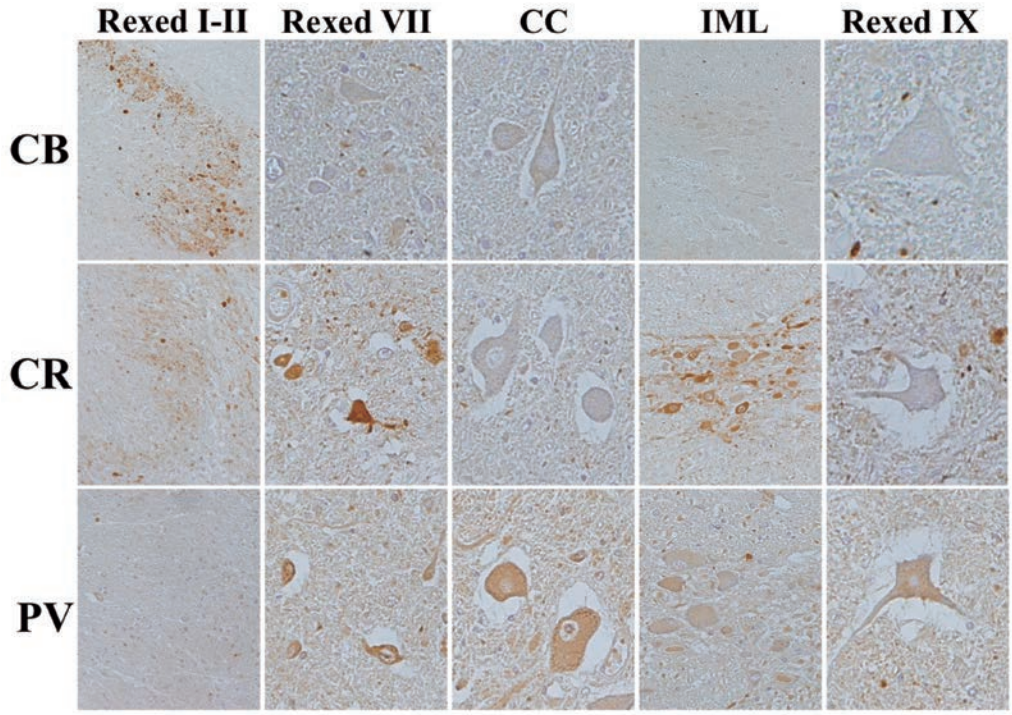
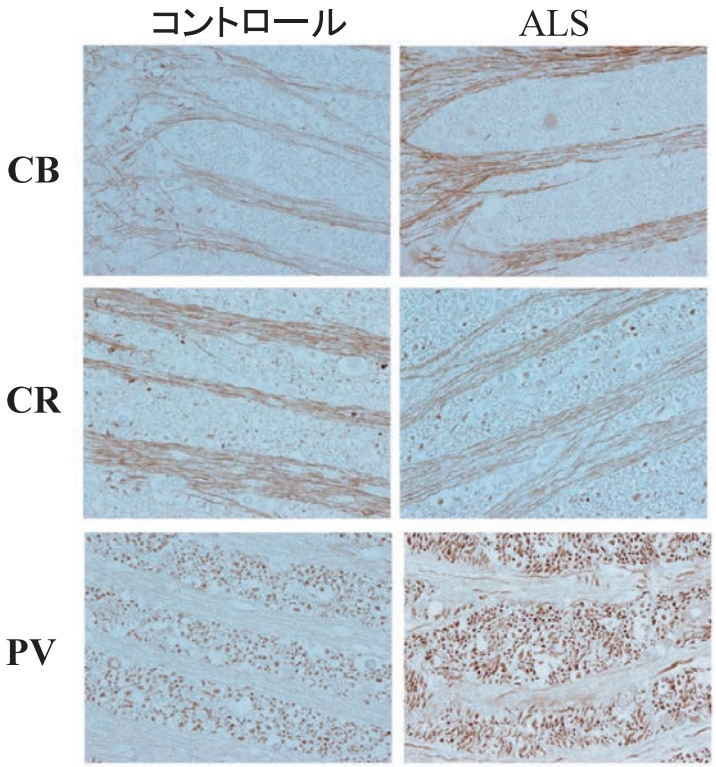


図3



CB: calbindin, CR: calretinin, PV: parvalbumin, CC: クラーク柱, IML: 中間質外側核

図4



Table

コントロール脊髄ニューロンにおける発現

	CB	CR	PV
運動ニューロン (Rexed IX)	-	-	±
クラーク柱ニューロン	-	-	±
中間質外側核ニューロン	-	+	-
小型ニューロン			
Rexed I	+	±	-
Rexed II	+	±	-
Rexed III-VI	-	-	-
Rexed VII	-	+	±
Rexed VIII	-	+	±

CR, calretinin; CB, calbindin; PV, parvalbumin; +, 陽性; ±, 弱陽性; -, 陰性

分担研究報告書

油症曝露による継世代健康影響に関する研究
- 油症患者における AhR 遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連-

研究分担者　　月森　清巳　福岡市立こども病院　周産期センター長

研究要旨　油症患者におけるダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連について検討した。油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)における AhR 遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)の頻度は、C/C 型が 53 妊娠(37.3%)、C/T 型が 71 妊娠(50.0%)、T/T 型が 18 妊娠(12.7%)であった。油症発生前 10 年間に妊娠した油症患者 50 例(102 妊娠)における AhR 遺伝子多型の頻度(C/C 型 47.1%、C/T 型 46.1%、T/T 型 6.9%)と比較して有意な差はなかった。油症発生後に妊娠した油症患者における児への健康影響としては、人工流産が 15 例(10.6%)、自然流産が 19 例(15.0%)、胎児死亡（自然流産+死産）が 22 例(17.3%)に認められた。油症発生前の発症頻度と比較すると、人工流産は 1.89 倍、自然流産は 1.94 倍、胎児死亡は 1.47 倍増加したが、有意な差はなかった。油症発生後の児への健康影響(人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生)の有無と AhR 遺伝子多型(C/C 型、C/T 型、T/T 型の各遺伝子型の頻度）との関連について検討したが、いずれの健康影響においても明らかな傾向はなかった。

A．研究目的

ダイオキシン類は主として細胞内受容体であるダイオキシン類受容体(AhR)との結合を介して毒性を発揮すると考えられている。最近、AhR のプロモータ領域(-130bp)には一塩基多型(SNP)が存在し、T/T 型では C/C 型と比較し 1.75 倍のプロモータ活性の亢進が認められることが明らかとなった[1,2]。これらのことから AhR 遺伝子多型によりダイオキシン類に対する感受性が異なる可能性が考えられる。

これまでのカネミ油症患者より出生した児の健康影響の観察から、油症発生から 10 年以内の妊娠では流産、早産、胎児死亡の発症頻度が増加すること[3]、母親が 20 歳未満で曝露した場合、女系の 2 世、3 世では男児の出生割合が有意に低いこと[4]が明らかとなった。しかしながら、これら油症曝露による次世代への健康影響の発現機序は明らかとなっていない。

そこで、本研究では、油症患者における AhR 遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連について検討した。

B．研究方法

○調査対象：カネミ油症発生後に妊娠・出産となった油症患者 59 例(142 妊娠)を対象とし、コントロール(対照)には油症発生前 10 年間に妊娠した油症患者 50 例(102 妊娠)を用いた。

○調査方法：

①アンケート調査：対象群 59 例と対照群 50 例の妊娠・分娩情報(経妊経産回数、分娩時年齢、分娩日、分娩時妊娠週数、魚介類摂取回数) と児の健康情報（流産・早産・胎児死亡、出生児の性別）を得た。

②ダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型の解析:対象群 59 例と対照群 50 例より血液を採取し、リンパ球を分離した後、DNA を抽出し、AhR プロモータ領域(-130bp)の C/T 一塩基多型(SNP)を解析した。

○解析方法:

①、②の調査結果をもとにカネミ油症患者における児への健康影響(人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生割合)と母体 AhR 遺伝子多型との関連について解析した。統計学的解析には、χ^2 検定を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究については、福岡市立こども病院倫理委員会(承認番号 62) 、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会(承認番号 20-58)および九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会(許可番号 451-00)の承認を得た後、実施した。本研究を開始する前に対象者全員よりインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

カネミ油症発生後の油症患者における児への健康影響としては、人工流産が 15 例(10.6%)、自然流産が 19 例(15.0%)、胎児死亡(自然流産+死産)が 22 例(17.3%)に認められた(表 1)。油症発生前の発症頻度と比較すると、人工流産は 1.89 倍、自然流産は 1.94 倍、胎児死亡は 1.47 倍増加したが、有意な差はなかった。また、油症発生から 10 年間、発生から 10-20 年、発生から 20 年以降の 3 つの時期に分類し、児への健康影響について検討すると、各時期における人工流産、自然流産、胎児死亡の発症頻度は油症発生前の頻度と比べて有意な差はなかった。

カネミ油症発生後に油症患者から出生した児における男児出生割合は 0.55 で、general population の割合 0.514 と比較して有意な差はなかった。油症発生から 10 年間、発生から 10-20 年、発生から 20 年以降の 3 つの時期における男児出生割合も、general population の割合と比較して有意な差はなかった。

カネミ油症発生後に妊娠した油症患者 142 妊娠における AhR 遺伝子多型の頻度は、C/C 型が 53 例(37.3%)、C/T 型が 71 例(50.0%)、T/T 型が 18 例(12.7%)に認められた(図 1)。油症発生前の頻度(C/C 型 47.1%、C/T 型 46.1%、T/T 型 6.9%)と比較して有意な差はなかった(p=0.173)。

各 AhR 遺伝子型における児への健康影響の発生頻度を検討すると、各々の AhR 遺伝子型において人工流産、自然流産、胎児死亡の発症頻度や男児出生割合は油症発生前の頻度と比べて有意な差はなかった(表 2)。

油症発生後に妊娠した油症患者における人工流産、自然流産、胎児死亡の発症の有無と AhR 遺伝子多型との関連について検討すると、人工流産、自然流産、胎児死亡を発症した各々の群において各遺伝子型の頻度は発症しなかった群の頻度と比較して有意な差はなかった(図 2)。また、出生児が男児であった群における各遺伝子型の頻度は女児であった群の頻度と比較して有意な差はなかった。

D. 考察

健常者の女性 130 人における AhR 遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)の頻度は、C/C 型が 57 例(46.9%)、C/T 型が 61 例(46.9%)、T/T 型が 12 例(9.2%)であることが報告されている [1]。T/T 型では C/C 型に比し、AhR mRNA、蛋白量もそれぞれ 1.75、2 倍発現亢進すること、さらに AhR 下流における IL1β 及び IL24 発現も亢進することが報告されている [2]。また、油症患者における AhR 遺伝子多型と IL24 血中濃度との関連に関する検討では、T/T 型における IL24 血中濃度は 180.9±43.2 pg/mL で C/C 型の 59.1±15.8 pg/mL と比して有意に高値であることが示されている [2]。これら

の成績から AhR 遺伝子多型によりダイオキシン類に対する感受性が異なる可能性が考えられる。

今回の検討では、油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)においては、AhR 遺伝子多型の頻度は油症発生前の頻度と有意な差はないこと、児への健康影響（人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生）の有無と AhR 遺伝子多型との間に明らかな傾向はみられないことが示された。このように母体の AhR を介する遺伝的感受性と児の健康影響との関連は観察されなかった。しかしながら、今回の検討では、油症患者より出生した児の健康影響として、流産や胎児死亡の頻度の増加や男児出生割合の低下が観察できなかったので、今後さらに症例数を増やして AhR 遺伝子多型と流産、胎児死亡の頻度や男児出生割合との関連を検討していく必要があると考えられた。

E．結論

カネミ油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)における観察では、母体 AhR 遺伝子多型と人工流産、自然流産、胎児死亡の頻度や男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。

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

１．特許取得

なし

２．実用新案登録

なし

３．その他

なし

H．参考文献

1) Li D, et al. Inhibition of AHR transcription by NF1C is affected by a single-nucleotide polymorphism, and is involved in suppression of human uterine endometrial cancer. Oncogene 32(41):4950-4959, 2013.
2) Liu G, et al. Aryl hydrocarbon receptor SNP -130 C/T associates with dioxins susceptibility through regulating its receptor activity and downstream effectors including interleukin 24. Toxicol Lett 232(2):384-392, 2015.
3) Tsukimori K, et al. 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) Tsukimori K, et al. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. Epidemiology 23(2):349-350, 2012.

表 1 油症患者における児への健康影響の発生頻度

健康影響	油症発生前	油症発生後			
	10年間	総数	発生から10年間	発生から10-20年	発生から20年以降
人工流産	5.9%(6/102)	10.6%(15/142)	13.6%(11/81)	10.0%(4/40)	0%(0/21)
	Ref	1.89(0.71-5.05)	2.51(0.89-7.12)	1.78(0.47-6.67)	NA
		p=0.250	p=0.122	p=0.468	p=1.000
自然流産	8.3%(8/96)	15.0%(19/127)	12.9%(9/70)	13.9%(5/36)	23.8%(5/21)
	Ref	1.94(0.81-4.63)	1.62(0.59-4.44)	1.77(0.54-5.83)	3.44(0.99-11.85)
		p=0.151	p=0.438	p=0.340	p=0.056
胎児死亡	12.5%(12/96)	17.3%(22/127)	15.7%(11/70)	13.9%(5/36)	28.6%(6/21)
	Ref	1.47(0.69-3.14)	1.31(0.54-3.16)	1.13(0.37-3.47)	2.80(0.91-8.61)
		p=0.352	p=0.651	p=0.779	p=0.091
男児出生割合*	0.50(40/80)	0.55(55/100)	0.60(35/58)	0.45(13/29)	0.54(7/13)
	0.95(0.51-1.76)	1.16(0.66-2.01)	1.44(0.69-3.00)	0.77(0.27-2.16)	1.10(0.24-5.15)
	p=1.000	p=0.671	p=0.455	p=0.793	p=1.000

Data are shown as %(n/N) and OR (95%CI) .

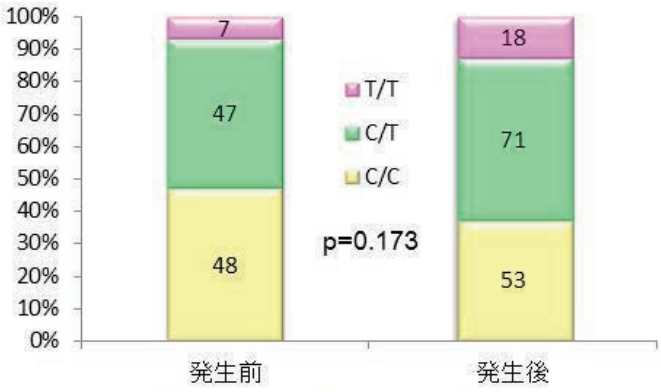
*Data are shown as sex ratio (proportion of male births) (n/N) and OR (95%CI) against an expected sex ratio of 0.514.

表 2 各遺伝子型における児への健康影響の発生頻度

健康影響	AhR SNP	油症発生前	油症発生後			
		10年間	総数	発生から10年間	発生から10-20年	発生から20年以降
人工流産	C/C	8.3%(4/48)	11.3%(6/53)	20.0%(6/30)	0%(0/16)	0%(0/7)
		Ref	1.40(0.37-5.31)	2.75(0.71-10.71)	NA	NA
			p=0.744	p=0.171	p=0.565	p=1.000
	C/T	4.3%(2/47)	12.7%(9/71)	11.1%(5/45)	19.0%(4/21)	0%(0/5)
		Ref	3.27(0.67-15.85)	2.81(0.52-15.31)	5.29(0.89-31.61)	NA
			p=0.196	p=0.262	p=0.068	p=1.000
	T/T	0%(0/7)	0%(0/18)	0%(0/6)	0%(0/3)	0%(0/9)
		Ref	NA	NA	NA	NA
			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=1.000
自然流産	C/C	6.8%(3/44)	10.6%(5/47)	4.2%(1/24)	12.5%(2/16)	28.6%(2/7)
		Ref	1.63(0.37-7.25)	0.59(0.06-6.05)	1.95(0.30-12.91)	5.47(0.73-41.03)
			p=0.715	p=1.000	p=0.602	p=0.133
	C/T	11.1%(5/45)	19.4%(12/62)	20.0%(8/40)	17.6%(3/17)	20.0%(1/5)
		Ref	1.92(0.62-5.90)	2.00(0.60-6.71)	1.71(0.36-8.12)	2.00(0.19-21.62)
			p=0.294	p=0.367	p=0.673	p=0.487
	T/T	0%(0/7)	11.1%(2/18)	0%(0/6)	0%(0/3)	22.2%(2/9)
		Ref	NA	NA	NA	NA
			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=0.475
胎児死亡	C/C	13.6%(6/44)	14.9%(7/47)	12.5%(3/24)	12.5%(2/16)	28.6%(2/7)
		Ref	1.11(0.34-3.60)	0.90(0.21-3.99)	0.90(0.16-5.02)	2.53(0.40-16.15)
			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=0.300
	C/T	13.3%(6/45)	19.4%(12/62)	20.0%(8/40)	17.6%(3/17)	20.0%(1/5)
		Ref	1.56(0.537-4.53)	1.63(0.51-5.17)	1.39(0.31-6.33)	1.63(0.15-17.10)
			p=0.447	p=0.560	p=0.696	p=0.546
	T/T	0%(0/7)	16.7%(3/18)	0%(0/6)	0%(0/3)	33.3%(3/9)
		Ref	NA	NA	NA	NA
			p=0.534	p=1.000	p=1.000	p=0.213
男児出生割合	C/C	0.53(18/34)	0.51(20/39)	0.52(11/21)	0.46(6/13)	0.60(3/5)
		1.06(0.41-2.76)	0.99(0.41-2.42)	1.04(0.31-3.49)	0.81(0.17-3.78)	1.42(0.12-17.37)
		p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=1.000
	C/T	0.49(19/39)	0.57(27/47)	0.65(20/31)	0.46(6/13)	0.33(1/3)
		0.90(0.37-2.18)	1.28(0.57-2.88)	1.72(0.62-4.76)	0.81(0.17-3.78)	0.47(0.02-12.81)
		p=1.000	p=0.679	p=0.440	p=1.000	p=0.950
	T/T	0.43(3/7)	0.57(8/14)	0.67(4/6)	0.33(1/3)	0.60(3/5)
		0.71(0.09-5.83)	1.26(0.28-5.59)	1.89(0.18-19.50)	0.47(0.02-12.81)	1.42(0.12-17.37)
		p=0.999	p=1.000	p=0.992	p=0.950	p=1.000

Data are shown as %(n/N) and OR (95%CI) .

*Data are shown as sex ratio (proportion of male births) (n/N) and OR (95%CI) against an expected sex ratio of 0.514.



AhR SNP	発生前	発生後	計
T/T	7(6.9%)	18(12.7%)	25(10.2%)
C/T	47(46.1%)	71(50.0%)	118(48.4%)
C/C	48(47.1%)	53(37.3%)	101(41.4%)
計	102(100%)	142(100%)	244(100%)

図 1 油症患者における AhR 遺伝子多型の頻度（妊娠あたり）

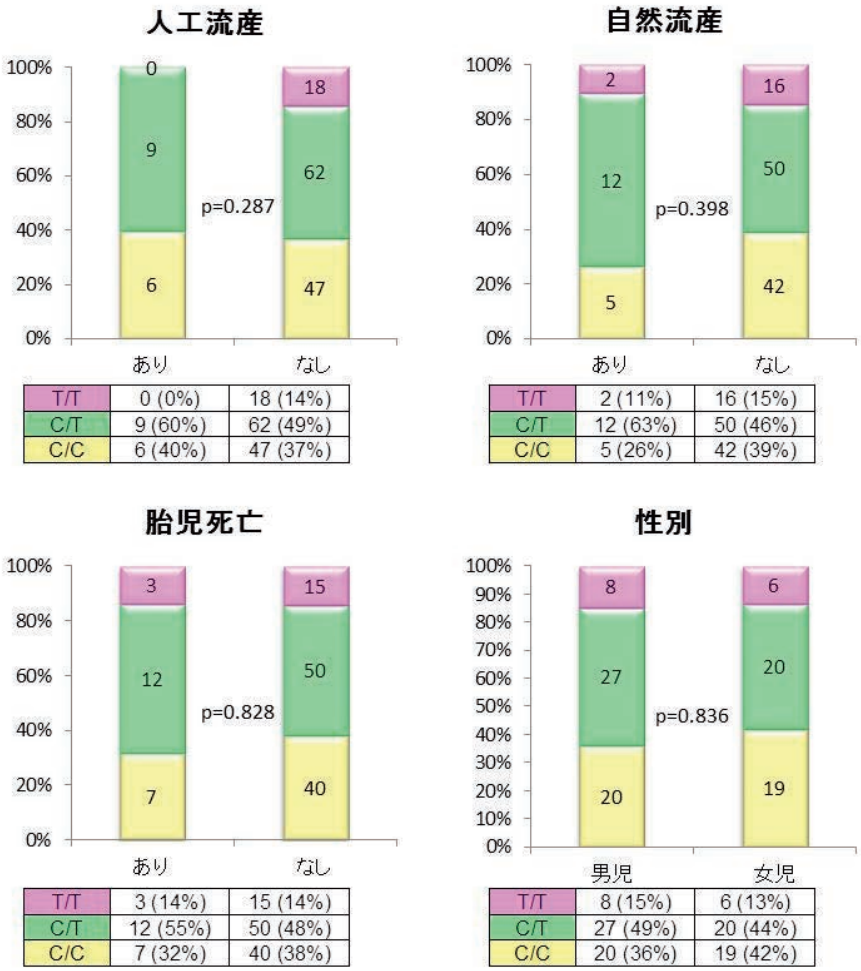


図 2 油症患者における児への健康影響と AhR 遺伝子多型の頻度

分担研究報告書

カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化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　准教授
研究協力者　松本　伸哉 奈良県立医科大学　健康政策医学講座　博士研究員
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 奈良県立医科大学　健康政策医学講座　非常勤講師

研究要旨　ダイオキシン類は徐々に排出され、濃度は低下していくものと考えられているが、その排出経路や濃度の変化に関して不明な点も多い。半減期の変化と体重の変動の関係を確認した。体重が減少すると、半減期が伸びる可能性があることが示された。まだ、傾向として弱いものであり、今後、追加の測定結果を用いて、より安定した結果を得ることが必要である。

A．研究目的

これまで、平成 14 年度以降に油症検診の際にダイオキシン類濃度の計測をしている。我々は、測定されたダイオキシン類濃度データを用いて、ダイオキシン類の半減期に関する研究を行っており、平成 20 年度の研究では各患者の半減期が異なることを示した[1]。平成 21 年度の研究では半減期と症状の関係を明らかにし [2]、平成 23 年度の研究では即時的な影響と体内負荷量の変動を分離した[3]。平成 24 年度の研究では、ダイオキシン類の半減期の変化を求め、一般人より高濃度のダイオキシン類は、半減期が長くなる傾向にあるのに対して、一般人よりも濃度が低いダイオキシン類では、半減期が短くなる傾向にあることを示した[4]。

本研究では、ダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係を確認することを目的とした。

B．研究方法

B．1．対象患者

油症一斉検診を受診している患者のうち、2001 年～2013 年の間に 5 回以上ダイオキシン類濃度の測定を実施し、最初の測定から最後の測定までの間が 5 年以上の患者で、平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 200 pg/g lipid 以上で、IgE 抗体検査、骨密度検査を 1 回以上行ったことがある患者、５３名を対象とした。表 1 に性別・年齢別の分布を示す。

また、体重として、200kg を超える異常値が含まれている場合があったので、当該測定結果を除いて計算を行った。

B．２．分析手法

半減期は、濃度の対数の変化率の逆数であるため、半減期と濃度の対数の変化率とみなして評価が可能である。さらに、半減期の変化は、濃度の対数の変化率の変化と考えることできる。つまり、濃度の対数に対する二階微分を評価することで、半減期の変化を評価することができる。二階微分を有するもっとも単純な式（二次方程式＝放物線）に、各患者の濃度の対数を目的変数として係数を求めることで、その二階微分値を評価する。すなわち、半減期の変化を評価することができる。

$$log_2 C_{it} = c_i + b_i t + a_i t^2$$

t:測定年度

また、体重の変化は、体重の対数を目的変数とする線形回帰式で求めた。

$$log_2 W_{it} = b_i - a_i t$$

t:測定年度

C．研究結果

C．1．体重変化の分布

図１に体重変化の分布を示す。体重の変化率の数値は、半減期の逆数の負である。つまり、−0.01 は、100 年で体重が半分になることを示す。多くの患者は、変化率が０の近辺に集中している。また、若干負の傾向が強く、全体としては、体重が減少していることを示す。

C．２．半減期の変化（濃度の二階微分の変化）

図２に濃度の対数の二階微分の係数を示す。全体的な分布は、０から少しだけ正の側に移動した正規分布に近い分布をしている。

C．３．体重の変化と半減期の変化の関係

図３に体重変化と濃度の対数の二階微分の散布図を示す。右上（体重が増加、濃度の 2 階微分が正）の領域に外れ値と考えられる患者がいるが、おおむね、体重が減少している患者は、濃度の二階階微分が大きくなる傾向を示している。

D．考察

本研究における対象患者において、体重の変動は、０の前後に分布していた。若干体重減少する患者のほうが多かったが、大きな傾向は見られなかった。

濃度の二階微分では、全体的な傾向としては、０から正に少しずれた位置性を中心とする正規分布に近い形であった。本研究における対象患者は、一般人よりも高い濃度を有する患者であるため、濃度は一般人に近づいていく傾向を示している。つまり、濃度は減少していく傾向を示している。この状況で、二階微分が正であるとは、半減期が長くなる状況を示している。また、１名であるが、全体から離れている患者がいた。

濃度の半減期の変化と体重の変動の図（図３）では、右上（体重が増加、濃度の二階微分が正）に非常に大きな濃度の二階微分の値を示す患者がいた。この患者の濃度変化と二次関数による推定を図４に示す。濃度変化を見ると、２００２年から２００６年まで減少しているのに対して、２０１０年では一転して濃度が増加している。本研究で用いた、二次関数への近似では、今回のように離れている一点が偶然の影響をうけると、二次の係数が大きく影響を受ける。偶然の誤差を大きく拾ってしまった可能性が高い。

この右上に存在する患者を外れ値として除くと、体重が減少している患者は濃度の二階微分が大きくなる傾向がみられた。言い換えると、体重が減少している患者は、半減期が長くなる傾向がみられた。

体重の変動と濃度の変動に関しては多くの研究で指摘されているが、半減期の変動と体重の変動に関して報告はない。体重変動と半減期の変化の間に直接の関係があるとは考えにくい。たとえば、ダイオキシン類を高濃度で蓄積することができる器官が体内に存在し、年齢が高くなったり、痩せたりすると、ダイオキシン類を維持する能力が低下し、流れ出すと仮定すると、今回の現象の説明が可能である。たとえば、脂肪組織中に蓄積されるなどの可能性があるのではないだろうか。

我々は正常対照群と油症群の症状の比較も行ってきたが、体重や身長などの個人の身体的データの比較も行う必要性があると判断した。油症実態調査データと以前に我々が実施した対照群調査データを分析することにし、現在統合作業を行っている。

２００７年以降は、ダイオキシン類の測定が３年おきとなっている。２０１４年の測定結果を加え、測定期間が長い患者を対象とすることで、より安定した結果が得られるもの考えられる。

E. 参考文献

1) 今村知明、小池創一、松本伸哉、神奈川芳行、赤羽学：油症の各患者の血中 PECDF 濃度の半減期のバリエーションに関する研究：食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究：平成 20 年度総括・分担研究報告書：2009 年 3 月
2) 油症患者の血中 2,3,4,7,8-PECDF の半減期と症状の関係に関する研究：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
3) カネミ油症患者の症状と 2,3,4,7,8-PECDF の半減期の関係に関する研究：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 23 年度総括・分担研究報告書
4) カネミ油症患者のダイオキシン類の体内負荷量変化率の変化に関する研究：平成 24 年度総括・分担研究報告書

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

赤羽学、松本伸哉、神奈川芳行、吉村健清、今村知明　カネミ油症患者と一般成人の健康調査結果の比較　第 73 回日本公衆衛生学会総会　2014 年 11 月 5-7 日　宇都宮東武ホテルグランデ（栃木）

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表１　対象患者

年齢(2010 年時点)	男性	女性	総計
50～59		1	1
60～69	1	6	7
70～79	8	23	31
80～89	2	12	14
総計	**11**	**42**	**53**

図１　体重変化の分布

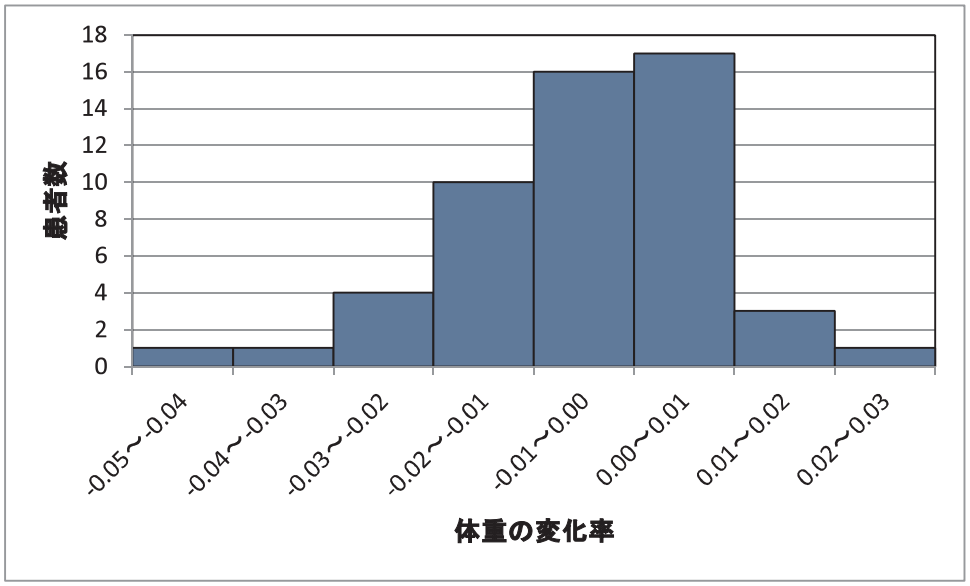


図２　濃度の二階微分結果の分布

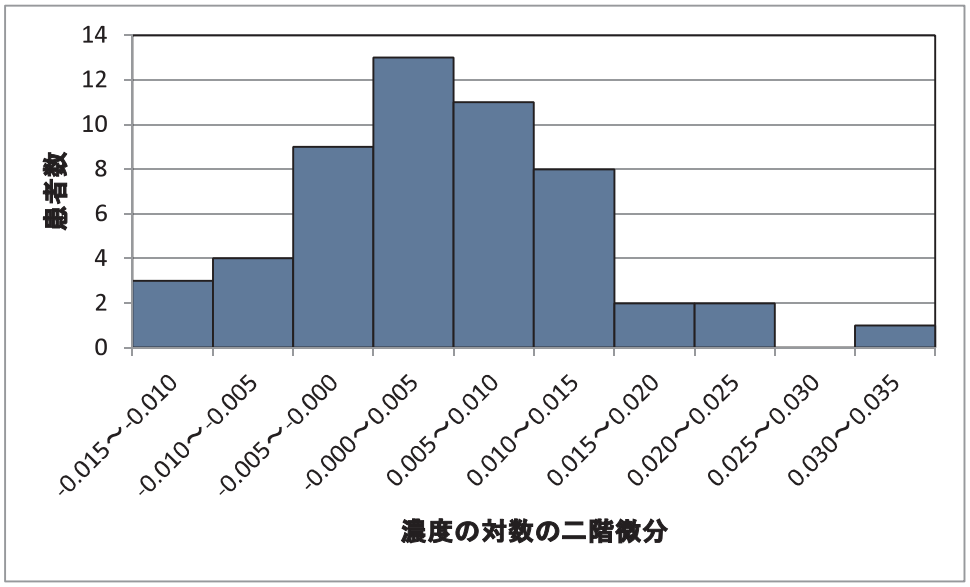


図３　体重の変動と濃度の二階微分結果の分布

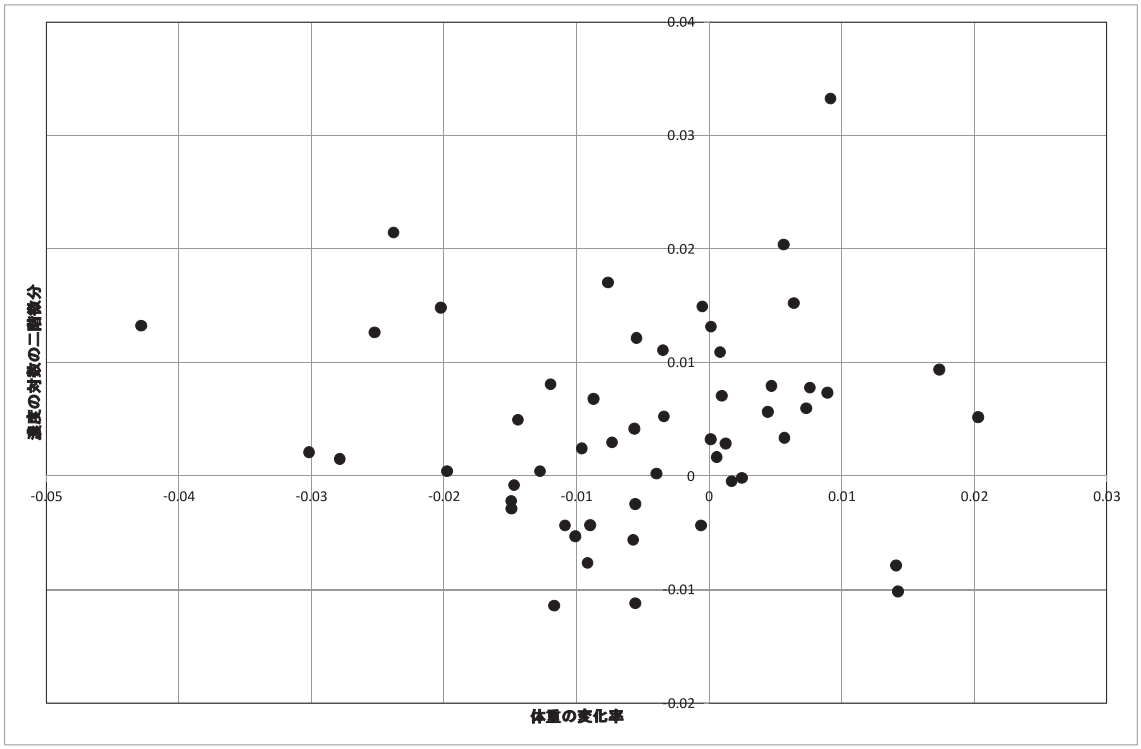
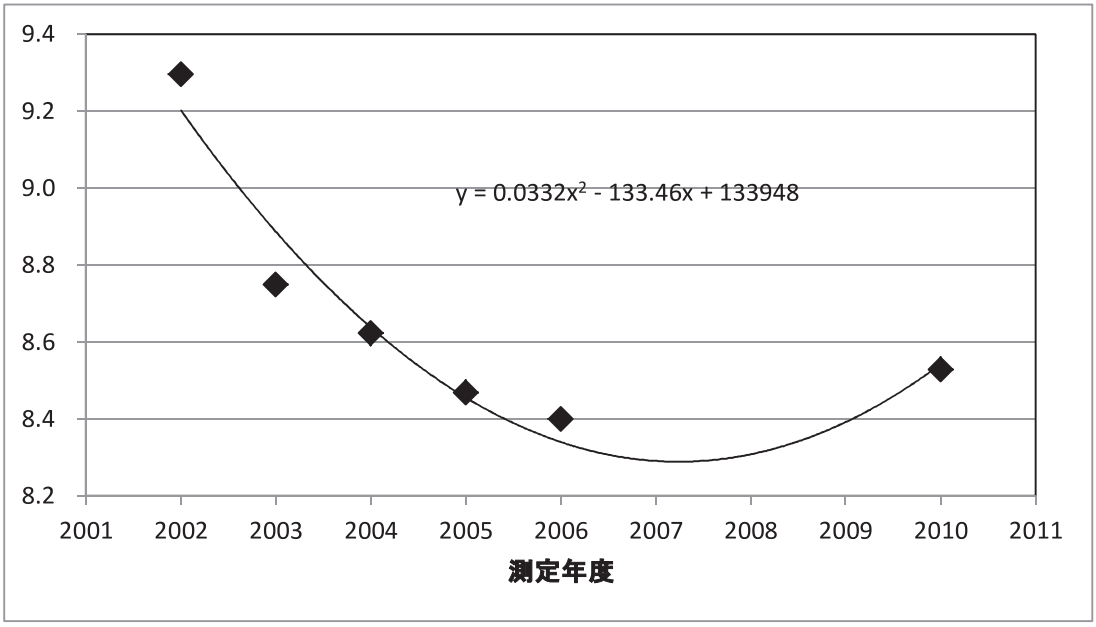


図４　外れ値と考えられる患者の濃度の推移



分担研究報告書

ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討

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
研究協力者　濵田　直樹　九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　助教
　　坪内　和哉　九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野

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。麻酔と投与法を改良し、以前より再現性が向上しており、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。同モデルにおいて surfactant protein の発現が亢進しており病態への関与が示唆された。

A．研究目的

油症患者には、慢性的な咳、痰等の呼吸器症状が未だ認められるが、そのメカニズムはよくわかっていない。油症の主な原因物質と考えられている PCDFs をげっ歯類に投与すると、電子顕微鏡にて細気管支領域の Club(Clara)細胞に壊死が認められることから、Club 細胞の傷害が原因のひとつと考えられているが詳細は不明である。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。これまでの検討で、マウスの肺に直接ダイオキシン類を投与することにより、気道分泌物の増加を示すモデルを作成することができたが、個体間によるばらつきが大きく、再現性が高い動物実験モデルができたとはいえなかった。よって、病態解析に使用可能なレベルの動物実験モデルを確立させることを目的とした。

肺サーファクタントは、肺胞表面を覆って肺胞の虚脱を防ぎ、呼吸を円滑に進行させている物質で、リン脂質と 4 種類の特異蛋白 Surfactant Protein(SP)-A、SP-B、SP-C、SP-D からなる。SP-B と SP-C は疎水性であるが、SP-A と SP-D は親水性であり、サーファクタントとしての役割の他に、気道-肺胞系における生体防御作用などの機能も併せ持つ[1) 2)]。また実際の臨床においても、血中の SP-A、SP-D 値は間質性肺炎・肺線維症や肺胞蛋白症の病勢を反映するマーカーとして活用されており、近年は慢性閉塞性肺疾患や気管支喘息における役割についても研究が進んできている[3)4)]。昨年、我々は油症患者血中の SP-A、SP-D の濃度を測定し、油症患者の呼吸器症状、ダイオキシン類の濃度との関連を統計学的に解析した結果、SP-D 濃度と咳嗽、喀痰といった症状、また SP-A 濃度と一部のダイオキシン類の濃度に有意な関連が認められたことを報告した[5)]。今回、この動物モデルにおける surfactant protein の発現について検討した。

B．研究方法

マウスに塩酸ケタミン、塩酸キシラジンにて全身麻酔をかけ、経気管的に Benzo[a]pyrene (BaP)を投与し、投与 5 日後に肺組織を回収し解析した。

具体的には、C57BL/6 マウス、雌、8- 10 週齢に、塩酸ケタミン 80 mg/kg＋塩酸キシラジン 10 mg/kg を腹腔内投与して、自発呼吸が持続する程度に全身麻酔をかけた。その後、マウスを仰臥位に固定して、頸部を小切開し、気管を露出させた。Tricaprylin で溶解した BaP を、1 匹あたり 500 μg(50 μl)を、24G

針にて経気管的に投与した。コントロール（対照）群には Tricaprylin を 50μl 投与した。投与 5 日後に肺組織を取り出して、HE 染色、Alcian blue-PAS (AB-PAS)染色にて組織学的に評価した。またサーファクタントプロテイン (SP-A, SP-C, SP-D) について免疫組織学的に検討した。

（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

組織学的には、BaP 投与群ではコントロール群と比較して、HE 染色にて細気管支上皮細胞の増殖や細気管支の肥厚、周囲組織への炎症細胞の浸潤を認め、AB-PAS 染色では、やや太い気管支から細気管支の気道上皮細胞に PAS 陽性細胞を認めた(図 1)。

免疫組織学的には、BaP 投与群ではコントロール群と比較して、SP-D は細気管支上皮細胞やⅡ型肺胞上皮細胞に高発現を認めた(図 2)。SP-A は主に増殖した細気管支上皮細胞で発現の亢進が認められた(図 3)。SP-C はコントロール群、BaP 投与群とも細気管支上皮細胞での発現は認められなかったが、Ⅱ型肺胞上皮細胞での発現が認められ、BaP 投与群では、Ⅱ型肺胞上皮細胞における発現の亢進が認められた(図 4)。

D．考察

油症患者の主な呼吸器症状は慢性気管支炎様の咳や痰であり、気道分泌物の増加に由来すると考えられている。今回の研究にてマウスに 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が、これらはムチン類の増加、すなわち気道分泌物の増加を表していると考えられ、このモデルは動物実験モデルとして有用と考えられる。ただこれまでの我々の検討では、動物疾患モデルとして確立するためには、個体間でのばらつきが大きいのが問題であった。この理由として、Tricaprylin で溶解した BaP は粘度が高く、マウスの気道に投与する際、または投与した後に容易に窒息すること、多数のマウスに同じ量を投与するのは、手技的に難度が高いことなどが挙げられていた。そこで今回、i) 麻酔薬を呼吸抑制が少ない薬剤に変更、ii) 投与量や麻酔時間を段階的に調整、iii) 投与経路を目視で確認しやすい気管切開後の経気管投与とする、等の改善を加え、徐々に病変の再現性が向上してきているところである。今後も更に再現性を高めるための取り組みと検討を行っていく必要があると考えている。

また、昨年、我々は油症患者血中の SP-A、SP-D の濃度を測定し、油症患者の呼吸器症状、ダイオキシン類の濃度との関連を統計学的に解析した結果、SP-D 濃度と咳嗽、喀痰といった症状、また SP-A 濃度と一部のダイオキシン類の濃度に有意な関連が認められたことを報告した[5]。そこで今回改めてこの動物実験モデルを用いて、免疫組織学的に surfactant protein の発現を検討したが、SP-D、SP-A、SP-C ともコントロール群と比べて BaP 投与群で発現の亢進が認められた。近年、surfactant protein と呼吸器疾患との関連が注目されており、喫煙者や慢性閉塞性肺疾患患者では、血中や喀痰中の SP-A が有意に上昇していたという報告や[6]、近年の慢性閉塞性肺疾患大規模コホート研究にて血中 SP-D 値の高い群は肺機能の低下が大きかったという報告がある[8]。煙草は燃焼によりダイオキシン類が発生するが、喫煙は本邦における慢性閉塞性肺疾患の原因のほとんどを占めていることから、ダイオキシン類による肺傷害と油症患者における肺傷害、および喫煙による肺傷害には、同じようなプロセスが働いている可能性も考えられた。今後の非常に興味深い検討課題と考えている。

E．結論

マウスに BaP 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。同モデルでは肺組織における surfactant protein の発現が亢進しており、病態への関与が考えられた。

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) Mason RJ, *et al.* Surfactant protein A and Sufactant protein D in health and disease. *Am J Physiol* 1998; 275:L1-L13.
2) Kishore U, *et al.* Surfactant proteins SP-A and SP-D: structure, function and receptors. *Mol Immunol* 2006; 43: 1293-1315.
3) Vestbo J, *et al.* Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate End-points (ECLIPSE). *Eur Respir J* 2008; 31: 869-873.
4) Lomas DA, *et al.* Serum surfactant protein is steroid sensitive and associated with exacerbations of COPD. *Eur Respir J* 2009; 34: 95-102.
5) 中西洋一，他. 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 25 年度総括・分担報告書: 81-86.
6) Nomori A, *et al.* Serum surfactant protein A levels in healthy indivisuals are increased in smokers. *Lung* 1998; 176: 355-361.
7) Mazur W, *et al.* Elevation of surfactant protein A in plasma and sputum in cigarette smokers. *Eur Repir J* 2011; 38: 277-284.
8) Coxson HO, *et al.* The presence and progression of emphysema in **COPD** as determined by CT scanning and biomarker expression: a prospective analysis from the ECLIPSE study. *Lancet Respir Med.* 2013; 1(2):129-36.
9) 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.

図 1　Benzo[a]pyrene 投与群　x200

a) HE 染色　b) AB-PAS 染色

→：PAS 陽性細胞

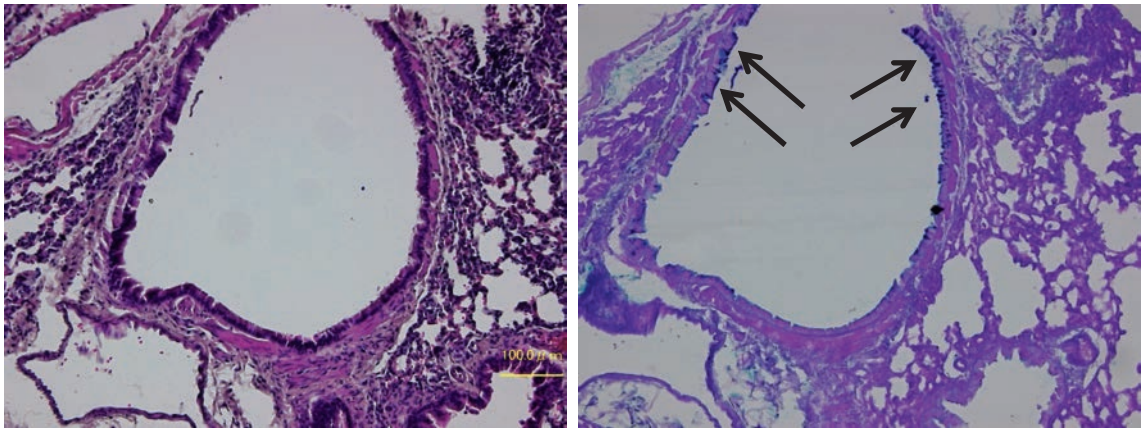


図 2　免疫組織科学染色（SP-D）　x200

a) コントロール群　b) Benzo[a]pyrene 投与群

→:細気管支　▲:Ⅱ型肺胞上皮

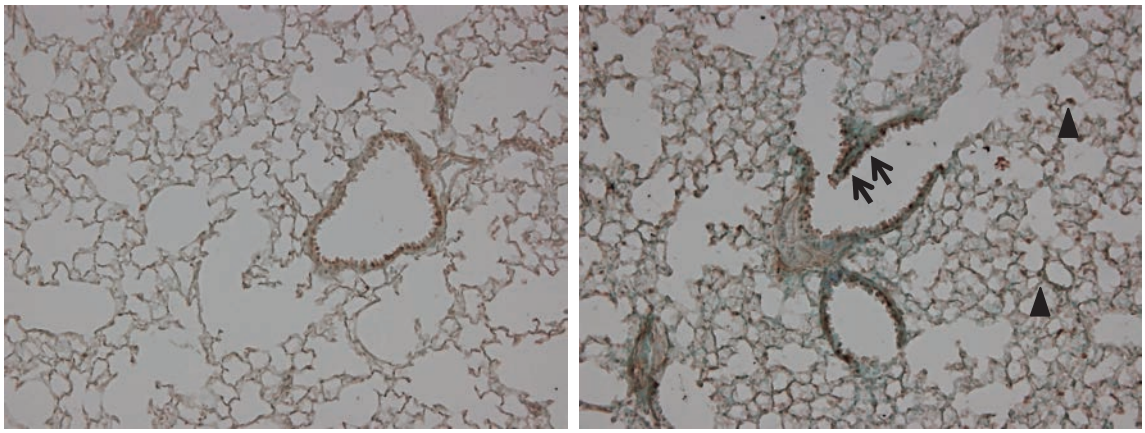


図 3　免疫組織科学染色（SP-A）　　x400

a）コントロール群　　b）Benzo[a]pyrene 投与群

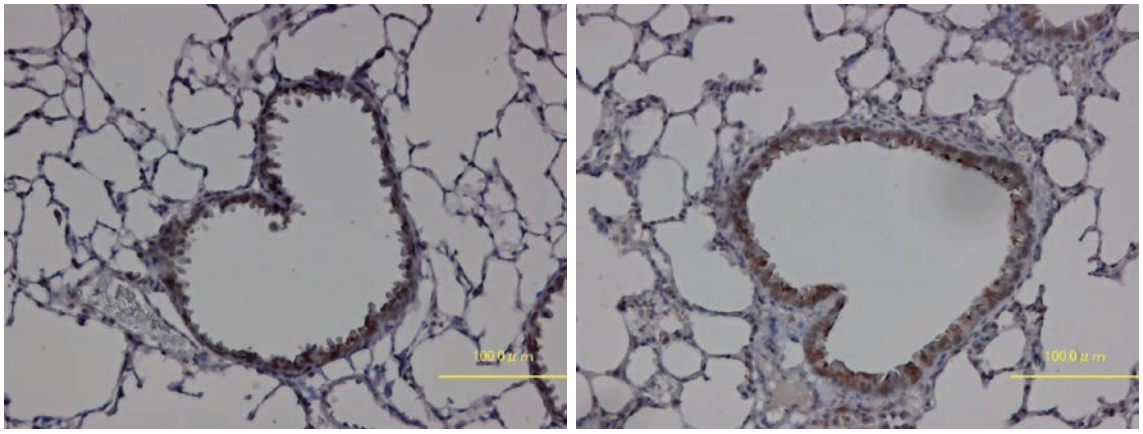
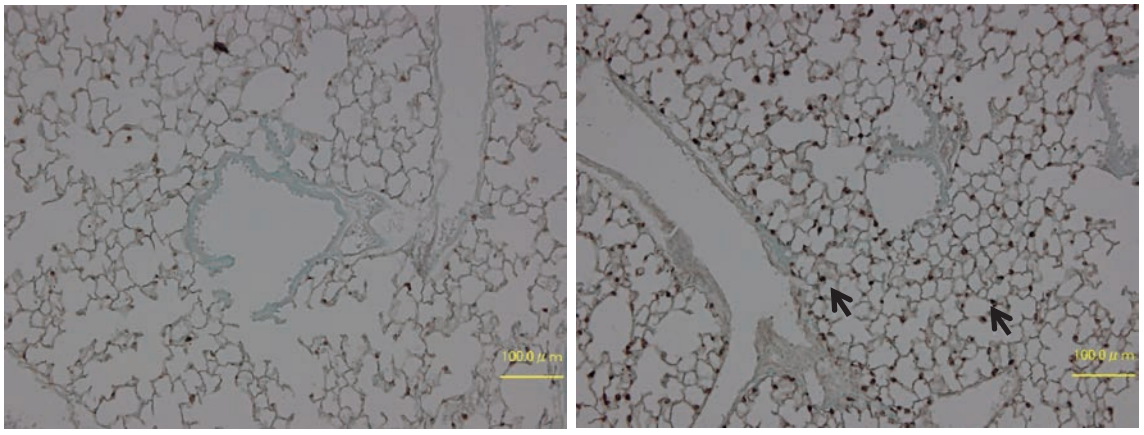


図 4　免疫組織科学染色（SP-C）　　x200

a）コントロール群　　b）Benzo[a]pyrene 投与群

→：Ⅱ型肺胞上皮



分担研究報告書

ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響

研究分担者　　江崎　幹宏　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　ダイオキシンが誘導する酸化ストレスが遺伝子突然変異を誘導する要因となることを検討するために、潰瘍性大腸炎合併大腸癌ならびに散発性大腸癌の切除材料を用いて activation-induced cytidine deaminase (AID)の発現を評価した。潰瘍性大腸炎合併大腸癌、散発性大腸癌のいずれも AID 陽性率は高く、両者で差を認めなかったが、潰瘍性大腸炎炎症部粘膜では炎症が高度になるにつれて AID 陽性率が上昇した。以上から、慢性炎症により誘導される酸化ストレスは遺伝子突然変異を誘導する一因となることが示唆された。

A．研究目的

ダイオキシンが大腸癌発生のリスクか否かは未だ不明である．一方、活性酸素種による酸化ストレスは体細胞レベルでの癌原遺伝子や癌抑制遺伝子の突然変異を誘導し、発癌に至る経路が推測されている。Activation-induced cytidine deaminase (AID)はこれらの体細胞突然変異への関与が示唆されており、AID の発現は炎症関連発癌の過程で Th2 型サイトカイン(IL-4, IL-13)によって増強されることが報告されている。このような背景から、潰瘍性大腸炎における発癌に AID が関与する可能性が推測される。そこで、潰瘍性大腸炎発癌における AID の関与を検討した。

B．研究方法

潰瘍性大腸炎合併大腸癌ならびに散発性大腸癌に対する外科的切除で得られた切除材料を検討に用いた。大腸癌、炎症部、非炎症部のパラフィン包埋された大腸切片を用いて Hematoxylin & eosin 染色を行い、腫瘍部分に対しては組織学的悪性度を評価した。また、炎症部については組織学的炎症度を評価した。

次に連続切片を用いてAIDとp53の免疫組織化学染色を行った。AID は細胞質の染色強度をもとに陰性、弱陽性、強陽性の 3 群に分類した。腫瘍組織における p53 染色性については、10%以上の陽性細胞を認めた場合に陽性として判定した。

これらの組織学的所見と免疫組織化学染色所見の関連を検討した。

C．研究結果

AID の染色性は、潰瘍性大腸炎合併大腸癌と散発性大腸癌のいずれにおいても高く、2 群間で差を認めなかった。しかし、非炎症粘膜部における AID 陽性率と比較すると有意に高かった。一方、潰瘍性大腸炎の炎症部粘膜の AID 染色性は非炎症部粘膜に比べて有意に高かった。さらに、炎症部粘膜のAID染色性は腫瘍部のAID染色性と比較して明らかな差を認めなかった。

次に、潰瘍性大腸炎における組織学的炎症度と AID 染色性の関連を検討したところ、組織学的炎症高度群で、AID 強陽性率が有意に高かった。

また、腫瘍組織における AID と p53 の染色性の関連を検討したが、両者の染色性に明らかな関連を認めなかった。ただし、p53 陰性例の多くは AID 陰性であったのに対

し、p53 陽性例の半数で AID は強陽性を示した。

D．考察

ダイオキシンは種々の活性酸素種を産生し、生体に誘導された酸化ストレスが発癌に強く関連することが広く認められるようになってきた。一方、潰瘍性大腸炎では好中球活性酸素産生の亢進、抗酸化機構の低下、酸化 DNA 損傷マーカーの増加が報告され、同疾患における炎症ならびに発癌に酸化ストレスが強く関連することが示唆されている。今回、このような酸化ストレスによる DNA 損傷との関連も示唆されている AID の炎症部や腫瘍部における発現を検討することで、炎症性発癌における酸化ストレスの影響を評価した。

その結果、潰瘍性大腸炎合併大腸癌部における AID の発現は散発性大腸癌と比較して差を認めなかった。一方、AID は非炎症部では殆ど発現を認めなかったのに対し、炎症部粘膜では陽性率が上昇し、陽性率は高度炎症部で高かった。このことは、既に炎症部粘膜で既に体細胞突然変異のリスクが上昇していることを示唆しており、炎症により惹起された酸化ストレスが発癌を誘導し可能性が推測された。このような潰瘍性大腸炎粘膜における AID の発現については、臨床経過や罹病期間との関連も検討していく必要があると思われる。

なお、慢性炎症持続による発癌は、*Helicobacter pylori* 感染による慢性胃炎からの胃癌発生にも共通する経路と考えられる。同様の手法を用いて胃癌症例における AID 発現と胃炎重症度の関連についても今後検討を加えたい。

E．結論

潰瘍性大腸炎の炎症部粘膜において AID 発現を認めることから、本症発癌における酸化ストレスの関与が示唆された。

F．健康危険情報

現時点ではない。

G．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

2,2',3,3',4,4',5-七塩素化ビフェニル(PCB170)の動物肝ミクロゾームによる代謝

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

PCB170 は、PCB153、PCB180 および PCB138 とともに高残留性の PCB 異性体として知られている。本研究では、PCB170 が代謝されるか否かについて、ラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾーム(Ms)を用いて調べた。その結果、ラットおよびヒト肝 Ms では、代謝物は全く生成されなかった。一方、モルモット肝 Ms では、phenobarbital 前処理の場合のみ、代謝物が極微量検出された。以上の結果から、PCB170 は非常に代謝されにくいことが明らかになった。また、既報を総合すると、PCB170 代謝物の化学構造は、5'-OH 体であり、モルモット肝での生成には CYP2B18 が関与していることが示唆された。

A. 研究目的

2,2',4,4',5,5'-hexachlorobi-phenyl (PCB153)、2,2',3,4,4',5,5'-heptachlo-robiphenyl (PCB180) および 2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB138)は、ヒト血液中や肝臓中に高濃度検出されるPCB異性体である[1-3]。このような高残留性PCB異性体は、いずれも共通して、2,4,5-三塩素置換ベンゼンあるいは2,3,4,5-四塩素置換ベンゼンを有している。戸高ら[4]は1968年のカネミ油症発生以来35年後の油症患者血液中のPCB異性体を調べ、その結果、油症患者および健常者のいずれも、上記のPCB異性体が最も多いこと、しかも油症患者で健常者の1.6～2.2倍多いことを報告した。また、本研究のPCB170はヒト血液中において5番目に多いPCB異性体で、しかも健常者の2.5倍の高濃度であることも報告した。これらの結果から、PCB170が難代謝性であることが示唆されたが、その代謝については全く報告がなかった。そこで本研究では、PCB170の代謝について、ラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾーム(Ms) を用いて調べた。また、代謝に関与するチトクロムP450 (CYP) 分子種を明らかにするため、代表的なCYP誘導剤で前処理した動物でも同様に検討した。

B. 研究方法

① PCB170 合成：2,3,4-trichloroaniline および 1,2,3,4-tetrachlorobenzene を tetrachloro-ethylene に溶解し、isopentyl nitrite を添加後、100℃で 24 時間反応させた。反応液を chloroform で抽出後、アルミナカラムおよびシリカゲルカラムにかけ、最終的に分取用 HPLC で精製した。PCB170 のピークを分取し濃縮したところ、白色結晶が得られた。GC-MS の結果、分子量 392 であることを確認した。収量は 47.3mg（収率 4.7%）で純度は 98.0%であった。以下、これを用いて、代謝研究を行った。② 動物肝 Ms の調製：Wistar 系雄性ラット(体重約 220g)および Hartley 系モルモット(体重約 320g)を用いた。動物肝 Ms は、未処理、phenobarbital (PB)および 3-methylcholanthrene (MC) 前処理のラットとモルモットから調製した。PB および MC はそれぞれ 80 および 20 mg/kg/day の用量で 3 日間腹腔内投与した。最終投与後翌日に屠殺し、直ちに肝を摘出した。③ ヒト肝 Ms：白人男性 10 名から調製されたものを BD Gentest 社より購入した。④ 代謝物の定量：肝 Ms を 40 μM PCB170、NADPH 生成系、100 mM HEPES 緩衝液(pH 7.4)、$MgCl_2$ とともに、好気的に 37℃で 1 時間インキュベートした後、chloroform-methanol (2:1,

v/v) および *n*-hexane で抽出し、さらに diazomethane でメチル化後、GC-ECD および GC-MS に供した。PCB170 代謝物の定量は PCB170 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

まず、ラット肝MsによるPCB170の代謝を調べた。Fig. 1に、代謝物(メチル化体)のGC-ECDクロマトグラムを示した。未処理Ms、PB前処理MsおよびMC前処理Msでは、未変化体であるPCB170以外に、代謝物は全く検出されなかった。一方、モルモットの場合、未処理Ms およびMC前処理Msでは全く代謝物ピークが生成されなかったが、PB前処理Msでは保持時間25.5 minに微量の代謝物M-1が19.8 pmol/hr/mg proteinの活性で検出された(Fig. 2)。なお、ヒト肝でも同様に検討したが、代謝物は全く生成されなかった。

次に、M-1の化学構造を明らかにするため、2,3,4-Trichloroanisole および1,2,3,4-Tetrachloroanilineを原料とし、Cadoganの方法により、予想代謝物5'-CH_3O-PCB170の合成を試みた。その結果、5'-CH_3O-PCB170あるいは副産物2'-CH_3O-PCB189と思われる分子量422の合成品S-1を1種類得ることができた。GC-MSの結果、S-1は422$[M]^+$に加え、$[M-50]^+$の大きなフラグメントイオンを示した。これまでの報告[5]によると、この$[M-50]^+$のイオンは、MeO基がオルト位、すなわち2(2')位あるいは6(6')位に置換されていることを示している。結局、S-1は2'-CH_3O-PCB189であり、当初の目的の5'-CH_3O-PCB170ではなかった。以上のことから、GC-ECDにおけるM-1の保持時間を5'-CH_3O-PCB170と比較するには至らなかった。

D. 考察

PCB170 は非常に代謝されにくいと予想されたが、今回用いたラット肝 Ms およびヒト肝 Ms では全く代謝されなかった。ただ、PB 前処理モルモットでのみ、5'-OH 体と思われる代謝物が極微量生成された(Fig. 3)。この結果から、PCB170 は難代謝性であるものの、PB 誘導性のモルモット CYP2B18 [6]により代謝されうることが示唆された。これらの結果から、PCB170 を含め高残留性の PCB 異性体は、非常に代謝されにくいことが改めて示唆された。

E. 結論

PCB170は、PB前処理モルモット肝Msでのみ、5'-OH体と思われる代謝物へと代謝された。ただし、微量代謝物の同定は今後の課題である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. O. Kimura, K. Haraguchi, C. Ohta, N. Koga, Y. Kato, and T. Endo, Uptake of aristolochic acid I into Caco-2 cells by monocarboxylic acid transporters. Biol. Pharm. Bull., **37**(9), 1475-1479 (2014).
2. Y. Kato, K. Haraguchi, M. Onishi, S. Ikushiro, T. Endo, C. Ohta, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa, 3,3',4,4'-Tetrachlorobipheny-mediated decrease of serum thyroxine level in C57BL/6 and DBA/2 mice occurs mainly through enhanced accumulation of thyroxine in the liver. Biol. Pharm. Bull., **37**(3), 504-509 (2014).
3. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, O. Kimura, and N. Koga, Distribution and

excretion of 2,2′,3,4′,5,5′,6-heptachloro-biphenyl (CB187) and its metabolites in rats and guinea pigs. Chemosphere, **118**, 5-11 (2015).

2. 学会発表

1. 山本健太、緒方　瞳、太田千穂、原口浩一、遠藤哲也、木村　治、加藤善久、古賀信幸、Kaempferol tetramethylether のラット肝ミクロゾームによる代謝. 第 68 回日本栄養・食糧学会大会（酪農学園大学、江別市） 平成 26 年 5 月 30 日～6 月 1 日
2. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, N. Koga, The participation of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101). Organohalogen Compounds, **76**, 466-469 (2014). 34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Melia Castella Hotel, Madrid, Spain) 平成 26 年 8 月 31 日～9 月 5 日
3. 西村恵理、太田千穂、山本健太、原口浩一、遠藤哲也、加藤善久、古賀信幸、海洋生物由来 2,2'-dimethoxy-BB80 のラットにおける in vivo 代謝. フォーラム 2014：衛生薬学・環境トキシコロジー（つくば国際会議場、つくば市） 平成 26 年 9 月 19, 20 日
4. 緒方　瞳、太田千穂、山本健太、加藤善久、原口浩一、木村　治、遠藤哲也、古賀信幸、トリメチル化された apigenin と genistein のラット肝ミクロゾームによる代謝. 日本栄養食糧学会九州支部会（熊本県立大、熊本市） 平成 26 年 10 月 11,12 日
5. 太田千穂、西村恵理、原口浩一、遠藤哲也、加藤善久、山本健太、古賀信幸、海洋生物由来の Tetrabromo-1,4-dimethoxybenzene (TDB)の動物肝ミクロゾームによる代謝.日本薬学会第 135 年会（神戸学院大学等、神戸市） 平成 27 年 3 月 25～28 日
6. 久我歩佳、木下真璃伽、藤井由希子、櫻田司、原口浩一、太田千穂、古賀信幸、遠藤哲也、メチルトリクロサンのマウス代謝活性化と乳汁分泌. 日本薬学会第 135 年会（神戸学院大学等、神戸市） 平成 27 年 3 月 25～28 日
7. 小柳侑平、河野龍海、高木雅恵、森山綾香、藤井由希子、松原　大、原口浩一、太田千穂、古賀信幸、海藻で生産される臭素化ビフェノール類の機能性評価. 日本薬学会第 135 年会（神戸学院大学等、神戸市） 平成 27 年 3 月 25～28 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

1) A. Sjödin, L. Hagmar, E. Klasson-Wehler, J. Björk and Å. Bergman, Environ. Health Perspect., **108**(11), 1035-1041 (2000).
2) D. M. Guvenius, P. Hassanzadeh, Å. Bergman and K. Norèn, Environ. Toxicol. Chem., **21**, 2264-2269 (2002).
3) 古賀信幸，太田千穂，油症研究Ⅱ（古江増隆，赤峰昭文，佐藤伸一，山田英之，吉村健清　編）九州大学出版会，pp. 200-218 (2010).
4) T. Todaka, T. Hori, H. Hirakawa, J. Kajiwara, D. Yasutake, D. Onozuka, T. Iida and M. Furue, Chemosphere, **74**(7), 902-909 (2009).
5) M. Th. M. Tulp, K. Olie and O. Hutzinger, Biomed. Mass Spectr., **4**, 310-316 (1977).
6) N. Koga, T. Kanamaru, N. Kikuichi, N. Oishi, S. Kato and H. Yoshimura, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **60**, 898-903 (1998).

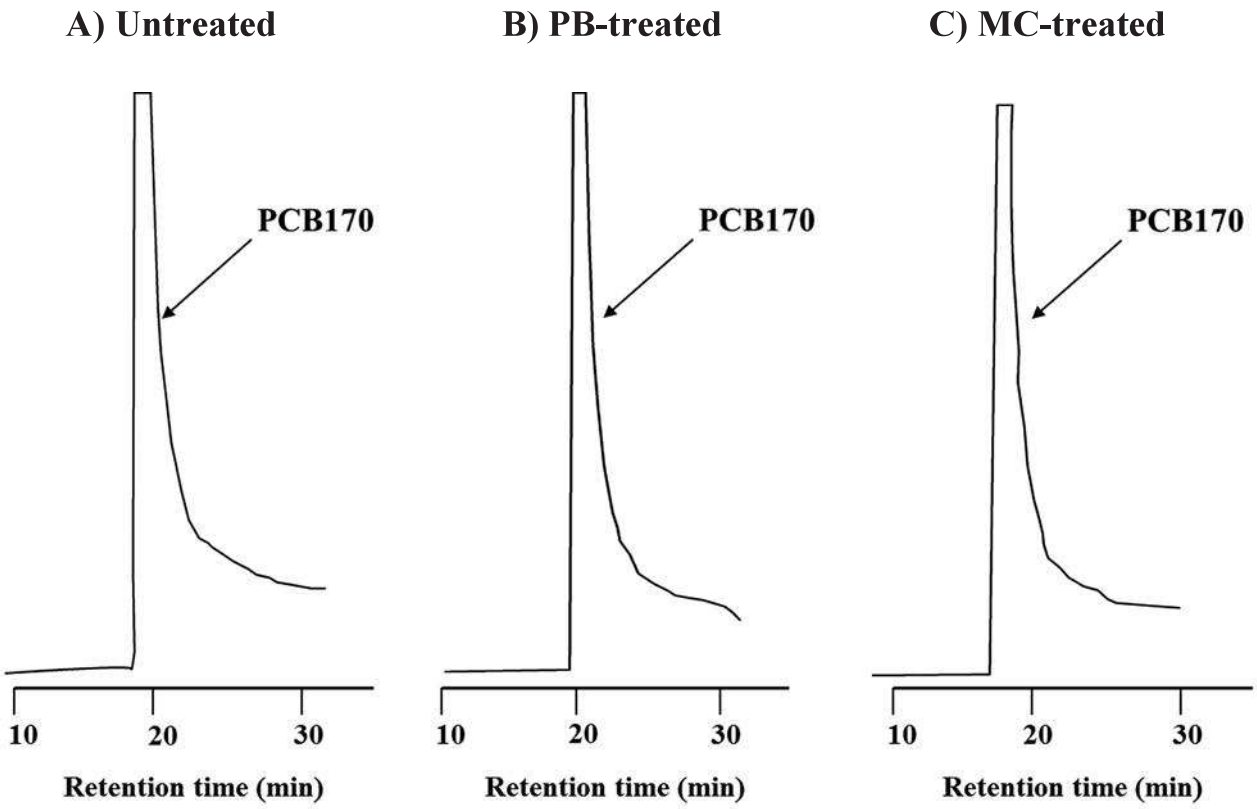


Fig. 1　ラット肝ミクロゾームによる PCB170 の代謝

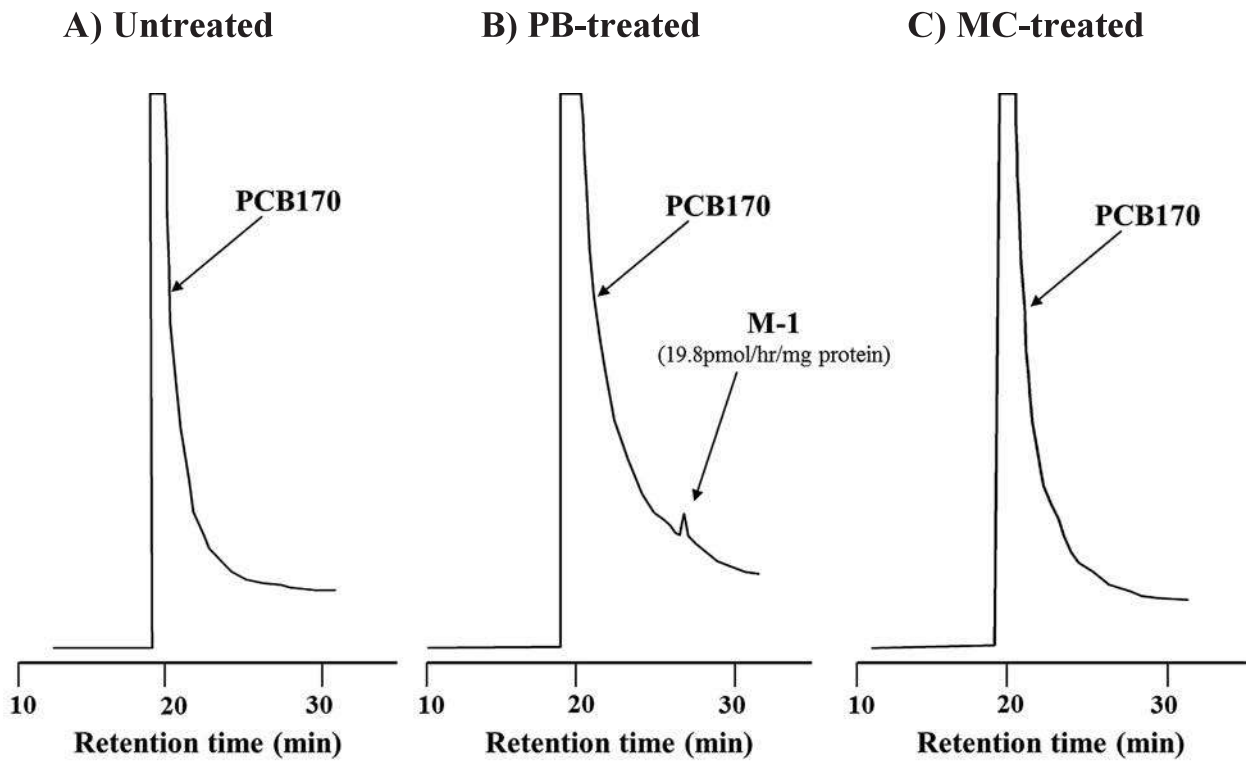
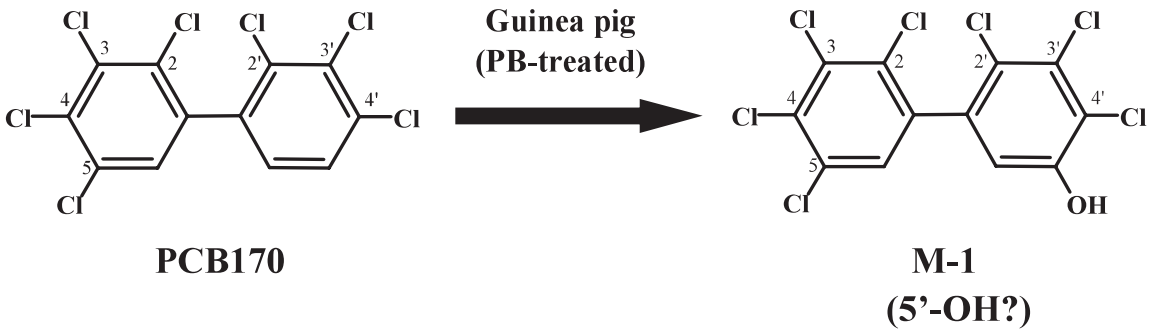


Fig. 2　モルモット肝ミクロゾームによる PCB170 の代謝



PCB170

M-1
(5'-OH?)

Fig. 3　PCB170 の予想代謝経路

分担研究報告書

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析：遺伝子改変動物での検討

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
研究協力者　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　昨年度までの解析により、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) がラット肝臓において leukotriene (LT) B4 合成系亢進を介して LTB4 を蓄積させ、好中球を活性化させる可能性を見出した。LTB4 は好中球活性化を通して炎症反応に重要であるため、これの異常蓄積は TCDD による炎症亢進ひいては肝毒性に直結する可能性が高い。そこで本研究では、LTB4 受容体 (BLT1) 遺伝子欠損マウスを用いてこの可能性を検証した。BLT1 欠損マウスへの TCDD 投与も、野生型マウスと同様に LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase の誘導が惹起し、LTB4 合成が増加していることが示唆された。しかし、野生型マウスへの TCDD 投与で見られる顕著な好中球浸潤ならびに炎症および肝障害マーカーの増大は、BLT1 欠損によって大きく抑制された。さらに、芳香族炭化水素受容体 (AhR) の遺伝子欠損ラットを用いて、LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase 誘導状況を検討した。その結果、野生型ラットで見られる TCDD 依存的な 5-lipoxygenase の誘導は、AhR 遺伝子欠損によって完全に消失した。以上の結果から、ダイオキシンは AhR を介する 5-lipoxygenase 誘導によって LTB4 を肝臓に蓄積させ、これが好中球浸潤による炎症亢進ひいては肝毒性を規定する一つの要因であるとの新規機構が明らかになった。

A．研究目的

ダイオキシンは、芳香族炭化水素受容体 (AhR) の活性化を起点とした遺伝子発現変動に基づいて、肝障害や免疫抑制等の様々な毒性を生起すると考えられている (1, 2)。ダイオキシン依存的に変動する遺伝子は 200 種類以上も存在するが (3)、どの変動が毒性に直結するかは充分に理解されていない。我々はこの問題解決を目指し、超分解能液体クロマトグラフィー／飛行時間型質量分析計を用いたメタボローム解析に基づく研究を展開している。その結果、最強毒性のダイオキシンである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) がラット肝臓に leukotriene (LT) B4 を蓄積させる可能性 (平成 23 年度分担研究報告書)、ならびに本蓄積には LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase の誘導と、LTC4 synthase の減少が寄与すること (平成 24 年度分担研究報告書) を見出してきた。LTB4 は、強力な好中球遊走作用を有する脂質炎症メディエーターであるため (4)、これの肝への蓄積は好中球浸潤を通して炎症を亢進し、障害を惹起する可能性が考えられる。これを支持して、昨年度の研究では LTB4 増加を通して好中球活性化が惹起する可能性を見出した (平成 25 年度分担研究報告書)。そこで本年度の研究では、LTB4 増加の毒性学的意義を更に明確にするため、LTB4 受容体遺伝子欠損 (BLT1-KO) マウスを用いた検討を実施した。さらに、AhR 遺伝子欠損

(AhR-KO) ラットを用いて、5-lipoxygenase 誘導における AhR 活性化の寄与も検討した。

B．研究方法

1. AhR-KO ラットの作製

AhR 遺伝子の欠失には、XTN™ TAL nuclease を用いた。AhR 遺伝子の exon 2 領域を標的として合成した DNA 結合配列を Fok I ヌクレアーゼと融合させることで XTN™ mRNA を作製した。これをベクターに導入して作製した XTN™ 発現ベクターを、常法 (5) に従って前核期胚に注入した。XTN™ によって標的遺伝子の部分欠失が生じた受精卵を偽妊娠ラットに移植し、キメララットを作製したのち、野生型との交配によってヘテロ複合体を得た。これらの交配により KO ラットを作製し、実験に用いた。

2. 動物処理

5 週齢の雄性 AhR-KO および野生型ラット (Wistar 系ラット; 九動社) に、TCDD を 60 μg/kg/2 mL の用量で単回経口投与した。また、5 週齢の雄性 BLT1-KO マウスおよび野生型マウス (C67BL/6J 系統; 日本クレア社) に、5 あるいは 100 μg/kg/5 mL TCDD を単回経口投与した。それぞれ対照群にはコーン油を投与した。投与 7 日後に肝臓ならびに血液を採取し実験に供した。

3. リアルタイム RT-PCR 法

摘出した肝臓より total RNA を抽出し、PrimeScript RT reagent kit with gDNA eraser (タカラバイオ社) を用いて cDNA を合成した (6)。これを鋳型として、Fast SYBR Green® Master Mix (Life Technologies 社) を用いて目的タンパク質の mRNA 発現を定量した。標準遺伝子として β-actin を使用し、目的タンパク質の mRNA 発現水準を β-actin に対する相対比として算出したのち、control に対する割合として解析した。

4. 免疫組織染色

スライドガラス上に貼付した肝臓の凍結切片 (切片厚: 5 μm) を、氷冷アセトンで 10 分間固定し、phosphate-buffered saline (PBS) で 5 分間 × 3 回洗浄したのち、3% bovine serum albumin-PBS で室温、1 時間ブロッキングした。PBS で 5 分間 × 2 回洗浄したのち、rat anti-Ly6g IgG conjugated with fluorescein isothiocyanate (FITC) (abcam 社) または rabbit anti-5-lipoxygenase IgG (Sigma-Aldrich 社) を滴下し、4ºC で一晩反応させた。翌日、0.05% Tween 20-PBS を用いて 5 分間 × 6 回洗浄したのち、0.1% 4',6'-diamidino-2-phenylindole を含む Alexa Fluor® 647-conjugated anti-rabbit IgG (Cell Signaling Technology 社) を滴下し、室温で 1 時間反応させた。0.05% Tween 20-PBS で 5 分間 × 6 回洗浄後に封入し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

5. 血清トランスアミナーゼ活性

血清中の aspartate transaminase (AST) および alanine transaminase (ALT) 活性は、市販のキット (和光純薬工業) を用いて測定した。なお、AST 測定にあたっては、血清を水にて 10 倍希釈して使用した。

（倫理面への配慮）

本研究における全ての動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認を受けた上で、動物の苦痛を排除して実施した (動物実験承認番号: A25-037-0、A25-251-0 および A26-151-0~2)。

C．研究結果

LTB4 増加の意義を検証する前に、BLT1-KO マウスにおいてもダイオキシンによる LTB4 合成系の誘導が起こることを確認するため、LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase の mRNA 発現変動を解析した。その結果、BLT1-KO マウスにおいても野生型マウスと同様に、100 μg/kg

TCDD によって 5-lipoxygenase の誘導が観察され (Fig. 1)、TCDD による LTB4 合成亢進は BLT1 欠損によっても生じることが確認された。

そこで、TCDD による LTB4 増加が肝臓への好中球浸潤を惹起するか否かを免疫染色法により検証した。5-Lipoxygenase は、先の mRNA 誘導を支持して野生型および BLT1-KO マウス両方において TCDD 投与により同様の誘導が観察された (Fig. 2)。さらに好中球のマーカータンパク質である ly-6g を解析した結果、野生型マウスにおいては TCDD 投与により顕著に増加したが、BLT1-KO マウスではその程度は明らかに減少した (Fig. 2)。さらに、炎症応答因子である tumor-necrosis factor α (TNFα および cyclooxygenase 2 (COX2) の肝臓中 mRNA 発現量を検討した結果、野生型マウスでは高用量の TCDD 曝露により顕著な誘導が生じたが、BLT1-KO マウスにおいてはそれらが顕著に抑制された (Fig. 3)。また、炎症反応の抑制と合致して、BLT1 欠損は肝障害マーカーである血清 ALT および AST 増加も有意に抑制した (Fig. 4)。これらの結果から、肝 LTB4 増加が TCDD による炎症亢進ならびに肝障害の一つの要因であることが実証された。

次に、AhR-KO ラットを用いて、TCDD による 5-lipoxyngenase 誘導における AhR 活性化の寄与を検討した。本検討を行うにあたり、AhR 欠損を確認するために、AhR ならびに AhR 依存的な誘導遺伝子である cytochrome P450 (CYP) 1A1 を指標に検討した。その結果、KO ラットでは AhR の発現を認めず (成績未掲載)、TCDD による CYP1A1 誘導も起こらなかった (Fig. 5)。そこで、5-lipoxygenase の発現を解析した結果、AhR KO ラットでは、野生型ラットで認められる 5-lipoxygenase の誘導が消失した (Fig. 5)。この結果から、TCDD による肝 5-lipoxygenase 誘導は、AhR 依存的に起こることが明らかになった。

D．考察

本年度の研究では、TCDD による肝 LTB4 増加が、好中球浸潤を通して炎症応答を亢進し、肝障害を惹起するとの一連の機構を検証するため、BLT1-KO マウスを用いて TCDD に対する障害性が消失するか否かを解析した。その結果、BLT1-KO マウスにおいては TCDD 依存的な好中球浸潤が顕著に抑制され、炎症マーカーである TNFα および COX2 の発現誘導も大きく抑制された。さらに、これらを支持して、肝障害マーカーの誘導も有意に抑えられた。さらに、AhR-KO ラットを用いた検討の結果、AhR 欠損により 5-lipoxygenase 誘導は消失した。以上の結果から、TCDD は AhR 依存的に 5-lipoxygenase を誘導することで肝臓に LTB4 を蓄積し、これによって引き起こされる好中球浸潤と炎症反応の亢進が、ダイオキシンによる肝毒性の一端を担うとの新たな毒性機構が実証された。LTB4 は好中球に高発現する BLT1 との結合によって、炎症応答における重要な転写因子である nuclear factor (NF)-κB を活性化する (7)。活性化した NF-κB は、TNFα や COX2 等の炎症因子の発現を誘導し、炎症応答が亢進する (8)。TNFα および COX2 の誘導が BLT1 欠損によって大きく抑制された事実から、肝臓に浸潤した好中球において BLT1 を介して NF-κB 経路が活性化し、TNFα／COX2 等の炎症性因子増加によって障害へと至ると推定される。

TCDD による肝障害マーカーの誘導は BLT1-KO マウスにおいて完全には抑制されず、LTB4-BLT1 以外の因子による障害性の関与が示唆された。他の因子については今後の課題であるが、第一には LTB4 の低親和性受容体である BLT2 (9) が考えられる。BLT2 は、肝臓を含む多くの組

織に発現しており、NADPH oxidase 誘導による活性酸素種の増加を介して NF-κB を活性化する (10)。従って、LTB4 は BLT1 だけでなく BLT2 にも作用することで炎症応答を引き起こす可能性がある。また、ダイオキシンは AhR 依存的に xanthine dehydrogenase および NADPH oxidase の発現を誘導し、肝臓において活性酸素種を増加させるため (11, 12)、これらの誘導も NF-κB 経路の活性化を介して肝障害に寄与することが示唆される (12)。以上のように、LTB4 の毒性学的意義をより明確に提示するためには、BLT2 と共に LTB4 非依存的な他の炎症誘発因子の肝毒性への寄与を明らかにしていくことが重要である。

本研究では、5-lipoxygenase 誘導が AhR 活性化に基づいて生起することは明らかにできたが、詳細な機構を解明するまでには至らなかった。ダイオキシン-AhR 複合体が結合する DNA 応答配列 (5'-CACGC-3') の存在を、5-lipoxygenase の 5'-遺伝子上流ならびに遺伝調節への関与が示唆されるイントロン領域 (13) について探索したところ、複数の存在が確認された。従って、AhR がこれらを介して直接的に遺伝子発現を誘導する可能性が十分に考えられる。また、5-lipoxygenase の発現誘導因子として重要である transforming growth factor β (TGFβ) および calcitriol (14) は、TCDD 依存的に増加するとの報告があり (12, 15)、これらを介して間接的に誘導される可能性もある。特に、TGFβ は AhR 依存的に誘導する遺伝子であることも示されている (12)。従って、5-lipoxygenase の誘導に対する AhR の寄与を分子レベルで明らかにするためには、直接作用の可能性と共に、これらの刺激因子に着目した解析を行うことが重要であろう。

E．結論

TCDD は AhR 依存的な 5-lipoxygenase 誘導を通して肝臓に LTB4 を蓄積させ、これ通して好中球浸潤ならびに炎症反応の亢進、ひいては肝毒性の発現・増悪を惹起するとの新規機構が明らかになった。

F．研究発表

1. 50th Congress of the European Societies of Toxicology (Edinburgh, September 2014)
2. フォーラム 2014: 衛生薬学・環境トキシコロジー (つくば、2014 年 9 月)
3. 第 31 回日本薬学会九州支部大会 (福岡、2014 年 12 月)

G．知的財産権の出願・登録状況

特になし

H. 参考文献

1) Poland A, Knutson JC. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, **26**: 371-399 (1982).
2) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM, Gonzalez FJ. *Toxicol Appl Pharmacol*, **140**: 173-179 (1996).
3) Frueh FW, Hayashibara KC, Brown PO, Whitlock JP Jr. *Toxicol Lett*, **122**, 189-203 (2001).
4) Yokomizo T. *Fukuoka Acta Med*, **97**: 183-191 (2006).
5) Geurts AM, Cost GJ, Remy S, Cui X, Tesson L, Usal C, Menoret S, Jacob HJ, Anegon I, Buelow R. *Methods Mol Biol*, **597**: 211-225 (2010).
6) 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).
7) McDonald PP, Bald A, Cassatella MA. *Blood*, **89**: 3421-3433 (1997).
8) Tak PP, Firestein GS. *J Clin Invest*,

107: 7-11 (2001).
9) Yokomizo T, Kato K, Terawaki K, Izumi T, Shimizu T. *J Exp Med*, **192**: 421-432 (2000).
10) Cho KJ, Seo JM, Kim JH. *Mol Cells*, **32**: 1-5 (2011).
11) Sugihara K, Kitamura S, Yamada T, Ohta S, Yamashita K, Yasuda M, Fujii-Kuriyama Y. B*iochem Biophys Res Commun*, **281**: 1093-1099 (2001).
12) Matsubara T, Tanaka N, Krausz KW, Manna SK, Kang DW, Anderson ER, Luecke H, Patterson AD, Shah YM, Gonzalez FJ. *Cell Metab*, **16**: 634-644 (2012).
13) Rådmark O, Werz O, Steinhilber D, Samuelsson B. *Trends Biochem Sci*, **32**: 332-341 (2007).
14) Brungs M, Rådmark O, Samuelsson B, Steinhilber D. *Proc Natl Acad Sci USA*, **92**: 107-111 (1995).
15) Nishimura N, Nishimura H, Ito T, Miyata C, Izumi K, Fujimaki H, Matsumura F. *Toxicol Appl Pharmacol*, **236**: 301-309 (2009).

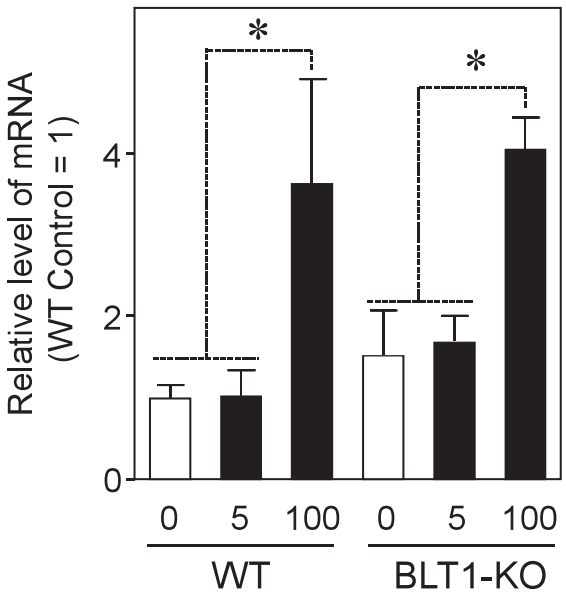


Fig. 1. Effect of TCDD on the hepatic expression of 5-lipoxygenase mRNA in male wild-type (WT) and BLT1-KO mice. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 4-5 mice. Significantly different from control; *, $p<0.05$. Control value of 5-lipoxygenase mRNA level for wild-type (% of β-actin; mean ± S.E.M., N=5) was $2.30 \times 10^{-3} \pm 3.70 \times 10^{-4}$.

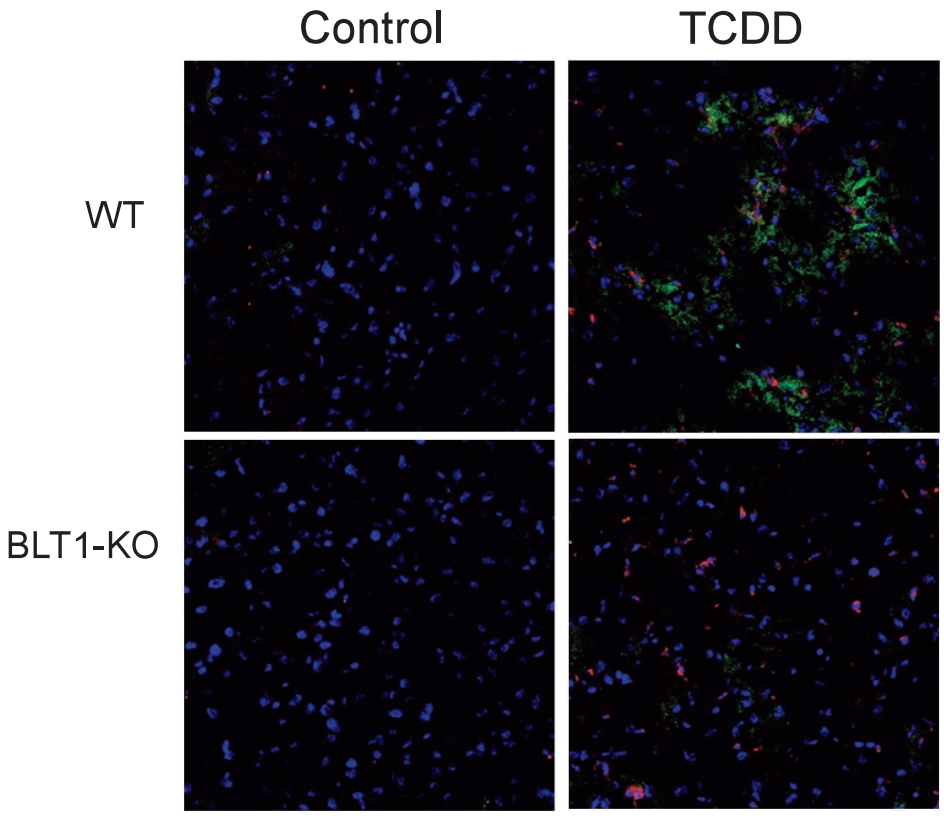


Fig. 2. Effect of TCDD on the infiltration of neutrophils to the liver in male wild-type (WT) and BLT1-KO mice. Liver sections were stained by anti-ly-6g (green), anti-5-lipoxygenase (red) and 4'6'-diamino-2-phenylindole (blue).

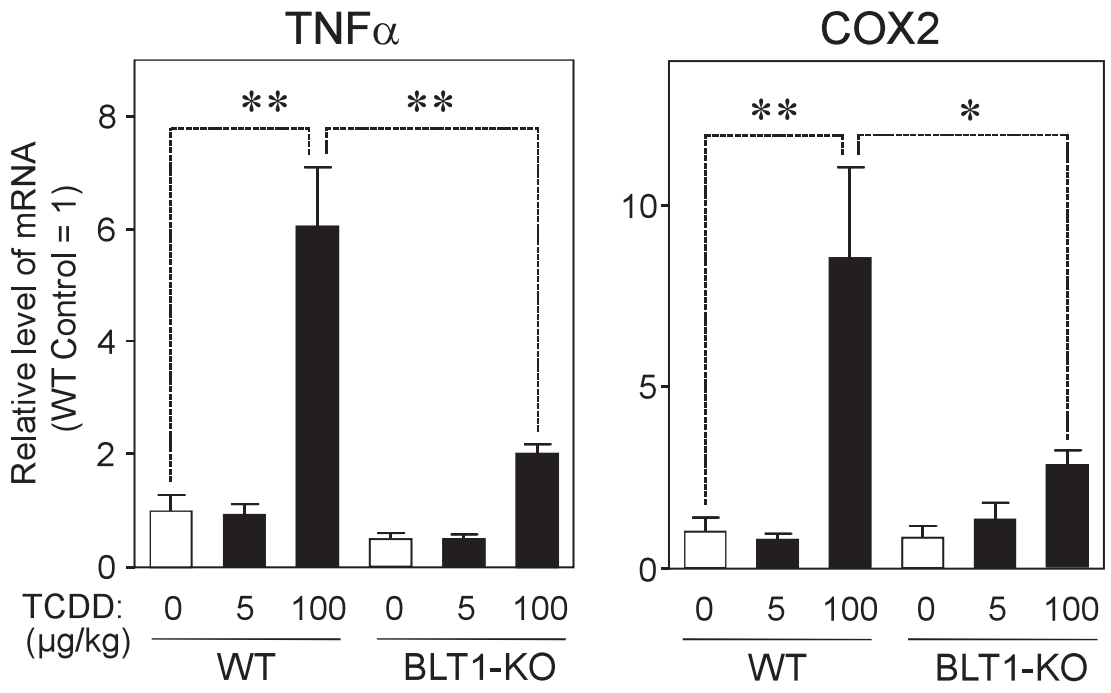


Fig. 3. Effect of TCDD on the hepatic expression of mRNAs coding for tumor-necrosis factor α (TNFα) and cyclooxygenase 2 (COX2) in male wild-type (WT) and BLT1-KO mice. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 4-5 mice. Significantly different between the pair indicated; *, $p<0.01$ and **, $p<0.001$. Control values of mRNA level for wild-type (% of β-actin; mean ± S.E.M., N=5) were as follows: TNFα ($3.99 \times 10^{-3} \pm 1.13 \times 10^{-3}$) and COX2 ($1.12 \times 10^{-3} \pm 4.20 \times 10^{-4}$).

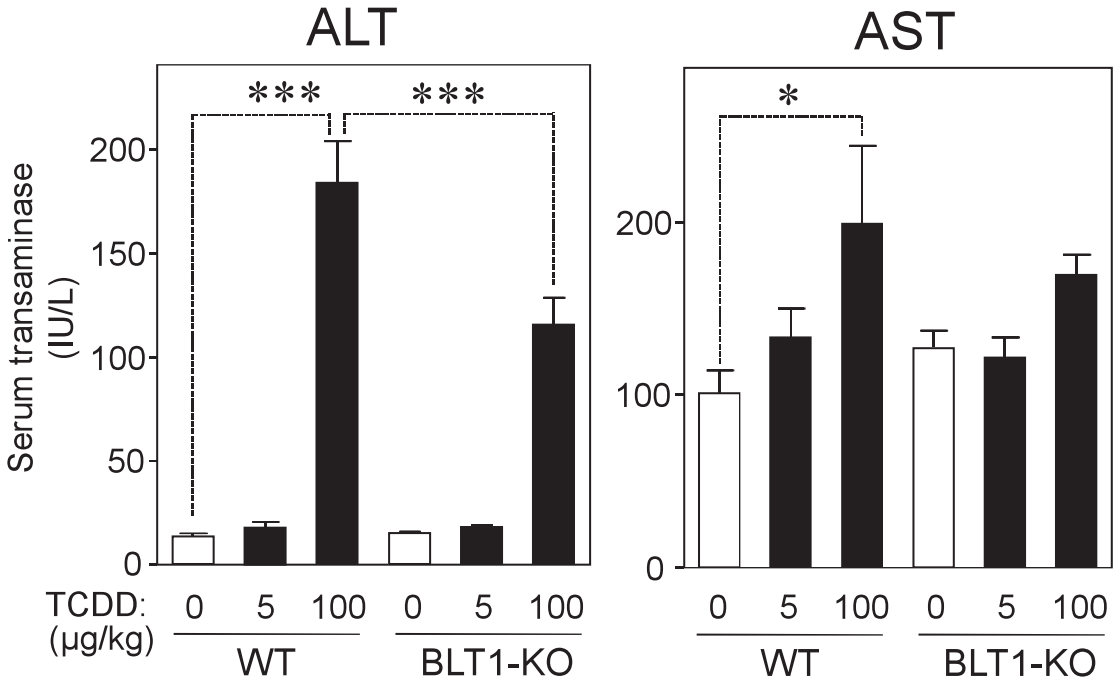


Fig. 4. Effect of TCDD on the serum transaminases in male wild-type and BLT1-KO mice. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 4-10 mice. Significantly different between the pair indicated; *, $p<0.05$ and ***, $p<0.001$.

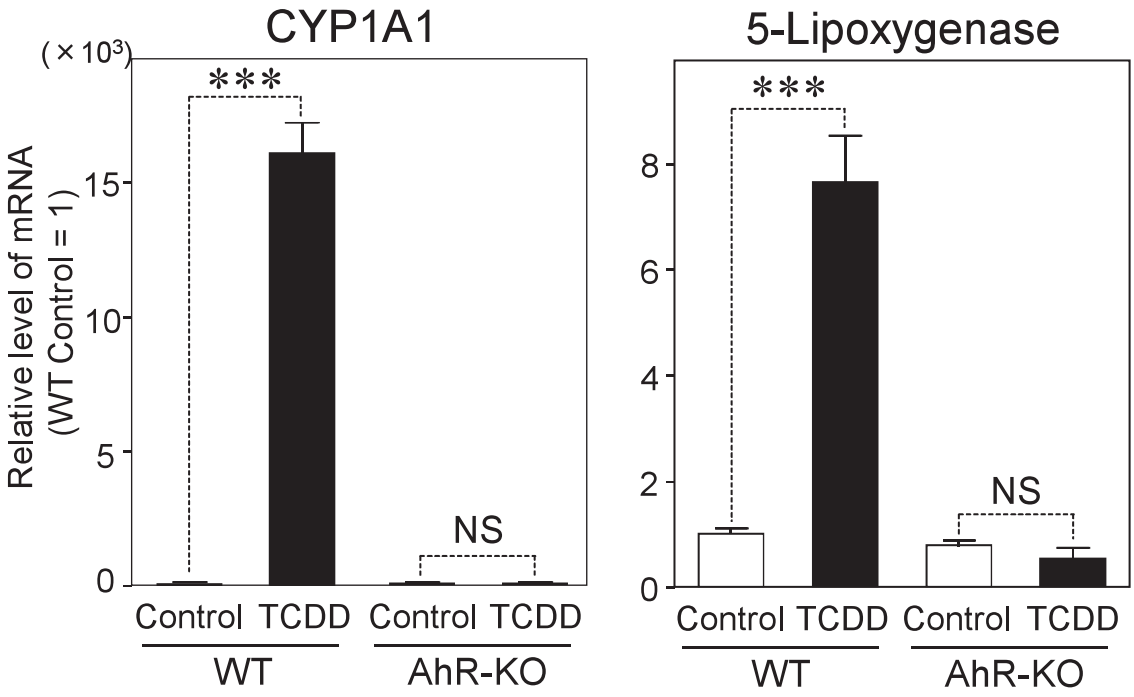


Fig. 5. Effect of TCDD on the hepatic expression of mRNAs coding for CYP1A1 and 5-lipoxygenase in male wild-type and AhR-KO rats. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 3-6 rats. Significantly different between the pair indicated; ***, $p<0.001$. Control values of mRNA level for wild-type (% of β-actin; mean ± S.E.M., N=6) were: CYP1A1, $3.13 \times 10^{-2} \pm 5.18 \times 10^{-3}$ and 5-lipoxygenase, $8.50 \times 10^{-4} \pm 9.08 \times 10^{-5}$.

分担研究報告書

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響：機構解析および改善方策についての検討

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
研究協力者　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　我々は、妊娠ラットへの 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 曝露により、胎児脳下垂体の黄体形成ホルモン (LH) 低下を起点として性ホルモン合成が障害され、成長後の性未成熟が固着されることを実証している。さらに、TCDD 曝露母体にクエン酸回路の必須補酵素である α-リポ酸 (LA) を補給することで、胎児視床下部におけるクエン酸回路の停滞および ATP 減少のみならず、上記の LH 低下も回復することを明らかにしている。しかし、LA による LH 低下の回復機構は不明である。そこで本研究では、LA と同様にクエン酸回路の必須補酵素である thiamine を用いて、LA による回復機構におけるエネルギー産生低下の寄与を検討した。検討の結果、TCDD による ATP 産生低下は、胎児視床下部および全脳において認められたが、TCDD 曝露母体への thiamine の補給によって LA 同様に改善することが明らかになった。しかし、胎児 LH ならびに性ホルモン合成系に対しては、thiamine 補給は部分的な回復効果を示すに止まった。これらの結果から、胎児 LH 低下に対する LA の回復機構は、ATP 増加と LA 特異的機能の複合的な作用に基づくことが示唆された。さらに、胎児脳の LA 低下の機構解析のため、合成ならびに利用に関わる酵素の発現水準を検討した結果、いずれの発現にも影響を認めなかった。従って、少なくとも TCDD はこれらの酵素の変動以外によって LA を減少させ、LH 低下を惹起することが示された。

A．研究目的

ダイオキシンの妊娠期曝露によって出生児に生起する性未成熟等の発育障害は、発現に要する用量が小さく、生涯にわたって影響が継続するため問題が大きい (1)。当研究室では、これの問題解決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) が低下し、出生・成熟後の交尾行動障害が規定されることを明らかにしている (2, 3)。さらに、TCDD が胎児視床下部においてクエン酸回路の補酵素である α-リポ酸 (LA) 減少と共にクエン酸回路停滞を惹起すること、ならびに TCDD 曝露母体に LA を補給することによりクエン酸回路の停滞のみならず LH 低下も改善することを報告している (4)。しかし、LA は生体内においてクエン酸回路以外にも様々な機能を有するため (5-8)、LH 低下に対するリポ酸の保護効果の機構は不明である。本機構を明確にすることは、ダイオキシンの障害機構解明、ならびに LA を基盤とする改善方策構築に向けて重要と考えられる。そこで本研究では、クエン酸回路停滞の寄与を検討するために、LA と共にクエン酸回路の必須補酵

素である thiamine を用いて、LH 低下に対する効果を検証した。さらに、胎児脳における LA 低下の機構に関する検討も加えた。

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、翌日膣内に精子が確認された場合、その日を妊娠 0 日目とした。妊娠 15 日目に LA を 20 mg/kg/100 μL DMSO の用量で尾静脈内投与したのち、TCDD (1 μg/kg/2 mL コーン油) を単回経口投与した。また、対照群には、LA の代わりには DMSO、ダイオキシンの代わりにはコーン油を投与した。妊娠 16~20 日目に、一日一回初回と同用量の LA を尾静脈内投与したのち、妊娠 20 日目の雄胎児より組織を採取した。Thiamine 投与群については、妊娠 14 日目の夕方より妊娠 20 日目までの間、thiamine 誘導体である thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide (以下 thiamine, 1 mg/mL) 含有水を自由に摂取させた。同様に、GD20 に胎児より組織を採取し、解析に供した。

2. 組織中 ATP 濃度

組織をホモジナイズしたのち、1,000 x g で 10 分間遠心分離した。上清を H_2O にて 100 倍希釈したのち、ATP 測定キット (東洋ビーネット社) を用いて測定した。

3. リアルタイム RT-PCR 法

摘出した組織より total RNA を抽出し、PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (タカラバイオ社) を用いて cDNA を合成した (9)。これを鋳型とし、Fast SYBR Green Master Mix (Life Technologies 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解析した。

4. イムノブロット解析

胎児視床下部をホモジナイズしたのち、1,000 x g にて 10 分間遠心分離した。得られた上清を用いて、LA 合成酵素タンパク質の発現量を解析した。一次抗体は、rabbit anti-rat LA synthase IgG (GeneTex 社) および mouse anti-β-actin monoclonal antibody (BioVision 社) を用いた。LA 合成酵素の発現は 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。

5. LA 定量

胎児視床下部を 50 μL の氷冷水にてホモジナイズし、6 倍量のアセトニトリルを加えて激しく撹拌した。11,400 x g で 10 分間遠心分離したのち、上清を回収した。ペレットは、再度アセトニトリルによる抽出を行い、一回目の上清と合わせて遠心エバポレーターを用いて溶媒を留去した。残渣を 40% アセトニトリルに再溶解させたのち、UPLC-TOF-MS 装置に付して LA 含量を定量した。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認のもとに、動物の苦痛を可能な限り軽減して実施した。動物実験承認番号：A25-061-0~3。

C. 研究結果

まず、thiamine 処理により胎児視床下部においてエネルギー産生が促進されることを確認するため、TCDD 依存的な ATP 減少に対する thiamine および LA 補給の効果を検討した。検討の結果、thiamine の併用によっても、LA と同様に TCDD 依存的な ATP 減少は正常水準にまで復帰した (Fig. 1)。また、TCDD による ATP 減少が他の組織においても起こるか否かを検討したところ、全脳においても有意な低下が認められたが、末梢組織である脳下垂体、肝臓および腎臓においては変動しなかった (Fig. 1)。これらの結果から、TCDD

による胎児 ATP 減少は脳・視床下部に特異的であり、thiamine 補給によっても LA と同様にエネルギー産生を改善することが明らかになった。

次に、性ホルモン合成系低下に対する thiamine 併用の効果を検討するため、脳下垂体 LH ならびに精巣の性ホルモン合成系タンパク質の発現を解析した。LH 水準に対する影響を解析した結果、thiamine 補給によって胎児脳下垂体 LH ならびに血中 LH 濃度の低下は有意に改善したが、正常水準にまでは回復しなかった (Fig. 2)。さらに、同様の改善傾向は、精巣の性ホルモン合成の律速段階に関与するタンパク質である steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) の mRNA 低下に対しても確認された (Fig. 3)。一方、過去の成果 (4) と合致して、LA の補給は LH および StAR を共に正常水準にまで改善させた (Figs. 2 and 3)。

LA 濃度を定量した結果、本検討においても全脳において LA の低下が観察された (Fig. 4A)。そこで、LA 低下の機構解析のため、LA 合成酵素ならびに LA の利用に関わる酵素の発現変動を解析した。その結果、TCDD は胎児視床下部の LA 合成酵素 (Fig. 4B) ならびに LA 利用酵素の発現 (Fig. 4C) 共に影響を与えず、LA 低下はこれらの変動以外によって起こることが示唆された。

D. 考察

本年度の研究では、LA による胎児のホルモン合成低下に対する回復機構にエネルギー産生賦活化が寄与するか否かを明らかにするため、LA と共にクエン酸回路の必須補酵素である thiamine を用いて検討した。その結果、TCDD 曝露母体への thiamine の補給によっても、胎児 LH ならびに StAR 低下に対する有意な効果が認められた。しかし、TCDD による胎児視床下部 ATP 産生低下は、thiamine の補給によってほぼ正常レベルにまで回復したが、LH や StAR の回復は完全ではなかった。一方、LA 補給によっては、ATP のみならず LH 低下も正常レベルに改善した。これらの結果から、LA による LH 減少に対する回復効果は、1) クエン酸回路賦活化を通した ATP 産生促進、ならびに 2) thiamine に依存しない LA 特異的作用の複合的な機構に基づくことが示唆された。

LA はクエン酸回路の必須補酵素としての機能以外に、AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) の活性抑制 (5)、tumor necrosis factor (TNF) α および nuclear factor (NF)-κB 経路の阻害 (6)、グリシン開裂反応 (7)、ならびに抗酸化作用 (8) 等の多彩な機能を有する。当教室ではこれまでに、数種類の抗酸化物質を用いた比較検討によって、LA による効果には抗酸化作用の寄与は小さいことを示している (4)。最近我々は、TCDD が胎児視床下部において AMPK を活性化することを示唆する結果を得ている (成績未掲載)。AMPK は、LH 発現および分泌を抑制することが報告されており (10, 11)、TCDD は AMPK 活性化に基づいて LH 発現を低下させ、LA はこれを抑制することで効果を示す可能性が考えられる。また、ダイオキシンは TNFα 誘導によって NF-κB 経路を活性化し細胞障害性を示すが (12)、脳内における TNFα 増加は LH 合成／分泌を低下させると言う (13)。従って、LA は TCDD による脳内の TNFα 増加に対して拮抗することで LH 低下を抑制した可能性もある。今後、これらの点に着目して、 TCDD による LH 抑制とこれに対する LA 効果の機構を明らかにしていくことが重要である。

LA 減少の機構解析のため、LA 合成酵素ならびに利用酵素の発現水準に対する影響を解析したが、いずれも TCDD による変動は観察されなかった。従って、

TCDD はこれらの酵素水準への影響以外によって胎児脳内の LA を減少させ、性ホルモン合成系低下を惹起することが示唆された。LA は、ミトコンドリアにおける脂肪酸酸化によって供給されるオクタン酸を原料として LA 合成酵素等によって生合成される (14, 15)。思春期ラット脳下垂体を用いて行ったメタボローム解析において、TCDD によるオクタン酸レベルの増加が推定されており (H24 年度分担研究報告)、TCDD は オクタン酸からの変換活性を低下させることで LA を減少させる可能性が考えられる。現在のところ、LA 合成酵素の活性制御に関しては不明な点が多いが、少なくとも活性中心に鉄-硫黄クラスターを有することが明らかにされている (15)。TCDD は、腎臓細胞において貯蔵や取り込み異常によって鉄の恒常性を破綻させるため (16)、胎児脳においても同様のことが起こることで酵素活性が抑制される可能性がある。また、LA は胎盤に発現する sodium-dependent multivitamin transporter によって胎児への循環が起こるため (17)、TCDD が母体の LA 量に及ぼす影響についても無視はできない。いずれにせよ、TCDD は LA 減少に基づいて胎児障害性を惹起すると考えられるため、引き続き LA 減少の機構解析を行うことが重要である。

E. 結論

TCDD 依存的な胎児・性ホルモン合成障害に対する LA の保護効果は、クエン回路賦活化によるエネルギー産生促進と LA 特異的な他の作用の複合的な機構に基づくことが示唆された。

F. 研究発表

1. フォーラム 2014: 衛生薬学・環境トキシコロジー (つくば、2014 年 9 月 19 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) Mutoh, J., Taketoh, J., Okamura, K., Kagawa, T., Ishida, T., Ishii, Y., Yamada, H. Endocrinology, **147**: 927-936 (2006).
3) 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).
4) Koga, T., Ishida, T., Takeda, T., Ishii, Y., Uchi, H., Tsukimori, K., Yamamoto, M., Himeno, M., Furue, M., Yamada, H. PLoS ONE, **7**: e40322 (2012).
5) Kim, M. S., Park, J. Y., Namkoong, C., Jang, P. G., Ryu, J. W., Song, H. S., Yun, J. Y., Namgoong, I. S., Ha, J., Park, I. S., Lee, I. K., Viollet, B., Youn, J. H., Lee, H. K., Lee, K. U. Nat. Med., **10**: 727-733 (2004).
6) Vig-Varga, E., Benson, E. A., Limbil, T. L., Allison, B. M., Goebl, M. G., Harrington, M. A. Gynecol. Oncol., **103**: 45-52 (2006).
7) Fujiwara, K., Motokawa, Y. J. Biol. Chem., **258**: 8156-8162 (1983).
8) Rosenberg, H. R., Culik, R. Arch. Biochem. Biophys., **80**: 86-93 (1959).
9) 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).
10) Lu, M., Tang, Q., Olefsky, J. M., Mellon, P. L., Webster, N. J. Mol. Endocrinol., **22**: 760-771 (2008).
11) Wen, J. P., Lv, W. S., Yang, J., Nie, A. F., Cheng, X. B., Yang, Y., Ge, Y., Li, X. Y., Ning, G. Biochem. Biophys. Res.

Commun., **371**: 756-761 (2008).
12) Fan, F., Yan, B., Wood, G., Viluksela, M, Rozman, K. K. Toxicology, **116**: 9-16 (1997).
13) Watanobe, H., Hayakawa, Y. Endocrinology, **144**: 4868-4875 (2003).
14) Parry, R. J. Tetrahedron, **39**: 1215-1238 (1983).
15) Cronan, J. E., Zhao, X., Jiang, Y. Adv. Microb. Physiol., **50**: 103-146 (2005).
16) Santamaria, R., Fiorito, F., Irace, C., De Martino, L., Maffettone, C., Granato, G. E., Di Pascale, A., Iovane, V., Pagnini, U., Colonna, A. Biochim. Biophys. Acta, **1813**: 704-712 (2011).
17) Prasad, P. D., Ramamoorthy, S., Leibach, F. H., Ganapathy, V. Placenta, **18**: 527-533 (1997).

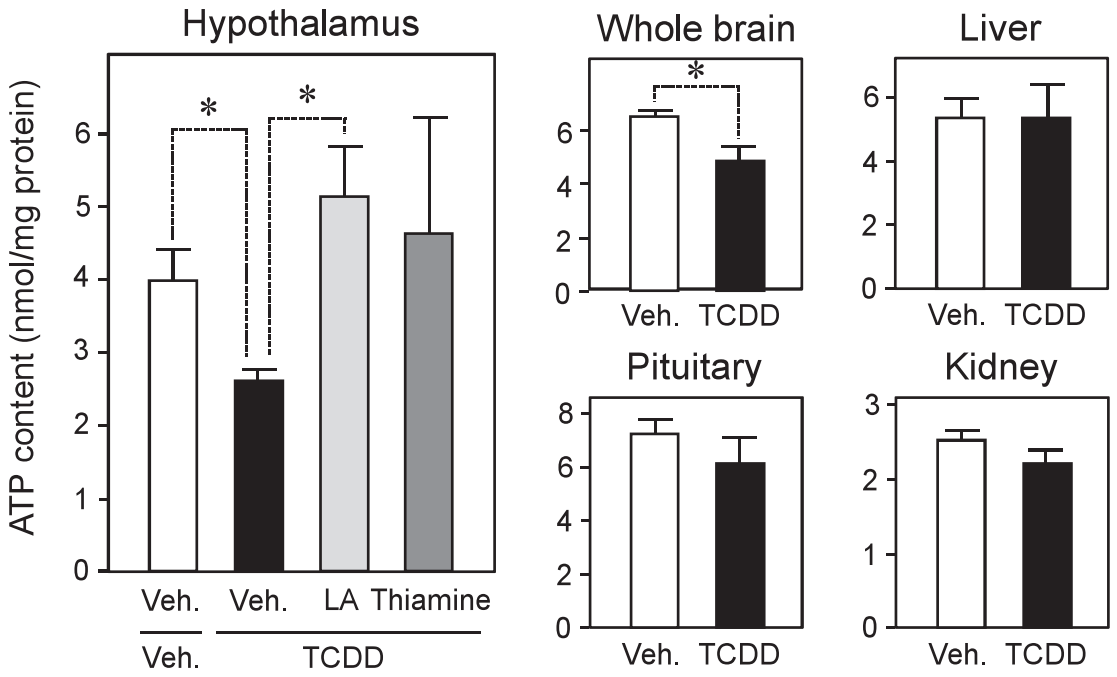


Fig. 1. Effect of maternal exposure to TCDD on the content of ATP in male fetal rats, and its recovery by α-lipoic acid and thiamine. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 5-6 fetuses which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated; *p<0.05. veh, vehicle; LA, α-lipoic acid.

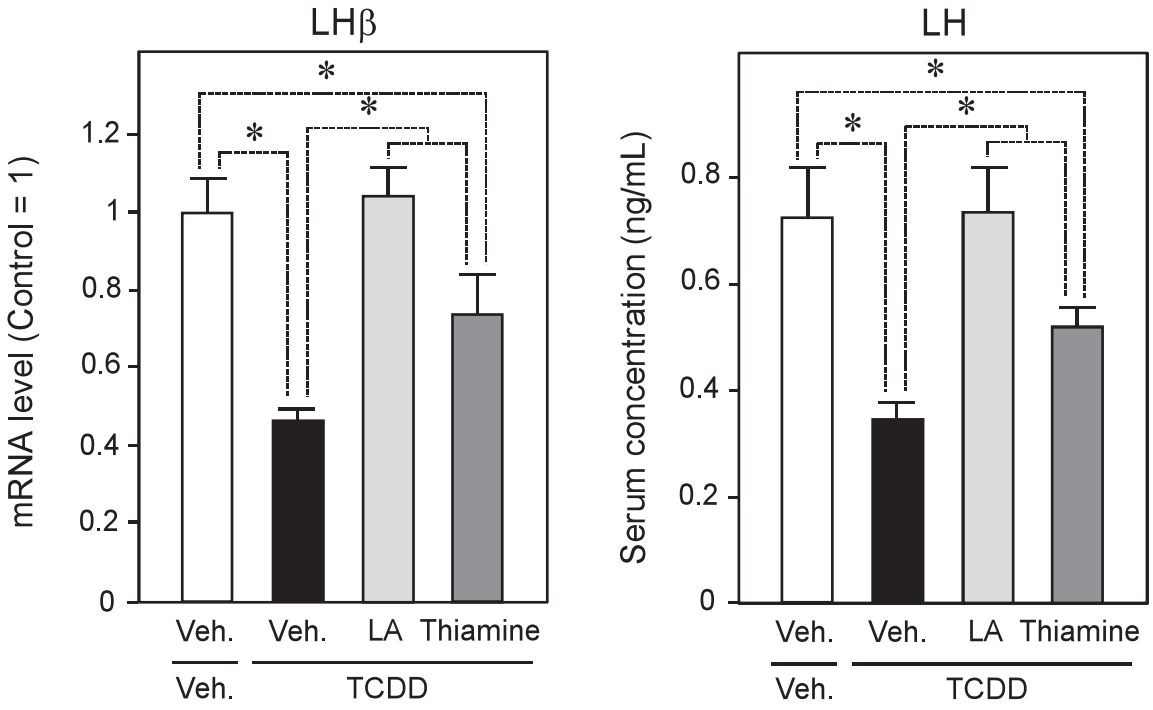


Fig. 2. Effect of maternal exposure to TCDD on pituitary expression of LHβ mRNA (A) and serum concentration of LH (B) in male fetal rats, and its recovery by α-lipoic acid and thiamine. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 5-6 fetuses which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated; *p<0.05.

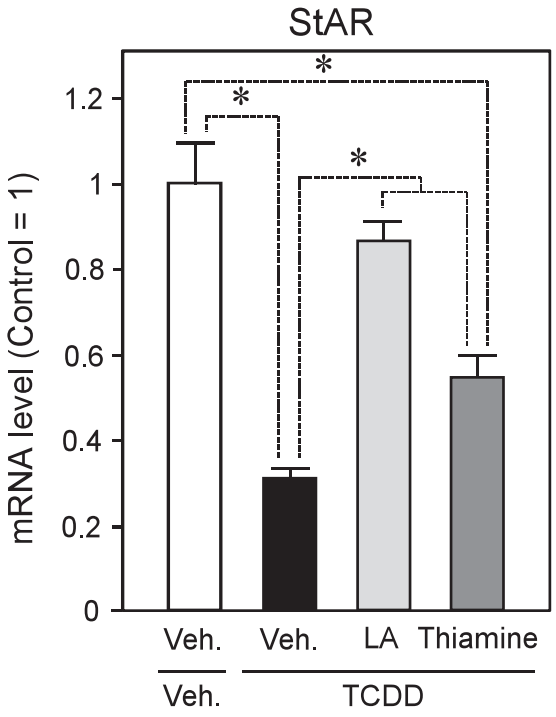


Fig. 3. Effect of maternal exposure to TCDD on testicular expression of StAR mRNA in male fetal rats, and its recovery by α-lipoic acid and thiamine. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 5-6 fetuses which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated; *p<0.05.

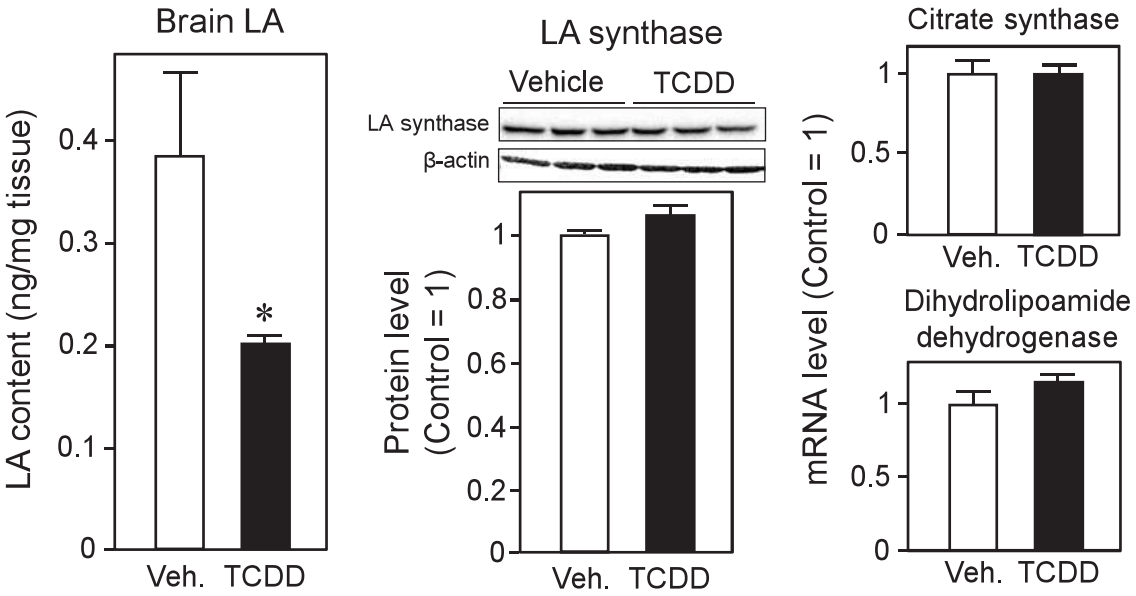


Fig. 4. Effect of maternal exposure to TCDD on the brain content of LA (A), and hypothalamic expression of LA synthase (B) and mRNAs coding for proteins associated with the citrate cycle (C) in male fetal rats. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 5-6 fetuses which were removed from different dams. Significantly different from the control; *p<0.1.

分担研究報告書

ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用の研究

研究分担者　吉村　惠　熊本保健科学大学大学院　教授
研究協力者　申　敏哲　熊本保健科学大学　准教授

研究要旨　ダイオキシンの経口投与によってラット末梢神経の太い有髄線維の伝導速度が選択的に抑制された。また、その作用は長期に渡り回復はあまり見られなかった。脊髄内での可塑的な変化は見いだし得なかった。

A．研究目的

カネミ油症患者の感覚鈍麻や麻痺とダイオキシンの関係を明らかにするため、神経活動に及ぼすダイオキシンの影響について解析した。また、その作用が長期に渡って持続するか、脊髄内の可塑的変化を伴うかを明らかにする。

B．研究方法

ダイオキシンをラットに経口投与し、7日後および１ヶ月後に後根神経節標本と脊髄スライス標本を作製した。後根神経節から記録を行い、末梢神経における伝導速度の相違を中・長期に検討した。次いで、脊髄スライスからパッチクランプ記録を行い、可塑的な変化が起こっているか否かを検討した。

（倫理面への配慮）

痲酔下に末梢神経を取り出すため、倫理的な問題は起こらないと考えられた。

C．研究結果

末梢神経の Aδおよび C 線維の伝導速度には変化はなかったが、Aβ 線維の伝導速度は低下を示した。この変化は１ヶ月後にも認められ長期に持続する傾向があった。脊髄内の感覚情報処理には明らかな変化は見いだすことができなかった。

D．考察

末梢神経、特に太い感覚神経の伝導速度の低下は感覚鈍麻やしびれと密接に関連している。それは正座時には太い線維から障害を受け、脚のしびれや感覚鈍麻を来す現象と類似することによる。これが患者における感覚鈍麻や痺れに関与している可能性が考えられる。この感覚異常は長期に渡って持続すること、脊髄内では可塑的な変化が見られないことから、末梢神経の伝導異常には、線維を取り巻く髄鞘における異常、例えば脱髄などの関与が考えられる。

E．結論

末梢神経の伝導速度の変化が油症患者の感覚鈍麻等と関連していることが示唆された。今後その原因として髄鞘の変化を調べる必要がある。

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

（予定を含む。）
１．特許取得
なし
２．実用新案登録
なし
３．その他
なし

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

【全国油症班が厚生労働科学研究費の補助を受けて刊行】
責任編集者　古江増隆,
福岡医学雑誌特集号「油症と PCB 及びダイオキシン関連化合物」研究報告第 24 集.
福岡医学雑誌, 104(4) : 71-169

古江増隆（厚生労働省全国油症治療研究班　班長）. 序言,
福岡医学雑誌 104(4) : 71-72, 2013

辻　博
油症における特異抗核抗体の検討.
福岡医学雑誌104(4):73-77, 2013

松本伸哉、赤羽学、神奈川芳行、梶原淳睦、内博史、古江増隆、今村知明.
油症患者におけるダイオキシン類異性体ごとの症状ならびに異性体間の濃度と半減期の関係、
福岡医学雑誌 104(4):78-84, 2013

内　博史、古江増隆.
油症患者における血清アディポカイン濃度に関する研究.
福岡医学雑誌104(4):85-87, 2013

鍬塚　大、小池雄太、清水和宏、宇谷厚志.
油症患者におけるIL-21、TGF-βの検討.
福岡医学雑誌104(4):88-90, 2013

小池雄太、鍬塚　大、清水和宏、宇谷厚志.
油症認定患者における制御性Ｔ細胞産生サイトカインIL-10、IL-35の検討.
福岡医学雑誌104(4):91-94, 2013

吉村俊朗、川崎涼子、吉村俊祐、宮崎禎一郎、向井晃弘、米澤武人 .
長崎県カネミ油症検診者の血清尿酸値.
福岡医学雑誌104(4):95-99, 2013

川崎五郎、吉富　泉、梅田正博.
油症患者における顎関節症に関する臨床的検討.
福岡医学雑誌104(4):100-103, 2013

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

梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、堀就英、安武大輔、宮脇崇、飛石和大、高尾佳子、平田輝昭、内博史、古江増隆.
血液中ダイオキシン，PCB 類濃度測定のクロスチェック.
福岡医学雑誌104(4):104-109, 2013

戸高尊、内博史、平川博仙、梶原淳睦、古江増隆.
油症患者血液中ダイオキシン類分析における新しい大量注入法の検討.
福岡医学雑誌104(4):110-117, 2013

戸高尊、内博史、平川博仙、高尾佳子、梶原淳睦、古江増隆.
2004 年から2010 年の期間における油症患者血液中ダイオキシン類濃度の推移.
福岡医学雑誌104(4):118-127, 2013

飛石和大、鈴木茂、戸高尊、平川博仙、堀就英、梶原淳睦、平田輝昭、飯田隆雄、内博史、古江増隆.
LC/MS/MS を用いた血液試料中の水酸化ポリ塩化ビフェニル（OH-PCBs）測定法の改良.
福岡医学雑誌104:128-134, 2013

飛石和大、鈴木茂、戸高尊、平川博仙、堀就英、梶原淳睦、平田輝昭、飯田隆雄、内博史、古江増隆.
2010 年度油症認定患者血液中の水酸化ポリ塩化ビフェニル（OH-PCBs）濃度.
福岡医学雑誌104(4):135-142, 2013

武田知己、服部友紀子、藤井美彩子、田浦順樹、石井祐次、山田英之.
ダイオキシン母体曝露による胎児副腎ステロイド合成系への影響と性差.
福岡医学雑誌104(4):143-151, 2013

堀就英、山本貴光、石黒靖尚、飯田隆雄、梶原淳睦、平田輝昭、内博史、古江増隆.
血液中PCB 異性体分離分析におけるアルカリ分解温度の検討.
福岡医学雑誌104(4):152-160, 2013

太田　千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸.
2,2,3,4,5,5-六塩素化ビフェニル（CB146）のin vitro代謝の動物種差.
福岡医学雑誌104(4):161-169, 2013

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】

Mitoma C, Mine Y, Utani A, Imafuku S, Muto M, Akimoto T, Furue M, Uchi H. Current skin symptoms of Yusho patients exposed to high levels of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran and polychlorinated biphenyls in 1968. Chemosphere in press

Liu G, Asanoma K, Takao T, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Kato K, Wake N. Aryl hydrocarbon receptor SNP-130 C/T associates with dioxins susceptibility through regulating its receptor activity and downstream effectors including interleukin 24. Toxicol lett 2015 Jan; 232(2): 384-392.

Kenjiro Takei, Chikage Mitoma, Akiko Hashimoto-Hachiya, Hiroshi Uchi, Masakazu Takahara, Gaku Tsuji, Makiko Kido-Nakahara, Takeshi Nakahara, Masutaka Furue. Antioxidant soybean tar Glyteer® rescues Th2-mediated downregulation of filaggrin expression via aryl hydrocarbon receptor.
J Dermatol in press

Kenjiro Takei, Chikage Mitoma, Akiko Hashimoto-Hachiya, Masakazu Takahara, Gaku Tsuji, Takeshi Nakahara, Masutaka Furue. Galactomyces ferment filtrate prevents Th2-mediated reduction of filaggrin in an aryl hydrocarbon receptor-dependent manner. Clin Exp Dermatol in press

Taura J, Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Ishii Y, Kuroki H, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Yamada H. 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran is far less potent than 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in disrupting the pituitary-gonad axis of the rat fetus. Toxicol Appl Pharmacol. 2014 Sep 16. pii: S0041-008X(14)00326-3. doi: 10.1016/j.taap.2014.09.001.

Onozuka D, Hirata T, Furue M. Net survival after exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins: The Yusho study. Environ Int. 2014 Dec;73:28-32.

Furue M, Takahara M, Nakahara T, Uchi H. Role of AhR/ARNT system in skin homeostasis. Arch Dermatol Res. 2014 Nov;306(9):769-79.

Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Shi W, Furue M. Resveratrol inhibition of human keratinocyte proliferation via SIRT1/ARNT/ERK dependent downregulation of aquaporin 3. J Dermatol Sci. 2014 Jul;75(1):16-23.

Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Nakamura-Satomura A, Kita K, Shi W, Furue M. Z-Ligustilide inhibits benzo(a)pyrene-induced CYP1A1 upregulation in cultured human keratinocytes via ROS-dependent Nrf2 activation. Exp Dermatol. 2014 Apr;23(4):260-5.

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

Kuwatsuka Y, Shimizu K, Akiyama Y, Koike Y, Ogawa F, Furue M, Utani A. Yusho patients show increased serum IL-17, IL-23, IL-1β, and TNFα levels more than 40 years after accidental polychlorinated biphenyl poisoning. J Immunotoxicol. 2014 Jul-Sep;11(3):246-9.

三苫千景、内　博史、古江増隆. 油症の診断と最新の知見. 食品衛生研究 64(11): 15-21, 2014

Kohda F, Takahara M, Hachiya A, Takei K, Tsuji G, Yamamura K, Furue M. Decrease of reactive oxygen species and reciprocal increase of nitric oxide in human dermal endothelial cells by Bidens pilosa extract: a possible explanation of its beneficial effect on livedo vasculopathy. J Dermatol Sci. 2013 Oct;72(1):75-7.

Morino-Koga S, Uchi H, Tsuji G, Takahara M, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Reduction of CC-chemokine ligand 5 by aryl hydrocarbon receptor ligands. J Dermatol Sci. 2013 Oct;72(1):9-15.

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Imamura T. Individuals' half-lives for 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood: Correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. Chemosphere. 2013 Aug;92(7):772-7.

Tsujimoto S, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Onomura Y, Tsukimori K, Takechi S, Yamaguchi T, Uchi H, Suzuki SO, Yamamoto M, Himeno M, Furue M, Yamada H. Selenium-binding protein 1: Its physiological function, dependence on aryl hydrocarbon receptors, and role in wasting syndrome by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Biochim Biophys Acta. 2013 Jun;1830(6):3616-24

Li D, Takao T, Tsunematsu R, Morokuma S, Fukushima K, Kobayashi H, Saito T, Furue M, Wake N, Asanoma K. Inhibition of AHR transcription by NF1C is affected by a single-nucleotide polymorphism, and is involved in suppression of human uterine endometrial cancer. 2013 Oct 10;32(41):4950-9.

Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: association with fetal Yusho disease. Chemosphere. 2013 Feb;90(5):1581-8.

松本伸哉、赤羽学、神奈川芳行、梶原淳睦、内博史、古江増隆、今村知明、油症患者におけるダイオキシン類異性体ごとの症状ならびに異性体間の濃度と半減期の関係、福岡医学雑誌104:78-84, 2013

梶原淳睦、戸髙尊、平川博仙、堀就英、安武大輔、宮脇崇、飛石和大、高尾佳子、平田輝昭、内博史、古江増隆、血液中ダイオキシン，PCB 類濃度測定のクロスチェック、福岡医学雑誌104:104-109, 2013

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

戸高尊、内博史、平川博仙、梶原淳睦、古江増隆、油症患者血液中ダイオキシン類分析における新しい大量注入法の検討、福岡医学雑誌104:110-117, 2013

戸高尊、内博史、平川博仙、高尾佳子、梶原淳睦、古江増隆、2004 年から2010 年の期間における油症患者血液中ダイオキシン類濃度の推移、戸髙尊・内博史・平川博仙、福岡医学雑誌104:118-127, 2013

飛石和大、鈴木茂、戸高尊、平川博仙、堀就英、梶原淳睦、平田輝昭、飯田隆雄、内博史、古江増隆、LC/MS/MS を用いた血液試料中の水酸化ポリ塩化ビフェニル（OH-PCBs）測定法の改良、福岡医学雑誌104:128-134, 2013

飛石和大、鈴木茂、戸高尊、平川博仙、堀就英、梶原淳睦、平田輝昭、飯田隆雄、内博史、古江増隆、2010 年度油症認定患者血液中の水酸化ポリ塩化ビフェニル（OH-PCBs）濃度、福岡医学雑誌104:135-142, 2013

堀就英、山本貴光、石黒靖尚、飯田隆雄、梶原淳睦、平田輝昭、内博史、古江増隆、血液中PCB 異性体分離分析におけるアルカリ分解温度の検討、福岡医学雑誌104:152-160, 2013

Koga T, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Uchi H, Tsukimori K, Yamamoto M, Himeno M, Furue M, Yamada H. Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with α-lipoic acid. PLoS One. 2012;7(7):e40322..

Chiba T, Chihara J, Furue M. Role of the Arylhydrocarbon Receptor (AhR) in the Pathology of Asthma and COPD. J Allergy (Cairo). 2012;2012:372384.

Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Morokuma S. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. Epidemiology. 2012 Mar;23(2):349-50.

Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Onozuka D, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from pregnant women in Sapporo City, Japan. Chemosphere. 2011 Dec;85(11):1694-700.

Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M. Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. Environ Int. 2012 Jan;38(1):79-86.

Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Matsuda T, Chiba T, Takeuchi S, Yasukawa F, Moroi Y, Furue M. Identification of ketoconazole as an AhR-Nrf2 activator in cultured human keratinocytes: the basis of its anti-inflammatory effect. J Invest Dermatol. 2012 Jan;132(1):59-68.

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

Uchi H, Yasukawa F, Kiryu H, Hashimoto K, Furue M. Infundibular cyst with seborrheic verruca-like cyst walls in a patient with Yusho disease exposed to dioxins. Eur J Dermatol. 2012 Oct 1;22(5):687-8.

【赤羽　学】

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Imamura T. Individuals' half-lives for 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood: Correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. Chemosphere. 2013 Aug;92(7):772-7. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.04.005. Epub 2013 May 4.

Shinya Matsumoto, Manabu Akahane, Yoshiyuki Kanagawa, Jumboku Kajiwara, Hiroshi Uchi, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura :DISTRIBUTION OF PENTA-CHLORODIBENZOFURAN (PECDF) HALF LIFES IN YUSHO PATIENTS. The 33th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants and POPs (Dioxin 2013) August 25-30, 2013 Daegu, Korea

松本伸哉、赤羽学、神奈川芳行、梶原淳睦、内博史、古江増隆、今村知明.　油症患者におけるダイオキシン類異性体ごとの症状ならびに異性体間の濃度と半減期の関係　福岡医学雑誌.　第 104 巻、4 号、78-84、2013.

【内　博史】

Takei K, Mitoma C, Hashimoto-Hachiya A, Uchi H, Takahara M, Tsuji G, Kido-Nakahara M, Nakahara T, Furue M. Antioxidant soybean tar Glyteer® rescues Th2-mediated downregulation of filaggrin expression via aryl hydrocarbon receptor.
J Dermatol in press

Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Shi W, Furue M. Resveratrol inhibition of human keratinocyte proliferation via SIRT1/ARNT/ERK dependent downregulation of aquaporin 3. J Dermatol Sci. 2014 Jul; 75(1):16-23.

Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Nakamura-Satomura A, Kita K, Shi W, Furue M. Z-Ligustilide inhibits benzo(a)pyrene-induced CYP1A1 upregulation in cultured human keratinocytes via ROS-dependent Nrf2 activation. Exp Dermatol. 2014 Apr;23(4):260-5.

Morino-Koga S, Uchi H, Tsuji G, Takahara M, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Reduction of CC-chemokine ligand 5 by aryl hydrocarbon receptor ligands. J Dermatol Sci. 2013 Oct;72(1):9-15.

Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: association with fetal Yusho disease. Chemosphere. 2013 Feb;90(5):1581-8.

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

Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Morokuma S. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. Epidemiology. 2012 Mar;23(2):349-50.

Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M. Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. Environ Int. 2012 Jan;38(1):79-86.

Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Matsuda T, Chiba T, Takeuchi S, Yasukawa F, Moroi Y, Furue M. Identification of ketoconazole as an AhR-Nrf2 activator in cultured human keratinocytes: the basis of its anti-inflammatory effect. J Invest Dermatol. 2012 Jan;132(1):59-68.

Uchi H, Yasukawa F, Kiryu H, Hashimoto K, Furue M. Infundibular cyst with seborrheic verruca-like cyst walls in a patient with Yusho disease exposed to dioxins. Eur J Dermatol. 2012 Oct 1;22(5):687-8.

内　博史　油症の現況と慢性ダイオキシン類中毒の治療.　西日本皮膚科 76(6): 535-539, 2014

【平田　輝明（福岡県保健環境研究所）】

Onozuka Daisuke. Hirata Teruaki. Furue Masutaka. Net survival after exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins: the Yusho study. Environ Int. 73. 28-32. 2014.

Miyawaki T, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H, Furue M. Polychlorinated biphenyls concentrations in blood of Yusho patients during medical check-ups performed in 2012. Organohalogen Compounds. 76. 1457-1459. 2014.

Jumboku Kajiwara, Takashi Todaka, Hironori Hirakawa, Takashi Miyawaki, Tamiko Ikeno, Cihiro Miyasita, Sachiko Itoh, Seiko Sasaki, Reiko KIshi, Masutaka Furue. Dioxins and PCBs concentrations in umbilical cord blood collected in Hokkaidou, Japan. Organohalogen Compounds. 76. 1481-1484. 2014.

Hori Tsuguhide, Takashi Miyawaki, Koji Takahashi, Daisuke Yasutake, Takamitsu Yamamoto, Jumboku Kajiwara, Takahiro Watanabe. Concentration of Dechlorane Plus in fish samples collected in Kyushu district, western Japan. Organohalogen Compounds.76. 900-903. 2014.

Koji Takahashi, Tsuguhide Hori, Jumboku Kajiwara, Takahiro Watanabe. Determination of hexabromocyclododecane in fish samples collected from Japanese markets. Organohalogen Compounds. 76. 930-933. 2014.

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

Kiyomi Tsukimori, Hirohi Uchi, Shouji Tokunaga , Fumiko Yasukawa, Takahiro Chiba, Jumboku Kajiwara, Teruakai Hirata, Masutake Furue, et al. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: Association with fetal Yusho disease. Chemosphere. 90(5). 1581-1588. 2013.

Morino-Koga S, Uchi H, Tsuji G, Takahara M, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Reduction of CC-chemokine ligand 5 by aryl hydrocarbon receptor ligands. J Dermatol Sci. 72(1). 9-15. 2013.

梶原淳睦. 戸高　尊. 平川博仙. 堀　就英. 安武大輔. 宮脇　崇. 飛石和大. 高尾佳子. 平田輝昭. 内　博史. 古江増隆. 血液中ダイオキシン、PCB濃度測定のクロスチェック. 福岡医学雑誌.　104(4). 104-109. 2013.

Tobiishi K, Suzuki S, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Iida T, Uchi H, Furue M. Improvement of measurement method for hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in blood samples using LC/MS/MS. Fukuoka Igaku Zasshi. 104(4). 128-135. 2013.

Tobiishi K, Suzuki S, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Iida T, Uchi H, Furue M. Concentration of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of Yusho patients in 2010. Fukuoka Igaku Zasshi. 104(4). 136-142. 2013.

堀　就英. 山本貴光. 石黒靖尚. 飯田隆雄. 梶原淳睦. 平田輝昭. 内　博史. 古江増隆. 血液中PCB異性体分離分析におけるアルカリ分解温度の検討. 福岡医学雑誌. 104(4). 152-160. 2013.

Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. Organohalogen Compounds. 74, 763-766. 2012.

Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M, et al. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant wpman by LC/MS/MS. Organohalogen Compounds. 74. 43-45. 2012.

Miyawaki T, Hori T, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H, Furue M : CONCENTRATIONS OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS COLLECTED FROM MEDICAL CHECK-UPS IN 2010. Organohalogen Compounds. 74. 885-887. 2012.

Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M, et al. Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. Environ Int. 38(1). 79-86. 2012.

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

【吉村　健清】

二塚信，吉村健清.
食品汚染による中毒の認定をめぐる最近の動向－水俣病・カネミ油症.
医学のあゆみ，244 (10)：941-943，2013.

Takesumi Yoshimura.
Yusho: 43 years later.
Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 28 (2), S49-S52, 2012.

Pham TM, Ozasa K, Kubo T, Fujino Y, Sakata R, Grant EJ, Matsuda S, Yoshimura T.
Age-Period-Cohort Analysis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Mortality in Japan, 1950-2004.
J Epidemiol. 22(4):302-7, 2012.

吉村健清.
EBM と臨床研究－疫学の役割－.
JOHNS, Feb;28(2):156-158, 2012.

Tsukimori,T.,Uchi,H.,Mitoma,C.,Yasukawa,F.,Chiba,T.,Todaka,T.,Kajiwara,J.,Yoshimura ,T.,Hirata,T.,
Fukushima,K.,Wake,N.,Furue,M.
Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease.
Environmental International, 38;79-86, 2012.

【古賀 信幸】

C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, O. Kimura, and N. Koga, Distribution and excretion of 2,2′,3,4′,5,5′,6-heptachlorobiphenyl (CB187) and its metabolites in rats and guinea pigs.Chemosphere, 118, 5-11 (2015).

O. Kimura,C. Ohta, N. Koga, K. Haraguchi, Y. Kato, andT. Endo, Carrier-mediated uptake of nobiletin, a citrus polymethoxyflavonoid, in human intestinal Caco-2 cells. Food Chem., **154**, 145-150 (2014).

C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo,N. Koga,The participation of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101).*Organohalogen Compounds*, **76**, 466-469(2014).

Y. Kato, K. Haraguchi, M. Onishi, S. Ikushiro, T. Endo, C. Ohta, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa, 3,3',4,4'-Tetrachlorobipheny-mediated decrease of serum thyroxine level in C57BL/6 and DBA/2 mice occurs mainly through enhanced accumulation of thyroxine in the liver. Biol. Pharm. Bull., **37**, 504-509 (2014).

Y. Kato, M. Onishi, K. Haraguchi, S. Ikushiro, C. Ohta, N. Koga, T. Endo, S. Yamada and M. Degawa, A possible mechanism for 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice. Biol. Pharm. Bull., **36**(10), 1594-1601 (2013).

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

C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, O. Kimura,N. Koga, In vitro metabolism of 2,2',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB99) by rat and guinea pig liver microsomes. *Organohalogen Compounds*, **75**,587-590(2013).

太田千穂，原口浩一，加藤善久，遠藤哲也，古賀信幸，2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル(CB146)の in vitro 代謝の動物種差．福岡医誌，**104**(4)，161-169 (2013).

C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo and N. Koga,Involvement of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149). *Organohalogen Compounds*, **74**,1475-1478(2012).

Y. Kato, S. Tamaki, K. Haraguchi, S. Ikushiro, M. Sekimoto, C. Ohta, T. Endo, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa,2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl-mediated inhibition of a serum T_4-transthyretin complex formation is one of causes for the PCB-induced changes in the serum and hepatic T_4 levels in mice. *Organohalogen Compounds*, **74**,1377-1380(2012).

【月森 清巳】

Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T, Furue M.Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: association with fetal Yusho disease. Chemosphere. 90(5):1581-8, 2013.

Tsukimori K, Morokuma S, Hori T, Takahashi K, Hirata T, Otera Y, Fukushima K, Kawamoto T, Wake N. Characterization of placental transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in normal pregnancy. J Obstet Gynaecol Res. 39(1):83-90, 2013.

Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Morokuma S. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. Epidemiology. 23(2):349-50, 2012.

Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M. Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. Environ Int. 38(1):79-86, 2012.

【辻 博】

辻 博：油症における特異抗核抗体の検討．福岡医学雑誌 104：73-77, 2013.

【山田 英之】

Hattori Y., Takeda T., Fujii M., Taura J., Ishii Y., Yamada H. Dioxin-induced fetal growth retardation: the role of a preceding attenuation in the circulating level of glucocorticoid. Endocrine, 47: 572-580, 2014.

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

Taura J., Takeda T., Fujii M., Hattori Y., Ishii Y., Kuroki H., Tsukimori K., Uchi H., Furue M., Yamada H. 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran is far less potent than 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in disrupting the pituitary-gonad axis of the rat fetus. Toxicol. Appl. Pharmacol., 281: 48-57, 2014.

Takeda T., Taura J., Hattori Y., Ishii Y., Yamada H. Dioxin-induced retardation of development through a reduction in the expression of pituitary hormones and possible involvement of an aryl hydrocarbon receptor in this defect: a comparative study using two strains of mice with different sensitivities to dioxin. Toxicol. Appl. Pharmacol., 278: 220-229, 2014.

Takeda T., Fujii M., Hattori Y., Yamamoto M., Shimazoe T., Ishii Y., Himeno M., Yamada H.
Maternal exposure to dioxin imprints sexual immaturity of the pups through fixing the status of the reduced expression of expression of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. Mol. Pharmacol., 85: 74-82, 2014.

武田知起，服部友紀子，藤井美彩紀，田浦順樹，石井祐次，山田英之.
ダイオキシン母体曝露による胎児副腎ステロイド合成系への影響と性差. 福岡医学雑誌，104 (4): 143-151, 2013.

Tsujimoto S, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Onomura Y, Tsukimori K, Takechi S, Yamaguchi T, Uchi H, Suzuki SO, Yamamoto M, Himeno M, Furue M, Yamada H. Selenium-binding protein 1: its physiological function, dependence on aryl hydrocarbon receptors, and role in wasting syndrome by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin.
Biochim. Biophys. Acta, 1830: 3616-3624, 2013.

Koga T., Ishida T., Takeda T., Ishii Y., Uchi H., Tsukimori K., Yamamoto M., Himeno M., Furue M., Yamada H. Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with α-lipoic acid. PLoS ONE, 7: e40322, 2012.

Takeda T., Fujii M., Taura J., Ishii Y., Yamada H. Dioxin silences gonadotropin expression in perinatal pups by inducing histone deacetylases: a new insight into the mechanism for the imprinting of sexual immaturity by dioxin. J. Biol. Chem., 287: 18440-18450, 2012.

【宇谷 厚志】

Kuwatsuka Y, Shimizu K, Akiyama Y, Koike Y, Ogawa F, Furue M, Utani A: Yusho patients show increased serum IL-17, IL-23, IL-1beta, and TNFalpha levels more than 40 years after accidental polychlorinated biphenyl poisoning. ***J Immunotoxicol*** 11(3): 246-249, 2014.