平成 28 年度厚生労働行政推進調査事業費
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 28 年度　　総括・分担研究報告書

研究代表者　古江　増隆

平成 29（2017）年 3 月

平成 28 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２８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　公衆衛生学講座　准教授）

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）

今福　信一　（福岡大学医学部皮膚科　教授）

上松　聖典　（長崎大学病院眼科　講師）

内　博史　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　准教授）

江崎　幹宏　（九州大学大学院病態機能内科学　講師）

香月　進　（福岡県保健環境研究所　所長）

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）

申　敏哲　（熊本保健科学大学リハビリテーション学科　准教授）

園田　康平　（九州大学大学院医学研究院眼科学分野　教授）

竹中　基　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 准教授）

月森　清巳　（福岡市立こども病院　周産期センター長）

辻　博　（西日本短期大学社会福祉学科　特任教授）

戸高　尊　（公益財団法人北九州生活科学センター　室長）

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 衛生・公衆衛生学分野　教授）

福士　純一　（九州大学病院整形外科　助教）

三苫　千景　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　准教授）

山下　謙一郎　（九州大学病院神経内科　診療講師）

（五十音順）

研究協力者

今村　知明　（奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　教授）
今地　政美　（公益財団法人北九州生活科学センター　理事長）
上原口　奈美　（公益財団法人北九州生活科学センター　検査員）
大久保　佑美　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　助教）
太田　千穂　（中村学園大学栄養科学部　講師）
梶原　淳睦　（福岡県保健環境研究所　保健科学部長）
加藤　聖子　（九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学　教授）
神奈川　芳行　（奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　非常勤講師）
貝沼　茂三郎　（九州大学大学院医学研究院地域医療教育ユニット　准教授）
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）
河本　五月　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　看護師）
小木曽　俊孝　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）
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）
高尾　佳子　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　研究院）
高橋　浩司　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　専門研究員）
田中　義人　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　課長）
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　専門研究員）
富村　沙織　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 助教）
中西　加奈子　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）
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　周作　（福岡県保健環境研究所　廃棄物課　主任技師）
平川　博仙　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　専門研究員）
広瀬　勇気　（公益財団法人北九州生活科学センター　検査員）
福島　直　（公益財団法人北九州生活科学センター　理事）
堀　就英　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　生活化学課長）
松本　伸哉　（奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　博士研究員）
前畠　裕司　（九州大学大学院病態機能内科学　助教）
宮崎　昭行　（医療法人　山内診療所　診療所長）
宮脇　崇　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　研究員）
諸隈　誠一　（九州大学環境発達医学研究センター　特任准教授）
安武　大輔　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　研究員）
柳原　豊史　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　助教）
吉村　惠　（直方中村病院）

（五十音順）

目　　次

Ⅰ．平成 28 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…… 1
研究代表者　古江 増隆

Ⅱ．平成 28 年度分担研究報告書

01. 油症検診データを用いた基礎的解析……11
研究分担者　香月　進
研究協力者　田中　義人，新谷　俊二，高尾　佳子，梶原　淳睦

02. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査……20
研究分担者　香月　進
研究協力者　梶原　淳睦，堀　就英，平川　博仙，安武　大輔，
新谷　依子，小木曽　俊孝，中西　加奈子，竹中　重幸，
高橋　浩司，塚谷　裕子，宮脇　崇，田中　義人，
新谷　俊二，高尾　佳子，世良　暢之，平川　周作

03. 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
疾病マーカーの関係の検討……34
研究分担者　二宮 利治

04. 福岡県久山町に在住する地域住民 495 名の血液中ダイオキシン類
およびポリ塩化ビフェニール濃度……41
研究分担者　戸高　尊
研究協力者　広瀬　勇気，上原口　奈美，福島　直，今地　政美

05. 桂枝茯苓丸臨床試験の結果報告―第一報―……47
研究分担者　三苫　千景，今福　信一
研究協力者　貝沼　茂三郎，宮崎　昭行

06. 油症患者におけるロコモティブシンドロームの合併……53
研究分担者　福士　純一
研究協力者　河本　五月

07. 食品を介したダイオキシン類等の人体眼部への影響に関する研究……58
研究分担者　園田　康平

08. 油症検診受診者における黄斑疾患……60
研究分担者　上松　聖典
研究協力者　北岡　隆

09. 油症検診における口腔カンジダの発現に関する研究……63
研究分担者　川崎　五郎

10. 油症における甲状腺自己抗体に関する研究……66
研究分担者　辻　博

11. カネミ油症患者における全脳での脳機能的結合変化の検出法の開発に関する研究……71
研究分担者　村井　弘之　（平成 28 年 4 月～12 月）
山下　謙一郎（平成 29 年 1 月～3 月）

12. 長崎県油症認定患者における IL-12 と IFN-γの検討……73
研究分担者　宇谷　厚志（平成 28 年 4 月～11 月）
竹中　基　（平成 28 年 11 月～平成 29 年 3 月）
研究協力者　大久保　佑美

13. 油症認定患者における soluble CD26/DPP-4 の検討……77
研究分担者　宇谷　厚志（平成 28 年 4 月～11 月）
竹中　基　（平成 28 年 11 月～平成 29 年 3 月）
研究協力者　富村　沙織

14. カネミ油症患者の低濃度患者における 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度の変化（半減期）と半減期の変化に関する研究…… 81
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

15. 油症曝露による継世代健康影響に関する研究 - 油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と男児出生割合との関連- ……89
研究分担者　月森　清巳
研究協力者　加藤　聖子，諸隈　誠一

16. ダイオキシン類によるマウス肺障害の経時的変化に関する検討……96
研究分担者　中西　洋一
研究協力者　濵田　直樹，柳原　豊史

17. ﾍﾞﾝｿﾞﾋﾟﾚﾝの末梢神経および脊髄感覚系ｼﾅﾌﾟｽ伝達に及ぼす作用に関する研究……102
研究分担者　申　敏哲
研究協力者　吉村　恵

18. Helicobacter pylori 除菌後の胃癌発生に対する
activation-induced cytidine deaminase およびダイオキシンの関与……107
研究分担者　江崎　幹宏
研究協力者　前畠　裕司

19. 桂皮およびシンナムアルデヒドの効果について……110
研究分担者　内　博史

20. 2,2',3,4',4,5,6'-七塩素化ビフェニル(PCB182)のラット、モルモット
およびヒト肝ミクロゾームによる代謝……116
研究分担者　古賀　信幸
研究協力者　太田　千穂

21. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin の子育て能力への影響
およびその機構解析……124
研究分担者　石井　祐次
研究協力者　武田　知起

22. 2 2,3,7,8-Tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin の生体影響と
ダイオキシンに対する拮抗作用……132
研究分担者　石井　祐次
研究協力者　武田　知起

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表……140

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　油症は人類がpolychlorinated biphenyl (PCB)と多種のダイオキシン類化合物を経口摂取した生じた混合中毒である。2002年度の全国検診時より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が制定された。また2012年12月に同居家族認定者に関する条件を追補した。

臨床追跡・疫学的調査では、油症患者（以下、患者）の現在の症状を把握し、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に及ぼす慢性の影響について検証した。平成27年度に実施した地域住民495名における断面調査結果のデータ化を行い、血液中PCB、ダイオキシン類濃度の測定を終了した。また桂枝茯苓丸の臨床試験の結果を解析した。基礎的研究では、体内に残存するダイオキシン類の生体内動態を患者血液検体、および実験動物の検証にて把握し、治療につながる化合物の探索を継続した。

まず、臨床追跡・疫学的調査では、平成 27、28 年度油症一斉検診受診者の検診結果を収集、管理し、その所見を把握した。歯科や眼科検診では油症に特徴的な所見の有症率について検討した。血液中PCB/ダイオキシン類濃度の継時的変化について解析した。患者の甲状腺自己抗体の陽性率や免疫機能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。油症患者におけるロコモティブシンドロームの合併について検証した。患者における異常感覚/認知機能障害と脳機能的結合変化の関連を検証する検査法を確立した。油症患者血清中のサイトカイン濃度を測定し免疫機能の変調を検証した。2,3,4,7,8-PeCDF の濃度別、生年別に、濃度の変化率（半減期）と半減期の変化について検証した。ダイオキシン類の継世代への影響を明らかにすべく、正常妊娠を対象としてダイオキシン類の胎盤を介する胎児への移行を検証し、胎児におけるダイオキシン類の排泄経路の特徴を明らかにした。

基礎的研究では、1)ダイオキシン類によるマウス肺障害の経時的変化に関する検討、2)末梢神経伝導速度に対するベンゾピレンの影響の検証、3)*Helicobactoer pylori* 除菌後の胃癌発生に対する activation-induced cytidine deaminase およびダイオキシンの関与の研究、4)桂皮およびシンナムアルデヒドの効果についての検証、5)2,2',3,4',4,5,6'-七塩素化ビフェニル(PCB182)のラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾームによる代謝の検証、6)2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin の子育て能力への影響およびその機構解析、7)2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin の生体影響とダイオキシンに対する拮抗作用を解析した。

今年度も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パンフレット、油症新聞、ホームページに掲載して患者に広報している。

A. 研究目的

PCB とダイオキシン類化合物（以下、ダイオキシン類）の混合中毒である油症が発生して 48 年が経過した。油症は多数の住民が PCB とダイオキシン類を経口摂取した、人類史上きわめてまれな事例である。生体内に長期間残存するダイオキシン類が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血液中に微量に存在する polychlorinated dibenzofuran（PCDF）異性体の測定が始まり 15 年が経過した。健康実態調査、検診結果を対照群と比較し、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検証する。さらに、油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と次世代・次々世代における男児出生割合との関連について検討する。

基礎的研究では、培養細胞や実験動物を用いてダイオキシン類が生体に与える影響を明らかにすると同時に、様々な症状を緩和する薬剤の探索を継続する。

（倫理面に対する配慮）

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

B. 研究方法

<u>I.班長が担当する研究</u>

1. 班長は、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター（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・相談支援員制度

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. 死因・次世代調査

ダイオキシンの生体への影響、継世代への影響を検証する。

6. 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。

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。

9. 臨床試験の実施

油症患者の様々な症状を軽減するために漢方方剤の臨床試験を施行する。

10. 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。

11. 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患者に伝達する。また、患者集会で説明をする。

Ⅱ. 九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究

1. 検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法を用いて解析し、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 PCB、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. 福岡県久山町の地域住民対象に行った環境調査に協力し、一般対照群と患者の疾患、症状、血液中ダイオキシン類濃度を比較し、ダイオキシン類の慢性影響を明確にする。

4. 油症の継世代に及ぼす影響に関する検討を行う。

5. PCB やダイオキシン類の体内動態を明らかにする。

6. 基礎的研究では、PCB やダイオキシン類の慢性毒性の解明およびダイオキシン類の毒性を緩和しうる薬剤の探索を行う。

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 年に開始した油症相談員事業を継続した。

2. 油症相談支援員制度

平成 28 年、患者数の多い自治体に相談支援員を、九州大学病院に総括 1 名を配置した。電話応対、検診時の面談を行い、患者の健康上の悩みなどを共有した。得られた情報は自治体、医療機関、油症班と共有した。

3. 情報の提示

パンフレットの作成、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広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 にそれぞれ掲載した。

4. 患者の実態把握と情報発信に関する研究

今年度の油症研究班の成果を患者団体に公表し、意見、要望を伺った。また、意見を基

に次年度の健康実態調査票の改善を行った。

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

平成 27 年度、久山町の地域住民 495 人に対して実施した断面調査のデータの整備、データセット化を行った。また、対象者から得られた血液サンプルを用いて、血中ダイオキシン類濃度の測定を行い、平成 28 年 11 月 30 日に全検体(495 検体)の測定を終了し、データのデータクレンジングを実施後、全調査結果のデータセット化を予定通り完了した。地域住民 495 人における 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid であった。

6. 福岡県久山町に在住する地域住民 495 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度

平成 27 年度、福岡県久山町に在住する地域住民 495 名を対象に行った検診で採取した血液検体の、血液中総ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール(PCB)濃度を測定した。平均濃度はそれぞれ 24 pg TEQ/g lipid、214 pg/g lipid であった。今回得られた 495 名中、60 歳以上の 314 名(平均年齢 69 歳)の平均濃度を、平成 16 年度に行った那珂川町在住 127 名(平均年齢 68 歳)の測定値と比較した結果、ダイオキシン類濃度で 20%および PCB 濃度で 40%低い濃度であった。

7. 桂枝茯苓丸の効果に関する研究

平成27年7月から28年3月にかけて九州大学病院、長崎県五島中央病院の油症外来で52名の油症患者を対象に桂枝茯苓丸内服による臨床試験を実施した。3ヵ月間の臨床試験を完遂した42名において桂枝茯苓丸内服前後でVAS、QOLを解析したところ、全身倦怠感、皮膚症状において統計学的に有意に改善がみられた。

8. 油症患者におけるロコモティブシンドロームの合併

平成28年度の福岡県油症一斉検診受診者において、ロコチェック質問票を用いてロコモティブシンドローム(ロコモ)の合併を調査した。過半数の受診者において、ロコモの合併が疑われた。ロコチェック該当数とダイオキシン類濃度との間には明らかな関連を認めなかった。

9. 油症患者検診結果

平成 27 年度に実施された油症検診における検診票を収集し集計を行った。検診受診者は 644 名で、50 歳以上が全体の 86.5%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 73.4%であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が 74.6%と最も高かった。

10. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査

油症一斉検診受診者の中で希望者を対象に血液中ダイオキシン類濃度を測定した。平成 27 年度(2015 年)の測定対象は未認定者 116 名、認定患者 104 名であった。認定患者の平均総 TEQ(WHO2005)は 64 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 94 pg/g lipid であった。平成 13～27 年の 15 年間に血液中ダイオキシン類検査を実施した認定患者の実数は 941 名で、これは認定患者 2,289 名(平成 28 年 3 月 31 日現在)の約 41%に相当する。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 120 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 2.8－1,800 pg/g lipid と広範囲であるが、約 57%の患者は 50 pg/g

lipid 未満であった。平成 25～27 年に同居家族認定者 88 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 29 pg/g lipid で一般人に近い値であった。平成 13～27 年に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 757 名の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 24 pg/g lipid であり、一般住民とほぼ同じ値だった。

11. 油症患者における眼科的所見

平成 28 年度福岡県一斉検診における眼科受診者 223 名を対象に、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 つの眼科的所見を検討した。その結果、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を認めるものも少数見られた。また、平成 28 年度長崎県検診を受診した 195 名を対象に、酸化ストレス等が原因になるとされる加齢黄斑変性の有無について検証した。その結果、検診受診者 195 人中 2 人(1.0%)に加齢黄斑変性を認めたが、黄斑形態異常の有無による血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度に有意差はなかった。

12. 油症検診における口腔カンジダの発現に関する研究

平成 28 年度長崎県油症検診において 77 名(認定者 48 名、未認定者 29 名)を対象に、舌を測定部位とし、カンジダディテクターを用いてカンジダの検出を行った。認定、未認定間ではカンジダの発現率に有意差がみられなかったが、高齢者および女性に高い発現率がみられた。また、口腔乾燥感を訴えた患者や義歯装着の患者でも高い発現率がみられる傾向にあった。

13. 油症における甲状腺自己抗体に関する研究

平成 28 年度福岡県油症検診を受診した 228 名について甲状腺自己抗体検査を行い、血中 PCB 濃度との関連について検討した。認定者は未認定者に比し、抗甲状腺マイクロゾーム抗体および抗サイログロブリン抗体は多い傾向を認めたが、出現頻度に差をみなかった。抗サイログロブリン抗体は血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比較し有意に高頻度に認められた。抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体あるいは TSH 刺激性レセプター抗体のいずれか 1 項目以上の異常を認めるものは、PCB 高濃度群において PCB 低濃度群に比較し有意に高頻度であった。PCB の抗サイログロブリン抗体に対する慢性的影響が示唆された。

14. カネミ油症患者における全脳での脳機能的結合変化の検出法の開発に関する研究

九州大学病院を受診した認知症患者において安静時に T1 強調画像、T2 強調画像、resting-fMRI 撮像を同時に行った。その結果をもとに海馬と線維結合を有する後部帯状回(PCC)を起点とした脳機能的ネットワークの差異を健常人のそれと比較検討した。この MRI 撮像法と結果の分析法を基にして今後油症患者に生じる異常感覚の出現、消退の神経基盤を生じる脳機能的結合異常を検出する予定である。

15. 油症患者における免疫機能の解析

1) 長崎県油症認定患者におけるIL-12とIFN-γの検討

昨年の検討において、認定患者では NK 細

胞の相対割合（%）が健常人と比較して高値であることを確認した。この原因を探る目的に、NK 細胞数に影響を与えるサイトカイン IL-12 と、NK 細胞が産生する IFN-γについて認定患者（N=31）と健常人（N=31）で比較した。その結果、IL-12 に有意差はないものの増加傾向を認め、IFN-γは油症患者で有意に低値であった(p=0.0056)。これらの値とダイオキシン濃度との間に相関は認めなかったが、AHR を介した患者免疫応答への影響も示唆された。

2) 油症認定患者における soluble CD26/DPP-4 の検討

以前の検討にて、油症患者において制御性 T 細胞（Treg 細胞）より分泌される血清 IL-10 値が健常人と比べ高い傾向にあり、血清 IL-35 値は有意に高値であることを確認した。これらのサイトカインは Treg 細胞を活性化、あるいは維持するサイトカインであり、患者では Treg 細胞が活性化している可能性がある。今回、Treg 細胞で発現している血清 CD27 について健常人と比較した。その結果、血清中 CD27 値は油症患者で 12023±1154 pg/ml、健常人で 16020±5066 pg/ml で 2 群間に有意な差はなかった。

16. カネミ油症患者の低濃度患者における 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度の変化（半減期）と半減期の変化に関する研究

体内のダイオキシン類は徐々に排出される一方、食事などから継続的に摂取しているため、その濃度は変化している。2,3,4,7,8-PeCDF の濃度別、生年別に、濃度の変化率（半減期）と半減期の変化を確認した。半減期の変化は濃度の対数の二階微分として評価できる。もっとも単純な二階微分を有する二次方程式に近似して、二階微分の係数を評価した。油症発生以降に生まれた患者（いわゆる「二世患者」）では、血中で 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が低く、増加している傾向がみられた。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 10～20 pg/g lipid の患者の多くが油症発生以前に生まれている、いわゆる「一世患者」だが、二階微分は負の患者が多く、平衡状態に低濃度の側から近付いていることが推測された。

17. 油症曝露による継世代健康影響に関する研究-油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と男児出生割合との関連-

油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と次世代・次々世代における男児出生割合との関連について検討した。油症発生後に妊娠・出産した 59 例（142 妊娠）を対象とし、ダイオキシン類の曝露量として分娩時の血中ダイオキシン類推定濃度を、また遺伝的感受性としてダイオキシン類受容体(AHR)遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)を解析した。その結果、油症患者より出生した女系の次々世代では、男児出生割合が 0.38 と低下する傾向が示された。また、母体の分娩時血中ダイオキシン類推定濃度、なかでも 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い場合には次世代の男児出生割合が低下することが示された。一方、母体の AHR 遺伝子多型と次世代および次々世代の男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。これらの結果から油症発生後に油症患者より出生した女系の次世代、次々世代では男児出生割合が低下する継世代的な健康影響が生じている可能性があること、この機序には母体が曝露したダイオキシン類の量的な問題が関与していることが示唆された。

18. 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障害の経時的変化に関する検討

マウスにベンゾピレンを経気道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の作成を試みている。油症患者に喀痰の増加が認められる点からも、動物実験モデルとして有用と思われる。気管支肺胞洗浄(BAL)の解析などにより、ベンゾピレン投与 4-10 日後の解析が適当と考えられた。

2) ベンゾピレンの末梢神経および脊髄感覚系シナプス伝達に及ぼす作用に関する研究

ダイオキシン類似化合物の一つであるベンゾピレンを経口投与したラットを用い、後根付き神経節細胞から細胞内記録を行い、末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれと比較検討した。また、脊髄後角におけるシナプス応答の可塑的な変化についても脊髄スライスに後根を付した標本を用い、ベンゾピレンの中枢性感覚神経系に及ぼす作用を検討した。その結果、Aβ線維の伝導速度は有意に緩徐化していたが、Aδや C 線維には有意な変化はみられなかった。また、静止膜電位についても全ての群で有意な差はなかった。脊髄内感覚情報伝達に関しても、ベンゾピレンは膠様質細胞の自発性興奮性後シナプス電流および自発性抑制性後シナプス電流と、AδとC線維誘起シナプス応答の振幅には影響を与えなかった。以上よりベンゾピレンは選択的に末梢感覚神経である Aβ線維に作用し、伝導速度の緩徐化を惹起し、しびれなどの感覚異常を引き起こした可能性が示唆された。

3)*Helicobactoer pylori* 除菌後の胃癌発生に対する activation-induced cytidine deaminase およびダイオキシンの関与

胃癌の発生機序において遺伝子編集酵素群の一つである activation-induced cytidinedeaminase (AID)発現が関与することが示されている。胃癌発生の主要な病因としては *Helicobacter pylori* が挙げられるが、食生活も胃癌発生に関与することは疫学的調査により示されており、ダイオキシンなどの環境ホルモンの関与も示唆される。我々の検討では、*H. pylori* 除菌後も胃癌発生が必ずしも低下しなかったことから、酸化ストレスによる DNA 損傷との関連が示唆される AID の発現を内視鏡治療により切除した胃癌の切除材料を用いて評価を開始した。現在、AID 及び p53 の免疫組織化学染色を実施しており、今後は背景粘膜における組織学的変化との関連解析を実施していく予定である。

4)桂皮およびシンナムアルデヒドの効果について

ヒト培養表皮細胞を用い、桂枝茯苓丸に強い AHR および NRF2 抑制効果があること、さらにその作用に寄与する成分が桂皮に含まれるシンナムアルデヒドであることを示した。桂枝茯苓丸は代表的な駆瘀血剤で、広く日常診療に用いられる漢方方剤の一つであり、慢性ダイオキシン中毒の症状を緩和する効果がある可能性が示唆された。

5) 2,2',3,4',4,5,6'- 七塩素化ビフェニル(PCB182)のラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾームによる代謝

これまで非常に代謝されにくいとされてきた PCB182 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。その結果、ラット、モルモットおよびヒト肝 Ms はいずれも 1 種類の代謝物 M-1(3'-OH 体)を生成した。また、その活性の強さは、ラット(PB 前処理)＞＞モルモット(PB 前処理)＞モルモット(未処理、MC 前処理)＞ヒトの順

であった。特に、PB 前処理ラット肝 Ms により、他の七塩素化ビフェニル（PCB187、PCB183、PCB180）と比べ、10～50 倍高い活性で代謝された。以上の結果から、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する CB182 は、非常に代謝され易いことが明らかになった。また、代謝酵素として PB 誘導性の CYP2B 酵素（ラット CYP2B1、モルモット CYP2B18、ヒト CYP2B6）の関与が示唆された。

6） 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin の子育て能力への影響およびその機構解析

これまでの研究で 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) の妊娠ラットへの曝露が、胎児脳下垂体において黄体形成ホルモンおよび成長ホルモンの合成を低下させ、出生後の発育障害の一端を担うことを明らかにしつつある。本年度は、母体の育児への影響が、出生児の発育障害に寄与するとの新たな可能性に着目した研究を実施した。まず、育児に必須のホルモンである prolactin の発現状況を妊娠期から育児期にかけて解析した結果、妊娠ラットへの TCDD 曝露は、育児期の母ラットの prolactin レベルを低下し、育児期の母ラットの育児行動を抑制した。しかし、TCDD 曝露母ラットに prolactin を補給するとほぼ正常水準に改善した。さらに、TCDD 曝露に依存した、出生児の低体重や学習記憶障害も母体への prolactin 補給によって改善、ないし改善傾向を示した。一方、芳香族炭化水素受容体 (AHR) 欠損ラットでは、上記の育児能への影響は全く観察されなかった。以上より、TCDD が AHR を介して育児母の prolactin レベルを低下させ、育児抑制ひいては児の発育障害を惹起するとの新たな機構が見出された。

7）2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin の生体影響とダイオキシンに対する拮抗作用

本研究では、ダイオキシン毒性の新たな軽減策の創出を目指す取り組みとして、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) の 4 つの塩素原子をフッ素原子に置換した 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin (TFDD) を合成し、その生体毒性ならびにダイオキシンに対する拮抗作用を検討した。雄ラットに TFDD (1～1000 μg/kg) を単回経口投与し、投与 1 日後および 7 日後において体重変化、臓器重量およびダイオキシンにより誘導する遺伝子である cytochrome P450 (CYP) 1A1 の酵素活性を測定した。その結果、TCDD によって起こる肝肥大、胸腺萎縮、体重増加抑制ならびに CYP1A1 活性誘導のいずれに関しても、TFDD 投与によっては全く観察されなかった。さらに、ヒト乳がん細胞株である T47D 細胞に対して、TCDD (500 pM) と共に TFDD (100 fM～10 μM) を併用処理したところ、100 nM 以上の TFDD 併用によって TCDD 依存的な CYP1A1 発現誘導が抑制された。これらの結果から、TFDD はラットへの単回経口投与によってはダイオキシン様の急性毒性を示さないこと、ならびに細胞レベルで TCDD に対して拮抗作用を持つことが明らかになった。

19. 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

油症検診結果より現在の患者の状況を把握した。平成 27 年度油症検診受診者は 644 名で、50 歳以上が全体の 86.5％を占め、高

齢化が進んでいた。自覚症状では全身倦怠感が最も多く 73.4%にみられた。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が 74.6%と最も高かった。平成 28 年度福岡県検診における眼科検診では、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。他覚所見は、眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物を認めるものも少数見られた。平成28年度長崎県検診における眼科検診では、検診受診者 195 人中 2 人(1.0%)に加齢黄斑変性を認めたが、黄斑形態異常の有無による血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度に有意差はなかった。平成 28 年度長崎県油症検診において口腔カンジダの発現率をみたところ、認定、未認定者に有意差はみられなかった。

臨床追跡、疫学調査を行った。平成 27 年度に実施した久山町の地域住民 495 人を対象にした環境調査における血液中総ダイオキシン類およびPCB 平均濃度はそれぞれ24 pg TEQ/g lipid、214 pg/g lipid であった。また、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid だった。平成 27 年度に実施した桂枝茯苓丸の臨床試験にて 3 ヵ月の内服前後で全身倦怠感、皮膚症状の軽減がみられた。平成 28 年度福岡県検診において、ロコチェック質問票を用いて油症患者の運動機能を評価したところ、過半数の受診者においてロコモティブシンドロームがみられたが、ダイオキシン類濃度との相関はみられなかった。平成28年度福岡県検診において甲状腺自己抗体の陽性率と PCB 濃度との相関を検証したところ、抗サイログロブリン抗体は血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比較し有意に高頻度にみられ、PCB 曝露が甲状腺機能に及ぼす慢性影響が示唆された。油症患者に生じる異常感覚の出現、消退の神経基盤を生じる脳機能的結合異常を検出するための安静時機能的 MRI の解析法を確立した。ダイオキシン類曝露による免疫機能の変調を探るべく、NK 細胞数に影響を与える IL-12 と、NK 細胞が産生するIFN-γについて認定患者と健常人で比較したところ、IL-12 は増加傾向で、IFN-γは油症患者で有意に低値であった。これまでの研究にて油症患者において制御性 T 細胞(Treg 細胞)が活性化している可能性が示されている。Treg 細胞が発現している血清 CD27 について健常人と比較したが、患者の発現値との間に有意な差はなかった。

ダイオキシン類の生体内動態、次世代への影響を検証した。平成 27 年度に測定した認定患者の血液中平均総 TEQ(WHO2005)は 64 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 平均濃度は 94 pg/g lipid だった。2,3,4,7,8-PeCDF の半減期、半減期の変化を油症発生以降に生まれた患者と直接曝露した患者に分けて検証した。二世患者では血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が低くも増加している傾向がみられた。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 10〜20 pg/g lipid である、多くが油症発生以前に出生した一世患者ではダイオキシン類濃度は平衡状態に低濃度の側から近づいていた。油症患者より出生した女系の次々世代では、男児出生割合が 0.38 と低下する傾向がみられ、母体の分娩時血中ダイオキシン類推定濃度、なかでも 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い場合には次世代の男児出生割合が低下した。しかし、母体の AHR 遺伝子多型と次世代および次々世代の男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。

基礎的研究では、ダイオキシン類の生体内動態、毒性の把握、次世代への影響、治療薬の探索を行った。マウスにベンゾピレンを経気道的に投与し、気道分泌物が増加する油症の動物モデルの作成を試みている。ラ

ットを用いた実験において、ベンゾピレンは選択的に末梢感覚神経である Aβ線維に作用し、伝導速度の緩徐化を惹起し、油症患者のしびれなどの感覚異常を引き起こした可能性が示唆された。胃癌の発生機序に関与し、酸化ストレスによる DNA 損傷との関連も示唆されている遺伝子編集酵素群の一つ、activation-induced cytidinedeaminase (AID) 発現を内視鏡治療により切除した胃癌の切除材料を用いて検証を開始した。桂枝茯苓丸に強い AHR および NRF2 抑制効果があること、その作用に寄与する成分が桂皮に含まれるシンナムアルデヒドであることが明らかになった。これまで代謝されにくいと考えられてきた 2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB182 は非常に代謝され易いことが明らかになった。TCDD が AHR を介して育児母の prolactin レベルを低下させ、育児抑制ひいては児の発育障害を惹起するとの新たな機構が見出された。TCDD の 4 つの塩素原子をフッ素原子に置換した TFDD をラットへの単回経口投与したところ、ダイオキシン様の急性毒性は示さず、細胞レベルで TCDD に対して拮抗作用を示した。

このように、今年度も油症患者の現況を把握し、ダイオキシンが生体に及ぼす影響・作用機序の研究を行った。将来的に、新しい治療薬の発見・開発につなげたい。

E. 健康危険情報

なし。

分担研究報告書

油症検診データを用いた基礎的解析

研究分担者	香月　進	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	田中　義人	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
	高尾　佳子	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	保健科学部長

研究要旨　2015 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 644 名で、50 歳以上が全体の 86.5%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 73.4%であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が 74.6%と最も高かった。

A．研究目的

油症は発生から 40 年以上が経過しているが、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。2015 年度は、7 月から翌 1 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 27-12 号平成 27 年 10 月 1 日承認）。

C．研究結果及び考察

受診者の内訳を表 1 に示す。2015 年度は、644 名（男性 312 名、女性 332 名）が受診し（油症外来での受診者は含まない）、認定者は 578 名（81.8%）（男性 261 名、女性 266 名）、未認定者は 117 名（18.2%）（男性 51 名、女性 66 名）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 歳の順であり、50 歳以上は全体の 86.5%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（73.4%）、関節痛（65.5%）、しびれ感（63.2%）で、6 割を超える受診者が訴えていた。他覚所見では、肝・胆・脾エコー（74.6%）、心電図（36.2%）、四肢けん反射（24.4%）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は 48.4%が訴えており、次いで、かつての色素沈着が 25.8%であり、この 2 項目の訴えが比較的多かった。他覚所見は、黒色面皰の有所見率が最も高く（12.9%）、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 17.9%で、他覚所見の中で最も有所見率の高い瞼板腺嚢胞形成が 3.7%、その他の項目は 3.2%以下であった。

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 28.3%で、口腔所見は、近縁性歯周炎（42.6%）、歯肉炎（28.4%）が高く、それら以外の項目は、1 割未満であった。色素沈着の有所見率は、歯肉の色素沈着（24.9%）が高く、それ以外は、1 割未満であった。

また、油症検診受診者の年度別推移を図 1 に示す。油症検診受診者は 2013 年度が最も多く、2015 年度は過去 4 番目の受診者数であった。

D．結論

2015 年度の油症検診受信者数は 644 名で、過去 3 番目の受診者数であり、50 歳以上が 86.5%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（73.4%）であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率（74.6%）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　2015 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	644	100.0	312	100.0	332	100.0
0 – 9 歳	2	0.3	1	0.3	1	0.3
10 – 19 歳	3	0.5	2	0.6	1	0.3
20 – 29 歳	6	0.9	3	1.0	3	0.9
30 – 39 歳	17	2.6	6	1.9	11	3.3
40 – 49 歳	59	9.2	33	10.6	26	7.8
50 – 59 歳	132	20.5	65	20.8	67	20.2
60 – 69 歳	188	29.2	84	26.9	104	31.3
70 – 79 歳	148	23.0	71	22.8	77	23.2
80 – 89 歳	81	12.6	41	13.1	40	12.0
90 歳以上	8	1.2	6	1.9	2	0.6
認定	527	100.0	261	100.0	266	100.0
0 – 9 歳	–	–	–	–	–	–
10 – 19 歳	–	–	–	–	–	–
20 – 29 歳	–	–	–	–	–	–
30 – 39 歳	1	0.2	1	0.4	–	–
40 – 49 歳	36	6.8	22	8.4	14	5.3
50 – 59 歳	120	22.8	61	23.4	59	22.2
60 – 69 歳	162	30.7	71	27.2	91	34.2
70 – 79 歳	126	23.9	61	23.4	65	24.4
80 – 89 歳	75	14.2	40	15.3	35	13.2
90 歳以上	7	1.3	5	1.9	2	0.8
未認定	117	100.0	51	100.0	66	100.0
0 – 9 歳	2	1.7	1	2.0	1	1.5
10 – 19 歳	3	2.6	2	3.9	1	1.5
20 – 29 歳	6	5.1	3	5.9	3	4.5
30 – 39 歳	16	13.7	5	9.8	11	16.7
40 – 49 歳	23	19.7	11	21.6	12	18.2
50 – 59 歳	12	10.3	4	7.8	8	12.1
60 – 69 歳	26	22.2	13	25.5	13	19.7
70 – 79 歳	22	18.8	10	19.6	12	18.2
80 – 89 歳	6	5.1	1	2.0	5	7.6
90 歳以上	1	0.9	1	2.0	–	–

表２　2015 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	638	100.0	310	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	170	26.6	93	30.0	77	23.5	129	24.6	71	27.2	58	22.1	41	36.0	22	44.9	19	29.2
	有	468	73.4	217	70.0	251	76.5	395	75.4	190	72.8	205	77.9	73	64.0	27	55.1	46	70.8
頭重・頭痛	計	638	100.0	310	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	263	41.2	169	54.5	94	28.7	216	41.2	144	55.2	72	27.4	47	41.2	25	51.0	22	33.8
	有	375	58.8	141	45.5	234	71.3	308	58.8	117	44.8	191	72.6	67	58.8	24	49.0	43	66.2
咳嗽	計	637	100.0	309	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	113	100.0	48	100.0	65	100.0
	無	310	48.7	148	47.9	162	49.4	249	47.5	123	47.1	126	47.9	61	54.0	25	52.1	36	55.4
	有	327	51.3	161	52.1	166	50.6	275	52.5	138	52.9	137	52.1	52	46.0	23	47.9	29	44.6
喀痰	計	638	100.0	310	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	316	49.5	140	45.2	176	53.7	251	47.9	113	43.3	138	52.5	65	57.0	27	55.1	38	58.5
	有	322	50.5	170	54.8	152	46.3	273	52.1	148	56.7	125	47.5	49	43.0	22	44.9	27	41.5
腹痛	計	638	100.0	310	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	411	64.4	215	69.4	196	59.8	332	63.4	173	66.3	159	60.5	79	69.3	42	85.7	37	56.9
	有	227	35.6	95	30.6	132	40.2	192	36.6	88	33.7	104	39.5	35	30.7	7	14.3	28	43.1
下痢	計	638	100.0	310	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	392	61.4	177	57.1	215	65.5	318	60.7	144	55.2	174	66.2	74	64.9	33	67.3	41	63.1
	有	246	38.6	133	42.9	113	34.5	206	39.3	117	44.8	89	33.8	40	35.1	16	32.7	24	36.9
便秘	計	637	100.0	309	100.0	328	100.0	523	100.0	260	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	348	54.6	185	59.9	163	49.7	279	53.3	151	58.1	128	48.7	69	60.5	34	69.4	35	53.8
	有	289	45.4	124	40.1	165	50.3	244	46.7	109	41.9	135	51.3	45	39.5	15	30.6	30	46.2
しびれ感	計	638	100.0	310	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	235	36.8	122	39.4	113	34.5	182	34.7	94	36.0	88	33.5	53	46.5	28	57.1	25	38.5
	有	403	63.2	188	60.6	215	65.5	342	65.3	167	64.0	175	66.5	61	53.5	21	42.9	40	61.5
関節痛	計	638	100.0	310	100.0	328	100.0	524	100.0	261	100.0	263	100.0	114	100.0	49	100.0	65	100.0
	無	220	34.5	125	40.3	95	29.0	169	32.3	96	36.8	73	27.8	51	44.7	29	59.2	22	33.8
	有	418	65.5	185	59.7	233	71.0	355	67.7	165	63.2	190	72.2	63	55.3	20	40.8	43	66.2
月経異常	計	210	100.0	-	-	210	100.0	166	100.0	-	-	166	100.0	44	100.0	-	-	44	100.0
	無	172	81.9	-	-	172	81.9	141	84.9	-	-	141	84.9	31	70.5	-	-	31	70.5
	有	38	18.1	-	-	38	18.1	25	15.1	-	-	25	15.1	13	29.5	-	-	13	29.5
その他	計	302	100.0	144	100.0	158	100.0	242	100.0	118	100.0	124	100.0	60	100.0	26	100.0	34	100.0
	無	226	74.8	115	79.9	111	70.3	190	78.5	101	85.6	89	71.8	36	60.0	14	53.8	22	64.7
	有	76	25.2	29	20.1	47	29.7	52	21.5	17	14.4	35	28.2	24	40.0	12	46.2	12	35.3

表３　2015 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	627	100.0	307	100.0	320	100.0	516	100.0	258	100.0	258	100.0	111	100.0	49	100.0	62	100.0
	無	509	81.2	254	82.7	255	79.7	422	81.8	212	82.2	210	81.4	87	78.4	42	85.7	45	72.6
	有	118	18.8	53	17.3	65	20.3	94	18.2	46	17.8	48	18.6	24	21.6	7	14.3	17	27.4
心音	計	626	100.0	308	100.0	318	100.0	515	100.0	259	100.0	256	100.0	111	100.0	49	100.0	62	100.0
	無	605	96.6	301	97.7	304	95.6	498	96.7	253	97.7	245	95.7	107	96.4	48	98.0	59	95.2
	有	21	3.4	7	2.3	14	4.4	17	3.3	6	2.3	11	4.3	4	3.6	1	2.0	3	4.8
呼吸音	計	626	100.0	307	100.0	319	100.0	516	100.0	258	100.0	258	100.0	110	100.0	49	100.0	61	100.0
	無	617	98.6	301	98.0	316	99.1	508	98.4	253	98.1	255	98.8	109	99.1	48	98.0	61	100.0
	有	9	1.4	6	2.0	3	0.9	8	1.6	5	1.9	3	1.2	1	0.9	1	2.0	-	-
肝腫	計	620	100.0	306	100.0	314	100.0	512	100.0	258	100.0	254	100.0	108	100.0	48	100.0	60	100.0
	無	615	99.2	303	99.0	312	99.4	508	99.2	255	98.8	253	99.6	107	99.1	48	100.0	59	98.3
	有	5	0.8	3	1.0	2	0.6	4	0.8	3	1.2	1	0.4	1	0.9	-	-	1	1.7
脾腫	計	618	100.0	304	100.0	314	100.0	510	100.0	256	100.0	254	100.0	108	100.0	48	100.0	60	100.0
	無	618	100.0	304	100.0	314	100.0	510	100.0	256	100.0	254	100.0	108	100.0	48	100.0	60	100.0
	有	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
浮腫	計	625	100.0	306	100.0	319	100.0	515	100.0	258	100.0	257	100.0	110	100.0	48	100.0	62	100.0
	無	590	94.4	296	96.7	294	92.2	485	94.2	249	96.5	236	91.8	105	95.5	47	97.9	58	93.5
	有	35	5.6	10	3.3	25	7.8	30	5.8	9	3.5	21	8.2	5	4.5	1	2.1	4	6.5
リンパ節肥大	計	627	100.0	308	100.0	319	100.0	516	100.0	259	100.0	257	100.0	111	100.0	49	100.0	62	100.0
	無	624	99.5	307	99.7	317	99.4	514	99.6	259	100.0	255	99.2	110	99.1	48	98.0	62	100.0
	有	3	0.5	1	0.3	2	0.6	2	0.4	-	-	2	0.8	1	0.9	1	2.0	-	-
四肢けん反射	計	623	100.0	305	100.0	318	100.0	513	100.0	257	100.0	256	100.0	110	100.0	48	100.0	62	100.0
	無	471	75.6	219	71.8	252	79.2	387	75.4	185	72.0	202	78.9	84	76.4	34	70.8	50	80.6
	有	152	24.4	86	28.2	66	20.8	126	24.6	72	28.0	54	21.1	26	23.6	14	29.2	12	19.4
感覚障害	計	610	100.0	299	100.0	311	100.0	504	100.0	254	100.0	250	100.0	106	100.0	45	100.0	61	100.0
	無	517	84.8	254	84.9	263	84.6	425	84.3	213	83.9	212	84.8	92	86.8	41	91.1	51	83.6
	有	93	15.2	45	15.1	48	15.4	79	15.7	41	16.1	38	15.2	14	13.2	4	8.9	10	16.4
胸部レ線	計	604	100.0	291	100.0	313	100.0	500	100.0	249	100.0	251	100.0	104	100.0	42	100.0	62	100.0
	無	460	76.2	218	74.9	242	77.3	370	74.0	180	72.3	190	75.7	90	86.5	38	90.5	52	83.9
	有	144	23.8	73	25.1	71	22.7	130	26.0	69	27.7	61	24.3	14	13.5	4	9.5	10	16.1
心電図	計	619	100.0	298	100.0	321	100.0	513	100.0	256	100.0	257	100.0	106	100.0	42	100.0	64	100.0
	無	395	63.8	168	56.4	227	70.7	316	61.6	137	53.5	179	69.6	79	74.5	31	73.8	48	75.0
	有	224	36.2	130	43.6	94	29.3	197	38.4	119	46.5	78	30.4	27	25.5	11	26.2	16	25.0
肝･胆･脾エコー	計	209	100.0	98	100.0	111	100.0	164	100.0	78	100.0	86	100.0	45	100.0	20	100.0	25	100.0
	無	53	25.4	20	20.4	33	29.7	41	25.0	15	19.2	26	30.2	12	26.7	5	25.0	7	28.0
	有	156	74.6	78	79.6	78	70.3	123	75.0	63	80.8	60	69.8	33	73.3	15	75.0	18	72.0

表４　2015 年度皮膚科検診集計結果

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	%
問診																			
最近の化膿傾向	計	627	100.0	307	100.0	320	100.0	514	100.0	257	100.0	257	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	538	85.8	262	85.3	276	86.3	437	85.0	217	84.4	220	85.6	101	89.4	45	90.0	56	88.9
	有	89	14.2	45	14.7	44	13.8	77	15.0	40	15.6	37	14.4	12	10.6	5	10.0	7	11.1
最近の粉りゅう再発傾向	計	624	100.0	306	100.0	318	100.0	511	100.0	256	100.0	255	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	523	83.8	248	81.0	275	86.5	422	82.6	205	80.1	217	85.1	101	89.4	43	86.0	58	92.1
	有	101	16.2	58	19.0	43	13.5	89	17.4	51	19.9	38	14.9	12	10.6	7	14.0	5	7.9
かつてのざ瘡様皮疹	計	626	100.0	307	100.0	319	100.0	513	100.0	257	100.0	256	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	323	51.6	166	54.1	157	49.2	253	49.3	133	51.8	120	46.9	70	61.9	33	66.0	37	58.7
	有	303	48.4	141	45.9	162	50.8	260	50.7	124	48.2	136	53.1	43	38.1	17	34.0	26	41.3
かつての色素沈着	計	620	100.0	306	100.0	314	100.0	508	100.0	256	100.0	252	100.0	112	100.0	50	100.0	62	100.0
	無	460	74.2	231	75.5	229	72.9	366	72.0	190	74.2	176	69.8	94	83.9	41	82.0	53	85.5
	有	160	25.8	75	24.5	85	27.1	142	28.0	66	25.8	76	30.2	18	16.1	9	18.0	9	14.5
他覚所見																			
黒色面皰	計	629	100.0	308	100.0	321	100.0	515	100.0	258	100.0	257	100.0	114	100.0	50	100.0	64	100.0
	無	548	87.1	256	83.1	292	91.0	447	86.8	217	84.1	230	89.5	101	88.6	39	78.0	62	96.9
	有	81	12.9	52	16.9	29	9.0	68	13.2	41	15.9	27	10.5	13	11.4	11	22.0	2	3.1
ざ瘡様皮疹	計	629	100.0	308	100.0	321	100.0	515	100.0	258	100.0	257	100.0	114	100.0	50	100.0	64	100.0
	無	587	93.3	288	93.5	299	93.1	482	93.6	241	93.4	241	93.8	105	92.1	47	94.0	58	90.6
	有	42	6.7	20	6.5	22	6.9	33	6.4	17	6.6	16	6.2	9	7.9	3	6.0	6	9.4
瘢痕化	計	628	100.0	308	100.0	320	100.0	515	100.0	258	100.0	257	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	587	93.5	283	91.9	304	95.0	479	93.0	237	91.9	242	94.2	108	95.6	46	92.0	62	98.4
	有	41	6.5	25	8.1	16	5.0	36	7.0	21	8.1	15	5.8	5	4.4	4	8.0	1	1.6
色素沈着	計	629	100.0	308	100.0	321	100.0	515	100.0	258	100.0	257	100.0	114	100.0	50	100.0	64	100.0
	無	603	95.9	301	97.7	302	94.1	491	95.3	251	97.3	240	93.4	112	98.2	50	100.0	62	96.9
	有	26	4.1	7	2.3	19	5.9	24	4.7	7	2.7	17	6.6	2	1.8	-	-	2	3.1
爪変形	計	629	100.0	308	100.0	321	100.0	515	100.0	258	100.0	257	100.0	114	100.0	50	100.0	64	100.0
	無	607	96.5	295	95.8	312	97.2	494	95.9	245	95.0	249	96.9	113	99.1	50	100.0	63	98.4
	有	22	3.5	13	4.2	9	2.8	21	4.1	13	5.0	8	3.1	1	0.9	-	-	1	1.6

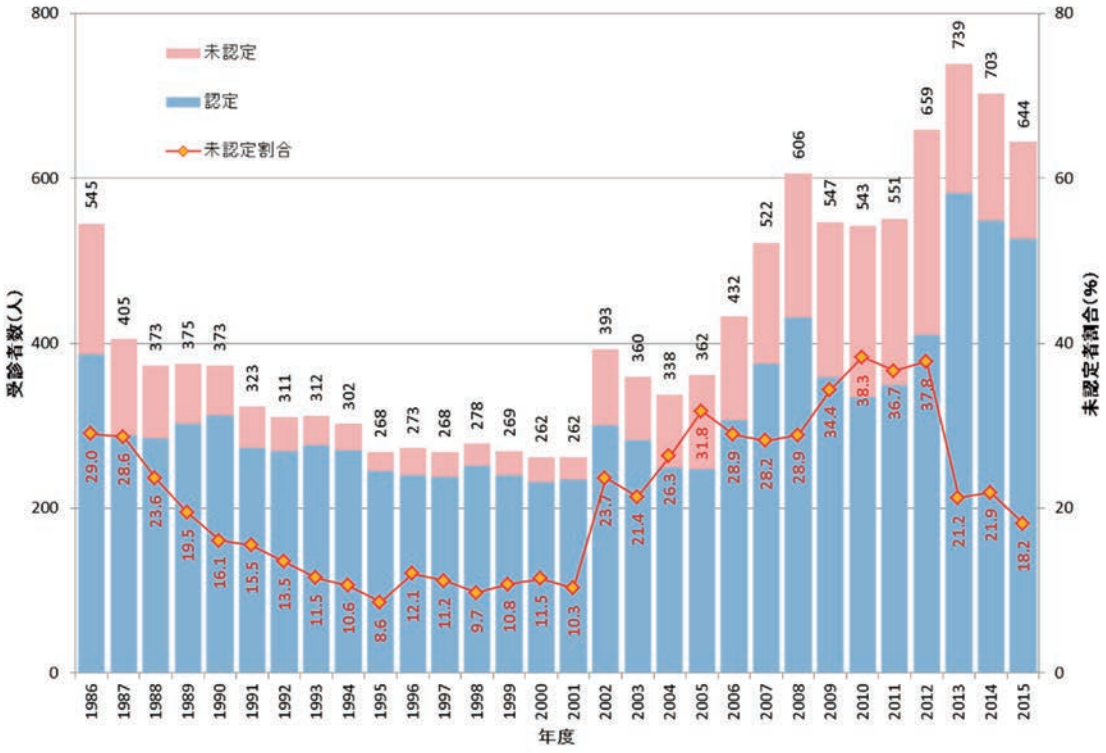
表５　2015 年度眼科検診集計結果

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	627	100.0	308	100.0	319	100.0	514	100.0	258	100.0	256	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	514	82.0	249	80.8	265	83.1	422	82.1	205	79.5	217	84.8	92	81.4	44	88.0	48	76.2
	有	113	18.0	59	19.2	54	16.9	92	17.9	53	20.5	39	15.2	21	18.6	6	12.0	15	23.8
他覚所見																			
眼瞼浮腫	計	628	100.0	308	100.0	320	100.0	515	100.0	258	100.0	257	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	627	99.8	308	100.0	319	99.7	514	99.8	258	100.0	256	99.6	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	有	1	0.2	-	-	1	0.3	1	0.2	-	-	1	0.4	-	-	-	-	-	-
眼瞼結膜色素沈着	計	622	100.0	305	100.0	317	100.0	509	100.0	255	100.0	254	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	602	96.8	295	96.7	307	96.8	492	96.7	246	96.5	246	96.9	110	97.3	49	98.0	61	96.8
	有	20	3.2	10	3.3	10	3.2	17	3.3	9	3.5	8	3.1	3	2.7	1	2.0	2	3.2
瞼板腺嚢胞形成	計	623	100.0	305	100.0	318	100.0	510	100.0	255	100.0	255	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	600	96.3	293	96.1	307	96.5	491	96.3	243	95.3	248	97.3	109	96.5	50	100.0	59	93.7
	有	23	3.7	12	3.9	11	3.5	19	3.7	12	4.7	7	2.7	4	3.5	-	-	4	6.3
瞼板腺チーズ様分泌物圧出	計	622	100.0	305	100.0	317	100.0	509	100.0	255	100.0	254	100.0	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	無	618	99.4	302	99.0	316	99.7	505	99.2	252	98.8	253	99.6	113	100.0	50	100.0	63	100.0
	有	4	0.6	3	1.0	1	0.3	4	0.8	3	1.2	1	0.4	-	-	-	-	-	-

表 6　2015 年度歯科検診集計結果

主訴及び他覚症状		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	%
主訴	計	350	100.0	179	100.0	171	100.0	285	100.0	144	100.0	141	100.0	65	100.0	35	100.0	30	100.0
	無	251	71.7	141	78.8	110	64.3	206	72.3	114	79.2	92	65.2	45	69.2	27	77.1	18	60.0
	有	99	28.3	38	21.2	61	35.7	79	27.7	30	20.8	49	34.8	20	30.8	8	22.9	12	40.0
口腔所見																			
歯肉炎	計	359	100.0	186	100.0	173	100.0	294	100.0	151	100.0	143	100.0	65	100.0	35	100.0	30	100.0
	無	257	71.6	130	69.9	127	73.4	211	71.8	107	70.9	104	72.7	46	70.8	23	65.7	23	76.7
	有	102	28.4	56	30.1	46	26.6	83	28.2	44	29.1	39	27.3	19	29.2	12	34.3	7	23.3
近縁性歯周炎	計	359	100.0	186	100.0	173	100.0	294	100.0	151	100.0	143	100.0	65	100.0	35	100.0	30	100.0
	無	206	57.4	91	48.9	115	66.5	159	54.1	68	45.0	91	63.6	47	72.3	23	65.7	24	80.0
	有	153	42.6	95	51.1	58	33.5	135	45.9	83	55.0	52	36.4	18	27.7	12	34.3	6	20.0
歯牙萌出異常	計	359	100.0	186	100.0	173	100.0	294	100.0	151	100.0	143	100.0	65	100.0	35	100.0	30	100.0
	無	357	99.4	185	99.5	172	99.4	292	99.3	150	99.3	142	99.3	65	100.0	35	100.0	30	100.0
	有	2	0.6	1	0.5	1	0.6	2	0.7	1	0.7	1	0.7	–	–	–	–	–	–
歯牙着色	計	359	100.0	186	100.0	173	100.0	294	100.0	151	100.0	143	100.0	65	100.0	35	100.0	30	100.0
	無	347	96.7	179	96.2	168	97.1	286	97.3	146	96.7	140	97.9	61	93.8	33	94.3	28	93.3
	有	12	3.3	7	3.8	5	2.9	8	2.7	5	3.3	3	2.1	4	6.2	2	5.7	2	6.7
歯牙形成不全	計	359	100.0	186	100.0	173	100.0	294	100.0	151	100.0	143	100.0	65	100.0	35	100.0	30	100.0
	無	355	98.9	185	99.5	170	98.3	292	99.3	150	99.3	142	99.3	63	96.9	35	100.0	28	93.3
	有	4	1.1	1	0.5	3	1.7	2	0.7	1	0.7	1	0.7	2	3.1	–	–	2	6.7
咬合異常	計	347	100.0	178	100.0	169	100.0	283	100.0	144	100.0	139	100.0	64	100.0	34	100.0	30	100.0
	無	334	96.3	172	96.6	162	95.9	274	96.8	139	96.5	135	97.1	60	93.8	33	97.1	27	90.0
	有	13	3.7	6	3.4	7	4.1	9	3.2	5	3.5	4	2.9	4	6.3	1	2.9	3	10.0
その他	計	348	100.0	178	100.0	170	100.0	284	100.0	144	100.0	140	100.0	64	100.0	34	100.0	30	100.0
	無	329	94.5	168	94.4	161	94.7	271	95.4	138	95.8	133	95.0	58	90.6	30	88.2	28	93.3
	有	19	5.5	10	5.6	9	5.3	13	4.6	6	4.2	7	5.0	6	9.4	4	11.8	2	6.7
色素沈着所見																			
歯肉	計	362	100.0	187	100.0	175	100.0	296	100.0	152	100.0	144	100.0	66	100.0	35	100.0	31	100.0
	無	272	75.1	141	75.4	131	74.9	223	75.3	117	77.0	106	73.6	49	74.2	24	68.6	25	80.6
	有	90	24.9	46	24.6	44	25.1	73	24.7	35	23.0	38	26.4	17	25.8	11	31.4	6	19.4
頬粘膜	計	362	100.0	187	100.0	175	100.0	296	100.0	152	100.0	144	100.0	66	100.0	35	100.0	31	100.0
	無	341	94.2	169	90.4	172	98.3	277	93.6	136	89.5	141	97.9	64	97.0	33	94.3	31	100.0
	有	21	5.8	18	9.6	3	1.7	19	6.4	16	10.5	3	2.1	2	3.0	2	5.7	–	–
口蓋粘膜	計	362	100.0	187	100.0	175	100.0	296	100.0	152	100.0	144	100.0	66	100.0	35	100.0	31	100.0
	無	355	98.1	183	97.9	172	98.3	289	97.6	148	97.4	141	97.9	66	100.0	35	100.0	31	100.0
	有	7	1.9	4	2.1	3	1.7	7	2.4	4	2.6	3	2.1	–	–	–	–	–	–
口唇粘膜	計	362	100.0	187	100.0	175	100.0	296	100.0	152	100.0	144	100.0	66	100.0	35	100.0	31	100.0
	無	337	93.1	174	93.0	163	93.1	273	92.2	141	92.8	132	91.7	64	97.0	33	94.3	31	100.0
	有	25	6.9	13	7.0	12	6.9	23	7.8	11	7.2	12	8.3	2	3.0	2	5.7	–	–

図１　油症検診受診者の年度別推移



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	香月　進	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	保健科学部長
	堀　　就英	福岡県保健環境研究所	生活化学課　生活化学課長
	平川　博仙	福岡県保健環境研究所	生活化学課　専門研究員
	安武　大輔	福岡県保健環境研究所	生活化学課　研究員
	新谷　依子	福岡県保健環境研究所	生活化学課　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
	中西　加奈子	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
	高橋　浩司	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　専門研究員
	宮脇　崇	福岡県保健環境研究所	計測技術課　研究員
	田中　義人	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
	高尾　佳子	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課　研究員
	世良　暢之	福岡県保健環境研究所	病理細菌課　課長
	平川　周作	福岡県保健環境研究所	廃棄物課　主任技師

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 27 年度（2015 年）の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 116 名と油症認定患者 104 名であった。平成 27 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 64 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 94 pg/g lipid であった。平成 13～27 年の 15 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 941 名で油症認定患者 2,289 名(平成 28 年 3 月 31 日現在)の約 41%の血液中ダイオキシン類濃度を測定し、その血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 120 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 2.8－1,800 pg/g lipid と広範囲であるが、約 57%の患者は 50 pg/g lipid 未満であった。平成 25～27 年に同居家族認定者 88 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 29 pg/g lipid で一般人に近い値であった。平成 13～27 年に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 757 名の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 24 pg/g lipid であり、一般住民とほぼ同じ値であったが、50 pg/g lipid を超えた 71 名は速やかに患者認定が行われた。

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た。さらに、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 28 年(2016 年)3 月 31 日現在の認定患者の総数は 2,289 名になった。

全国油症治療研究班では、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類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類濃度分布の解明を目指した。

本年度は、平成 27 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。次に、平成 13 年度から 27 年度までの 15 年間に測定した 941 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解析した。また、平成 25 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。さらに、平成 13 年度から 27 年度までの 15 年間に油症検診を受診した 757 名の未認定者について受診回数や血液中ダイオキシン類濃度の特徴を解析した。

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 27 年度は、油症一斉検診受診者のうち未認定者 116 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 101 名、油症ダイオキシン研究診療センターを受診した過去に血液中ダイオキシン類未測定の 3 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 26 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 34 名で、同居家族認定者は 13 名であった。

平成 28 年度（2016 年）調査（286 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 27 年度までの 15 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 2,696 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 941 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類濃度として解析した。

４．油症検診を受診した未認定者の血液中ダイオキシン類濃度の解析

平成 13 年度から 27 年度までの 15 年間に油症検診を受診し、血液中ダイオキシン類濃度を測定した未認定者は 2,103 名であるが、複数回受診した未認定者が存在するため、実数は 757 名であった。未認定者について受診回数や血液中ダイオキシン類濃度の特徴を解析した。

（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 27-12 号平成 27 年 10 月 1 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 27 年度の油症ダイオキシン類検査では 15 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～SC15)を分析した。コントロール血清のダイオキシン類の測定値は、1,2,3,7,8-PeDD、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、OCDD 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 値も同様で、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 27 年度油症一斉検診受診者の血液中ダイオキシン類濃度分析

表 1 に平成 27 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平成 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 27 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 104 名であり、34 名が新たに検診を受診した。この中で 13 名が同居家族による認定者であった。また、未認定者は 116 名で前年と比べ 39 名減少した。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、新たに検診を受診する認定者が増加している。

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 64 、24 pgTEQ/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 27 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 1.7 倍高く、未認定者は低い値であった。今回の認定患者には 13 名の同居家族認定患者が含まれているが、同居家族認定患者の Total TEQ (WHO2005) は 25 pg TEQ/g lipid であり、未認定者の濃度と同レベルであった。しかし、同居家族認患者の内 1 名は血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50pg/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 24 pg TEQ/g lipid であり、対照群の一般住民 37pg TEQ/g lipid より低い。平成 27 年に受診した未認定者は平均年齢が 54.9 才で 10 代の 3 名を含め 155 名中 40 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 1 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 27 年度までの 15 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 941 名の平成 27 年末現在の平均年齢は 65.7 歳 (32-98 歳) で、内訳は男性 437 名、女性 504 名であり、これは平成 28 年 3 月 31 日現在の全認定患者 (2,289 名) の約 41%に相当する。

表 2 に油症認定患者 941 名及び平成 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。油症認定患者の平均総 TEQ (WHO2005) は 65 pg TEQ/g lipid、対照群の一般住民の総 TEQ (WHO2005) は 37 pg TEQ/g lipid であり、油症認定患者の総 TEQ (WHO2005) は一般住民より約 1.8 倍高かった。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 2.7～1,800 pg/g lipid と広範囲であるが約 57%の認定患者は 50 pg/g lipid 未満であった。

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、これまでに 250 名以上が同居家族による油症患者と認定されている。このうち平成 25 年度に 51 名、平成 26 年度に 24 名、平成 27 年度に 13 名の同居家族認定患者が油症検診を受診した。表 3 に油症認定患者 941 名のうち同居家族認定患者 88 名とその他の油症患者 853 名及び平成 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。同居家族認定患者を除く油症認定患者の平均総 TEQ (WHO2005) は 69 pgTEQ/g lipid 、同居家族認定患者および対照群の一般住民の平均総 TEQ (WHO2005) はそれぞれ 32、37 pgTEQ/g lipid であった。同居家族認定患者と一般住民の平均総 TEQ (WHO2005) はほぼ同じ値であった。同居家族認定者を除く油症認定患者、同居家族認定患者および対照群の一般住民の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値はそれぞれ 120、29 および 17 pg/g lipid であった。同居家族認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は認定患者全体の平均値より低く、一般人に近い値であった。一方、同居家族認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の分布は 3.1～320 pg/g lipid であり、50 pg/g lipid を超える受診者が 12 名存在した。これらの方々は従来の認定基準でも患者認定されると考えられた。

４．油症検診を受診した未認定者の血液中ダイオキシン類濃度の解析

平成 13 年度から 27 年度までの 15 年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 757 名の平成 27 年末現在の平均年齢は 56.6 歳 (5-90 歳) で、内訳は男性 328 名、女性 429 名であった。

表 4 に未認定者 757 名、油症認定患者 941 名及び平成 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。未認定者の平均総 TEQ (WHO2005) は 30 pg TEQ/g lipid であり、一般住民平均総 TEQ (WHO2005) とほぼ同じ値であった。血液中ダイオキシン類化合物の種類別に見ると、2,3,4,7,8-PeCDF の平均値は 24 pg/g lipid(1.3-400 pg/g lipid)で 71 名が 50 pg/g lipid を超えていた。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid を超えた未認定者は速やかに油症患者に認定されている。図 2 に未認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の濃度分布を示した。

約半数の未認定受診者の受診回数は 1 回であるが、油症の診定には油症検診を受診することが必要であるため、最大で 14 回受診した未認定者が 2 名いた (図 3)。

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類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類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 27 年度（2015 年）の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 116 名と油症認定患者 104 名であった。平成 27 年度に測定した油症認定患者と未認定者の平均総 TEQ（WHO2005）はそれぞれ 64、24 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均はそれぞれ 94、13 pg/g lipid であった。平成 27 年度の同居家族認定者の検診受診者は 13 名で、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 29 pg/g lipid で認定患者全体の平均値より低く、一般人とほぼ同じレベルであった。また、平成 27 年度油症検診を受診した未認定者（116 名）の中に 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid を超える受診者が 1 名存在した。

平成 13 年度から 27 年度までの 15 年間に血液中ダイオシン類濃度を分析した油症認定患者は 941 名に達した。この 941 名の油症認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 2.8～1,800 pg/g lipid と広範囲であるが約 57%の患者は 50 pg/g lipid 以下であった。平成 25－27 年度に 88 名の同居家族認定患者が油症検診を受診した。油症認定患者 941 名のうち同居家族認定患者 88 名とその他の油症患者 853 名及び一般住民の血液中ダイオキシン類濃度を比較すると、同居家族認定者の平均総 TEQ（WHO2005）は一般住民の平均総 TEQ（WHO2005）とほぼ同じ値であった。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値も一般人に近い値であった。一方、同居家族認定患者の中に血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid を超える受診者が 12 名存在した。これらの方々は従来の認定基準でも患者認定されると考えられた。

平成 13 年度から 27 年度までの 15 年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 757 名の血液中ダイオキシン類濃度の平均総 TEQ（WHO2005）は 30 pg TEQ/g lipid であり、一般住民平均総 TEQ（WHO2005）とほぼ同じ値であった。血液中ダイオキシン類化合物の種類別に見ると、2,3,4,7,8-PeCDF の平均値は 24 pg/g lipid(1.3-410-pg/g lipid)で 71 名が 50 pg/g lipid を超えていた。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid を超えた未認定者は速やかに油症患者に認定されている。約半数の未認定者の受診回数は 1 回であるが、最大で 14 回受診者が 2 名いた。

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）Yasutake D, Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Watanabe T. Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Hydroxylated PCBs (OH-PCBs) in Fish Purchased in Kyushu District, Japan Organohalogen Compounds. 2016. 78. 1153-1157.

２．学会発表

１） Yasutake D, Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Watanabe T. Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Hydroxylated PCBs (OH-PCBs) in Fish Purchased in Kyushu District, Japan. 36TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Florence, Italy, 2016, August 28-31.

２） Hori T, Kajiwara J, Takahashi K, Morokuma M, Ohdera Y, Furue M, Tsukimori K, Distribution of dioxins in sets of biological samples collected from Japanese pregnant and nursing woman, 9th International PCB Workshop, Kobe, Japan, 2016 October 9-13.

３） Hirakawa S, Miyawaki T, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Hirano S, Iwata H, Furue M , Accumulation properties of polychlorinated biphenyl congeners in Yusho patients and assessment of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico docking simulation, 9th International PCB Workshop, Kobe, Japan, 2016 October 9-13.

４）堀 就英,平川博仙,新谷依子,宮脇 崇, 梶原淳睦, 香月 進, 岸 玲子, 古江増隆, 血液中 PCB 濃度分析のクロスチェック 第 25 回環境化学討論会(新潟市)、2016 年 6 月 8-9 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　油症検診受診者血中ダイオキシン類濃度調査結果（2015年）

(pg/g lipid)

	2015年検診結果								一般の人			
	認定(N=104)				未認定(N=116)				(2004年 ， N=127)			
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.2	ND	7.0	1.1	0.78	ND	3.5	1.9	0.84	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	8.5	6.0	ND	34	5.1	3.5	ND	15	9.0	3.4	3.2	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	3.3	2.1	ND	10	2.3	2.1	ND	12	3.6	1.9	ND	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	38	50	ND	320	17	13	ND	94	28	11	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	3.3	ND	17	2.9	2.7	ND	14	4.5	2.8	ND	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	51	31	8.3	140	34	62	3.6	640	78	55	18	470
OCDD	490	320	97	1500	380	690	37	6200	1200	640	180	7600
Total PCDDs	600	370	122	1800	440	760	54	6900	1300	1000	210	8200
2,3,7,8-TCDF	5.8	12	ND	83	1.5	2.0	ND	19	1.0	0.72	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	1.9	2.0	ND	13	0.79	1.0	ND	8.6	0.67	0.55	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	94	170	ND	1200	13	9	2.2	47	17	7.7	6.0	36
1,2,3,4,7,8-HxCDF	27	78	ND	530	3.2	2.1	ND	9.5	5.0	2.7	ND	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	12	25	ND	170	3.4	2.1	ND	12	5.7	2.6	ND	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.68	ND	5.6	1.1	0.29	ND	2.6	1.2	0.8	ND	5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.3	2.5	ND	20	1.6	1.2	1.0	8.4	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	160	280	12	1900	29	14	11	79	37	14	15	86
344'5-TCB(81)	6.1	5.5	ND	48	5.3	2.0	ND	20	5.6	2.3	ND	24
33'44'-TCB(77)	14	16	ND	130	6.6	4.8	ND	40	8.4	4.8	ND	31
33'44'5-PenCB(126)	103	83	13.9	460	75	86	ND	450	110	80	17	520
33'44'55'-HxCB(169)	183	197	15.5	1225	71	64	ND	380	64	27	16	190
Total Non-ortho PCBs	305	265	41	1542	158	147	20	790	190	110	59	740
Total	1054	747	191	4824	631	828	128	7278	1600	1000	290	8500
◆【WHO-98】◆												
PCDDs-TEQ	15	12	2.9	76	9	5.7	1.5	30	15	5.7	5.0	34
PCDFs-TEQ	52	97	2.0	647	7.6	4.9	1.6	26	10	4.3	3.5	33
Non-ortho PCBs-TEQ	12	9.6	1.69	49	8.2	9.2	0.55	48	12	8.2	2.0	54
Total TEQ	80	113	7.7	772	25	18	3.7	92	37	16	12	100
◆【WHO-05】◆												
PCDDs-TEQ	16	11.9	2.9	76	9	5.8	1.5	30	16	5.9	5.1	35
PCDFs-TEQ	33	62	1.4	417	5.0	3.1	1.1	17	6.6	2.5	2.3	14
Non-ortho PCBs-TEQ	16	13	2.0	71	10	10	0.7	53	13	8.6	2.6	58
Total TEQ	64	82	7.7	564	24	17	3.4	91	37	16	12	100
Lipid(%)	0.28	0.06	0.16	0.51	0.29	0.06	0.13	0.42	0.33	0.05	0.22	0.49

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　油症認定患者及び一般人の血中PCDDｓ、PCDFｓ及びノンオルソPCB濃度測定結果
(2001-2015年)

(pg/g lipid)

	油症患者(N=941)					一般の人（N=127、2004年 ）				
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Median	Mean	SD	Min	Max	Median
2,3,7,8-TCDD	1.6	1.1	ND	8.6	1.4	1.9	0.84	ND	4.3	1.8
1,2,3,7,8-PeCDD	9.2	5.8	ND	48	7.9	9.0	3.4	3.2	20	8.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	1.9	ND	15	2.2	3.6	1.9	ND	13	3.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	37	37	ND	320	25	28	11	7.3	70	25
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.7	3.3	ND	36	3.0	4.5	2.8	ND	16	3.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	43	52	ND	1200	34	78	55	18	470	62
OCDD	590	552	72	7900	470	1200	640	180	7600	940
Total PCDDs	690	607	100	9200	570	1300	1000	210	8200	1000
2,3,7,8-TCDF	2.2	4.9	ND	83	1.2	1.0	0.72	ND	4.5	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	1.2	ND	13	0.5	0.67	0.55	ND	4.6	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	120	187	2.8	1800	37	17	7.7	6.0	36	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	27	57	ND	580	6.7	5.0	2.7	ND	20	4.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	12	19	ND	170	5.8	5.7	2.6	ND	16	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.78	ND	8.7	ND	1.2	0.8	ND	5.2	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND					ND				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.3	3.5	ND	74	ND	2.2	2.1	ND	14	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND					ND				
OCDF	2.0	1.2	ND	38	ND	2.1	1.4	ND	18	ND
Total PCDFs	170	260	12	2600	62	37	14	15	86	35
344'5-TCB(#81)	5.6	3.3	ND	49	5	5.6	2.3	ND	24	ND
33'44'-TCB(#77)	8.0	9.7	ND	150	5	8.4	4.8	ND	31	ND
33'44'5-PenCB(#126)	95	82	ND	680	74	110	80	17	520	90
33'44'55'-HxCB(#169)	170	150	10	1300	130	64	27	16	190	58
Total Non-ortho PCBs	280	200	25	1500	230	190	110	59	740	160
Total	1100	800	170	9700	930	1600	1000	290	8500	1300
◆【WHO-98】◆										
T PCDDs-TEQ	16	10	1.7	77	13	15	5.7	5.0	34	15
T PCDFs-TEQ	62	100	2.0	970	21	10	4.3	3.5	33	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	11	9	0.6	77	9	12	8.2	2.0	54	9.5
Total-TEQ	89	110	6.3	1100	48	37	16	12	100	35
◆【WHO-05】◆										
T PCDDs-TEQ	15	9.9	1.8	76	13	16	5.9	5.1	35	11
T PCDFs-TEQ	35	58	1.4	440	12	6.6	2.5	2.3	14	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	14	11	0.8	94	12	13	8.6	2.6	58	9.5
Total-TEQ	65	72	6.3	560	41	37	16	12	100	31
Lipid(%)	0.29	0.06	0.16	0.64	0.29	0.33	0.05	0.22	0.49	0.31
Age(years)	65.7	13.5	31	98	66	68.1	5.4	60	86	67

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　油症患者、同居家族認定患者の血液中PCDD、PCDF及びノンオルソPCB濃度測定結果

(pg/g lipid)

	油症患者(同居家族認定を除く、N=853)					同居家族認定者 (N=88)					一般の人 (N=127、2004年)				
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Median	Mean	SD	Min	Max	Median	Mean	SD	Min	Max	Median
2,3,7,8-TCDD	1.6	1.1	ND	8.6	1.5	1.4	1.2	ND	7.4	1.3	1.9	0.84	ND	4.3	1.8
1,2,3,7,8-PeCDD	9.5	5.9	ND	48	8.2	6.5	3.7	ND	28	6.3	9.0	3.4	3.2	20	8.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	1.9	ND	15	2.2	2.0	1.5	ND	9.4	ND	3.6	1.9	ND	13	3.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	38	38	ND	320	26	20	14	2.9	91	17	28	11	7.3	70	25
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.8	3.3	ND	36	3.0	3.2	2.9	ND	17	2.3	4.5	2.8	ND	16	3.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	44	54	ND	1200	35	39	25	10	170	34	78	55	18	470	62
OCDD	600	570	72	7900	490	420	290	81	1700	320	1200	640	180	7600	940
Total PCDDs	700	630	100	9200	590	490	320	112	1700	370	1300	1000	210	8200	1000
2,3,7,8-TCDF	2.3	5.1	ND	83	1.2	1.1	1.1	ND	7.5	ND	1.0	0.72	ND	4.5	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.2	1.2	ND	13	ND	0.87	1.0	ND	8.3	ND	0.67	0.55	ND	4.6	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	120	190	2.8	1800	42	29	42	3.1	320	16	17	7.7	6.0	36	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	29	60	ND	580	7.6	5.6	10	ND	78	3.2	5.0	2.7	ND	20	4.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	13	20	ND	170	6.3	4.6	5.2	ND	35	3.6	5.7	2.6	ND	16	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.78	ND	8.7	ND	1.2	0.67	ND	5.6	ND	1.2	0.8	ND	5.2	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.0	0.10	ND	3.3	ND	ND					ND				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.3	3.7	ND	74	ND	1.8	2.0	ND	12	ND	2.2	2.1	ND	14	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.1	ND	2.7	ND	ND					ND				
OCDF	2.0	1.2	ND	38	ND	ND					2.1	1.4	ND	18	ND
Total PCDFs	180	270	12	2600	70	48	58	12	455	30	37	14	15	86	35
344'5-TCB(#81)	5.6	3.5	ND	49	5	5.2	1.6	ND	18	ND	5.6	2.3	ND	24	ND
33'44'-TCB(#77)	8.2	10	ND	150	5	6.1	3.5	ND	23	ND	8.4	4.8	ND	31	ND
33'44'5-PenCB(#126)	97	83	ND	680	76	81	69	ND	390	63	110	80	17	520	90
33'44'55'-HxCB(#169)	170	150	10	1300	130	94	72	12	340	68	64	27	16	190	58
Total Non-ortho PCBs	290	210	25	1500	240	190	130	44	730	150	190	110	59	740	160
Total	1200	820	170	9700	990	720	450	220	2400	590	1600	1000	290	8500	1300
◆【WHO-98】◆															
T PCDDs-TEQ	16	10	1.7	77	14	11	6.3	3.2	48	10	15	5.7	5.0	34	15
T PCDFs-TEQ	67	100	2.0	970	23	16	22	2.0	170	8.7	10	4.3	3.5	33	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	11	9	0.6	77	9	9.0	7.5	1.2	42	7.3	12	8.2	2.0	54	9.5
Total-TEQ	94	120	6.3	1100	52	36	33	7.7	260	28	37	16	12	100	35
◆【WHO-05】◆															
T PCDDs-TEQ	16	10	1.8	76	13	11	6.3	3.3	48	10	16	5.9	5.1	35	11
T PCDFs-TEQ	39	60	1.4	440	14	10	14	1.4	110	5.7	6.6	2.5	2.3	14	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	15	11	0.8	94	12	11	8.6	2.3	48	8.7	13	8.6	2.6	58	9.5
Total-TEQ	69	74	6.3	560	44	32	26	7.7	210	26	37	16	12	100	31
Lipid(%)	0.29	0.07	0.16	0.64	0.29	0.28	0.05	0.20	0.41	0.27	0.33	0.05	0.22	0.49	0.31
Age(years)	66.4	13.7	31	98	68	58.4	9.7	45	89	57	68.1	5.4	60	86	67

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4　油症患者、未認定者の血液中PCDD、PCDF及びノンオルソPCB濃度測定結果

(pg/g lipid)

	油症患者(N=941)					未認定者 (N=757)					一般の人 (N=127、2004年)				
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Median	Mean	SD	Min	Max	Median	Mean	SD	Min	Max	Median
2,3,7,8-TCDD	1.6	1.1	ND	8.6	1.4	1.4	1.0	ND	7.8	1.2	1.9	0.84	ND	4.3	1.8
1,2,3,7,8-PeCDD	9.2	5.8	ND	48	7.9	6.7	4.1	ND	29	6.1	9.0	3.4	3.2	20	8.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	1.9	ND	15	2.2	2.5	1.8	ND	18	2.2	3.6	1.9	ND	13	3.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	37	37	ND	320	25	21	16	ND	180	17	28	11	7.3	70	25
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.7	3.3	ND	36	3.0	3.5	3.0	ND	28	2.9	4.5	2.8	ND	16	3.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	43	52	ND	1200	34	41	38	4	640	34	78	55	18	470	62
OCDD	590	552	72	7900	470	600	500	37	6200	460	1200	640	180	7600	940
Total PCDDs	690	607	100	9200	570	670	530	54	6900	530	1300	1000	210	8200	1000
2,3,7,8-TCDF	2.2	4.9	ND	83	1.2	1.2	1.4	ND	19	ND	1.0	0.72	ND	4.5	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	1.2	ND	13	0.5	0.86	1.0	ND	10	ND	0.67	0.55	ND	4.6	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	120	187	2.8	1800	37	24	38	1.3	410	14	17	7.7	6.0	36	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	27	57	ND	580	6.7	5.5	10	ND	140	3.1	5.0	2.7	ND	20	4.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	12	19	ND	170	5.8	4.8	4.3	ND	39	3.7	5.7	2.6	ND	16	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.78	ND	8.7	ND	1.2	0.81	ND	9.2	ND	1.2	0.8	ND	5.2	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND					1.0	0.08	ND	3.0	ND	ND				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.3	3.5	ND	74	ND	2.2	3.1	ND	46	ND	2.2	2.1	ND	14.2	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND					1.0	0.19	ND	6.1	ND	ND				
OCDF	2.0	1.2	ND	38	ND	2.0	0.38	ND	9.1	ND	2.1	1.4	ND	18	ND
Total PCDFs	170	260	12	2600	62	44	52	10	490	30	37	14	15	86	35
344'5-TCB(#81)	5.6	3.3	ND	49	5	5.6	3.5	ND	64	ND	5.6	2.3	ND	24	ND
33'44'-TCB(#77)	8.0	9.7	ND	150	5	7.0	7.7	ND	160	ND	8.4	4.8	ND	31	ND
33'44'5-PenCB(#126)	95	82	ND	680	74	88	93	ND	670	58	110	80	17	520	90
33'44'55'-HxCB(#169)	170	150	10	1300	130	81	72	ND	740	61	64	27	16	190	58
Total Non-ortho PCBs	280	200	25	1500	230	180	150	20	960	140	190	110	59	740	160
Total	1100	800	170	9700	930	900	660	128	7300	730	1600	1000	290	8500	1300
◆【WHO-98】◆															
T PCDDs-TEQ	16	10	1.7	77	13	11	6.3	3.2	48	10	15	5.7	5.0	34	15
T PCDFs-TEQ	62	100	2.0	970	21	16	22	2.0	170	8.7	10	4.3	3.5	33	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	11	9	0.6	77	9	9.6	9.8	0.6	69	6.6	12	8.2	2.0	54	9.5
Total-TEQ	89	110	6.3	1100	48	34	30	3.4	240	26	37	16	12	100	35
◆【WHO-05】◆															
T PCDDs-TEQ	15	9.9	1.8	76	13	11	6.5	1.5	45	10	16	5.9	5.1	35	11
T PCDFs-TEQ	35	58	1.4	440	12	8	10	0.9	130	5.4	6.6	2.5	2.3	14	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	14	11	0.8	94	12	11	11	0.7	75	7.8	13	8.6	2.6	58	9.5
Total-TEQ	65	72	6.3	560	41	30	22	3.3	160	25	37	16	12	100	31
Lipid(%)	0.29	0.06	0.16	0.64	0.29	0.30	0.06	0.13	0.52	0.30	0.33	0.05	0.22	0.49	0.31
Age(years)	65.7	13.5	31	98	66	56.6	18.2	5	90	58	68.1	5.4	60	86	67

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.

図１　油症認定患者の血液中2. 3. 4. 7. 8. -PeCDF濃度分布（n=941）
（pg/g　lipid）

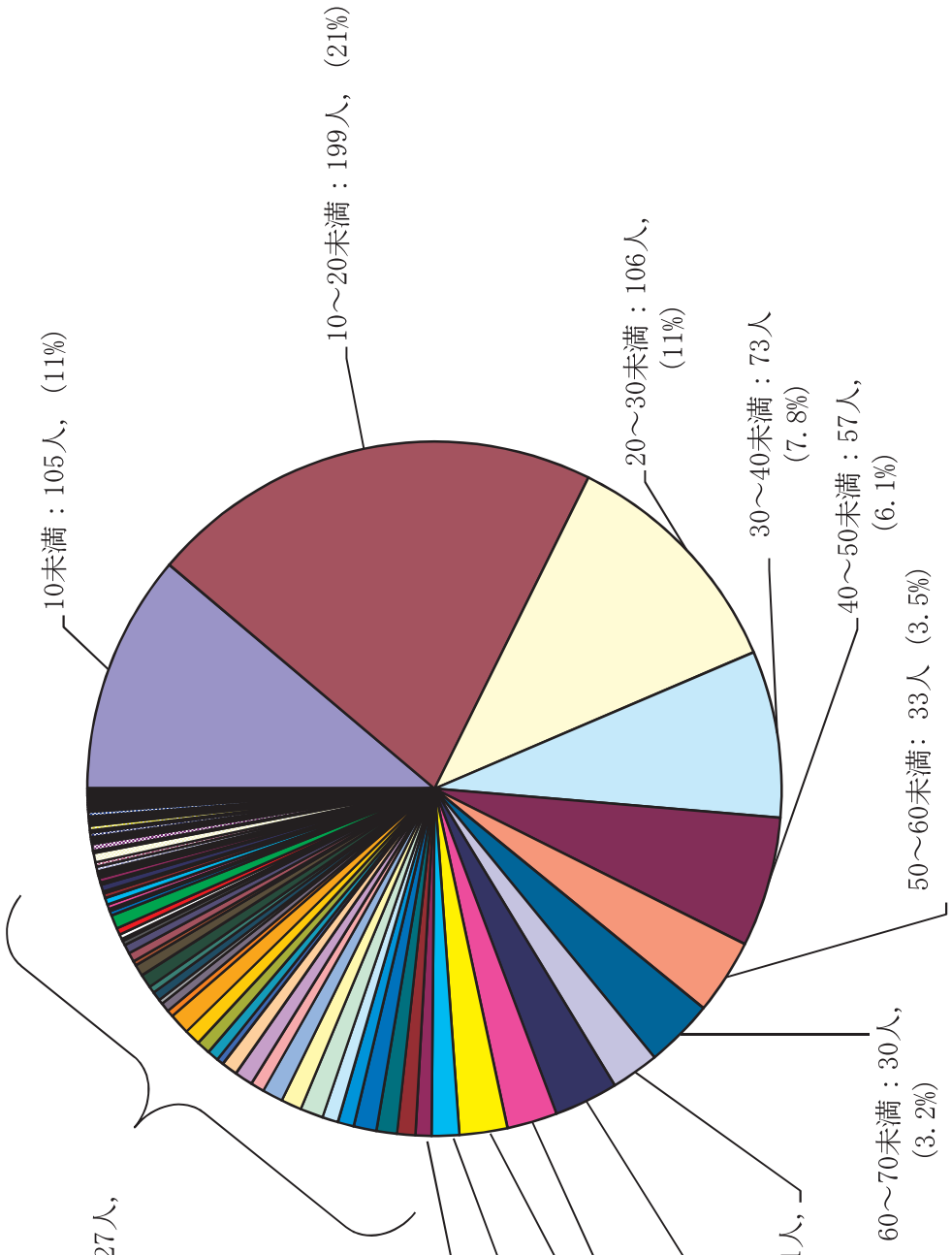


図２　未認定者の血液中2, 3, 4, 7, 8-PCDF濃度(n=757)
(pg/g lipid)

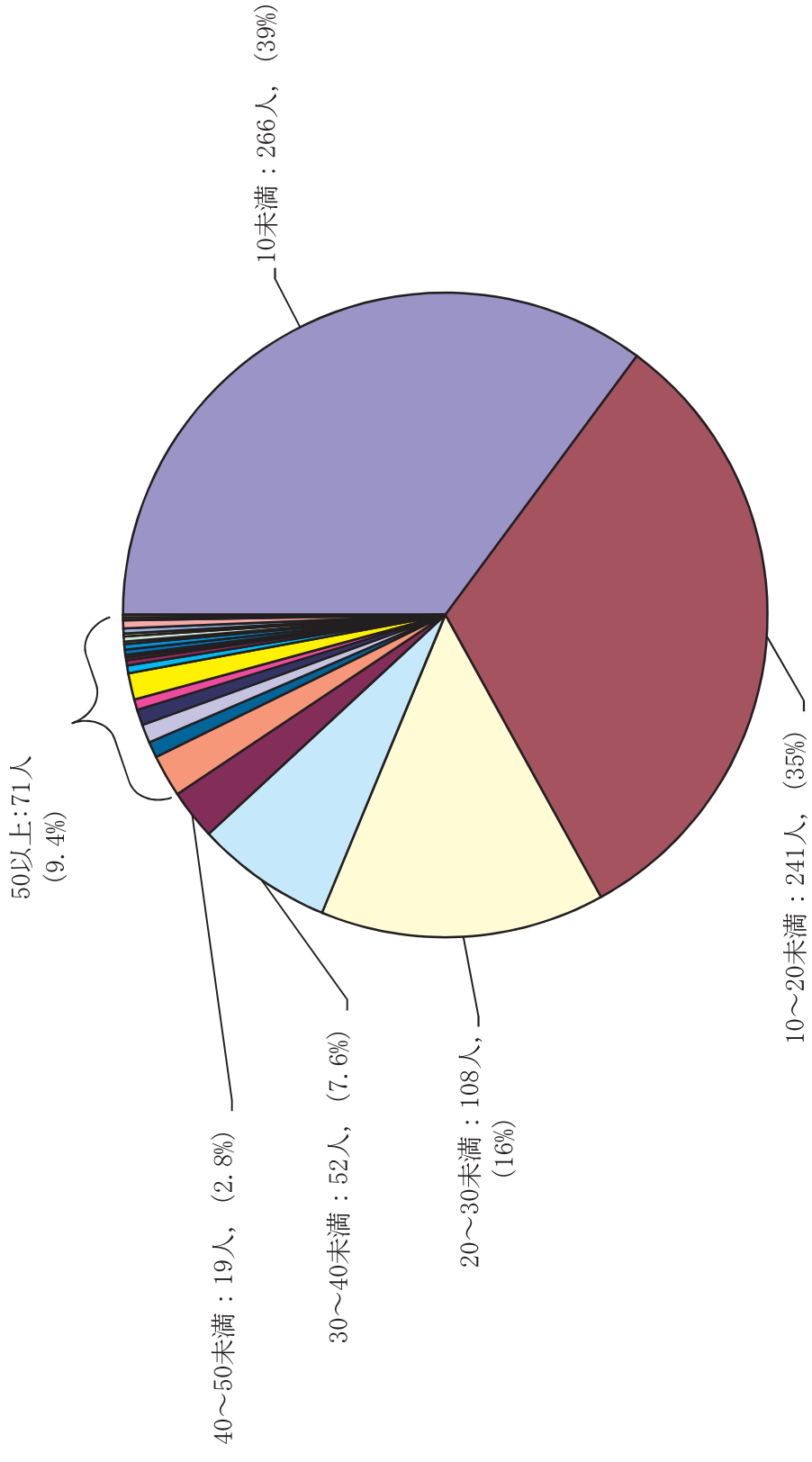
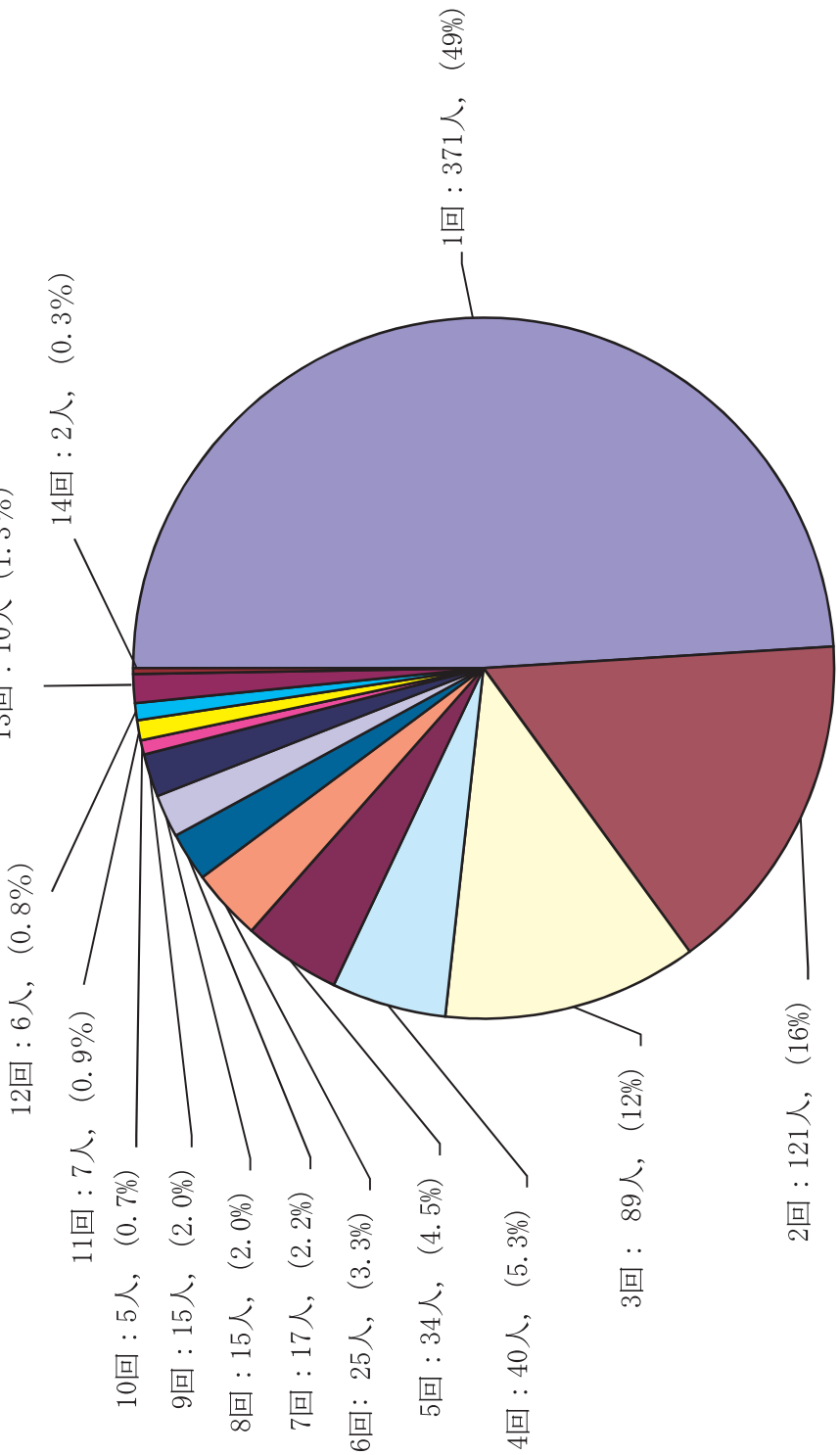


図３　未認定者の検診受診回数（2001−2015年、n=757）



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 28 年度　分担研究報告書

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の関係の検討

研究分担者 二宮 利治
（九州大学大学院医学研究院 衛生・公衆衛生学分野・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。平成 28 年度は、平成 27 年度に久山町の地域住民 495 人に対して実施した断面調査のデータの整備、データセット化を行った。また、対象者から得られた血液サンプルを用いて、血中ダイオキシン類濃度の測定を行い、平成 28 年 11 月 30 日に全検体（495 検体）の測定を終了し、データのデータクレンジングを実施後、全調査結果のデータセット化を予定通り完了した。地域住民 495 人における 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid であった。
今後は、血中ダイオキシン類濃度と調査した疾患の有病率および各疾患バイオマーカー値との関係を検討する。加えて、本調査で得られた地域住民の成績と油症患者の成績を比較することにより、ダイオキシン類が人体に及ぼす影響を明らかにする予定である。

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、平成 27 年度に地域一般住民を対象に実施した断面調査の成績を用いて、地域住民のおける血中ダイオキシン類濃度の年齢階級別分布を明らかにする。さらに、血中ダイオキシン類濃度と調査した疾患の有

病率および各疾患バイオマーカー値との関係を検討する。加えて、本調査で得られた地域住民の成績と油症患者の成績を比較することにより、ダイオキシン類が人体に及ぼす影響を明らかにする。

B. 研究方法

本研究では、平成 27 年 10 月 23 日から 11 月 29 日に本研究に同意の得られた福岡県久山町の地域住民 495 人（平均年齢 62 歳）を対象に断面調査を実施し、血中ダイオキシン類濃度測定のための採血と心血管病や悪性疾患、生活習慣病などの有病率調査および様々な疾病マーカー測定を行った。

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した。さらに、胸部Ｘ線写真、心電図、腹部エコー、骨密度測定、皮膚 AGE 検査を実施した。採血では血中ダイオキシン類濃度に加え、血液生化学検査および免疫学的検査、ホルモン学的検査を行った。

血中ダイオキシン類濃度の測定は北九州生活科学センターに依頼した。ダイオキシン類濃度はポリ塩化ジベンゾダイオキシン（PCDD）7 種，ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)10 種，ノンオルソ PCB 4 種の 21 異性体について測定した。

真空採血管を用い血液を 30 ml 採取し、ダイオキシン類濃度測定まで冷蔵保存した。血液 5g を凍結乾燥した後、内標準を添加し高速溶媒抽出器（ASE）でダイオキシン類を抽出した。さらに，硫酸処理した後，硝酸銀シリカゲルカラムおよび活性炭カラムを直結して精製した。続いて、ダイオキシン画分を濃縮し，溶媒除去大量試料注入装置（SCLV）を装着した高分解能 GC/MS を用いて測定した。

ダイオキシン類の毒性等価量（TEQ）の計算には WHO が 2005 年に発表した毒性等価係数（TEF：WHO-05）を用いて計算し、検出限界以下の異性体は検出限界値の 1/2 をその濃度として計算した。

（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た。また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された。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、平成 27 年度に久山町の地域住民495人に対して実施した断面調査のデータの整備、データセット化を行った。また、対象者から得られた血液サンプルを用いて、血中ダイオキシン類濃度の測定を行い、平成 28 年 11 月 30 日に全検体（495 検体）の測定を終了した。測定されたダイオキシ

ンデータのデータクレンジングを実施後、平成 29 年 1 月 11 日にデータセット化を完了した。

本研究対象者における血中ダイオキシン類濃度の測定結果を表 1 に示す。測定されたダイオキシン類のうち、油症の主要原因物質とされている 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度の中央値は 10.5 pg/g lipid、25%タイル値は 7.1 pg/g lipid、75%タイル値は 15.2 pg/g lipid であった（図 1）。油症の診断基準値の 50 pg/g lipid を越える者は 495 人中わずか 4 名（0.8%）であった。この 4 名はいずれも健診時に明らかな臨床症状や自覚症状は認められなかったが、内 2 名が皮膚科受診を希望したため、今後九州大学病院皮膚科を受診してもらう予定である。なお、男女間で、2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度の分布に違いを認めなかった(図 2,3)。

次に調査参加者の年齢階級別に 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度を検討した（図 4)。2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度は、年齢階級が上がるとともに直線的に上昇した。最も濃度が高かった 80 歳以上における 2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度 は 17.9 pg/g lipid であった。

最後に油症患者との比較研究を行うために、本調査で得られた地域住民から、油症患者群 292 人（40 歳以上）と性・年齢を 1：1 でマッチングさせたコントロール群 292 人を無作為に抽出した。抽出サンプルの平均年齢 63.3 歳、男性 41.1%、平均 Body Mass Index は 23.2 kg/m^2、平均血圧は 132/74 mmHg であった。

D. 考察

本年度は、福岡県久山町に在住する地域住民 495 人を対象に血中ダイオキシン類濃度の測定を含む断面調査のデータセット化を計画通りに完了し、その解析を開始した。

久山町地域住民 495 人における血中 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度は、中央値 10.5 pg/g lipid と著しく低かった。一方、年齢階級の上昇に伴い、血中 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度が上昇したことから、食事に含まれる極微量なダイオキシン類が年齢とともに集積している可能性が考えられる。しかし、いずれの年齢においても油症の診断基準値に比べ、低値であった。

今後は、本年度整備したデータセットを用いて、血中ダイオキシン類濃度と調査した疾患の有病率および各疾患バイオマーカー値との関係を検討する。加えて、本調査で得られた地域住民の成績と油症患者の成績を比較することにより、ダイオキシン類が人体に及ぼす影響を明らかにする。

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。今年度の研究成果により、地域一般住民における血中ダイオキシン類の濃度は、加齢に伴い上昇した。今後、血中ダイオキシン類濃度と各疾患の有病率やバイオマーカー値との関連を検討する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Usui T, Nagata M, Hata J, Mukai N, Hirakawa Y, Yoshida D, Kishimoto H, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Serum Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol and Risk of Cardiovascular Disease in Community Dwellers with Chronic Kidney Disease: the Hisayama Study. J Atheroscler Thromb 2016 (in press)
2) Ikeda F, Shikata K, Hata J, Fukuhara M, Hirakawa Y, Ohara T, Mukai N, Nagata M, Yoshida D, Yonemoto K, Esaki M, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Combination of Helicobacter pylori Antibody and Serum Pepsinogen as a Good Predictive Tool of Gastric Cancer Incidence: 20-Year Prospective Data From the Hisayama Study. J Epidemiol 26: 629-636, 2016.
3) Hirabayashi N, Hata J, Ohara T, Mukai N, Nagata M, Shibata M, Gotoh S, Furuta Y, Yamashita F, Yoshihara K, Kitazono T, Sudo N, Kiyohara Y, Ninomiya T. Association Between Diabetes and Hippocampal Atrophy in Elderly Japanese: the Hisayama Study. Diabetes Care 39: 1543-1549, 2016.
4) Hata J, Mukai N, Nagata M, Ohara T, Yoshida D, Kishimoto H, Shibata M, Hirakawa Y, Endo M, Ago T, Kitazono T, Oike Y, Kiyohara Y, Ninomiya T. Serum Angiopoietin-Like Protein 2 Is a Novel Risk Factor for Cardiovascular Disease in the Community: the Hisayama Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 36: 1686-1691, 2016.
5) Takae K, Nagata M, Hata J, Mukai N, Hirakawa Y, Yoshida D, Kishimoto H, Tsuruya K, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Serum Uric Acid as a Risk Factor for Chronic Kidney Disease in a Japanese Community: the Hisayama Study. Circ J 80: 1857-1862, 2016.

2. 学会発表　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
3. その他　なし

表 1. 血中ダイオキシン類濃度の測定結果、久山町男女 495 人

	有効データ数	中央値	25%値	75%値	四分位範囲
2,3,7,8-TetraCDD	495	1.3	0.9	1.7	0.8
1,2,3,7,8-PentaCDD	495	5.5	3.9	7.7	3.8
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	495	2.5	1.9	3.4	1.5
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	495	18	12.7	26.5	13.8
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	495	3	1.9	4.5	2.6
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	495	30.5	23	42.7	19.7
OctaCDD	495	491.4	352.5	699	346.5
2,3,7,8-TetraCDF	495	0.9	0.9	1.4	0.5
1,2,3,7,8-PentaCDF	495	0.9	0.9	0.9	0
2,3,4,7,8-PentaCDF	495	10.5	7.1	15.2	8.1
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	495	3	2.3	4	1.7
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	495	3.3	2.4	4.5	2.1
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	495	1.9	1.9	1.9	0
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	495	1.9	1.9	1.9	0
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	495	1.9	1.9	2.6	0.7
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	495	1.9	1.9	1.9	0
OctaCDF	495	3.9	3.9	3.9	0
TriCB-77	495	9.9	9.9	9.9	0
TriCB-81	495	9.9	9.9	9.9	0
PentaCB-126	495	49.8	28.9	78.5	49.6
HexaCB-169	495	55.6	35.4	80.2	44.8
PentaCB-123	495	156.9	84.7	250.3	165.6
PentaCB-118	495	9414.3	5594.5	15831	10236.5
PentaCB-114	495	958.5	511.8	1621.5	1109.7
PentaCB-105	495	1654	1042.7	2760.9	1718.2
HexaCB-167	495	1770.3	1047.6	2794.9	1747.3
HexaCB-156	495	4577.4	2865.3	7075.5	4210.2
HexaCB-157	495	1034.2	653.7	1725.1	1071.4
HeptaCB-189	495	610.1	368.4	891.2	522.8
Total PCDDs	495	552.4	400.1	780.3	380.2
Total PCDFs	495	25.6	19.8	33.2	13.4
Total PCDDs/PCDFs	495	576.7	422.2	809.1	386.9
Total Non-ortho PCBs	495	118.6	80	172.3	92.3
Total Mono-ortho PCBs	495	20754.1	12393.7	32700.9	20307.2
Total Coplanar PCBs	495	20862.7	12475.3	32897.6	20422.3
Total	495	21556.5	12901.5	33485.7	20584.2
PCDDs-TEQ	495	9.6	6.4	13.1	6.7
PCDFs-TEQ	495	6.2	4.3	8.8	4.5
PCDDs/PCDFs-TEQ	495	15.8	10.8	21.9	11.1
Non-ortho PCBs-TEQ	495	5.6	3.3	8.6	5.3
Mono-ortho PCBs-TEQ	495	4.5	2.8	7.2	4.4
Coplanar PCBs-TEQ	495	10.2	6.4	16.3	9.9
Total TEQ	495	26.5	17.9	38.3	20.4
PCDDs-TEQ	495	9.7	6.5	13.2	6.7
PCDFs-TEQ	495	4.1	2.9	5.7	2.8
PCDDs/PCDFs-TEQ	495	13.7	9.4	19	9.6
Non-ortho PCBs-TEQ	495	6.7	4.2	10.3	6.1
Mono-ortho PCBs-TEQ	495	0.6	0.4	1	0.6
Coplanar PCBs-TEQ	495	7.3	4.5	11.5	7
Total TEQ	495	21.5	14.6	30.7	16.1

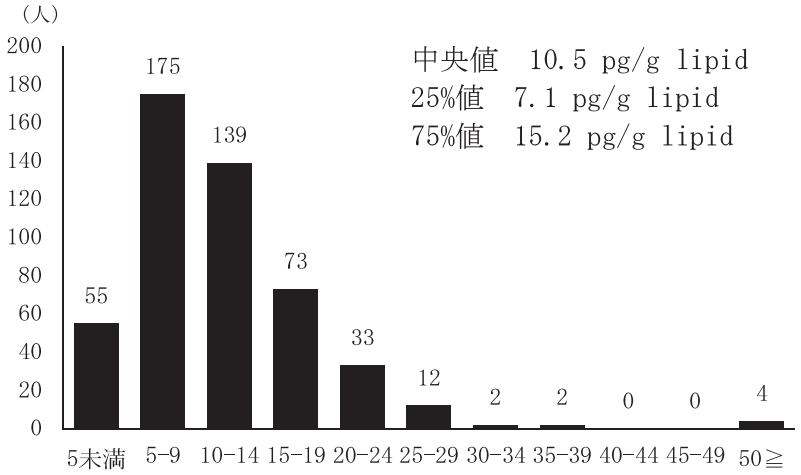


図１．2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度の分布，久山町男女 495 人

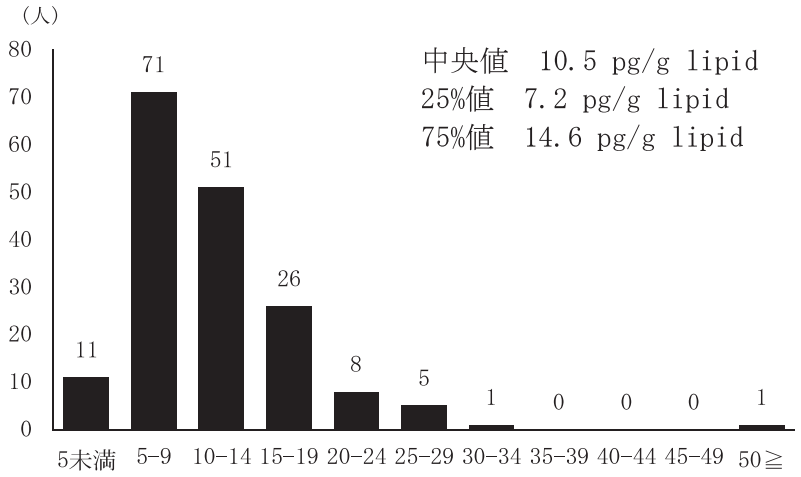


図２．2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度の分布，久山町男性 174 人

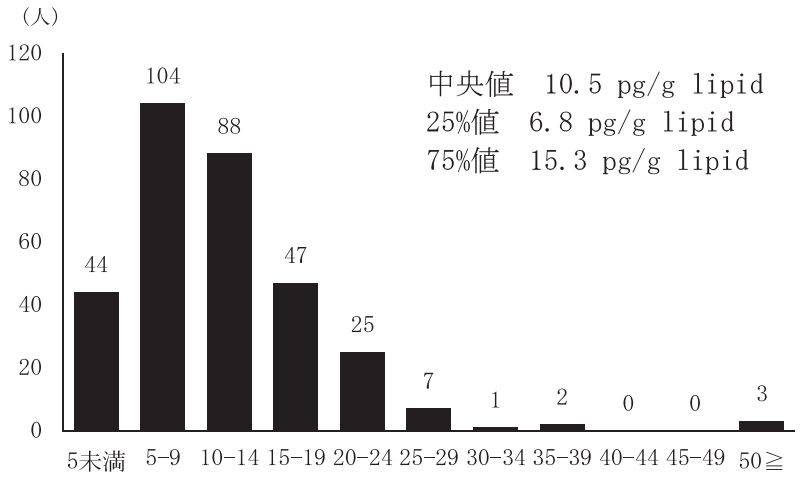


図３．2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度の分布，久山町女性 321 人

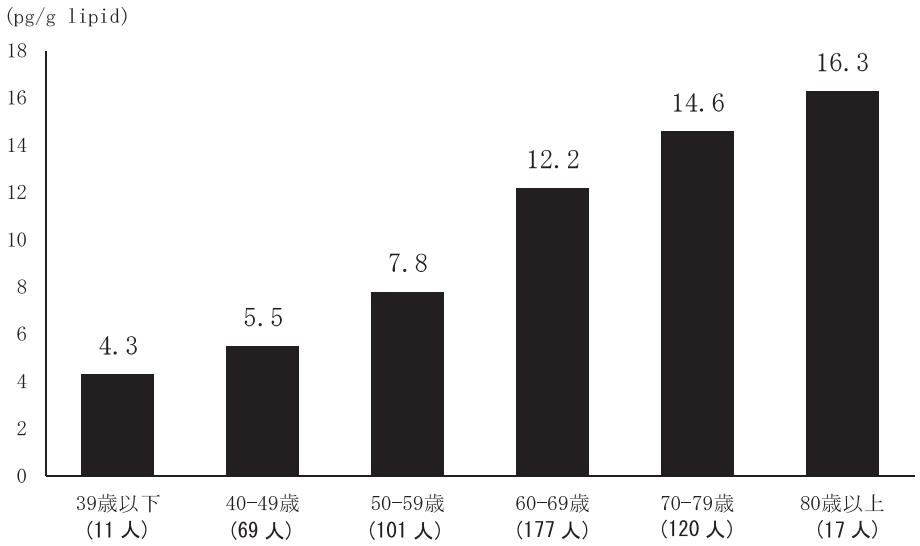


図 4. 年齢階級別 2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度の分布, 久山町男女 495 人

分担研究報告書

福岡県久山町に在住する地域住民 495 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度

研究分担者　戸高　尊　　公益財団法人北九州生活科学センター　室長
研究協力者　広瀬勇気　　公益財団法人北九州生活科学センター　検査員
上原口奈美　公益財団法人北九州生活科学センター　検査員
福島　直　　公益財団法人北九州生活科学センター　理事
今地政美　　公益財団法人北九州生活科学センター　理事長

研究要旨　福岡県久山町に在住する地域住民 495 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度の測定を行った。血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニールの平均濃度は、それぞれ 24 pg TEQ/g lipid および 214 pg/g lipid であった。今回得られた 495 名中、60 歳以上の 314 名（平均年齢 69 歳）の平均濃度を、平成 16 年度に行った那珂川町在住 127 名（平均年齢 68 歳）の測定値と比較した結果、ダイオキシン類濃度で 20%およびポリ塩化ビフェニール濃度で 40%低い濃度であった。

A．研究目的

油症はポリ塩化ジベンゾダイオキシン(PCDD)、ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)，ポリ塩化ビフェニール(PCB)およびポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)が混入したカネミオイルを摂取して発症した複合中毒である。油症の発生から 45 年以上経過しているが、いまでも何人かの患者が、ダイオキシン類特有の症状に悩まされている。これら患者の血液中 PCDD, PCDF, PCB および PCQ 濃度は健常人に比べて高濃度である[1,2]。

毎年行われる全国一斉検診において、油症認定者と未認定者を油症診断基準により明確に識別する際、対照となる一般健常人の血液中 PCDD, PCDF および PCB 濃度が重要です。平成 16 年に福岡県那珂川町在住の健常人で 60 歳以上の高齢者 127 名を対象とし、血液中 PCDD, PCDF および PCB の異性体分析を行った．それから 10 年以上経過し、これらの濃度は、近年日本で行なわれたダイオキシン類のモニタリング調査結果と比較して高い濃度を示していた。今回、福岡県久山町に在住する地域住民 495 名について、ダイオキシン類による人体への影響を明らかにする目的で、血液中 PCDD, PCDF および PCB 濃度の測定を行った。

B．研究方法

1. 対象者

平成 27 年 6 月 26 日から 8 月 29 日に福岡県久山町で実施された生活習慣病健診を受診した地域住民を対象とし，最終的に 495 名に対して、血液中 PCDD, PCDF および PCB 分析のための採血を行った。採血は真空採血管を用いて血液 30 ml を採取し、測定に供するまで冷蔵保存した。受診時 495 名の平均年齢は 62 歳（34-92 歳）であった。

2. 血液中 PCDD, PCDF および PCB 濃度の測定

血液中 PCDD, PCDF および PCB の抽出・精製は、以前報告した方法に準じて行った[1,2]。ダイオキシン類の測定は大量注入装置を装備したガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置を用いて行い、PCB の測定はガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置を用いて行った[1,2]。

データの解析に関して, Toxic Equivalent (TEQ) 濃度の算出は毒性等価係数（Toxic Equivalency Factor：WHO-05）を用いて計算した。定量下限値は厚生労働省の血液中ダイオキシン類測定暫定マニュアルに準拠し、平均濃度算出時、定量下限値以下の異性体は定量下限値の 1/2 の濃度として算出した。

（倫理面への配慮）

福岡県久山町在住 495 名の血液中 PCDD, PCDF および PCB 濃度について、この試験計画は九州大学倫理委員会により承認を得て行われた。また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された。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

1. 操作ブランク値

今回実施した 495 名の血液中ダイオキシン類分析は、1 回に行う検体数を 22 検体とし、23 回行った。分析結果の信頼性を確保するために血液 22 検体につき操作ブランク試験 1 件、内部精度管理として市販のコントロール血清 1 件を含む合計 24 検体で実施した。

血液試料からダイオキシン類を抽出・精製する場合の注意点として、環境中に存在する高濃度のダイオキシン類からの汚染を守ることが重要であります。公益財団法人北九州生活科学センターでは、生体試料からダイオキシン類の抽出・精製を行う実験室内のダイオキシン類濃度を可能な限りゼロにするための空調システムを装備したクリーンルーム実験室を構築しました。今回行った 23 回試験時の操作ブランク値について、TriCB-77 以外のブランク値は観察されませんでした。TriCB-77 のブランク値も定量下限値の 1/10 以下なので、測定値に影響を及ぼすことは無いと言えます。

2. コントロール血清の分析

当センターでは、毎年国内で生体試料中ダイオキシン類の分析を行う機関との外部精度管理試験に参加し、血液中ダイオキシン類やポリ塩化ビフェニールの分析値について、信頼性の確保に努めています。今回行った 23 回の試験で、各コントロール血清の Total-TEQ および Total PCB 濃度値から算出した CV 値は, それぞれ 3.1 および 5.8％で、ともに 10％以下でありました。さらに、油症の主要原因物質である 2,3,4,7,8-pentaCDF 濃度の CV 値も 8.2％で、10％以下でありました。また、それ以外の各異性体についても全体的にバラツキは少なく、各試験時における血液中 PCDD, PCDF, および PCB 濃度の分析値に関しては、信頼性の高い結果が得られていると考えられます。

3. 血液保存時の安定性

今回の健診は平成 27 年 10 月 26 日から 11 月 29 日の 35 日間の間に、14 回に分けて行われた。採血された血液試料は、毎回直ちに当センターに搬送され、採血管中の血液をガラス管に移した後、測定に供するまで 4℃で冷蔵保存した。1 回目の血液試料（サンプル No. 1 から 22）からのダイオキシン類の抽出・精製を平成 27 年 12 月 10 日に行い、最終の血液試料（サンプル No. 480 から 495）の抽出・精

製を平成 28 年 8 月 3 日に行いました。平成 28 年 8 月 17 日に血液試料（サンプル No.1 から 22）の抽出・精製を再度行い、約 8 ヶ月間血液を冷蔵保存した状態における血液中 PCDD,PCDF,および PCB の測定値について検討を行った。再度測定した 22 検体のダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度を、最初に行った 22 検体の分析値と比較した結果、すべての検体で、誤差範囲が 10%以内であり、ほぼ同じ測定値を示した。さらに、2,3,4,7,8-pentaCDF についても同様の結果が得られ、血液検体の冷蔵保存期間中における PCDD,PCDF,および PCB の分析値は安定であることが示された。

4.久山町在住 495 名の PCDD,PCDF,および PCB 濃度

表 1-2 に久山町在住一般健常人 495 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度を示した。495 名の血液中ダイオキシン類濃度の平均濃度は 24 pg TEQ/g lipid で、濃度範囲は 3.8 から 85 pg TEQ/g lipid の値を示した。ポリ塩化ビフェニール濃度に関しては、平均濃度は 214 pg/g lipid、濃度範囲は 11 から 934 pg/g lipid であった。

D．考察

平成 16 年度に那珂川町在住の 60 歳以上の高齢者 127 名（平均年齢 68 歳）を対象とし、血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニールの異性体分析を行った。127 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度は、それぞれ 37 pg TEQ/g lipid および 385 pg/g lipid であった [2]。これらの結果を今回得られた久山町の結果と比較した。

今回調査に参加した 495 名の中に 60 歳以上の高齢者が 314 名（平均年齢 69 歳）受診していた。314 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニールの平均濃度は、それぞれ 29 pg TEQ/g lipid および 268 pg/g lipid の値を示した。これらの結果は、ダイオキシン類濃度で 20%およびポリ塩化ビフェニール濃度で 40%、那珂川町の結果と比較して低い濃度であった。また、今回得られた血液中 2,3,4,7,8-pentaCDF 濃度の平均値は 12 pg/g lipid で、那珂川町の結果より約 10%程度低い値を示した。以上得られた結果から、福岡県に住む健常人のダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニールの体内曝露量は、平成 16 年から平成 27 年の期間に減少している可能性が考えられます。

平成 23 年から平成 26 年の期間に、環境省は 334 名を対象に、ダイオキシン類の曝露量モニタリング調査を実施した。334 名の平均年齢は 50 歳（26-77）で、血液中ダイオキシン類濃度は 12 pg TEQ/g lipid、濃度範囲は 0.40 から 56 pg TEQ/g lipid と報告している [3]。

今回受診した 495 名中、60 歳以下の年齢の方が 194 名で、このグループの平均年齢は 51 歳であった。血液中ダイオキシン類濃度は 16 pg TEQ/g lipid、濃度範囲は 3.8 から 40 pg TEQ/g lipid の値を示した。比較するグループ間の平均年齢はほぼ同じですが、対象者の住んでいる地域、年齢分布や人数が異なるため、単純に比較することは難しいですが、今回得られた結果は、環境省の調査結果よりやや高い値が得られています。

E．結論

久山町在住一般健常人 495 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度を測定した。今回得られた 495 名中、60 歳以上の 314 名（平均年齢 69.3 歳）の平均濃度を平成 16 年度の那珂川町在住 127 名の測定値と比較した結果、ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度で、それぞれ 20 および 40%低い

濃度であった。したがって、福岡県に住む健常人のダイオキシン類の体内曝露量は、平成 16 年から平成 27 年の期間に減少している可能性が考えられます。

Ｆ．参考文献

1) Todaka T, *et al*. Concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-*ortho* and mono-*ortho* polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Chemosphere 2007; 66: 1983-1989.
2) Todaka T, *et al*. Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. Chemosphere 2009; 74: 902-909.
3) Official statement by the Ministry of the Environment, Government of Japan. The exposure to chemical compounds in the Japanese people. http://env.go.jp/chemi/dioxin/pamph/cd/2016ja_full.pdf.

Ｇ．研究発表

１．論文発表

1) Todaka T, Honda A, Imaji M, Takao Y, Mitoma C, Furue M. Effect of colestimide on the concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dizenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Environmental Health, doi: **10**, 1186/s12940-016-0150-z.

２．学会発表

1) 広瀬勇気，戸髙尊，本多彰紀，福島直，今地政美，梶原淳睦，平川博仙，高尾佳子，三苫千景，古江増隆：油症患者の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度に及ぼすコレスチミドの影響、第 25 回環境化学討論会（新潟)、2016 年 6 月 8-10 日。

Ｈ．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

１．特許取得

なし

２．実用新案登録

なし

３．その他

なし

表 1　福岡県久山町に在住する495名の血液中ダイオキシン類濃度

Congeners	Concentration (pg/g lipid)									
	Hisayama Town (n=495)					Nakagawa Town (n=127)				
	Mean	Median	SD	Minimum	Maximum	Mean	Median	SD	Minimum	Maximum
2,3,7,8-TetraCDD	1.3	1.3	0.7	0.5	3.7	1.8	1.7	0.8	0.5	4.3
1,2,3,7,8-PentaCDD	5.9	5.5	2.7	0.5	15	8.8	8.5	3.4	2.7	20
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	2.6	2.5	1.5	1.0	10	3.6	3.2	1.9	1.0	13
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	20	18	11	2.3	70	28	25	11	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	3.4	3.0	2.4	1.0	16	4.5	3.9	2.8	1.0	16
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	36	31	22	8.6	191	79	62	55	18	470
OctaCDD	614	491	504	140	6031	1222	940	937	181	7614
Total PCDDs	684	552	536	163	6324	1347	1041	1002	214	8170
2,3,7,8-TetraCDF	1.1	1.0	0.8	0.5	5.1	1.0	0.5	0.7	0.5	4.5
1,2,3,7,8-PentaCDF	ND					ND				
2,3,4,7,8-PentaCDF	12	11	11	0.5	171	17	16	6.5	6.0	37
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	3.5	3.0	2.7	1.0	37.0	4.9	4.4	2.7	1.0	20
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	3.7	3.3	2.2	1.0	16.2	5.7	5.2	2.6	1.0	16
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	ND					ND				
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	ND					ND				
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	2.2	1.0	2.4	1.0	32.2	2.2	1.0	2.1	1.0	14.2
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	ND					ND				
OctaCDF	ND					ND				
Total PCDFs	28	26	17	9.5	235	37	35	13	15	86
TriCB-77	ND					ND				
TriCB-81	ND					ND				
PentaCB-126	62	50	49	5	316	113	90	80	17	519
HexaCB-169	63	56	37	5	267	64	58	27	16	192
Total Non-*ortho* PCBs	137	119	83.4	20.0	528	191	157	106	59	744
PentaCB-123	667	164	2532	5	26271	469	367	328	72	2460
PentaCB-118	11436	9003	9095	107	71322	24446	20825	14638	4654	111944
PentaCB-114	1187	989	848	17	4699	1699	1554	827	491	5696
PentaCB-105	2056	1561	1662	56	13251	5084	4162	3372	891	23946
HexaCB-167	2277	1843	1764	115	16053	3669	3123	1884	1102	14952
HexaCB-156	4953	4325	3210	79	19744	7989	7086	3752	2624	23537
HexaCB-157	1160	983	779	5	4873	2023	1887	914	594	6774
HeptaCB-189	722	616	492	35	4392	1048	957	517	348	4050
Total Mono-*ortho* PCBs	24459	20711	16536	1136	118904	46426	39345	24430	13511	191449
TEQ from PCDDs	10	9.7	4.8	2.1	27	15	14	5.8	4.8	35
TEQ from PCDFs	4.8	4.1	3.8	0.6	57	6.6	6.2	2.5	2.3	14
TEQ from PCDDs/PCDFs	15	14	7.7	3.1	74	22	21	7.9	7.1	47
TEQ from non-*ortho* PCBs	8.1	6.7	5.7	0.7	37	13	11	8.6	2.6	58
TEQ from mono-*ortho* PCBs	0.7	0.6	0.5	0.0	3.6	1.4	1.2	0.7	0.4	5.7
TEQ from dioxin-like PCBs	8.8	7.3	6.2	0.7	40	15	12	9.3	3.0	63
Total TEQ	24	21	13	3.8	85	37	33	16	11	103

ND (less than the detection limit) values introduced to half values of the detection limit and calculated the TEQ conce
SD: standard deviation.
CDD: chlorinated dibenzo-p-dioxin.
CDF: chlorinated dibenzofuran.
CB: chlorinated biphenyl.

表 2　福岡県久山町に在住する495名の血液中ポリ塩化ビフェニール濃度

Congeners	Concentration (pg/g lipid)									
	Hisayama Town (n=495)					Nakagawa Town (n=127)				
	Mean	Median	SD	Minimum	Maximum	Mean	Median	SD	Minimum	Maximum
TriCB-29	11	5	10	5	104	25	23	18	5	110
TriCB-28	1050	873	1031	5	11784	2571	2028	1658	768	10935
TriCB-37	424	168	641	5	4534	ND				
TetraCB-52/69	368	224	499	5	5651	1292	1097	830	387	5809
TetraCB-49	71	46	86	5	843	303	283	127	96	735
TetraCB-47/48	237	214	164	5	1960	607	576	214	214	1658
TetraCB-44	98	69	132	5	1955	459	455	175	119	998
TetraCB-71	11	5	17	5	311	192	190	73	5	401
TetraCB-63	68	60	44	5	278	146	122	89	26	506
TetraCB-74	7813	5943	6463	210	42473	19526	17413	10790	3542	72298
TetraCB-70	126	97	141	5	1772	260	243	98	44	564
TetraCB-66	1104	913	875	48	7277	2349	1720	1823	421	12354
TetraCBs-56/60	181	151	143	5	1184	888	646	704	152	4956
PentaCB-95/98	244	186	223	5	2972	836	732	407	262	2918
PentaCB-92	338	261	285	13	2660	863	671	662	146	4807
PentaCB-101	799	624	740	20	11175	1902	1489	1235	329	8083
PentaCB-99	6103	4794	4499	284	36661	12545	11002	6783	2666	39885
PentaCB-117	440	347	340	12	1922	926	737	680	164	4369
PentaCB-87	344	292	246	5	2264	693	602	379	202	2920
PentaCB-85	91	71	89	5	1074	219	175	142	44	901
PentaCB-110	153	127	126	5	1516	412	382	176	116	1025
PentaCB-107/108	591	458	483	23	3347	992	778	757	174	5129
HexaCB-151	543	418	452	5	4988	1260	1007	937	244	5835
HexaCB-135	190	153	147	5	1219	477	416	291	111	2262
HexaCB-147	230	180	168	5	868	484	410	317	37	1891
HexaCB-139/149	52	39	49	5	445	825	706	477	115	3402
HexaCB-134	16	13	14	5	142	27	5	31	5	169
HexaCB-165	50	38	44	5	292	ND				
HexaCB-146	8308	7094	5521	332	35229	13875	11993	6700	3958	47037
HexaCB-132	55	41	59	5	644	283	246	170	13	1335
HexaCB-153	49959	43121	32761	2232	229765	89802	79675	40669	24394	270455
HexaCB-141	130	100	114	5	1273	325	283	202	36	1246
HexaCB-137	1648	1380	1099	53	7533	2965	2675	1412	761	10091
HexaCB-130	1473	1238	1001	40	5544	2614	2306	1562	499	10705
HexaCB-163/164	9625	8649	6225	392	38742	19286	16973	9784	5	59832
HexaCB-138	22216	18199	15201	1072	110904	40924	36816	19598	10670	129599
HexaCB-128	377	287	299	5	2157	880	743	505	130	2996
HeptaCB-179	79	62	68	5	460	209	185	134	37	1075
HeptaCB-178	3985	3443	2618	130	18723	6234	5357	3128	1923	22423
HeptaCB-182/187	15650	13128	10523	670	74254	28073	23934	13989	8335	89829
HeptaCB-183	3087	2526	2195	135	15936	6155	5270	3047	1694	18124
HeptaCB-181	40	32	31	5	192	71	65	45	5	255
HeptaCB-177	3463	2877	2365	56	13771	5745	4972	3082	1321	21271
HeptaCB-172	1906	1634	1273	42	9662	2965	2641	1522	987	11296
HeptaCB-180	37580	32569	24089	1505	167183	59346	51640	30303	19860	235051
HeptaCB-191	424	367	277	20	1866	765	673	371	230	2156
HeptaCB-170	10570	9424	6563	339	46931	17228	15029	8740	6140	66410
OctaCB-202	1535	1322	1025	57	8032	2813	1775	4490	5	39824
OctaCB-200	166	130	142	5	1052	652	315	1394	5	10504
OctaCB-198/201	5992	5177	3961	341	28618	10074	8956	5670	3428	47350
OctaCB-203	3391	2966	2129	164	14960	7822	6750	4148	2749	32824
OctaCB-195	1058	929	657	68	4845	1820	1588	946	617	7548
OctaCB-194	5929	5328	3738	391	26412	8580	7695	5140	2527	46750
OctaCB-205	172	152	110	5	726	309	278	139	97	959
NonaCB-208	545	480	345	63	2588	775	665	376	146	2321
NonaCB-207	194	160	130	13	985	340	286	176	60	1027
NonaCB-206	1326	1182	763	160	5482	1957	1756	893	673	7168
DecaCB-209	1180	1026	699	177	5472	1359	1240	543	425	3487
Total TriCBs	1485	1207	1265	15	12819	2596	2058	1658	813	10967
Total TetraCBs	10077	8131	7413	541	47678	26023	23264	13501	5351	97803
Total PentaCBs	9103	7264	6366	375	49414	19388	17093	10195	5467	65272
Total HexaCBs	94872	81226	61860	4521	432030	174028	152536	79727	48021	543512
Total HeptaCBs	76784	66893	49330	3052	348604	126790	110003	63048	41212	463671
Total OctaCBs	18243	15930	11598	1031	84644	32068	28738	18677	11047	145650
Total NonaCBs	2065	1806	1207	284	9054	3072	2684	1409	918	10516
Total PCBs	213809	187808	134871	11062	934486	385324	344777	178350	119142	1226052

ND (less than the detection limit) values introduced to half values of the detection limit and calculated the TEQ concentra
SD: standard deviation.
CB: chlorinated biphenyl.

分担研究報告書

桂枝茯苓丸臨床試験の結果報告―第一報―

研究分担者　三苫　千景　九州大学病院油症ﾀﾞｲｵｷｼﾝ研究診療ｾﾝﾀｰ　准教授
今福　信一　福岡大学医学部皮膚科　教授
研究協力者　貝沼　茂三郎　九州大学大学院医学研究院地域医療教育ﾕﾆｯﾄ　准教授
宮崎　昭行　医療法人　山内診療所　診療所長

研究要旨　ダイオキシン類の毒性は主に芳香族炭化水素受容体（arylhydrocarbon receptor、以下 AHR）を介して発揮される。基礎的研究にて強い AHR シグナル活性阻害を有すると解明されたケイヒを含む漢方方剤、桂枝茯苓丸は患者の症状を緩和する治療薬の一つに成り得ると期待される。そこで油症患者さん52名を対象に桂枝茯苓丸を内服する3ヵ月間の臨床試験を実施した。その結果、全身倦怠感、皮膚症状、呼吸器症状 VAS で改善がみられた。また身体的 QOL、精神的 QOL、役割/社会的 QOL の改善がみられ、ある一定の臨床効果はあると考えられた。

A．研究目的

ダイオキシン類の毒性は主に芳香族炭化水素受容体（arylhydrocarbon receptor、以下 AHR）を介して発揮される。患者を対象にしたこれまでの臨床試験にて、数種の漢方方剤の中で麦門冬湯が呼吸器症状を改善した（Uchi H, et al., 2011）。基礎的研究では、治頭瘡一方（じずそういっぽう）の生薬の主成分である Z-Ligustilide が抗酸化作用を有することが明らかになった（Wu Z, et al., 2014）。さらに桂枝茯苓丸（けいしぶくりょうがん）の生薬の一つのケイヒ、およびその主成分が AHR シグナル活性を阻害するとともに、抗酸化機構にもクロストークして抗酸化ストレス作用を発揮する知見を得た（Uchi H, et al., 2016）。以上の背景をもとに、油症患者さんを対象に桂枝茯苓丸の臨床試験を実施するに至った。

B．研究方法

油症の各症状に対する効果及び QOL 改善に対する桂枝茯苓丸の効果、酸化ストレスに及ぼす影響についての検討を目的とした、探索的なオープンラベル単群介入試験を実施した。適格基準は、1）全国油症治療研究班・油症診断基準により油症と診断されている症例、2）漢方方剤を内服可能な症例、3）20 歳以上（性別は問わない）、4）文書にて試験参加の同意が得られている、いずれも満たす症例である。実施医療機関は九州大学病院、および長崎県立五島中央病院で、被験者は登録後 3 ヵ月間、桂枝茯苓丸（ツムラ）一日量 7.5gを 2.5gずつ食前に内服した。開始時、開始後 1 ヵ月ごとに来院いただき、評価を行った。Primary endpoint は、末梢神経、皮膚、呼吸器症状、全身倦怠感に関する VAS 評価値、secondary endpoints は、SF-36 により定量的に評価された QOL、血液中酸化ストレスおよび抗酸化ストレスマーカー値、治療期間中の安全性である。なお、

（倫理面への配慮）
この臨床試験は九州大学病院倫理審査委員会、長崎県立五島中央病院倫理審査委員会の承認を得て実施した。登録、データマネージメント、モニタリング、監査は一般社団法人九州臨床研究支援センター（CReS 九州）に委託した。

C．研究結果

登録症例は 52 例（九州大学病院 26 例、長崎県立五島病院 26 例）、完遂例は 42 例、中止例 10 例だった。被験者年齢の中央値（範囲）は 66.0 歳（ 45 － 86）、男性 23 例、女性 29 例だった。2016 年 10 月現在、secondary endpoints を解析中であり、これまでに得られた結果を表1－4に示す。

D．考察・結論

患者の特質より対照群を設けない非盲検介入試験を実施したため、解釈に留意を要するが、桂枝茯苓丸内服により、全身倦怠感、皮膚症状、呼吸器症状 VAS で改善がみられた。また身体的 QOL、精神的 QOL、役割/社会的 QOL の改善がみられ、ある一定の臨床効果はあると考えられた。

F．研究発表

１．論文発表

1. Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Mitoma C, Furue M. Inhibition of aryl hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in human keratinocytes. J Dermatol Sci. 2016 Oct4. doi: 10.1016/j/jdermsci.2016.10.003.
2. Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Imamura T. Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients. Environ Health. 2016 Sep 7; 15(1): 95.
3. Todaka T, Honda A, Imaji M, Takao Y, Mitoma C, Furue M. Effect of colestimide on the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dizenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Environ Health. 2016 Jun 4;15(1):63.
4. Fukushi J, Tokunaga S, Nakashima Y, Motomura G, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Iwamoto Y. Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. Chemosphere. 2016 Feb; 145: 25-33.

２．学会発表

該当なし

G．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

１．特許取得

該当なし

２．実用新案登録

該当なし

３．その他

該当なし

表1.1. VASの各時点の要約統計量

項目	時期	N	Mean	S.D.	S.E.	Median	Min.	Max.
全身倦怠感/疲れやすさ	投与開始時	52	6.08	2.40	0.33	6.5	0	10
	1ヶ月	49	4.53	2.44	0.35	5	0	10
	3ヶ月	42	4.44	2.26	0.35	4	1	10
末梢神経/痛み・しびれ	投与開始時	52	4.77	3.15	0.44	5	0	10
	1ヶ月	49	4.43	2.75	0.39	5	0	9
	3ヶ月	42	4.28	2.74	0.42	4	0	10
皮膚/にきび・できもの	投与開始時	52	3.10	3.22	0.45	2	0	10
	1ヶ月	49	2.49	2.35	0.34	2	0	7
	3ヶ月	42	1.78	2.02	0.31	1	0	7
呼吸器症状/せき・たん	投与開始時	52	3.58	2.67	0.37	3	0	9
	1ヶ月	49	3.27	2.30	0.33	3	0	8
	3ヶ月	42	2.90	2.37	0.37	2	0	8

※S.D.はStandard Deviation, S.E.はStandard Errorを表す.

平成 28 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金

表1.2. VASのベースラインからの変化量

項目	時期	CFB	S.E.	*p* value	95% CI	
					Lower	Upper
全身倦怠感/疲れやすさ	1ヶ月	−1.47	0.31	<.0001	−2.09	−0.85
	3ヶ月	−1.59	0.33	<.0001	−2.25	−0.94
末梢神経/痛み・しびれ	1ヶ月	−0.28	0.33	0.41	−0.94	0.39
	3ヶ月	−0.58	0.35	0.10	−1.29	0.12
皮膚/にきび・できもの	1ヶ月	−0.70	0.28	0.02	−1.26	−0.13
	3ヶ月	−1.34	0.30	<.0001	−1.94	−0.75
呼吸器症状/せき・たん	1ヶ月	−0.28	0.30	0.35	−0.88	0.31
	3ヶ月	−0.63	0.32	0.0497	−1.26	0.00

※CFBはChange From Baseline, S.E.はStandard Errorを表す.

表2.1. SF36の各時点の要約統計量

項目	時期	N	Mean	S.D.	S.E.	Median	Min.	Max.
身体的QOLサマリースコア	投与開始時	52	36.76	15.57	2.16	37.7	−2.9	67.9
	1ヶ月	49	40.23	12.95	1.85	41.5	5.5	61.9
	3ヶ月	42	38.73	13.49	2.08	40.35	6.7	65.2
精神的QOLサマリースコア	投与開始時	52	45.36	8.79	1.22	46.9	27.1	60.3
	1ヶ月	49	47.57	9.62	1.38	48.8	28	63.8
	3ヶ月	42	47.49	8.17	1.26	47.2	25	61.4
役割／社会的QOLサマリースコア	投与開始時	52	43.54	13.49	1.87	43.9	14.2	65.3
	1ヶ月	49	46.92	13.19	1.88	48.6	5.5	69.5
	3ヶ月	42	48.54	13.72	2.12	47.8	8.1	73.8

※S.D.はStandard Deviation, S.E.はStandard Errorを表す.

表2.2. SF36のベースラインからの変化量

項目	時期	CFB	S.E.	*p* value	95%CI	
					Lower	Upper
身体的QOLサマリースコア	1ヶ月	4.02	1.20	0.0012	1.64	6.41
	3ヶ月	3.61	1.27	0.0056	1.08	6.14
精神的QOLサマリースコア	1ヶ月	1.86	0.93	0.0484	0.01	3.71
	3ヶ月	1.94	0.99	0.0516	−0.01	3.90
役割／社会的QOLサマリースコア	1ヶ月	2.71	1.46	0.0661	−0.18	5.60
	3ヶ月	4.48	1.54	0.0046	1.41	7.54

※CFBはChange From Baseline，S.E.はStandard Errorを表す.

分担研究報告書

油症患者におけるロコモティブシンドロームの合併

分担研究者　福士純一　九州大学病院整形外科　講師
研究協力者　河本五月　油症ダイオキシン研究診療センター

研究要旨　2016 年度全国油症一斉検診の福岡県での受診者において、ロコチェック質問票を用いてロコモティブシンドローム（ロコモ）の合併を調査した。過半数の受診者において、ロコモの合併が疑われた。ロコチェック該当数とダイオキシン類濃度との間には、明らかな関連を認めなかった。

A. 研究目的

ダイオキシン類が運動器疾患に及ぼす影響については不明な点が多い。「運動器の障害によって移動機能が低下した状態」は、ロコモティブシンドローム（ロコモ）と呼称され、運動器疾患と密接に関連する。油症検診受診者におけるロコモの合併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

2016 年度油症一斉検診の福岡県での受診者（142 名）を対象とした。検診会場において、ロコモの合併、過去一年間の骨折の有無、骨粗鬆症の治療歴の有無を、聴取確認した。身体所見として、身長、体重、骨密度に加えて、体組成計を用いて筋肉量、脂肪量を計測した。

ロコモの合併は、表１に示すロコチェックを用いて調査した。ロコチェックとは表１に示すような７項目からなる質問票で、１項目でも当てはまる場合には骨粗鬆症や変形性関節症、サルコペニアといった、運動器疾患の合併が疑われ、整形外科の受診が勧められるものである。

骨密度は非利き腕の橈骨遠位端を二重Ｘ線吸収法（DXA 法、ALOKA DCS-600EX）にて計測した。若年成人（20-44 才）の平均骨密度（YAM）に対する評価としてＴスコアを、同一年齢の平均骨密度に対する評価としてＺスコアを用いた。

ダイオキシン類濃度については、2013 年から 2015 年の間に一斉検診にて測定された結果を用いて解析を行った。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 65 名、女性 77 名で、平均年齢は男性 65.7 才、女性 64.7 才、平均 BMI は男性 23.8、女性 22.3 であった。未認定者は男性 58 名（89%）、

女性 57 名(74%)であった。

ロコチェックの結果を表１に示す。該当数が０だったのは 69 名(48.6%)で、過半数の受診者は何らかの項目に該当していた。設問１および３は約 30%の参加者が該当すると回答していた。７項目すべてにおいて、該当者の平均年齢が非該当よりも優位に高かった。４項目以上該当したものは、22 名(15.5%)であった。

ロコチェックの該当数に関連する因子を表２に示す。単変量の解析においてロコチェックの該当数は、年齢および体脂肪率と正に、筋肉量と負に関連した。ダイオキシン類濃度では、2,3,4,7,8-PeCDF,
3,3’,4,4’,5,5’-HxCB(#169)　、total TEQ (WHO06)と正の関連を認めた。性別、年齢、体脂肪率、筋肉量、ダイオキシン類濃度を考慮した多変量での解析を行うと、年齢のみに有意な関連を認めた。

骨粗鬆症の治療歴があると回答した受診者は 11 名で、過去１年間に骨折した者はいなかった。骨粗鬆症の治療歴がないと回答した受診者は131名で、そのうちの６名が過去１年間に骨折をしていた。骨折した群としない群との間には、ダイオキシン類濃度ならびに骨密度に優位な違いを認めなかった。

D. 考察

ロコモは日本整形外科学会によって2007年に提唱された概念で、筋肉、骨、関節、軟骨、椎間板などの運動器のいずれか、あるいは複数に障害が生じ、移動能力が低下している状態を表す。ロコチェックは７項目からなる質問票で、ロコモの合併をスクリーニングするツールとして利用される(Nakamura, 2011)。ロコチェックの該当数は、EuroQol-5 utility value や EuroQol-VAS スコアと負に関連することが(Iizuka, 2014)、また該当数が４を超えると転倒リスクが高くなることが報告されている(Akahane, 2016)。今回の検討では、ロコチェックの該当数とダイオキシン類濃度との間には、明らかな関連を認めなかった。転倒リスクが高くなる４項目以上の該当者は 15%であったが、高齢化に伴い今後さらに増加すると見込まれる。注意深い経過観察が必要と思われる。

ダイオキシン類が骨粗鬆症におよぼす影響については、一定の見解は得られていない。Seveso での TCDD 曝露の疫学研究では、骨密度と TCDD 濃度との間に有意な負の関連がなかったと報告されている(Eskenazi, 2014)。油症において我々は、女性において一つの異性体(1,2,3,4,6,7,8-HpCDD)と Z スコアが有意に負に関連することを報告している(Fukushi, 2016)。今回の調査では、過去１年間の骨折既往は６名で、明らかなダイオキシン類濃度との関連は認めなかったが、６名とも骨粗鬆症の治療を受けていなかったと回答している。骨折の発生および骨粗鬆症の治療歴のデータを経時的に蓄積するとともに、検診受診者に対して骨粗鬆症治療を勧めることが重要

であると考える。

E. 結論

ロコチェック該当数とダイオキシン類濃度との間には、明らかな関連を認めなかった。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

Nakamura K. 2011. The concept and treatment of locomotive syndrome: its acceptance and spread in Japan. J Orthop Sci 16:489-491.

Iizuka Y, et al. 2014. Association between “loco-check” and EuroQol, a comprehensive instrument for assessing health-related quality of life: a study of the Japanese general population. J Orthop Sci 19:786-791.

Akahane M, et al. 2016. Relationship Between Difficulties in Daily Activities and Falling: Loco-Check as a Self-Assessment of Fall Risk. Interact J Med Res 5(2):e20.

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.

Fukushi J, et al. Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. Chemosphere 145:25-33.

表１：ロコチェックの設問と回答数

	ロコチェック設問	該当		非該当	
		n（%）	平均年齢	n（%）	平均年齢
1	片足立ちで靴下がはけない	41（28.9）	71.9	101（71.1）	62.4
2	家の中でつまずいたり滑ったりする	38（26.8）	70.8	104（73.2）	63.1
3	階段を上るのに手すりが必要である	45（31.7）	71.4	97（62.3）	62.3
4	家のやや重い仕事が困難である	25（17.6）	70.9	117（82.4）	63.9
5	２ｋｇ程度の買い物をして持ち帰るのが困難である	18（12.7）	72.1	124（87.3）	64.2
6	15分くらい続けて歩くことができない	15（10.6）	73.5	127（89.4）	64.2
7	横断歩道を青信号で渡りきれない	6（4.2）	77.8	136（95.8）	64.6

$p<0.05$

表2：ロコチェック該当数との関連

vs. 変数	相関	下側95%	上側95%	p値
年齢	0.416	0.2680	0.5447	<.0001
筋肉量（kg）	−0.267	−0.4151	−0.1052	0.0015
体脂肪率（%）	0.2022	0.0369	0.3567	0.017
BMI	0.086	−0.0816	0.2490	0.3139
Log[2,3,4,7,8−PeCDF]	0.2176	0.0524	0.3712	0.0104
Log[3,3',4,4',5,5'−HxCB(#169)	0.2362	0.0719	0.3880	0.0053
Total 06−TEQ	0.2366	0.0614	0.3976	0.0087

分担研究報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体眼部への影響に関する研究

分担研究者　園田康平　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 28 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 28 年度の油症検診が下記の通り行われた。
8 月 6 日福岡会場・受診者数 45 名（うち患者 36 名・未認定者 9 名）、8 月 17 日久留米会場・受診者 36 名（うち患者 24 名・未認定者 12 名）、8 月 24 日北九州会場・受診者 45 名（うち患者 38 名・未認定者 9 名）、9 月 1 日北九州会場・受診者 39 名（うち患者 34 名・未認定者 5 名）、9 月 10 日福岡会場・受診者 58 名（うち患者 51 名・未認定者 7 名）。受診者合計は 223 名（うち患者 183 名・未認定者 40 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 223 名であり、前年度よりも 22 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を認めるものも少数見られた。

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

油症検診受診者における黄斑疾患

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：加齢黄斑変性は酸化ストレス等が原因になることが知られており、黄斑疾患とダイオキシンとの関連があるか調査した。油症検診受診者 195 人中 2 人（1.0% ）に加齢黄斑変性を認め、これまでの報告と同様であった。血中 PeCDF 濃度が加齢黄斑変性を含む黄斑形態異常に関与するという結果は得られず、加齢黄斑変性に対してダイオキシンは影響しないことが示唆された。

A. 研究目的

黄斑疾患には様々なものがあるが、中でも加齢黄斑変性は重度の視力障害をきたしうる重大な疾患である。酸化ストレスなどがその発症にかかわるといわれている。油症患者における加齢黄斑変性などの黄斑形態異常の頻度を調査し、ダイオキシン類の血中濃度との関連を検討する。

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 2016 に油症検診の眼科部門を受診した患者のうち、黄斑形態の評価が可能で、血中 PeCDF 濃度が得られた 195 人を研究対象とした。網膜光干渉断層計（Optovue 社 iVue-100）を用いて両眼の黄斑部の断層撮影を行った。対象者における加齢黄斑変性の有病率を調査した。さらに血中 PeCDF 濃度と黄斑形態異常に相関がないか検討した。血中 PeCDF 濃度は 2011 年度から 2016 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 94 人、女性 101 人で、年齢は中央値 67 歳（17～92 歳）であった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 54.95±84.01 pg/g-lipid（平均±標準偏差）であった。加齢黄斑変性は 2 人（1.0%）2 眼、にみとめ、どちらも滲出型で、すでに治療中であった。この 2 人の血中 PeCDF 濃度は 34.06 pg/g-lipid および 12.99 pg/g-lipid であった。片眼または両眼に黄斑の形態異常を認めたものは 11 人（5.64%）14 眼で、内訳は、加齢黄斑変性 2 眼、網膜色素上皮不整 4 眼、網膜色素上皮剥離 2 眼、脈絡膜陥凹 1 眼、嚢胞様黄斑浮腫 2 眼、黄斑上膜 3 眼であった。黄斑形態の異常がない受診者の血中 PeCDF 濃度は 57.01 ± 86.03 pg/g-lipid（平均±標準偏差）であり、黄斑形態の異常を認めた受診者の血中 PeCDF 濃度は 20.54±10.23 pg/g-lipid（平均

±標準偏差）であった。黄斑形態異常の有無による血中 PeCDF 濃度に有意差は無かった。（対応の無い t 検定 P=0.16）（図 1）。

D. 考察

加齢黄斑変性は、加齢に伴い網膜の黄斑部に異常をきたした疾患の総称で、日本における視覚障害の原因の第 4 位である。加齢黄斑変性には、滲出型加齢黄斑変性と萎縮型加齢黄斑変性がある。網膜の後面にある網膜色素上皮は、網膜の視細胞の老廃物を貪食する作用があるが、加齢や酸化ストレスなどにより、網膜色素上皮の機能障害が生じると、老廃物が貪食されずに沈着物質として増加し、血管内皮増殖因子も増加し、滲出型加齢黄斑変性の主な所見である脈絡膜新生血管の出現の基盤になる。網膜の直下で、脈絡膜新生血管から滲出や出血が生じ、黄斑部の網膜が傷害される。活動性のある脈絡膜新生血管は、加療しなければ網膜の不可逆性の機能障害を引き起こし、視力低下の進行も早い。特に滲出型は、網膜脈絡膜からの血管新生により、黄斑部に浮腫や炎症を伴う病変が発生し、急激な視力低下が起こる。

日本人の加齢黄斑変性の有病率は 1.3%（久山町研究[1]）である。海外の調査では、オランダの 55 歳以上を対象にした調査で、有病率が 1.7%（Rotterdam Eye Study[2]）、オーストラリアでは 1.9%（Blue Mountains Eye Study[3]）となっている。今回の検討では 195 人中 2 人（1.0% ）に加齢黄斑変性を認め、これまでの報告と同様であった。この 2 人の血中 PeCDF 濃度は黄斑形態の異常がない受診者の平均血中 PeCDF 濃度より低値であった。また、加齢黄斑変性を含め、黄斑形態異常の有無による血中 PeCDF 濃度に有意差は無かった。

今回の調査で血中 PeCDF 濃度が加齢黄斑変性を含む黄斑形態異常に関与するという結果は得られなかった。加齢黄斑変性に対してダイオキシンは影響しないことが示唆された。

E. 結論

油症検診受診者において、加齢黄斑変性の頻度はこれまでの報告と同様であった。また、黄斑形態異常と血中 PeCDF 濃度に関連は見られなかった。

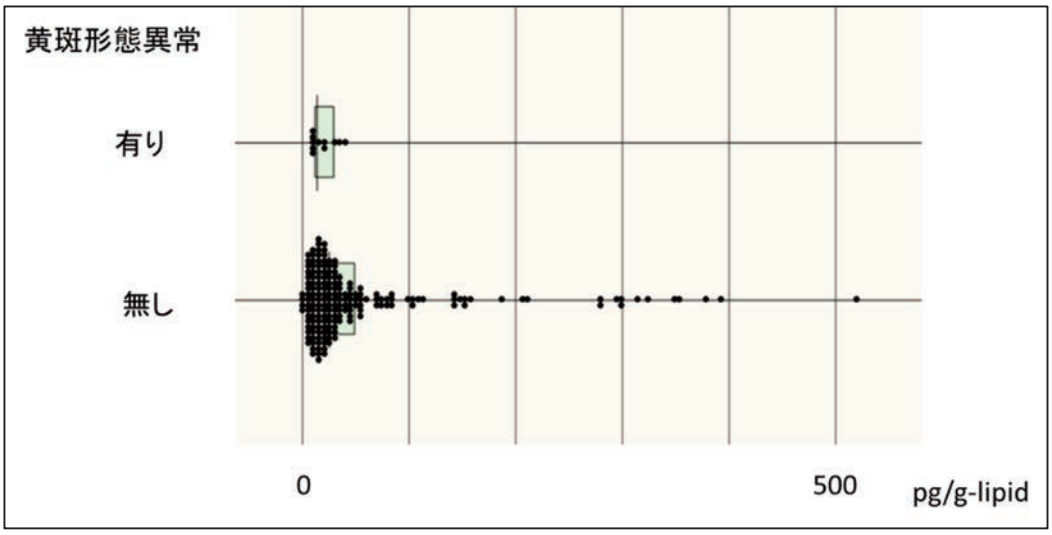
F. 研究発表　なし

G. 知的財産権の出願・登録状況　なし

参考文献

1) Yasuda M, et al. Ophthalmology. 2009; 116 (11) : 2135-2140act
2) VingerlingJR, et al:The prevalence of age-related maculopathy the Rotterdam Study Ophthalmology 102:205-210,1995
3) Mitchell P, et al:Prevalence of agerelated maculopathy in Australia The Blue Mountains Eye Study Ophthalmology 102:1450-146

図１　黄斑形態異常の有無と血中 PeCDF 濃度



分担研究報告書

油症検診における口腔カンジダの発現に関する研究

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　油症検診において、口腔カンジダの検出を行った。平成 28 年度長崎県油症検診において検討可能であった 77 名を対象とした。認定者は 48 名、未認定者は 29 名であった。口腔カンジダの発現として舌を測定部位とし、カンジダディテクターを用いて検出を行った。認定未認定ではカンジダの発現率に有意差がみられなかったが、高齢者および女性に高い発現率がみられた。また、口腔乾燥感を訴えた患者や義歯装着の患者でも高い発現率がみられる傾向にあった。

A．研究目的

油症患者の歯科検診において、舌痛をはじめとして、歯肉や頬粘膜などの疼痛を訴える患者をしばしば経験する。基質的変化がなく、疼痛を訴える患者は、口腔不定愁訴として診断され日常的にみられるが、原因が不明な症例がある一方で、不顕性のカンジダが原因である症例も少なからず存在すると言われている。今回、油症検診において、舌の痛みを訴える症例について口腔カンジダの検出を行い、油症との関係について研究を行った。

B．研究方法

長崎県油症検診において歯科検診を行った際、ランダムに選んだ患者で、舌のカンジダ調査に同意が得られた患者を対象とした。患者の舌を滅菌した綿棒で拭い、カンジダディテクターキット（亀水化学工業株式会社）の培地に塗布を行った。常温で 72 時間放置し、培地のコロニー数の状態で判定を行った。判定は陽性（コロニー数 10^4＜）を+、陰性を−（コロニー数 10^2＞）、陽性と陰性の間のコロニー数のものを偽陽性±とした。また、通常の問診の結果を用い、舌痛、口腔乾燥感、義歯の装着の有無の結果との比較検討も行った。

（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

対象となった患者は、玉之浦地区 20 名、奈留地区 19 名、長崎地区 38 名の計 77 名であった。認定者、未認定者の内訳は、認定者 48 名、未認定者 29 名であった。全体の平均年齢は、67 歳で認定者 69 歳、未認定者 62 歳であった。

性別は、対象者全員で男性 28 名、女性 49 名であった。認定者は男性 18 名、女性 30 名で、未認定者は男性 10 名、女性 19 名であった。

カンジダの検出結果は、対象者全員のうち+が 24 名（31%）、±が 16 名（21%）、−が 37 名（48%）であった。

認定者、未認定者別では、認定者においては＋が 14 名、±が 10 名、ーが 24 名であった。未認定者においては、＋が 10 名、±が 6 名、ーが 13 名であった。認定、未認定の間にカンジダ発現率の有意差は認められなかった。

年齢別では、67 歳未満が 38 名で、67 歳以上が 39 名であった。67 歳未満では、＋が 5 名、±が 8 名、ーが 25 名で、67 歳以上では、＋が 19 名、±が 8 名、ーが 12

名であった。高齢者ほどカンジダ検出率が高かった。

性別では、女性では＋が 19 名、±が 11 名、－が 19 名であった。男性では、＋が 5 名、±が 5 名、－が 18 名であった。カンジダ発生率は女性が高かった。

主訴との関係では、口腔乾燥感を訴えたものが 21 名みられ、そのうちカンジダの発現は、+が 12 名、±が 0 名、-が 9 名で、発現率は 57%であった。舌痛を訴えた者は 5 名で、+が 2 名、±が 1 名、-が 2 名であった。

有床義歯を装着していたものは 15 名であった。義歯装着者のカンジダ発現は、+が 7 名、±が 2 例、-が 6 名であった。義歯装着者がカンジダ発現率は高い傾向にあった。

D．考察

油症患者の口腔所見としては、口腔粘膜の色素沈着、歯周疾患、口腔乾燥症、顎関節症などが報告されている。実際の油症歯科検診において、現在でも、上記の疾患が多くみられ、また、不定愁訴と思われる患者もしばしばみられる。

これまで行ってきた臨床研究で、口腔水分計ムーカスを用いて油症検診時に患者の口腔乾燥の測定を行った。その結果では、口腔乾燥を訴える患者は女性や高齢者に多く認められた。また、口腔乾燥感を訴える患者に舌の痛みを訴える患者も多い傾向がみられた。

舌痛症はしばしばみられる疾患である。原因が不明であることも多いが、不顕性のカンジダが一定の割合でみられることも報告されている。今回の結果では、舌痛を訴える患者が少なく、カンジダと舌痛との関係は明らかではなかったが、口腔乾燥感を訴える患者では明らかにカンジダの発現率が高かった。口腔乾燥を訴える患者の中に舌痛を訴える患者は比較的多くみられるため、これらの症状を訴える患者に限定して調査すれば、舌痛、口腔乾燥とカンジダの関係がもう少し明らかになってくる可能性がある

年齢別では高齢者に、カンジダ発生率が高かったが、原因としては免疫力の低下や、基礎疾患や内服薬による影響の可能性が考えられる。肉眼所見で明らかなカンジダが認められた患者はほとんどみられなかったが、今後、基礎疾患や内服薬との関連性について検討する必要があると思われる。

性別では、女性にカンジダ発現が多い結果が得られた。一般に、舌痛症や口腔領域の不定愁訴は女性が大半であるが、カンジダとの関連性を示している結果かもしれない。

口腔内環境としては、カンジダとの関係は補綴物が影響を与えている可能性は大きい。今回は義歯との関連性について調べたが、有床義歯を装着している患者で発現率が高い結果が得られた。これには、義歯の洗浄や残存歯の清掃性などが関係しているものと推測できるが、症例を増やして検討する必要がある。

認定者、未認定者別では、カンジダの発現に有意差はみられなかった。今回の結果では、カンジダは、油症患者にみられる歯科的疾患とは関係性が少ないものと推測できたが、今後症例数を増やし経時的変化を見ていく必要があると思われる。

E．結論

長崎県腫油症検診にて口腔カンジダの検出を行った。口腔カンジダの発生は、認定、未認定の間では有意差はみられなかった。年齢別では高齢者に、性別では女性に、各々高い発現率がみられた。また、義歯の装着、口腔乾燥とカンジダとの関係が示唆された。

F．研究発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

油症における甲状腺自己抗体に関する研究

研究分担者　　辻　　博　西日本短期大学社会福祉学科　特任教授

研究要旨　2016 年度福岡県油症一斉検診を受診した 228 例について甲状腺自己抗体検査を行い、血中 PCB 濃度との関連について検討した。油症患者において未認定患者に比較し抗甲状腺マイクロゾーム抗体および抗サイログロブリン抗体は多い傾向を認めたが、出現頻度に差をみなかった。抗サイログロブリン抗体は血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比較し有意に高頻度に認められた。抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体あるいは TSH 刺激性レセプター抗体のいずれか 1 項目以上の異常を認めるものは PCB 高濃度群において PCB 低濃度群に比較し有意に高頻度であった。PCB の抗サイログロブリン抗体に対する慢性的影響が示唆された。

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。油症患者における甲状腺機能については油症発生 16 年後の 1984 年度福岡県油症一斉検診において対照者に比較しトリヨードサイロニンおよびサイロキシンの上昇を認めることが報告されている [5]。さらに、1996 年度福岡県油症一斉検診では血中 PCB 濃度が高値の油症患者において抗サイログロブリン抗体が高頻度に認められた [6]。抗サイログロブリン抗体は慢性甲状腺炎や Graves 病などの自己免疫性甲状腺疾患に高率に出現することより、油症患者では甲状腺機能の経過を注意深く追跡する必要があると考えられた。

今回我々は、2016 年度福岡県油症一斉検診において甲状腺自己抗体検査を行い、PCB の甲状腺自己抗体に対する慢性的影響について検討した。

B．研究方法

2016 年度福岡県油症一斉検診の受診者 232 例中、甲状腺自己抗体検査にアンケートにて同意が得られた 228 例を対象者とした。

甲状腺自己抗体検査として抗甲状腺マ

イクロゾーム抗体は粒子凝集反応（Particle agglutination：PA）法（セロディア-AMC、富士レビオ株式会社）により、抗サイログロブリン抗体は電気化学発光免疫測定（Electrochemiluminescence immunoassay：ECLIA）法（エクルーシス試薬 Anti-Tg、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）によりモジュラーアナリティクス〈EEE〉（株式会社日立ハイテクノロジーズ）にて測定した。TSH 刺激性レセプター抗体は酵素免疫測定（Enzyme Immunoassay：EIA）法（TSAb キット「ヤマサ」EIA、ヤマサ醤油株式会社）によりプレートリーダー Emax（Molecular Devices 社）にて測定した。

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 2016 年度福岡県油症一斉検診において測定した 228 例の測定値を用い、抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体および TSH 刺激性レセプター抗体との関連について検討した。

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

2016 年度福岡県油症一斉検診を受診し、甲状腺自己抗体検査に同意が得られた 228 例の内訳は女性 131 例、男性 97 例で、平均年齢は 63.4±13.6（13－91）歳であり、油症患者 164 例、油症患者（同居家族）26 例、未認定患者 36 例、観察者 2 例であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関（r=0.6011, P＜0.001）を認めた。

同居家族を含む油症患者 190 例について観察者を含む未認定患者 38 例を対照者として抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体および TSH 刺激性レセプター抗体の出現頻度について検討した（表 1）。油症患者において抗甲状腺マイクロゾーム抗体を 190 例中 33 例（17.4%）に認め、対照者 38 例中 3 例（7.9%）に比較し多い傾向を認めたが、出現頻度に差をみなかった。抗サイログロブリン抗体は油症患者 190 例中 43 例（22.6%）と対照者 38 例中 5 例（13.2%）に比較し多い傾向であったが、出現頻度に差をみなかった。TSH 刺激性レセプター抗体は油症患者の 20 例（10.5%）、対照者の 5 例（13.2%）に認め、出現頻度に差をみなかった。抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体あるいは TSH 刺激性レセプター抗体のいずれか 1 項目以上の異常を認めたものは油症患者 63 例（33.2%）、対照者 10 例（26.3%）であり、出現頻度に差をみなかった。

血中 PCB 濃度 2.0 ppb 未満の 206 例を PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 以上の 22 例を PCB 高濃度群として、両群間の甲状腺自己抗体の出現頻度について検討した（表 2）。PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 0.87±0.50 ppb、PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 3.10±1.16 ppb であった。抗甲状腺マイクロゾーム抗体は PCB 高濃度群 22 例中 3 例（13.6%）、PCB 低濃度群 206 例中 33 例（16.0%）であり、出現頻度に差をみなかった。抗サイログロブリン抗体は PCB 高濃度群 22 例中 9 例（40.9%）と PCB 低濃度群 206 例中 39 例（18.9%）に比較し有意に出現頻度が高かった（P＜0.05）。TSH 刺激性レセプター抗体は PCB 高濃度群において 22 例中 4 例（18.2%）と PCB 低濃度群 206 例中 21 例（10.2%）に比較し多い傾向を認めたが、出現頻度に差をみなかった。抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体あるいは TSH 刺激性レセプター抗体のいずれか 1 項目以上の異常を認めたものは PCB 高濃度群において 22 例中 13 例（59.1%）と PCB 低濃度群 206 例中 60 例

（29.1%）に比較し有意に出現頻度が高かった（P＜0.005）。

D．考察

甲状腺と PCB の関連について、PCB を投与した実験動物に甲状腺機能低下や甲状腺腫がみられることが報告されている。PCB（Aroclor 1254）を投与したラットに ^{125}I-T_4 を投与すると対照に比べ血中 ^{125}I-T_4 値が速やかに低下し、胆汁中に主としてグルクロン酸抱合を受けた ^{125}I-T_4 の排泄が増加することが報告されている [7]。そして、PCB 投与による血中 T_4 値の低下は下垂体の TSH 分泌を促進し、血中 TSH 値の上昇により甲状腺重量の増加が認められることが報告されている [8]。さらに、PCB を投与したラットや marmoset monkey において甲状腺ろ胞細胞の腫大、過形成、甲状腺ろ胞の縮小などの組織学的変化が報告されており [9][10]、血中 TSH 値の上昇によるものと考えられる。しかし、PCB の投与による甲状腺機能低下や甲状腺の組織学的変化は可逆的なものであり、投与中止により改善することが報告されている [9]。PCB 投与による甲状腺の機能低下および組織学的変化は、PCB の投与中止により改善する急性あるいは亜急性中毒症状と考えられる。また、PCB による甲状腺機能低下の機序として PCB や PCDF の水酸化体と T_4 との構造類似性により T_4 結合蛋白質への結合が阻害されることが報告されている [11]。油症患者における甲状腺機能に対する慢性的影響について、油症発生 16 年後の 1984 年度福岡県油症一斉検診において油症患者 124 例と対照者 43 例を比較し油症患者に T_3 値および T_4 値の有意の上昇を認めることが報告されている [5]。

油症における甲状腺自己抗体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。油症発生 28 年後の 1996 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 81 例について血中 PCB 濃度が 3.0 ppb 未満の油症患者 40 例および 3.0 ppb 以上の油症患者 41 例の甲状腺機能異常および甲状腺自己抗体の出現頻度が比較された [6]。PCB 高濃度油症患者および PCB 低濃度患者の TSH 値、T_3 値および T_4 値には差をみなかったが、抗サイログロブリン抗体を PCB 高濃度油症患者 41 例中 8 例（19.5%）、PCB 低濃度患者 40 例中 1 例（2.5%）に認め、血中 PCB 濃度が 3.0 ppb 以上の油症患者に有意に高頻度の抗サイログロブリン抗体の出現を認めた。抗サイログロブリン抗体陽性者の血中 TSH 値は陰性者に比べ高く、血中 TSH 値の上昇を認める抗サイログロブリン抗体陽性者では原発性甲状腺機能低下症に陥る頻度が高いとの報告がみられる [12][13]。血中 PCB 濃度が高値の油症患者において抗サイログロブリン抗体を高頻度に認めることより、油症患者において甲状腺機能の経過を注意深く追跡する必要があると考えられた。

今回の油症発生 48 年後の 2016 年度福岡県油症一斉検診受診者 228 例における甲状腺自己抗体の検討では同居家族を含む油症患者において抗甲状腺マイクロゾーム抗体および抗サイログロブリン抗体は観察者を含む未認定患者に比較し多い傾向を認めたが、出現頻度に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 以上の PCB 高濃度群において抗サイログロブリン抗体を血中 PCB 濃度 2.0 ppb 未満の PCB 低濃度群に比較し有意に高頻度に認めた。血中 PCB 濃度が高値の油症患者において抗サイログロブリン抗体の出現が高頻度に認められ、1996 年度岡県油症一斉検診における結果と同様であった。PCB の抗サイログロブリン抗体に対する慢性的影響が示唆される。また、抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体あるいは TSH 刺激性レセプター抗体のいずれか 1 項目以上の異常を認めたものは PCB 高濃度

群において PCB 低濃度群に比較し有意に出現頻度が高かった。PCB の抗サイログロブリン抗体に対する慢性的影響の機序は不明であるが、油症の原因物質として毒性影響が大きいと考えられる PCDF の影響についての検討が必要と思われる。

E．結論

油症発生以来 40 年以上が経過しているが、2016 年度福岡県油症一斉検診受診者 228 例の甲状腺自己抗体の検討において PCB の抗サイログロブリン抗体に対する慢性的影響が考えられた。

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. 村井宏一郎，辻博，梶原英二，赤木公博，藤島正敏:油症患者の甲状腺機能. 福岡医誌 76 : 233-238, 1985.
6. 辻　博，佐藤薫，下野淳哉，東晃一，橋口衛，藤島正敏：油症患者における甲状腺機能:油症発生28年後の検討. 福岡医学雑誌 88 : 231-235, 1997.
7. Bastomsky CH : Effects of a polychlorinated biphenyl mixture (Aroclor 1254) and DDT on biliary thyroxine excretion in rats . Endocrinology 95 : 1150-1155, 1974.
8. Bastomsky CH : Goitres in rats fed polychlorinated biphenyls. Can J Physiol Pharmacol 55:288-292, 1977.
9. Collins Jr WT, Capen CC, Kasza L, Carter C, Dailey RE : Effect of polychlorinated biphenyl(PCB) on the thyroid gland of rats . Ultrastructural and biochemical investigations. Am J Pathol 89 : 119-136, 1977.
10. Van den Berg KJ, Zurcher C, Brouwer A : Effects of 3,4,3',4'- tetrachlorobiphenyl on thyroid function and histology in marmoset monkeys. Toxicol Lett 41 : 77-86, 1988.
11. Brouwer A : Inhibition of thyroid hormon transport in plasma of rats by polychlorinated biphenyls. Arch Toxicol (Suppl) 13 : 440-445, 1989.
12. Gordin A, Heinonen OP, Saarinen P, Lamberg BA : Serum thyrotrophin in symptomless autoimmune thyroiditis. Lancet 1 : 551-554, 1972.
13. Tunbridge WMG, Brewis M, French JM, Appleton D, Bird T, Clark F, Evered DC, Evans JG, Hall R, Smith P, Stephenson J, Young E : Natural history of autoimmune thyroiditis. Br Med J 282 : 258-262, 1981.

G．研究発表

１．論文発表

辻 博：油症における抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討. 福岡医誌 106 : 119-123, 2015.

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甲状腺自己抗体

No.	Yusho	Controls
	190	38
Anti thyroid microsomal antibody	33 (17.4%)	3 (7.9%)
Anti thyroglobulin antibody	43 (22.6%)	5 (13.2%)
Thyroid stimulating antibody	20 (10.5%)	5 (13.2%)
One or more anti thyroid autoantibodies	63 (33.2%)	10 (26.3%)

表 2　血中 PCB 低濃度群および PCB 高濃度群における甲状腺自己抗体

No.	PCB 濃度	
	＜2.0 ppb	≧2.0 ppb
	206	22
Anti thyroid microsomal antibody	33 (16.0%)	3 (13.6%)
Anti thyroglobulin antibody	39 (18.9%)	9[a] (40.9%)
Thyroid stimulating antibody	21 (10.2%)	4 (18.2%)
One or more anti thyroid autoantibodies	60 (29.1%)	13[b] (59.1%)

[a]P<0.05, [b]P<0.005 vs. blood PCB concentration ＜2.0 ppb..

分担研究報告書

「カネミ油症患者における全脳での脳機能的結合変化の検出法の開発」に関する研究

研究分担者　平成 28 年 4 月～12 月
村井　弘之　九州大学大学院医学研究院脳神経治療学　教授
平成 29 年 1 月～3 月
山下 謙一郎　九州大学神経内科　診療講師

研究要旨　カネミ油症患者に生じる異常感覚の出現，消退の神経基盤を生じる脳機能的結合異常を検出できる安静時機能的 MRI の解析法が確立された.

A．研究目的

カネミ油症患者で末梢神経障害を来す症例が多いが、中枢神経においても近年の動物実験ではダイオキシンが海馬に沈着し同部位の萎縮を来すことが報告されている。カネミ油症患者での自覚的な異常感覚が海馬を中心とした脳機能的ネットワーク障害に起因している可能性があるため安静時機能的 MRI を用いた検討を行った。

B．研究方法

カネミ油症患者での安静時機能的 MRI 撮像法を確立するために、まず九州大学病院を受診した認知症患者において安静時機能的 MRI 撮像を行うものとした。アルツハイマー病(AD)患者において T1 強調画像、T2 強調画像、resting-fMRI 撮像を同時に行う。海馬と線維結合を有する後部帯状回(PCC)を起点とした脳機能的ネットワークの差異を健常人と AD 患者において比較検討した。

（倫理面への配慮）
本研究は九州大学倫理委員会に実施申請を行い、その承諾を得た。

C．研究結果

健常人の安静時機能的 MRI 撮像において、後部帯状回から両側頭頂葉と前部帯状回への有意な機能的結合ネットワーク、いわゆる Default Mode Network (DMN) の活動を検出することができた。AD 患者では、PCC からの機能的結合の減弱を認めた。また AD 患者の中でも認知機能不良群では良好群よりも右前頭前野と頭頂側頭移行部との機能的結合がより低下していることが判明した。

D．考察

本研究により安静時機能的 MRI で PCC を起点とした脳機能的結合の計算方法が妥当であることが証明された。今後カネミ油症において安静時機能的 MRI 撮像を行い、PCC を起点とした解析を行うことで、カネミ油症患者の異常感覚が生じる大脳感覚野の病態が明らかになることが期待される。今後さらにカネミ油症患者での認知機能障害の文献的検討を加えていく予定である。

E．結論

安静時機能的 MRI 撮像と PCC を起点ととした機能的結合解析法によりカネミ油症患者に生じる異常感覚や認知機能障害を生じる神経基盤を検出できる方法が確立された。

F．研究発表

アルツハイマー病での時間見当識障害に伴う脳機能的ネットワーク結合変化の研究.
山下謙一郎、上原平、山下孝二、栂尾理、樋渡昭雄、村井弘之、本田浩、吉良潤一　第 35 回日本認知症学会学術集会. 2016 年 東京

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
特記事項なし

分担研究報告書

長崎県油症認定患者におけるIL-12とIFN-γの検討

研究分担者　平成28年4月～11月
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
研究分担者　平成28年11月～平成29年3月
竹中 基　長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 准教授
研究協力者　大久保佑美 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　昨年の検討において、認定患者ではNK細胞の相対割合（%）が健常人と比較して高値であることを確認した。今回我々は、本結果の原因を探る目的でNK細胞数に影響を与えるサイトカインIL-12と、NK細胞の産生するIFN-γについて解析し、認定患者（N=31）と健常人（N=31）で比較を行った。その結果、IL-12に有意差はないものの増加傾向を認め、IFN-γは油症患者で有意に低値であった(p=0.0056)。これらの値とダイオキシン濃度との間に相関は認めなかったが、AhRを介した患者免疫応答への影響も示唆された。

A. 研究目的

油症発生から48年が経過し、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。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となっている[3]。

昨年我々は、油症患者の免疫機能について更なる検討を進めるべく、リンパ球サブセットの解析を行った。その結果、NK細胞の相対割合が健常人と比較して高値であることを確認した。NK細胞は感染防御に重要な役割を果たす免疫細胞の一つである。NK細胞はIL-12やIL-15、IL-18といった炎症性サイトカインの刺激に加え、感染細胞や腫瘍細胞に提示されたリガンドが直接NK細胞受容体に結合することによって活性化される。その反応として、NK細胞は炎症性サイトカイン、主にIFN-γを産生し、殺細胞性を発揮する[4]。

本年は油症患者におけるNK細胞数高値の原因を探るべく、NK細胞数に影響を与えるサイトカインIL-12と、NK細胞が産生するIFN-γについて解析を行った。

B. 研究方法

①対象：2005年から2009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31名および年齢を合わせた健常人31名を対象とし

た。検診時に採血を行い、凍結保存しIL-12とIFN-γ測定用サンプルとした。

②IL-12の測定：ヒトIL-12ELISAキット(R&D社製)を用いてサンプル血清中のIL-12を測定した。

③IFN-γの測定：ヒトIFN-γELISAキット（R&D社製)を用いてサンプル血清中のIFN-γを測定した。

④IL-12, IFN-γと各種ダイオキシン濃度との相関: 油症患者データベースを元に、②、③で算出した値と同一患者の血清採取時のPCB、PCQ、PCDF濃度との相関を検討した。

⑤統計処理：油症認定患者と健常人におけるIL-12値とIFN-γ値の比較にはMann-WhitneyのU検定を、油症認定患者におけるダイオキシン濃度とIL-12値またはIFN-γ値の相関にはSpearmanの順位相関係数の検定を用いた。$p<0.05$を統計学的有意とした。

（倫理面への配慮）

本研究は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則り、長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て行われた。データ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

長崎県の油症認定患者（Pt）31名、および健常人（CON）31名の平均年齢はそれぞれ72.0±8.6歳、および67.9±11歳で有意差は認めなかった。それぞれの群における血清中IL-12、IFN-γの比較を図1に示す。IL-12は、有意差はないものの増加傾向を示し、一方でIFN-γは有意差をもって低値を示した($p=0.0056$)。また、認定患者におけるIL-12またはIFN-γと各種ダイオキシン濃度とのspearman順位相関係数をみたところ、いずれも有意な相関は認めなかった（図2, PCBについては割愛)。

D. 考察

今回の解析では、油症認定患者は健常人と比較して、統計学的に有意ではないもののIL-12が増加傾向を示した。このことがNK細胞数の増加に関与している可能性も考えられた。一方、NK細胞が産生するIFN-γについては有意差をもって低値を示した。昨年の解析でNK細胞数が増加していたことから、NK細胞が産生するサイトカインは高値であることを予想していたが、それに反する結果となった。近年、NK細胞においては、トリプトファンを光照射する事で生成されAhRに対して高い親和性を持つ体内物質6-formylindolo[3,2-b]carbazole(FICZ)が、AhRを介して IFN-γを産生することが報告されている[5]。AhRはダイオキシン類のレセプターとして知られていることから、今回の結果は、発症から半世紀経過した現在でも低下せず残留し続けるダイオキシンがAhRを持続的に刺激した結果、何らかの負のフィードバックがかかっている可能性も考えられた。NK細胞とダイオキシンとの関連については、これまでに詳細な報告はなく、今回の結果が油症患者の免疫応答における病態解明の発展の一助となることを期待する。

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、様々な症状に苦しんでいる。油症患者における免疫学的研究が、油症患者のQOL 向上、病態解明に繋がることを願っている。

謝辞

これまでのすべての研究を支え、ご指導下さった故・宇谷厚志教授に、心より感謝申し上げます。

参考文献

1. Aoki Y: Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters--what we have learned from Yusho disease. *Environ Res* 2001, 86(1):2-11.
2. Dolwick KM, Schmidt JV, Carver LA, Swanson HI, Bradfield CA: Cloning and expression of a human Ah receptor cDNA. *Mol Pharmacol* 1993, 44(5):911-917.
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 USA* 2008, 105(28): 9721-9726.
4. Keppel MP, Saucier N, Mah AY, Vogel TP, Cooper MA: Activation-specific metabolic requirements for NK Cell IFN-gamma production. *J Immunol* 2015, 194(4):1954-1962.
5. Shin JH, Zhang L, Murillo-Sauca O, Kim J, Kohrt HE, Bui JD, Sunwoo JB: Modulation of natural killer cell antitumor activity by the aryl hydrocarbon receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013, 110(30): 12391-12396.

Ｆ．研究発表

なし

Ｇ．知的財産権の出願・登録状況

なし

図1. 健常人と油症認定患者におけるIL-12、IFN-γの比較

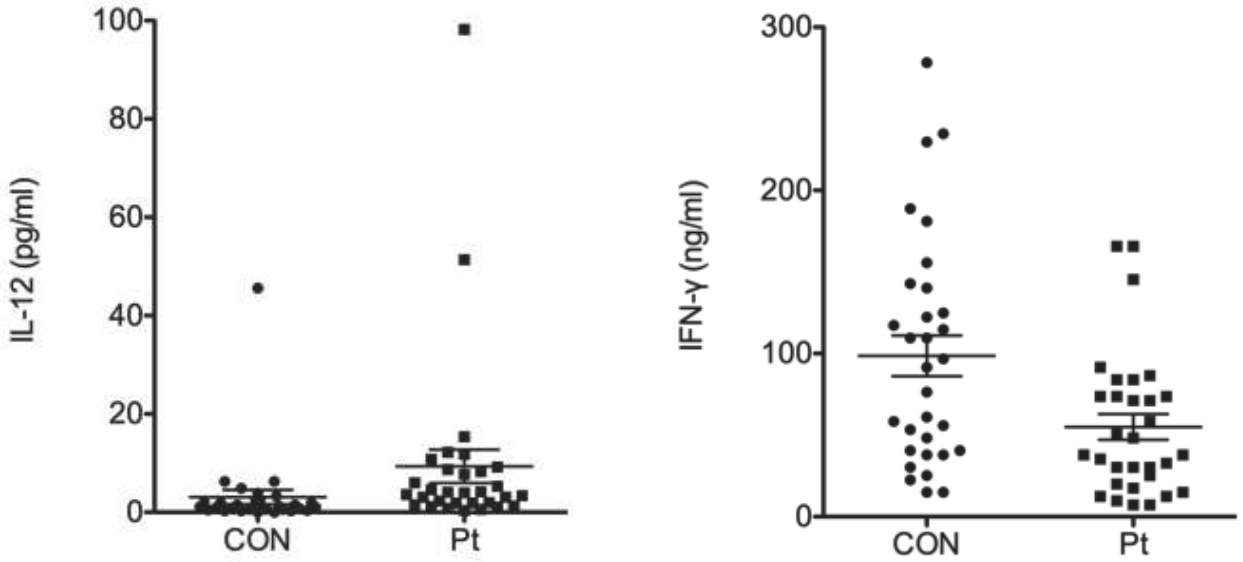
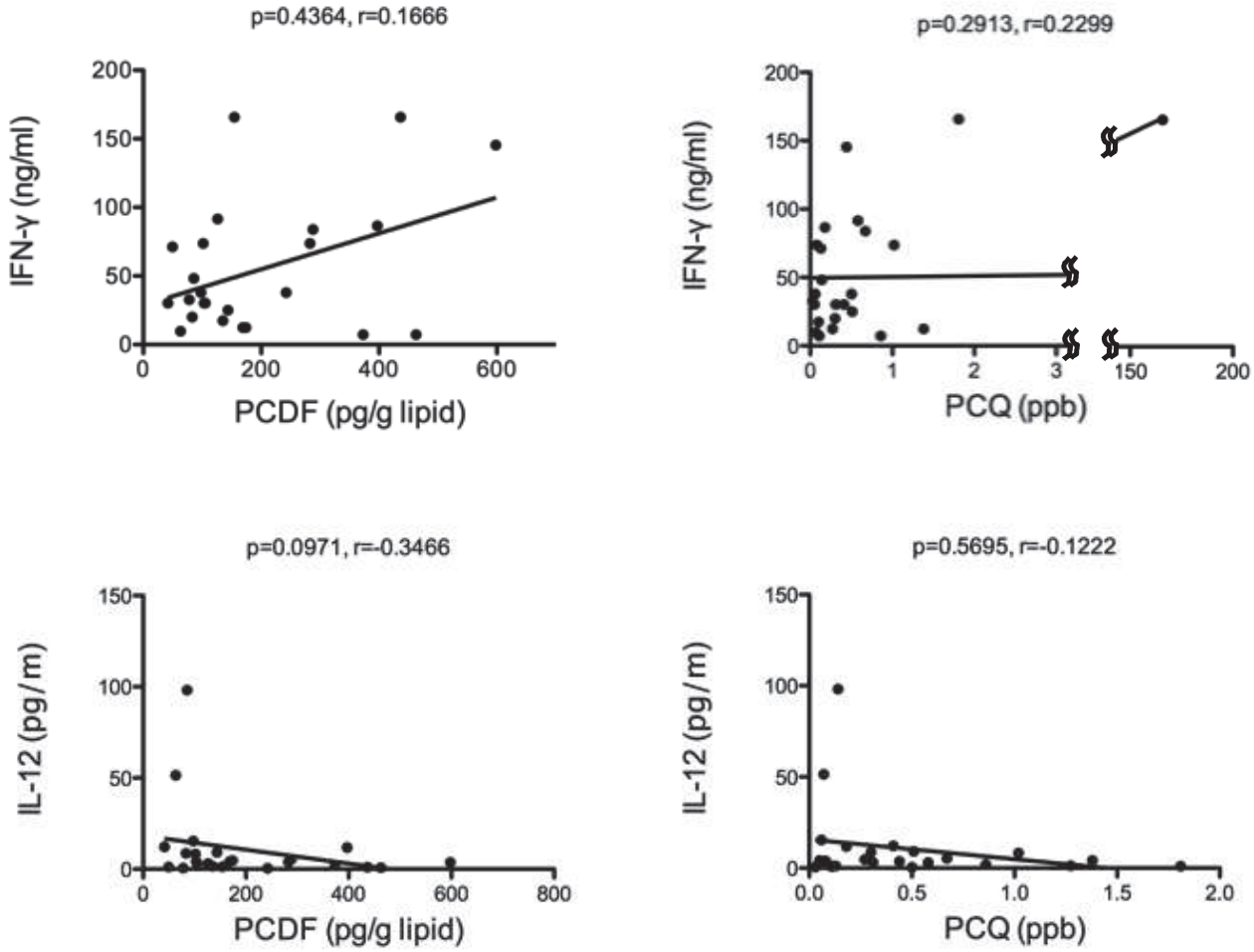


図2. 油症認定患者における各種ダイオキシン濃度とIL-12、IFN-γの相関



分担研究報告書

油症認定患者における soluble CD26/DPP-4 の検討

研究分担者　平成28年4月～11月
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
研究分担者　平成28年11月～平成29年3月
竹中 基　長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 准教授
研究協力者　富村 沙織 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 以前の検討にて、制御性 T 細胞（Treg 細胞）より分泌される血清 IL-10 値が健常人と比べ高い傾向にあり、血清 IL-35 値が優位に高値であることを確認した。これらのサイトカインは Treg 細胞を活性化、あるいは維持するサイトカインであり、油症認定患者では Treg 細胞が活性化している可能性がある。今回、Treg 細胞で発現している血清 CD27 について、正常人との比較を行った。その結果、血清中 CD27 値は油症患者で 12023±1154 pg/ml、健常人で 16020±5066 pg/ml であり、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。

以前行った油症患者血清サイトカインの検討において、IL-33 や IL-35 等が長崎地区油症認定患者で有意に上昇していた [2]。これらは制御性 T 細胞の活性化等に関与しており、油症認定患者では T 細胞系の免疫が活性化している可能性が示唆されている。CD26/DPP-4（dipeptil peptiase-4）は CD4 陽性 T 細胞で発現しており、強力な血管内皮細胞間遊走能を有し、関節リウマチなどの自己免疫性疾患や移植片対宿主病などの免疫異常症に関与し、病変部位に集積する事が知られている。油症患者でも soluble CD26/DPP-4 が変動しているかどうかを解析する事は油症患者の諸症状の原因解明に役立つと考える。今回我々は血清中の soluble CD26/DPP-4 を測定し、正常人との比較検討を行った。

B. 研究方法

①対象：2005 年から 2008 年に施行された長崎県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 31 名および年齢をあわせた健常人 31 名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し

sCD26/DPP-4 測定用サンプルとした

② sCD27/DPP-4 の測定；ヒト DPP4/CD26 アッセイキット（IBL 社製）を用いてサンプル血清中の sCD26/DPP-4 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 sCD26/DPP-4 値との相関を検討した。

④統計的処理：測定した sCD26/DPP-4 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）

本研究は人を対象とする「医学系研究に関する倫理指針」に則り、長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て行った。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 CD26/DPP-4 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 CD26/DPP-4 値はそれぞれ油症患者で 992.8±56.66 ng/ml、健常人で 800.7 ±58.40 ng/ml であり、2 群間に有意な差を認めた（p=0.0215）（図 1）。つづいて、油症認定患者血清中の sCD27/DPP-4 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

CD26/DPP-4 は、分子量 110kDa の 766 このアミノ酸からなるセリンプロテアーゼの一種で、腎臓、血管内皮、肝臓、腸管臓器などの上皮細胞及びメラノサイト、活性化 T リンパ球、B リンパ球、マクロファージなど全身の様々な細胞に分布している。その生物学的機能は多彩で、1）受容体機能、2）共刺激蛋白作用、3）接着分子機能、4）アポトーシス誘発機能などが知られている。また、CD26/DPP-4 は活性化 T リンパ球のうち、特に CD4 陽性 T 細胞で発現しており、更に CD4 陽性 T 細胞の中では Th1 細胞や Th2 細胞よりも Th17 細胞により多く発現していることが知られている [3]。今回測定した soluble CD26/DPP-4 は、膜蛋白として存在している CD26/DPP-4 の N 末端から 39 番目のセリンで切断された可溶型として存在し、膜型と同様の酵素活性を発揮すると考えられている。しかし、前述のように多くの臓器に発現していることから、soluble CD26/DPP-4 値が高いからといって、上記の CD4 陽性細胞の活性を直接反映していると言えるわけではない。TCDD 暴露後、CD26 陽性細胞が減少したとする報告もあり [4]、今回油症患者と健常人との間にわずかに有意差を認めたが、以前より検討を行っている油症患者では T 細胞免疫系が活性化しているのではないかという推測を必ずしも裏付けるものではないが、否定もできないと考える。

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。今回の検討では、CD26/DPP-4 値との関連が示唆されている糖尿病、肥満、うつ状態などとの相関についての検討は行っていないが、今後更なる検討を行い、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):2-11.
2. 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 TNF alpha levels more than 40 years after accidental polychlorinated biphenyl poisoning. *J Immunotoxicol* 2014, 11(3): 246-249.
3. Bengsch B, Seigel B, Flecken T, Wolanski J et al.: Human Th17 cells express high levelss of enzymatically active dipeptidylpeptidase Ⅳ(CD26). *J Immunol*, 2012, 188(11): 5438-5477.
4. Halperin W, Vogt R, Sweeney MH, Shopp G, Fingerhut M, Petersen M: Immunological markers among workers exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Occup Environ Med*, 1998, 55(11): 742-9.

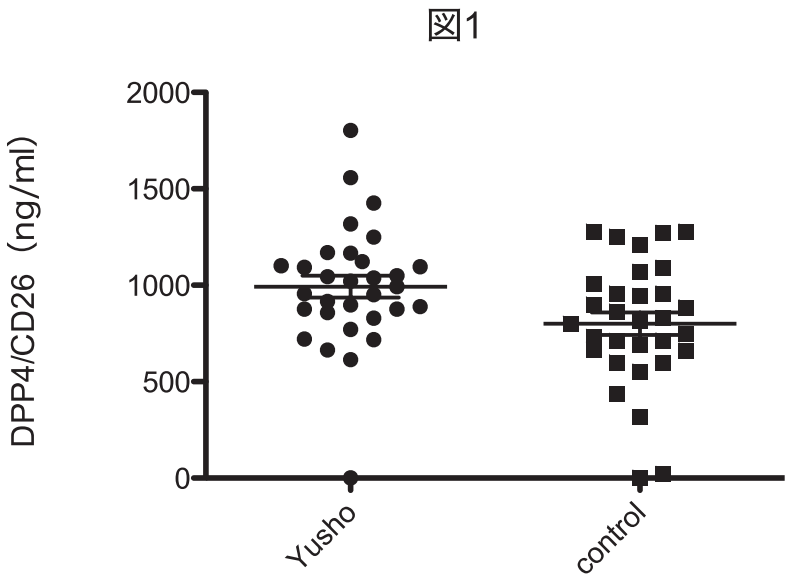
F. 研究発表

なし

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sCD26/DPP-4値の比較



分担研究報告書

カネミ油症患者の低濃度患者における 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度の変化（半減期）と半減期の変化に関する研究

分担研究者　赤羽　学　奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　准教授
研究協力者　松本　伸哉　奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　博士研究員
今村　知明　奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　教授
神奈川芳行　奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　非常勤講師

研究要旨　体内のダイオキシン類は、徐々に排出される一方、食事などから継続的に摂取しているため、その濃度は変化している。濃度の変化率は、「半減期」として評価されてきた。今回、2,3,4,7,8-PeCDF の濃度別、生年別に、濃度の変化率（半減期）と濃度の変化率の変化を確認することを目的とした。濃度の変化率（半減期）の変化は、濃度の対数の二階微分として評価できる。もっとも単純な二階微分を有する二次方程式に近似して、二階微分の係数を評価した。油症発生以降に生まれた患者は（いわゆる「二世患者」）では、血中で 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が低く、増加している傾向がみられた。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が、10～20 pg/g lipid の患者は、多くが油症発生以前に生まれている（いわゆる「一世患者」）が、二階微分は負の患者が多く、平衡状態に低濃度の側から近付いていることが推測される。

A．研究目的

平成 14 年度以降の油症検診でダイオキシン類濃度が測定されている。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 年度の研究として、ダイオキシン類の半減期の変化を求めたところ、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、一般人よりも油症患者において濃度が低いダイオキシン類では、半減期が短くなる傾向であった[4]。平成 27 年度の研究では、各異性体における半減期と半減期の変化の関係から、平衡状態との関係を示した[5]。

これまでの研究では、ダイオキシン類の摂取よりも排出が多い高濃度の患者を対象に分析を実施してきた。油症発生以降に生まれた（いわゆる「二世患者」）のように胎児期や生まれた直後に暴露した場合は、成長期に急激に体重を増加させるため、一般人に近い濃度となり、摂取と排出の量は拮抗する。

本研究では、低濃度の患者におけるダイオキシン類の各異性体の半減期の変化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、3 期間（2002～2006、2007～2010、2011～2014）のそれぞれで、1 回以上ダイオキシン類を計測し、体重・身長を計測している患者 298 名を対象とした。表 1 に性と 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度別の分布を示す。

Ｂ．２．解析手法

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。二階微分が正である状況を図１に示す。二階微分が正である場合には、濃度の減少率が徐々に減少している。つまり、半減期が伸びている状況である。また、摂取量が増加し、濃度が減少から増加に転じた場合にも、二階微分は正となる。

二階微分が負の状況を図２に示す。二階微分が負であるとは、濃度の減少率が増えている。つまり、半減期が短くなっている。または、濃度が増加から減少に転じていることが考えられる。一般人は、食事などからのダイオキシン類の摂取で濃度が上昇する。しかし、環境中のダイオキシン類濃度が減少しており、ある時点から濃度の減少していく。このような場合には、二階微分は負となる。

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。

$$log_2 C_{it} = \mathrm{c}_i + b_i t + a_i t^2$$

t：測定年度

各患者に対して、回帰式を求め、その分布の評価を行った。

第１に、低濃度の患者における、一階微分（半減期）と二階微分（半減期の変化率）の生年ごとの分布の傾向を確認した。

第 2 に、高濃度の患者における分布の傾向を確認した。

第３に、濃度ごと、生年ごとに、分布がどのようになっているか象限ごとの人数で確認をした。二つの軸であらわされる場合に、それぞれの軸の正負により、４つの象限に分割される。それぞれの象限の意味と現象について、図３に示す。一階微分と二階微分ともに正の場合が第 1 象限であり、一階微分が正で二階微分が負の場合が第２象限、一階微分と二階微分ともに負である場合が第 3 象限である、一階微分が正で二階微分が負の場合が第４象限である。図４に、環境中の濃度減少を前提とした平衡状態に対する位置づけと体内負荷量の一階微分と二階微分の正負の関係を示します。どの象限に存在すかにより、平衡状態に対してどのような位置にいるかを推定することができる。

Ｃ．研究結果

Ｃ．１．低濃度患者の生年別散布図

図５に、2,3,4,7,8-PeCDF の血中脂質あたり濃度が、10 pg/g lipid 以下の患者における、濃度の変化率（半減期）と半減期の変化率の分布を示す。

なお低濃度の患者では、一階微分（縦軸）が正、つまり、濃度が増加している患者が多かった。

Ｃ．２．高濃度患者の生年別散布図

図６に、2,3,4,7,8-PeCDF の血中脂質あたり濃度が、100 pg/g lipid 以上の患者における、濃度の変化率（半減期）と半減期の変化率の分布を示す。

低濃度の患者のグラフと比較して、値の分布幅が狭いため、グラフのスケールを変えている。

Ｃ．３．生年別・濃度別高濃度患者の生年別散布図

表２に、各患者の 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度ごと、生年ごとによる濃度の変化率（半減期）と濃度の変化率（半減期）の変化率を正負で分類した象限ごとの人数を示す。

表の右下部分は、患者がいなかった。つまり、1965 年以前に生まれた患者には高濃度の患者が含まれていたが、1965 年以降に生まれた患者は、20 pg/g lipid 以下の患者だけであった。

D．考察

ダイオキシン類は、食事にも含まれており、継続的に摂取している。一般の人は、継続的な暴露によって平衡状態に濃度の低い側から近づいていく。油症患者は、米ぬか油に含まれた 2,3,4,7,8-PeCDF によって、高濃度の暴露があった。このような場合には、平衡状態よりも高濃度となっており、高濃度の側から平衡状態に近づいていく。また、環境中のダイオキシン類の濃度は、ダイオキシン類の規制により、年々減少しており、平衡状態の濃度が減少している。

乳幼児期に暴露を受けた患者や胎児期に暴露をうけた「二世患者」は、体重当たりの暴露量が相当なものであったとしても、成長とともに体重が増加することで、体重当たりのダイオキシン類量、つまり、濃度は相当程度減少していると考えられる。表２に示すように、1965 年以降に誕生した患者は、20 pg/g lipid 以上の濃度を示す患者は存在しなかった。それ以降に誕生した患者の濃度も減少している。

表２の赤枠で示した、1965 年以降に生まれた患者の内、5 pg/g lipid 以下の患者は、第１象限と第２象限に多い。これは、一階微分が正の患者、つまり濃度が増加している患者が多い。これは、濃度が低く平衡状態に達していない患者は、濃度が増加していくことを示している。

表２の緑枠で示した 1959 年以前に生まれた患者の内、高濃度の患者は、第４象限に位置する患者が多い。一階微分が負（＝濃度が減少）で、二階微分が正（＝半減期が伸びている）の患者が多い。これは、高濃度の側から、平衡状態に近づいていく場合に現れる。

200 pg/g lipid 以上の患者では、第３象限に位置する患者も多い。これは、偶然の影響も考えられるが、患者自身の半減期が伸びている可能性もある［6］。

10～20 pg/g lipid の患者は、第２象限に位置する患者が多い。つまり、濃度が増加しつつ、増加率が鈍化している状態である。これは、平衡状態に低濃度の側から近づいている場合の特徴である。これらの患者の平衡状態は、さらに低濃度の患者の平衡状態よりも高いことが推測される。

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

5）カネミ油症患者のダイオキシン類異性体ごとの濃度の変化（半減期）の変化に関する研究：平成 27 年度総括・分担研究報告書

6）Matsumoto S, Akahane M,

Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M and Imamura T. (2016) Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients. Environmental Health, 15(1), 95.

F. 研究発表

1.論文発表

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M and Imamura T. (2016) Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients. Environmental Health, 15(1), 95.

2.学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図１　２階微分が正の状況

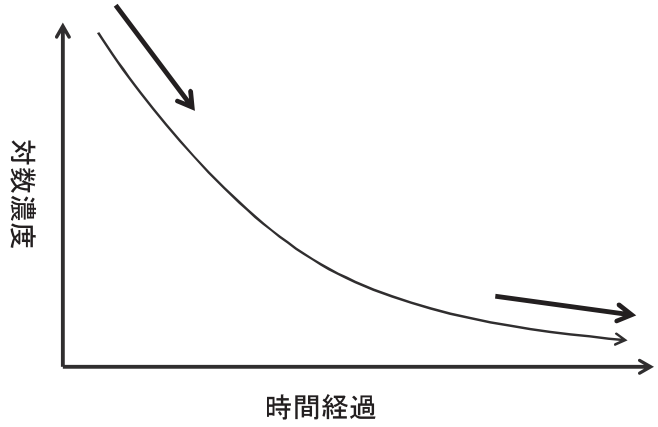


図２　２階微分が正の状況

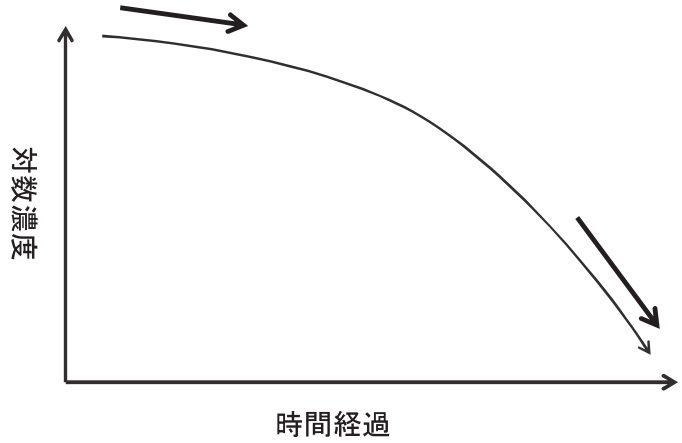


図３　一階微分と二階分の正負と象限の関係

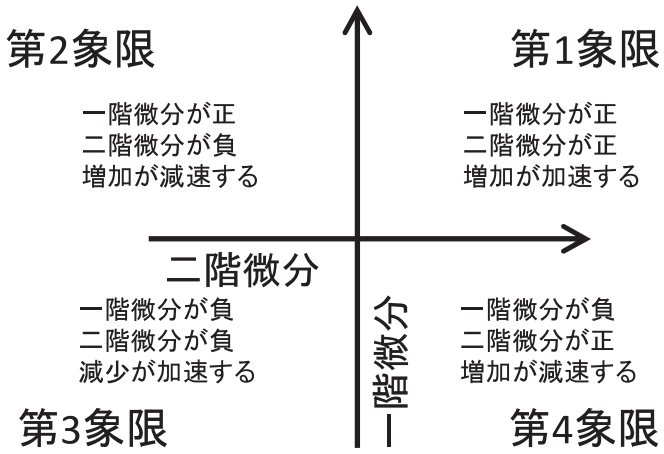


図４　環境中の濃度減少を前提とした、体内負荷率の変化と 1 階微分と二階微分の関係

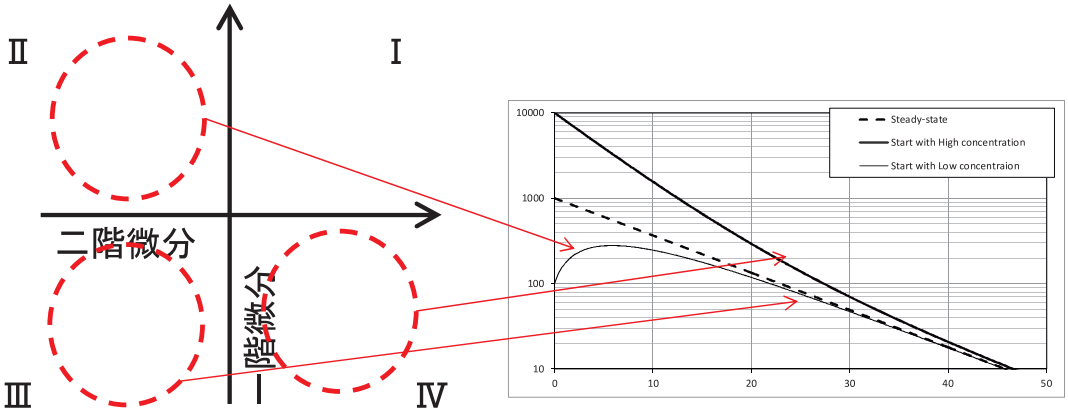


図５　2,3,4,7,8-PeCDF の血中脂質あたり濃度が、10 pg/g 以下の患者における濃度の変化率（半減期）と濃度の二階微分（半減期の変化率）の分布

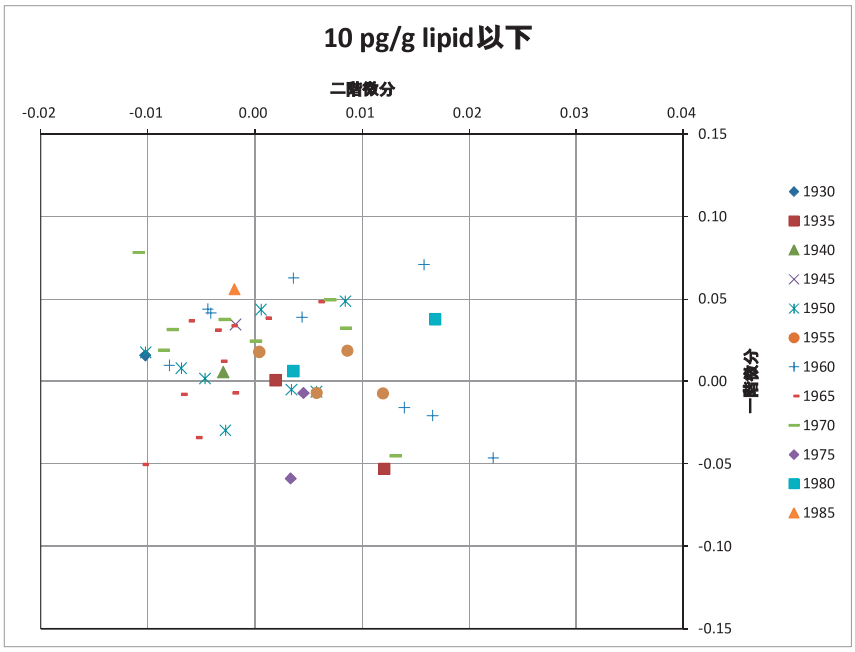


図６　2,3,4,7,8-PeCDF の血中脂質あたり濃度が、100 pg/g 以上の患者における濃度の変化率（半減期）と濃度の二階微分（半減期の変化率）の分布

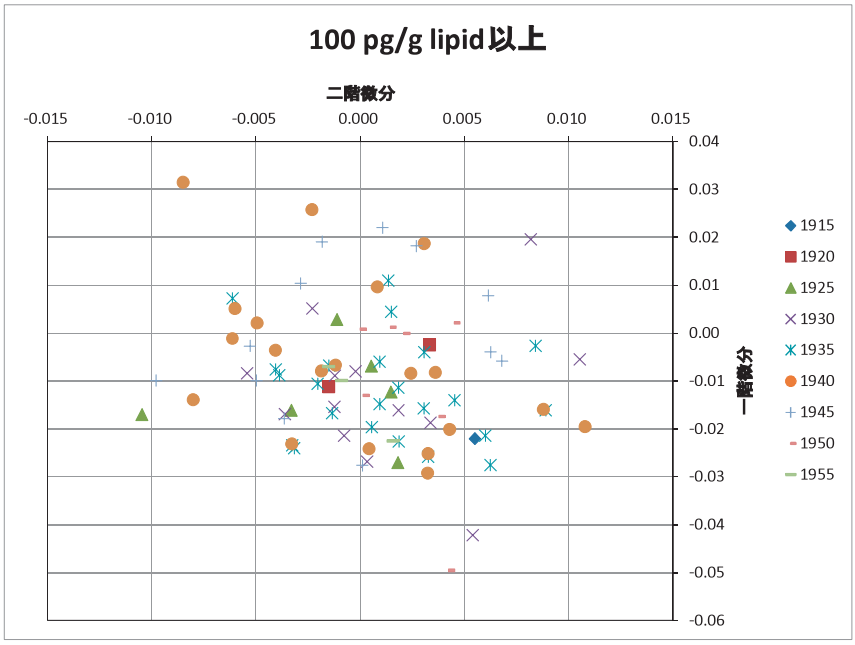


表１　対象患者の性・濃度別の分布

2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 (pg/g lipid)	男性	女性	計
5 未満	5	7	12
5～10	28	15	43
10～20	28	42	70
20～50	29	24	53
50～100	21	10	31
100～200	17	23	40
200～500	9	32	41
500～1000	1	7	8
計	138	160	298

表2　濃度ごと、生年ごとの、濃度の変化率（半減期）と濃度の二階微分（半減期の変化率）の各象限の分布

生年範囲

濃度範囲	象限	1915-1919	1920-1924	1925-1929	1930-1934	1935-1939	1940-1944	1945-1949	1950-1954	1955-1959	1960-1964	1965-1969	1970-1974	1975-1979	1980-1984	1985-1989	1990-1994	総計
	1									1		2			1		1	5
	2											1	2			1		4
	3																	0
0: 0-5	4													2			1	3
	1					1			2	1	3		3		1			11
	2				1		2	1	3		3	3	3		1			17
	3								1			4						5
0: 5-10	4					1			2	2	3		1	1				10
	1			2	1	3	2	2		1		2						13
	2			3	3	4		2	4	7	3	2						28
	3			1	2	1	1	2			2	1	1					11
2: 10-20	4		1		1	3	2	1	5	3	1		1					18
	1			1	2	3	2	1	1		1							11
	2		1	2	4	6	3	3		2								21
	3		1	3	1	2		3	2									12
3: 20-50	4		1		3	1	2	1	1									9
	1			1	2	2			1	1								7
	2		1		2	1		1										5
	3					3	2		1	1	1							8
4: 50-100	4			2	2	1	1	3	1	1								11
	1				1		1	1	2									5
	2						3	1										4
	3		1		2	3	1			1								8
5: 100-200	4	1		1	1	6	5	4	3	1	1							23
	1					2	1	1	1									5
	2			1	1	1	1	2										6
	3			2	3	4	4	1		1								15
6: 200-500	4		1	1	2	6	3	1	1									15
	2							1										1
	3				1		1	1										3
7: 500-1000	4			1	2	1												4
総計		1	7	21	37	55	37	33	31	23	18	15	11	3	3	1	2	298

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
- 油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と男児出生割合との関連-

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
研究協力者　加藤　聖子　九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学　教授
研究協力者　諸隈　誠一　九州大学環境発達医学研究センター　特任准教授

研究要旨　カネミ油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と次世代・次々世代における男児出生割合との関連について検討した。油症発生後に妊娠・出産となった 59 例(142 妊娠)を対象とし、ダイオキシン類の曝露量として分娩時の血中ダイオキシン類推定濃度を、また遺伝的感受性としてダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)を解析した。その結果、油症患者より出生した女系の次々世代では、男児出生割合が 0.38 と低下する傾向が示された。また、母体の分娩時血中ダイオキシン類推定濃度、なかでも 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い場合には次世代の男児出生割合が低下することが示された。一方、母体の AhR 遺伝子多型と次世代および次々世代の男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。これらの成績から、カネミ油症発生後に油症患者より出生した女系の次世代、次々世代では男児出生割合が低下する継世代的な健康影響が生じている可能性があること、この機序には母体が曝露したダイオキシン類の量的な問題が関与していることが示唆された。

A．研究目的

ダイオキシン類などの化学物質曝露が次世代の健康にどのような影響をいかに及ぼすのかという継世代的な健康影響とその発現機序に世界的な関心が高まっている。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 [1)]、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 [2)] 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、油症患者で観察された次世代、次々世代における男児出生割合の低下をきたす機序を明らかにすることを目的として、油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と男児出生割合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)を対象とした。

○調査方法：

①アンケート調査：対象群 59 例(142 妊娠)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) と出生児の性別を得た。

②ダイオキシン類曝露量の解析：対象群 59 例より血液を採取し、大量試料注入装置(アイスティサイエンス製 LVI-S200)付

き高分解能ガスクロマトグラフ／高分解能質量分析計(Agilent 6890／Micromass AutoSpec Premier、HRGC/HRMS)を用いて、7 種類のポリ塩化ジベンゾパラジオキシン(PCDDs)、10 種類のポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)および 4 種類の non-*ortho* ポリ塩化ビフェニル(non-*ortho* PCBs)を測定した。ダイオキシン類曝露量の指標には、分娩時の血中ダイオキシン類濃度を用い、検査時血中濃度×2[分娩から血液検体採取までの期間(年)/ダイオキシン類の半減期(年)]の式を用いて推定した。

③遺伝的感受性の解析：対象群 59 例より血液を採取し、リンパ球を分離した後、DNA を抽出し、ダイオキシン類受容体(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：

①～③の調査結果をもとにカネミ油症患者における男児出生割合と母体分娩時の血中ダイオキシン類推定濃度および母体 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、Student t-検定、Mann-Whitney U-検定、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

①油症次世代、次々世代における男児出生割合：

油症患者 49 例(100 妊娠)において出生児(次世代)の性別のデータが得られた。また次世代 31 例(49 妊娠)において出生児(次々世代)の性別のデータが得られた。

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(表 1)。また、次々世代における男児出生割合は 0.51 と次世代より低下し、なかでも女系(母親)曝露では男児出生割合は 0.38 とさらに低下したが、general population の割合と比較して有意な差はなかった。

②男児出生割合と母体分娩時血中ダイオキシン類推定濃度との関連：

油症患者 43 例(90 妊娠)において出生児(次世代)の性別および母体血中ダイオキシン類濃度のデータが得られた。

油症発生後に女児を出生した油症患者における分娩時の総ダイオキシン類血中推定濃度、総 PCDFs 血中推定濃度、および 2,3,4,7,8-PeCDF 血中推定濃度は男児を出生した群の値と比して高い値を示したが、有意な差はなかった(表 2)。

一方、各々の分娩時ダイオキシン類血中推定濃度と児の性別のデータから ROC 曲線 (Receiver Operatorating Characteristic curve)を描き、左上隅から最も近い点をカットオフ値として求めると、各々のカットオフ値(AUC : Area Under the Curve)は、総ダイオキシン類では 614 TEQ pg/g lipid(0.590)、総 PCDDs では 212 TEQ pg/g lipid(0.553)、総 PCDFs では 274 TEQ pg/g lipid(0.591)、総 non-*ortho* PCBs では 38 TEQ pg/g lipid(0.560)、2,3,4,7,8-PeCDF では 252 TEQ pg/g lipid(0.592)であった。各々のカットオフ値以上の群とカットオフ値未満の群との間で男児出生割合を比較すると、総ダイオキシン類血中推定濃度、総 PCDFs 血中推定濃度および 2,3,4,7,8-PeCDF 血中推定濃度におけるカットオフ値以上の群ではカットオフ値未満の群と比較して男児出生割合が有意に低値を示した(表 3)。

③男児出生割合と母体-130bpAhR 遺伝子多型との関連：

油症患者 49 例(100 妊娠)において出生児(次世代)の性別および母体 AhR 遺伝子多型のデータが得られた。また次世代 31 例(49 妊娠)において出生児(次々世代)の性別および母体 AhR 遺伝子多型のデータが得られた。

各 AhR 遺伝子型(C/C、C/T、T/T)における次世代および次々世代の男児出生割合を検討すると、各々の AhR 遺伝子型において男児出生割合は次世代、次々世代ともに general population の割合と比べて有意な差はなかった(表 4)。また、次世代および次々世代の性別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(図 1)。

D．考察

これまでの油症曝露による次世代、次々世代への健康影響の観察から、母親が 20 歳未満で油症に曝露した場合、出生した児(次世代)の男児出生割合は 0.450 で一般集団の割合(0.514)と比較して低い傾向(p=0.06)を示すこと、さらにこの次世代が母親となった場合には出生児(次々世代)の男児出生割合は0.348と一般集団と比較して有意に低値を示すことを報告した [2]。今回の検討でも、女系油症曝露では次々世代における男児出生割合は 0.38 と低下していたが、統計学的に有意差はなかった。今回統計学的に有意差がでなかった要因としては、母親が 20 歳以上で油症に曝露した症例も対象としたこと、また油症女性患者216例を対象とした過去の報告[2]に比較して症例数が少なかったことが挙げられる。また、今回の検討では、母体の分娩時血中ダイオキシン類推定濃度、なかでも 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い場合には次世代の男児出生割合が低下することが示された。一方、母体の AhR 遺伝子多型と次世代および次々世代の男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。これらの成績から、カネミ油症発生後に油症患者より出生した女系の次世代、次々世代では男児出生割合が低下する継世代的な健康影響が生じている可能性があること、この機序には母体が曝露したダイオキシン類の量的な問題が関与していることが示唆された。

児の性の決定には受精時の母体の性ホルモン状態が影響を及ぼすことが報告されている [3]。すなわち、受精時に母体の高エストロゲン状態、高アンドロゲン状態では男児が増加する。ダイオキシン類は抗エストロゲン作用や抗アンドロゲン作用を有することが知られている [4]。油症女性患者においては、2,3,4,7,8-PeCDF 血中濃度が高い症例では、血中エストロゲン濃度が低下していることが報告されている [5]。これらの報告から、女性が高濃度のダイオキシン類に曝露した場合には、血中エストロゲン濃度が低下し、妊娠時には女児が生まれやすい母体の性ホルモン状態となり、その結果次世代の男児の出生割合が低下することが示唆された。

一方、油症患者より出生した児におけるダイオキシン類の血中総ダイオキシン類濃度は油症患者(母親)の約 13%で、正常健常人の値と有意な差はないこと、なかでも、油症患者(母親)における 2,3,4,7,8-PeCDF の血中濃度は正常健常人の値の約 30 倍の高値を示したが、児の血中濃度は母親の約 4%で、正常健常人の値と有意な差はないことが報告されている [6]。このことから、女系の油症次世代においては、血中ダイオキシン類濃度が正常にも関わらず、出産した次々世代の男児の出生割合が低下していることが推察される。ラットを用いた動物実験では、TCDD 曝露により次世代の雌においても血中エストロゲン濃度の低下、卵胞刺激ホルモン(FSH)濃度の上昇をきたすことが報告されている [7]。また、ラット

やマウスでは、ダイオキシン類などの環境ホルモンの曝露により卵巣のエストロゲン受容体のエピジェネティックな変化をきたし、継世代的な生殖機能の障害を引き起こすことが報告されている[8]。これらの成績から、油症患者より出生した次世代では、胎児期に母体から移行するダイオキシン類曝露を受けることにより性ホルモン異常やエピジェネティックな遺伝子発現制御の破綻をきたし、この次世代が妊娠する時には女児が生まれやすい性ホルモン状態となり、その結果次々世代の男児の出生割合が低下することが示唆された。

今後、このカネミ油症曝露による男児出生割合が低下する機序を明らかにするとともに、カネミ油症発症後に油症患者から出生した次世代のみならず、その次々世代においても健康状態を注意深く見守ることが重要であると考えられた。

E．結論

カネミ油症発生後に油症患者より出生した女系の次世代、次々世代では男児出生割合が低下する継世代的な健康影響が生じている可能性があること、この機序には母体が曝露したダイオキシン類の量的な問題が関与していることが示唆された。

F．研究発表

１．論文発表

なし

２．学会発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況

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) 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.
2) Tsukimori K, et al. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. Epidemiology 23(2):349-350, 2012.
3) James WH. Evidence that mammalian sex ratios at birth are partially controlled by parental hormone levels around the time of conception. J Endocrinol 198(1); 3-15, 2008.
4) Ulbrich B, Stahlmann R. Developmental toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs): a systematic review of experimental data. Arch Toxicol. 78(5):252-268, 2004.
5) 辻博、池田正春. 油症における性腺機能の検討. 福岡医学雑誌 98(5);166-169, 2007.
6) Tsukimori K, et al. Comparison of the concentrations of polychlorinated biphenyls and dioxins in mothers affected by the Yusho incident and their children. Chemosphere. 84(7):928-935, 2011.
7) Myllymäki SA, et al. In utero and lactational exposure to TCDD; steroidogenic outcomes differ in male and female rat pups. Toxicol Sci. 88(2):534-544, 2005.
8) Zama AM and Uzumcu M. Epigenetic effects of endocrine-disrupting chemicals on female reproduction: an ovarian perspective. Front Neuroendocrinol 31(4):420-439, 2010.

表 1 油症次世代、次々世代における男児出生割合

男児出生割合	油症次世代				油症次々世代	
	総数	発生から10年間	発生から10-20年	発生から20年以降	総数	女系曝露
%(n/N)	0.55(55/100)	0.60(35/58)	0.45(13/29)	0.54(7/13)	0.51(25/49)	0.38(6/16)
OR(95%CI)	1.16(0.66-2.01)	1.44(0.69-3.00)	0.77(0.27-2.16)	1.10(0.24-5.15)	0.98(0.45-2.17)	0.57(0.14-2.32)
p value	p=0.671	p=0.455	p=0.793	p=1.000	p=1.000	p=0.722

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 油症患者から出生した児の性別と母体分娩時血中ダイオキシン類推定濃度(TEQ pg/g lipid)との関連

ダイオキシン類		男児 (n=51)	女児 (n=39)
Total TEQ (TEQ pg/g lipid)			
	Mean	985.1	1447.5
	SD	1261.7	1819.2
	p value	0.179	
Total PCDDs (TEQ pg/g lipid)			
	Mean	299.6	351.8
	SD	285.8	309.3
	p value	0.414	
Total PCDFs (TEQ pg/g lipid)			
	Mean	588.6	979.2
	SD	1008.3	1501.0
	p value	0.166	
Total non-*ortho* PCBs (TEQ pg/g lipid)			
	Mean	45.0	54.4
	SD	33.7	37.6
	p value	0.219	
2,3,4,7,8-PeCDF (TEQ pg/g lipid)			
	Mean	519.2	864.3
	SD	901.3	1334.2
	p value	0.169	

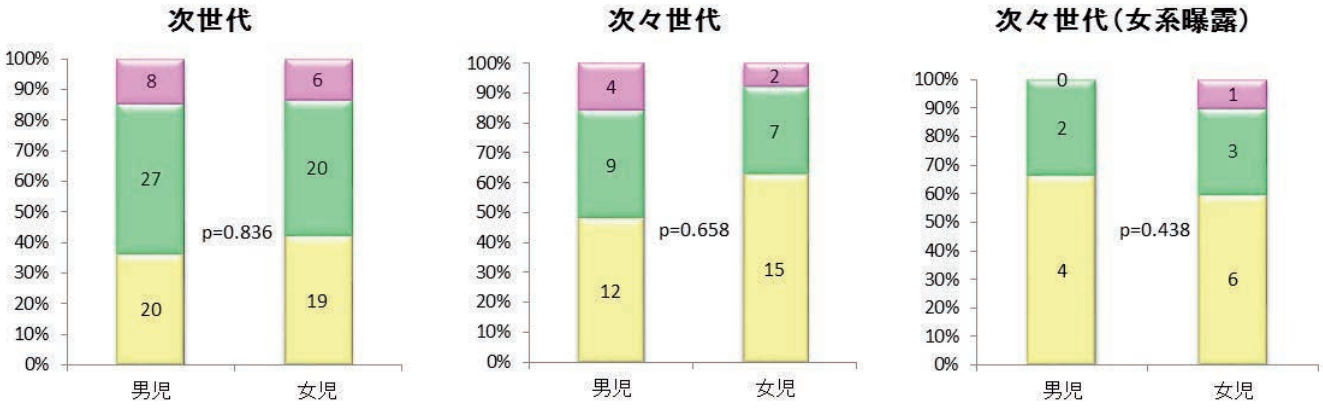
表 3 母体ダイオキシン類曝露量と男児出生割合との関連

ダイオキシン類	血中濃度 (TEQ pg/g lipid)	男児出生割合 (Male/Female)
Total TEQ		
	> 614	0.446(21/26)
	< 614	0.698(30/13)
	p value	**0.020**
Total PCDDs		
	> 212	0.510(26/25)
	< 212	0.641(25/14)
	p value	0.284
Total PCDFs		
	> 274	0.429(18/24)
	< 274	0.688(33/15)
	p value	**0.019**
Total non-*ortho* PCBs		
	> 38	0.488(21/22)
	< 38	0.638(30/17)
	p value	0.202
2,3,4,7,8-PeCDF		
	> 252	0.429(18/24)
	< 252	0.688(33/15)
	p value	**0.019**

表 4 母体-130bpAhR 遺伝型における男児出生割合

AhR SNP	男児出生割合	次世代				孫世代	
		総数	発生から10年間	発生から10-20年	発生から20年以降	総数	女系曝露
C/C	%(n/N)	0.51(20/39)	0.52(11/21)	0.46(6/13)	0.60(3/5)	0.44(12/27)	0.40(4/10)
	OR(95%CI)	0.99(0.41-2.42)	1.04(0.31-3.49)	0.81(0.17-3.78)	1.42(0.12-17.37)	0.76(0.26-2.21)	0.63(0.11-3.71)
	p value	p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=0.786	p=1.000
C/T	%(n/N)	0.57(27/47)	0.65(20/31)	0.46(6/13)	0.33(1/3)	0.56(9/16)	0.40(2/5)
	OR(95%CI)	1.28(0.57-2.88)	1.72(0.62-4.76)	0.81(0.17-3.78)	0.47(0.02-12.81)	1.22(0.30-4.89)	0.63(0.05-7.72)
	p value	p=0.679	p=0.440	p=1.000	p=0.950	p=1.000	p=0.996
T/T	%(n/N)	0.57(8/14)	0.67(4/6)	0.33(1/3)	0.60(3/5)	0.67(4/6)	0(0/1)
	OR(95%CI)	1.26(0.28-5.59)	1.89(0.18-19.50)	0.47(0.02-12.81)	1.42(0.12-17.37)	1.89(0.18-19.50)	NA
	p value	p=1.000	p=0.992	p=0.950	p=1.000	p=0.992	p=0.500

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



T/T	8 (15%)	6 (13%)
C/T	27 (49%)	20 (44%)
C/C	20 (36%)	19 (42%)

T/T	4(16%)	2(8%)
C/T	9(36%)	7(29%)
C/C	12(48%)	15(63%)

T/T	0(0%)	1(10%)
C/T	2(33%)	3(20%)
C/C	4(67%)	6(69%)

図 1 次世代、次々世代の性別と母体-130bpAhR 遺伝子多型の頻度

分担研究報告書

ダイオキシン類によるマウス肺障害の経時的変化に関する検討

研究分担者　中西　洋一　九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　教授
研究協力者　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
柳原　豊史　九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　助教

研究要旨　マウスに Benzo[a]pyrene を経気道的に投与することにより,マウス肺障害モデルを作成し,経時的変化を検討した. BaP 投与後 4-7 日後が解析に適当と考えられた.

A．研究目的

油症の主な原因物質と考えられる PCDFs をげっ歯類に経気道的に投与すると，電子顕微鏡にて club 細胞(以前は clara 細胞と呼ばれていた)の壊死が認められると報告されており[1)],油症患者における肺病変の主座は club 細胞を中心とした細気管支領域と考えられている.ダイオキシン類は Aryl hydrocarbon receptor (AhR)を介し CYP1A1 の経路を通じて細胞障害を引き起こすと考えられているが[2)-4)], club 細胞は肺において AhR を発現している数少ない細胞のひとつであることもこの考えを支持する.これまで当科では,ダイオキシン類による肺障害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.マウスの肺に経気管的にダイオキシン類の一種である Benzo[a]pyren (BaP)を投与することにより検討し,気道分泌物の増加等を示すモデルを作成してきたが,個体差によるばらつきが大きく,また肺障害が起こる時期,持続する時間についての十分な検討はされていなかった.そこで今回我々はダイオキシン類投与後,マウス肺障害の経時的な変化を評価することを目的とした.

B．研究方法

BaP をマウスに経気道的に投与し、経時的な組織学的評価を行った。

具体的には、C57BL/6 マウス雄、10 週齢に、corn oil + saline + Tween20 で溶解した BaP を 1 匹あたり 400μg(50μl)，3 日間連続で経鼻的に投与した[1) 2)]．対照群には溶媒のみを 50μl 投与した．投与 1 日後，4 日後，7 日後，10 日後に肺を取り出し，HE 染色にて病変を評価した.次に 7 日後に投与した肺を用いて Alcian blue-PAS (AB-PAS)染色，Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1)，Surfactant Protein (SP)-A, SP-D による免疫染色を施行した．また 7 日後には気管支肺胞洗浄(BAL)を施行して細胞分画，蛋白濃度の解析を行った.

（倫理面への配慮）
九州大学動物実験実施規則に従って実験を行った。

C．研究結果

3 日間連続で BaP 経鼻投与後，投与 1 日後,4 日後,7 日後,10 日後に肺を取り出して HE 染色にて検討した結果，どの時点においても細気管支上皮への炎症細胞の浸潤が認められた(Figure 1)．7 日後の炎症がやや強い印象があり,7 日後の肺について更に検討を加えた．AB-PAS 染色では BaP 投与群において PAS 陽性細胞が多く認められた (Figure 2). CYP1A1 による免疫組織染色では細気管支上皮に多数の陽性細胞が認められたが BaP 投与群とコントロール群とに差を認めなかった．SP-A, SP-D による免疫組

織染色ではBaP群とコントロール群に有意な差を認めなかった. またBALではリンパ球分画の上昇傾向と蛋白濃度の上昇傾向を認めたが有意差は認めなかった(Figure 3).

D．考察

マウスにBaPを経気道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,つまり気道分泌物の増加を表していると考えられる[4]. 油症患者に喀痰の増加が認められる点からも,このモデルは動物実験モデルとして有用と思われる.

今回,投与するダイオキシン類の溶媒をTricaprylinからcorn oil+ saline + Tween溶液に変更した. ダイオキシン類は水に不溶性であり,粘度の高い溶媒に溶解させて経気道的に投与する必要があるため,窒息の危険性が高く肺障害モデル作成の再現性に難がある.近年マウス麻酔法を変更し,ケタラール＋キシラジンに変更することで,以前より成績は改善してきているが,病変は末梢気道が主体であり肺胞領域への十分な病変ができたとはいえなかった. 今回corn oilにBaPを溶解した後,それを等倍の生理食塩水で薄め懸濁することで,窒息の危険性を低下させることと,末梢気道より先の肺胞領域へ病変を作成することを目的としたが,前者は上手くいったが,後者については十分な病変ができたとはいえなかった.さらに検討を加えたいと考えている。

次にBaP投与後の経時的変化を検討したが, 従来は3日間経鼻投与後,もしくは1回経気管的にBaPを投与後, 24時間後のマウス肺を検討していた. しかし24時間後に肺胞洗浄を行うと,肺胞洗浄液中に油成分が浮かぶことがあり,油成分による影響を大きく受けている可能性が考えられていた. 今回の研究の結果, BaP投与群ではコントロール群と比較して, 投与4-10日後にも,病変が認められたことより,BaPを投与後4-10日後に評価することが妥当であると考えられた.

BAL液の解析では, これまで好中球分画の上昇傾向が認められていたが,今回はリンパ球分画が上昇傾向を認めていた.これまではBaP投与後の比較的早期(1-4日後)に解析していたことが多かったが, BaP投与後7日といった比較的後期では好中球性の炎症からリンパ球性の炎症に変化していく傾向があるのかもしれない.追試により確認しその意義について検討したいと考えている.

また, これまで我々はSP-A, SP-Dについても評価してきたが,今回の免疫組織学的検討では明らかな所見を認めなかった. この原因としては,surfactant proteinを更に詳細に評価すべく,免疫組織学染色法に免疫賦活化を期待してオートクレーブ処理を加えた影響が大きいと考えている. 今後再検討を予定している.

E．結論

マウスにBaPを経気道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の作成を試みており,徐々に改善が進んでいる. BaP投与4-10日後の解析が適当と考えられた.

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) 中西洋一、他、(1985). 油症における呼吸器系ならびに免疫系の障害―経過ならびに発症機序について. 福岡医誌. 1985;76:196-203

2) Podechard N, et al. Interleukin-8 induction by the environmental contaminant benzo(a)pyrene is aryl

hydrocarbon receptor-dependent and leads to lung inflammation. Toxicol Lett. 2008;177(2):130-7
3) N'Diaye M, et al. Aryl hydrocarbon receptor-and calcium-dependent induction of the chemokine CCL1 by the environmental contaminant benzo(a)pyrene. J Biol Chem. 2006;281(29):19906-15.
4) 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.

Figure 1　　BaP 投与後の経時的変化

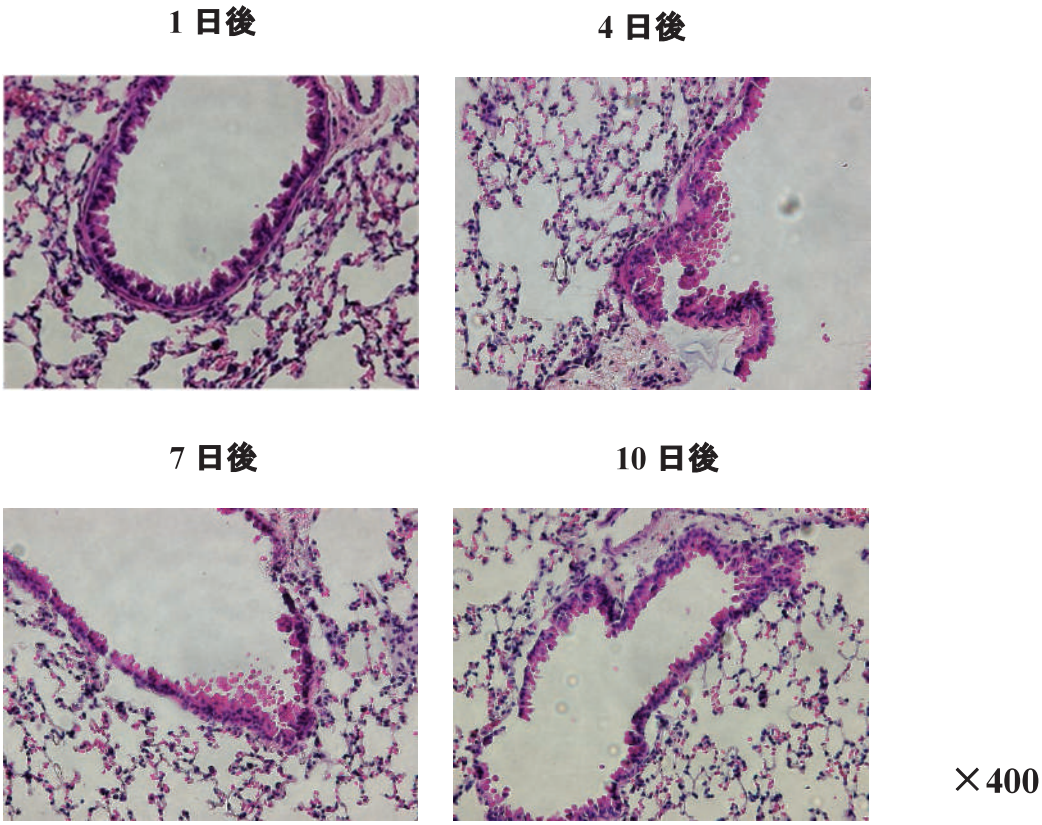


Figure 2　　Alcian Blue PAS 染色（7 日後）

control　　BaP

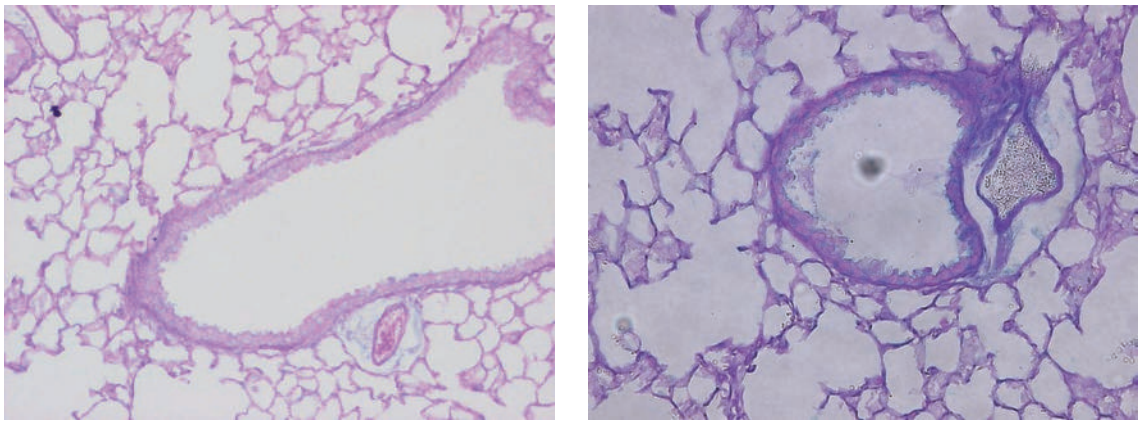
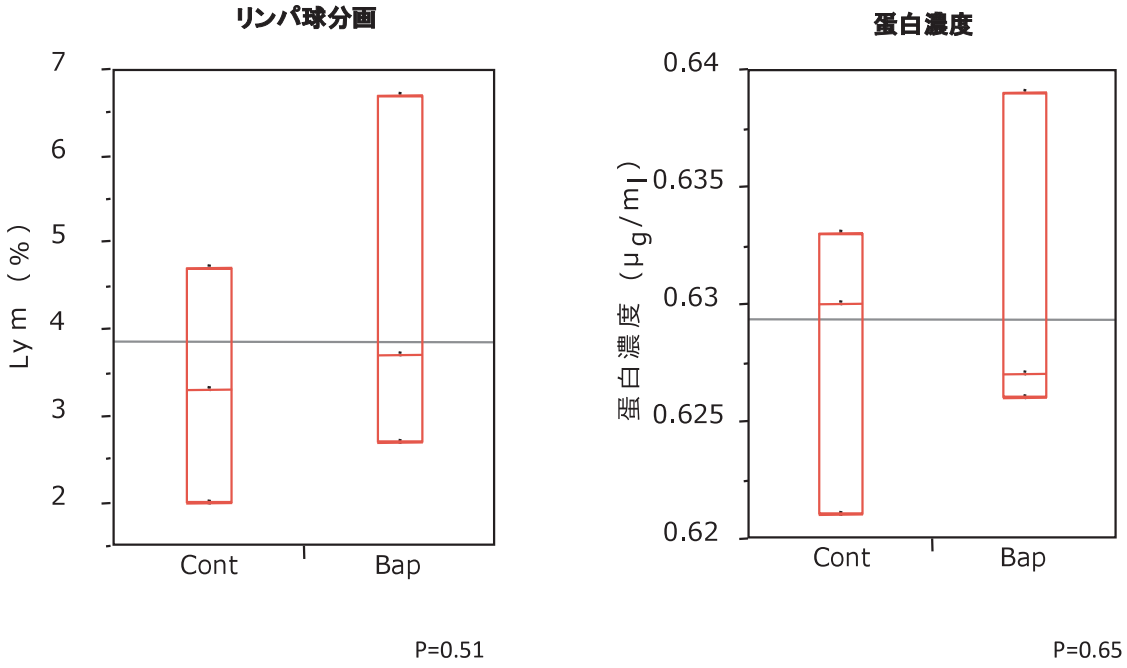


Figure 3　　気管支肺胞洗浄液の解析（7 日後）



分担研究報告書

ベンゾピレンの末梢神経および脊髄感覚系シナプス伝達に及ぼす作用に関する研究

研究分担者　　申　敏哲　熊本保健科学大学、リハビリテーション科学　准教授
研究協力者　　吉村　恵　直方中村病院

研究要旨　ダイオキシン類似化合物による複合中毒であるカネミ油症患者では、末梢のしびれ感や感覚鈍麻、自律神経失調症などの末梢神経障害および中枢神経障害等が多く報告されている。その主な原因として末梢感覚神経の異常が考えられたため、ダイオキシン類似化合物の一つであるベンゾピレンを経口投与したラットを用い、後根付き神経節細胞から細胞内記録を行い、末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれと比較検討した。また、脊髄後角におけるシナプス応答の可塑的な変化についても脊髄スライスに後根を付した標本を用い、ベンゾピレンの中枢性感覚神経系に及ぼす作用を検討した。その結果、Aβ線維の伝導速度が有意に緩徐化していることを見いだしたが、AδやＣ線維には有意な変化は見られなかった。また、静止膜電位についても全ての群で有意な差を見いだすことは出来なかった。脊髄内感覚情報伝達に関しても、ベンゾピレンは膠様質細胞の自発性興奮性後シナプス電流および自発性抑制性後シナプス電流と、AδとＣ線維誘起シナプス応答の振幅には影響を与えないことが明らかになった。今回の結果からベンゾピレンは選択的に Aβ線維の伝導速度の緩徐化を惹起し、しびれなどの感覚異常を引き起こした可能性が示唆された。しかし、脊髄内膠様質でのシナプス応答には有意な変化が見られなかったことから、本研究の条件下ではダイオキシ類似化合物は主に末梢感覚神経に作用し、脊髄感覚神経におけるシナプス伝達には有意な変化を起こさないことが明らかになった。

A．研究目的

Dioxin 類化合物による複合中毒であるカネミ油症患者では、 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による客観的な検査では末梢神経障害を示すものは 2 割程度であり、自覚的な症状と他覚的なデータには乖離が見られる [1-3]。そ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明らかな変化として捉えることが出来ない小さな変化が自覚症状として表れている可能性が否定出来ない。多くの患者が訴える手足のしびれ感や感覚鈍麻の発生、自律神経失調症などの末梢神経障害や中枢神経障害などの発生機序については未だ明らかではないが、その原因の一つとして求心性末梢感覚神経の異常が考えられた。そこで今回の研究では、カネミ油症の発生原因の一つであるベンゾピレンを経口投与して 7 日後のモデルラットを用い、後根付き後根神経節標本を作製し、神経節細胞から細胞内記録を行い、末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれらと比較検討した。また、脊髄後角におけるシナプス応答の可塑的な変化について検討するため、脊髄スライスに後根を付した標本を用いて、膠様質の細胞から自発性興奮性後シナプス電流（sEPSC）、自発性抑制性後シナプス電流（sIPSC）、および第一次感覚神経誘起 EPSC を測定してベンゾピレンの感覚神経系に対する作用を検討した。

B．研究方法

1）実験動物

4〜8 週齢の Sprague-Dawley(SD)系雄性ラットを用いた。ラットは市販の飼料および水を自由に摂取させ，動物舎の照明は 12

時間ごとに明暗のコントロールし，室温と湿度は 22.0℃と 55±5%の条件下で飼育した。1 週間の適応期間の後、正常ラット群では Corn oil を、ベンゾピレン群ではベンゾピレン 0.3mg/kg、30mg/kg を 1 回のみ、経口投与器を用いて 200μl を胃に直接投与した。

（倫理面への配慮）

動物の飼育および実験に関しては、熊本保健科学大学動物倫理委員会の許可（登録番号 動 14－016）を得て行った。全身麻酔下にラットの後根神経節を取り出し、直ちに過量のウレタンを腹腔内に追加投与した後、心臓・大血管を切開して失血死させたため痛みなどの侵襲は殆ど無い。

2）後根神経節標本の作製と静止膜電位・活動電位記録

Corn oil 又はベンゾピレンをそれぞれ経口投与し、7 日後にウレタン（腹腔内投与：1.2～1.5 g/kg）麻酔下でラットから後根神経節に後根神経を付した標本を作製した。 後根神経節を覆う結合組織を注意深く除去し、記録用チェンバーに設置したシルガードに微細なピンで固定し、微小ガラス電極を用いて神経節細胞から細胞内記録を行い、静止膜電位や後根刺激によって誘起された活動電位の振幅と伝導速度を調べ、正常ラットから得られたものと比較検討した。神経節細胞は Aβ，Aδおよび C ニューロンを含むため、各々のニューロンから記録を行い正常ニューロンとの相違を観察した。

3）脊髄スライス標本の作製と後根刺激誘起シナプス応答記録法

成熟 SD 系雄性ラット（6～8 週齢）をウレタン（腹腔内投与：1.2～1.5 g/kg）で深麻酔後、腰仙部の椎弓切除を行った。約 1.5～ 2.0 cm の長さで脊髄を摘出し、冷却した酸素飽和クレブス液（1～3℃）に入れた。手術後直ちにラットに過量のウレタンを腹腔内に追加投与し、心臓・大血管を切開して出血死させた。実体顕微鏡下で、硬膜やクモ膜、軟膜を除去した後に、寒天ブロックに設けた溝に置き、マイクロスライサーを用いて厚さ約 600μm の横断スライスを作製した。後根を付した標本を得る場合には、一側の L5 の後根を残し、他の前根や後根を全て切除し、また温存した後根の周囲を除きクモ膜と軟膜を除去した後に、厚さ約 650μm の横断スライスを作製した。EPSC は-70 mV（Cl^-チャネル電流の逆転電位近く）の保持膜電位で IPSC が記録されない条件下で行った。一方、IPSC は 0mV（EPSC の逆転電位近く）において EPSC が記録されない条件下で行った。

C．研究結果

1）ベンゾピレン投与が後根神経節に及ぼす影響

後根神経節細胞から細胞内記録を行い、後根神経節に存在する 3 種類の大きさの細胞から静止膜電位、自発性活動電位を記録した。いずれの線維においても自発性の活動電位は記録されなかった。次いで、後根刺激によって誘起される活動電位の刺激からの潜時と刺激部位からの長さを指標にして伝導速度を算出した。正常ラット群では。Aβ線維の静止膜電位は -68±1.7 mV でその伝導速度は 20.9 ± 0.6 m/s であった。Aδ線維は静止膜電位が –68±3.0 mV でその伝導速度は 8.8±0.8 m/s であった。また、C 線維の静止膜電位および伝導速度はそれぞれ -71 ± 3.7 mV，0.8 ± 0.8 m/s であった。

次いで、ベンゾピレンを経口投与したラットから摘出した後根神経節細胞を用いて同様の実験を行った。その結果、0.3mg/kg、30mg/kg ベンゾピレンを投与したラット群の静止膜電位には若干の差が見られるものの有意ではなかった。次に伝導速度を計測した。Aβ線維の伝導速度で

は 0.3mg/kg ベンゾピレン投与群で 15.8± 1 m/s (p<0.05)、30mg/kg ベンゾピレン投与群では 13.3± 0.1 m/s (p<0.05)で有意に正常ラット群より遅かった。Aδ線維の伝導速度では0.3 mg/kgベンゾピレン投与群で 8.3 ± 0.6 m/s、30 mg/kg ベンゾピレン投与群では 8.4 ± 0.4 m/s で有意な変化は認められなかった。また、C 線維でもAδ線維と同様に0.3 mg/kgベンゾピレン投与群で 0.8 ± 0.4 m/s、30 mg/kg ベンゾピレン投与群では 0.9 ± 0.4 m/s で有意な変化は認められなかった。

2) ベンゾピレン投与が膠様質細胞の自発性 EPSC (sEPSC) と IPSC(sIPSC)シナプス応答に及ぼす影響

脊髄後角において如何なる可塑的な変化が生じているかを検討した。正常ラット膠様質細胞から記録を行い、固定膜電位 -70 mV で sEPSC の頻度と振幅を 30mg/kg ベンゾピレン投与ラットのそれらと比較検討したが、有意な差は認められなかった。次に膜電位 0 mV で sIPSC の比較を行ったが、振幅および頻度には有意な差は見られなかった(図１)。

3) ベンゾピレン投与が後根誘起シナプス応答に及ぼす影響

自発性応答に加えて後根刺激によって誘起される興奮性応答の発現率を調べた。3 種類の後根誘起シナプス応答の発現率では正常ラット群、ベンゾピレン投与群ともに発現率に有意な差は見られなかった(図 2)。また、有髄の Aδ線維や無髄の C 線維刺激によって誘起される EPSC を膠様質細胞から記録し、それぞれの振幅について検討した。Aδ線維刺激によって潜時の短い EPSC が、C 線維刺激によって線維の長い EPSC が記録された。それぞれの振幅と潜時を正常ラットのそれらと比較検討したが有意な差は認められなかった。

D．考察

カネミ油症患者では、神経のしびれ感や感覚鈍麻の発生などの末梢神経障害および中枢神経障害が多く報告されている [4]。今回の実験ではベンゾピレンを経口投与した 7 日後のラットを用い、後根付き後根神経節標本から末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれらと比較検討した。その結果、ベンゾピレン投与ラットの後根神経節の Aβ線維で伝導速度が有意に低下している結果を得たが、Aδ線維と C 線維では若干の差は見られたが有意差は無かった。しかし、静止膜電位では群間有意な差を見いだすことは出来なかった。Aβ線維の伝導速度の緩徐化は、末梢のしびれ感と関係が有る可能性がある。Aβ線維は Aδや C 線維と比較して機械的な圧迫によって機能障害を容易に起こすことが知られている[)]。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おり、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。これは油症患者が訴えるしびれ感や感覚鈍麻と良く一致しており、それらは主に末梢神経の機能異常によって発生している可能性が高いと考えられる。ここで問題になるのは Aβ線維にのみ有意な変化が惹起され、同じ有髄の Aδ線維には何ら有意な変化が見られなかったことである。この点についての検討は電気生理学的な手法では明らかにすることは不可能と考えられ、今後、神経化学的、分子生物学的な手法を用いた解明が必要と思われる。所で、今までの多くの基礎研究から末梢神経の異常は容易に脊髄内での可塑的な変化を引きおこす事が知られている。そのため脊髄内でも何らかの変化が惹起されているものと考えられた。従って、本研究では脊髄後角におけるシナプス応答の可塑的な変化について脊髄スライスに後根を付した標本を用いて検討した。しかし、sEPSC および sIPSC

いずれも有意な変化を見いだすことは出来なかった。また、Aδ及び C 線維誘起 EPSC の振幅にも有意な変化はみられなかった。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、Aβ線維を 包む髄鞘における異常、例えば脱髄などの関与が考えられる。もう一つの可能性は、今回記録を行った膠様質細胞は主にAδと C 線維の入力を受けており、Aβ線維からの入力は少ない。実際に後根刺激によって誘起される興奮性応答の発現率をみると Aβ線維の応答がほとんど記録できない。そのためスライス標本を用いた実験ではAβ線維の伝導速度の低下による影響が少く、膠様質における可塑的な変化を捉えることが出来なかった可能性がある。Aβ線維は膠様質より III 層以下の深部に入力しているため、深層の細胞からの記録が必要と考えられる。今後、膠様質のみでなく深層の細胞からも記録を行い、脊髄内においても異常が惹起されているか否かを詳細に調べる必要がある。

E．結論

正常ラットとベンゾピレン投与ラットの後根神経節細胞から細胞内記録を行った。その結果、Aβ線維の伝導速度が有意に緩徐化していることを見いだしたが、AδやC線維には影響を与えなかった。しかし、静止膜電位では全ての群で有意な差を見いだすことは出来なかった。また、正常とダイオキシン投与ラットの脊髄スライス標本を用い、脊髄膠様質細胞から記録を行い、脊髄内での可塑的な変化を検討したが、少なくとも膠様質細胞では有意な変化は見られなかった。今回の結果からベンゾピレン投与は Aβ線維の伝導速度の変化を起こし、しびれなどの感覚異常を引き起こす可能性が示唆された。

引用文献

1) 黒岩義五郎，村井由之，三田哲司．油症患者における神経学的所見．福岡医誌．60，462–463，1969

2) 岩下 宏，志田堅四郎，増田義人．慢性油症患者における頭痛，四肢異常感と血中 PCB．福岡医誌．68，139–144，1977

3) 古谷博和，大八木保政，山田猛，三好甫，藤井直樹，吉良潤一．36 年以上経過した油症患者における神経症候．福岡医誌．96，152–156，2005

4) 金谷邦人，山下敏彦，川口哲，竹林庸雄，片平弦一郎．腰椎椎間板ヘルニアにおける current perception threshold．臨床整形外科．38(3)， 301－305、2003

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

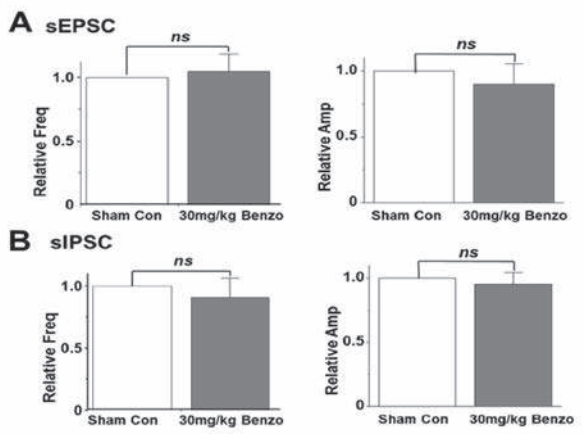
２．実用新案登録

なし

３．その他

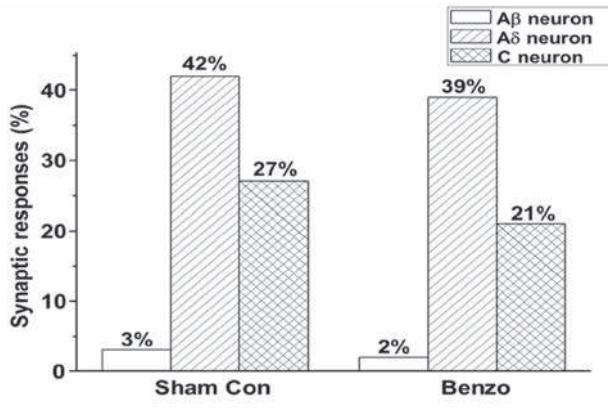
図

図１．　ベンゾピレン投与が自発性 EPSC と IPSC に及ぼす影響



Sham Con, Sham Control; Benzo, benzo[a]pyrene; Freq, Frequency; Amp, Amplitude; ns, no significance; Mean±SE

図 2. ベンゾピレン投与が後根誘起シナプス応答の発現率に及ぼす影響



Sham Con, Sham Control; Benzo, benzo[a]pyrene; Mean±SE

分担研究報告書

Helicobacter pylori 除菌後の胃癌発生に対する activation-induced cytidine deaminase およびダイオキシンの関与

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　前畠　裕司　九州大学大学院病態機能内科学　助教

研究要旨　胃癌の発生機序において遺伝子編集酵素群の一つである activation-induced cytidinedeaminase (AID)発現が関与することが示されている。胃癌発生の主要な病因としては *Helicobacter pylori*(*H. pylori*)が挙げられるが、食生活も胃癌発生に関与することは疫学的調査により示されており、ダイオキシンなどの環境ホルモンの関与も示唆される。我々の検討では、*H. pylori* 除菌後も胃癌発生が必ずしも低下しなかったことから、酸化ストレスによる DNA 損傷との関連が示唆される AID の発現を内視鏡治療により切除した胃癌の切除材料を用いて評価を開始した。現在、AID 及びｐ53 の免疫組織化学染色を実施しており、今後は背景粘膜における組織学的変化との関連解析を実施していく予定である。

A．研究目的

胃癌の発生機序において遺伝子編集酵素群の一つである activation-induced cytidinedeaminase (AID)発現が関与することが示されている。胃癌発生の主要な病因としては *Helicobacter pylori*(*H. pylori*)が挙げられるが、食生活も胃癌発生に関与することは疫学的調査により示されており、ダイオキシンなどの環境ホルモンの関与も示唆される。我々は、早期胃癌に対して内視鏡治療を実施した症例において、*H. pylori* 除菌群と非除菌群の異時性胃癌出現の頻度を遡及的に検討した結果、*H. pylori* 除菌を行っても胃癌発生は必ずしも低下しないことを報告した。このことは、*H. pylori* 除菌後の胃癌発生リスクが除菌時点の慢性胃炎による組織学的変化の程度に規定される可能性だけでなく、酸化ストレスなど他の要因が異時性胃癌発生に影響する可能性も考えられる。そこで、酸化ストレスによる DNA 損傷との関連が示唆される AID の発現を内視鏡治療により切除した胃癌の切除材料を用いて評価することとした。

B．研究方法

早期胃癌に対して内視鏡治療が実施され、得られた切除材料を検討に用いた。切除材料の 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、同時に切除された背景の胃粘膜については組織学的炎症性変化を評価した。

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

平成 28 年 12 月末の時点で、早期胃癌に対して当科で内視鏡的治療を行った 124 病変（*H. pylori* 陽性胃癌 106 病変、

H. pylori 除菌後胃癌 18 病変）に対して、Hematoxylin & eosin 染色、AID 染色、p53 染色を終了した。

組織学的炎症性変化は、*H. pylori* 感染を背景とした高分化型腺癌が大半を占めていることから、比較的高度の粘膜萎縮ならびに腸上皮化生を認める症例が多かった。AID 陽性細胞は腫瘍細胞のみならず背景の非腫瘍粘膜にも認められた。一方、p53 陽性細胞は腫瘍部分にのみ認められ、背景の非腫瘍粘膜では陽性細胞は認められなかった。

現在、個々の組織学的変化、AID、p53 の相関について関連解析を実施中である。腫瘍における p53 陽性率にも左右されるが、背景粘膜の萎縮性変化と AID のいずれがより p53 遺伝子変異と関連しているかを検討することで胃癌発生における酸化ストレスの関与を間接的に評価することになると考えている。

D．考察

H. pylori は胃癌の主要な病因であり、その発生機序において遺伝子編集酵素群の一つである AID が関与することが報告されている。また、3 年間の前向き群間比較試験において、*H. pylori* 除菌群では非除菌群に比べて有意に異時性胃癌発生が抑制された[1]ことから、内視鏡治療後胃では *H. pylori* 除菌が積極的に勧められることとなった。一方、遡及的検討ではあるもののより長期間経過観察しえた我々の検討では、早期胃癌に対する内視鏡治療後に *H. pylori* 除菌を行ったとしてもその後の胃癌発生率は必ずしも低下しなかった[2]。したがって、*H. pylori* 除菌後の胃癌発生リスクが除菌時点の慢性胃炎による組織学的変化の程度に規定されるのか、あるいは、酸化ストレスなど他の要因が除菌後の異時性胃癌発生に影響するのかについて検討を加える必要があると考え、本研究を開始した。

H. pylori 陽性患者の胃粘膜における AID 発現と組織学的炎症性変化の関連を検討した報告では、AID 発現は単核球浸潤と腸上皮化生に有意な相関を認めたことが示されている[3]。さらに、*H. pylori* 除菌により AID 発現は低下するものの、*H. pylori* 未感染胃よりも高かったことが報告されている[3]。

現時点で対象例における AID、p53 の免疫組織化学染色はほぼ終了しているが、組織学的炎症性変化との関連解析が終了しておらず、胃癌発生例における *H. pylori* 感染による組織学的炎症と AID の関連、さらには、AID と p53 遺伝子変異との関連については結論が得られていない。しかし、*H. pylori* 除菌後に異時性胃癌を発生した症例において、*H. pylori* 感染に伴う高度の組織学的炎症性変化を認めないにも関わらず高い AID 発現を認めた場合、*H. pylori* 除菌後の内視鏡生検で AID 染色を行うことにより、高リスク群を見出す指標となる可能性がある。また、近年報告例が増加している *H. pylori* 未感染胃に発症した胃癌についても症例を集積し、AID 染色性を比較することにより、胃癌発症における AID の意義がより明らかになると思われる。

（参考文献）

1. Fukase K, et al.: Lancet 372(9626):392-7, 2008
2. Maehata Y, et al.: Gastrointest Endosc 75(1):39-46, 2012
3. Nagata N, et al.: J Gastroenterol 49(3):427-35, 2014

E．結論

H. pylori 除菌後の異時性胃癌発生における AID, p53, 組織学的炎症所見との関連を検討中であるが、できるだけ早急に関連解析を終了させたい。

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

桂皮およびシンナムアルデヒドの効果について

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

研究要旨　HaCaT 細胞およびヒト正常ケラチノサイト（NHEK）を用いて、AHR および NRF2 の発現に及ぼすケイヒ及びその有効成分であるシンナムアルデヒドの効果について検討した。

A. 研究目的

ダイオキシン類はアリル炭化水素受容体（AHR）を介して毒性を発揮することが知られており、AHR を阻害することでダイオキシン類中毒の症状が緩和できる可能性があると考えられる。これまでの研究で生薬のスクリーニングを行い桂皮に AHR の強い阻害作用があることを見出した。本研究では桂皮及びその主成分であるシンナムアルデヒド、さらに桂皮を含む漢方方剤について、AHR と抗酸化作用を制御する NRF2 に及ぼす効果を検討した。

B. 研究方法

培養ケラチノサイトを用い、ベンゾピレン誘導性の AHR の核内移行および CYP1A1 発現、NRF2 の核内移行および抗酸化酵素である HO1 発現に及ぼす桂皮およびシンナムアルデヒドの効果を蛍光免疫染色、RT-PCR で検討した。またこれらの作用を AHR および NRF2の siRNA 存在下で検討した。また同様の検討を桂皮を含む 5 種の漢方方剤（柴胡桂枝湯、桂枝茯苓丸、十全大補湯、桂枝加芍薬湯、女神散）について行った。

C. 研究結果

シンナムアルデヒドにベンゾピレン誘導性の AHR の核内移行および CYP1A1 発現の抑制作用が認められた（図 1）。またシンナムアルデヒドは NRF2 の核内移行および HO1 の発現を抑制した（図 2）。またこれらの作用は 5 種の漢方方剤の中では、桂枝茯苓丸に最も強く認めた（図 3）。siRNA を用いた検討ではシンナムアルデヒドの AHR 経路および NRF2 経路に及ぼす作用は、それぞれ独立していることが明らかとなった（図 4）。

D. 考察

油症はダイオキシン類の経口摂取によって発生した慢性ダイオキシン中毒である。これまでに体内に摂取されたダイオキシン類を排泄させるため、陰イオン交換樹脂や食物繊維などの効果が検討されてきたが、臨床症状の改善は認められなかった。一方、油症の皮膚症状、呼吸器症状、神経症状、全身倦怠感に対して、それぞれ荊芥連翹湯、麦門冬湯、牛車腎気丸、補中益気湯の効果を検討した臨床試験では、麦門冬湯に呼吸器症状の改善効果が認められた。麦門冬湯に含まれる何らかの成分が気道上皮の AHR に作用し、呼吸器症状の改善につながった可能性が考えられる。この試験の前後で患者の血中ダイオキシン類濃度に差はなかったことからも、ダイオキシン類の排泄促進に拘泥するより、AHR 阻害作用を有する植物由来成分により症状の緩和を目指すほうが、油症の治療として現実的と考えられる。今回桂枝茯苓丸に強い AHR および NRF2抑制効果があることを示し、その作用に寄与する成分が桂皮に含まれるシンナムアルデヒドであることを示した。桂枝茯苓丸は代表的な駆瘀血剤で、広く日常診療に用いられる漢方

方剤の一つである。桂枝茯苓丸に慢性ダイオキシン中毒の症状を緩和する効果があると考え、現在油症患者を対象とした医師主導臨床研究を実施しており、今回の結果が臨床研究の基礎的な根拠となると考えられる。

E. 結論

桂皮、及び桂皮を含む漢方方剤に強い AHR 阻害作用があった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Mitoma C, Furue M. Inhibition of aryl Hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in Human keratinocytes. J Dermatol Sci. 2017 Jan;85(1):36-43.

Fukushi J, Tokunaga S, Nakashima Y, Motomura G, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Iwamoto Y. Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. ChemospHere. 2016 Feb;145:25-33.

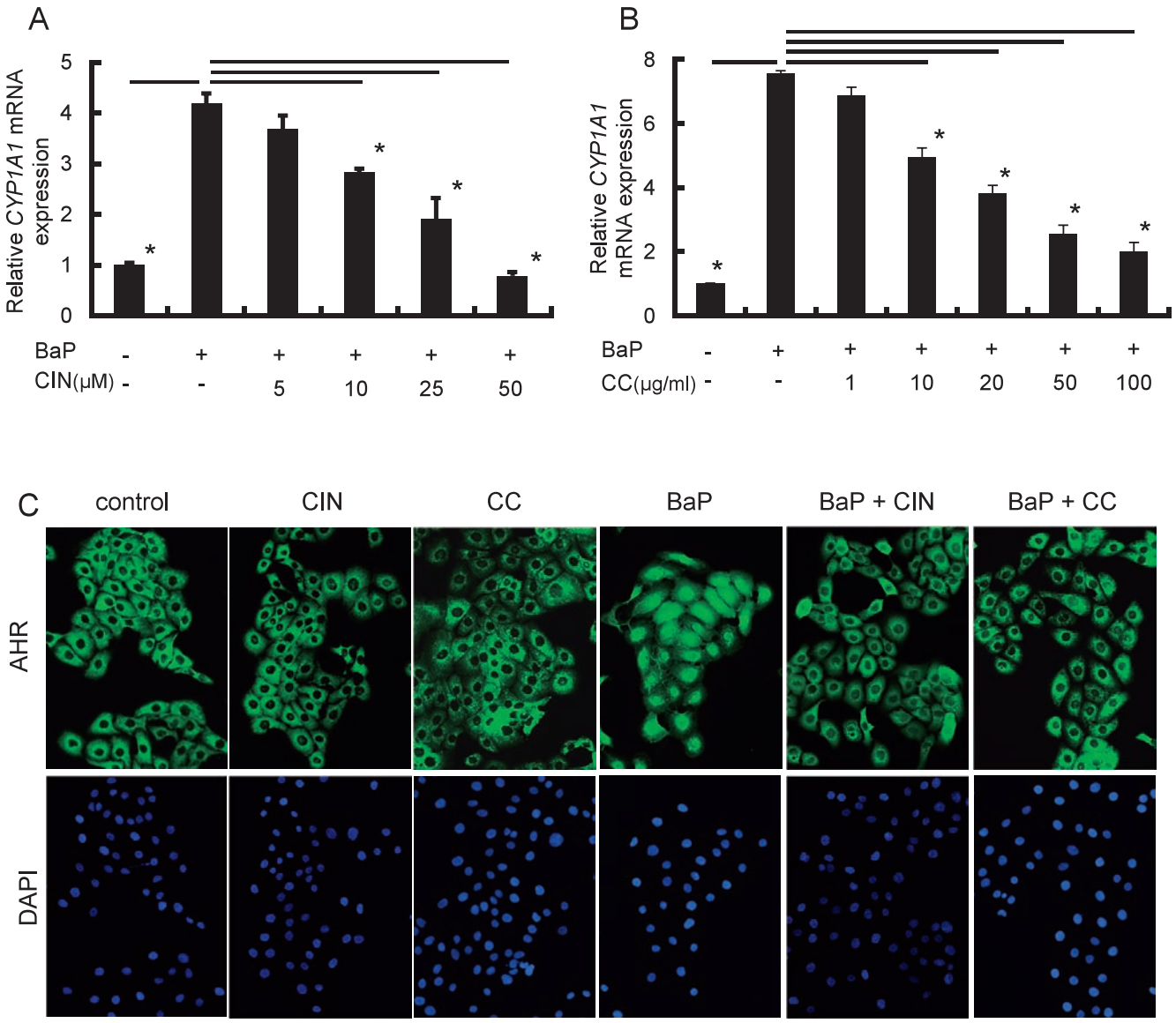
Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Imamura T. Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients. Environ Health. 2016 Sep 7;15(1):95.

G. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

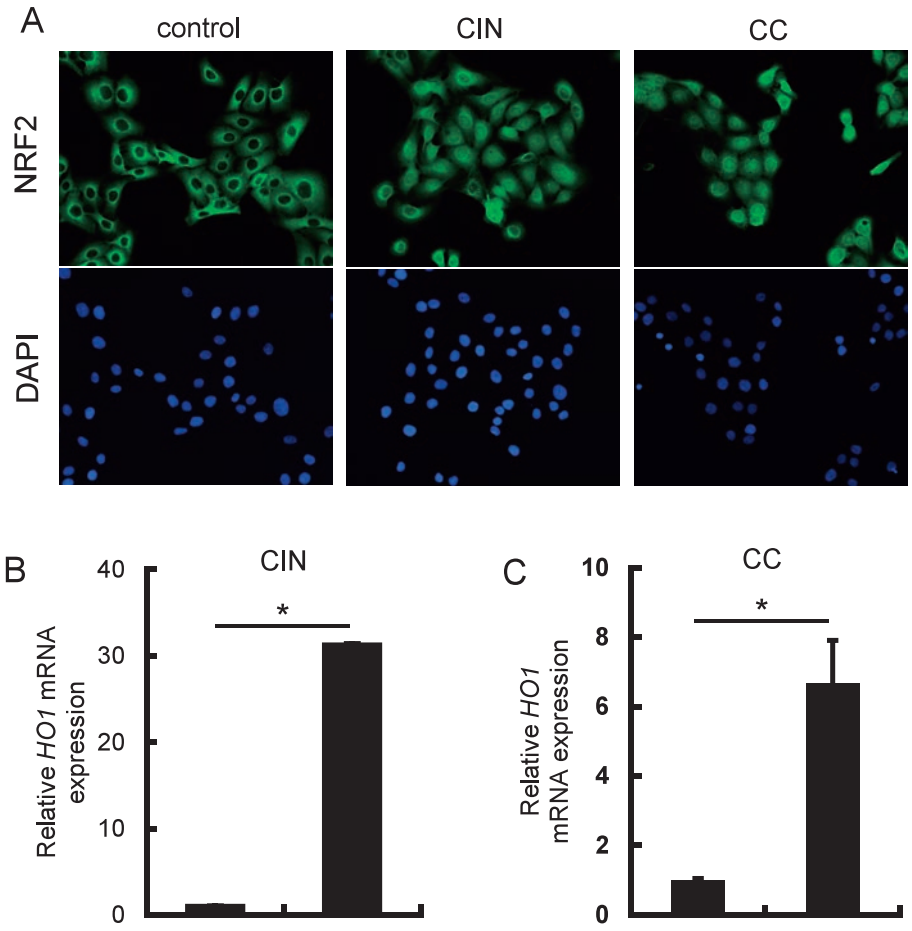
なし

図1



CIN：シンナムアルデヒド
CC：桂皮
BaP：ベンゾピレン

図2



CIN：シンナムアルデヒド
CC：桂皮

図3

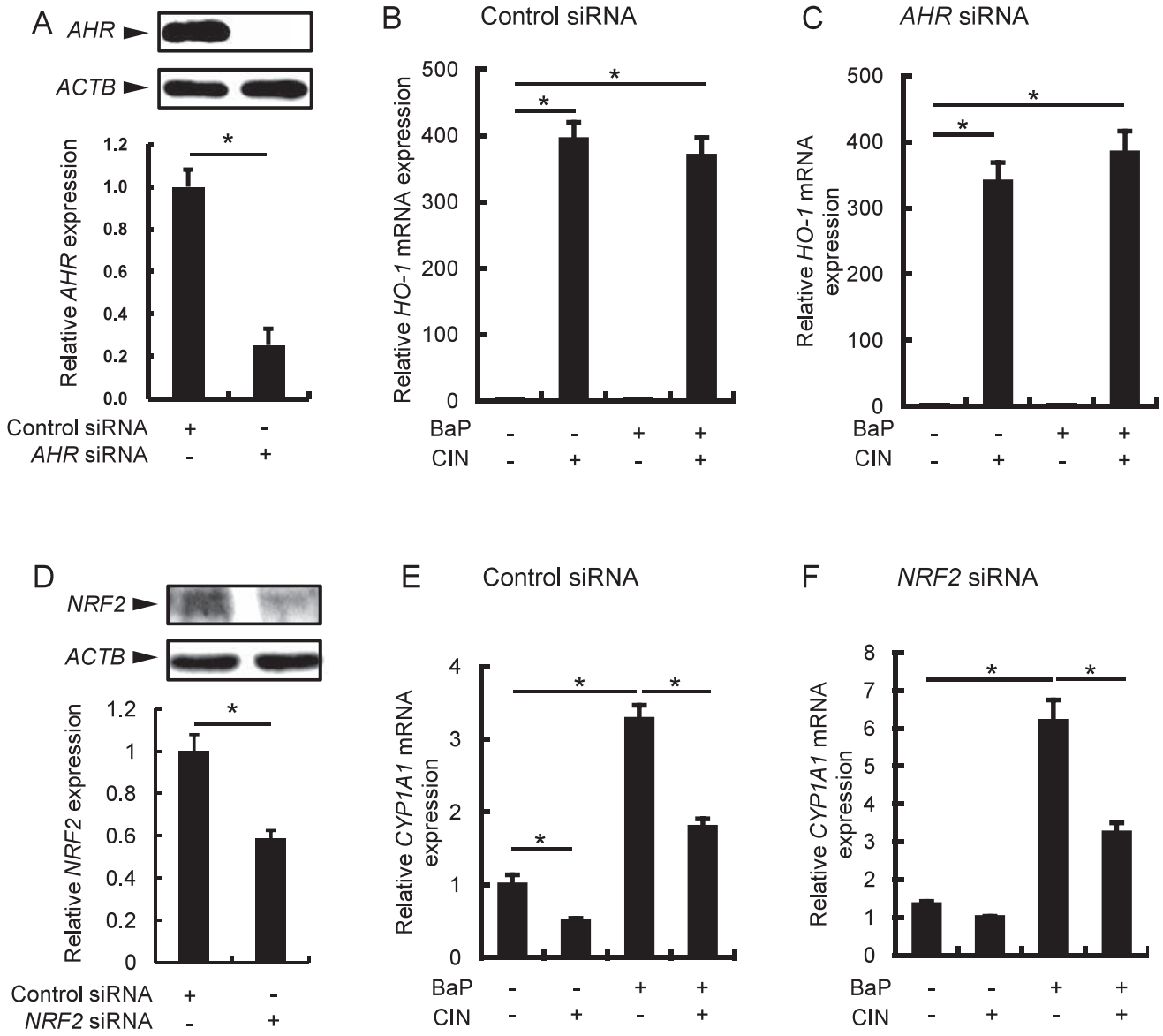
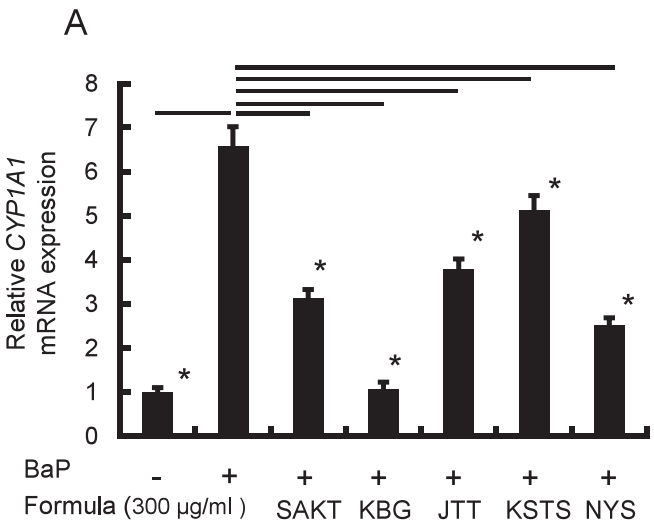
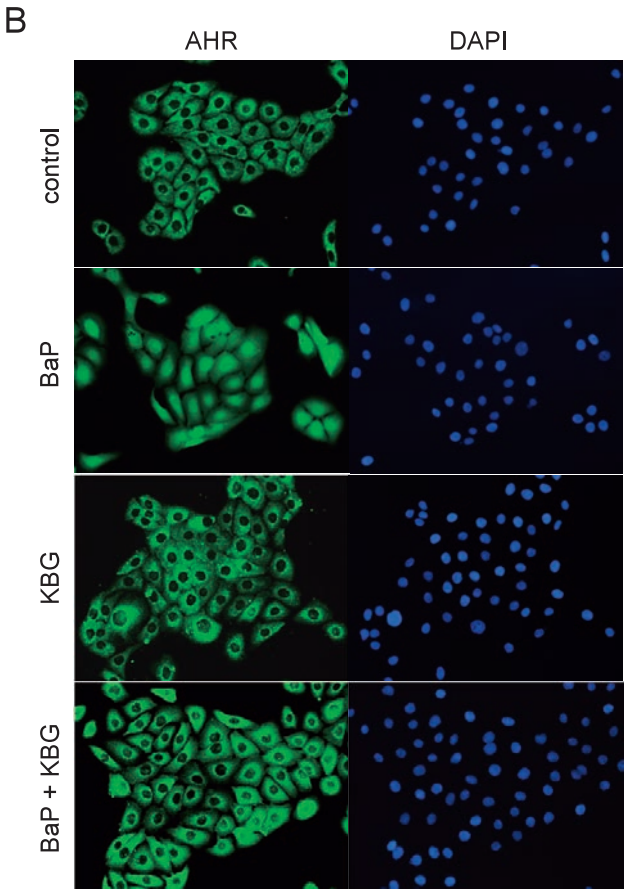

A
AHR
ACTB
Relative AHR expression
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
Control siRNA + -
AHR siRNA - +
B
Control siRNA
Relative HO-1 mRNA expression
500
400
300
200
100
0
* *
BaP - - + +
CIN - + - +
C
AHR siRNA
Relative HO-1 mRNA expression
500
400
300
200
100
0
* *
BaP - - + +
CIN - + - +
D
NRF2
ACTB
Relative NRF2 expression
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
*
Control siRNA + -
NRF2 siRNA - +
E
Control siRNA
Relative CYP1A1 mRNA expression
4
3
2
1
0
* * *
BaP - - + +
CIN - + - +
F
NRF2 siRNA
Relative CYP1A1 mRNA expression
8
7
6
5
4
3
2
1
0
* *
BaP - - + +
CIN - + - +

図4





CC：桂皮
BaP：ベンゾピレン
SAKT：柴胡桂枝湯
KBG：桂枝茯苓丸
JTT：十全大補湯
KSTS：桂枝加芍薬湯
NYS：女神散

分 担 研 究 報 告 書

2,2',3,4',4,5,6'-七塩素化ビフェニル(PCB182)のラット、モルモットおよびヒト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

PCB182 は、その構造から非常に代謝されにくいことが示唆されたが、その代謝について全く報告がなかった。本研究では、PCB182 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、モルモットおよびヒト肝 Ms はいずれも 1 種類の代謝物 M-1（3'-OH 体）を生成した。また、その活性の強さは、ラット（PB 前処理）＞＞モルモット（PB 前処理）＞モルモット（未処理、MC 前処理）＞ヒトの順であった。特に、PB 前処理ラット肝 Ms により、他の七塩素化ビフェニル（PCB187、PCB183、PCB180）と比べ、10～50 倍高い活性で代謝された。以上の結果から、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する CB182 は、非常に代謝され易いことが明らかになった。また、代謝酵素として PB 誘導性の CYP2B 酵素（ラット CYP2B1, モルモット CYP2B18）およびヒトでは CYP2B6 の関与が示唆された。

A. 研究目的

2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (PCB153)、2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (PCB180) および 2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB138)は、ヒト血液中や肝臓中で特に高濃度検出されるPCB異性体である[1-3]。これらは、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。実際に、2009年Todakaら[4]は油症発生以来35年後の油症患者血液中のPCB異性体を調べた結果、油症患者および健常者のいずれでも、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。

本研究の 2,2',3,4',4,5,6'-heptachlorobiphenyl (PCB182)は、GC-MSによるPCB異性体の一斉分析（長さ60mのDB-5カラム使用）の際、PCB187と保持時間が全く同じPCBとして知られている[5]。PCB182は、2,3,4,5-四塩素置換ベンゼンと2,4,6-三塩素置換ベンゼンから成ることから、難代謝性であると思われるが、その代謝については全く報告がない。ただし、PCB182がヒト組織中から検出されたとの報告はないことから、比較的代謝されやすいのかもしれない。そこで本研究では、PCB182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誘導剤前処理動物でも同様に検討した。

B. 研究方法

① PCB182 合成：2,4,6-trichloroaniline および 1,2,3,4-tetrachlorobenzene を tetrachloroethylene 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。PCB182 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 13.8 mg で純度は 97.4%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-methyl-cholanthrene (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 PCB182、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。PCB182 代謝物の定量は PCB182 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、セボフルランで麻酔後、頸動脈からの脱血により死亡させた。

C. 研究結果

CB182 を、NADPH 存在下、好気的にラット、モルモットあるいはヒト肝 Ms とともに、37℃、60 min 反応させた。Fig. 1 には、ラット肝 Ms により生成された CB182 代謝物（メチル誘導体）のガスクロマトグラムを示す。未処理 Ms と PB 前処理 Ms の場合、1 種類の代謝物（以下、M-1 とする）が保持時間 19.50 min に検出された。また、モルモットの場合には、未処理、PB 前処理および MC 前処理のいずれの Ms でも M-1 のみが、さらにヒト肝 Ms でも同様に、M-1 のみが生成された（データ未掲載）。

次に、動物肝 Ms およびヒト肝 Ms により生成された M-1 の定量を行った(Table 1)。M-1 の定量は CB182 の検量線を用いて行った。その結果、ラットの場合、M-1 は未処理肝 Ms では痕跡程度しか生成されなかったが、PB 前処理 Ms では 1,370 pmol/hr/mg protein へと顕著に増加した。なお、MC 前処理 Ms では M-1 は全く生成されなかった。次に、モルモットの場合、未処理 Ms でも比較的高い M-1 生成活性を有しており、その活性は 18.7 pmol/hr/mg protein であった。また、PB 前処理 Ms により、有意ではないものの 1.4 倍に増加した。なお、MC 前処理 Ms では未処理 Ms と同程度の活性を示した。一方、ヒト肝 Ms の M-1 生成活性は未処理モルモット肝 Ms の 76%程度と低かった。

次に、M-1の化学構造を決定するため、PB前処理ラット肝Msを用いて100倍のスケール(100 ml)で代謝反応を行い、生成された代謝物を抽出後メチル化し、これをGC-MSに供した。その結果、M-1のメチル誘導体は，分子量422であり、CB182の分子量より*m/z* 30多かった。この結果から、M-1はOH体であることが明らかとなった (Table 2) 。さらに、M-1 のメチル誘導体では、フラグメントイオン $[M^+-15]$ (*m/z* 407) に加え 、$[M^+-43]$ (*m/z* 379)が比較的多く検出された。この結果から、M-1はメタ位、すなわち3(3')位あるいは5(5')位に、OH基を有することが推察された。次に、M-1のメチル誘導体のGCにおける保持時間とマススペクトルを、合成標品と比較したところ、3'-MeO-CB182とほぼ一致した。

D. 考察

CB182 の in vitro 代謝を調べた結果、ラット、モルモットおよびヒト肝により、CB182 の代謝物が1種類生成され、GC-MS での検討結果、3'-OH 体であることが明らかになった。Fig. 2 に肝 Ms による CB182 の推定代謝経路を示す。また、その生成量はラット（PB 前処理）＞＞モルモット（PB 前処理）＞モルモット（未処理、MC 前処理）＞ヒト＞ラット（未処理、MC 前処理）の順であること、さらに、その生成は PB 前処理ラットにおいて特に顕著に増加することも明らかになった。今回、CB182 の主代謝物 3'-OH 体の生成活性は、PB 前処理ラット肝 Ms で、約 1,370 pmol/min/mg protein であったが、この活性の強さは 2,4,5-三塩素置換ベンゼンを有す

る CB180 の主代謝物 3'-OH-CB180 の生成活性 73 pmol/min/mg protein（PB 前処理モルモット肝 Ms）[6]に比べ、19 倍も高かった。当初、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する CB182 は、水酸化されにくいと考えられたが、予想に反して、2,4,5-三塩素置換ベンゼンを有するものより、はるかに水酸化されやすいことが明らかになった。

今回、CB182 代謝が PB 前処理で促進されることから、PCB 代謝酵素 [7]として、ラット CYP2B1 およびモルモット CYP2B18 が主に関与していることが示唆された。一方、PCB 代謝に関与するヒト CYP 分子種としては、これまでに、CYP2B6 および CYP2A6 が報告されている。CYP2B6 は、CB153 の 3-水酸化や 2,2',3,4',5,5'-hexaCB (CB146)の 3'-水酸化を、また CYP2A6 は 2,2',5,5'-tetraCB (CB72) [8]や 2,2',4,5,5'-pentaCB (CB101) [9]の 4-水酸化を触媒する。CB182 代謝では、3'-水酸化が進行したことから、ヒト肝では CYP2B6 の関与が大きいと考えられるが、この点は今後の課題である。

E. 結論

PCB182は、ラット、モルモットおよびヒト肝Msにより、容易に3'-OH体へと代謝された。また、この代謝にはPB誘導性のCYP2B酵素が強く関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1．論文発表

1. O. Kimura, Y. Fujii, K. Haraguchi, C. Ohta, N. Koga, Y. Kato and T. Endo, Effect of quercetin on the uptake and efflux of aristolochic acid I from Caco-2 cell monolayers. J. Pharm. Pharmacol., **68**, 883-889 (2016).
2. T. Shimada, K. Kakimoto, S. Takenaka, N. Koga, S. Uehara, N. Murayama, H. Yamazaki, D. Kim, F. P. Guengerich and M. Komori, Roles of human CYP2A6 and monkey CYP2A24 and 2A26 cytochrome P450 enzymes in the oxidation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. Drug Metab. Dispos., **44**, 1899-1909 (2016).

2. 学会発表

1. 太田千穂，山本健太，藤井由紀子，原口浩一，木村　治，遠藤哲也，加藤善久，古賀信幸, Gossypetin hexamethylether の動物肝ミクロゾームによる代謝. 第 70 回日本栄養・食糧学会大会（武庫川女子大学、西宮市）平成 28 年 5 月 13～15 日
2. C. Ohta, Y. Fujii, K. Haraguchi, Y. Kato, O. Kimura, T. Endo, N. Koga, Metabolism of 2,2',3,4,4',5,6'-heptachlorobiphenyl (CB182) by rat, guinea pig and human liver microsomes. 36th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Firenze, Italy) 平成 28 年 8 月 28 日～9 月 2 日
3. Y. Fujii, K. Haraguchi, Y. Kato, O. Kimura, T. Endo, C. Ohta, N. Koga, K. Harada, A. Koizumi, The levels and trends of POPs and perfluorinated carboxylic acids in fish and marine mammals from Japanese coastal waters. 36th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Firenze, Italy) 平成 28 年 8 月 28 日～9 月 2 日
4. Y. Kato, K. Haraguchi, A. Fujii, Y. Fujii, O. Kimura, C. Ohta, T. Endo, N. Koga, S. Yamada, M. Degawa, Induction of hepatic T_4 transporters by polychlorinated biphenyl in rats. 36th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Firenze, Italy) 平成28年8月28日～9月2日
5. N. Koga, C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, O. Kimura, Distribution and excretion of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl

(CB187) and its metabolites in rats and guinea pigs. The 9th International PCB Workshop (Kobe, Japan) 平成 28 年 10 月 9～13 日

6. 山本健太, 太田千穂, 木村　治, 遠藤哲也, 加藤善久, 藤井由希子, 原口浩一, 古賀信幸, 3,5,7,4'-Tetramethoxyflavone (KTM)の主代謝物 5-脱メチル化体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・沖縄支部大会（大分大学教育学部、大分市）平成 28 年 10 月 22, 23 日
7. 太田千穂, 原口浩一, 藤井由希子, 加藤善久, 木村　治, 遠藤哲也, 古賀信幸, CB182 の動物およびヒト肝ミクロゾームによる代謝. 日本薬学会第 137 年会（東北大学、仙台市）平成 29 年 3 月 24～27 日
8. 木村　治, 藤井由希子, 原口浩一, 加藤善久, 太田千穂, 古賀信幸, 遠藤哲也, Caco-2 細胞におけるペルフルオロオクタン酸の取り込み. 日本薬学会第 137 年会（東北大学、仙台市）平成 29 年 3 月 24～27 日
9. 藤井由希子, 久我歩佳, 木下真璃伽, 加藤善久, 太田千穂, 古賀信幸, 木村　治, 遠藤哲也, 原口浩一, 抗菌剤トリクロサンの腸内細菌叢への影響評価. 日本薬学会第 137 年会（東北大学、仙台市）平成 29 年 3 月 24～27 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) 三村敬介，田村水穂，原口浩一，増田義人，高分解能ガスクロマトグラフ/低分解能質量分析計による全 PCB 異性体の分析. 福岡医誌, **90**, 192-201 (1999).
6) 太田千穂，原口浩一，加藤善久，遠藤哲也，木村　治，古賀信幸, 2,2',3,4,4',5,5'-七塩素化ビフェニル(CB180)の動物肝ミクロゾームによる代謝. 福岡医誌, **106**, 176-183 (2015).
7) 古賀信幸，太田千穂，高残留性 PCB の代謝と代謝物の毒性. 古江増隆，赤峰昭文，山田英之，吉村健清編: 油症研究Ⅱ　ー治療と研究の最前線ー, pp. 200-218，九州大学出版会 (2010).
8) T. Shimada, K. Kakimoto, S. Takenaka, N. Koga, S. Uehara, N. Murayama, H. Yamazaki, D. Kim, F. P. Guengerich and M. Komori, Roles of human CYP2A6 and monkey CYP2A24 and 2A26 cytochrome P450 enzymes in the oxidation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. Drug Metab. Dispos., **44**, 1899-1909 (2016).
9) SrJE McGraw and DP Waller, Specific human CYP450 isoform metabolism of a pentachlorobiphenyl (PCB-IUPAC#101). Biochem Biophys Res Commun **344**,　129-133 (2006).

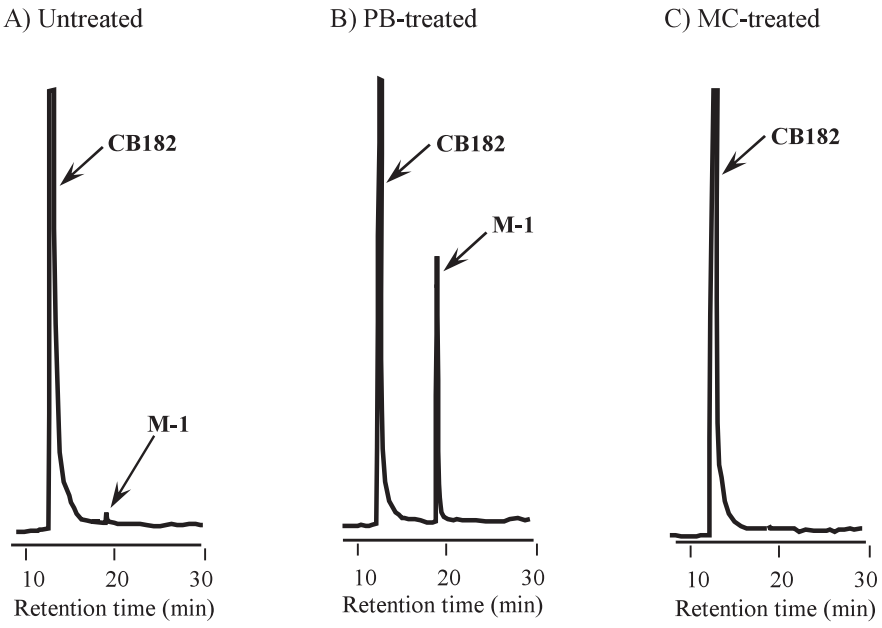


Fig. 1　GC-ECD chromatograms of the methylated derivative of a CB182 metabolite formed by liver microsomes of untreated (A), PB-treated (B) and MC-treated (C) rats

Table 1　Metabolism of CB182 by liver microsomes of rats, guinea pigs and humans and effects of CYP inducers on CB182 metabolism

	M-1 formed (pmol/hr/mg protein)		
Animal	Untreated	PB-treated	MC-treated
Rat	B.D.	1369 ± 162	N.D.
Guinea pig	18.7 ± 12.6	26.7 ± 11.7	17.7 ± 11.1
Human*	14.3 ± 2.0	-	-

N.D., not detected.　B.D., below detection limit.　-, not done.
Each value represents the mean ± S.D. of four animals.
*The value represents the mean ± S.D. of triplicate determination.

Table 2　Mass spectral data and retention times of the methylated derivative of a CB182 metabolite and its synthetic compound

Compound	Molecular weight	Mass spectral data (Relative abundance, %)						Retention time (min) in GC-MS
		$[M^+]$	$[M^+-15]$	$[M^+-35]$	$[M^+-43]$	$[M^+-50]$	$[M^+-70]$	
CB182	392	100	-	33	-	-	101	13.34
M-1	422	100	47	-	27	14	-	15.53
3'- CH_3O-CB182	422	100	45	-	29	18	-	15.53

-, not detected.

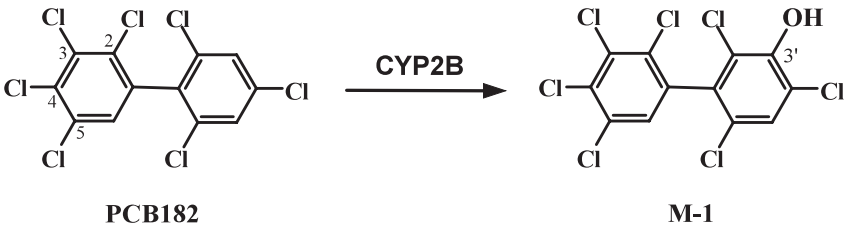


Fig. 2　Postulated metabolic pathway of PCB182 in animal liver

分担研究報告書

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin の子育て能力への影響およびその機構解析

研究分担者　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　我々はこれまでに、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)の妊娠ラットへの曝露が、胎児脳下垂体において黄体形成ホルモンおよび成長ホルモンの合成を低下させ、これらが出生後の発育障害の一端を担うことを明らかにしつつある。しかし、研究を進める中で、これらのみで全ての障害性が説明できないこともわかってきた。そこで本年度は、母体の育児への影響が、出生児の発育障害に寄与するとの新たな可能性に着目した研究を実施した。まず、育児に必須のホルモンである prolactin の発現状況を妊娠期から育児期にかけて解析した結果、妊娠ラットへの TCDD 曝露は、育児期の母ラットにおいて本ホルモンのレベルを低下させることが明らかになった。また、これと合致して、TCDD は育児期の母体において育児行動を抑制した。しかし、TCDD 曝露母に prolactin を補給することで、これがほぼ正常水準に改善した。さらに、母体の育児行動の回復と符合して、TCDD 依存的な出生児の低体重や学習記憶障害も母体への prolactin 補給によって改善ないし改善傾向を示した。一方、芳香族炭化水素受容体 (AHR)の欠損ラットでは、上記の育児能への影響は全く観察されなかった。以上の成果から、TCDD が AHR を介して育児母の prolactin レベルを低下させ、育児抑制ひいては児の発育障害を惹起するとの新たな機構が見出された。

A．研究目的

妊娠期のダイオキシン曝露によって出生児に生じる発育障害は、低用量で発現し、長期間にわたり障害が残るため問題が大きい (1)。我々は、ラットを用いたこれまでの一連の研究により、本障害の一端が胎児脳下垂体における黄体形成ホルモン (luteinizing hormone; LH)および成長ホルモン (growth hormone; GH) の合成低下に起因することを報告してきた (2-5)。しかし、研究を進める中で、1) 離乳期まで継続する出生児の低体重は、胎児の LH/GH 発現低下のみでは説明できないこと、ならびに 2) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)の妊娠期曝露は、胎児の生存数には影響を与えないが、乳児期の進行に伴って死亡率を高めること、などがわかってきた。これらの事実を受け、我々は最近、乳児の発育や生存確率を高めるために必要不可欠である母体の育児に着目した取り組みを実施している。本年度は、それらの研究成果について報告する。

育児能力を付与するために最も重要であるのが、prolactin と呼ばれる脳下垂体ホルモンである (6)。そこでまず、妊娠ラットへの TCDD 曝露が、育児期に本ホルモンレベルに影響を与えるか否かを調査した。その結果、通常は育児期において高まる prolactin 上昇が、TCDD によって抑制される事実が判明した。この事実に着目し、本研究ではさらに、母体の育児能力と出生児の体重および学習記憶能力を指標として、TCDD による影響と母体への prolactin 補給による効果を検証した。多くのダイオキシン毒性発現は、aryl hydrocarbon receptor (AHR) の活性化が重

要である (7)。そこで、母体の prolactin 低下に対する AHR の寄与を明らかにするため、AHR 欠損 (AHR-KO) ラットを用いた検討を実施した。

B．研究方法

1. 動物実験

雌雄の Wistar 系ラットを一晩交配し、翌朝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、TCDD (1 μg/kg/2 mL コーン油) を単回経口投与した。対照群には、コーン油のみを投与した。妊娠 18 日目から 21 日目、ならびに出産 0 日後から 14 日後の母体より脳下垂体および血液を採取した。

Prolactin 補給実験では、上記と同様に TCDD を処理した母ラットの出産日において、浸透圧ポンプを装着したカテーテルを側脳室内に留置した。浸透圧ポンプ (排出速度: 0.5 μL/時間、2 週間) には、50 ng/μL prolactin 溶液あるいは溶媒として saline のみを充填した。出産 2 日後、4 日後、7 日後および 10 日後に、出生児の体重を測定すると共に、育児行動試験を実施した。出生児は、8 週齢から 10 週齢時に Y 字迷路試験を実施した。

AHR-KO ラットの解析では、児の AHR 遺伝子型の影響を排除するため、全ての児が AHR ヘテロ欠損型となるように妊娠ラットを作成した。すなわち、野生型 (WT)雌 x AHR-KO 雄あるいは AHR-KO 雌 x WT 雄での交配により、WT および KO の妊娠ラットを作成した。同様に、TCDD 処理をしたのちに出産した母体について、出産 7 日後に育児行動試験を行うと共に、血液を採取した。

2. リアルタイム RT-PCR 法

脳下垂体より total RNA を抽出したのち、PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (タカラバイオ社) を用いて cDNA を合成した (8)。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。

3. Enzyme immunoassay (EIA)

血清 prolactin 濃度は、市販のキットを用いて、添付説明書に従って測定した。血清は、添付の EIA buffer にて 10 倍希釈したのちに測定に用いた。

4. 育児行動試験

既報 (9) を参考にして育児行動試験を行った。児を 30 分間母から分離したのち、母ラットのケージに戻して試験を開始し、30 分間における licking 行動の実施時間を育児行動の指標として計測した。

5. Y 字迷路試験

出生雄児の 8〜10 週齢に週一回、計 3 回試験を行った。最初のアームにラットを入れた時点で試験を開始し、Y 字迷路内を自由に行動させ、5 分間の各アームへの侵入を順に記録した。3 つの異なるアームに連続して侵入することを交替行動 (alternation behavior) と定義し、以下の式により交替行動率 (%) を算出し、短期記憶能力の指標として評価した。

(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：A26-025-1 および A26-151-3。遺伝子組換え実験は、「九州大学遺伝子組換え実験安全管理規則」第 10 条第 2 項の規定に基づき、委員会の承認を得て行った (承認番号: 26-4)。

C. 研究結果

まず、妊娠期の TCDD 曝露が、妊娠期から育児期の prolactin 発現レベルに及ぼす影響を解析した。その結果、妊娠期に

おいては変動が観察されなかったが、TCDD は出産後に上昇する prolactin mRNA 発現上昇を有意に抑制した (Fig. 1A)。これと合致して、血清 prolactin 濃度も、TCDD によって育児期に低下することが確認された (Fig.1B)。

育児に必須である prolactin レベルの低下を支持して、TCDD は育児期母体において代表的な育児行動である licking の実施時間を減少させた (Fig. 2)。しかし、低下する prolactin を TCDD 曝露母体に補給したところ、これらがほぼ正常水準にまで改善した (Fig. 2)。さらに、育児行動への影響と符合して、TCDD 母体曝露によって起こる出生児の低体重および学習記憶能力低下も、育児母体への prolactin 補給によって改善ないし改善傾向を示した (Fig. 3)。TCDD 依存的な出生児の体重増加率の抑制に関しては、育児期母体への prolactin 補給によって正常水準に改善した (Fig. 3B)。

WT 妊娠ラットへの TCDD 曝露によって起こる育児期の prolactin レベル低下は、AHR-KO ラットへの同処理によっては全く観察されなかった (Fig. 4A)。これと合致して、TCDD 依存的な licking 行動の抑制も、AHR 欠損によって消失した (Fig. 4B)。

D. 考察

本研究では、妊娠期の TCDD 曝露によって育児期の母体への影響を通して出生児の発育に悪影響が生じるとの新たな可能性を検討するため、育児能力付与に最も重要な脳下垂体ホルモンである prolactin に着目した解析を実施した。その結果、TCDD は育児期の母体において一過的に prolactin レベルを低下させる事実が判明した。更に、TCDD 曝露母体の側脳室内に prolactin を補給した結果、TCDD の妊娠期曝露によって減少する育児母体の licking の実施時間がほぼ正常水準に改善することが明らかとなった。これと符合して、育児期母体への prolactin 補給は、出生児の低体重および学習記憶能力低下に対しても改善ないし改善傾向を示した。以上の結果より、TCDD による育児母体の prolactin 低下を介した育児能力の減退が、出生児の成熟抑制の一端を担うとの新規毒性機構が実証された。

Prolactin 補給は、出生児の低体重や学習記憶能力低下に対しては完全とまでは至らなかった。一方、出生後の体重増加率は、同処理によってほぼ正常レベルにまで改善した事実から、少なくとも出生以降に継続する低体重については、prolactin 減少に基づく母体の育児不良が主因であると考えられる。先に述べたように、我々はこれまでに、胎児の GH/LH 低下が発育障害に寄与することを見出している (2-5)。これらを合わせて考えると、TCDD は育児母体 prolactin ならびに胎児 GH/LH の両者を標的として種々の出生児発育障害を惹起するとの機構が推定される。今後、母児への複合的な影響に着目して更なる展開を図ることが、ダイオキシン次世代障害の全容解明に向けて重要と考えられる。

本研究では、ダイオキシン毒性発現に重要と考えられている AHR が、prolactin 低下に基づく育児行動の抑制にも重要な役割を演じることを見出した。現在のところ、TCDD が AHR 依存的に prolactin 遺伝子の発現を低下させる機構は不明であるが、TCDD による prolactin レベルの低下は、育児期の発現上昇のみを一過的に抑制していることから、普遍的な機構に基づくとは考えにくい。育児期の prolactin 発現増加には、児による乳房吸引(10) や鳴声(11)等の児が母に与える刺激に加えて、母親自身の生理活性物質やシグナル伝達系の変化に基づく prolactin 産生細胞への影響 (12)の寄与が示唆されている。我々は昨年度、胎児の GH/LH 低下は胎児自身の AHR 活性化が重要であることを報

告している (平成 27 年度分担研究報告書)。これと関連して、本研究においては児の AHR 遺伝子型には関係なく、母親の AHR 依存的に prolactin 低下が起こることが確認された。これらのことから、少なくとも TCDD 依存的な児の GH/LH 低下 (発育障害) に基づく母体への刺激の不足が、prolactin 低下の主因ではないものと推定される。今後、育児期母体に特異的な生理活性物質の変動に着目した解析を行うことが、prolactin 低下の機構解明に向けて重要であろう。

E. 結論

妊娠期の TCDD 曝露は、育児期母体の AHR 活性化に基づいて prolactin レベルを低下させ、育児行動の抑制ひいては出生児の成熟抑制の一因を担うとの新規機構が明らかになった。

F. 研究発表

1. 日本薬学会第 136 年会 (仙台、2017 年 3 月 27 日)
2. 第 43 回日本毒性学会学術年会 (名古屋、2016 年 6 月 29 日)
3. 第 33 回日本薬学会九州支部大会 (鹿児島、2016 年 12 月 3 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 RE,Theobald HM, Kimmel GL.*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 ExpTher*, **329**: 1091-1099 (2009).
4) Hattori Y, Takeda T, Taura J, Ishii Y, Yamada H. *Endocrine*, **47**: 572-580 (2014).
5) Taura J, Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Ishii Y, Kuroki H, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Yamada H.*Toxicol Appl Pharmacol*,281:48-57 (2014).
6)Rosenblatt JS, Mayer AD, Giodano AL. *Psychoneuroendocrinology*, **13**: 29-46 (1988).
7) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM, Gonzalez FJ. *Toxicol Appl Pharmacol,***140**: 173-179 (1996).
8) 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).
9) Nephew BC, Bridges RS.*Stress*, **14**: 677-684 (2011).
10) Lee LR, Haisenleder DJ, Marshall JC, Smith MS.*Mol CellEndocrinol*, **64**: 243-249 (1989).
11) Hashimoto H, Saito TR, Furudate S, Takahashi KW. E*xpAnim*, **50**: 307-312 (2001).
12) Frawley LS, Boockfor FR. *Endocr Rev*, **12**: 337-355 (1991).

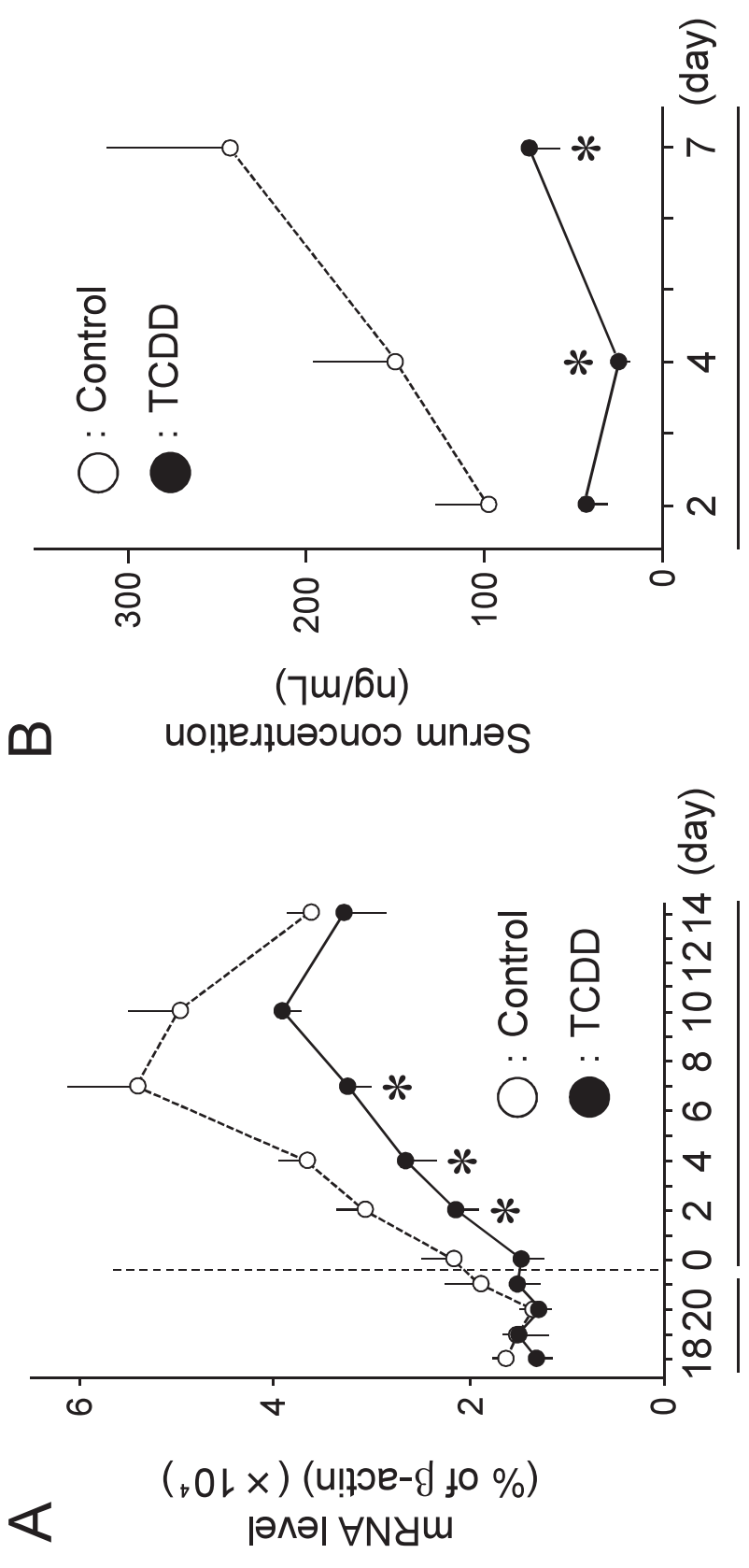


Fig. 1. Effect of TCDD (1 μg/kg at GD15) on the pituitary expression of prolactin mRNA (A) and serum concentration of prolactin (B) in maternal rats. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 4-8 rats. Significantly different from the control: *, $p<0.05$. GD, gestational day; PD, postpartum day.

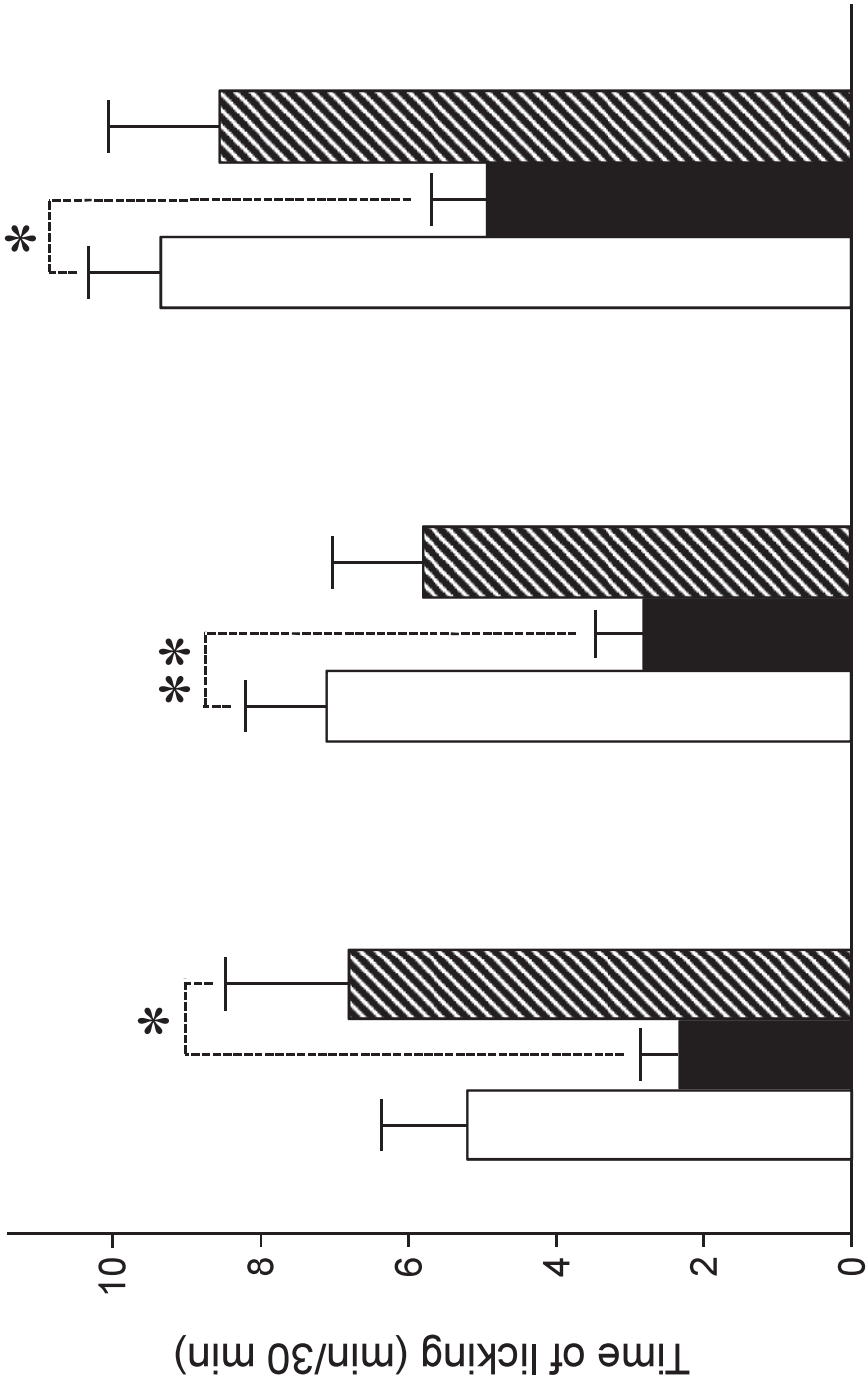


Fig. 2. Restoration by supplying prolactin (25 ng/hr during the PD0 to PD14 periods) from a TCDD-induced reduction in the licking behavior of maternal rats. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 8-11 maternal rats. Significantly different between the pair indicated: *, $p<0.05$ and **, $p<0.01$.

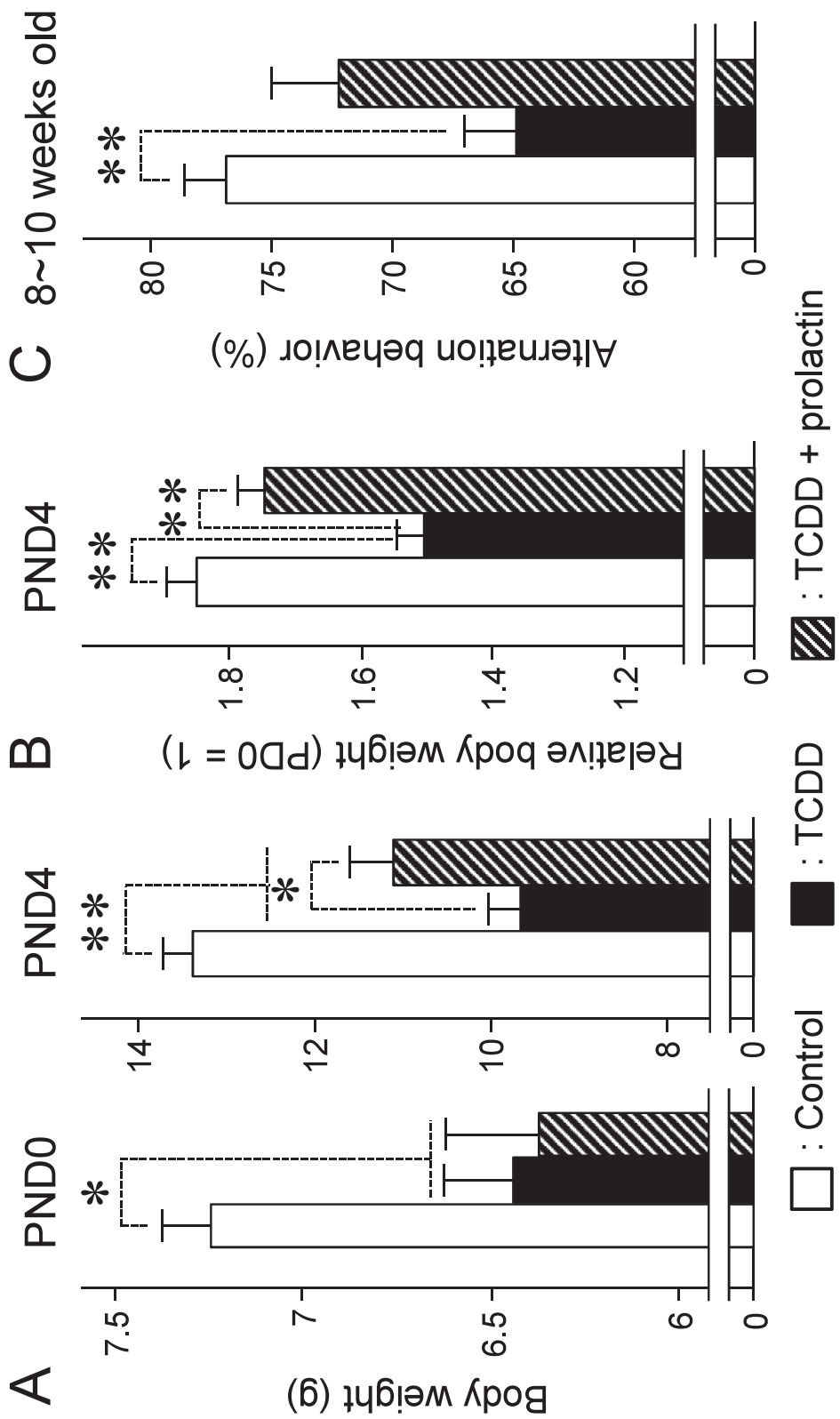


Fig. 3. Effect of intracerebroventricular infusion of prolactin to TCDD-exposed mothers on a TCDD-induced suppression of body weight (A), relative body weight (B), and short-term memory (C) of male offspring. (B) The relative increase to the body weight of neonates at PD0 was calculated. (C) Short-term memory was assessed by Y-maze test (A). Each bar represents the mean ± S.E.M. of 34-41 neonates each 2-4 of which were born from different dams (N=8–11). Significantly different between the pair indicated: *, $p<0.05$ and **, $p<0.01$. PND: postnatal day.

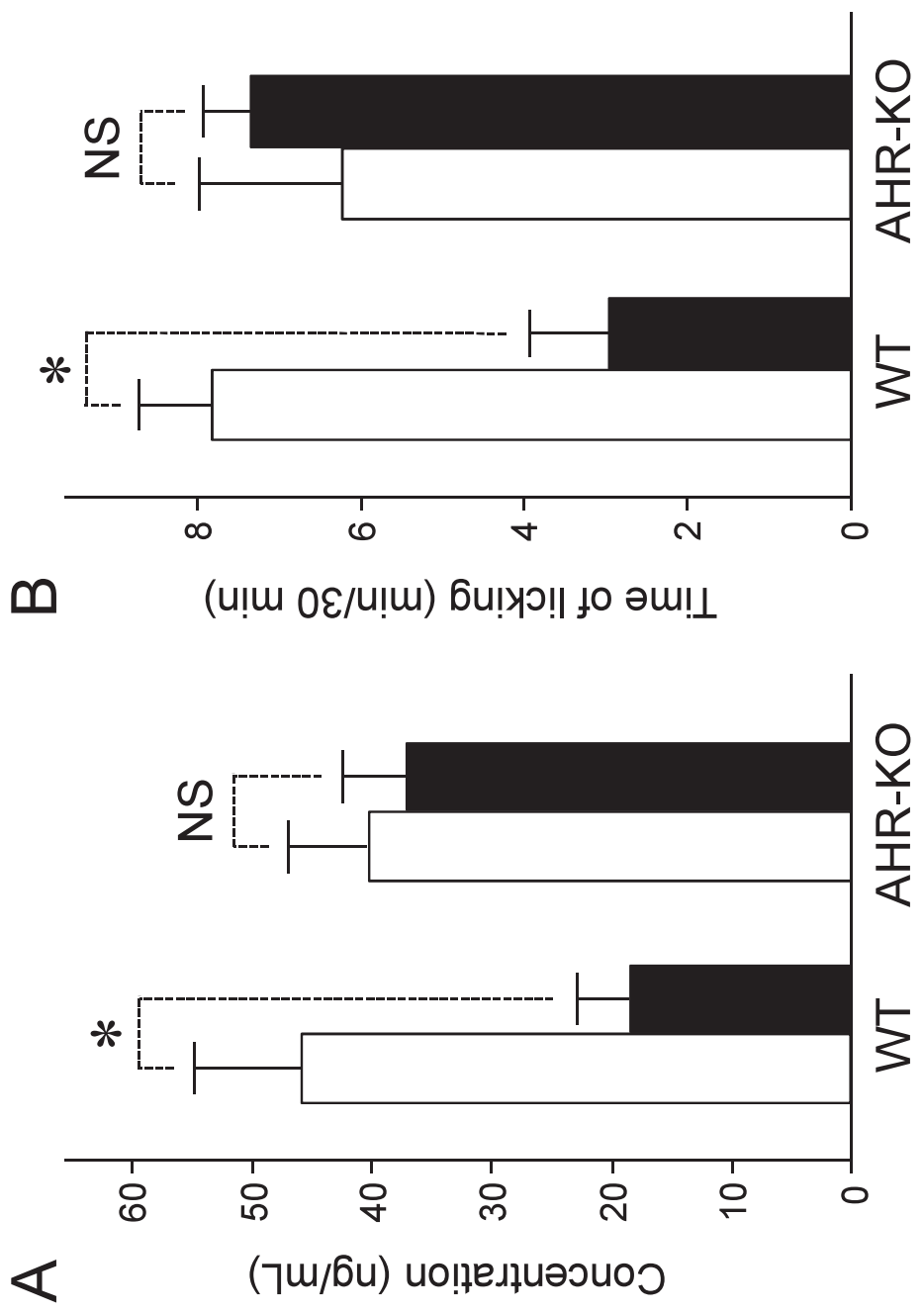


Fig. 4. Effect of TCDD (1 μg/kg at GD15) on the serum concentration of prolactin (A) and the licking behavior (B) in maternal wild-type (WT) and AHR-knockout (AHR-KO) rats. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 5-9 maternal rats. Significantly different between the pair indicated: *, $p<0.05$. NS; not significant.

分担研究報告書

2,3,7,8-Tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin の生体影響とダイオキシンに対する拮抗作用

研究分担者　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　本研究では、ダイオキシン毒性の新たな軽減策の創出を目指す取り組みとして、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) の 4 つの塩素原子をフッ素原子に置換した 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin (TFDD) を合成し、その生体毒性ならびにダイオキシンに対する拮抗作用を検討した。雄ラットに TFDD (1〜1000 μg/kg) を単回経口投与し、投与 1 日後および 7 日後において体重変化、臓器重量およびダイオキシンにより誘導する遺伝子である cytochrome P450 (CYP) 1A1 の酵素活性を測定した。その結果、TCDD によって起こる肝肥大、胸腺萎縮、体重増加抑制ならびに CYP1A1 活性誘導のいずれに関しても、TFDD 投与によっては全く観察されなかった。さらに、ヒト乳がん細胞株である T47D 細胞に対して、TCDD (500 pM) と共に TFDD (100 fM〜10 μM) を併用処理したところ、100 nM 以上の TFDD 併用によって TCDD 依存的な CYP1A1 発現誘導が抑制された。これらの結果から、TFDD はラットへの単回経口投与によってはダイオキシン様の急性毒性を示さないこと、ならびに細胞レベルで TCDD に対して拮抗作用を持つことが明らかになった。

A．研究目的

ダイオキシン類は、消耗症状、肝毒性ならびに免疫毒性などの様々な急性毒性を惹起する (1)。また、妊娠期母体の比較的低用量の曝露によって、出生児に種々の発育障害が生起する (2)。カネミ油症等の被害者の追跡調査や疫学的研究の蓄積から、ダイオキシンが人体に及ぼす影響の大きさが危惧されており、早期の治療および予防法の確立が求められている。

ダイオキシンによる毒性発現には、芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor; AHR) が重要な役割を担うと考えられている (3)。すなわち、AHR はダイオキシンとの結合により核内へと移行し、cytochrome P450 (CYP) 1A1 等の標的遺伝子の転写調節領域に存在する xenobiotic responsive element (XRE) への結合を介して、これらの発現を変動させる。変動遺伝子は数百種類も存在し (4)、これらが複合的に毒性に寄与すると考えられている。従って、ダイオキシン類の治療方策を考える上では、AHR を標的とした戦略が有効であることは論を待たない。このような背景のもと、現在までに多くの研究が行われており、複数の食品成分が AHR 活性化を抑制し、ダイオキシン毒性を抑制する可能性が見出されている (5)。しかし、バイオアベイラビリティや AHR に対する親和性あるいは特異性の問題等から、いずれも生体内において充分な軽減効果は得られていない。

本研究では、AHR への親和性が最も高いダイオキシン同族体として知られる 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) (1) (Fig. 1) の構造上の利点に着目し、TCDD の塩素原子を全てフッ素原子に置換した 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin (TFDD) (Fig. 1) を新規に合成した。通常、ダイオキシン類は生体への高い蓄積性に

よって強い毒性作用を示すが、TFDD は生体内において比較的代謝されやすいことが報告されている(6)。従って、もし TFDD が TCDD と同様に AHR への高い親和性や特異性を有する一方で、体内貯留性が低いならば、より低毒性かつ選択的なダイオキシン拮抗剤として期待される。しかし、TFDD 自身の AHR 結合力や活性化能力ならびに生体影響は全く不明である。そこで本研究では、TFDD 自身がダイオキシン様の急性毒性を惹起するか否かを検証すると共に、TCDD による AHR 活性化に対する拮抗作用を検討した。

B．研究方法

1. 動物実験

TFDD は、林純薬工業株式会社に委託して合成した。5 週齢の Wistar 系雄性ラットに、TFDD (1, 10, 100 および 1,000 μg/kg)、TCDD (60 μg/kg) あるいは対照群としてコーン油を単回経口投与し、投与翌日より 1 日 1 回体重を測定した。投与 1 日後または 7 日後に組織を採取したのち、肝臓は 4 倍量の 1 M Tris-HCl (pH7.4) にてホモジナイズした。9,000xg で 25 分間遠心分離したのち、得られた上清 (S9) を以下の実験に供した。

2. 細胞培養

T47D 細胞は、48 穴プレートに播種し、DMEM (10% 牛胎児血清含有) 中にて 37°C、5% CO_2 下で培養した。接着を確認したのち、TCDD (500 pM) を添加した DMEM に置換して継続培養した。1 時間後、TFDD (100 fM〜10μM) を培地中に添加してさらに 23 時間培養したのち、細胞を回収した。細胞は、50 mMTris-HCl にて懸濁し、以下の実験に供した。

3. CYP1A1 活性測定

肝 S9 および T47D 細胞における CYP1A1 活性は、7-ethoxyresorufin の *O*-脱アルキル化反応により生じる resorufin の蛍光測定により算出した (励起光: 544 nm; 測定光: 590 nm) (7)。反応に用いたタンパク質量および反応時間はそれぞれ以下の通りである。肝 S9: 200 μg、3 分; T47D 細胞: 50 μg、2 時間。

4. CYP1A1 タンパク質発現

T47D 細胞溶解液を用い、イムノブロット法によって CYP1A1 タンパク質発現を解析した。さらに、標準タンパク質として β-actin も検出した。電気泳動に用いた細胞溶解液のタンパク質量：5 μg。

(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：A28-209-0。

C. 研究結果

まず、TFDD が AHR 活性化を通して生体毒性を示すか否かを明らかにするため、ダイオキシン曝露によって起こる肝肥大、胸腺萎縮、体重増加抑制ならびに CYP1A1 の活性誘導を指標として検討を実施した。ラットに TFDD を 1〜1,000 μg/kg の用量で単回経口投与したのち、投与 1 日後および 7 日後に組織を摘出して解析を行った。その結果、肝肥大、胸腺萎縮ならびに体重増加抑制のいずれの急性毒性も、TFDD によっては全く認められなかった (Fig. 2A and 2B)。さらに、これらと合致して、AHR 活性化によって誘導される CYP1A1 の酵素活性にも変化は観察されなかった (Fig. 2C)。

一方、TFDD が肝臓および胸腺以外の臓器重量に与える影響を調べた結果、投与 1 日後においては腎臓および心臓の萎縮と肺の肥大化が確認された (Fig. 3)。また、投与 7 日後においては心臓の萎縮のみは継続して見られ、加えて脾臓の肥大が惹起された (Fig. 3)。

次に、TCDD による AHR 活性化に対

する TFDD の拮抗作用を調べるため、T47D 細胞を用いて CYP1A1 のタンパク質発現ならびに活性を指標として検討を行った。その結果、500 pM の TCDD 処理によって、CYP1A1 発現ならびに酵素活性は顕著に誘導したが、どちらも TFDD 併用によって 100 nM 以上では用量依存的に抑制される傾向が観察された。本検討において、CYP1A1 活性を指標とする TFDD の 50% 阻害濃度は、45.9 ± 3.1 nM と算出された。一方、TFDD の単独処理においては、CYP1A1 活性に対する影響は観察されなかった (Fig. 4C)。

D. 考察

本研究では、ラットへの TCDD の単回経口投与によって起こる体重増加抑制や CYP1A1 発現誘導の 50% 効果量が、10 μg/kg 前後であるとの知見 (8) に基づき、同様な TFDD 処理によっても急性毒性が惹起するか否かを検討した。その結果、1 mg/kg までの用量の TFDD の単回経口投与によっては、肝肥大、胸腺萎縮、体重増加抑制および CYP1A1 活性の誘導のいずれも観察されず、TFDD は生体内においてダイオキシン様の急性毒性を示さないことが示唆された。本研究では、組織中の TFDD レベルは測定しておらず、投与した TFDD が充分ではなかった可能性は否定できない。事実、マウス腹腔内に TFDD を投与した場合、24 時間後には肝臓中レベルが投与量の 1~2 % 程度にまで減少することが報告されている (9)。しかし、毒性が充分に認められる TCDD 量の 100 倍量の TFDD を与えても全く影響が見られなかったことを踏まえると、一過的な TFDD 処理によっては、ダイオキシン様の急性毒性作用を有さないか、あるいは非常に弱いと考えるのが妥当と思われる。新たなダイオキシン拮抗剤としての TFDD の有用性を提示するため、引き続き組織中の TFDD レベルを正確に把握すると共に、長期的または継続的な処理による影響の有無についても精査していくことが必要であろう。

本研究では、AHR を発現するヒト乳腺がん細胞株である T47D 細胞を用いて、TCDD による AHR 活性化に対する TFDD の拮抗作用を検討した。その結果、TFDD は TCDD 依存的な CYP1A1 の誘導を用量依存的に抑制することが明らかになった。また、500 pM TCDD による CYP1A1 誘導に対する TFDD の 50% 阻害濃度は 45.9 nM であったことから、TFDD は TCDD の約 100 倍高い濃度を処理することで拮抗作用を示すことも確認された。一方、10 μM までの TFDD 単独処理では、CYP1A1 の誘導は全く観察されなかった。従って、TFDD 自身は AHR 活性化を起こさず、ダイオキシンによる AHR 活性化に対して拮抗作用を持つことが示唆された。先述の通り、本研究では TCDD が毒性を惹起する用量の 100 倍量の TFDD をラットに与えてもダイオキシン様の急性毒性が見られなかった事実を合わせて考えると、TFDD は生体に対して毒性を示さずに、ダイオキシン毒性を軽減しうることが期待される。今後、阻害効果を示す用量関係を踏まえ、生体毒性に対する拮抗作用について検証を進めていきたい。

本研究においては、TFDD が腎臓、心臓、肺および脾臓の萎縮あるいは肥大化を惹起することを確認した。しかし、その殆どが軽微な重量変化であった。ただし、心臓の萎縮のみは、投与 1 日後に止まらず、投与 7 日後にまで継続して見られたため、この点については注視すべきであるかもしれない。関連して、フッ素化炭化水素は、心臓の機能を障害することが報告されており (10)、フッ素化合物の中には心臓において酸化的ストレスを亢進させ、ミトコンドリア機能障害を惹起するものもあると言う (11)。従って、TFDD も同様の機

構によって心臓に影響を及ぼす可能性は否定できない。これらの組織への影響の実態を明確にしていくことも、ダイオキシン毒性軽減剤としての有用性を担保する上で重要と思われる。

E. 結論

TFDD の単回経口投与は、1 mg/kg までの用量では AHR 活性化作用を示す可能性は低く、典型的なダイオキシン様急性毒性を示さないことが確認された。さらに、細胞レベルにおいては、TFDD は TCDD 依存的な AHR 活性化に対して抑制作用を持つことが明らかになった。

F. 研究発表

特になし。

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. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **22**: 517-554 (1982).
2) Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL. *Crit Rev Toxicol*, **23**: 283-335 (1993).
3) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM, Gonzalez FJ. *Toxicol Appl Pharmacol,* **140**: 173-179 (1996).
4) Frueh FW, Hayashibara KC, Brown PO, Whitlock JP Jr. *Toxicol Lett*, **122**: 189-203 (2001).
5) Amakura Y, Tsutsumi T, Sasaki K, Nakamura M, Yoshida T, Maitani T. *Phytochemistry*, **69**: 3117-3130 (2008).
6) Schmitz HJ, Weber R, Hagenmaier A, Hagenmaier H, Poellinger L, Schrenk D. *Environ Toxicol Pharmacol*, **3**: 105-113 (1997).
7) Burke MD, Mayer RT. *Drug Metab Dispos*, **3**: 245-253 (1975).
8) Taura J, Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Ishii Y, Kuroki H, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Yamada H. *Toxicol Appl Pharmacol*, **281**: 48-57 (2014).
9) Weber R, Schrenk D, Schmitz HJ, Hagenmaier A, Hagenmaier H. *Chemosphere*, **30**: 629-639 (1995).
10) Uttamsingh V, Iyer RA, Baggs RB, Anders MW. *Anesthesiology*, **89**: 1174-1183 (1998).
11) Miltonprabu S, Thangapandiyan S. *J Trace Elem Med Biol*, **29**: 321-335 (2015).

Fig. 1. Structures of TCDD and TFDD.

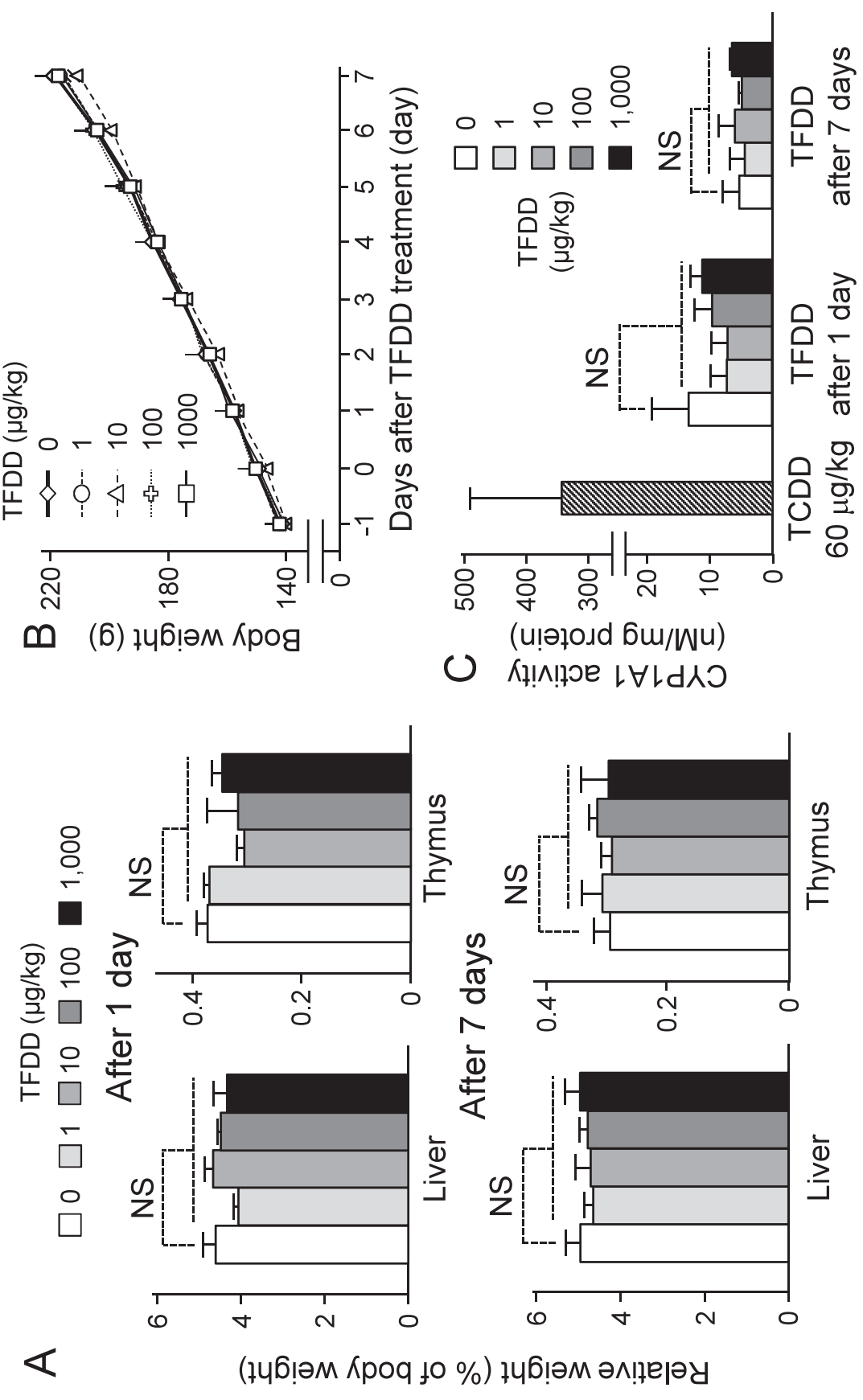


Fig. 2. Absence of the effect of TFDD (1-1,000 μg/kg, orally) on the weight of liver and thymus (A), body weight gain (B) and the activity of hepatic CYP1A1 (C) of male pubertal rats. Each plot/bar represents the mean ± S.E.M of 3 rats. NS: not significant.

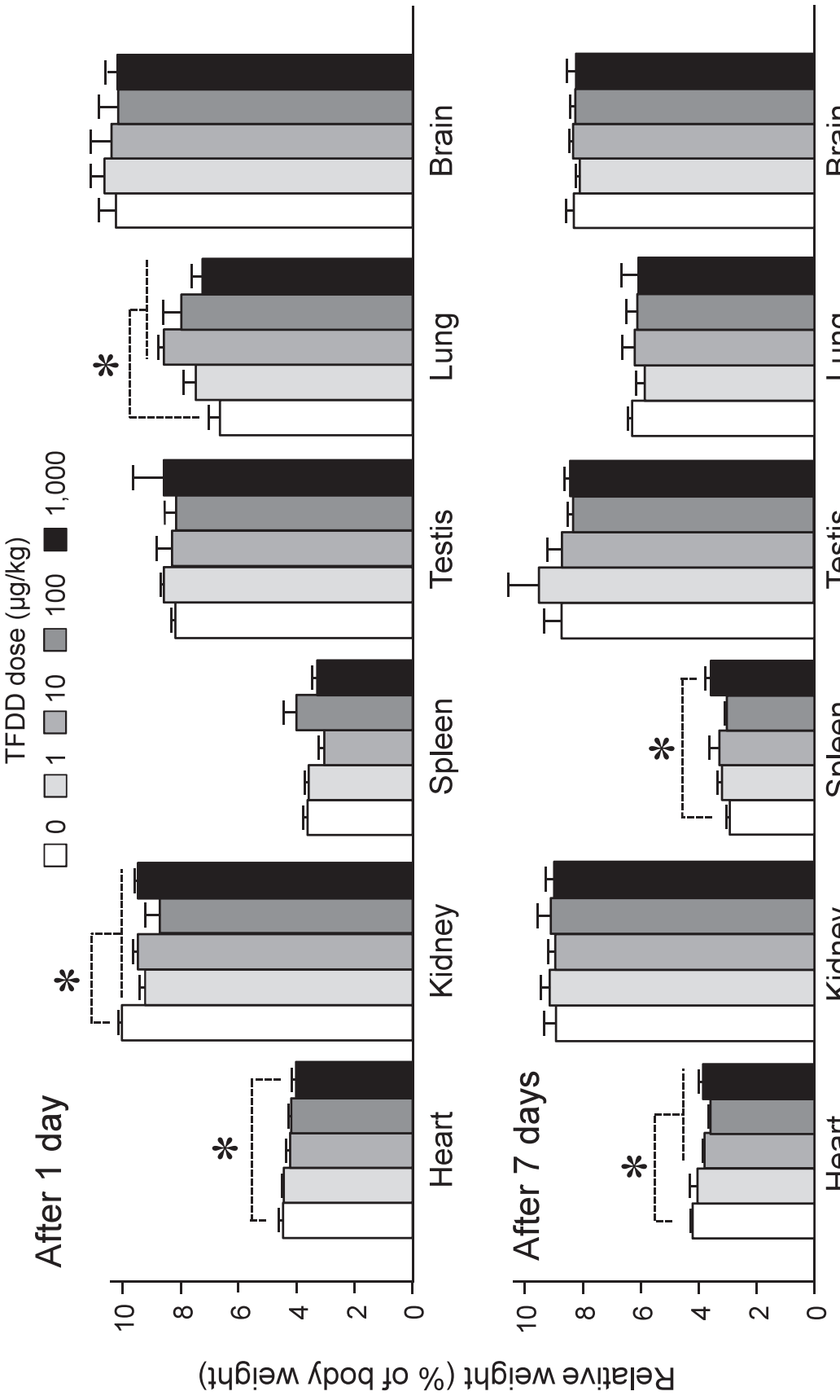


Fig. 3. Effect on the organ weights of male pubertal rats 1 day and 7 days after TFDD treatment. Bars are the means ± S.E.M of 3 rats. Significantly different between the pair indicated: *p<0.05.

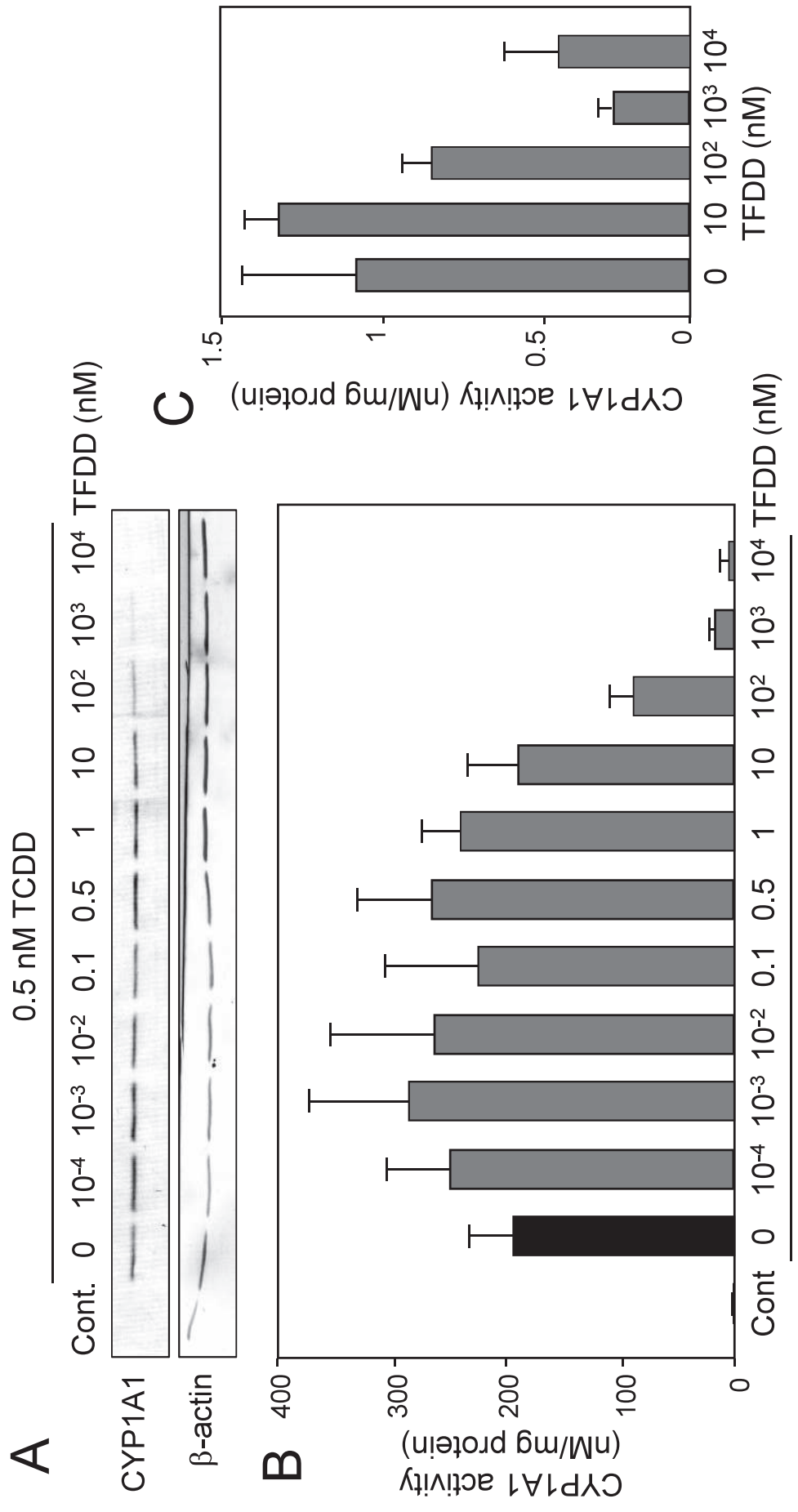


Fig. 4. Effect of TFDD on the TCDD-produced induction of the expression (A) and activity (B) of CYP1A1 protein, and constitutive activity of CYP1A1 (C) in the T47D cells. Bars are the means ± S.E.M of 4 cultures.

研究成果の刊行に関する一覧表（2016 年度）

厚生労働科学研究費の補助を受けたことが明記された書籍・雑誌

書籍：著者氏名，論文タイトル名，書籍全体の編集者名，書籍名，出版社名，出版地，出版年，ページ
【厚生労働科学研究費により刊行】　なし

雑誌：発表者氏名，論文タイトル名，発表誌名，巻号，ページ，出版年，

【古江増隆】

Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Mitoma C, Furue M. Inhibition of aryl hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in human keratinocytes. J Dermatol Sci. 2016 Oct 4. pii: S0923-1811(16)30847-7. doi: 10.1016/j.jdermsci.2016.10.003.

Todaka T, Honda A, Imaji M, Takao Y, Mitoma C, Furue M. Effect of colestimide on the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dizenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Environ Health. 2016 Jun 4;15(1):63.

Fukushi J, Tokunaga S, Nakashima Y, Motomura G, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Iwamoto Y. Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. Chemosphere. 2016 Feb;145:25-33.

Morino-Koga S, Uchi H, Mitoma C, Wu Z, Kiyomatsu M, Kuba Y, Nagae K, Yasumatsu M, Suico MA, Kai H, Furue M. 6-formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ) accelerates skin wound healing via activation of ERK, but not aryl hydrocarbon receptor. J Invest Dermatol, (in press.)

内　博史．油症とは．皮膚科研修ノート．診断と治療社，2016

【香月　進】

Yasutake D, Hori H, Takashi K, Kajiwara J, Watanabe Y, Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Hydroxylated PCBs (OH-PCBs) in Fish Purchased in Kyushu District, Japan Organohalogen Compounds. 2016. 78. 1153-1157

【二宮利治】

Usui T, Nagata M, Hata J, Mukai N, Hirakawa Y, Yoshida D, Kishimoto H, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Serum Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol and Risk of Cardiovascular Disease in Community Dwellers with Chronic Kidney Disease: the Hisayama Study. J Atheroscler Thromb 2016 (in press)

Ikeda F, Shikata K, Hata J, Fukuhara M, Hirakawa Y, Ohara T, Mukai N, Nagata M, Yoshida D, Yonemoto K, Esaki M, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Combination of Helicobacter pylori Antibody and Serum Pepsinogen as a Good Predictive Tool of Gastric Cancer Incidence: 20-Year Prospective Data From the Hisayama Study. J Epidemiol 26: 629-636, 2016

研究成果の刊行に関する一覧表（2016 年度）

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，

Hirabayashi N, Hata J, Ohara T, Mukai N, Nagata M, Shibata M, Gotoh S, Furuta Y, Yamashita F, Yoshihara K, Kitazono T, Sudo N, Kiyohara Y, Ninomiya T. Association Between Diabetes and Hippocampal Atrophy in Elderly Japanese: the Hisayama Study. Diabetes Care 39: 1543-1549, 2016

Hata J, Mukai N, Nagata M, Ohara T, Yoshida D, Kishimoto H, Shibata M, Hirakawa Y, Endo M, Ago T, Kitazono T, Oike Y, Kiyohara Y, Ninomiya T. Serum Angiopoietin-Like Protein 2 Is a Novel Risk Factor for Cardiovascular Disease in the Community: the Hisayama Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 36: 1686-1691, 2016

Takae K, Nagata M, Hata J, Mukai N, Hirakawa Y, Yoshida D, Kishimoto H, Tsuruya K, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Serum Uric Acid as a Risk Factor for Chronic Kidney Disease in a Japanese Community: the Hisayama Study. Circ J 80: 1857-1862, 2016

【戸高　尊】

Todaka T, Honda A, Imaji M, Takao Y, Mitoma C, Furue M. Effect of colestimide on the concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dizenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Environmental Health, 2016 Jun 4;15:63. Doi:10, 1186/s12940-016-0150-z.

【三苫千景】

Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Mitoma C, Furue M. Inhibition of aryl hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in human keratinocytes. J Dermatol Sci. 2016 Oct4. doi: 10.1016/j/jdermsci.2016.10.003.

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Imamura T. Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients. Environ Health. 2016 Sep 7; 15(1): 95.

Todaka T, Honda A, Imaji M, Takao Y, Mitoma C, Furue M. Effect of colestimide on the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dizenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Environ Health. 2016 Jun 4;15(1):63.

Fukushi J, Tokunaga S, Nakashima Y, Motomura G, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Iwamoto Y. Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. Chemosphere. 2016 Feb; 145: 25-33.

【赤羽　学】

Shinya Matsumoto, Manabu Akahane, Yoshiyuki Kanagawa, Jumboku Kajiwara, Chikage Mitoma, Hiroshi Uchi, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura. Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients, Environmental Health, 15:95, 2016

研究成果の刊行に関する一覧表（2016 年度）

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，
【内　博史】 Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Mitoma C, Furue M. Inhibition of aryl Hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in Human keratinocytes. J Dermatol Sci. 2017 Jan;85(1):36-43. Fukushi J, Tokunaga S, Nakashima Y, Motomura G, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Iwamoto Y. Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. ChemospHere. 2016 Feb;145:25-33. Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Imamura T. Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients. Environ Health. 2016 Sep 7;15(1):95. 【古賀信幸】 T. Shimada, K. Kakimoto, S. Takenaka, N. Koga, S. Uehara, N. Murayama, H. Yamazaki, D. Kim, F. P. Guengerich and M. Komori, Roles of human CYP2A6 and monkey CYP2A24 and 2A26 cytochrome P450 enzymes in the oxidation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. Drug Metab. Dispos., 44, 1899-1909 (2016). 【石井祐次】 Takeda T, Matsuo Y, Nishida K, Fujiki A, Hattori Y, Koga T, Ishii Y, Yamada H. α-Lipoic acid potentially targets AMP-activated protein kinase and energy production in the fetal brain to ameliorate dioxin-produced attenuation in fetal steroidogenesis. *J. Toxicol. Sci.,* **42**: 13-23 (2017).