平成 29 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 27～29 年度　　総合研究報告書
平成 29 年度　　総括・分担研究報告書

研究代表者　古江 増隆

平成 30（2018）年 3 月

平成 27～29 年度　　総合研究報告書

平成 29 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 27 年度研究班構成員氏名

研究代表者

古江 増隆　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授）

研究分担者

赤羽　学　（奈良県立医科大学　健康政策医学講座　准教授）

今福　信一　（福岡大学医学部皮膚科　教授）

岩本　幸英　（九州大学大学院医学研究院整形外科学分野　教授）

上松　聖典　（長崎大学病院眼科　講師）

宇谷　厚志　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授）

内　博史　（九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　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）

月森　清巳　（福岡市立こども病院　周産期センター長）

辻　博　（北九州津屋崎病院内科　部長）

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）

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）

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

村井　弘之　（九州大学大学院医学研究院脳神経治療学　教授）

山田　英之　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　教授）

吉田　茂生　（九州大学大学院医学研究院眼科学分野　准教授）

（五十音順）

研究協力者

石井　祐次　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　准教授）
今地　政美　（公益財団法人北九州生活科学センター　理事長）
今村　知明　（奈良県立医科大学健康政策医学講座　教授）
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）
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）
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　健康政策医学講座　非常勤講師）
北岡　隆　（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 眼科・視覚科学分野　教授）
清原　龍士　（長崎大学病院皮膚科　アレルギー科　医員）
小木曽　俊孝　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）
境　泰史　（公益財団法人北九州生活科学センター　検査員）
櫻井　利彦　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　課長）
新谷　依子　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　主任技師）
世良　暢之　（福岡県保健環境研究所　病理細菌課　課長）
髙尾　佳子　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　主任技師）
高橋　浩司　（福岡県保健環境研究所　生活化学課　専門研究員）
武田　知起　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　助教）
竹中　重幸　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　課長）
塚谷　裕子　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　研究員）
飛石　和大　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　専門研究員）
富村　沙織　（長崎大学病院皮膚科　アレルギー科　講師）
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）
福士　純一　（九州大学病院整形外科　助教）
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　専門研究員）
本多　彰紀　（公益財団法人北九州生活科学センター　次長）
前畠　裕司　（九州大学大学院病態機能内科学　助教）
松本　伸哉　（奈良県立医科大学　健康政策医学講座　博士研究員）
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）
山下　謙一郎　（九州大学神経内科　診療講師）
山本　貴光　（公益財団法人北九州生活科学センター　主幹）
吉村　惠　（熊本保健科学大学、大学院保健科学研究科　教授）

（五十音順）

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

今地　政美　（公益財団法人北九州生活科学センター　理事長）
今村　知明　（奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　教授）
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）
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）
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）
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　研究員）
高橋　浩司　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　専門研究員）
武田　知起　（九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野　助教）
竹中　重幸　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　課長）
田中　義人　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　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）

平成２９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）

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　（九州大学大学院医学研究院人工関節・生体材料学講座　准教授）

三苫　千景　（九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　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

今地　政美　（公益財団法人北九州生活科学センター　理事長）
今村　知明　（奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　教授）
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）
太田　千穂　（中村学園大学栄養科学部　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）
梶原　淳睦　（福岡県保健環境研究所　保健科学部長）
片宗　千春　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　技師）
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）
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）
郡家　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）
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）
酒谷　圭一　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　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）
鈴木　邦裕　（九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野　助教）
高尾　佳子　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　研究員）
高橋　浩司　（福岡県保健環境研究所　計測技術課　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）
田中　義人　（福岡県保健環境研究所　企画情報管理課　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）
飛石　和大　（福岡県保健環境研究所　廃棄物課　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）
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）
前畠　裕司　（九州大学大学院病態機能内科学　助教）
松本　伸哉　（奈良県立医科大学　公衆衛生学講座　博士研究員）
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　水質課　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）
吉田　大悟　（九州大学大学院医学研究院 衛生・公衆衛生学分野　助教）
吉村　惠　（医療法人社団温故会直方中村病院　病院長）

（五十音順）

目　　次

Ⅰ．平成 27～29 年度総合研究報告書

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

II．平成 29 年度総括研究報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……14
研究代表者　古江 増隆

III．平成 29 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……22
研究分担者　香月　進
研究協力者　新谷　俊二，高尾　佳子，田中　義人，梶原　淳睦

02. 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……31
研究分担者　園田　康平

03. 油症検診受診者における黄斑疾患……33
研究分担者　上松　聖典
研究協力者　北岡　隆

04. 油症患者における口腔細菌数に関する検討　……35
研究分担者　川崎　五郎

05. 油症患者における運動機能評価……37
研究分担者　福士　純一
研究協力者　河本　五月

06. 油症における末梢血リンパ球亜集団に関する研究……44
研究分担者　辻　博

07. 長崎県油症認定患者におけるセマフォリン 3A（Sema3A）の検討……49
研究分担者　竹中　基
研究協力者　郡家　佑美

08. 油症認定患者における血清 Ah 受容体転写活性の検討……54
研究分担者　竹中　基
研究協力者　富村　沙織

09. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査 ……56
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，佐藤　環，
高橋　浩司，塚谷　裕子，酒谷　圭一，片宗　千春，田中　義人，
新谷　俊二，高尾　佳子，宮脇　崇，平川　周作

10. 平成 16 および平成 26 年度に測定した
油症患者血液中ダイオキシン類濃度の比較……71
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

11. Deans Switch 型 SilFlow を用いた血中ダイオキシン類測定における
ソルベントカット大量注入法の開発……78
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，飛石　和大

12. 「安静時機能的 MRI 新規解析手法による脳機能的結合変化の解明」に関する研究…88
研究分担者　山下　謙一郎

13. 桂枝茯苓丸臨床試験の報告……90
研究分担者　三苫　千景
研究協力者　貝沼　茂三郎，宮崎　昭行

14. 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……93
研究分担者　二宮 利治
研究協力者　吉田　大悟

15. カネミ油症患者におけるダイオキシン類異性体の濃度変化と
症状の変化の関係に関する研究 ……103
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

16. 油症曝露による継世代健康影響に関する研究
- 油症 2 世における卵巣機能と油症曝露状況との関連- ……110
研究分担者　月森　清巳
研究協力者　加藤　聖子，諸隈　誠一

17. ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける
肺サーファクタント蛋白に関する検討……117
研究分担者　中西　洋一
研究協力者　鈴木　邦裕，柳原　豊史

18. ベンゾピレンの投与がラットに及ぼす影響に対する行動学的、電気生理学的、
分子生物学的検討……122
研究分担者　申　敏哲
研究協力者　吉村　惠

19. 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……126
研究分担者　江崎　幹宏
研究協力者　前畠　裕司

20. 2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB 異性体の動物肝ミクロゾームによる代謝…129
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 による出生児の性未成熟の機構解析：
ゴナドトロピン放出ホルモン神経への影響……135
研究分担者　石井　祐次
研究協力者　武田　知起

22. 2,3,7,8-Tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin のダイオキシン次世代毒性に対する
拮抗作用の検討……143
研究分担者　石井　祐次
研究協力者　武田　知起

23. ペリルアルデヒドの効果について……149
研究分担者　内　博史

IV.　研究成果の刊行に関する一覧表……156

総合研究報告書

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

研究代表者　古江増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授

研究要旨

【背景】油症は PCB 類、ダイオキシン・ダイオキシン類似化合物（以下、ダイオキシン類）を経口摂取したことにより生じた稀有な事例である。これらの化合物が生体に及ぼす影響については明らかになっていない。

【目的】ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性影響を把握し、油症患者に残存する症状を緩和する方法を開発することにある。

【結果の概要】

（１）臨床的追跡研究

油症検診における経年的な患者の症状、所見、血液中ダイオキシン類濃度の推移を検証した。多くの患者において油症特有の症状は軽快しているものの、加齢に伴う影響がみられた。血液中ダイオキシン類濃度は緩徐ながら減少し、約 60%の患者で主たる異性体である 2,3,4,7,8-PeCDF の血液中濃度は 50 pg/g lipid 未満であった。ダイオキシン類曝露は甲状腺ホルモンの低下、甲状腺自己抗体の出現、CD8 陽性細胞の低下など、免疫機能異常を惹起する可能性が示された。

（２）油症患者の支援と治療研究の推進

血液中ダイオキシン類濃度測定に使用している高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計、SCLV の代替システムにおいても同様の精度、再現性が確認された。油症特有の神経症状を客観的に評価できる安静時機能的 MRI の解析法を確立することができた。コレスチミド臨床試験に参加した患者血液中 PCB と 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は、内服前後で変化しなかった。平成 27 年度に実施した桂枝茯苓丸臨床試験では、全身倦怠感や皮膚、呼吸器症状の改善、QOL の向上、血清一酸化窒素の産生増加がみられた。

（３）疫学的・基礎的研究

＜疫学的研究＞平成 27 年度に、地域住民 495 名（平均年齢 62 歳）を対象に断面調査を実施し、心血管病や悪性疾患、生活習慣病などの有病率調査、血液中ダイオキシン類濃度、および疾病マーカーの測定を行った。その結果、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid だった。また、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の上昇に伴い、肝・胆道系機能マーカーの平均値は有意に上昇したが基準値の範囲内であった。継世代へのダイオキシン類曝露の影響を調べた。正常妊娠における検証では、臍帯血ダイオキシン類濃度は母体血濃度の約 40%であること、臍帯血への移行はダイオキシン類の TEF 値とは関係なく PCDD 類が最も移行しやすいこと、胎脂が主たる排泄経路であること、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こと、胎児期におけるダイオキシン類曝露は、油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが初めて明らかになった。2,3,4,7,8-PeCDF の濃度別、生年別に、半減期と半減期の変化を確認した。その結果、油症発生以降に生まれた患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は低く、増加している傾向がみられた。また、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 10～20 pg/g lipid の患者、多くは直接曝露した患者だが、濃度は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。血液中ダイオキシン類各異性体の濃度変化と症状の変化の相関について解析したところ、男性では 1,2,3,7,8-PeCDF と赤血球数の変化、女性では Total PCDD と総ビリルビンの変化との間に相関係数 0.6 以下の弱い相関がみられた。

＜基礎的研究＞ダイオキシン類の生体内動態、毒性、次世代への影響、治療薬の探索を行った。ベンゾピレン投与による油症肺傷害モデルマウスを作成した。肺サーファ

クタント蛋白（SP-D）遺伝子欠損マウスを用いた検証により、SP-D がベンゾピレンに対して肺保護作用を有することが分かった。ベンゾピレン投与ラットを用いて、油症特有の神経障害の機序について行った。ダイオキシンと同様にベンゾピレンも触・圧覚を伝えるＡβ線維の活動電位の伝導速度を選択的に低下することで、感覚の鈍麻等を引き起す可能性が示唆された。PCB 異性体の生体内での代謝を検証した。患者に高濃度で検出される PCB156 の代謝物は検出されず、代謝されにくいこと、生体内で代謝されにくいとされる 2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB 異性体のうち、PCB182、PCB188 は代謝されやすいことが分かった。強い毒性を持つ 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin （TCDD）の胎児期曝露による影響を検証している。TCDD は胎児の aryl hydrocarbon receptor（AHR）を介して下垂体ホルモン合成が低下させ、成長後に性未成熟等の発育障害を惹起すること、オス胎児の成長ホルモン発現抑制には母体の AHR も寄与すること、出生児脳において双極性 GnRH ニューロンの選択的な減少が生じることが明らかになった。また、TCDD の毒性に拮抗する作用を有する薬剤の開発を行っている。TCDD は AMPK 活性化に基づいてゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH)受容体ひいては LH 合成を低下させ、αリポ酸はこれに拮抗する可能性が考えられた。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)を合成した。TFDD には TCDD のような毒性作用はなく、培養細胞において TCDD の AHR 活性作用に拮抗した。そこで、TCDD の母体曝露による胎児の脳下垂体ホルモン合成低下に対する TFDD の拮抗作用を検討した。TCDD により胎児脳下垂体における黄体形成ホルモン（LH）、成長ホルモン(GH)の発現は低下ないし低下傾向を示すが、TFDD を 1 日 1 回 TFDD を経口投与しても回復しなかった。油症の治療につながる生薬を探索している。漢方薬、生薬でスクリーニングを行い、ケイヒの主成分であるシンナムアルデヒドや、紫蘇の成分、ペリルアルデヒドにダイオキシン類の毒性に拮抗し、抗酸化作用があることが明らかになった。

最後に研究を通じて明らかになった様々な事実については患者への広報のため、パンフレットや油症新聞とし、発行している。また論文化したものは、日本語、英語でホームページに掲載している。

Ａ．研究目的

PCB とダイオキシンおよびダイオキシン類似化合物（以下、ダイオキシン類）の混合中毒である油症が発生して 50 年が経過した。ダイオキシン類は人類への影響が懸念される、環境汚染物資でもある。患者生体内に長期間残存するダイオキシン類がどのような影響を及ぼしているかについては明らかでない。本研究の目的は、ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性影響を把握し、患者に残存する症状を緩和する方法を開発することにある。

（倫理面に対する配慮）

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

Ｂ．研究方法

I.班長が担当する研究

1.班長は、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター(以下、油症センター)センター長を兼任する。

2.班の総括と研究班会議開催

3.油症検診の実施(各自治体に委託)と検診結果の全国集計

4.油症相談員･相談支援員制度

2002 年に患者が集中する長崎県、福岡県、広島県に油症相談員を配置した。また、その他の自治体に居住する患者の要望にも応えるべく、2016 年に油症相談支援員制度を施行した。相談員、相談支援員は、健康の問題を含めた様々な患者の相談を受ける。また、患者に対して既往歴、症状、生活習慣等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。
8. 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。
9. 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、あるいは書面で公表し、油症対策委員会で患者代表者に説明を行う。

Ⅱ．九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究
１．検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法などを用いて統計学的に解析し、経年変化の傾向について調査する。
２．油症患者体内に残存する PCB、PCQ やダイオキシン類の生体内動態を把握するために、血中濃度分析を行う。患者の症状、検査結果にいかに寄与しているかについても分析、検討する。
３．九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンターが一般住民対象に行う環境調査に協力し、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．油症が継世代に及ぼす影響について検討する。
５．PCB やダイオキシン類の体内動態を明らかにする。
６．基礎的研究を行い、PCB やダイオキシン類の慢性毒性の機序の解明、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。
７．臨床試験の実施
油症患者の様々な症状を軽減するための臨床試験を施行する。

C．結果および考察
１．油症相談員・相談支援員制度
高齢化や社会的偏見により検診を受診していない患者を含め、認定患者の健康相談を行っている。また、定期的に九州大学油症センターにおいて相談支援員を対象にした勉強会を開催し、情報共有に努めている。

２．情報の提示
パンフレットの更新作成、ホームページ、あるいは直接書面にて研究内容を患者に伝達した。さらに患者への情報提供のために、油症新聞を定期的に発行した。また、これまでの研究内容をひろく知らしめることを目的として、
油症の検診と治療の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html に、
油症の現況と治療の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/member/index.html に、
カネミ油症の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html に、
油症研究 - 30 年の歩み - は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html に
油症研究 II 治療と研究の最前線は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html に、
1 年おきに福岡医学雑誌の特集号として発行している油症研究報告集は
http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html に

厚生労働省科学研究費補助金による研究結果は
http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html にそれぞれ掲載している。

３．患者の実態把握と情報発信に関する研究
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。

４．臨床的追跡研究
４－１．油症患者検診結果
2014 年から 2016 年度、それぞれ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 703 名、644 名、653 名で、50 歳以上は 84.8%、86.5%、88.4%と高齢化が進んでいた。自覚症状で最も訴えが多かったのは全身倦怠感で約 70%を占めた。また、他覚所見では、いずれの年度も肝・胆・脾エコーの有所見率が約 70%と最も高かった。

４－２．福岡県検診における眼科的所見
１）平成 27 年度福岡県検診における眼科受診者 245 名（患者 201 名・未認定者 44 名）を対象に眼科的所見を検討した。自覚症状では眼脂過多を訴える者が多かったが、その程度は軽い者がほとんどであった。他覚所見として慢性期の特徴的眼症状である眼瞼結膜色素沈着は明らかではなかった。全ての検査を施行し、除外項目に該当しなかった 127 名の所見を解析したところ、2014 年に発表されたドライアイ診断基準におけるドライアイ確定例が 65 名(51.2%)、ドライアイ疑い例が 3 名(2.4%)だった。ドライアイは加齢の影響もあるため、油症との関連性についてはさらなる解析が必要である。
２）平成 28 年度福岡県検診では 223 名、平成 29 年度は 239 名を対象に、眼科的所見を検討した。いずれの年度においても自覚症状では眼脂過多を訴えるものが多かったが、その程度は軽かった。他覚所見として眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物が少数にみられた。

４－３．長崎県検診における眼科的所見
１）マイボーム腺欠損の 2 年間の変化
マイボーム腺機能異常は油症に特異的な病態である。平成 27 年度、長崎県検診受診者を対象にマイボーム腺欠損の経時的変化を評価し、血中 PeCDF 濃度がマイボーム腺欠損の進行に影響するかどうか検討した結果、患者血液中 PeCDF 濃度はマイボーム腺欠損の 2 年間の変化には関与しなかった。
２）加齢黄斑変性の有無についての検証
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と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との間に統計学的関連はなかった。
３）加齢黄斑変性の経時的推移についての検証
平成 28 年、29 年度連続して黄斑形態の評価を行い、血中 PeCDF 濃度を測定した患者 143 人（男性 72 人、女性 71 人）を対象に、黄斑疾患の進行について調査した。その結果、平成 29 年度に新たに黄斑疾患を生じた受診者はおらず、黄斑疾患が進行した受診者もいなかった。

４－４．長崎県油症検診受検者における口腔内症状に関する研究
１）口腔乾燥に関する検証
平成 27 年度長崎県検診において認定者と未認定者の中で、問診において口腔乾燥を訴えた者について口腔乾燥を測定し分析した。口腔乾燥の訴えは 43 名にみられ、高齢者に多く、女性に多かった。一方測定値に関しては 24.4 から 30.4 とばらつきがみられ、測定値と性別、年齢、認定の有無との間に相関はみられなかっ

た。

２）口腔カンジダの発現に関する研究

平成 28 年度長崎県検診において 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。認定の有無によりカンジダの発現率に有意差がみられなかったが、高齢者および女性の発現率が高かった。また、口腔乾燥感を訴えた患者や義歯装着の患者でもカンジダの高い発現率がみられる傾向にあった。

３）口腔細菌数に関する検討

高齢者にみられる歯性感染症や誤嚥性肺炎には口腔内細菌叢が関与している。そこで平成 29 年度長崎県検診において細菌数計測器を用いて口腔細菌数を調べた。その結果、細菌数は $5.21x10^5$ から $6.23x\ 10^7$ とばらつきはみられが、認定の有無による有意な差はみられなかった。

４－５．油症患者における骨・関節症状

１）油症患者における骨密度の解析

2010 年度全国油症検診の受検者の骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との関連について検討した。末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を男女別に解析すると、居住地および body mass index で調整した場合、女性において 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と骨密度(Z スコア)との間に負の関連を認めた。男性においては、ダイオキシン類濃度と骨密度の間に明らかな関連は認めなかった。

２）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年度福岡県検診において、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。ロコチェック質問票を用いた問診、ファンクショナルリーチテスト、４ｍ歩行に要する時間を計測した。その結果、51%の受診者にロコモの合併が疑われた。ロコチェック該当数、ファンクショナルリーチおよび４ｍ歩行時間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。

４－６．油症患者血液中の PCDF 類実態調査

平成 27－29 年度においても、検診受診者の血液中ダイオキシン類濃度の解析を行った。平成 26 年度は、未認定者 155 名と認定患者 249 名を測定した。認定患者の平均総 TEQ（WHO2005）は 61 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 99 pg/g lipid（2.7～1,792）だった。約 57%の患者の 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 50 pg/g lipid 未満であった。平成 27 年度は、未認定者 116 名と認定患者 104 名を測定した。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（2.8－1,800）だった。約 57%の患者は 50 pg/g lipid 未満であった。平成 25～27 年に受診した同居家族認定者 88 名の血液中 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 28 年度の測定対象患者の平均総 TEQ（WHO20 ああ 05）は 44 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 49 pg/g lipid だった。平成 13～28 年の間に 1,023 名の認定患者がダイオキシン類濃度を測定され、これは認定患者総数 2,295 名(平成 28 年 12 月 31 日現在）の約 45%に相当した。また血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 110 pg/g lipid(2.8－1,800)で、約 60%の患者は 50 pg/g lipid 未満だった。

４－７．油症患者における甲状腺機能の研究

１）甲状腺機能について

平成 27 年度福岡県検診を受診した 239 人について甲状腺機能検査を行い、血中 PCB 濃度との関連について検討した。同居家族認定を含む認定患者において未認定者と比ベトリヨードサイロニンの有意の低下を認めた。また、血中 PCB 濃度とトリヨードサイロニンの間に有意な負の相関がみられ、血中 PCB 高濃度群におい

て低濃度群に比べトリヨードサイロニンの有意の低下を認めた。PCB のトリヨードサイロニンに対する慢性的影響が示唆された。

２）甲状腺自己抗体に関する研究

平成 28 年度福岡県検診を受診した 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。認定患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があったが、出現頻度に差はなかった。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。

４－８．油症における末梢血リンパ球亜集団に関する研究

2017 年度福岡県検診を受診した 239 名において末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 PCB 濃度との関連について検討した。同居家族を含む患者では対照者に比較し CD8 陽性細胞の有意の低下を認め、油症における CD8 陽性細胞に対する慢性的影響が示唆された。CD4 陽性細胞は対照者に比較し患者に高い傾向を認めたが、差をみなかった。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞の間に相関をみなかった。また、CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞胞は血中 PCB 濃度 1.5 ppb 未満の PCB 低濃度群と血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上の PCB 高濃度群の間に差をみなかった。

４－9. 油症患者の免疫機能の検証

長崎県検診を受診した患者を対象に、ダイオキシン類曝露が免疫機能に及ぼす影響を検証した。

１）末梢血リンパ球分画の検討

平成 27 年度、長崎県油症検診受検者（認定患者 53 名、未認定者 14 名）におけるリンパ球サブセットの割合の変化を解析した。その結果、認定患者において CD3、8 陽性細胞の低下，NK 細胞の相対割合が上昇しており、血中 PCQ 濃度と制御性 T 細胞（Treg）数に有意な相関がみられた。これを基に、平成 28 年度、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（31 名）と健常人（31 名）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がみられ、IFN-γは患者で有意に低値だった（p=0.0056)。なお、ダイオキシン濃度との間に相関は認めなかった。

２）soluble CD27 の検討

以前の検討にて、認定患者では Treg 細胞が活性化している可能性が示唆された。そこで Treg 細胞が発現している血清中 CD27 濃度について検証した結果、患者と健常人との間に有意な差はなかった。

３）soluble CD26/DPP-4 の検討

CD26/DPP-4（dipeptil peptiase-4）は CD4 陽性 T 細胞に発現し、強力な血管内皮細胞間遊走能を有する。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病態に関与するとされる。そこで、油症患者において血清中 soluble CD26/DPP-4 を測定したところ、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)。しかし、患者血清中の sCD27/DPP-4 値と PCB，PCQ，PCDF 値にとの間に相関は認められなかった。

４）油症認定患者における血清 Ah 受容体転写活性の検討

糖尿病性神経症を有する患者において、血清 Ah 受容体転写活性が上昇しているという報告がある。油症患者では足趾のしびれを有することがある。そこで、今回、我々は血清中の Ah 受容体転写活性を測定し、正常人との比較検討を行う予定であったが、実験手技の問題もあり、測

定不能であった

５）セマフォリン３A の検討

平成29年度、神経軸索ガイダンスなど生体内で様々な情報伝達を担うタンパク質であるセマフォリンのうち、脊椎動物の表皮神経系発達の調節に関わるセマフォリン3A (Sema3A)について認定患者（30名）と健常人（30名）で比較、検討した。その結果、患者では血清中Sema3Aは有意に高値で（p=0.00357)、PCQ濃度との間に有意な相関を認めた。

５．油症患者の支援と治療研究の推進

５－１．Deans Switch 型 SilFlow を用いた血中ダイオキシン類測定におけるソルベントカット大量注入法の開発

平成 29 年度、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計に SCLV の代替システムとして Deans Switch 型 SilFlow を装着し、その正確性と再現性について、従来システムと比較検討した。その結果、血液中ダイオキシン類測定において Deans Switch 型 SilFlow は、SCLV と同様の機構で正確に作動することが確認され、標準物質及びコントロール試料の繰り返し測定では再現性の良い定量値が得られた。SilFlow は従来法と比べてデッドボリュームが非常に小さく、かつコンタミネーションの影響も少ないという利点がある。また、装置の取り扱いも容易であり、SCLV の代替として有用であることが示された。

５－２．油症患者の臨床症状を軽減するための臨床試験

１）桂枝茯苓丸内服臨床試験

平成 27 年 7 月から九州大学病院、長崎県五島中央病院の油症外来で桂枝茯苓丸内服による臨床試験を実施した。52 名の参加が得られ、3 ヵ月間、7.5ｇの桂枝茯苓丸を内服した後、全身倦怠感、皮膚症状などにおいて統計学的に有意に改善がみられた。また、血管拡張作用を及ぼす一酸化窒素の血清濃度の上昇がみられ、症状改善の機序の一端を担うと考えられた。

２）油症患者の血液中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に関する研究

コレスチミドによるダイオキシン類やポリ塩化ビフェニール（PCB）の体外排泄促進が，健常人で認められたため、この報告を基に油症患者で臨床試験が行われた。この試験に参加した患者の血液中ダイオキシン類濃度をコレスチミド投与前と投与後で比較した結果、2,3,4,7,8-pentachlorodibenzo-furan (PeCDF)は統計学的に有意に減少したが、その低下率は 1%程度であった。さらに PCB の異性体分析も行ったが、明確な有効性は確認されなかった。

５－３．油症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に関する研究

油症患者では四肢異常感覚を多く認めるが、現在では自覚的異常感覚を有する症例は減少している。症状が軽減している患者では、大脳皮質感覚野の神経結合変化により自覚的異常感覚が減少している可能性がある。このような機能的結合変化を検出するため、安静時機能的 MRI 新規解析法を確立した。

６．疫学的・基礎的研究

６－１．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 年度に、福岡県久山町に在住する地域住民 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、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。平成 28 年 11 月 30 日に全検体（495 検体）のダイオキシン類測定を終了した。2,3,4,7,8-PeCDF の濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid であった。平成 29 年度、血中ダイオキシン類濃度と疾患の有病率および各疾患バイオマーカー値との

関係を検討した。その結果、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の上昇に伴い、肝・胆道系機能マーカーの平均値は有意に上昇したが基準値の範囲内であった。

６－２．油症曝露による継世代健康影響に関する研究

油症の継世代影響を把握するため、以下の研究を行った。

１）胎児期におけるダイオキシン類の経胎盤移行と排泄に関する検討

平成 27 年度、正常妊娠を対象として、分娩時と産褥期に９つの試料を採取しダイオキシン類濃度を測定し、ダイオキシン類の胎盤を介する胎児への移行を検証した。その結果、臍帯血ダイオキシン類濃度は母体血濃度の約 40％であること、TEF 値が高い異性体は胎盤に移行しやすいが、臍帯血への移行は TEF 値とは関係なく PCDDs が PCDFs や Co-PCBs よりも移行しやすいことが分かった。また、胎脂、胎便、羊水の中で、胎脂に最も高濃度のダイオキシン類が含まれており、主たる排泄経路であることが明らかとなった。

２）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

平成 28 年度、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、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、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、とくに 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。以上より、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示唆された。

３）油症 2 世の卵巣機能と油症曝露との関連

平成 29 年度、油症 2 世 33 例を対象とし、卵巣の予備能の指標として血中抗ミュラー管ホルモン（AMH）濃度を測定した。さらに、健常女性から得られた年齢別平均の血中 AMH 濃度に対する標準偏差値（z-score）を求め、単回帰分析を用いて解析した。その結果、油症 2 世の血中 AMH 濃度（z-score）の中央値（範囲）は、-0.88（-2.13-5.56）であった。さらに、1）油症発生から出生までの期間と正の相関を示すこと、2）油症 2 世の血中 PCDF 濃度と有意な相関はないが、母親の血中 PCDF 濃度と有意な負の相関を示すこと、3)油症発生から出生までの期間の影響を取り除いた出生時の母親推定血中 PCDF 濃度においても有意な負の相関を示すことが分かった。以上より、胎児期における油症曝露が油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが示唆された。

６－３．PCB/ダイオキシン類の生体内動態に関する研究

１）油症患者のダイオキシン類異性体ごとの半減期の変化に関する研究

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。その結果、1,2,3,6,7,8-HxCDD は、二階微分は負であった。このことは、濃度は上昇から減少に変化しているか、半減期が短くなっていることを示唆した。

２）低濃度患者における 2,3,4,7,8-PeCDF の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、半減期と半減期の変化を確認した。その結果、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。

３）油症患者におけるダイオキシン類異性体の濃度変化と症状の変化の関係に関する研究

ダイオキシン類の個々の異性体が患者のどのような症状を引き起こしているかを判別するために、ダイオキシン類各異性体の濃度の変化と症状の変化の相関係数を求めた。その結果、男性では 1,2,3,7,8-PeCDF と赤血球数の変化、女性では Total PCDD と総ビリルビンの変化との間に相関係数 0.6 以下の弱い相関がみられた。

６－４．油症発症機構の解明と治療法開発にむけての基礎的検討

１）ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルの作成とその解析

マウスにベンゾピレンを経気管的に投与することにより、気道分泌物が増加し、その肺組織では肺サーファクタント蛋白（SP-D）の発現が亢進する。平成 27 年度、28 年度はこのマウス作成にあたった。平成 29 年度、SP-D ノックアウトマウスにベンゾピレンを経気道的に投与し、SP-D の作用を検証した。その結果、SP-D ノックアウトマウスの細気管支領域で PAS 陽性細胞が著明に増加しており、気道傷害は野生型マウスに比して増悪した。以上より、ベンゾピレン誘発性の肺傷害に対して SP-D の保護的役割が考察された。

２）ベンゾピレンの末梢神経に及ぼす影響の解明

①末梢神経伝導速度に対するベンゾピレンの影響

ベンゾピレンを経口投与したラットの後根神経節細胞から細胞内記録を行い、後根電気刺激によって誘発された活動電位を指標にして各神経線維の伝導速度を調べた。その結果、AB 線維の伝導速度が選択的に緩徐化しており、ダイオキシンの作用と同様であった。

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の検証

ベンゾピレンを経口投与したラットの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検討した。その結果、ベンゾピレンは選択的に末梢感覚神経である Aβ線維に作用して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ベンゾピレンが求心性末梢神経と行動変化に及ぼす影響についての検証

ベンゾピレンを経口投与したラットを用いて、ベンゾピレンが求心性末梢神経と行動変化に及ぼす影響を行動学的手法、電気生理学的手法、分子生物学的手法で正常ラットと比較検討した。その結果、ベンゾピレンは触・圧覚を伝える Aβ線維の髄鞘に影響を及ぼし、活動電位の伝導速度を低下させることで感覚の鈍麻等を引き起こした可能性が示唆された。

３）胃癌発生における activation-induced cytidine deaminase の関与についての研究

胃癌の発生には遺伝子編集酵素群の一つである activation-induced cytidinedeaminase (AID)発現が関与するとされる。AID は酸化ストレスによる DNA 損傷との関連も示唆されている。また、*Helicobacter pylori*(*H. pylori*)や、ダイオキシンなどの環境ホルモンも発症因子として挙げられる。

そこで、内視鏡治療により切除した胃癌の切除材料 101 病変（*H. pylori* 陽性胃癌 84 病変、*H. pylori* 除菌後胃癌 17 病変）を用いて AID や p53 の免疫組織化

学染色を実施した。その結果、AID 高発現群において粘膜下層浸潤癌が有意に多かったが、腫瘍径、分化度、脈管浸潤の頻度については AID 発現との関連は認めなかった。AID 発現は早期浸潤癌の指標となる可能性が推測された。

４）PCB 代謝に関する研究

各 PCB 異性体の生体内代謝について動物肝ミクロゾーム(Ms)を用いて検証した。

①2,3,3’,4,4’,5-六塩素化ビフェニル(PCB156)の代謝

PCB156 は、PCB153、PCB180 および PCB138 とともに高蓄積性であり、患者の血中で健常者の約 3.9 倍の高濃度で検出される。平成 27 年度、PCB156 の代謝についてラットおよびモルモット肝 Ms を用いて検証した。その結果、いずれの Ms においても代謝物は全く生成されず、PCB156 がヒト組織中において高濃度で検出される事実を反映した結果だった。

②2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有するPCB異性体の動物肝Msによる代謝

2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有するPCB異性体は生体内で非常に代謝されにくいと報告されている。そこで、その異性体PCB182、PCB188の生体内代謝を検証した。

平成 28 年度は PCB182 の代謝についてラット、モルモットおよびヒト肝 Ms を用いて検証した結果、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（フェノバルビタール(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 PCB（PCB187、PCB183、PCB180）と比べ、10～50 倍高い活性で代謝された。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。

平成 29 年度は、PCB188 のラット肝 Ms による代謝を調べた。その結果、PB 前処理ラット肝 Ms でのみ、2 種類の代謝物 M1 および M2 が生成された。GC-MS による分析の結果、両代謝物はいずれも一水酸化体だった。また、主代謝物の M1 は、フラグメントイオン 407 [M^+-15]が比較的多いことから、4-水酸化体であることが示唆された。さらに、代謝酵素として PB 誘導性の CYP2B 酵素（ラット CYP2B1）の関与が示唆された。2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する CB188 は、CB182 同様に、比較的代謝され易いことが明らかになった。

５）2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)による胎児脳下垂体ホルモンへの影響とその機構解析

これまでの研究にて、妊娠中のラットがダイオキシンに曝露することにより出生児に性未成熟等の発育障害が生じること、またその一端が、胎児脳下垂体の luteinizing hormone (LH) および growth hormone (GH)の発現低下に起因することを明らかにした。平成 27－29 年度はこの機序について解明した。

① aryl hydrocarbon receptor 欠損ラットを用いた検討

ダイオキシンの毒性発現に重要である aryl hydrocarbon receptor (AHR) 遺伝子欠損ラットを用いて、ダイオキシン類曝露による胎児脳下垂体ホルモンの低下とそれに付随する発育障害に対する AHR の寄与を母体と胎児の遺伝子型の両面から検討した。その結果、1) TCDD は胎児の AHR を介して LH/GH 合成が低下し、成長後に性未成熟等の発育障害を惹起すること、ならびに 2) 雄胎児の GH 発現抑制には母体の AHR も寄与することが明らかになった。

② TCDD の子育て能力への影響およびその機構解析

プロラクチンは育児に必須のホルモンである。妊娠ラットが TCDD に曝露すると、育児期の母ラットのプロラクチンは低下し、育児行動は抑制された。母ラットにプロラクチンを補給すると育児行動

障害は回復し、出生児の低体重や学習記憶障害も改善、ないし改善傾向を示した。AHR欠損ラットでは、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 を介して育児母のプロラクチンを低下させ、育児抑制、ひいては児の発育障害を惹起するという新たな機構が見出された。

③TCDD母体曝露が児のゴナドトロピン放出ホルモン神経に与える影響

これまでに、TCDD曝露によって出生児に見られる性未成熟の一端は、出生後の成長過程で定着する視床下部 gonadotropin-releasing hormone (GnRH) の発現低下に起因することを見出した。そこで妊娠期の母体にTCDDを曝露し、胎生期から離乳期にかけての雄児脳を検証した結果、双極性 GnRH ニューロンの選択的な減少が見いだされた。

６）TCDD母体曝露による性未成熟に拮抗する創薬に関する研究

妊娠ラットへのTCDD曝露による母体、胎児への影響を軽減する方法を探索している。

①TCDDによる性未成熟に対するリポ酸とチアミンの保護効果とその機構

TCDD は胎児視床下部において、TCA 回路の必須補酵素であるα-lipoic acid (LA) と共に ATP を減少させる。平成 27 年度は、エネルギー産生停滞と LH 低下に対する LA の寄与を検証した。その結果、TCDD はエネルギー減少を通した AMPK 活性化に基づいてゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)受容体ひいては LH 合成を低下させ、LA はこれに拮抗する可能性が考えられた。なお、TCDD は LA の合成に関わる酵素の発現変動以外の作用を通して LA を減少させ、児の障害を惹起する可能性が示唆された。

②2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin (TFDD)のダイオキシンに対する拮抗作用

平成 28 年、29 年度はダイオキシン類、TCDD の毒性機構に拮抗する創薬を行った。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。その結果、TFDD 投与により 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 活性誘導はみられなかった。さらに、ヒト乳がん細胞株である T47D 細胞に対して、TCDD と TFDD 併用処理すると TCDD 依存的な CYP1A1 発現誘導が抑制された。平成 29 年度は、TCDD 母体曝露による胎児の脳下垂体ホルモン合成低下に対する TFDD の拮抗作用を検討した。TCDD により胎児脳下垂体における黄体形成ホルモン、成長ホルモンの発現は低下ないし低下傾向を示すが、TFDD を 1 日 1 回 TFDD を経口投与しても改善はみられなかった。TCDD による胎児数の減少に対しても TFDD による改善は認められなかった。以上より、少なくとも 1 日 1 回の併用処理では、TFDD は TCDD 依存的な胎児のホルモン合成障害に対して改善効果を示さないことが示唆された。

７）油症の治療法開発にむけて

ダイオキシン類の毒性の大半は aryl hydrocarbon receptor (AHR) を介して発揮される。AHR 活性を抑制する薬剤、植物成分は油症の症状の軽減につながる可能性があり、培養ヒト細胞を用いて探索している。

① 生薬及び漢方方剤スクリーニングの概要

平成 27 年度は、ヒト培養表皮細胞、HaCaT 細胞を用いて、AhR 活性化の指標であるベンゾピレン誘導性 CYP1A1 発現に及ぼす生薬の影響を検討した。その結果、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。

② 桂皮およびシンナムアルデヒドの効果について

平成 28 年度もヒト培養表皮細胞を用いて検証し、漢方方剤の一つ、桂枝茯苓丸に強い AHR 活性抑制、さらに抗酸化機構の主たる転写因子 NRF2 を介した抗酸化作用

があることを示した。さらに、この作用に寄与する成分が生薬の一つ、桂皮に含まれるシンナムアルデヒドであることを明らかにした。

③ ペリルアルデヒドの効果について

平成 29 年度は、ヒト表皮細胞を用いて紫蘇の成分であるペリルアルデヒドの作用を検証した。その結果、ペリルアルデヒドにも強い抗酸化作用のほか AHR 抑制による抗炎症効果があることが示された。

７．油症対策委員会の開催

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

D．結論

臨床的追跡研究を行った。多くの患者において油症特有の症状は軽快しているものの、自覚症状、眼科、歯科、骨・関節所見においては加齢に伴う影響が加わっていた。平成 13～28 年の間に 1,023 名の認定患者がダイオキシン類濃度を測定され、これは認定患者総数 2,295 名（平成 28 年 12 月 31 日現在）の約 45％に相当した。血液中ダイオキシン類濃度の平均値は健常人のそれより高いが、緩徐に低下しつつあり、約 60％の患者の 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 50 pg/g lipid 未満だった。患者の甲状腺ホルモン低下、甲状腺自己抗体陽性率の上昇がみられた。また、患者血清、血球を用いた検証にて免疫機能の変化がみられ、今後も引き続き検証が必要である。油症患者の支援と治療研究の推進を行った。桂枝茯苓丸の臨床試験にて、自覚症状や生活の質の改善がみられた。コレスチミドの内服前後において血液中 PCB、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度に差はみられなかった。微量な血液中ダイオキシン類濃度を測定することができる、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の代替機においても測定精度、再現性がとれた。患者の神経系機能的結合変化を検出するため、安静時機能的 MRI 新規解析法を確立した。

疫学的研究を行った。平成 27 年度に、福岡県久山町に在住する地域住民 495 人（平均年齢 62 歳）を対象に断面調査を実施した。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid だった。さらに、血中ダイオキシン類濃度と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しているところである。ダイオキシン類曝露の継世代に与える影響を検証している。正常妊娠を対象にした検証にて、臍帯血ダイオキシン類濃度は母体血濃度の約 40％であること、PCDD 類は臍帯血へ移行しやすいこと、胎脂に最も高濃度のダイオキシン類が含まれており、主たる排泄経路であることが明らかとなった。また、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していた。さらに、胎児期における油症曝露が油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが初めて示された。ダイオキシン類の半減期、その変化に関する検証を行った。また、ダイオキシン類各異性体の濃度の変化と症状の変化の相関係数を求めた結果、男性では 1,2,3,7,8-PeCDF と赤血球数の変化、女性では Total PCDD と総ビリルビンの変化との間に弱い相関がみられた。

油症発症機構の解明と治療法開発にむけての基礎的検討を行った。油症肺傷害モデルマウスを用いた検証にて、SP-D がベンゾピレンに対する肺保護作用を有することが明らかになった。ベンゾピレンは、触・圧覚を伝える Aβ線維の髄鞘に影響を及ぼし、活動電位の伝導速度を低下させることで感覚の鈍麻等を引き起こす可能性が分かった。酸化ストレスによる DNA 損傷との関連が報告される AID は、早期浸潤癌の指標となる可能性が推測された。PCB の生体内代謝を検討した。患者体内に高濃度で残存する PCB156 は代謝されにくく、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する CB188 と CB182 はともに

代謝されやすかった。妊娠中 TCDD 曝露が胎児に与える影響について継続して研究した。TCDD は胎児の AHR を介して LH/GH 合成を低下させ、成長後に性未成熟等の発育障害を惹起すること、オス胎児の GH 発現抑制には母体の AHR も寄与すること、TCDD は AHR を介して育児母のプロラクチンを低下させ、育児抑制、ひいては児の発育障害を惹起すること、さらに TCDD は胎児脳の双極性 GnRH ニューロンの選択的な減少を生じることが明らかになった。

以上のように、ダイオキシン類が生体に及ぼす影響、それを阻害する治療薬の研究により、新たな知見が得られつつある。

Ｅ．健康危険情報

なし。

総括研究報告書

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

研究代表者　古江増隆　九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野　教授

研究要旨

【背景】油症は PCB 類、ダイオキシン・ダイオキシン類似化合物（以下、ダイオキシン類）を経口摂取したことにより生じた稀有な事例である。これらの化合物が生体に及ぼす影響については明らかになっていない。

【研究の目的】ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性影響を把握し、油症患者に残存する症状を緩和する方法を開発することにある。

【研究結果の概要】

（１）臨床的追跡研究

油症検診における、患者の臨床所見の推移、油症特有な症状の有無や、血液中ダイオキシン類濃度の経時的推移について検証した。多くの患者の症状は軽快しているものの、加齢に伴う影響がみられた。また、ダイオキシン類濃度は緩徐ながら減少した。また、油症患者では末梢血 CD8 陽性細胞の数が減少しており、神経系発達の調節に関わるセマフォリン 3A は有意に高値であるなど、免疫機能に影響がみられた。

（２）油症患者の支援と治療研究の推進

現在血液中ダイオキシン類濃度測定に使用している高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計、SCLV の代替システムにおいても同様の精度、再現性が確認された。多くの患者が訴える神経症状を客観的に評価すべく安静時機能的 MRI の解析法を確立することができた。平成 27 年度に実施した桂枝茯苓丸臨床試験の結果の解析により、内服後に血清一酸化窒素濃度の増加がみられた。

（３）疫学的・基礎的研究

＜疫学的研究＞平成 27 年度に地域住民を対象にした断面調査を行い、血液中ダイオキシン類濃度と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証している。血液中ダイオキシン類各異性体の濃度変化と症状の変化の相関について解析し、いくつかの項目において弱い相関がみられた。継世代への影響については、油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及んでいることが初めて明らかになった。

＜基礎的研究＞ダイオキシン類の生体内動態、毒性、次世代への影響、治療薬の探索を行った。ベンゾピレン投与による油症肺傷害モデルマウスを作成した。今年度は、肺サーファクタント蛋白（SP-D）遺伝子欠損マウスを用いて検証し、SP-D がベンゾピレンに対して肺保護作用を有することが分かった。ベンゾピレン投与ラットを用いて、油症特有の神経障害の機序について行っている。ベンゾピレン投与は触・圧覚を伝える Aβ線維の髄鞘に影響を及ぼし、活動電位の伝導速度を低下させることで感覚の鈍麻等を引き起こした可能性が示唆された。生体内における PCB 異性体の代謝を検証している。代謝されにくいとされる 2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB 異性体、PCB1188 は生体内で代謝されやすいことが明らかになった。強い毒性を持つ 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin （TCDD）の妊娠期曝露による胎児、出生児への影響を検証している。今年度は出生児脳の双極性 GnRH ニューロンが選択的に減少しいることを見出した。TCDD に拮抗する作用を有する薬剤の開発を行っている。その候補、2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-p-dioxin（TFDD)を実験動物母体に投与し、胎児の下垂体ホルモン分泌障害の変動を検証したが、TFDD 1 日 1 回投与では明らかな効果はみられなかった。油症の治療につながる生薬を探索している。今年度は紫蘇の成

分、ペリルアルデヒドがダイオキシン類の毒性に拮抗する作用を有することが示された。
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、次年度の実態調査票の改正点の検討を行った。研究を通じて明らかになった様々な事実については患者への広報のため、パンフレットや油症新聞を発行している。論文化した研究成果についてはホームページに日本語、英語で掲載している。

A．研究目的

PCB とダイオキシンおよびダイオキシン類似化合物（以下、ダイオキシン類）の混合中毒である油症が発生して 50 年が経過した。ダイオキシン類は人類への影響が懸念される、環境汚染物資でもある。患者生体内に長期間残存するダイオキシン類がどのような影響を及ぼしているかについては明らかでない。油症研究の目的は、ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性影響を把握し、患者に残存する症状を緩和する方法を開発することにある。

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

B．研究方法

I. 班長が担当する研究

1. 班長は、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター（以下、油症センター）センター長を兼任する。
2. 班の総括と研究班会議開催
3. 油症検診の実施（各自治体に委託）と検診結果の全国集計
4. 油症相談員・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。
8. 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。
9. 油症対策委員会の開催
患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および次年度の実態調査票の改正点の検討、医療者向けのパンフレット案の検討を行う。
10. 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、あるいは書面で公表し、油症対策委員会で患者代表者に説明を行う。

Ⅱ．九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究

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

ダイオキシン類の生体内動態を把握するために、血中濃度分析を行う。患者の症状、検査結果にいかに寄与しているかについても分析、検討する。
３．九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンターが一般住民対象に行う環境調査に協力し、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．基礎的研究を行い、PCB やダイオキシン類の慢性毒性の機序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・相談支援員制度

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、様々な相談を受けるために、2002 年に患者の集中する福岡県、長崎県、広島県で油症相談員事業を開始した。これ以外の自治体に居住する患者の要望に応えるべく、2016 年に相談支援員制度を施行した。定期的に研修会を開催し、情報共有にも努めている。

２．情報の提示

パンフレットの更新作成、ホームページ、あるいは直接書面にて研究内容を患者に伝達した。さらに患者への情報提供のために、油症新聞を定期的に発行した。また、これまでの研究内容をひろく知らしめることを目的として、
油症の検診と治療の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html に、
油症の現況と治療の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/member/index.html に、
カネミ油症の手引きは、
http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html に、
油症研究 - 30 年の歩み - は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html に
油症研究 II 治療と研究の最前線は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html に、
1 年おきに福岡医学雑誌の特集号として発行している油症研究報告集は
http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html に
厚生労働省科学研究費補助金による研究結果は
http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html にそれぞれ掲載している。

３．患者の実態把握と情報発信に関する研究

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。

４．油症患者検診結果

2016 年度に実施した油症検診の結果を解析した。検診受診者は 653 名で、50 歳以上が全体の 88.4%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 69.8%であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が 68.4%と最も高かった。

５．油症の患者における眼科的所見

平成 29 年度福岡県検診を受診した 239 名を対象に、眼科的所見を検証した。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。

６．油症検診受診者における黄斑疾患
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、油症患者における黄斑疾患の進行について調査した。2016 年度長崎県検診眼科部門を受診し、黄斑形態の評価が可能で、血中 PeCDF 濃度を測定された患者、さらに 2017 年度も続けて受診された 143 名（男性 72 名、女性 71 名）を対象に、黄斑疾患の進行について調査した。昨年度黄斑疾患のなく、新たに黄斑疾患を生じた患者はいなかった。また、昨年度加齢黄斑変性等の黄斑疾患を有していた患者で黄斑疾患が進行した症例はいなかった。今回の調査で油症患者において黄斑疾患が進行しやすいという結果は得られなかった。

７．油症患者における口腔細菌数に関する検討
油症患者の高齢化に従い、今後、歯性感染症や誤嚥性肺炎の発症が増加することが予想される。これらの感染症には口腔内細菌叢が関与している。そこで今年度は、長崎県検診において細菌数計測器を用いて口腔細菌数を調べた。その結果、細菌数は 5.21×10^{5} から 6.23×10^{7} とばらつきはみられが、認定の有無による有意な差はみられなかった。

８．油症患者における運動機能評価
今年度は、2016 年度福岡県検診における運動機能の評価を解析した。ロコチェック質問票を用いた問診、ファンクショナルリーチテスト、４ｍ歩行に要する時間を計測した。その結果、51％の受診者にロコモティブシンドロームの合併が疑われた。ロコチェック該当数、ファンクショナルリーチおよび４ｍ歩行時間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．油症における末梢血リンパ球亜集団に関する研究
2017 年度福岡県検診を受診した 239 名において末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 PCB 濃度との関連について検討した。同居家族を含む患者では対照者に比較し CD8 陽性細胞の有意の低下を認め、油症における CD8 陽性細胞に対する慢性的影響が示唆された。CD4 陽性細胞は対照者に比較し患者に高い傾向を認めたが、差をみなかった。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞の間に相関をみなかった。また、CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞胞は血中 PCB 濃度 1.5 ppb 未満の PCB 低濃度群と血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上の PCB 高濃度群の間に差をみなかった。

１０．長崎県油症認定患者におけるセマフォリン３A（Sema3A）の検討
今年度は、神経軸索ガイダンスなど生体内で様々な情報伝達を担うタンパク質であるセマフォリンのうち、脊椎動物の表皮神経系発達の調節に関わるセマフォリン 3A（Sema3A)について解析し、認定患者（30 名）と健常人（30 名）で比較、検討した。その結果、患者では有意に高値であった（p=0.00357)。この値と PCQ 濃度との間に有意な相関を認めた。Sema3A は神経系への影響のみならず、免疫調節機構への関与も報告されており、油症患者に何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。

１１．油症認定患者における血清 Ah 受容体転写活性の検討
糖尿病性神経症を有する患者において、血清 aryl hydrocarbon 受容体（AHR）転写活性が上昇しているという報告がある。油症患者では足趾のしびれを有することがある。そこで、油症患者血清中の AHR 転写活性を測定し、健常人との比較検討を行う予定であったが、実験手技の

問題もあり、測定不能であった。

１２.油症患者血液中の PCDF 類実態調査
平成 28 年度、血液中ダイオキシン類検査を実施した患者の平均総 TEQ（WHO2005）は 44 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 49 pg/g lipid だった。平成 13～28 年の間に 1,023 名の認定患者がダイオキシン類濃度を測定され、これは認定患者総数 2,295 名（平成 28 年 12 月 31 日現在）の約 45%に相当した。その血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 110 pg/g lipid (2.8－1,800)で、約 60%の患者は 50 pg/g lipid 未満だった。平成 25～28 年に受診した同居家族認定者 139 名の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は平均 28 pg/g lipid だった。

１３．平成 16 および平成 26 年度に測定した油症患者血液中ダイオキシン類濃度の比較
平成 16 および平成 26 年の両年度に検診を受診した 118 名の血液中ダイオキシン類濃度の比較を行い、各異性体の濃度推移を調べた。ダイオキシン類では平成 26 年度の PCDFs 濃度は平成 16 年度のそれと比較して約 10%低かった。2,3,4,7,8-pentaCDF、1,2,3,4,7,8-hexaCDF、1,2,3,6,7,8-hexaCDF 濃度は、それぞれ 10、30、20%程度減少していた。女性の方が高い濃度を示したが、10 年間の濃度推移に関しては、男女間での相違は観察されなかった。

１４．Deans Switch 型 SilFlow を用いた血中ダイオキシン類測定におけるソルベントカット大量注入法の開発
高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計に SCLV の代替システムとして Deans Switch 型 SilFlow を装着し、従来と同等の血液中ダイオキシン類の高感度測定が可能か検討した。その結果、血液中のダイオキシン類測定において Deans Switch 型 SilFlow は、SCLV と同様の機構で正確に作動することが確認され、標準物質及びコントロール試料の繰り返し測定では再現性の良い定量値が得られた。SilFlow は従来法と比べてデッドボリュームが非常に小さく、かつコンタミネーションの影響も少ないという利点がある。装置の取り扱いも容易であり、SCLV の代替として有用であることが示された。

１５．安静時機能的 MRI 新規解析手法による脳機能的結合変化の解明に関する研究
油症患者では四肢異常感覚を多く認めるが、現在では自覚的異常感覚を有する症例は減少している。症状が軽減している患者では、大脳皮質感覚野の神経結合変化により自覚的異常感覚が減少している可能性がある。このような機能的結合変化を検出するため、安静時機能的 MRI 新規解析法を確立した。

１６．桂枝茯苓丸の効果に関する研究
2015年度に九州大学病院、長崎県五島中央病院で行った桂枝茯苓丸臨床試験の解析を継続して行った。内服前後に血液を採取し、酸化ストレス、抗酸化ストレスマーカー、一酸化炭素（NO）濃度を測定したところ、血清NO濃度は有意に増加しており、末梢循環改善を反映する結果を考えられた。

１７．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 年度に実施した地域一般住民を対象にした断面調査の結果を基に、血中ダイオキシン類濃度と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した。その結果、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の上昇に伴い、肝・胆道系機能マーカーの平均値は有意に上昇していたが、いずれも基準値の範囲内であった。

１８．カネミ油症患者におけるダイオキシン類異性体の濃度変化と症状の変化の関係に関する研究

ダイオキシン類の個々の異性体が患者のどのような症状を引き起こしているかを判別するために、ダイオキシン類各異性体の濃度の変化と症状の変化の相関係数を求めた。その結果、男性では 1,2,3,7,8-PeCDF と赤血球数の変化、女性では Total PCDD と総ビリルビンの変化との間に相関係数 0.6 以下の弱い相関がみられた

１９．油症曝露による継世代健康影響に関する研究

今年度は油症発生後に患者より出生した児（油症 2 世）の卵巣機能と油症曝露状況との関連について検討した。対象は油症 2 世 33 名で、卵巣予備能の指標とし血液中抗ミュラー管ホルモン（AMH）濃度を測定し、健常女性から得られた年齢別平均の血中 AMH 濃度に対する標準偏差値（z-score）を求めた。さらに、油症曝露状況との関連について単回帰分析を用いて解析した。その結果、油症 2 世の血中 AMH 濃度（z-score）の中央値（範囲）は、-0.88（-2.13-5.56）であった。油症 2 世の血中 AMH 濃度（z-score）と油症曝露状況との関連を解析したところ、1）油症発生から出生までの期間と正の相関を示すこと、2）油症 2 世の血中 PCDF 濃度と有意な相関はないが、母親の血中 PCDF 濃度と有意な負の相関を示すこと、3)油症発生から出生までの期間の影響を取り除いた出生時の母親推定血中 PCDF 濃度においても有意な負の相関を示すことが分かった。以上より、胎児期における油症曝露が油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが示唆された。

２０．油症発症機構の解明と治療法開発に向けての基礎的研究

１）ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける SP-D の役割

これまでの研究において、ベンゾピレンをマウスに経気管的に投与し、気道分泌物増加を認める油症肺障害モデルマウス完成した。今年度は、肺サーファクタント蛋白(SP-D)の役割を解明すべく、SP-D 遺伝子欠損マウスにベンゾピレンを経気道的に投与し、検証した。その結果、SP-D 遺伝子欠損マウスの細気管支領域で PAS 陽性細胞が著明に増加しており、気道傷害は野生型マウスに比して増悪していた。以上より、ベンゾピレン誘発性の肺傷害に対して SP-D の保護的役割が考察された。

２）ベンゾピレンの投与がラットに及ぼす影響に対する行動学的、電気生理学的、分子生物学的検討

ベンゾピレンがラットの求心性末梢神経と行動変化に及ぼす影響について、行動学的手法、電気生理学的手法、分子生物学的手法を用いて正常ラットと比較検討した。その結果、VON―FREY 式刺激装置を用いた感覚変化の検討では、ベンゾピレン投与群で時間経過とともに多少の閾値上昇による逃避反応の遅延が見られた。行動実験終了後、ラットの後根神経節標本を作製し、活動電位の伝導速度を比較した結果では、ベンゾピレン投与ラットの後根神経節の Aβ線維で伝導速度の低下がみられた。また、myelin basic protein (MBP)の検討では正常ラット群に対し、ベンゾピレン投与群で若干の MBP の低下が見られたが有意差はなかった。これらの結果から、ベンゾピレン投与は触・圧覚を伝える Aβ線維の髄鞘に影響を及ぼし、活動電位の伝導速度を低下させることで感覚の鈍麻等を引き起こした可能性が示唆された。

３）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

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。AID は酸化ストレスのマーカーとも考えられることから、早期胃癌における AID 発現と早期胃癌の臨床病理学的特徴との関連について検討した。その結果、AID 高発現群において粘膜下層浸潤癌が有意に多かったが、腫瘍径、分化度、脈管浸潤の頻度については AID 発現との関連は認めなかった。今後、AID 発現と組織学的炎症の程度や p53 などの癌抑制遺伝子との関連を検討する必要があるが、AID 発現は早期浸潤癌の指標となる可能性が推測された。

４）2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB異性体の動物肝ミクロゾームによる代謝

生体内で 2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB 異性体は代謝されにくいとされる。そこでその異性体の一つである、PCB188 についてラット肝ミクロゾーム(Ms)による代謝を調べた。その結果、フェノバルビタール(PB)前処理ラット肝 Ms でのみ、2 種類の代謝物 M1 および M2 が生成された。GC-MS による分析の結果、両代謝物はいずれも、メチル化体が分子量 422 であることから、一水酸化体であることが明らかとなった。また、主代謝物の M1 は、フラグメントイオン 407 [M^+-15]が比較的多いことから、4-水酸化体であることが示唆された。さらに、代謝酵素として PB 誘導性の CYP2B 酵素（ラット CYP2B1）の関与が示唆された。今回、GC-ECD の故障（修理不可）のため、正確な定量には至らなかったが、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB188 は、PCB182 同様に、比較的代謝され易いことが明らかになった。

５）2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による出生児の性未成熟の機構解析：ゴナドトロピン放出ホルモン神経への影響

これまでに、妊娠期の 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 曝露によって出生児に見られる性未成熟の一端が、出生後の成長過程で定着する視床下部 gonadotropin-releasing hormone (GnRH) の発現低下に起因することを見出している。今年度は、出生児の GnRH 発現低下の原因を明らかにするため、発達期の GnRH ニューロンに対する TCDD の影響を調査した。胎生期から離乳期にかけての雄児脳を対象として、GnRH 抗体を用いて組織免疫染色を行った結果、TCDD 母体曝露によって生後 14 日目および 28 日目の雄児において双極性 GnRH ニューロン数が有意に減少した。一方、胎生期においては目立った影響は観察されず、GnRH ニューロンの分布や軸索長についても TCDD による変化は認められなかった。これらの結果から、TCDD 胎児期曝露によって出生後に起こる GnRH 発現低下には、双極性 GnRH ニューロンの選択的な減少が寄与する可能性が見出された。

６）2,3,7,8-Tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin のダイオキシン次世代毒性に対する拮抗作用の検討

平成28年度、ダイオキシン毒性に対する新たな拮抗剤の創製を目指し、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) を合成した。TFDDをラットに単回経口投与してもダイオキシン様の急性毒性は示さず、培養細胞レベルではTFDDはTCDDに対して拮抗作用を持つことを確認した。そこで今年度は、TCDD 母体曝露による胎児の脳下垂体ホルモン合成低下に対するTFDDの拮抗作用を検討した。妊娠 15 日目の母ラットに TCDD を単回経口投与したのち、妊娠16 日から19日まで1 日 1 回 TFDD を経口投与した。その結果、TCDD によって胎児脳下垂体における黄体形成ホルモンならびに成長ホルモンの発現が低下ないし低下傾向を示したが、TFDD を併用処理しても改善効果は観察さ

れなかった。また、TCDDによって胎児数が減少するが、これに対しても TFDD による改善は認められなかった。以上より、少なくとも1 日1 回の併用処理では、TFDDは TCDD 依存的な胎児のホルモン合成障害に対して改善効果を示さないことが示唆された。

７）ペリルアルデヒドの効果について

慢性ダイオキシン中毒の症状を緩和する生薬、植物成分について探索している。今年度は、ヒト表皮細胞を用いて紫蘇の成分であるペリルアルデヒドの作用を検証した。その結果、ペリルアルデヒドには強い抗酸化作用のほか AHR 抑制による抗炎症効果があることが示された。

２１．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

臨床的追跡研究を行った。多くの患者において油症特有の症状は軽快しているものの、加齢に伴う影響が加わっていた。血液中ダイオキシン類濃度はこの 10 年で緩徐ながら減少していた。ダイオキシン類曝露は患者の免疫機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。患者の支援と治療研究の推進を行った。血液中ダイオキシン類濃度測定に使用している高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の代替システムにおいても同様の精度、再現性が確認された。油症の主たる症状の一つである神経症状を客観的に評価する解析方法を確立した。臨床試験においては、桂枝茯苓丸投与により患者血清一酸化窒素の産生増加がみられ、桂枝茯苓丸による血管拡張、循環改善が患者の症状改善に寄与している可能性が示唆された。

疫学的研究においては、平成 27 年度に実施した地域住民対象の環境調査の結果をもとに、ダイオキシン類濃度と疾病および疾病マーカーとの間の相関について解析を進めた。また、ダイオキシン類異性体濃度と症状の変化との間の相関について解析したところ、弱いながら数項目において相関がみられた。継世代への影響においては、胎児期に母体を介してダイオキシン類に曝露すると、油症 2 世の卵巣の予備能に影響が及ぶことが明らかになった。

基礎的研究においては、SP-D はベンゾピレン投与に対して肺保護作用を有することが分かった。また、ベンゾピレン曝露による感覚鈍麻の発生機序の一端が明らかになった。紫蘇の成分、ペリルアルデヒドにもダイオキシン類の毒性に拮抗し、抗酸化作用があることを見出した。2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB 異性体、PCB188 は生体内で代謝されやすいことが明らかになった。妊娠期の TCDD 曝露により出生児に性未熟が生じるが、出生後の児の脳で双極性 GnRH ニューロンが選択的に減少しているのが確認された。また、強い毒性を有する TCDD に拮抗する化合物の候補、TFDD を 1 日 1 回投与しても胎児の下垂体ホルモン低下は抑制できず、今後の検証が必要である。

このように、ダイオキシン類の慢性影響、生体内動態、毒性機構、次世代への影響について明らかになりつつある。将来的に、油症の症状を緩和する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	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
	田中　義人	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課　課長
	梶原　淳睦	福岡県保健環境研究所	保健科学部長

研究要旨　2016 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653名で、50歳以上が全体の88.4%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 69.8%であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が 68.4%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。本研究では、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。2016 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 28-1 号平成 28 年 6 月 16 日承認）。

C．研究結果及び考察

受診者の内訳を表 1 に示す。2016 年度は、653 名（男性 311 名、女性 342 名）が受診し（油症外来での受診者は含まない）、認定者は 514 名（78.7%）（男性 256 名、女性 258 名）、未認定者は 139 名（21.3%）（男性 55 名、女性 84 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 歳以上が全体の 88.4%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（69.8%）、関節痛（62.6%）、しびれ感（62.1%）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（68.4%）、心電図（31.0%）、胸部レ線（22.0%）が高かった。

表 4 に皮膚科検診の集計結果を示す。皮

膚科所見は、問診項目においては、有を、他覚所見においては、＋、＋＋、＋＋＋を所見有とした。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 49.5%の受診者が訴えており、次いで、かつての色素沈着が 22.5%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（14.4%）、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 14.8%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 3.0%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 28.1%で、口腔所見は、近縁性歯周炎（42.4%）、歯肉炎（22.5%）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（18.8%）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、2016 年度は過去 4 番目の受診者数であった。

D．結論

2016 年度の油症検診受診者数は 653 名で、過去 4 番目に多い受診者数であり、50 歳以上が 88.4%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(69.8%)であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率（68.4%）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　2016 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	653	100.0	311	100.0	342	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	4	0.6	2	0.6	2	0.6
30 - 39 歳	13	2.0	5	1.6	8	2.3
40 - 49 歳	54	8.3	28	9.0	26	7.6
50 - 59 歳	131	20.1	65	20.9	66	19.3
60 - 69 歳	203	31.1	94	30.2	109	31.9
70 - 79 歳	148	22.7	67	21.5	81	23.7
80 - 89 歳	88	13.5	44	14.1	44	12.9
90 歳以上	7	1.1	3	1.0	4	1.2
認定	514	100.0	256	100.0	258	100.0
0 - 9 歳	-	-	-	-	-	-
10 - 19 歳	-	-	-	-	-	-
20 - 29 歳	-	-	-	-	-	-
30 - 39 歳	-	-	-	-	-	-
40 - 49 歳	35	6.8	20	7.8	15	5.8
50 - 59 歳	110	21.4	58	22.7	52	20.2
60 - 69 歳	177	34.4	84	32.8	93	36.0
70 - 79 歳	115	22.4	53	20.7	62	24.0
80 - 89 歳	70	13.6	38	14.8	32	12.4
90 歳以上	7	1.4	3	1.2	4	1.6
未認定	139	100.0	55	100.0	84	100.0
0 - 9 歳	2	1.4	1	1.8	1	1.2
10 - 19 歳	3	2.2	2	3.6	1	1.2
20 - 29 歳	4	2.9	2	3.6	2	2.4
30 - 39 歳	13	9.4	5	9.1	8	9.5
40 - 49 歳	19	13.7	8	14.5	11	13.1
50 - 59 歳	21	15.1	7	12.7	14	16.7
60 - 69 歳	26	18.7	10	18.2	16	19.0
70 - 79 歳	33	23.7	14	25.5	19	22.6
80 - 89 歳	18	12.9	6	10.9	12	14.3
90 歳以上	-	-	-	-	-	-

表２　2016 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	643	100.0	307	100.0	336	100.0	507	100.0	254	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	194	30.2	112	36.5	82	24.4	148	29.2	86	33.9	62	24.5	46	33.8	26	49.1	20	24.1
	有	449	69.8	195	63.5	254	75.6	359	70.8	168	66.1	191	75.5	90	66.2	27	50.9	63	75.9
頭重・頭痛	計	643	100.0	307	100.0	336	100.0	507	100.0	254	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	285	44.3	164	53.4	121	36.0	224	44.2	132	52.0	92	36.4	61	44.9	32	60.4	29	34.9
	有	358	55.7	143	46.6	215	64.0	283	55.8	122	48.0	161	63.6	75	55.1	21	39.6	54	65.1
咳嗽	計	643	100.0	307	100.0	336	100.0	507	100.0	254	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	348	54.1	167	54.4	181	53.9	266	52.5	130	51.2	136	53.8	82	60.3	37	69.8	45	54.2
	有	295	45.9	140	45.6	155	46.1	241	47.5	124	48.8	117	46.2	54	39.7	16	30.2	38	45.8
喀痰	計	643	100.0	307	100.0	336	100.0	507	100.0	254	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	345	53.7	151	49.2	194	57.7	267	52.7	121	47.6	146	57.7	78	57.4	30	56.6	48	57.8
	有	298	46.3	156	50.8	142	42.3	240	47.3	133	52.4	107	42.3	58	42.6	23	43.4	35	42.2
腹痛	計	643	100.0	307	100.0	336	100.0	507	100.0	254	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	431	67.0	214	69.7	217	64.6	337	66.5	175	68.9	162	64.0	94	69.1	39	73.6	55	66.3
	有	212	33.0	93	30.3	119	35.4	170	33.5	79	31.1	91	36.0	42	30.9	14	26.4	28	33.7
下痢	計	642	100.0	306	100.0	336	100.0	506	100.0	253	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	421	65.6	190	62.1	231	68.8	328	64.8	152	60.1	176	69.6	93	68.4	38	71.7	55	66.3
	有	221	34.4	116	37.9	105	31.3	178	35.2	101	39.9	77	30.4	43	31.6	15	28.3	28	33.7
便秘	計	642	100.0	306	100.0	336	100.0	506	100.0	253	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	368	57.3	192	62.7	176	52.4	294	58.1	159	62.8	135	53.4	74	54.4	33	62.3	41	49.4
	有	274	42.7	114	37.3	160	47.6	212	41.9	94	37.2	118	46.6	62	45.6	20	37.7	42	50.6
しびれ感	計	643	100.0	307	100.0	336	100.0	507	100.0	254	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	244	37.9	122	39.7	122	36.3	188	37.1	95	37.4	93	36.8	56	41.2	27	50.9	29	34.9
	有	399	62.1	185	60.3	214	63.7	319	62.9	159	62.6	160	63.2	80	58.8	26	49.1	54	65.1
関節痛	計	642	100.0	306	100.0	336	100.0	506	100.0	253	100.0	253	100.0	136	100.0	53	100.0	83	100.0
	無	240	37.4	131	42.8	109	32.4	180	35.6	100	39.5	80	31.6	60	44.1	31	58.5	29	34.9
	有	402	62.6	175	57.2	227	67.6	326	64.4	153	60.5	173	68.4	76	55.9	22	41.5	54	65.1
月経異常	計	174	100.0	3	100.0	171	100.0	128	100.0	2	100.0	126	100.0	46	100.0	1	100.0	45	100.0
	無	150	86.2	－	－	150	87.7	115	89.8	－	－	115	91.3	35	76.1	－	－	35	77.8
	有	24	13.8	3	100.0	21	12.3	13	10.2	2	100.0	11	8.7	11	23.9	1	100.0	10	22.2
その他	計	138	100.0	48	100.0	90	100.0	101	100.0	37	100.0	64	100.0	37	100.0	11	100.0	26	100.0
	無	90	65.2	32	66.7	58	64.4	68	67.3	23	62.2	45	70.3	22	59.5	9	81.8	13	50.0
	有	48	34.8	16	33.3	32	35.6	33	32.7	14	37.8	19	29.7	15	40.5	2	18.2	13	50.0

表３　2016 年度内科検診の他覚所見集計結果

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	%
栄養	計	628	100.0	302	100.0	326	100.0	493	100.0	249	100.0	244	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	無	548	87.3	268	88.7	280	85.9	432	87.6	220	88.4	212	86.9	116	85.9	48	90.6	68	82.9
	有	80	12.7	34	11.3	46	14.1	61	12.4	29	11.6	32	13.1	19	14.1	5	9.4	14	17.1
心音	計	623	100.0	298	100.0	325	100.0	489	100.0	245	100.0	244	100.0	134	100.0	53	100.0	81	100.0
	無	605	97.1	290	97.3	315	96.9	476	97.3	239	97.6	237	97.1	129	96.3	51	96.2	78	96.3
	有	18	2.9	8	2.7	10	3.1	13	2.7	6	2.4	7	2.9	5	3.7	2	3.8	3	3.7
呼吸音	計	625	100.0	299	100.0	326	100.0	490	100.0	246	100.0	244	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	無	622	99.5	297	99.3	325	99.7	488	99.6	245	99.6	243	99.6	134	99.3	52	98.1	82	100.0
	有	3	0.5	2	0.7	1	0.3	2	0.4	1	0.4	1	0.4	1	0.7	1	1.9	－	－
肝腫	計	602	100.0	283	100.0	319	100.0	473	100.0	234	100.0	239	100.0	129	100.0	49	100.0	80	100.0
	無	598	99.3	281	99.3	317	99.4	469	99.2	232	99.1	237	99.2	129	100.0	49	100.0	80	100.0
	有	4	0.7	2	0.7	2	0.6	4	0.8	2	0.9	2	0.8	－	－	－	－	－	－
脾腫	計	598	100.0	282	100.0	316	100.0	470	100.0	233	100.0	237	100.0	128	100.0	49	100.0	79	100.0
	無	598	100.0	282	100.0	316	100.0	470	100.0	233	100.0	237	100.0	128	100.0	49	100.0	79	100.0
	有	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
浮腫	計	619	100.0	296	100.0	323	100.0	486	100.0	244	100.0	242	100.0	133	100.0	52	100.0	81	100.0
	無	594	96.0	291	98.3	303	93.8	466	95.9	240	98.4	226	93.4	128	96.2	51	98.1	77	95.1
	有	25	4.0	5	1.7	20	6.2	20	4.1	4	1.6	16	6.6	5	3.8	1	1.9	4	4.9
リンパ節肥大	計	621	100.0	299	100.0	322	100.0	487	100.0	246	100.0	241	100.0	134	100.0	53	100.0	81	100.0
	無	614	98.9	298	99.7	316	98.1	480	98.6	245	99.6	235	97.5	134	100.0	53	100.0	81	100.0
	有	7	1.1	1	0.3	6	1.9	7	1.4	1	0.4	6	2.5	－	－	－	－	－	－
四肢けん反射	計	620	100.0	297	100.0	323	100.0	485	100.0	244	100.0	241	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	無	518	83.5	240	80.8	278	86.1	407	83.9	197	80.7	210	87.1	111	82.2	43	81.1	68	82.9
	有	102	16.5	57	19.2	45	13.9	78	16.1	47	19.3	31	12.9	24	17.8	10	18.9	14	17.1
感覚障害	計	608	100.0	290	100.0	318	100.0	480	100.0	241	100.0	239	100.0	128	100.0	49	100.0	79	100.0
	無	531	87.3	252	86.9	279	87.7	419	87.3	208	86.3	211	88.3	112	87.5	44	89.8	68	86.1
	有	77	12.7	38	13.1	39	12.3	61	12.7	33	13.7	28	11.7	16	12.5	5	10.2	11	13.9
胸部レ線	計	528	100.0	263	100.0	265	100.0	432	100.0	224	100.0	208	100.0	96	100.0	39	100.0	57	100.0
	無	412	78.0	209	79.5	203	76.6	336	77.8	177	79.0	159	76.4	76	79.2	32	82.1	44	77.2
	有	116	22.0	54	20.5	62	23.4	96	22.2	47	21.0	49	23.6	20	20.8	7	17.9	13	22.8
心電図	計	564	100.0	275	100.0	289	100.0	457	100.0	232	100.0	225	100.0	107	100.0	43	100.0	64	100.0
	無	389	69.0	176	64.0	213	73.7	315	68.9	149	64.2	166	73.8	74	69.2	27	62.8	47	73.4
	有	175	31.0	99	36.0	76	26.3	142	31.1	83	35.8	59	26.2	33	30.8	16	37.2	17	26.6
肝・胆・脾エコー	計	155	100.0	83	100.0	72	100.0	104	100.0	56	100.0	48	100.0	51	100.0	27	100.0	24	100.0
	無	49	31.6	20	24.1	29	40.3	32	30.8	13	23.2	19	39.6	17	33.3	7	25.9	10	41.7
	有	106	68.4	63	75.9	43	59.7	72	69.2	43	76.8	29	60.4	34	66.7	20	74.1	14	58.3

表４　2016 年度皮膚科検診集計結果

問診及び他覚所見		総数						認定						未認定					
		計		男性		女性		計		男性		女性		計		男性		女性	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
問診																			
最近の化膿傾向	計	632	100.0	302	100.0	330	100.0	494	100.0	248	100.0	246	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	541	85.6	254	84.1	287	87.0	422	85.4	208	83.9	214	87.0	119	86.2	46	85.2	73	86.9
	有	91	14.4	48	15.9	43	13.0	72	14.6	40	16.1	32	13.0	19	13.8	8	14.8	11	13.1
最近の粉りゅう再発傾向	計	632	100.0	303	100.0	329	100.0	494	100.0	249	100.0	245	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	531	84.0	252	83.2	279	84.8	415	84.0	207	83.1	208	84.9	116	84.1	45	83.3	71	84.5
	有	101	16.0	51	16.8	50	15.2	79	16.0	42	16.9	37	15.1	22	15.9	9	16.7	13	15.5
かつてのざ瘡様皮疹	計	632	100.0	302	100.0	330	100.0	494	100.0	248	100.0	246	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	319	50.5	157	52.0	162	49.1	244	49.4	128	51.6	116	47.2	75	54.3	29	53.7	46	54.8
	有	313	49.5	145	48.0	168	50.9	250	50.6	120	48.4	130	52.8	63	45.7	25	46.3	38	45.2
かつての色素沈着	計	630	100.0	301	100.0	329	100.0	492	100.0	247	100.0	245	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	488	77.5	237	78.7	251	76.3	376	76.4	193	78.1	183	74.7	112	81.2	44	81.5	68	81.0
	有	142	22.5	64	21.3	78	23.7	116	23.6	54	21.9	62	25.3	26	18.8	10	18.5	16	19.0
他覚所見																			
黒色面皰	計	633	100.0	303	100.0	330	100.0	495	100.0	249	100.0	246	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	542	85.6	257	84.8	285	86.4	426	86.1	214	85.9	212	86.2	116	84.1	43	79.6	73	86.9
	有	91	14.4	46	15.2	45	13.6	69	13.9	35	14.1	34	13.8	22	15.9	11	20.4	11	13.1
ざ瘡様皮疹	計	633	100.0	303	100.0	330	100.0	495	100.0	249	100.0	246	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	590	93.2	287	94.7	303	91.8	463	93.5	238	95.6	225	91.5	127	92.0	49	90.7	78	92.9
	有	43	6.8	16	5.3	27	8.2	32	6.5	11	4.4	21	8.5	11	8.0	5	9.3	6	7.1
瘢痕化	計	633	100.0	303	100.0	330	100.0	495	100.0	249	100.0	246	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	582	91.9	278	91.7	304	92.1	456	92.1	229	92.0	227	92.3	126	91.3	49	90.7	77	91.7
	有	51	8.1	25	8.3	26	7.9	39	7.9	20	8.0	19	7.7	12	8.7	5	9.3	7	8.3
色素沈着	計	633	100.0	303	100.0	330	100.0	495	100.0	249	100.0	246	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	607	95.9	296	97.7	311	94.2	477	96.4	243	97.6	234	95.1	130	94.2	53	98.1	77	91.7
	有	26	4.1	7	2.3	19	5.8	18	3.6	6	2.4	12	4.9	8	5.8	1	1.9	7	8.3
爪変形	計	633	100.0	303	100.0	330	100.0	495	100.0	249	100.0	246	100.0	138	100.0	54	100.0	84	100.0
	無	606	95.7	290	95.7	316	95.8	474	95.8	237	95.2	237	96.3	132	95.7	53	98.1	79	94.0
	有	27	4.3	13	4.3	14	4.2	21	4.2	12	4.8	9	3.7	6	4.3	1	1.9	5	6.0

表５　2016 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	300	100.0	327	100.0	492	100.0	247	100.0	245	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	無	534	85.2	258	86.0	276	84.4	414	84.1	207	83.8	207	84.5	120	88.9	51	96.2	69	84.1
	有	93	14.8	42	14.0	51	15.6	78	15.9	40	16.2	38	15.5	15	11.1	2	3.8	13	15.9
他覚所見																			
眼瞼浮腫	計	627	100.0	300	100.0	327	100.0	492	100.0	247	100.0	245	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	無	614	97.9	295	98.3	319	97.6	480	97.6	242	98.0	238	97.1	134	99.3	53	100.0	81	98.8
	有	13	2.1	5	1.7	8	2.4	12	2.4	5	2.0	7	2.9	1	0.7	－	－	1	1.2
眼瞼結膜色素沈着	計	627	100.0	300	100.0	327	100.0	492	100.0	247	100.0	245	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	無	612	97.6	294	98.0	318	97.2	478	97.2	242	98.0	236	96.3	134	99.3	52	98.1	82	100.0
	有	15	2.4	6	2.0	9	2.8	14	2.8	5	2.0	9	3.7	1	0.7	1	1.9	－	－
瞼板腺嚢胞形成	計	627	100.0	300	100.0	327	100.0	492	100.0	247	100.0	245	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	無	608	97.0	290	96.7	318	97.2	477	97.0	239	96.8	238	97.1	131	97.0	51	96.2	80	97.6
	有	19	3.0	10	3.3	9	2.8	15	3.0	8	3.2	7	2.9	4	3.0	2	3.8	2	2.4
瞼板腺チーズ様分泌	計	627	100.0	300	100.0	327	100.0	492	100.0	247	100.0	245	100.0	135	100.0	53	100.0	82	100.0
物圧出	無	622	99.2	297	99.0	325	99.4	487	99.0	244	98.8	243	99.2	135	100.0	53	100.0	82	100.0
	有	5	0.8	3	1.0	2	0.6	5	1.0	3	1.2	2	0.8	－	－	－	－	－	－

表６　2016 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	366	100.0	191	100.0	175	100.0	276	100.0	152	100.0	124	100.0	90	100.0	39	100.0	51	100.0
	無	263	71.9	151	79.1	112	64.0	200	72.5	121	79.6	79	63.7	63	70.0	30	76.9	33	64.7
	有	103	28.1	40	20.9	63	36.0	76	27.5	31	20.4	45	36.3	27	30.0	9	23.1	18	35.3
口腔所見																			
歯肉炎	計	347	100.0	185	100.0	162	100.0	261	100.0	146	100.0	115	100.0	86	100.0	39	100.0	47	100.0
	無	269	77.5	143	77.3	126	77.8	204	78.2	115	78.8	89	77.4	65	75.6	28	71.8	37	78.7
	有	78	22.5	42	22.7	36	22.2	57	21.8	31	21.2	26	22.6	21	24.4	11	28.2	10	21.3
近縁性歯周炎	計	347	100.0	185	100.0	162	100.0	261	100.0	146	100.0	115	100.0	86	100.0	39	100.0	47	100.0
	無	200	57.6	90	48.6	110	67.9	139	53.3	64	43.8	75	65.2	61	70.9	26	66.7	35	74.5
	有	147	42.4	95	51.4	52	32.1	122	46.7	82	56.2	40	34.8	25	29.1	13	33.3	12	25.5
歯牙萌出異常	計	346	100.0	185	100.0	161	100.0	261	100.0	146	100.0	115	100.0	85	100.0	39	100.0	46	100.0
	無	346	100.0	185	100.0	161	100.0	261	100.0	146	100.0	115	100.0	85	100.0	39	100.0	46	100.0
	有	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
歯牙着色	計	346	100.0	185	100.0	161	100.0	261	100.0	146	100.0	115	100.0	85	100.0	39	100.0	46	100.0
	無	341	98.6	182	98.4	159	98.8	257	98.5	144	98.6	113	98.3	84	98.8	38	97.4	46	100.0
	有	5	1.4	3	1.6	2	1.2	4	1.5	2	1.4	2	1.7	1	1.2	1	2.6	−	−
歯牙形成不全	計	346	100.0	185	100.0	161	100.0	261	100.0	146	100.0	115	100.0	85	100.0	39	100.0	46	100.0
	無	343	99.1	184	99.5	159	98.8	259	99.2	145	99.3	114	99.1	84	98.8	39	100.0	45	97.8
	有	3	0.9	1	0.5	2	1.2	2	0.8	1	0.7	1	0.9	1	1.2	−	−	1	2.2
咬合異常	計	341	100.0	183	100.0	158	100.0	256	100.0	144	100.0	112	100.0	85	100.0	39	100.0	46	100.0
	無	330	96.8	178	97.3	152	96.2	249	97.3	140	97.2	109	97.3	81	95.3	38	97.4	43	93.5
	有	11	3.2	5	2.7	6	3.8	7	2.7	4	2.8	3	2.7	4	4.7	1	2.6	3	6.5
その他	計	341	100.0	183	100.0	158	100.0	256	100.0	144	100.0	112	100.0	85	100.0	39	100.0	46	100.0
	無	317	93.0	172	94.0	145	91.8	236	92.2	136	94.4	100	89.3	81	95.3	36	92.3	45	97.8
	有	24	7.0	11	6.0	13	8.2	20	7.8	8	5.6	12	10.7	4	4.7	3	7.7	1	2.2
色素沈着所見																			
歯肉	計	346	100.0	184	100.0	162	100.0	260	100.0	145	100.0	115	100.0	86	100.0	39	100.0	47	100.0
	無	281	81.2	151	82.1	130	80.2	210	80.8	118	81.4	92	80.0	71	82.6	33	84.6	38	80.9
	有	65	18.8	33	17.9	32	19.8	50	19.2	27	18.6	23	20.0	15	17.4	6	15.4	9	19.1
頬粘膜	計	347	100.0	185	100.0	162	100.0	261	100.0	146	100.0	115	100.0	86	100.0	39	100.0	47	100.0
	無	321	92.5	164	88.6	157	96.9	238	91.2	127	87.0	111	96.5	83	96.5	37	94.9	46	97.9
	有	26	7.5	21	11.4	5	3.1	23	8.8	19	13.0	4	3.5	3	3.5	2	5.1	1	2.1
口蓋粘膜	計	346	100.0	185	100.0	161	100.0	260	100.0	146	100.0	114	100.0	86	100.0	39	100.0	47	100.0
	無	340	98.3	182	98.4	158	98.1	255	98.1	143	97.9	112	98.2	85	98.8	39	100.0	46	97.9
	有	6	1.7	3	1.6	3	1.9	5	1.9	3	2.1	2	1.8	1	1.2	−	−	1	2.1
口唇粘膜	計	345	100.0	184	100.0	161	100.0	259	100.0	145	100.0	114	100.0	86	100.0	39	100.0	47	100.0
	無	323	93.6	175	95.1	148	91.9	241	93.1	137	94.5	104	91.2	82	95.3	38	97.4	44	93.6
	有	22	6.4	9	4.9	13	8.1	18	6.9	8	5.5	10	8.8	4	4.7	1	2.6	3	6.4

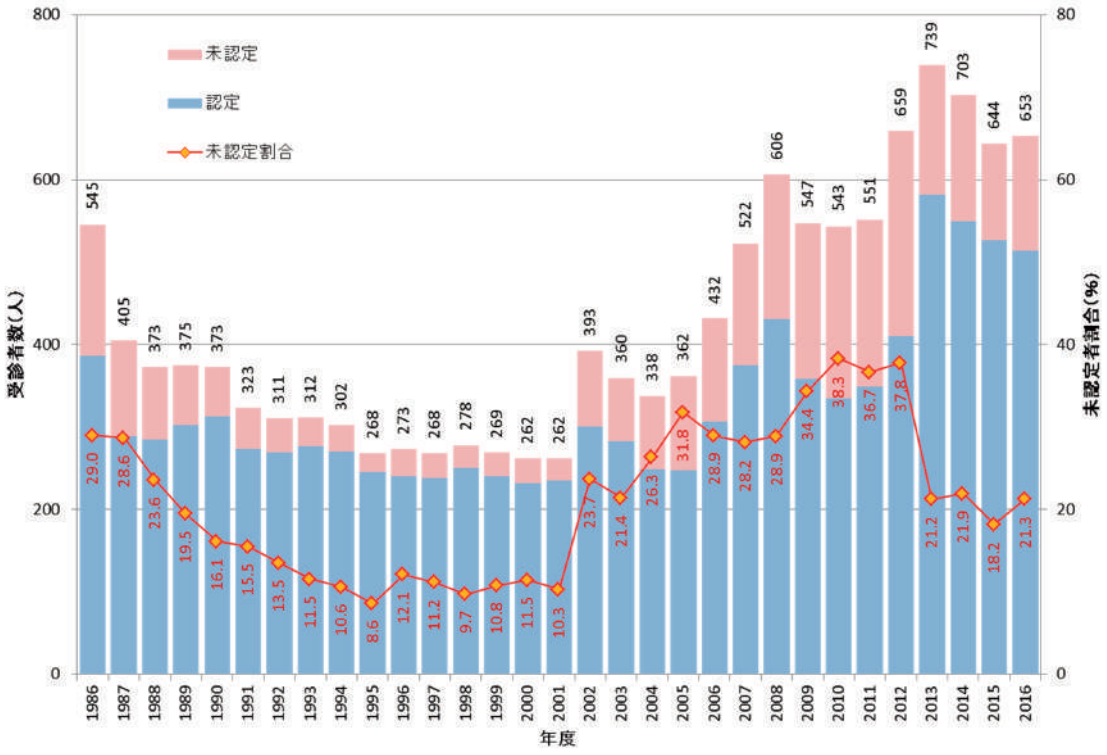


図１　油症検診受診者の年度別推移

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

研究分担者　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 29 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 29 年度の油症検診が下記の通り行われた。
8 月 19 日福岡会場・受診者数 63 名（うち患者 52 名・未認定者 11 名）、8 月 24 日北九州会場・受診者 44 名（うち患者 39 名・未認定者 5 名）、8 月 30 日北九州会場・受診者 28 名（うち患者 23 名・未認定者 5 名）、9 月 2 日会場福岡会場・受診者 70 名（うち患者 57 名・未認定者 13 名）、9 月 6 日北九州会場・受診者 34 名（うち患者 32 名・未認定者 2 名）。受診者合計は 239 名（うち患者 203 名・未認定者 36 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 239 名であり、前年度よりも 16 名多かった。

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、油症患者における黄斑疾患の進行について調査した。昨年度黄斑疾患のなかった対象者で新たに黄斑疾患を生じた受診者はいなかった。また、昨年度加齢黄斑変性等の黄斑疾患を有していた対象者で黄斑疾患が進行した受診者はいなかった。今回の調査で油症患者において黄斑疾患が進行しやすいという結果は得られなかった。

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。油症患者における黄斑疾患の進行を検討するため、油症患者における黄斑形態の 1 年間における変化を調査した。

B. 研究方法

長崎県油症検診の 3 地区すなわち、玉之浦、奈留、長崎地区において 2016 年度油症検診の眼科部門を受診し、黄斑形態の評価が可能で、血中 PeCDF 濃度が得られ、さらに 2017 年度にも黄斑形態の評価が可能だったを 143 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。対象者における黄斑形態の変化を調査した。

（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 72 人、女性 71 人で、年齢は中央値 67 歳（18～89 歳）であった。加齢黄斑変性は 2 人（1.4%）2 眼にみとめ、どちらも滲出型ですでに治療中であり、1 年間で 1 眼は改善し 1 眼は変化なかった。片眼または両眼に黄斑の形態異常を認めたものは 8 人（5.6%）11 眼で、内訳は、加齢黄斑変性 2 眼、網膜色素上皮不整 3 眼、網膜色素上皮剥離 1 眼、脈絡膜陥凹 1 眼、嚢胞様黄斑浮腫 2 眼、黄斑上膜 2 眼であった。いずれも 1 年間で悪化は無かった。2016 年度に黄斑形態異常がなかった 135 人において 1 年間で黄斑形態異常が生じた症例はなかった。

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 143 人中 2 人（1.4% ）に加齢黄斑変性を認め、これまでの報告と同様であった。

加齢黄斑変性を示した２症例はすでに治療中で悪化したものはなかった。また黄斑形態異常がなかった症例のうち 1 年間で黄斑形態異常を生じた症例はなかった。

今回の調査で油症患者において加齢黄斑変性を含む黄斑形態異常が進行しやすいという結果は得られなかった。黄斑疾患の進行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、1 年間での黄斑疾患の悪化および発生はなかった。

F. 研究発表　なし

G. 知的財産権の出願・登録状況　なし

参考文献

1) 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

分担研究報告書

油症患者における口腔細菌数に関する検討

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　油症患者の高齢化に従い、今後、歯性感染症や誤嚥性肺炎の発症が増加することが予想される。歯性感染症や誤嚥性肺炎には口腔内細菌叢が関与している。今回は、口腔細菌数を調べるため細菌数計測器を用いて研究を行った。長崎県地区における油症の認定者と未認定者を対象に、歯科検診時に任意に選んだ患者について測定し検討を行った。今回の結果では、測定値は $5.21x10^5$　から $6.23x\ 10^7$ とばらつきはみられた。測定値に関しては地域間で差がみられたが、や認定者未認定者間に有意な差は認められなかった。

A．研究目的

油症患者における口腔領域の症状として、歯肉および口腔粘膜の色素沈着が主症状として挙げられるが、その他、口腔乾燥症や歯周疾患を訴える患者もしばしばみられる。これまで、口腔乾燥や口腔カンジダに関する検討を行ってきたが、一部には口腔清掃状態不良の患者が認められる。油症発症から年月が経ち、油症患者の高齢化もめだつようになってきた。歯性感染症や誤嚥性肺炎は、基礎疾患など宿主側の因子も重要であるが、口腔清掃状態や口腔細菌叢などの因子も重要な役割をはたす。これまでに油症地区における口腔清掃状態や口腔細菌に関する研究はほとんどみられない。本研究では、長崎県油症検診において口腔細菌数を測定し各種の臨床因子との比較を目的に検討を行った。

B．研究方法

平成 29 年度長崎県地域における油症検診において、通常の歯科検診を行うことのできた患者の中からをランダムに測定する患者を選んだ。その際、義歯装着の有無、口腔乾燥、その他口腔内で気になる事項について問診を行った。測定は、細菌カウンターを用いて舌背を綿棒で拭い、測定した。

（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

平成 29 年度長崎県油症検診で歯科検診を行った患者を対象者とした。 内訳は長崎地区 39 名、五島玉之浦地区 13 名、五島奈留地区 10 名の計 62 名であった。性別では男性 27 名、女性 35 名であった。年齢別では 18 歳から 88 歳で平均 64.5 歳であった。対象者全員の測定値は $5.2x10^5$　から　$6.2x\ 10^7$ で、平均値は $9.5x10^6$ であった。地域別では、長崎地区 $7.4\ x10^6$、玉之浦地区 $17.4\ x10^6$、奈留地区 $7.5x10^6$ で地区別では玉之浦地区の値が高かった。また、年齢別別では 18 歳から 63 歳では、平均 9.9×10^6　で、65 歳から 88 歳の平均値は $9.2\ x10^5$ で、有意差は認められなかった。性別では男性 $6.0x10^6$、女性 $9.5\ x10^6$ で男女間の有意差はみられなかった。油症の認定および未認定別では、認定者が 38 名で未認定者が 24 名であった。測定値は認定者 $8.7\ x10^6$、未認定者 $10.7\ x10^6$ であった。義歯装着の有無では、義歯装着者が $8.5\ x10^6$、未装着者が $9.8\ x10^6$ で,両者間

に有意差はみられなかった。

D．考察

油症発症当時から、歯科口腔外科的症状として、口腔粘膜色素沈着、口腔乾燥症、歯周疾患などがあげられている。これまで、口腔湿潤測定器ムーカスを用いて口腔乾燥状態を調べた。さらに一部の患者で舌苔がみられたためカンジダ簡易測定キットを用いてカンジダの検出を行い口腔乾燥との関係について検討してきた。それらを検討していくなかで、今後、患者の高齢化が進むため口腔ケアについて検討する必要があると考えた。そのため、まずは油症地区における患者の口腔細菌数を調べることにした。

今回、細菌カウンターを用いて計測を行ったが、これまで同機器を用いて周術期の細菌数の変化と術野の治癒具合の相関性、誤嚥性肺炎との相関性について検討し、細菌数の変化をみることは有効であることを確認している。

今回の研究結果では、地域間での差がみられた以外、測定値に有意な差はみられなかった。症例はランダムに選んだが、集団検診時の都合上、口腔清掃状態について客観的評価することが困難であった。今後は口腔清掃状態の検討が必要であると思われる。

血中の PCB 濃度と口腔細菌数が相関していることは考えにくいが、油症患者の高齢化や、都市部に比べると離島で歯科治療が受けにくいことを考えれば、油症地区における口腔ケアと口腔細菌について調べておことは有益であると思われるし今後口腔清掃指導にもつながるものと思われる。

今後は、油症患者における複数年度での計測、糖尿病などの全身疾患との関わりなどについても検討していく予定である。

E．結論

油症患者における口腔細菌数を客観的に評価するために細菌カウンターを用いて検討をおこなった。地域間で差がみられたが、性別、年齢、認定未認定で有意差は認められなかった。

F．研究発表

学会発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

なし

分担研究報告書

油症患者における運動機能評価

研究分担者　福士純一　九州大学大学院医学研究院
人工関節・生体材料学講座　准教授
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、運動機能を評価した。ロコチェック質問票を用いた問診、ファンクショナルリーチテスト、および４ｍ歩行に要する時間を計測した。51％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、ファンクショナルリーチおよび４ｍ歩行時間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運動器機能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、ロコモの合併について聴取確認した。身体所見として、身長、体重に加えて、体組成計を用いて筋肉量、脂肪量を計測した。運動機能評価として、ファンクショナルリーチテストおよび４ｍ歩行に要する時間を測定した。

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。

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（認定者 58 名,89%）、女性 77 名（認定者 57 名、74%）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。

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。転倒リスクが高くなるとされる、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は、該当数は男女とも年齢と正の、ダイオキシン類濃度では、1,2,3,6,7,8-HxCDD,3,3’,4,4’,5,-PeCB(#126),3,3’,4,4’,5,5’-HxCB(#169)と正の関連を認めた。女性では筋肉量と負の関連を認めた。年齢、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、年齢および筋肉量のみに有意な関連を認めた。

ファンクショナルリーチに関連する因子を表３に示す。単変量の解析においては、年齢と負の、身長、筋肉量と正の関連を認め、複数のダイオキシン類濃度と負の関連を認めた。上記で調整した多変量での解析を行うと、女性においてのみ身長と有意な正の関連を認めた（p = 0.0002)。

４ｍ歩行時間に関連する因子を表４に示す。単変量の解析では、男性では身長のみ有意に負の関連を認めた。女性は年齢および複数のダイオキシンと負の関連を認めた。年齢、身長およびダイオキシン類濃度を用いた多変量の解析では、有意な関連を認めなかった。

D. 考察

ダイオキシン類が運動器に及ぼす影響については、不明な点が多い。骨粗鬆症におよぼす影響について、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)。今回は転倒・骨折と関連する運動機能として、ロコチェック、ファンクショナルリーチ、４ｍ歩行速度を評価したが、ダイオキシン類濃度との明らかな関連は認めなかった。

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報告されている(Iizuka, 2014)。ダイオキシン類濃度との関連は認めないものの、転倒リスクが高くなるとされる該当数が４以上の受診者(Akahane, 2016)は 15%も存在しており、転倒および骨折の発生に注意すべきである。

ファンクショナルリーチテストは、動的バランスを簡便に評価できる方法で、立位において前方へどれだけ手を伸ばすことができるかを測定するものである。リーチの低下は、転倒し

やすさと関連することが報告されている（Alenazi, 2017)。また歩行速度は文字通りの歩行機能の評価であるが、生命予後と関連していることが知られてる（Studenski, 2011)。いずれの評価もダイオキシン類濃度との関連は認めなかったが、健診受診者の高齢化は進んでおり、今後の運動機能の低下に注意を要すると思われる。

E. 結論

ロコチェック該当数、ファンクショナルリーチおよび４ｍ歩行に要する時間と、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

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.

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.

Alenazi AM, et al. 2017. Functional Reach, Depression Scores and Number of Medications are Associated with Number of Falls in People with Chronic Stroke. PM R. doi: 10.1016/j.pmrj.2017.12.005.

Studenski S, et al. Gait speed and survival in older adults. JAMA. 2010;305(1):50-58

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：単変量

	男性				女性			
vs. 変数	相関	下側95%	上側95%	p値	相関	下側95%	上側95%	p値
年齢	0.3925	0.1644	0.5808	0.0012	0.4675	0.272	0.6259	<.0001
筋肉量（kg）	−0.0073	−0.2507	0.237	0.9541	−0.274	−0.4692	−0.0533	0.0159
体脂肪率（%）	0.1162	−0.1314	0.3502	0.3565	0.0941	−0.1326	0.3115	0.4154
BMI	0.1335	−0.1141	0.3655	0.289	0.1723	−0.0537	0.3816	0.1339
Log[2,3,4,7,8−PeCDF]	0.3532	0.1197	0.5498	0.0039	0.2211	−0.0046	0.4253	0.055
Log[1,2,3,6,7,8,−HxCDD]	0.3039	0.0649	0.51	0.0138	0.3146	0.096	0.5043	0.0056
Log[1,2,3,4,6,7,8−HpCDD]	0.2233	−0.0217	0.4431	0.0737	0.1079	−0.1205	0.3254	0.3536
Log[2,3,4,7,8−PeCDF]	0.187	−0.0596	0.4121	0.1357	0.1877	−0.0394	0.3964	0.1045
Log[3,3’,4,4’,5−PeCB(#126)]	0.3853	0.1561	0.5751	0.0015	0.2423	0.0163	0.4448	0.0362
Log[3,3’,4,4’,5,5’−HxCB(#169)	0.2504	0.0069	0.4658	0.0443	0.2523	0.0285	0.4521	0.0279
Total 06−TEQ	0.2313	−0.0388	0.47	0.0924	0.2105	−0.0257	0.4245	0.0802

表3：ファンクショナルリーチとの関連：単変量

	男性				女性			
vs. 変数	相関	下側95%	上側95%	p値	相関	下側95%	上側95%	p値
年齢	−0.3286	−0.533	−0.088	0.0086	−0.5238	−0.6719	−0.3355	<.0001
身長	0.4407	0.2166	0.6207	0.0003	0.6292	0.468	0.7499	<.0001
筋肉量（kg）	0.3483	0.1101	0.5487	0.0051	0.3951	0.1832	0.572	0.0005
体脂肪率（%）	−0.0608	−0.304	0.1898	0.6359	−0.0188	−0.2462	0.2106	0.874
Log[2,3,4,7,8-PeCDF]	−0.2565	−0.4741	−0.0093	0.0425	−0.2609	−0.4631	−0.0328	0.0258
Log[1,2,3,6,7,8,-HxCDD]	−0.2786	−0.4924	−0.0331	0.027	−0.365	−0.549	−0.1473	0.0015
Log[1,2,3,4,6,7,8-HpCDD]	−0.3509	−0.5507	−0.1129	0.0048	−0.0701	−0.2954	0.1626	0.5557
Log[2,3,4,7,8-PeCDF]	−0.3566	−0.5553	−0.1194	0.0041	−0.342	−0.5303	−0.1215	0.0031
Log[3,3’,4,4’,5-PeCB(#126)]	−0.4408	−0.6208	−0.2168	0.0003	−0.2889	−0.4879	−0.0613	0.0139
Log[3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)]	−0.3151	−0.5221	−0.073	0.0119	−0.3283	−0.5192	−0.1063	0.0046
Total 06-TEQ	−0.4297	−0.6288	−0.1776	0.0015	−0.2325	−0.4477	0.0081	0.0583

表4：4M歩行時間との関連：単変量

	男性				女性			
vs. 変数	相関	下側95%	上側95%	p値	相関	下側95%	上側95%	p値
年齢	0.2102	−0.0375	0.4336	0.0954	0.2291	0.0023	0.4335	0.048
身長	−0.3065	−0.5136	−0.0656	0.0138	−0.2063	−0.4139	0.0217	0.0758
筋肉量（kg）	−0.1209	−0.3561	0.1287	0.3412	−0.1418	−0.3573	0.088	0.2248
体脂肪率（%）	0.1614	−0.0879	0.3917	0.2027	0.1106	−0.1194	0.3293	0.345
Log[2,3,4,7,8-PeCDF]	0.0874	−0.1619	0.3262	0.4924	0.1267	−0.1049	0.3452	0.2822
Log[1,2,3,6,7,8,-HxCDD]	0.1184	−0.1313	0.3539	0.3515	0.2425	0.0148	0.4462	0.0374
Log[1,2,3,4,6,7,8-HpCDD]	0.1796	−0.0693	0.4074	0.1557	0.1658	−0.0651	0.3799	0.158
Log[2,3,4,7,8-PeCDF]	0.1557	−0.0936	0.3867	0.2191	0.2486	0.0213	0.4514	0.0327
Log[3,3’,4,4’,5-PeCB(#126)]	0.1856	−0.0631	0.4126	0.1421	0.1342	−0.0989	0.3534	0.2576
Log[3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)]	0.1311	−0.1186	0.3651	0.302	0.0741	−0.157	0.2976	0.5302
Total 06-TEQ	0.0721	−0.2021	0.3359	0.6079	0.3665	0.1403	0.5563	0.0021

分担研究報告書

油症における末梢血リンパ球亜集団に関する研究

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　2017 年度福岡県油症一斉検診を受診した 239 例において末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 PCB 濃度との関連について検討した。同居家族を含む油症患者では対照者に比較し CD8 陽性細胞の有意の低下を認め、油症における CD8 陽性細胞に対する慢性的影響が示唆された。CD4 陽性細胞は対照者に比較し油症患者に高い傾向を認めたが、差をみなかった。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞の間に相関をみなかった。また、CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞胞は血中 PCB 濃度 1.5 ppb 未満の PCB 低濃度群と血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上の PCB 高濃度群の間に差をみなかった。

A．研究目的

1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル（PCB）混入ライスオイル摂取により北部九州を中心に発生した油症では、原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン（PCDF）の毒性影響が大きいと考えられる [1]。PCDF は、狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン（PCDD）およびコプラナーPCB とともにダイオキシン類と総称され、これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体（Ah 受容体）を介すると考えられているが、その機構の詳細は未だ不明である [2]。油症発生以来 49 年が経過し種々の症状は軽快しているが、重症例においては体内の PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ、慢性中毒に移行していると推定される [3]。2001 年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され、油症患者では未だに血中 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 [5][6]。

油症における免疫機能影響については、1996 年度福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認め油症患者における免疫機能の障害が推測された [7]。そして、1997 年度の福岡県油症一斉検診において免疫グロブリン IgA、IgG、IgMのいずれか１分画以上の上昇を 40.0%に、自己抗体では抗核抗体を 45.6%と高率に認め、油症において液性免疫の障害を高頻度に認めることが報告されている [8]。

今回は、2017 年度福岡県油症一斉検診において細胞性免疫機能検査として末梢血リンパ球亜集団を測定し、PCB の細胞性免疫に対する慢性的影響について検討した。

B．研究方法

2017 年度福岡県油症一斉検診の受診者 239 例中、細胞性免疫検査にアンケートにて同意が得られた 239 例を対象者とした。

リンパ球亜集団の測定は抗ヒトマウスモノクローナル抗体を用いフローサイトメトリー法により、helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞および suppressor/

cytotoxic T 細胞を示す CD8 陽性細胞を T4-FITC および T8-RD1(ベックマン・コールター(株))を用いて BD FACSCanto Ⅱ フローサイトメーター(BD Biosciences)にて測定した. リンパ球亜集団は、総リンパ球に対する比率で表した。

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 2017 年度福岡県油症一斉検診において測定した 239 例の測定値を用い、CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞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検定で行なった。

C．研究結果

2017 年度福岡県油症一斉検診を受診し、細胞性免疫検査に同意が得られた 239 例の内訳は女性 141 例、男性 98 例で、平均年齢は 64.8±13.6 (17－93) 歳であり、油症患者 177 例、油症患者 (同居家族) 26 例、未認定患者 32 例、経過観察者 4 例であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関 (r=0.5888, P＜0.001) を認めた。

2017 年度福岡県油症一斉検診の受診者 239 例について血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球亜集団の相関について検討した。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞 (r=-0.0443) および CD8 陽性細胞 (r=0.0346) の間に相関をみなかった。同居家族を含む油症患者 203 例について観察者を含む未認定患者 36 例を対照者として、両群間の CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞胞について検討を行なった (表 1)。油症患者の平均血中 PCB 濃度は 1.76±0.93ppb、対照者の平均血中 PCB 濃度は 1.43±0.61ppb であった。CD4 陽性細胞は対照者 44.0±8.9%に比べ油症患者では 46.8±9.2%と高い傾向を認めたが、差をみなかった。CD8 陽性細胞は対照者 33.6±8.0%に対し油症患者では 30.1±8.2%と有意の低下を認めた (P＜0.05)。

2017 年度福岡県油症一斉検診受診した 239 例について血中 PCB 濃度 1.5 ppb 未満の 196 例を PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上の 43 例を PCB 高濃度群として、CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞について検討した (表 2)。PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 0.72±0.41ppb、PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 2.28±1.06ppb であった。CD4 陽性細胞は PCB 低濃度群 46.5±9.1%に対し PCB 高濃度群 45.7±9.8%、CD8 陽性細胞は PCB 低濃度群 30.2±7.9%に対し PCB 高濃度群 32.2±9.8%と両群間に差をみなかった。

D．考察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されている。油症発症 28 年後の 1996 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者の甲状腺機能検査において、甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0 ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかったが、抗サイログロブリン抗体を PCB 高濃度群の 41 例中 8 例 (19.5%) と PCB 低濃度群の 40 例中 1 例 (2.5%) に比べ高頻度に認めた [7]。そして、1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか１分画以上の上昇を 40.0%に、自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9%に、抗核抗体を 45.6%と高率に認め、油症における液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された [8]。さらに、2007 年度福岡県油症一斉検診において、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran(PeCDF)濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に有意

の相関を、抗核抗体を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に有意に高頻度に認め、油症における免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現に PCDF が関与している可能性が考えられ、液性免疫に対する PCDF の慢性的影響が示唆された[9]。

油症におけるリンパ球亜集団への影響については 2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 156 例において末梢血リンパ球亜集団と血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の関連が報告されている[10]。血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関がみられなかったが、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数、CD4 陽性細胞の間に相関が認められ油症患者の末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞の増加に 2,3,4,7,8-PeCDF の関与が示唆された。また、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者において低値の患者に比べ末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞の増加を認めた。

今回の検討では同居家族を含む油症患者において観察者を含む未認定患者の対照者に比較し CD8 陽性細胞の有意の低下を認め、油症における CD8 陽性細胞に対する慢性的影響が示唆された。CD4 陽性細胞は対照者に比較し油症患者に多い傾向を認めたが、差はみられなかった。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞の間に相関はみられなかった。また、2017 年度福岡県油症一斉検診受診者 239 例について血中 PCB 濃度 1.5 ppb 未満を PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.5 ppb 以上を PCB 高濃度群として、両群間の CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞胞について検討し、CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞は両群間に差は認められなかった。

油症発生 49 年後の 2017 年度福岡県油症一斉検診受診者 239 例におけるリンパ球亜集団の検討において油症患者において CD8 陽性細胞の低下を認めたが、油症におけるリンパ球亜集団に対する慢性的影響の機序は不明である。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 49 年が経過しているが、2017 年度福岡県油症一斉検診受診者 239 例のリンパ球亜集団の検討において油症患者において CD8 陽性細胞の低下を認め、油症におけるリンパ球亜集団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，原口浩一，古野純典：油症患者における PCB 異性体の 30 年にわたる特異な残留.福岡医誌 94:136-143, 2003.
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）．福岡医誌 94：126-135，2003.
5. Rier SE,Martin DC,Bowman RE,Dmowski WP and Becker JL : Endometriosis in rhesus monkeys (Macaca mulatta) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin.Fundam.Appl.Toxicol.21:433-441, 1993.
6. Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T,

Kitagawa H, Yamamoto Y, Nohara K, Tohyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y, Kato S : Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. Nature 423 : 545-550, 2003.
7. 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. 福岡医誌 88 : 231-235, 1997.
8. 辻 博, 平橋高明, 緒方久修, 藤島正敏 : 油症患者における免疫機能の検討. 福岡医誌 90 : 147-149, 1999.
9. 辻 博 : 油症患者における免疫機能の検討. 熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究 平成 19 年度総括・分担研究報告書 37-39, 2008.
10. 辻 博 : 油症における末梢血リンパ球亜集団の検討. 福岡医誌 100:131-135, 2009.

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. 福岡医学雑誌 106 : 119-123, 2015.

辻 博, 蓮尾裕 : 油症における甲状腺機能の検討. 福岡医学雑誌 108 : 111-117, 2017.

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者におけるリンパ球亜集団

		Yusho	Controls
No.		203	36
CD4 陽性細胞	(%)	46.8±9.2	44.0±8.9
CD8 陽性細胞	(%)	30.1±8.2*	33.6±8.0

* P<0.05 vs. Controls.

表２　血中 PCB 低濃度群および高濃度群におけるリンパ球亜集団

		PCB 濃度	
		＜1.5 ppb	≧1.5 ppb
No.		196	43
CD4 陽性細胞	(%)	46.5±9.1	45.7±9.8
CD8 陽性細胞	(%)	30.2±7.9	32.2±9.8

分担研究報告書

長崎県油症認定患者におけるセマフォリン3A（Sema3A）の検討

研究分担者　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　郡家佑美　　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
油症発生当初より、油症患者は四肢のしびれや感覚低下などの末梢神経症状を呈することが知られているが、半世紀経過した今でもその有病率は正常群より高い。しかしダイオキシン類が末梢神経へ影響を与えるメカニズムについては未だ明らかになっていない。本年度は、神経軸索ガイダンスなど生体内で様々な情報伝達を担うタンパク質であるセマフォリンのうち、脊椎動物の表皮神経系発達の調節に関わるセマフォリン3A (Sema3A)について解析し、認定患者（N=30）と健常人（N=30）で比較、検討した。その結果、油症患者では有意に高値であった(p=0.00357)。この値とダイオキシン濃度との間には PCQ のみに有意な相関を認めた。Sema3A は神経系への影響のみならず、免疫調節機構への関与も報告されており、油症患者へ何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。

A. 研究目的

油症発生から 49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]。

セマフォリンは神経軸索ガイダンスなど生体内で様々な情報伝達を担うタンパク質である。構造の違いにより Sema1 から Sema8 まで 8 種類のサブファミリーに分かれており、Sema3 ファミリー(Sema3A～3G)は脊椎動物の神経系形成に関わっている。中でもセマフォリン 3A(Sema3A)は表皮神経発達の調節を担っており、アトピー性皮膚炎患者では表皮ケラチノサイトでの Sema3A 発現が減少することが報告されている[2]。一方で、関節リウマチ患者血清において sema3A が有意に減少するとされる報告があり[3]、Sema3 ファミリーは何らかの形で免疫調節機構に関与している可能性が指摘されている。また、マウスの脳において、TCDD 添加による *Sema3b* mRNA の増加が報告され[4]、ダイオキシンによる Sema3 ファミリーの調節異常の可能性が示唆されている。我々はこれまで、油症患者における免疫調節機能に異常が存在する可能性を検討報告しており、油症患者において Sema3A が何らかの関与を及ぼしているのではないかと考えた。また、油症患者の中に、末梢神経のしびれや異常感覚を主訴とする患者が一定数存在していることから、Sema3A が油症患者で変動している可能性も考慮した。そこで、我々は、油症患者血清中の Sema3A 濃度について検討を行った。

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 30 名および年齢を合わせた健常人 30 名を対象とした。検診時に採血を行い、凍結保存し Sema3A 測定用サンプルとした。

②Sema3A の測定：ヒト Sema3AELISA キット (MyBioSource 社製)を用いてサンプル血清中の Sema3A を測定した。

③Sema3A 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。

④統計処理： 油症認定患者と健常人における Sema3A 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 Sema3A 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）30 名、および健常人（CON）30 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 Sema3A の比較を図1に示す。油症患者では有意に高値(P=0.0357)となった。また、認定患者における Sema3A 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、PCQ との間に有意な相関を認めた（図2)。

D. 考察

今回の結果は予想に反し、油症患者において血清 Sema3A が増加していた。詳細な原因は不明であるが、末梢神経などに生じた炎症のため代償的に Sema3A が上昇している可能性がある。

一方で、セマフォリンの主な受容体として plexin ファミリーと Neuropilin(Nrp)ファミリーが知られている。Ⅲ型セマフォリンの多くは Nrp/plexin 受容体複合体を介してシグナルを伝える。Sema3A は神経軸索の進展に対し抑制的に作用するだけでなく、樹状細胞の移動を促進していることが報告され、樹状細胞が所属リンパ節への遊走する際に Sema3A が関与していることが知られている[5]。

これまでに Sema3A とダイオキシンレセプターである AhR との直接的な関連の報告はないが、Sema3A による刺激が、Nrp-1 陽性制御性 T 細胞からの IL-10 分泌を促すなど、免疫制御に関わることが知られている[6]。これまでの当研究班の報告で、油症患者における AhR を介した IL-10 増加の可能性を示してきたが、今回の結果から Sema3A を介する機序がその一端を担っている可能性が示唆された。

セマフォリンファミリーとダイオキシン、油症患者の神経症状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神経症状や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

これまでの油症研究にお力添え頂いた関係者の皆様、快く血液をご提供下さった油症患者の皆様に深謝致します。

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. *Environmental research* 2001, 86(1):2-11.
2. 高森健二: ドライスキンのサイエンス～原点から最前線まで～ドライスキンとかゆみ. *日本香粧品学会誌* 2014, 38(2):92-95.
3. Teng Y, Yin Z, Li J, Li K, Li X, Zhang Y: Adenovirus-mediated delivery of Sema3A alleviates rheumatoid arthritis in a serum-transfer induced mouse model. *Oncotarget* 2017, 8(39):66270-66280.
4. Kimura E, Endo T, Yoshioka W, Ding Y, Ujita W, Kakeyama M, Tohyama C: In utero and lactational dioxin exposure induces Sema3b and Sema3g gene expression in the developing mouse brain. *Biochemical and biophysical research communications* 2016, 476(2):108-113.

5. 高松漂太、熊ノ郷淳: セマフォリンによる免疫制御. *生化学* 2011, 83(12): 1103-1109.
6. Catalano A: The neuroimmune semaphorin-3A reduces inflammation and progression of experimental autoimmune arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* 2010, 185(10):6373-6383.

Ｆ．研究発表

なし

Ｇ．知的財産権の出願・登録状況

なし

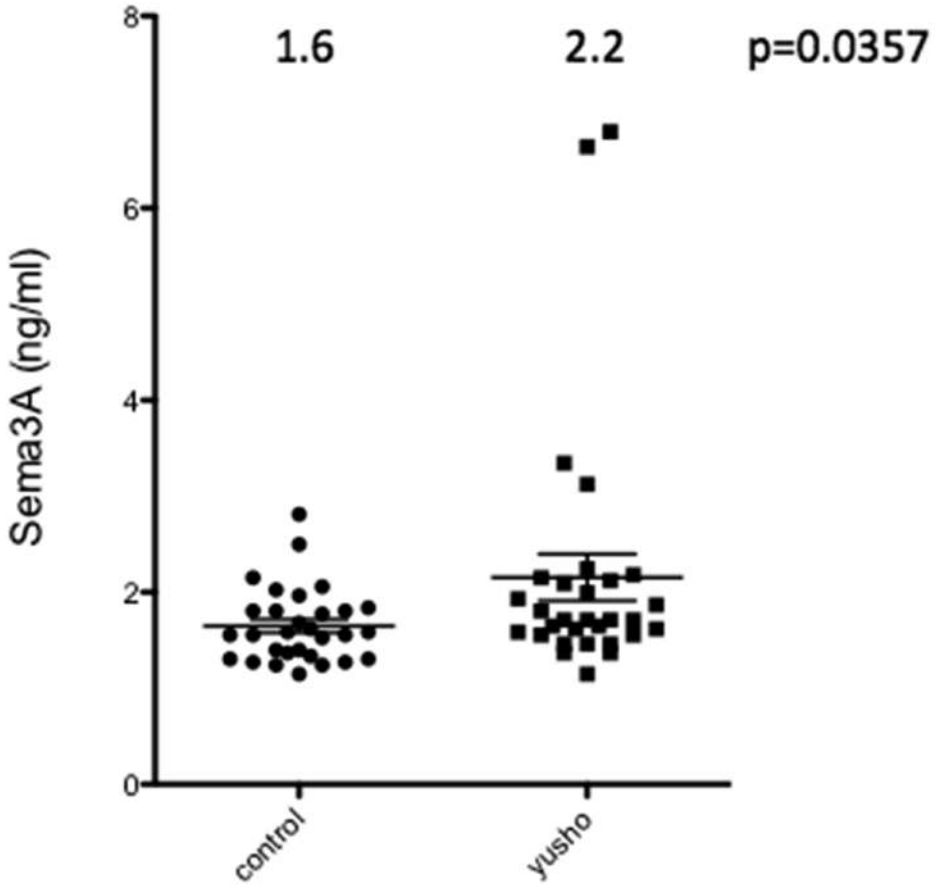


図 1. 血清中 Sema3A の比較

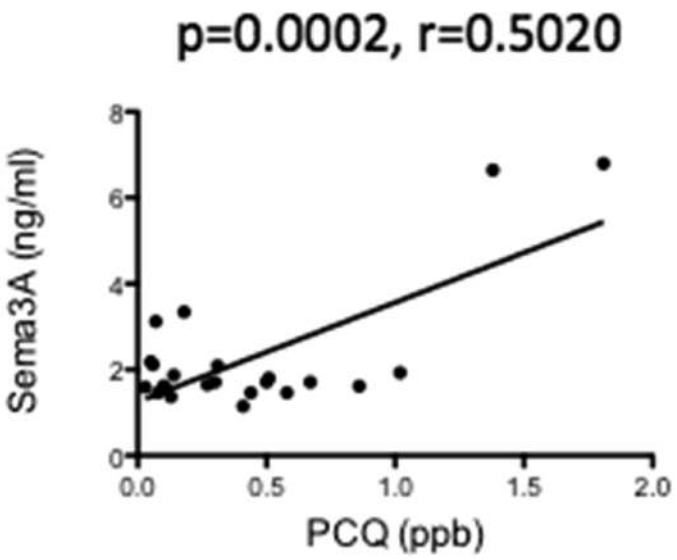


図 2．Sema3A と PCQ 濃度との相関

分担研究報告書

油症認定患者における血清 Ah 受容体転写活性の検討

研究分担者　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 講師

研究要旨 糖尿病性神経症を有する患者において、血清 Ah 受容体転写活性が上昇しているという報告がある。油症患者では足趾のしびれを有することがある。そこで、今回、我々は血清中の Ah 受容体転写活性を測定し、正常人との比較検討を行う予定であったが、実験手技の問題もあり、測定不能であった。

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 類が混在していることがわかっている[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。

以前に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。

また、Ah 受容体（arylhydrocarbon receptor，芳香族炭化水素受容体）はダイオキシン類を認識し、発生，生殖機能，免疫機能の障害や，癌化などの毒性の発現に関与することが知られている。また、Ah 受容体はリガンドに依存して活性化する転写因子として機能し，ダイオキシンや多環芳香族炭化水素などのアゴニストによる毒性発現や異物代謝に関与するのみならず、免疫系の制御にも関与していることはよく知られている。

糖尿病性神経症を有する患者において、血清 Ah 受容体転写活性が上昇しているという報告がある。[3]油症患者では足趾のしびれを有することがある。そこで、今回、我々は血清中の Ah 受容体転写活性を測定し、正常人との比較検討を行う予定とした。

B．研究方法

①対象：　2005 年から 2008 年に施行された長崎県油症検診受診者のうち、同意を得られかつ PCB，PCQ，PCDF の測定を行った油症認定患者 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血清 Ah 受容体転写活性測定用サンプルとした。

②血清 Ah 受容体転写活性の測定：Dual-LuciferaseReporter アッセイキット（Promega 社製）を用いてサンプル血清中の Ah 受容体転写活性を測定した。

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 と血清 Ah 受容体転写活性との相関を検討予定。

④統計的処理： 測定した血清 Ah 受容体転写活性値の統計的処理に Mann-Whitney の U 検定、Spearman の順位相関係数の検定を使用予定。

（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う。

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、血清 Ah 受容体転写活性値の検討を行う予定であったが、実験手技の問題か、活性の測定は不能であった。

D．考察

Ah 受容体(arylhydrocarbon receptor, 芳香族炭化水素受容体）はダイオキシン類を認識し、発生，生殖機能，免疫機能の障害や，癌化などの毒性の発現に関与することが知られている。また、Ah 受容体はリガンドに依存して活性化する転写因子として機能し，ダイオキシンや多環芳香族炭化水素などのアゴニストによる毒性発現や異物代謝に関与するのみならず、免疫系の制御にも関与していることはよく知られている。

また、Kim らは、糖尿病性神経症を有する患者において、血清 Ah 受容体転写活性が上昇しており、血清 AhR リガンドが糖尿病性腎症の危険因子ではないかと報告している[3)]。今回は実験手技が未熟であることにより、血清 Ah 受容体転写活性値を測定できなかったが、再度、血清中の Ah 受容体転写活性を測定し、正常人との比較検討を行う予定である。また可能ならば、しびれなどの神経症状を呈している患者との関連も検討したい。

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*, 86(1): 2-11, 2001.
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 TNFalpha levels more than 40 years after accidental polychlorinated biphenyl poisoning. *J Immunotoxicol* 11(3): 246-249, 2014.
3. Kim JT, Kim SS, Jun DW, Hwang YH, Park WH, Pak YK, Lee HK. Serum arylhydrocarbon receptor transactivating activity is elevated in type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy. *J Diabetes Investig* 4(5): 483-91, 2013

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
	佐藤　環	福岡県保健環境研究所	生活化学課　主任技師
	高橋　浩司	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
	酒谷　圭一	福岡県保健環境研究所	計測技術課　主任技師
	片宗　千春	福岡県保健環境研究所	計測技術課　技師
	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
	宮脇　崇	福岡県保健環境研究所	水質課　研究員
	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 28 年度（2016 年）の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 138 名と油症認定患者 147 名であった。平成 28 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 44pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 49pg/g lipid であった。平成 13～28 年の 16 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 1,023 名で油症認定患者 2,295 名（平成 28 年 12 月 31 日現在）の約 45%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 110pg/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 2.8－1,800pg/g lipid と広範囲であるが、約 60%の患者は 50pg/g lipid 未満であった。平成 25～28 年に同居家族認定者 139 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 28pg/g lipid で一般人に近い値であった。平成 13～28 年に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 792 名の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 25pg/g lipid であり、一般住民とほぼ同じ値であったが、50pg/g lipid を超えた 95 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)12 月 31 日現在の認定患者の総数は 2,295 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 28 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 28 年度までの 16 年間に測定した 1,023 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 28 年度までの 16 年間に油症検診を受診した 792 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 28 年度は、油症一斉検診受診者のうち未認定者 138 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 147 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 29 年度（2017 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 28 年度までの 16 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 2,839 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 1,023 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 28 年度までの 16 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 2,261 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 792 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 28-1 号平成 28 年 6 月 16 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 28 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 28 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 28 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 28 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 147 名であり、81 名が新たに検診を受診した。この中で 51 名が同居家族による認定者であった。また、未認定者は 138 名で前年と比べ 21 名増加した。平成 24 年 12 月に油症診断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、過去 3 年は未認定者の受診者が減少していたが、新たに検診を受診する未認定者が増加した。

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 44 、28pg TEQ/g lipid であった。対照群の一般住民 127 名の Total TEQ (WHO2005) は 37 pg TEQ/g lipid であり、平成 28 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 1.2 倍高く、未認定者は低い値であった。今回の認定患者には新たに 51 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 33pg TEQ/g lipid であり、一般住民の濃度と同レベルであった。しかし、同居家族認定患者の内 3 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 28pg TEQ/g lipid であり、対照群の一般住民 37pg TEQ/g lipid より低い。平成 28 年に受診した未認定者は平均年齢が 59.8 歳で 10 代の 3 名を含め 138 名中 50 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 50pg/g lipid を超える受診者が 4 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 28 年度までの 16 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 1,023 名の平成 27 年末現在の平均年齢は 65.9 歳（31-98 歳）で、内訳は男性 477 名、女性 546 名であり、これは平成 28 年 12 月 31 日現在の全認定患者(2,295 名) の約 45%に相当する。

表 2 に油症認定患者 1,023 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 62pg TEQ/g lipid、対照群の一般住民の総 TEQ (WHO2005) は 37pg TEQ/g lipid であり、油症認定患者の総 TEQ (WHO2005) は一般住民より約 1.7 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 濃度は油症診断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 2.7～1,800pg/g lipid と広範囲であるが約 60%の認定患者は 50pg/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、平成 28 年度に 51 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 1,023 名のうち同居家族認定患者 139 名とその他の油症患者 884 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 68pg TEQ/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 33、37pg TEQ/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、28 および 17pg /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 2.8～440 pg /g lipid であり、50pg/g lipid を超える受診者が 15 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 28 年度までの 16 年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 796 名の平成 28 年末現在の平均年齢は 57.1 歳（5-90 歳）で、内訳は男性 342 名、女性 454 名であった。

表 4 に未認定者 796 名、油症認定患者 1,023 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 30pg TEQ/g lipid であり、一般住民の平均総 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 25pg/g lipid(1.4-410pg/g lipid)で 75 名が 50pg/g lipid を超えていた。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50pg/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 15 回受診した未認定者が 2 名いた（図 3)。複数回受診した未認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の変動は僅かであった。

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 28 年度（2016 年）の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 138 名と油症認定患者 147 名であった。平成 28 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 44、28pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均はそれぞれ 49、18pg/g lipid であった。平成 28 年度の同居家族認定者の検診受診者は 51 名で、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 27pg/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 28 年度油症検診を受診した未認定者（138 名）の中に 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50pg/g lipid を超える受診者が 3 名存在した。

平成 13 年度から 28 年度までの 16 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 1023 名に達した。この 1023 名の油症認定患者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 2.8～1,800pg/g lipid と広範囲であるが約 60％の患者は 50pg/g lipid 以下であった。平成 25－28 年度に 139 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 1023 名のうち同居家族認定患者 139 名とその他の油症患者 884 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 50pg/g lipid を超える受診者が 15 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 28 年度までの 16 年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 792 名の血液中ダイオキシン類濃度の平均総 TEQ（WHO2005）は 30pg 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 25pg/g lipid(1.3-410pg/g lipid)で 75 名が 50pg/g lipid を超えていた。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50pg/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 15 回受診者が 2 名いた。複数回受診した未認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の変動は僅かであった。

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）新谷依子、堀就英、安武大輔、平川博仙、小木曽俊孝、宮脇崇、飛石和大、戸高尊、梶原淳睦、香月進、岸玲子、三苫千景、古江増隆，血液中ダイオキシン類および PCB 類濃度測定のクロスチェック（第 2 報），福岡医学雑誌，

2017. 108(3). 83-93.

2）小木曽俊孝、安武大輔、佐藤環、高橋浩司、堀就英、梶原淳睦、香月進、三苫千景、古江増隆, 2014-2016 年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析, 福岡医学雑誌, 2017. 108(3). 94-101

3）安武大輔、飛石和大、平川博仙、新谷依子、小木曽俊孝、堀就英、梶原淳睦、香月進、三苫千景、古江増隆, Deans switch 型 SilFlow を用いた血中ダイオキシン類測定におけるソルベントカット大量注入法の開発, 福岡医学雑誌, 2017. 108(3).102-110.

4）Yasutake, D., Tobiishi, K., Hirakawa, H., Shintani, Y., Kogiso, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Mitoma, C., Furue, M. Application of a solvent-cut large-volume injection system using Deans switch-type SilFlow in a dioxin analysis of human blood. Organohalogen Compounds. 2017. 79. In press.

5）Hirakawa, S., Miyawaki, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Hirano, M., Yoshinouchi, Y., Iwata, H., Mitoma, C., Furu,e M. Characteristics of PCB congeners accumulated in Yusho patients and estimation of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico docking simulation. Organohalogen Compounds. 2017. 79. In press.

6）Miyawaki, T., Sugihara, M., Hirakawa, S., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Mitoma, C., Furue, M. Compound-specific isotopic and congener-specific analyses of polychlorinated biphenyl in the heat medium and rice oil of the Yusho incident. Environmental Science and Pollution Research, In press.

7）Hirakawa, S., Miyawaki, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Hirano, M., Yoshinouchi, Y., Iwata, H., Mitoma, C., Furue, M. Accumulation properties of polychlorinated biphenyl congeners in Yusho patients and prediction of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico analysis. Environmental Science and Pollution Research, In press.

２．学会発表

1）Hirakawa, S., Miyawaki, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Hirano, M., Yoshinouchi, Y., Iwata, H., Mitoma, C., Furu,e M. Characteristics of PCB congeners accumulated in Yusho patients and estimation of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico docking simulation. 37TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Vancouver, Canada , 2017, August. 20-26

2）Yasutake, D., Tobiishi, K., Hirakawa, H., Shintani, Y., Kogiso, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Mitoma, C., Furue, M. Application

of a solvent-cut large-volume injection system using Deans switch-type SilFlow in a dioxin analysis of human blood. 37TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Vancouver, Canada, 2017, August. 20-26

３）堀　就英、平川博仙、安武大輔、新谷依子、梶原淳睦、香月　進、岸　玲子、古江増隆，血液中ダイオキシン類分析のクロスチェック（2016 年度），第 26 回環境化学討論会(静岡市)、2017 年 6 月 7-9 日

４）安武大輔、飛石和大、平川博仙、新谷依子、小木曽俊孝、堀　就英、梶原淳睦、香月　進、三苫千景、古江増隆，Deans Switch 型 SilFlow のソルベントカット大量注入法への応用，第 26 回環境化学討論会(静岡市)、2017 年 6 月 7-9 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

図1　油症認定患者の血液中2, 3, 4, 7, 8-PeCDF濃度分布　(2001-2016年、n=1, 023)
(pg/g　lipid)

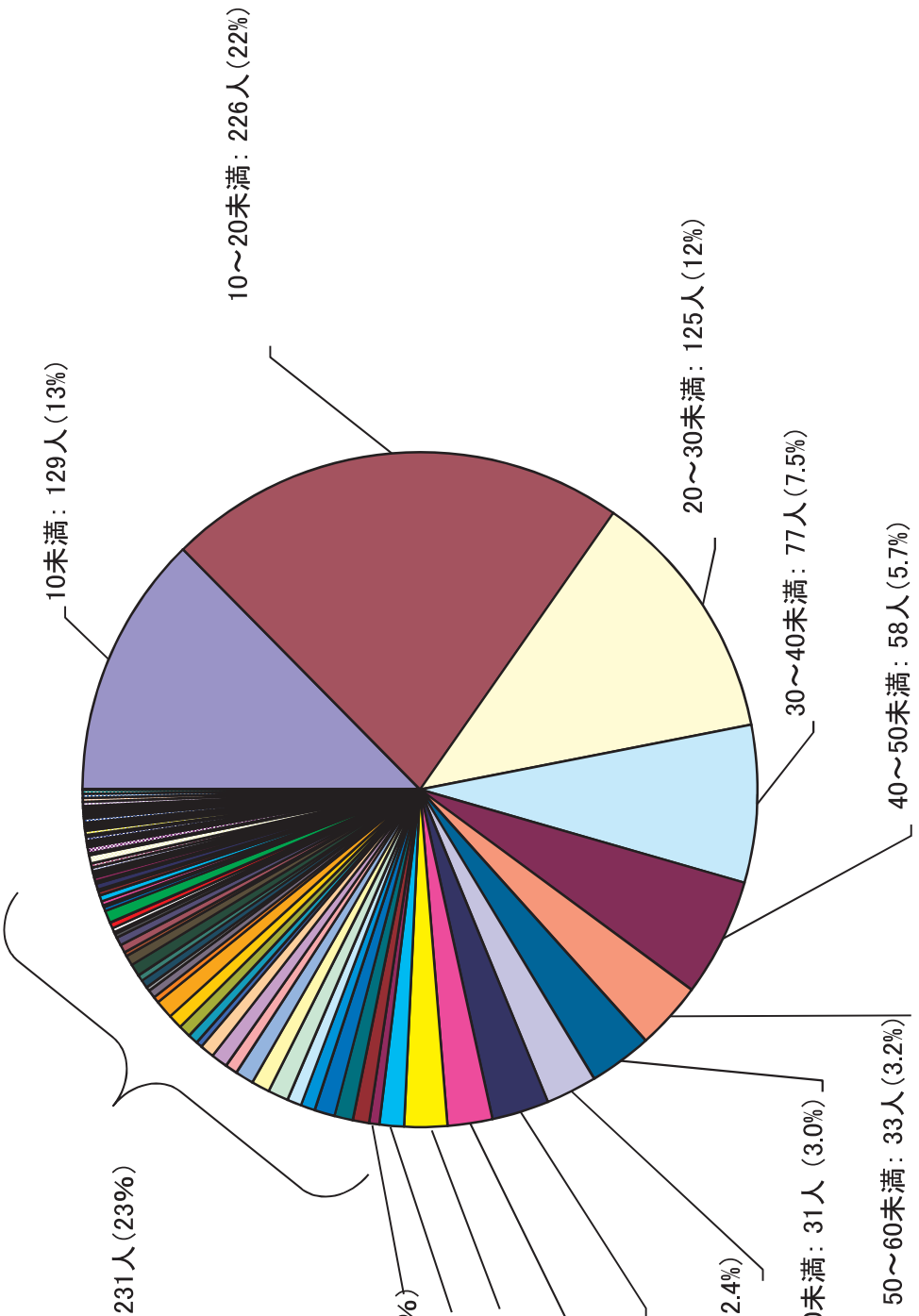


図２　未認定者の血液中2, 3, 4, 7, 8-PCDF濃度(2001-2016年、n=792)
(pg/g lipid)

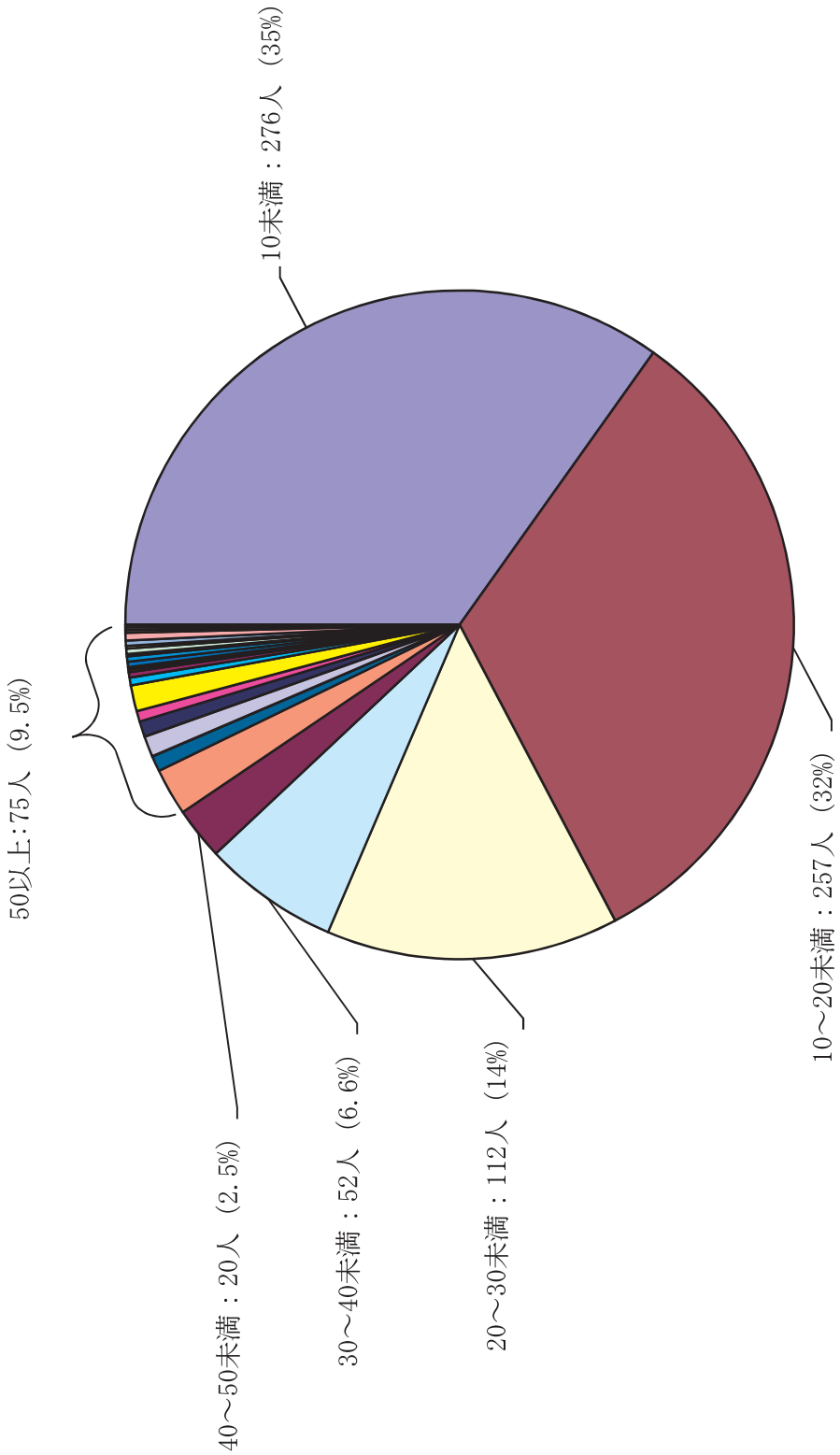
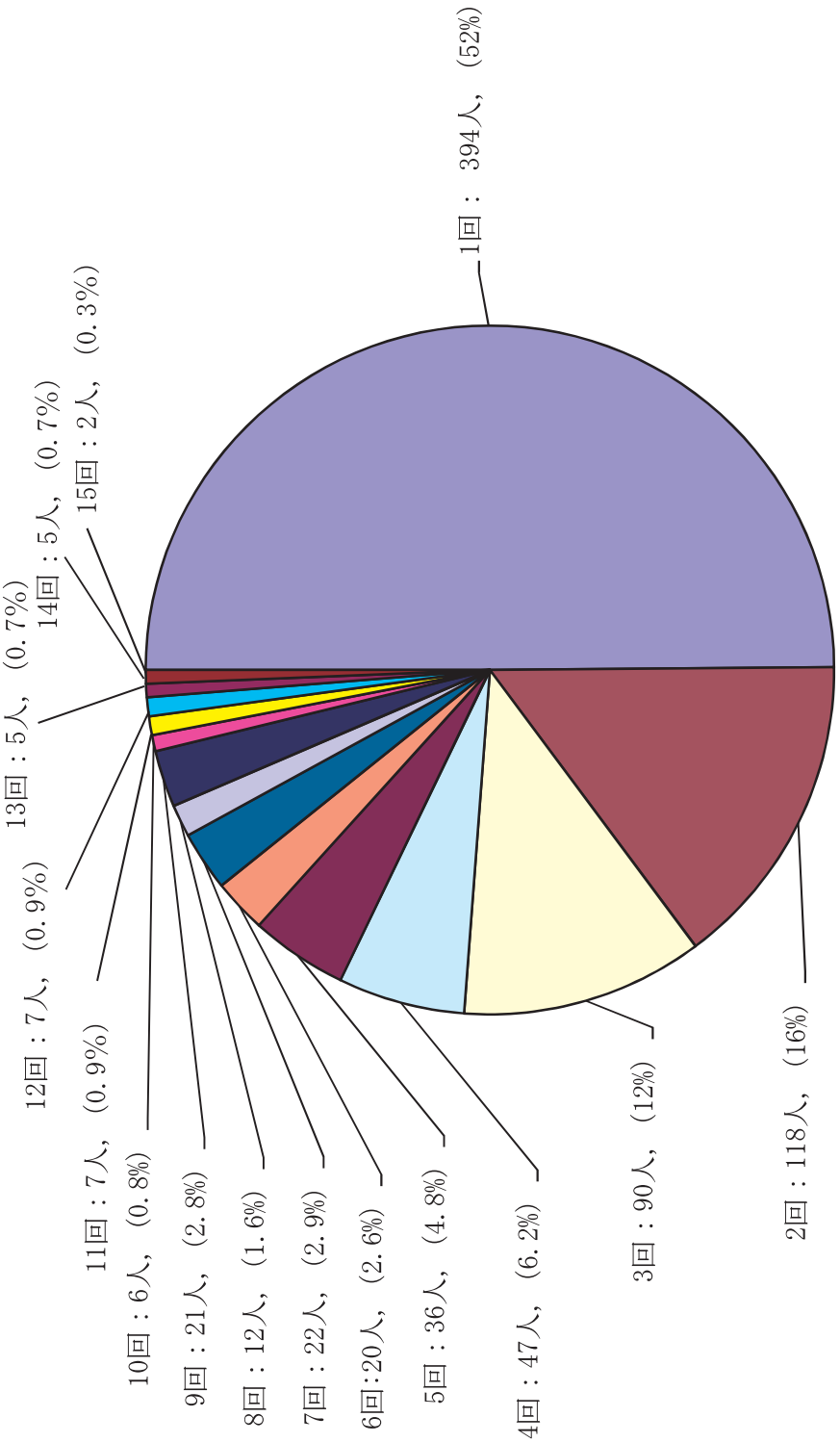


図３　未認定者の検診受診回数(2001-2016年、n=792)



油症検診受診者血中ダイオキシン類濃度調査結果（2016年）

(pg/g lipid)

	2016年検診結果								一般の人			
	認定(N=147)				未認定(N=138)				(2004年 , N=127)			
Congeners	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.6	0.90	ND	4.7	1.4	0.92	ND	4.9	1.9	0.84	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	7.6	3.9	1.1	20	5.7	3.9	ND	18	9.0	3.4	3.2	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.6	1.9	ND	11	2.3	1.6	ND	8	3.6	1.9	ND	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	29	22	ND	130	18	13	3.5	81	28	11	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	3.4	ND	18	3.4	2.8	ND	18	4.5	2.8	ND	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	40	28	7.2	190	35	30	5.8	230	78	55	18	470
OCDD	620	530	77	4000	480	610	72	4700	1200	640	180	7600
Total PCDDs	700	570	100	4300	550	650	92	4900	1300	1000	210	8200
2,3,7,8-TCDF	2.3	2.2	ND	14	3.1	4.0	ND	31	1.0	0.72	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	1.6	1.5	ND	12	1.7	1.6	ND	8.7	0.67	0.55	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	49	88	2.8	610	18	27	2.7	300	17	7.7	6.0	63
1,2,3,4,7,8-HxCDF	11	23	ND	210	4.7	6.3	ND	65	5.0	2.7	ND	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.6	7.6	ND	58	4.4	3.9	ND	27	5.7	2.6	ND	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.79	ND	6.8	1.1	0.64	ND	5.7	1.2	0.8	ND	5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.1	0.97	ND	13	ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.1	1.7	ND	10	1.9	1.7	ND	14	2.2	2.1	ND	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.2	1.9	ND	24	ND				ND			
OCDF	2.2	2.9	ND	38	ND				2.1	1.4	ND	18
Total PCDFs	78	120	12	900	39	37	12	390	37	14	15	86
344'5-TCB(81)	5.7	3.1	ND	34	5.4	1.8	ND	19	5.6	2.3	ND	24
33'44'-TCB(77)	8.0	5.5	ND	41	10	6.9	ND	38	8.4	4.8	ND	31
33'44'5-PenCB(126)	97	86	ND	540	86	88	ND	410	110	80	17	520
33'44'55'-HxCB(169)	120	85	11	430	81	68	ND	330	64	27	16	190
Total Non-ortho PCBs	230	150	26	900	180	150	27	650	190	110	59	740
Total	1000	650	180	4500	770	730	150	5600	1600	1000	290	8500
◆【WHO-98】◆												
PCDDs-TEQ	13	6.7	2.6	33	10	6.3	1.7	34	15	5.7	5.0	34
PCDFs-TEQ	27	47	1.9	330	11	14	1.9	160	10	4.3	3.5	33
Non-ortho PCBs-TEQ	11	9.1	0.62	57	9.5	9.3	0.62	43	12	8.2	2.0	54
Total TEQ	51	53	5.6	370	30	25	4.8	190	37	16	12	100
◆【WHO-05】◆												
PCDDs-TEQ	13	6.7	2.6	33	10	6.3	1.7	34	16	5.9	5.1	35
PCDFs-TEQ	17	29	1.3	210	6.9	9.0	1.3	98	6.6	2.5	2.3	14
Non-ortho PCBs-TEQ	13	10	0.85	63	11	10	0.87	47	13	8.6	2.6	58
Total TEQ	44	37	5.7	250	28	22	4.6	130	37	16	12	100
Lipid(%)	0.33	0.07	0.13	0.80	0.33	0.05	0.18	0.55	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
(2001-2016年)

(pg/g lipid)

	油症患者(N=1023)					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	9.0	5.6	ND	48	7.7	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	36	36	ND	320	24	28	11	7.3	70	25
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.8	3.1	ND	26	3.0	4.5	2.8	ND	16	3.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	42	47	5.5	1200	34	78	55	18	470	62
OCDD	580	520	72	7900	470	1200	640	180	7600	940
Total PCDDs	670	580	100	9200	560	1300	1000	210	8200	1000
2,3,7,8-TCDF	2.2	4.8	ND	83	1.3	1.0	0.72	ND	4.5	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.2	1.3	ND	13	ND	0.67	0.55	ND	4.6	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	110	180	2.8	1800	33	17	7.7	6.0	63	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	25	55	ND	580	6.2	5.0	2.7	ND	20	4.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	12	18	ND	170	5.6	5.7	2.6	ND	16	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.77	ND	8.7	ND	1.2	0.8	ND	5.2	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.0	0	ND	13	ND	ND				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.3	3.4	ND	74	ND	2.2	2.1	ND	14	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.73	ND	24	ND	ND				
OCDF	2.1	1.6	ND	38	ND	2.1	1.4	ND	18	ND
Total PCDFs	160	250	12	2600	58	37	14	15	86	35
344'5-TCB(#81)	5.6	3.3	ND	49	ND	5.6	2.3	ND	24	ND
33'44'-TCB(#77)	8.1	9.5	ND	150	ND	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)	160	140	10	1300	1200	64	27	16	190	58
Total Non-ortho PCBs	270	200	25	1500	220	190	110	59	740	160
Total	1100	770	170	9700	920	1600	1000	290	8500	1300
◆【WHO-98】◆										
T PCDDs-TEQ	15	10	1.7	77	13	15	5.7	5.0	34	15
T PCDFs-TEQ	58	97	1.9	970	18	10	4.3	3.5	33	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	11	9.0	0.61	77	9.1	12	8.2	2.0	54	9.5
Total-TEQ	84	110	5.6	1100	46	37	16	12	100	35
◆【WHO-05】◆										
T PCDDs-TEQ	15	9.5	1.8	76	13	16	5.9	5.1	35	11
T PCDFs-TEQ	33	55	1.3	440	11	6.6	2.5	2.3	14	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	14	11	0.82	94	11	13	8.6	2.6	58	9.5
Total-TEQ	62	68	5.7	560	40	37	16	12	100	31
Lipid(%)	0.30	0.07	0.13	0.80	0.29	0.33	0.05	0.22	0.49	0.31
Age(years)	65.9	13	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=884)					同居家族認定者 (N=139)					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	1.5	1.1	ND	7.4	1.3	1.9	0.84	ND	4.3	1.8
1,2,3,7,8-PeCDD	9.4	5.8	ND	48	8.2	6.8	3.8	ND	28	6.4	9.0	3.4	3.2	19.8	8.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	1.9	ND	15	2.2	2.2	1.6	ND	10	ND	3.6	1.9	ND	13.4	3.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	38	37	ND	320	26	22	16	2.9	91	18	28	11	7.3	70.1	25
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.8	3.3	ND	36	3.0	3.7	3.2	ND	17	2.7	4.5	2.8	ND	16.4	3.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	44	53	ND	1200	35	38	26	7.2	170	31	78	55	18	470	62
OCDD	610	570	72	7900	500	470	390	77	2900	360	1200	640	180	7600	940
Total PCDDs	710	620	100	9200	590	540	430	100	3200	420	1300	1000	210	8200	1000
2,3,7,8-TCDF	2.3	5.1	ND	83	1.2	1.5	1.5	ND	7.5	ND	1.0	0.72	ND	4.5	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.2	1.3	ND	13	ND	1.1	1.1	ND	8.3	ND	0.67	0.55	ND	4.6	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	120	190	2.8	1800	41	28	50	2.8	440	15	17	7.7	6.0	63.4	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	28	59	ND	580	7.5	5.9	12	ND	89	3.2	5.0	2.7	ND	19.8	4.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	13	19	ND	170	6.2	4.8	5.4	ND	35	3.7	5.7	2.6	ND	15.8	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.80	ND	8.7	ND	1.1	0.61	ND	5.6	ND	1.2	0.8	ND	5.2	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.0	0.11	ND	3.3	ND	1.1	1.0	ND	13	ND	ND				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.3	3.6	ND	74	ND	1.8	1.8	ND	12	ND	2.2	2.1	ND	14.2	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.06	ND	2.7	ND	1.2	2.0	ND	24	ND	ND				
OCDF	2.0	1.2	ND	38	ND	2.3	3.0	ND	38	ND	2.1	1.4	ND	17.8	ND
Total PCDFs	170	270	12	2600	69	49	67	12	570	31	37	14	15	86	35
344'5-TCB(#81)	5.6	3.4	ND	49	ND	5.2	1.6	ND	18	ND	5.6	2.3	ND	24.0	ND
33'44'-TCB(#77)	8.2	10	ND	150	ND	6.8	4.1	ND	23	ND	8.4	4.8	ND	31.2	ND
33'44'5-PenCB(#126)	98	84	ND	680	76	83	73	ND	510	68	110	80	17	520	90
33'44'55'-HxCB(#169)	170	150	10	1300	130	92	69	12	390	68	64	27	16	190	58
Total Non-ortho PCBs	280	210	25	1500	240	190	130	32	840	160	190	110	59	740	160
Total	1200	810	170	9700	990	780	530	190	3500	660	1600	1000	290	8500	1300
◆【WHO-98】◆															
T PCDDs-TEQ	16	10	1.7	77	14	11	6.5	2.6	48	10	15	5.7	5.0	34.5	15
T PCDFs-TEQ	65	100	2.0	970	22	16	27	1.9	230	8.7	10	4.3	3.5	33.5	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	12	9.2	0.61	77	9.5	9.2	7.7	0.67	54	7.4	12	8.2	2.0	53.8	9.5
Total-TEQ	93	110	6.3	1100	52	36	36	5.6	280	28	37	16	12	100	35
◆【WHO-05】◆															
T PCDDs-TEQ	16	10	1.8	76	13	12	6.5	2.6	48	10	16	5.9	5.1	35.3	11
T PCDFs-TEQ	38	60	1.4	440	14	10	17	1.3	140	5.7	6.6	2.5	2.3	14.4	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	15	11	0.82	94	12	11	8.8	1.0	60	9.3	13	8.6	2.6	57.6	9.5
Total-TEQ	68	73	6.3	560	44	33	27	5.7	210	26	37	16	12	100	31
Lipid(%)	0.29	0.07	0.13	0.80	0.29	0.30	0.06	0.20	0.59	0.30	0.33	0.05	0.22	0.49	0.31
Age(years)	66.3	13.6	31	98	67	61.5	10.6	45	90	60	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.

平成 29 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金

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（2001-2016年）

(pg/g lipid)

	油症患者(N=1023)					未認定者 (N=792)					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	9.0	5.6	ND	48	7.7	6.7	4.1	ND	29	5.9	9.0	3.4	3.2	20	8.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	1.9	ND	15	2.2	2.5	1.8	ND	18	2.2	3.6	1.9	ND	13	3.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	36	36	ND	320	24	21	16	ND	180	17	28	11	7.3	70	25
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.8	3.1	ND	26	3.0	3.6	3.0	ND	28	3.0	4.5	2.8	ND	16	3.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	42	47	5.5	1200	34	41	31	ND	300	34	78	55	18	470	62
OCDD	580	520	72	7900	470	590	490	56	5200	460	1200	640	180	7600	940
Total PCDDs	670	580	100	9200	560	670	530	73	5600	530	1300	1000	210	8200	1000
2,3,7,8-TCDF	2.2	4.8	ND	83	1.3	1.6	2.3	ND	31	ND	1.0	0.72	ND	4.5	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.2	1.3	ND	13	ND	1.0	1.2	ND	10	ND	0.67	0.55	ND	4.6	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	110	180	2.8	1800	33	25	38	1.3	410	14	17	7.7	6.0	36	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	25	55	ND	580	6.2	5.6	10	ND	140	3.2	5.0	2.7	ND	20	4.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	12	18	ND	170	5.6	4.9	4.4	ND	39	3.7	5.7	2.6	ND	16	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.77	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	1.0	0	ND	12.6	ND	ND					ND				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.3	3.4	ND	74	ND	2.3	3.1	ND	46	ND	2.2	2.1	ND	14.2	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.7	ND	24.3	ND	1.0	0.19	ND	6.1	ND	ND				
OCDF	2.1	1.6	ND	38	ND	2.0	0.37	ND	9.1	ND	2.1	1.4	ND	18	ND
Total PCDFs	160	250	12	2600	58	45	52	10	490	31	37	14	15	86	35
344'5-TCB(#81)	5.6	3.3	ND	49	ND	5.6	3.4	ND	64	ND	5.6	2.3	ND	24	ND
33'44'-TCB(#77)	8.1	9.5	ND	150	ND	7.7	8.0	ND	160	ND	8.4	4.8	ND	31	ND
33'44'5-PenCB(#126)	95	82	ND	680	74	87	91	ND	660	60	110	80	17	520	90
33'44'55'-HxCB(#169)	160	140	10	1300	1200	82	71	ND	740	62	64	27	16	190	58
Total Non-ortho PCBs	270	200	25	1500	220	180	150	20	960	140	190	110	59	740	160
Total	1100	770	170	9700	920	900	630	150	6300	740	1600	1000	290	8500	1300
◆【WHO-98】◆															
T PCDDs-TEQ	15	10	1.7	77	13	11	6.7	1.5	45	10	15	5.7	5.0	34	15
T PCDFs-TEQ	58	97	1.9	970	18	14	20	1.2	210	8.2	10	4.3	3.5	33	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	11	9	0.6	77	9	9.5	9.6	0.6	69	6.7	12	8.2	2.0	54	9.5
Total-TEQ	84	110	5.6	1100	46	34	30	3.4	240	26	37	16	12	100	35
◆【WHO-05】◆															
T PCDDs-TEQ	15	9.5	1.8	76	13	11	6.5	1.5	45	10	16	5.9	5.1	35	11
T PCDFs-TEQ	33	55	1.3	440	11	8	11	0.9	130	5.5	6.6	2.5	2.3	14	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	14	11	0.8	94	11	11	11	0.7	75	8.2	13	8.6	2.6	58	9.5
Total-TEQ	62	68	5.7	560	40	30	23	3.3	160	25	37	16	12	100	31
Lipid(%)	0.30	0.07	0.13	0.80	0.29	0.26	0.12	0.01	0.52	0.28	0.33	0.05	0.22	0.49	0.31
Age(years)	65.9	13.2	31	98	66	57.1	18.2	5	90	59	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.

分担研究報告書

平成 16 および平成 26 年度に測定した油症患者血液中ダイオキシン類濃度の比較

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　平成 16 および平成 26 年の両年度に油症検診を受診した 118 名の血液中ダイオキシン類濃度の比較を行い、各異性体の濃度推移を調べた。ダイオキシン類では PCDFs が、平成 16 年に行った結果と比較して約 10%低い濃度であった。油症患者に特徴的な異性体である 2,3,4,7,8-pentaCDF, 1,2,3,4,7,8-hexaCDF および 1,2,3,6,7,8-hexaCDF 濃度が、それぞれ 10、30 および 20%程度減少していた。男女間での比較では、女性の方が高い濃度を示したが、10 年間の濃度推移に関しては、男女間での相違は観察されなかった。

A．研究目的

油症はポリ塩化ジベンゾダイオキシン(PCDDs)、ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs),ポリ塩化ビフェニール(PCBs)およびポリ塩化クアテルフェニル(PCQs)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。我々は、油症患者のダイオキシン類による人体汚染とその健康影響を把握する目的で、患者の血液中 PCDDs, PCDFs, PCBs および PCQs 濃度の測定を行ってきた. 平成 16 および平成 26 年度に油症検診を受診した患者は、それぞれ 243 および 246 名で、その中で 118 名の患者が両年度に受診を行っていた.

今回、平成 26 年度に測定した 118 名の血液中ダイオキシン類の各異性体濃度を平成 16 年度の測定結果と比較し、各異性体の濃度推移を調査した。

B．研究方法

1. 対象者

平成 16 および平成 26 年度に油症検診を受診した患者は、それぞれ 243 および 246 名であった。その両年度に受診を行った 118 名の油症患者を対象とした。

2. 血液中 PCDDs, PCDFs および PCBs 濃度の測定

血液中 PCDDs, PCDFs および PCBs の抽出・精製は、以前報告した方法に準じて行った [1,2]。PCDDs, PCDFs および Non-*ortho* PCBs 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 [3]、Mono-*ortho* PCBs 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 [2]。

3. 外部精度管理

当センターは、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る。

4. データ解析

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）

油症患者の血液中 PCDDs,PCDFs および PCBs 濃度測定について、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・考察

平成 16 および平成 26 年の両年度に油症検診を受診した 118 名の血液中ダイオキシン類の平均濃度は、それぞれ 80 および 78 pg TEQ/g lipid で,ほとんど同じ値を示した（表 1)。ダイキシン類では PCDFs が、平成 16 年に行った結果と比較して約 10%低い濃度であった。油症の主要原因物質である 2,3,4,7,8-pentaCDF に関して、平成 16 および平成 26 年度に測定した平均濃度は、それぞれ 151 および 137 pg/g lipid の値を示し、約 10%濃度が減少していた。さらに、油症患者の血液中において、健常人よりも高い濃度を示す 1,2,3,4,7,8-hexaCDF および 1,2,3,6,7,8-hexaCDF についても、それぞれ 30 および 20%程度の濃度減少が認められた。平成 16 年度に測定した油症患者 118 名の中で、2,3,4,7,8-pentaCDF 濃度が 100 pg/g lipid 以上の 51 名に関して、26 年度の測定結果との比較を行ったが、得られた結果は、118 名の比較の結果と同様であった（表 2)。

今回調査に参加した 118 名中、男性が 61 名および女性が 57 名受診していた。平成 16 年および平成 26 年に受診した男性の血液中ダイオキシン類の平均濃度は、それぞれ 60 および 58 pg TEQ/g lipid の値を示した（表 3)。女性の測定結果は、それぞれ 102 および 100 pg TEQ/g lipid で、女性の方が男性より高い濃度であった（表 4)。10 年間の推移に関しては、ほとんど同じような傾向で、男女間での相違は認められなかった。油症患者に特徴的な異性体である 2,3,4,7,8-pentaCDF、1,2,3,4,7,8-hexaCDF および 1,2,3,6,7,8-hexaCDF についても男女間で差は観察されなかった。

D．結論

平成 16 および平成 26 年度、その両年度に油症検診を受診した 118 名の血液中ダイオキシン類濃度の比較を行い、各異性体の濃度推移を調べた。今回調査した異性体の中で、最も濃度が減少していたのは 1,2,3,4,7,8-hexaCDF で、約 30%の濃度低下が認められた。油症の主要原因物質である 2,3,4,7,8-pentaCDF は約 10%濃度が減少していた。男女間での比較では、女性の方が高い値を示したが、10 年間の濃度推移に関しては、男女間での相違は認められなかった。

E．研究発表

1．論文発表

なし

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：平

成 16 年および平成 26 年に測定した油症患者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比較、第 26 回環境化学討論会（静岡)、2017 年 6 月 7-9 日。

Ｆ．知的財産権の出願・登録状況

なし

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; 7: 902-909.
3) Todaka T, *et al*. Development of a Newly Large-Volume Injection System for Dioxin Determinations in Blood of Yusho Patients. Fukuoka Acta Medica 2013; 104(4).

表1　平成16および26年の両年度に油症検診を受診した油症患者118名の血液中ダイオキシン類濃度

Congeners	Concentration (pg/g lipid)										Ratio
	2004					2014					
	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	2014/2004
2,3,7,8-TetraCDD	1.3	1.3	0.7	4.4	0.5	1.6	0.9	1.5	4.2	0.5	1.2
1,2,3,7,8-PentaCDD	8.7	8.1	4.3	33	1.0	9.6	5.4	8.9	41	1.9	1.1
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	2.5	2.4	1.5	8.3	1.0	2.2	1.6	2.1	12	1.0	0.9
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	46	37	35	247	4.8	41	35	29	248	3.0	0.9
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	4.3	3.3	3.4	23	1.0	3.2	3.0	2.6	18	1.0	0.7
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	49	44	25	196	16	37	24	33	208	11	0.8
OctaCDD	714	624	359	2305	181	511	292	424	1779	95	0.7
Total PCDDs	825	741	393	2459	205	605	318	517	1930	138	0.7
2,3,7,8-TetraCDF	1.6	1.3	1.3	7.2	0.5	2.6	5.5	1.4	43	0.5	1.6
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.8	0.5	0.7	4.1	0.5	1.1	1.1	0.5	5.6	0.5	1.4
2,3,4,7,8-PentaCDF	151	79	192	1240	4.1	137	180	67	1261	5.8	0.9
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	37	14	63	514	1.0	25	48	8.6	402	1.0	0.7
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	15	8.2	20	176	1.0	12	19	6.9	174	1.0	0.8
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	2.5	1.5	2.6	24	1.0	1.8	2.3	1.0	21	1.0	0.7
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	ND					ND					
OctaCDF	ND					ND					
Total PCDFs	213	109	273	1946	13	186	244	101	1875	16	0.9
TetraCB-77	ND					ND					
TetraCB-81	ND					ND					
PentaCB-126	82	66	62	441	5.0	91	65	77	428	17	1.1
PentaCB-169	121	105	79	361	11	180	124	149	677	23	1.5
Total Non-*ortho* PCBs	219	193	120	696	26	283	161	254	856	50	1.3
PenataCB-105	3111	2239	2425	15888	563	3197	2503	2654	19926	606	1.0
PentaCB-114	1721	1339	1363	8660	208	2033	1712	1622	10177	234	1.2
PentaCB-118	14872	11534	11468	80220	2355	16238	14513	12544	133844	2853	1.1
PentaCB-123	265	195	220	1385	5.0	249	223	196	1502	16	0.9
HexaCB-156	23217	17570	19537	90316	5.0	28518	27967	19752	175909	1961	1.2
HexaCB-157	6639	4980	5510	25277	351	7332	7635	5311	47932	318	1.1
HexaCB-167	3057	2360	2108	13497	483	3957	2838	3318	20467	541	1.3
HeptaCB-189	3402	2629	2720	11402	5.0	4276	3843	3261	23833	137	1.3
Total Mono-*ortho* PCBs	56283	45958	34608	159176	5971	65802	47855	56430	268679	6767	1.2
TEQ from PCDDs	16	14	8.3	63	2.4	16	9.2	15	72	3.7	1.0
TEQ from PCDFs	51	26	66	442	1.7	45	60	23	437	2.7	0.9
TEQ from PCDDs/PCDFs	67	40	72	505	4.1	62	68	38	509	6.4	0.9
TEQ from non-*ortho* PCBs	12	10	7.4	50	0.8	14	8.6	13	52	2.4	1.2
TEQ from mono-*ortho* PCBs	1.7	1.4	1.0	4.8	0.2	2.0	1.4	1.7	8.1	0.2	1.2
TEQ from dioxin-like PCBs	14	12	8.2	54	1.0	16	9.7	15	57	2.6	1.2
Total TEQ	80	52	75	533	5.2	78	73	54	545	11	1.0

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

表2　平成16および26年の両年度に油症検診を受診した油症患者51名の血液中ダイオキシン類濃度

Congeners	Concentration (pg/g lipid)										Ratio
	2004					2014					
	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	2014/2004
2,3,7,8-TetraCDD	1.4	0.8	1.3	4.4	0.5	1.8	0.8	1.7	4.0	0.5	1.2
1,2,3,7,8-PentaCDD	11	5	11	33	4.1	13	6.1	11	41	5.0	1.1
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	2.67	1.33	2.61	6.74	1.00	2.4	1.4	2.3	6.3	1.0	0.9
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	69	39	61	247	23	64	40	49	248	17	0.9
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	5.0	4.1	3.6	23	1.0	3.9	3.5	3.0	18	1.0	0.8
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	48	19	44	98	16	35	14	33	84	13	0.7
OctaCDD	687	297	612	1760	265	542	254	493	1317	107	0.8
Total PCDDs	825	330	738	1973	324	662	269	653	1463	161	0.8
2,3,7,8-TetraCDF	2.22	1.64	1.92	7.20	0.50	2.3	2.5	1.8	16	0.5	1.1
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.95	0.69	0.50	3.10	0.50	1.1	1.0	0.5	4.8	0.5	1.2
2,3,4,7,8-PentaCDF	301	211	231	1240	106	273	203	211	1261	87	0.9
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	76	81	49	514	14	52	64	29	402	3.7	0.7
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	27	26	20	176	6.6	23	26	15	174	2.8	0.8
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	2.5	1.8	2.0	8.4	1.0	2.0	2.9	1.0	21	1.0	0.8
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	ND					ND					
OctaCDF	ND					ND					
Total PCDFs	415	314	333	1946	135	359	290	262	1875	112	0.9
TetraCB-77	ND					ND					
TetraCB-81	ND					ND					
PentaCB-126	78	55	64	354	27	92	56	79	323	24	1.2
PentaCB-169	174	78	156	361	49	264	128	241	677	79	1.5
Total Non-*ortho* PCBs	268	119	256	696	91	367	161	333	856	132	1.4
PenataCB-105	2761	1988	2180	12894	941	2977	1665	2607	9721	909	1.1
PentaCB-114	2516	1493	1964	8660	848	3065	1769	2474	10177	837	1.2
PentaCB-118	13441	9333	10335	59893	4613	15409	8394	12698	47970	4863	1.1
PentaCB-123	223	198	180	1268	5.0	219	149	168	827	64	1.0
HexaCB-156	36739	20764	31628	90316	7320	46431	32682	38547	175909	9250	1.3
HexaCB-157	10130	5947	8477	25277	1996	12335	8943	10501	47932	2437	1.2
HexaCB-167	3444	2031	2626	10040	1002	4467	2038	3956	10483	1655	1.3
HeptaCB-189	5035	2718	4422	11402	960	6539	4243	5543	23833	1348	1.3
Total Mono-*ortho* PCBs	74289	35228	68154	159176	22680	91442	49916	79465	268679	28912	1.2
TEQ from PCDDs	21	9.1	20	63	7.5	22	10	20	72	8.0	1.0
TEQ from PCDFs	101	73	79	442	34	90	69	67	437	28	0.9
TEQ from PCDDs/PCDFs	122	81	107	505	44	112	78	87	509	38	0.9
TEQ from non-*ortho* PCBs	13	6.8	12	43	4.7	17	8.0	16	41	6.2	1.3
TEQ from mono-*ortho* PCBs	2.2	1.1	2.0	4.8	0.7	2.7	1.5	2.4	8.1	0.9	1.2
TEQ from dioxin-like PCBs	15	7.7	14	48	5.5	20	9.2	18	45	7.5	1.3
Total TEQ	137	84	119	533	50	132	83	113	545	47	1.0

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

表3　平成16および26年の両年度に油症検診を受診した男性油症患者61名の血液中ダイオキシン類濃度

Congeners	Concentration (pg/g lipid)										Ratio
	2004					2014					
	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	2014/2004
2,3,7,8-TetraCDD	1.3	0.8	1.3	4.4	0.5	1.6	0.8	1.5	3.8	0.5	1.2
1,2,3,7,8-PentaCDD	7.8	3.4	7.7	18	1.0	8.4	4.0	7.9	21	1.9	1.1
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	2.5	1.6	2.4	8.3	1.0	2.3	1.8	2.1	12	1.0	0.9
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	40	28	34	132	4.8	33	26	25	115	3.0	0.8
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	4.0	3.1	3.1	19	1.0	2.7	2.6	2.1	17	1.0	0.7
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	48	28	41	196	16	40	31	34	208	11	0.8
OctaCDD	705	376	594	1811	181	531	335	422	1779	107	0.8
Total PCDDs	809	418	712	2135	205	619	369	504	1930	161	0.8
2,3,7,8-TetraCDF	1.6	1.2	1.3	7.2	0.5	3.0	5.5	1.3	28	0.5	1.8
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.8	0.7	0.5	4.1	0.5	1.3	1.3	0.5	5.0	0.5	1.6
2,3,4,7,8-PentaCDF	92	107	55	541	4.1	81	93	50	479	5.8	0.9
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	20	33	10	234	1.0	12	22	6	164	1.0	0.6
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	10	12	7.2	85	1.0	8.1	9.5	5.6	70	1.0	0.8
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	2.8	3.4	2.0	24	1.0	1.8	1.7	1.0	12	1.0	0.7
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	ND					ND					
OctaCDF	ND					ND					
Total PCDFs	133	150	78	871	13	113	122	75	725	16	0.8
TetraCB-77	ND					ND					
TetraCB-81	ND					ND					
PentaCB-126	91	78	69	441	5.0	96	77	80	428	17	1.1
PentaCB-169	118	73	107	361	11	169	116	146	677	23	1.4
Total Non-*ortho* PCBs	225	137	182	696	26	278	171	237	856	50	1.2
PenataCB-105	3424	2733	2890	15888	563	3290	2355	2709	12923	606	1.0
PentaCB-114	1378	997	1101	5098	208	1505	1181	1269	6021	244	1.1
PentaCB-118	15612	11372	13364	62223	2355	15995	11383	12318	62596	2853	1.0
PentaCB-123	289	244	231	1385	5.0	255	227	202	1484	17	0.9
HexaCB-156	20945	17096	16866	90316	393	24609	24675	18604	161802	1961	1.2
HexaCB-157	5927	4867	4691	23883	351	6062	6562	4545	43561	318	1.0
HexaCB-167	2988	2269	2323	13497	483	3765	2768	3327	18126	541	1.3
HeptaCB-189	3352	2654	2654	11402	311	4080	3898	2940	23833	137	1.2
Total Mono-*ortho* PCBs	53915	34349	44754	159176	5971	59560	43870	48702	268340	6767	1.1
TEQ from PCDDs	14	6.8	13	33	2.4	14	7.0	13	37	3.7	1.0
TEQ from PCDFs	31	36	18	195	1.7	27	31	16	168	2.7	0.9
TEQ from PCDDs/PCDFs	46	41	33	225	4.1	41	36	33	204	6.4	0.9
TEQ from non-*ortho* PCBs	13	9.1	10	50	0.8	15	10	13	52	2.4	1.2
TEQ from mono-*ortho* PCBs	1.6	1.0	1.3	4.8	0.2	1.8	1.3	1.5	8.1	0.2	1.1
TEQ from dioxin-like PCBs	14	10	12	54	1.0	16	11	14	57	2.6	1.2
Total TEQ	60	45	49	252	5.2	58	43	48	249	11	1.0

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

表4　平成16および26年の両年度に油症検診を受診した女性油症患者57名の血液中ダイオキシン類濃度

Congeners	Concentration (pg/g lipid)										Ratio
	2004					2014					
	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	Mean	Median	SD	Maximum	Minimum	2014/2004
2,3,7,8-TetraCDD	1.3	0.6	1.3	3.1	0.5	1.5	0.9	1.5	4.2	0.5	1.2
1,2,3,7,8-PentaCDD	9.7	5.0	8.3	33	3.3	11	6.3	9.7	41	2.8	1.1
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	2.5	1.3	2.4	6.8	1.0	2.1	1.3	2.2	6.3	1.0	0.8
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	52	40	43	247	6.4	49	41	40	248	8.1	0.9
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	4.6	3.8	3.8	23	1.0	3.7	3.4	2.9	18	1.0	0.8
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	50	20	47	104	16	34	14	30	80	12	0.7
OctaCDD	722	341	630	2305	242	489	234	424	1251	95	0.7
Total PCDDs	843	364	762	2459	306	590	253	568	1366	138	0.7
2,3,7,8-TetraCDF	1.7	1.4	1.3	5.8	0.5	2.3	5.6	1.5	43	0.5	1.4
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.8	0.6	0.5	2.9	0.5	0.9	0.8	0.5	5.6	0.5	1.2
2,3,4,7,8-PentaCDF	213	238	136	1240	5.3	197	225	136	1261	8.5	0.9
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	55	80	29	514	1.0	39	62	17	402	2.2	0.7
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	20	25	11	176	1.0	17	25	9.3	174	1.0	0.9
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	1.4	1.0	5.8	1.0	1.8	2.8	1.0	21	1.0	0.8
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	ND					ND					
OctaCDF	ND					ND					
Total PCDFs	298	340	178	1946	14	264	309	166	1875	20	0.9
TetraCB-77	ND					ND					
TetraCB-81	ND					ND					
PentaCB-126	72	37	64	157	25	85	47	76	211	22	1.2
PentaCB-169	124	84	104	361	23	191	130	164	588	36	1.5
Total Non-*ortho* PCBs	211	98	198	493	61	287	150	268	712	69	1.4
PenataCB-105	2776	1989	2180	13355	843	3098	2649	2607	19926	773	1.1
PentaCB-114	2087	1588	1736	8660	272	2599	1989	2034	10177	234	1.2
PentaCB-118	14081	11517	10573	80220	4180	16499	17241	12698	133844	4521	1.2
PentaCB-123	239	187	187	1178	5.0	243	219	189	1502	16	1.0
HexaCB-156	25647	21586	18613	83648	5.0	32702	30557	26711	175909	3292	1.3
HexaCB-157	7400	6031	5596	25277	770	8691	8427	6797	47932	694	1.2
HexaCB-167	3132	1917	2376	9186	736	4162	2897	3251	20467	982	1.3
HeptaCB-189	3455	2788	2615	11211	5.0	4487	3773	3736	19231	460	1.3
Total Mono-*ortho* PCBs	58818	34705	51520	158563	13428	72481	50941	62139	268679	14193	1.2
TEQ from PCDDs	18	9.4	16	63	6.2	18	11	16	72	4.7	1.0
TEQ from PCDFs	72	82	45	442	2.1	65	76	43	437	3.3	0.9
TEQ from PCDDs/PCDFs	89	90	60	505	8.3	84	85	61	509	9.4	0.9
TEQ from non-*ortho* PCBs	11	4.8	11	23	3.5	14	6.9	13	30	3.3	1.3
TEQ from mono-*ortho* PCBs	1.8	1.0	1.5	4.8	0.4	2.2	1.5	1.9	8.1	0.4	1.2
TEQ from dioxin-like PCBs	13	6	12	28	3.9	16	8.1	15	36	3.8	1.3
Total TEQ	102	93	70	533	12	100	91	73	545	15	1.0

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

分担研究報告書

Deans Switch 型 SilFlow を用いた血中ダイオキシン類測定における ソルベントカット大量注入法の開発

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
	飛石　和大	福岡県保健環境研究所	廃棄物課　専門研究員

研究要旨

高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計に SCLV の代替システムとして Deans Switch 型 SilFlow を装着し、従来と同等の血液中ダイオキシン類の高感度測定が可能か検討した。その結果、血液中のダイオキシン類測定において Deans Switch 型 SilFlow は、SCLV と同様の機構で正確に作動することが確認され、標準物質及びコントロール試料の繰り返し測定では再現性の良い定量値が得られた。SilFlow は従来法と比べてデッドボリュームが非常に小さく、かつコンタミネーションの影響も少ないという利点がある。装置の取り扱いも容易であり、SCLV の代替として有用であることが示された。

A．研究目的

1968 年に発生した油症はポリ塩化ビフェニル（PCB）およびダイオキシン類による複合中毒事件である。事件から 40 年以上経過した近年でも、2012 年 9 月に「カネミ油症患者に関する施策の総合的な推進に関する法律」が施行され、同年 12 月に油症診断基準に「同居家族の油症患者に関する条件」が追補され、油症を取り巻く環境は大きく変遷している。

Polychlorodibenzofuran（PCDF）は毒性が高く油症の主な原因物質であり、2004 年に血液中の 2,3,4,7,8-pentachloro-dibenzofuran（2,3,4,7,8-PeCDF）値が診断基準に追加され、油症検診において血液中ダイオキシン類の測定が行われている。

ダイオキシン類測定では高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（以下、HRGC/HRMS）が使用されている。戸高らは SGE 社製ソルベントカット大量注入システム（以下、SCLV）を備えた HRGC/HRMS を用いて高感度なダイオキシン類測定を実現させ、少量の血液からのダイオキシン類測定を可能とした [1)]。さらに、戸高らはアイスティサイエンス社製胃袋型インサート付大量注入装置（以下、LVI）と SCLV を組み合わせ（以下、LVI-SCLV）、

装置への注入量を 20 倍に増大させ、血中ダイオキシン類測定のさらなる簡略化、高感度化を可能とした [2]。上記のように、SCLV は油症検診における血液中ダイオキシン類測定のキーデバイスの一つである。

LVI-SCLV では、下記の 4 つの工程で試料を MS に導入する仕組みになっている。①LVI により導入された試料はプレカラムで保持され、②GC オーブンの昇温により、プレカラムにダイオキシン類を保持させたまま大量の溶媒や低沸点化合物をパージラインから排出させる。③パージラインを閉止し、ダイオキシン類をコールドトラップへ導入する。④すべてのダイオキシン類をコールドトラップした後、パージラインを開放し、プレカラムに残存した夾雑物を排出する。同時に、オーブンを降温させ、コールドトラップを解除し、再度オーブンを昇温することでダイオキシン類を MS 部に導入する。

しかし、LVI-SCLV システムではキャピラリーカラム等の接続箇所が多く、漏れの可能性が高く、漏れが生じた場合、その原因を除去することに多くの労力を必要とする。また、SCLV はすでに販売中止となっているため、血液中のダイオキシン類を高感度に測定するには、代替となるシステムが必要である。

Deans Switch は圧力バランスによるバルブレススイッチであり、複数のカラムを用いた分析、特定成分のハートカットや GC 分取、および 2 つのカラムへの流路切り替えに利用可能である [3)、4)]。近年、半導体技術の応用によってガスクロマトグラフに利用可能なマイクロフローデバイスが開発されている。Deans Switch 型のマイクロフローチャネルデバイスも販売されており、その応用例も報告されている [5)]。我々は、Deans Switch 型マイクロフローチャネルデバイスとして図 1 に示すような Trajan 社製の Deans Switch 型 SilFlow（以下、SilFlow）を使用し、SCLV と同等な血液中のダイオキシン類の高感度測定が可能か検討した。

B．研究方法

１．試薬

ダイオキシン類分析に使用した有機溶媒およびその他の試薬類は関東化学社製のダイオキシン類分析用を用いた。活性炭カラムは、ナカライテスク社から購入した活性炭と無水硫酸ナトリウムを混合し、調製された。ダイオキシン類分析のクリーンアップスパイクとして毒性等価係数（TEF）を持つダイオキシン類の ^{13}C-ラベル化体を用いた。これらは Wellington Laboratories 社から購入した。シリンジスパイクとして 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-^{13}C（Wellington Laboratories 社製）を用いた。さらに，ダイオキシン類の定量用標準物質として Wellington Laboratories 社製混合標準溶液を用いた。また、コントロール試料として日水製薬社製の精度管理用凍結プール血清、L-コンセーラ II を使用した。

２．分析方法

ヒト血液中のダイオキシン類の抽出、精製は戸高らの報告に従って実施した [1)]。試料約 5 g を精秤し、クリーンアップスパイクを添加し、高速溶媒抽出により血液からダイオキシン類を抽出した。抽出液を硫酸処理、硝酸銀シリカゲルカラムにより精製した。次いで、活性炭カラムにより不純物を除去し、トルエンによりダイオキシン類

を分画した。溶出したトルエンを濃縮し、シリンジスパイクを添加し、約 200 µL のトルエン溶液を測定検液とした。

ダイオキシン類濃度測定には高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HRGC/HRMS)、HP6890 (Agilent Technologies 社製)/Autospec Premier (Waters 社製) を用いた。GC 注入口には胃袋型インサートを用いた大量注入装置であるアイスティサイエンス社製の LVI-S200 (以下、LVI) を使用した。また、ソルベントカット大量注入法として LVI および SilFlow を結合させた HRGC/HRMS の測定システム (以下、LVI-SilFlow) を用いた。LVI-SCLV では、プレカラムには SGE 社製の BPX-5(φ0.25 mm×7 m、膜厚 0.25 µm)、分析カラムには SGE 社製の BPX-Dioxin-I (φ0.15 mm×30 m) を使用した。ダイオキシン類の測定条件を表 1 に示す。ダイオキシン類測定では、測定検液 100 µL を LVI に導入し、分解能 10000 以上で定量した。

(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 28-1 号平成 28 年 6 月 16 日承認)。

C. 研究結果・考察

1. LVI-SilFlow と LVI-SCLV (従来法) の比較

図 2 に LVI-SilFlow の概略図を示す。LVI-SilFlow では、装置に注入された試料は先に述べた LVI-SCLV と同様に４つの工程を経て MS 部に導入される。

LVI-SilFlow システムにおいて 0.0025 ng/mL のダイオキシン類標準溶液を 100 µL 注入して得られたマスクロマトグラムと、LVI-SCLV システムにおいて得られたマスクロマトグラムを図 3 に示す。なお、図 3 では測定対象のダイオキシン類で最初に検出される tetrachlorobiphenyls (TeCBs)、診断基準に使用されている pentachlorodibenzofurans(PeCDFs) および最後に検出される octachlorodibenzofuran(OCDF) のマスクロマトグラムを示した。両システムの比較が容易なように同じ m/z のマスクロマトグラムを並列して記載した (図 3)。一般的なキャピラリーカラムでは、測定対象物質の中で 3,4,4',5-tetrachlorobiphenyl (以下、PCB81) が最も早くプレカラムから溶出し、OCDF が最後に溶出する. SCLV では、プレカラムから溶出する PCB81 から OCDF までを分析カラムへ導き、それ以外の夾雑物は系外へ排出される。図 3 に示すように両システムとも同様なマスクロマトグラムが得られたことから、SilFlow でも SCLV と同じ機構で作動していることが分かった。両システムでは大量な溶媒を注入しているため、溶媒蒸気が質量分析計の真空度に影響を与える可能性があるが、両システムとも真空度の変動が非常に少なく、SilFlow においても溶媒カットが機能していることが分かった。

SilFlow の流路の内壁は高不活性化処理されており、ダイオキシン類が吸着しにくい。また、Sliflow ではデッドボリュームが非常に小さい構造となっており、キャピラリーカラムとの接続には金属製フェラル

の SilTite が使用されているため、コンタミネーションのリスクが低減された。さらに、SilTite FingerTite により手締めで簡単に接続が可能であり、SCLV と比較して接続部分が少なく、測定システムでの漏れのリスクが低減された。

２．LVI-SilFlow を用いた標準物質およびコントロール試料中のダイオキシン類測定における再現性評価

我々は、血液中ダイオキシン類の測定において 1 バッチあたりコントロール試料を含む 24 試料を同時に抽出、精製を行い、HRGC/HRMS で分析している。その際、毎回、標準物質およびコントロール試料を HRGC/HRMS で測定し、解析結果から各測定の妥当性を評価している。ここでは、LVI-SilFlow システムを用いて 8 バッチの血液中ダイオキシン類を測定したときの各バッチの標準物質の相対感度係数（以下、RRF）を表 2 に、各バッチのコントロール試料の測定結果を表 3 に示す。なお、コントロール試料の濃度は、脂肪量測定における誤差を除外するため、湿重量ベースで算出した。

血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル[6]では、RRF の変動は前回の測定時と比較して±20%以内であることと規定されている。Table 2 では、8 バッチの標準物質の測定結果から得られた各同族体の RRF の平均値も示し、各測定における RRF は平均値と比べ−10.5%～12.5%の範囲内にあり、±20%以内であった。したがって、SilFlow においても再現性良くダイオキシン類の安定な測定が可能であった。

表 3 に 8 バッチ分のコントロール試料の測定結果と各同族体の平均値、標準偏差（SD）および相対標準偏差（CV）を示す。血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアルでは、二重測定の結果は各同族体の実測濃度と実測濃度の平均値との差が 50%以内であることを要求している。表 3 に示すように各同族体の CV は最小で 4.1%、最大で 12.1%であり、SilFlow でも再現性の良い血中ダイオキシン類測定が可能であった。SilFlow ではハートカットのタイミングのズレにより PCB81 および OCDF 濃度が減少する可能性があるが、これらの同族体においても変動は小さかった。また、TEF を持つダイオキシン類の総濃度および毒性等価量（TEQ）の相対標準偏差はそれぞれ 3.0%および 3.2%であり、高い再現性を示した。また、このコントロール試料は戸高らが LVI-SCLV で測定し報告したものと同様であり、そのダイオキシン類濃度は 0.063 pg-TEQ/g であり[2]、今回我々が報告した濃度（0.067 pg-TEQ/g）と同等であった。以上のことから、SilFlow はこれまで使用してきた SCLV に代替可能であり、血中のダイオキシン類の測定に適用できると考えられる。

D．結論

Deans Switch 型 SilFlow を使用し、SCLV と同等に血中のダイオキシン類の高感度測定が可能か検討した。血液中のダイオキシン類測定において Deans Switch 型 SilFlow は、従来から使用している SCLV と同様の機構で作動し、標準物質およびコントロール試料の測定でも再現性の高い結果が得られた。SilFlow は従来法と比べて、デッドボリュームが非常に小さく、コンタミネーションの影響が少ない。取り扱いも容易であり、SCLV の代替として適用可能であることが証明された。

E．研究発表

１．論文発表

1) Yasutake D, Tobiishi K, Hirakawa H, Shintani Y, Kogiso T, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Mitoma C, Furue M. Application of a solvent-cut large-volume injection system using Deans switch-type SilFlow in a dioxin analysis of human blood. Organohalogen Compounds. 2017. in press.

２．学会発表

1) Yasutake D, Tobiishi K, Hirakawa H, Shintani Y, Kogiso T, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Mitoma C, Furue M. Application of a solvent-cut large-volume injection system using Deans switch-type SilFlow in a dioxin analysis of human blood. 37th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs), Vancouver, Canada, 2017, August 20-25.

2) Hirakawa S, Miyawaki T, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Hirano M, Yoshinofuchi Y, Iwata H, Mitoma C, Furue M. Characteristics of PCB congeners accumulated in Yusho patients and estimation of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico docking simulation. 37th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs), Vancouver, Canada, 2017, August 20-25.

3) 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, 血液中ダイオキシン類分析のクロスチェック (2016 年度)、第 26 回環境化学討論会(静岡市)、2017 年 6 月 7-9 日

E. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

参考文献

1) Todaka T : New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Acta Med. 94 : 148-157, 2003.
2) Todaka T, Uchi H, Hirakawa H, Kajiwara J and Furue M : Development of a newly large-volume injection system for dioxin determinations in blood of yusho patients. Fukuoka Acta. Med. 104 : 110-117, 2013
3) Deans D R : An improved technique for back-flushing gas chromatographic columns. J.Chromatogr. A. 18 : 477-481, 1965.
4) Deans D R : Use of heart cutting in gas chromatography : A review. J. Chromatogr. A. 203 : 19-28, 1981.
5) Boeker P, Leppert J, Mysliwietz B, and Lammers P : Comprehensive theory of Deans' switch as a variable flow splitter: fluid mechanics, mass balance, and system behavior. Anal. Chem. 85 : 9021-9030, 2013.
6) 厚生労働省医薬局審査管理課 : 血液中のダイオキシン類暫定マニュアル (平成 12 年 12 月)

図１　Deans Switch 型 SilFlow の外観と形状

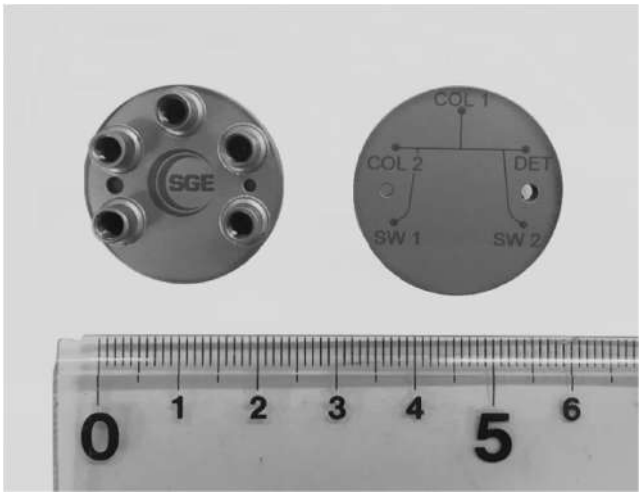


図２　LVI-SilFlow システムを装着した HRGC/HRMS の概要

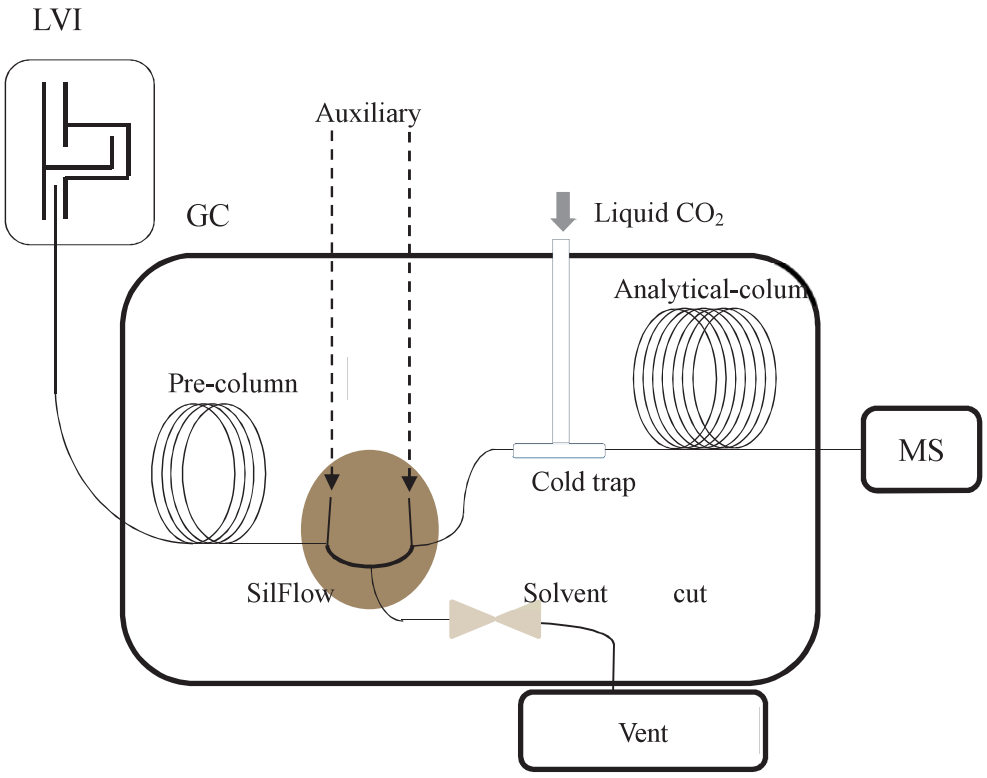


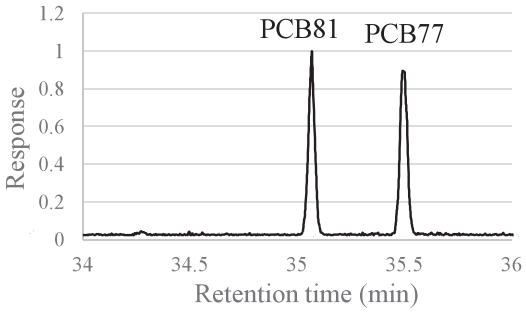
表１　LVI、SilFlow 及び HRGC/HRMS の使用条件

PTV conditons					
PTV	LVI-S200 (AiSTI science Co. Ltd.)				
Purge time	1 min				
Vent flow	300 mL/min				
Programmemed temperature		Rate	Temperature	Hold	
	1st		120℃	1 min	
		120 ℃/min	290 ℃	20.3 min	

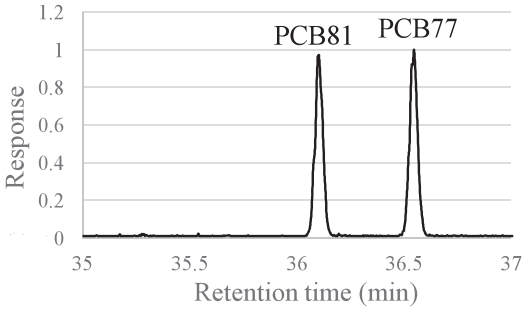
GC conditions				
Gas chromatograph	Model 7890A (Agilent Technologies Ltd.)			
Pre-column	BPX-5 (SGE Ltd.) (7 m × 0.25 mm I.D. × φ0.25 μm)			
Analytical column	BPX-DIOXIN-I (SGE Ltd.) (30 m × 0.15 mm I.D.)			
Carrier gas	He			
Oven temperature		Rate (℃/min)	Temperature (℃)	Hold (min)
			160	4.5
	1st	20	300	12
	2nd	70	195	0.5
	3rd	3.5	300	1.5
Inlet pressure		Rate (kPa/min)	Pressure (kPa)	Hold (min)
			469	4.5
	1st	302	620	18.5
	2nd	112	508	1
	3rd	3.73	620	1.5
Auxiliary pressure #1		Rate (kPa/min)	Pressure (kPa)	Hold (min)
			445	4.5
	1st	333	610	18.5
	2nd	128	482	1
	3rd	4.25	690.5	1.5
Auxiliary pressure #2		Rate (kPa/min)	Pressure (kPa)	Hold (min)
			443.5	4.5
	1st	333	610	18.5
	2nd	128	482	1
	3rd	4.27	610	

MS conditions					
Mass Spectrometer	AutoSpec Premier (Waters Co. Ltd.)				
Ion source temperature	280℃				
Ionization voltage	28 eV				
ionization current	750 μA				
Ionization mode	EI+				
Accelerating voltage	8 kV				
Resolution	>100000				
		Native		Labeled	
Monitor ion (m/z)	TeCDDs	319.8965	321.8936	331.9368	333.9339
	PeCDDs	353.8576	355.8546	365.8978	367.8949
	HxCDDs	387.8186	389.8156	399.8589	401.8559
	HpCDDs	423.7767	425.7737	435.8169	437.814
	OCDD	457.7377	459.7348	469.778	471.775
	TeCDFs	303.9016	305.8987	315.9419	317.9389
	PeCDFs	339.8597	341.8568	351.9	353.897
	HxCDFs	373.8207	375.8178	385.861	387.858
	HpCDFs	407.7818	409.7788	419.822	421.8191
	OCDF	441.7428	443.7398	453.783	455.7801
	TeCBs	289.9224	291.9194	301.9626	303.9597
	PeCB	323.8834	325.8804	335.9237	337.9207
	HxCB	357.8444	359.8415	369.8847	371.8817

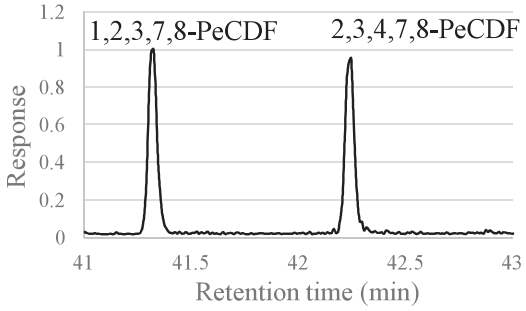
図３　TeCB、PeCB 及び OCDF 各標準品のマスクロマトグラム



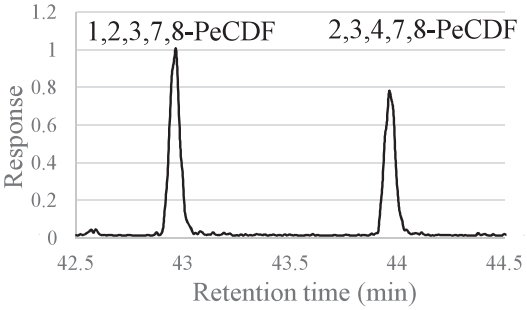
SilFlow TeCBs　(m/z = 291.9194)



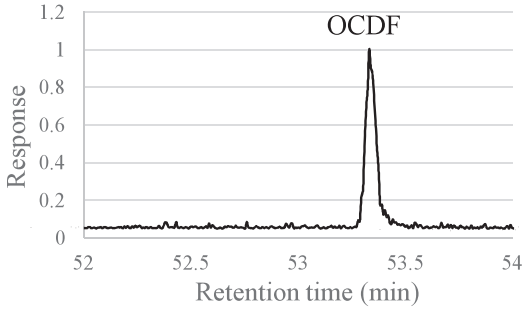
SCLV　TeCBs　(m/z　=



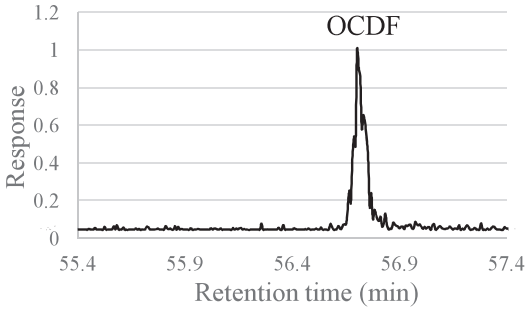
SilFlow PeCDFs　(m/z = 339.8597)



SCLV　PeCDFs　(m/z　=



SilFlow OCDF　(m/z = 443.7398)



SCLV OCDF　(m/z = 443.7398)

表２　LVI-SilFlow システムを用いたダイオキシン類測定における相対感度係数の再現性

Congener	Relative Response Factor (RRF)									Min. RRF /	Max. RRF/
	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	n = 8	Average	Average (%)	Average (%)
2,3,7,8-TCDD	1.013	0.995	1.039	1.006	0.884	0.986	1.001	0.976	0.988	89.5	105.2
1,2,3,7,8-PeCDD	0.923	0.888	0.907	0.821	0.952	0.903	0.882	0.890	0.896	91.6	106.3
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.908	0.987	0.937	0.948	0.969	0.904	0.885	1.005	0.943	93.9	106.6
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.786	0.819	0.857	0.920	0.880	0.845	0.805	0.905	0.852	92.2	107.9
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.794	0.903	0.899	0.895	0.877	0.908	0.920	1.008	0.901	88.1	112.0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.160	1.040	1.094	1.102	1.170	1.187	1.081	1.087	1.115	93.2	106.5
OCDD	0.990	1.033	1.046	1.088	0.971	1.011	1.053	1.197	1.049	92.6	114.2
2,3,7,8-TCDF	0.920	1.118	0.925	0.999	0.976	1.003	0.964	0.971	0.984	93.4	113.6
1,2,3,7,8-PeCDF	0.934	0.912	0.932	1.022	0.911	1.012	0.921	0.898	0.943	95.3	108.4
2,3,4,7,8-PeCDF	1.068	1.008	0.995	0.955	1.058	1.104	0.981	1.043	1.026	93.1	107.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.956	1.063	1.007	1.000	0.939	0.968	0.945	0.992	0.984	95.4	108.0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.912	0.935	1.008	0.932	0.988	0.924	0.974	0.909	0.948	95.9	106.4
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.038	1.041	1.006	1.032	1.014	1.121	1.044	1.180	1.060	94.9	111.4
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.049	1.065	1.086	0.999	1.097	1.028	1.046	1.070	1.055	94.7	104.0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.927	1.003	0.944	1.013	0.917	1.046	0.896	0.939	0.961	93.3	108.9
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.049	1.014	1.094	1.066	0.974	0.989	0.984	0.949	1.015	93.5	107.8
OCDF	0.952	0.978	1.061	0.902	0.901	0.985	0.896	0.870	0.943	92.2	112.5
344'5-TCB(PCB81)	0.936	0.950	0.916	0.947	0.916	0.950	0.932	0.966	0.939	97.5	102.9
33'4'4'-TCB(PCB77)	1.025	1.025	1.021	1.019	1.046	1.006	1.027	1.062	1.029	97.8	103.2
33'44'5-PenCB(PCB126)	1.132	1.037	1.110	1.102	1.063	1.084	0.979	1.066	1.072	91.3	105.6
33'44'55'-HxCB(PCB169)	0.926	0.845	0.954	0.927	0.888	0.995	0.897	0.973	0.926	91.3	107.5

表３　LVI-SilFlow システムを用いたコントロール試料分析におけるダイオキシン類濃度の再現性

Congeners	Concentrations (pg/g)								Mean	SD	CV
	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	n = 8			
2,3,7,8-TCDD	0.0042	0.0043	0.0046	0.0040	0.0046	0.0042	0.0045	0.0040	0.0043	0.00022	5.0%
1,2,3,7,8-PeCDD	0.016	0.019	0.017	0.020	0.018	0.016	0.019	0.018	0.018	0.0012	6.7%
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.021	0.017	0.022	0.020	0.018	0.019	0.017	0.022	0.020	0.0018	9.3%
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.15	0.18	0.17	0.14	0.15	0.15	0.16	0.14	0.16	0.013	8.5%
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.026	0.027	0.024	0.024	0.029	0.027	0.032	0.025	0.027	0.0025	9.2%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.37	0.39	0.37	0.33	0.40	0.35	0.47	0.47	0.40	0.048	12.1%
OCDD	2.4	2.4	2.5	2.3	2.5	2.4	2.3	2.2	2.4	0.099	4.1%
2,3,7,8-TCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	0.015	0.016	0.020	0.018	0.019	0.020	0.015	0.018	0.018	0.0018	10.4%
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.020	0.023	0.027	0.021	0.022	0.026	0.023	0.021	0.023	0.0023	10.3%
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.020	0.022	0.023	0.018	0.021	0.021	0.019	0.018	0.020	0.0016	7.8%
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.042	0.049	0.054	0.044	0.048	0.045	0.048	0.052	0.048	0.0039	8.1%
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
344'5-TCB(PCB81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
33'4'4'-TCB(PCB77)	0.097	0.091	0.10	0.083	0.098	0.094	0.100	0.083	0.093	0.0066	7.0%
33'44'5-PenCB(PCB126)	0.062	0.063	0.073	0.059	0.060	0.066	0.070	0.057	0.064	0.0052	8.2%
33'44'55'-HxCB(PCB169)	0.050	0.058	0.062	0.058	0.061	0.055	0.057	0.054	0.057	0.0036	6.4%
Total PCDDs	3.0	3.1	3.1	2.9	3.1	3.0	3.0	2.9	3.0	0.086	2.9%
Total PCDFs	0.12	0.13	0.14	0.12	0.14	0.13	0.13	0.13	0.13	0.0074	5.7%
Total PCDDs/PCDFs	3.1	3.2	3.3	3.0	3.3	3.1	3.1	3.0	3.1	0.092	2.9%
Total Non-ortho-PCBs	0.22	0.23	0.25	0.21	0.23	0.23	0.24	0.21	0.23	0.013	5.5%
Total	3.4	3.4	3.5	3.2	3.5	3.4	3.4	3.2	3.4	0.10	3.0%
TEQ from PCDDs	0.045	0.050	0.048	0.046	0.047	0.045	0.050	0.047	0.047	0.0017	3.6%
TEQ from PCDFs	0.010	0.011	0.012	0.011	0.012	0.012	0.011	0.011	0.011	0.00072	6.4%
TEQ from PCDDs/PCDFs	0.056	0.061	0.060	0.057	0.059	0.057	0.060	0.058	0.059	0.0017	3.0%
TEQ from Non-ortho-PCBs	0.0077	0.0081	0.0091	0.0077	0.0078	0.0083	0.0088	0.0073	0.0081	0.00058	7.1%
Total-TEQ	0.063	0.069	0.069	0.065	0.067	0.065	0.069	0.065	0.067	0.0021	3.2%

平成 29 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金

分担研究報告書

「安静時機能的 MRI 新規解析手法による脳機能的結合変化の解明」に関する研究

研究分担者　　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

カネミ油症患者では四肢異常感覚を多く認めるが,原因解明後 40 年以上が経過した現在では自覚的異常感覚を有する症例は減少している。症状が軽減している油症患者では、大脳皮質感覚野の神経結合変化により自覚的異常感覚が減少している可能性があり、機能的結合変化を検出するため安静時機能的 MRI による解析を行った。

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健常者/アルツハイマー病(AD)患者において安静時機能的 MRI 撮像と解析を行うものとした。T1 強調画像、T2 強調画像、resting-fMRI 撮像を同時に行う。CONN ソフトウェアを使用した独立成分分析にて安静時機能的ネットワークを同定し、薬物治療および経時変化を確認する。

（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

CONN による独立成分分析にて Default Mode Network (DMN)をはじめとした複数の安静時機能的ネットワークを同定することができた。また AD 患者では投薬治療後、左中側頭回での機能的結合の増加を認めた。

D．考察

本研究により CONN を用いた独立成分分析にて安静時機能的ネットワークを抽出することができ、その治療による可塑性を証明することができた。今後カネミ油症において安静時機能的 MRI 撮像を行い、独立成分分析を実施することで、カネミ油症患者の異常感覚が減衰する機序が解明され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 撮像と独立成分分析によりカネミ油症患者に生じる異常感覚の減衰を確認できる手法が確立された。

Ｆ．研究発表

Functinal connectivity changes related to cognitive improvement by acetylcholine esterase inhibitors in Alzheimer's disease
Yamashita et al. The XXIII World Congress of Neurology (WCN 2017) 2017 Kyoto

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

桂枝茯苓丸臨床試験の報告

研究分担者　三苫千景　九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター　准教授
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
研究協力者　宮崎　昭行　　医療法人　山内診療所　診療所長

研究要旨　桂枝茯苓丸臨床試験の解析を行った。3 カ月内服後に、血清一酸化窒素濃度が上昇していた。桂枝茯苓丸は血管拡張により末梢循環改善を来し、油症の様々な症状を改善する可能性が示唆された。

A．研究目的

ダイオキシン類の毒性の大半は、芳香族炭化水素受容体(arylhydrocarbon receptor、以下 AHR)を介して発揮される。様々な植物成分や生薬がこの AHR 活性を抑制する。漢方薬は複数の生薬から構成されており、油症の症状の緩和が期待される。桂枝茯苓丸は末梢循環を改善する効能を有する、駆“お血”剤として日常診療で使用されている。基礎的研究により、桂枝茯苓丸の生薬の一つ、ケイヒ、その主成分であるシンナムアルデヒドは AHR 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ことが明らかになった[1]。これを受けて、平成 27 年度に桂枝茯苓丸臨床試験を施行した。投与前後に採取した血液検体を用いて、酸化ストレス、抗酸化ストレス機構のマーカー、および一酸化窒素(NO)濃度の変動を検証した。

B．研究方法

桂枝茯苓丸臨床試験は、オープンラベル単群介入試験として実施した。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、52 名の被験者に対して登録後 3 ヵ月間、桂枝茯苓丸（ツムラ）一日量 7.5ｇを 2.5ｇずつ毎食前に内服した。開始時、開始 3 カ月後の血液を採取し、血清 NO 代謝産物（NO）、Cu/Zn-SOD、および HEL 濃度を ELISA にて、血液中 *NRF2*、*NQO1* 発現は定量化 RT-PCR にて検討した。

＜統計学的方法＞

最大の解析対象集団（FAS）（N=52）を対象に、各々の血清濃度値、mRNA 発現について、各時点の平均値と標準偏差を求めた。また、線形混合効果モデルを用いてベースラインからの変化量について解析を行った。さらに FAS を対象に、欠測値を last-observation-carried forward (LOCF) による補完後、同様の解析を行った

（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、統計学的解析、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

桂枝茯苓丸投与前（ベースライン）と比較して、3 カ月投与後の血清 NO 濃度は上昇していた（表１）。ベースラインの NO は中央値(S.E.) 8.91 ppb (1.15)(range2.24-37.43)、3 カ月後は 11.67 ppb (1.85)(range 2.24-67.20)だった。他の項目においては、投与前後に統計学的に有意な差はなかった。

D．考察

古くから桂枝茯苓丸は末梢循環改善作用を有することが知られている。それを科学的に裏付ける知見、血小板凝集抑制作用[2]、血管拡張因子である NO 産生増加作用[3]も報告されている。さらに、近年、ヒト表皮細胞を用いた検証により桂枝茯苓丸は AHR 活性を抑制し、抗酸化機構を促進する作用も有した[1]。昨年の報告で示したように、桂枝茯苓丸臨床試験において、自覚症状 VAS、生活の質(QOL)の向上がみられた。そこで、桂枝茯苓丸の作用機序を解明すべく、血清 NO 濃度、酸化ストレスを反映した項目として HEL、抗酸化ストレスを反映した項目として Cu/Zn-SOD、抗酸化機構の主たる転写因子 *NRF2*、および *NRF2* の標的遺伝子 *NQO1* の発現の変動を検証した。

その結果、投与前後の血清 NO 濃度の上昇が確認された。

E．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、桂枝茯苓丸が血管拡張を誘導し、様々な油症の症状を改善するのに寄与している可能性が示唆された。

F．研究発表

１．論文発表

1. Fuyuno Y, Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Tanaka Y, Mitoma C, Furue M. Perillaldehyde Inhibits AHR Signaling and Activates NRF2 Antioxidant Pathway in Human Keratinocytes. *Oxid Med Cell Longev* (in press).
2. Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017 Dec 1. doi: 10.1007/s11356-017-0833-1.
3. Murai M, Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Kawakami Y, Furue M, Mitoma C. An endogenous tryptophan photo-product, FICZ, is potentially involved in photo-aging by reducing TGF-ß-regulated collagen homeostasis. *J Dermatol Sci*. 2017 Oct 16. doi: 10:1016/j.jdermsci. 2017.10.002.

２．学会発表

該当なし

G．知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

1. Uchi H, et al. Inhibition of aryl hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in human keratinocytes. *J Dermatol Sci*. 2017; 85(1): 36-43.
2. Terawaki K, et al. Keishibukuryogan, a traditional Japanese medicine, inhibits platelet aggregation in Guinea pig whole blood. *Evid Based Complement Alternat Med* 2015; 2015: 295706. doi: 10.1155/2015/295706.
3. Tomita T, et al. Effect of Keishibukuryogan, a Japanese traditional kampo prescription, on improvement of microcirculation and Oketsu and induction of endothelial nitric oxide: a live imaging study. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017; 2017: 3620130. doi: 10.1155/2017/3620130

表1. 血液中酸化ストレスおよび抗酸化ストレスマーカー値のベースラインからの変化量/ LOCF による補完後（対象:FAS）

項目	時期	CFB	S.E.	*p* value	95%CI	
					Lower	Upper
NO (ppb)	3 ヶ月	4.65	1.58	**0.005**	1.47	7.83
HEL (nmol/L)	3 ヶ月	1.16	0.75	0.13	−0.36	2.67
Cu/Zn-SOD (ng/ml)	3 ヶ月	3.20	7.84	0.68	−12.53	18.93
NRF2 mRNA	3 ヶ月	0.03	0.29	0.91	−0.55	0.61
NQO1 mRNA	3 ヶ月	0.11	0.14	0.43	−0.17	0.38

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

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 29 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）
研究協力者 吉田 大悟
（九州大学大学院医学研究院 衛生・公衆衛生学分野・助教）

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 29 年度は、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、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。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の上昇に伴い、肝・胆道系機能マーカーの平均値は有意に上昇したが基準値の範囲内であった。この関係は多変量調整後も認められた。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と肝・胆道系障害を有するリスクについては、総ビリルビン値の異常において有意な正の関係を認めるも、異常値を有する頻度は低かった。
今後は、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。

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。

血中ダイオキシン濃度を 3 分位したのち疾病及び疾病マーカーとの関連を検討した。解析には共分散分析とロジスティック回帰分析を用い、性、年齢、BMI、収縮期血圧、総コレステロール、HDL コレステロール、HbA1c、運動習慣、飲酒習慣、喫煙習慣を交絡因子として調整した。

（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を用いて、血中ダイオキシン類濃度と疾病及び疾病マーカーとの関連について検討した。

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図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 10.5pg/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。男女で明らかな差を認めなかった。

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 2）。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。

続いて 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度を3分位し対象者の臨床背景について検討した（表 1）。2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度が上昇するとともに膵臓疾患の既往者が増加し、腹部エコー異常を有する者や喫煙習慣がある者の頻度は減少した。

次に 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度別に性年齢調整した血液検査値を比較した（表２）。2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度が上昇するとともに AST、γ-GTP、総ビリルビン値が有意に上昇した。この関係は性、年齢、BMI、収縮期血圧、総コレステロール、HDL コレステロール、HbA1c、運動習慣、飲酒習慣、喫煙習慣を調整後も認められた（表 3）。

一方、その他の検査値では 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度と明らかな関連を認めなかった。

最後に 2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度と肝・胆道系疾病マーカーの基準値を超える障害を有するリスクについてロジスティック回帰分析を用いて検討した。2,3,4,7,8-PentaCDF の濃度が上昇するとともに総ビリルビン値 1.5mg/dL 以上を有するオッズ比は多変量調整後も直線的に上昇したが、異常値を有する頻度は低かった。一方、2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度と AST、ALT、γ-GTP 異常との間に明らかな関連を認めなかった。

D. 考察

本年度は、平成 27 年度に福岡県久山町に在住する地域住民 495 人を対象に実施した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を用いて、血中ダイオキシン類濃度と疾病マーカーの関連について解析を行った。

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。

血中の 2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度が上昇するとともに AST、γ-GTP、総ビ

リルビン値の平均値が上昇していた。また、総ビリルビン高値のリスクと正の関連を示した。2,3,4,7,8-PentaCDF の代謝には肝臓、胆のうが関係しているため AST、γ-GTP、総ビリルビン値が上昇している可能性がある。しかし、いずれも基準値範囲であり、これらのマーカーが異常値を有する頻度は 2,3,4,7,8-PentaCDF の各群において 1～3%と著しく低かったことから、臨床的に有害性は低いと考えられる。

E. 結論

本研究では、地域住民において血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾病マーカーとの関連を検討する。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が、これと相関する臨床上明らかな異常所見は認めなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Hata J, Fukuhara M, Sakata S, Arima H, Hirakawa Y, Yonemoto K, Mukai N, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. White-coat and masked hypertension are associated with albuminuria in a general population: the Hisayama Study. ***Hypertens Res*** 40:937-943, 2017
2) Sakata S, Hata J, Fukuhara M, Yonemoto K, Mukai N, Yoshida D, Kishimoto H, Ohtsubo T, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Morning and evening blood pressures are associated with intima-media thickness in a general population: the Hisayama Study. ***Circ J*** 81 :1647-1653, 2017
3) Oishi E, Ohara T, Sakata S, Fukuhara M, Hata J, Yoshida D, Shibata M, Ohtsubo T, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Day-to-day blood pressure variability and risk of dementia in a general Japanese elderly population: the Hisayama Study. ***Circulation*** 136:516-525, 2017
4) Nagata M, Hata J, Hirakawa Y, Mukai N, Yoshida D, Ohara T, Kishimoto H, Kawano H, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. The ratio of serum eicosapentaenoic acid to arachidonic acid and risk of cancer death in a Japanese community: the Hisayama Study. ***J Epidemiol*** 27: 578-583, 2017
5) Mukai N, Ohara T, Hata J, Hirakawa Y, Yoshida D, Kishimoto H, Koga M, Nakamura U, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Alternative measures of hyperglycemia and risk of Alzheimer's disease in the community: the Hisayama Study. ***J Clin Endocrinol Metab*** 102:3002-3010, 2017
6) Ozawa M, Yoshida D, Hata J, Ohara T, Mukai N, Shibata M, Uchida K, Nagata M, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Dietary protein intake

and stroke risk in a general Japanese population: the Hisayama Study. ***Stroke*** 48:1478-1486, 2017.

7) Umehara K, Mukai N, Hata J, Hirakawa Y, Ohara T, Yoshida D, Kishimoto H, Kitazono T, Hoka S, Kiyohara Y, Ninomiya T. Association Between Serum Vitamin D and All-Cause and Cause-Specific Death in a General Japanese Population - The Hisayama Study. Circ J 81:1315-1321, 2017
8) Ohara T, Hata J, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Iwaki T, Kitazono T, Kanba S, Kiyohara Y, Ninomiya T. Trends in dementia prevalence, incidence, and survival rate in a Japanese community. ***Neurology*** 88:1925-1932, 2017
9) Takeuchi K, Ohara T, Furuta M, Takeshita T, Shibata Y, Hata J, Yoshida D, Yamashita Y, Ninomiya T. Tooth loss and risk of dementia in the community: the Hisayama Study. ***J Am Geriatr Soc*** 65:e95-e100, 2017
10) Hirakawa Y, Ninomiya T, Kiyohara Y, Murakami Y, Saitoh S, Nakagawa H, Okayama A, Tamakoshi A, Sakata K, Miura K, Ueshima H, Okamura T; Evidence for Cardiovascular Prevention From Observational Cohorts in Japan Research Group (EPOCH-JAPAN). Age-specific impact of diabetes mellitus on the risk of cardiovascular mortality: An overview from the evidence for Cardiovascular Prevention from Observational Cohorts in the Japan Research Group (EPOCH-JAPAN). ***J Epidemiol*** 27:123-129, 2017
11) Shimazaki Y, Fu B, Yonemoto K, Akifusa S, Shibata Y, Takeshita T, Ninomiya T, Kiyohara Y, Yamashita Y. Stimulated salivary flow rate and oral health status. ***J Oral Sci*** 59:55-62, 2017

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

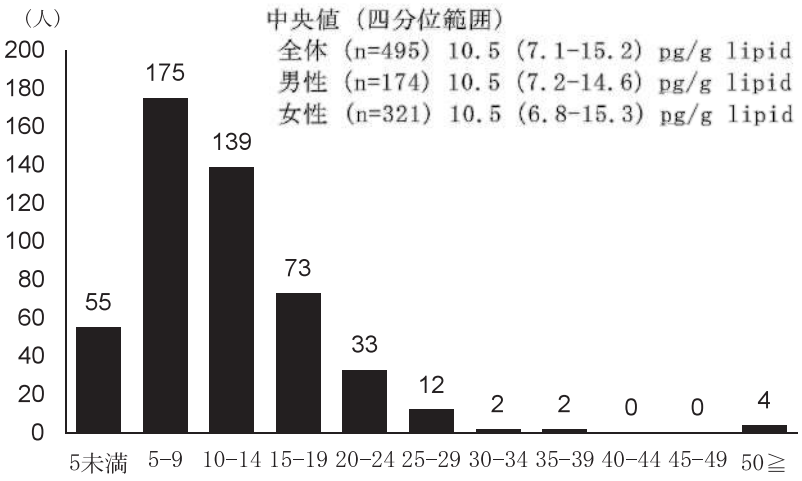


図１．2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度の分布，久山町男女 495 人

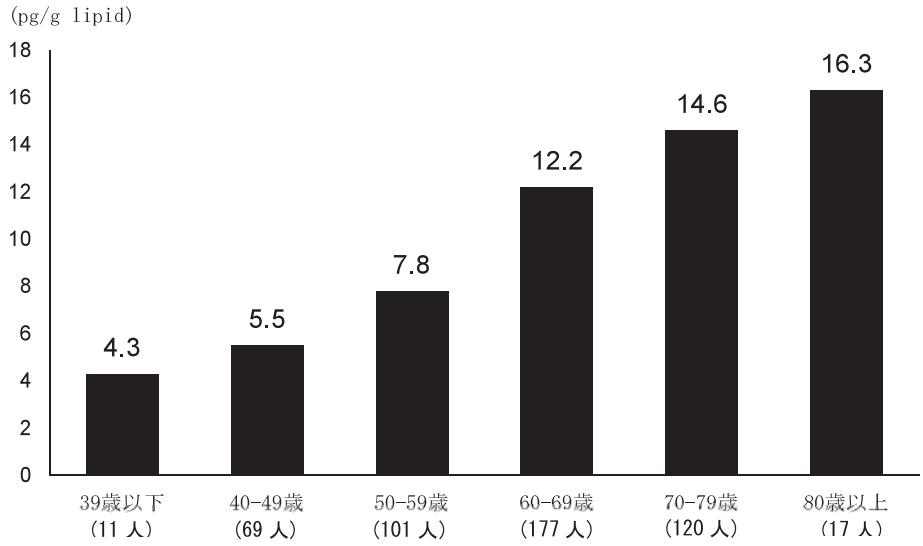


図 2．年齢階級別 2,3,4,7,8-PentaCDF 濃度の分布，久山町男女 495 人

表 1. 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度別の対象者の臨床背景因子（性年齢調整）

臨床背景因子	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)			傾向性 P
	Q1 (0.9-7.9)	Q2 (8.0-13.0)	Q3 (13.1-170.7)	
	n=163	n=166	n=166	
収縮期血圧(mmHg)	133	129	133	0.89
拡張期血圧(mmHg)	75.0	74.9	74.2	0.58
BMI (kg/m^2)	22.8	22.8	23.1	0.53
身長 (cm)	158.6	158.5	156.8	0.02
体重 (kg)	57.6	57.3	56.9	0.54
骨密度 (g/cm^2)	0.62	0.62	0.61	0.31
Young Adult Mean (%)	89	89	87	0.10
癌の既往 (%)	5.1	8.3	8.9	0.28
脳血管疾患の既往 (%)	22.5	15.0	17.2	0.38
心疾患の既往 (%)	19.2	21.6	22.5	0.57
肝臓疾患の既往 (%)	20.2	19.2	14.5	0.25
膵臓疾患の既往 (%)	5.9	16.5	15.8	0.046
腎臓疾患の既往 (%)	31.0	39.5	23.8	0.19
内科診察異常所見 (%)	13.8	11.5	14.9	0.80
皮膚科診察異常所見 (%)	28.6	32.8	29.8	0.88
眼科診察異常所見 (%)	2.6	5.2	6.3	0.21
心電図異常 (%)	3.1	6.7	7.2	0.22
胸部レントゲン異常 (%)	8.2	4.4	3.2	0.07
腹部エコー異常 (%)	23.0	22.1	13.0	0.045
運動習慣 (%)	54.9	59.3	63.3	0.24
喫煙習慣 (%)	14.7	5.8	4.6	0.003
飲酒習慣 (%)	45.6	52.0	47.6	0.84

表 2. 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度別にみた血液検査値の比較 （性年齢調整）

	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)			傾向性 P
	Q1 (0.9-7.9)	Q2 (8.0-13.0)	Q3 (13.1-170.7)	
総蛋白(g/dL)	7.3	7.3	7.3	0.89
アルブミン(g/dL)	4.4	4.5	4.5	0.41
AST(U/L)	22	25	26	0.01
ALT(U/L)	20	24	23	0.17
LDH(U/L)	182	194	192	0.05
ALP(U/L)	226	233	221	0.52
γ-GTP(U/L)	26	35	44	0.049
総ビリルビン(mg/dL)	0.7	0.8	0.8	0.02
直接ビリルビン(mg/dL)	0.2	0.2	0.2	0.34
コリンエステラーゼ(U/L)	361.5	376.0	354.1	0.42
アミラーゼ(U/L)	91.4	88.9	86.3	0.38
LAP(U/L)	52.7	55.4	55.4	0.10
総コレステロール(mg/dL)	213.1	214.4	212.0	0.80
HDL コレステロール(mg/dL)	65.1	68.5	67.6	0.31
中性脂肪(mg/dL)	108.1	109.0	115.2	0.53
LDL コレステロール(mg/dL)	126.5	124.7	121.7	0.27
βリポ蛋白(mg/dL)	342.9	336.5	339.3	0.80
尿酸(mg/dL)	5.1	5.2	5.2	0.54
尿素窒素(mg/dL)	14.8	15.4	14.8	0.86
クレアチニン(mg/dL)	0.7	0.7	0.7	0.83
eGFR (ml/分/1.73m^2)	73.6	73.1	75.4	0.33
Na(mEq/L)	140.4	140.6	140.3	0.64
K(mEq/L)	4	4	4	0.81
Ca(mEq/L)	9.3	9.4	9.3	0.47
無機リン(mEq/L)	3.4	3.5	3.5	0.30
空腹時血糖(mg/dL)	95.4	97.7	99	0.12
HbA1c(%)	5.6	5.7	5.7	0.24
CRP(ng/mL)	853.9	855.3	803	0.80
HBs 抗原陽性(%)	0	0	0	0.90
HCV 抗体陽性(%)	0.4	0.1	0.6	0.68

性年齢調整後の平均値または%を示す

2,3,4,7,8-PeCDF は、定量下限値(1.0 pg/g lipid)未満の場合は 0.9 を代入した。

表 2 続き

	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)			傾向性
	Q1 (0.9-7.9)	Q2 (8.0-13.0)	Q3 (13.1-170.7)	P
SpA(ng/mL)	35.1	33.7	35.0	1.00
SpD(ng/mL)	61.4	60.4	56.1	0.36
リウマチ因子(IU/mL)	15	18.6	4.5	0.23
抗 CCP 抗体(U/mL)	1.6	2.8	2.8	0.67
MMP-3(ng/mL)	58.8	56.7	56.8	0.54
SSA 抗体(U/mL)	14.5	9.3	15.2	0.87
SSB 抗体(U/mL)	8.7	7.6	8.2	0.87
抗トポイソメラーゼ 1 抗体 (U/mL)	9.7	7.3	8.0	0.55
抗セントロメア抗体 (I.D)	5.2	5.5	6.2	0.32
甲状腺刺激ホルモン TSH (μIU/mL)	2.7	3.3	3.3	0.34
Free-T4(ng/dL)	1.2	1.2	1.2	0.16
抗 TSH レセプター抗体 (IU/mL)	0.5	0.6	0.4	0.63
総 IgE(IU/mL)	183.5	182.8	246.2	0.28
TRACP5b(mU/dL)	401.5	418.9	380.1	0.3
P1NP(μg/L)	45.9	48.7	43.8	0.43
白血球数(μL)	5302	5022	5072	0.25
白血分画(%)				
桿状核球	3.1	3.2	3.3	0.57
分葉核球	52.4	50.4	52.5	0.89
リンパ球	34.7	36.8	34.9	0.97
単球	5.8	5.3	5.5	0.28
好酸球	3.3	3.6	3.2	0.80
好塩基球	0.7	0.8	0.7	0.50
赤血球数(×10^4/μL)	458	462	450	0.07
血色素量(g/dL)	13.7	13.9	13.8	0.79
ヘマトクリット(%)	42.1	42.5	42.1	0.98
血小板数(×10^4/μL)	24.8	24	24.2	0.55

性年齢調整後の平均値または%を示す
2,3,4,7,8-PeCDF は、定量下限値(1.0 pg/g lipid)未満の場合は 0.9 を代入した。

表 3. 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度別にみた肝・胆道系機能マーカーの平均値（多変量調整）

	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)			傾向性 P
	Q1 (0.9-7.9)	Q2 (8.0-13.0)	Q3 (13.1-170.7)	
AST (U/L)	22.4	24.9	25.3	0.045
ALT (U/L)	20.6	23.4	22.6	0.31
γ-GTP (U/L)	25.7	35.1	44.2	0.04
総ビリルビン (mg/dL)	0.68	0.75	0.76	0.04
LDH (U/L)	183.8	193.7	190.9	0.17
ALP (U/L)	223.9	235.8	220.7	0.63

多変量調整：性、年齢、BMI、収縮期血圧、総コレステロール、HDL コレステロール、HbA1c、運動習慣、飲酒習慣、喫煙習慣

表 4. 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度別にみた肝・胆道系機能障害を有するリスク

	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)			傾向性 P
	Q1 (0.9-7.9)	Q2 (8.0-13.0)	Q3 (13.1-170.7)	
AST>30U/L				
有病者数(人)	15	29	30	
オッズ比 (95%CI)				
性年齢調整	1.00 (基準)	1.77 (0.86-3.62)	1.70 (0.77-3.80)	0.24
多変量調整	1.00 (基準)	1.65 (0.79-3.43)	1.52 (0.67-3.43)	0.40
ALT>30U/L				
有病者数(人)	24	30	24	
オッズ比 (95%CI)				
性年齢調整	1.00 (基準)	1.37 (0.72-2.61)	1.10 (0.52-2.34)	0.83
多変量調整	1.00 (基準)	1.35 (0.68-2.68)	0.97 (0.44-2.16)	0.90
γ-GTP>50U/L				
有病者数(人)	20	17	17	
オッズ比 (95%CI)				
性年齢調整	1.00 (基準)	1.16 (0.53-2.51)	1.72 (0.72-4.12)	0.23
多変量調整	1.00 (基準)	1.24 (0.55-2.82)	1.98 (0.76-5.12)	0.16
総ビリルビン>1.5mg/dL				
有病者数(人)	2	3	5	
オッズ比 (95%CI)				
性年齢調整	1.00 (基準)	2.77 (0.40-19.16)	8.28 (1.08-63.28)	0.04
多変量調整	1.00 (基準)	5.26 (0.52-53.54)	15.47 (1.37-174.29)	0.02

調整変数：性、年齢、BMI、収縮期血圧、総コレステロール、HDL コレステロール、HbA1c、運動習慣、飲酒習慣、喫煙習慣

分担研究報告書

カネミ油症患者におけるダイオキシン類異性体の濃度変化と症状の変化の関係に関する研究

研究分担者　赤羽　学　奈良県立医科大学　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　ダイオキシン類は、各種症状を誘発することが知られている。しかし、ダイオキシン類の個々の異性体がどのような症状を引き起こすのかを判別するのは難しい。そこで、患者毎に異性体の濃度の変化率と症状・測定の項目の変化率を求め、異性体と症状・測定の間の相関係数を求めることで、異性体の濃度変化に伴って変化する症状・測定項目を調査した。その結果、男性では、1,2,3,7,8-PeCDF と赤血球数の変化が同様の傾向があった。女性では、Total PCDD と総ビリルビンの変化が同様の傾向にあった。しかし、相関係数は 0.6 以下であり、強い相関という結果は得られなかった。

A．研究目的

ダイオキシン類によって各種の症状が誘発される。しかし、ダイオキシン類による症状は動物種間での差異が大きいため、動物実験の結果をヒトに単純に当てはめることは難しい。

ヒトにおける大規模ダイオキシン暴露として、事件・事故による暴露事例が複数発生した[1]。短期・長期にわたる経過を調査した研究報告が行われてきたが、事件・事故毎のダイオキシン類異性体の組成が同一であるため、各異性体がどのような症状を引き起こすかを明確に示すことは未だにできていない。ダイオキシン類による症状の個人差が大きいことが症状との関係を明確にすることを難しくしている要因の一つである。

平成 14 年度以降の油症検診で、各患者に対してダイオキシン類濃度が複数回測定されている。各患者において、異性体の濃度が減少することに伴って、症状が軽減するならば、当該異性体が症状を引き起こしている可能性が考えられる。

本研究では、ダイオキシン類各異性体の濃度の変化と症状の変化の相関係数を求めることで、症状を引き起こしている異性体の候補を求め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回以上ダイオキシン類を計測している患者で、2,3,4,7,8-PeCDF の濃度が 50pg/g lipid 以上の患者２２６名（男性８２名、女性１４４名）を対象とした。

B．２．解析手法

B．２．１．症状項目の数値化

油症一斉検診に症状・検査のうち、（＋、＋＋、＋＋＋）のように、数値化されていない項目が存在する。数値的な評価を行うために、このような項目については、順番に数値を割り振り数値化した。

B．２．２．変化率の計算

患者ごとに、各症状が、時間経過により、変化している程度を線形回帰を

用いて求める。測定年を独立変数として測定年における症状を従属変数として単変量の線形回帰を行う。独立変数の係数（傾き）が時間経過に伴う症状の変化を表す。数式としてあらわすと、患者 i、項目 j に対して、次の回帰式で係数を求める。

$$y_{ijt} = a_{ij} \cdot t + b_{ij}$$

求められた係数a_{ij}が、変化率である。ダイオキシン類の異性体は、濃度の対数を目的変数として実施した。

Ｂ．２．３．変化無の患者割合

ほとんど変化していない症状・項目がいくつか存在した。また、いくつかのダイオキシン類の異性体は、多くの患者では測定限界値以下であった。このような場合には、変化無と評価される。また、症状項目では、測定項目と比較して値のバリエーションが少なく、値が変化していないことも多い。

Ｂ．２．４．相関係数

濃度の変化率と症状・測定項目の変化率の組み合わせに対して、ピアソンの積率相関を求めた。ほとんどの値が０、つまり変化無の場合に、少数の患者が両項目において変化有となった場合には、相関係数が大きく評価されてしまう。そのため、変化していない患者（変化無）の割合が 50%を超える項目は対象外とした。また、標準偏差の３倍を超えるデータは計算対象外とした。

相関係数が大きい組み合わせに対して、その検討を実施する。

Ｃ．研究結果

Ｃ．１．男性：正の相関が強い組合せ

表１に、男性の正の相関が強い上位の組み合わせを示す。

最も正の相関が強かったのは、1,2,3,7,8-PeCDF と赤血球数の組み合わせであり、1,2,3,7,8-PeCDF の変化無割合は 4.76%で、赤血球数の変化無割合は 1.19%で、相関係数は 0.4747 であった。これは、1,2,3,7,8-PeCDF の減少が強い患者と赤血球数の減少が強い患者が重なっていることを示している。

2 番目、3 番目に強かったのは、3,3,4,4,5,5-HxCB と 3,3,4,4,5-PeCB と咳嗽の組み合わせで、3,3,4,4,5,5-HxCB と 3,3,4,4,5-PeCB の変化無割合は 0.00%で、咳嗽の変化無割合 25.00%、相関係数はそれぞれ、0.4381、0.4087 であった。

Ｃ．２．男性：負の相関が強い組合せ

表２に、男性の負の相関が強い上位の組み合わせを示す。

最も負の相関が強かったのは、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD とアミラーゼの組み合わせであり、双方とも変化無割合は 0.00%で、相関係数は-0.5417 であった。これは、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD の減少が強い患者は、無機リンが増加するという関係があったことを示している。

Ｃ．３．女性：正の相関が強い組合せ

表３に、女性の正の相関が強い上位の組み合わせを示す。

最も正の相関が強かったのは、TotalPCDD と総ビリルビンの組み合わせであった。TotalPCDD の変化無割合は 0.00%で、総ビリルビンの変化無割合は 0.68%で、相関係数は 0.3036 であった。

Ｃ．４．女性：負の相関が強い組合せ

表４に、女性の負の相関が強い上位の組み合わせを示す。

最も負の相関が強かったのは、1,2,3,4,7,8-HxCDF と体重の組み合わせであった。1,2,3,4,7,8-HxCDF の変化無割合は 0.00%で、体重の変化無割合は 0.00%で、相関係数は-0.5117 であった。

Ｄ．考察

ダイオキシン類は、多量に摂取すると健康に被害を及ぼすことが知られている。ダイオキシン類は症状を誘発し、

各種症状は、ダイオキシン類の排泄に影響を与える[2]。

油症発生以来、時間が経過しており、だんだんと症状は緩和されている。ダイオキシン類の直接的症状なのか慢性的な症状なのかの判別は困難である。

我々のグループでは、ここ数年、ダイオキシン類濃度の半減期、つまり濃度の変化に関する研究を行ってきた。ダイオキシン類による直接的な症状であるならば、濃度の変化に伴い、症状も変化すると考えられた。

ダイオキシン類濃度と関係が強い項目として、体重が指摘されていた。その理由として、体内に蓄積されているダイオキシン類は、脂質中に溶け込んでいると考えられているため、体重の増減により脂質が増減する。ダイオキシン類の血中脂質濃度の分母は、脂質量である。脂質が増減することで濃度が変化することが考えられる。女性で負の相関の項目として、体重が上位に表れていた。男性の負の相関としては、女性より弱い相関であった。

本研究において、相関係数を求めたところ、いずれも 0.6 以下であり、強い関係（相関係数 0.7 以上）は見られなかった。しかし、症状との関係が強いと考えられる異性体がいくつか見つけ出すことができた。

E. 参考文献

1) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T, Kuwabara M, Study Group for Yusho. (2005). Overview of Yusho. Journal of Dermatological Science Supplement, 1(1), S3-S10.
2) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Masutaka F, Imamura, T (2013). Individuals' half-lives for 2, 3, 4, 7, 8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood: Correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. Chemosphere, 92(7), 772-777.

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Imamura T. (2016) Change in decay rates of dioxin-like compounds in Yusho patients. Environmental Health, 15(1), 95.
2) Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M, Imamura T. Long-term health effects of PCBs and related compounds: a comparative analysis of patients suf fering from Yusho and the general population, Archives of Environmental Contamination and Toxicology (2017). doi: 10.1007/s00244-017-0486-6. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表１　男性：正の相関が強い異性体と症状・測定項目の上位２０の組合せ

No.	異性体	変化無し割合(※)	症状･測定項目	変化無し割合(※)	相関係数
1	12378PeCDF	4.76%	赤血球数	1.19%	0.4747
2	334455HxCB	0.00%	咳嗽	25.00%	0.4381
3	33445PeCB	0.00%	咳嗽	25.00%	0.4087
4	3445TCB	17.86%	骨密度Zスコア	0.00%	0.4001
5	3445TCB	17.86%	CPK	0.00%	0.3846
6	12378PeCDD	0.00%	腹痛	34.52%	0.3841
7	334455HxCB	0.00%	尿素窒素	0.00%	0.3775
8	3344TCB	5.95%	尿酸	0.00%	0.3773
9	2378TCDF	1.19%	ヤケヒョウヒダニ特異IgE	21.13%	0.3704
10	12378PeCDF	4.76%	血色素量	0.00%	0.3697
11	334455HxCB	0.00%	HDLｺﾚｽﾃﾛｰﾙ	0.00%	0.3661
12	1234678HpCDD	0.00%	総ﾋﾞﾘﾙﾋﾞﾝ	0.00%	0.3582
13	123678HxCDF	0.00%	尿素窒素	0.00%	0.3579
14	3445TCB	17.86%	下痢	27.38%	0.3578
15	2378TCDF	1.19%	PCBﾊﾟﾀｰﾝ	27.38%	0.3572
16	3445TCB	17.86%	γ-GTP	0.00%	0.3552
17	334455HxCB	0.00%	腹痛	34.52%	0.3510
18	3445TCB	17.86%	胸部レントゲン	27.16%	0.3484
19	2378TCDF	1.19%	収縮期血圧	0.00%	0.3479
20	12378PeCDF	4.76%	ﾍﾏﾄｸﾘｯﾄ	0.00%	0.3424

※変化無し割合：当該項目で測定値、症状が変化しなかった患者の割合

表２　男性：負の相関が強い異性体と症状・測定項目の上位２０の組合せ

No.	異性体	変化無し割合	症状･測定項目	変化無し割合	相関係数
1	1234678HpCDD	0.00%	ｱﾐﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.5417
2	3445TCB	17.86%	アルブミン特異IgE	25.35%	−0.4200
3	OCDF	25.00%	喫煙期間	13.33%	−0.3998
4	2378TCDF	1.19%	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	0.00%	−0.3935
5	TotalPCDD	0.00%	ｱﾐﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.3903
6	33445PeCB	0.00%	瘢痕化（躯幹）	47.62%	−0.3816
7	2378TCDD	0.00%	感覚障害	41.67%	−0.3757
8	334455HxCB	0.00%	体重	0.00%	−0.3756
9	1234678HpCDD	0.00%	PCBﾊﾟﾀｰﾝ	27.38%	−0.3745
10	OCDD	0.00%	ｱﾐﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.3636
11	334455HxCB	0.00%	拡張期血圧	0.00%	−0.3592
12	OCDD	0.00%	PCBﾊﾟﾀｰﾝ	27.38%	−0.3545
13	1234678HpCDD	0.00%	カンジダ特異IgE	25.35%	−0.3525
14	TotalPCDD	0.00%	PCBﾊﾟﾀｰﾝ	27.38%	−0.3520
15	23478PeCDF	0.00%	体重	0.00%	−0.3502
16	2378TCDF	1.19%	無機リン	0.00%	−0.3500
17	12378PeCDF	4.76%	LDH	0.00%	−0.3459
18	2378TCDF	1.19%	K	0.00%	−0.3436
19	23478PeCDF	0.00%	拡張期血圧	0.00%	−0.3426
20	2378TCDD	0.00%	喀痰	28.57%	−0.3376

表３　女性：正の相関が強い異性体と症状・測定項目の上位２０の組合せ

No.	異性体	変化無し割合	症状･測定項目	変化無し割合	相関係数
1	TotalPCDD	0.00%	総ﾋﾞﾘﾙﾋﾞﾝ	0.68%	0.3036
2	12378PeCDD	0.00%	血糖	0.00%	0.2950
3	3344TCB	10.14%	四肢けん反射	42.57%	0.2935
4	OCDD	0.00%	総ﾋﾞﾘﾙﾋﾞﾝ	0.68%	0.2897
5	1234678HpCDD	0.00%	便秘	33.11%	0.2876
6	123478HxCDD	5.41%	ﾋﾟｰｸ1	0.68%	0.2873
7	3445TCB	24.32%	体重	0.00%	0.2802
8	123789HxCDD	2.03%	血色素量	0.00%	0.2791
9	334455HxCB	0.00%	ｱﾙﾌﾞﾐﾝ	1.35%	0.2774
10	123678HxCDD	0.00%	頭重･頭痛	20.95%	0.2711
11	TotalPCDF	0.00%	全身倦怠感	20.27%	0.2698
12	23478PeCDF	0.00%	ﾋﾟｰｸ1	0.68%	0.2638
13	TotalPCDF	0.00%	頭重･頭痛	20.95%	0.2628
14	TotalPCDF	0.00%	ﾋﾟｰｸ1	0.68%	0.2588
15	12378PeCDD	0.00%	ﾋﾟｰｸ3	0.00%	0.2583
16	2378TCDF	0.68%	全身倦怠感	20.27%	0.2569
17	3344TCB	10.14%	CB%比	0.00%	0.2553
18	123678HxCDD	0.00%	LDH	0.00%	0.2528
19	123478HxCDF	0.00%	腹痛	38.51%	0.2509
20	12378PeCDD	0.00%	ﾋﾟｰｸ1	0.68%	0.2466

表４　女性：負の相関が強い異性体と症状・測定項目の上位２０の組合せ

No.	異性体	変化無し割合	症状･測定項目	変化無し割合	相関係数
1	123478HxCDF	0.00%	体重	0.00%	−0.5117
2	123678HxCDD	0.00%	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.5095
3	123678HxCDD	0.00%	体重	0.00%	−0.4571
4	23478PeCDF	0.00%	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.4399
5	33445PeCB	0.00%	心電図	44.37%	−0.4273
6	TotalPCDF	0.00%	体重	0.00%	−0.4271
7	23478PeCDF	0.00%	体重	0.00%	−0.4245
8	2378TCDF	0.68%	LAP	0.00%	−0.4047
9	TotalPCDF	0.00%	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.4034
10	2378TCDF	0.68%	ｱﾙﾌﾞﾐﾝ	1.35%	−0.3712
11	123678HxCDF	0.00%	心電図	44.37%	−0.3592
12	2378TCDF	0.68%	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	2.70%	−0.3490
13	123478HxCDF	0.00%	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.3348
14	123678HxCDF	0.00%	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	0.00%	−0.3323
15	OCDF	20.27%	ヤケヒョウヒダニ特異IgE	25.83%	−0.3303
16	123678HxCDD	0.00%	LAP	0.00%	−0.3177
17	2378TCDF	0.68%	体重	0.00%	−0.3159
18	123678HxCDD	0.00%	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	2.70%	−0.3151
19	123678HxCDF	0.00%	体重	0.00%	−0.3051
20	TotalPCDF	0.00%	心電図	44.37%	−0.3049

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 2 世における卵巣機能と油症曝露状況との関連-

研究分担者　月森　清巳　福岡市立こども病院 院長補佐　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　カネミ油症発生後に油症患者より出生した児（油症 2 世）の卵巣機能と油症曝露状況との関連について検討した。対象は油症 2 世 33 例とし、卵巣機能の指標として卵巣の予備能を反映する血中抗ミュラー管ホルモン（AMH）濃度を測定し、健常女性から得られた年齢別平均の血中 AMH 濃度に対する標準偏差値（z-score）を求め、油症曝露状況との関連について単回帰分析を用いて解析した。その結果、油症 2 世の血中 AMH 濃度（z-score）の中央値（範囲）は、-0.88（-2.13-5.56）であった。油症 2 世の血中 AMH 濃度（z-score）と油症曝露状況との関連では、1）油症発生から出生までの期間と正の相関を示すこと、2）油症 2 世の血中 PeCDF 濃度と有意な相関はないが、母親の血中 PeCDF 濃度と有意な負の相関を示すこと、3)油症発生から出生までの期間の影響を取り除いた出生時の母親推定血中 PeCDF 濃度においても有意な負の相関を示すことが分かった。これらの成績から、胎児期における油症曝露が油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが示唆された。

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。なかでも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などのホルモン様作用を有することから、ヒトの生殖現象に影響を及ぼすのではないかと危惧されている [1)]。

最近、卵巣機能の予備能を評価するマーカーとして血中抗ミュラー管ホルモン（Anti-Müllerian Hormone; AMH）濃度が用いられるようになってきた。AMH は TGF β superfamily に属する糖蛋白で、卵巣の発育過程の卵胞（前胞状卵胞と小胞状卵胞）の顆粒膜細胞から分泌され、残っている原始卵胞の量と相関することが報告されている [2)]。血中 AMH 濃度は、血中エストロゲン濃度とは異なり、月経周期に左右されずに測定することができ [3)]、また年齢と共に減少することから早発閉経の診断や不妊の治療方針の決定などに役立つこと [4)] が報告されている。

そこで、本研究では、油症曝露が油症 2 世における卵巣機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、油症 2 世における血中 AMH 濃度と油症曝露状況との関連について検討した。

B．研究方法

１．対象 : カネミ油症発生後に油症患者より出生した児（油症 2 世）33 例を対象とした。

２．方法 :

①血中 AMH 濃度の解析 : 油症一斉検診時に対象者より血液を採取し、血清に分離した後、測定まで凍結保存した。

血中 AMH 濃度は化学発光酵素免疫測定法（アクセス AMH、ベックマン・コールター株式会社）を用いて測定した。得られた血中 AMH 濃度は、健常女性から得られた年齢別平均の血中 AMH 濃度[5]に対する標準偏差値（z-score）を求めた。

②油症曝露状況の評価：油症一斉検診で得られたデータより対象者の年齢、身長、体重、BMI、喫煙習慣、油症曝露者（母親曝露、父親曝露）、油症発生から出生までの期間、血中 2,3,4,7,8- pentachlorodibenzofuran（PeCDF）濃度および母親の血中 PeCDF 濃度を得て、油症曝露状況の指標として用いた。また、出生時の母親推定血中 PeCDF 濃度を、検査時血中濃度×2[出産から血液検体採取までの期間(年)/PeCDF の半減期(7.7 年)]の式を用いて推定した[6]。

①②で得られた結果をもとに油症 2 世における血中 AMH 濃度と油症曝露状況との関連について単回帰分析を用いて検討した。

（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 29-22) および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 29-326)の承認を得た後、実施した。

C．研究結果

１．油症 2 世の臨床像：

油症 2 世の臨床像を表 1 に示す。検査時の年齢の中央値（範囲）は、37 才（9-47 才）であった。油症曝露状況では、母親曝露（両親曝露を含む）が 28 例（84.8%）、父親曝露（両親曝露を含む）が 10 例（30.3%）であった。油症発生から出生までの期間の中央値（範囲）は、8 年（0-33 年）であった。油症 2 世およびその母親の血中 PeCDF 濃度の中央値（範囲）は、各々 8.0 pg/g lipid（2.0-45.6 g/g lipid）、42.0 pg/g lipid（3.7-692.9 g/g lipid）であった。

２．血中 AMH 濃度：

油症 2 世における血中 AMI 濃度の中央値（範囲）は、1.80 ng/mL （<0.02-11.10 ng/mL）であった。血中 AMI 濃度（z-score）の年齢別分布を図 1 に示す。油症 2 世における血中 AMI 濃度（z-score）の中央値（範囲）は、-0.88（-2.13-5.56）であった。

３．油症曝露状況との関連：

油症 2 世における血中 AMH 濃度（z-score）と油症曝露状況との関連を表 2 に示す。油症 2 世の血中 AMH 濃度は、油症発生から出生までの期間と有意に正の相関を認めた。また、血中 PeCDF 濃度との関連においては、油症 2 世の血中 PeCDF 濃度と有意な相関はない（p=0.5048）が、母親の血中 PeCDF 濃度と有意な負の相関（p=0.0390）を認めた（図 2）。さらに、油症発生から出生までの期間の影響を取り除いた出生時の母親推定血中 PeCDF 濃度においても、血中 AMH 濃度と有意な負の相関（p=0.0052）を認めた（図 2）。

D．考察

ダイオキシン類が生殖機能に及ぼす影響については、ラットを用いた動物実験では、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo dioxine（TCDD）曝露により卵胞形成や排卵を障害すること、また卵巣でのエストロゲンの産生を抑制することが報告されている[7]。さらに、妊娠ラットへの 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、卵胞刺激ホルモン濃度の上昇をきたすことが報告されている[8]。

一方、ヒトが高濃度のダイオキシン類に曝露した事例での観察では、Seveso の農薬工場の爆発事故で高濃度の TCDD に曝露した群では対照群と比較して閉経年齢が早くなることが報告されている[9]。油症患者においては、油症曝露女性の血中エストロゲン濃度が低下していること[10]、また自然閉経年齢はわが国における平均閉

経年齢と差異はないものの、早発閉経の頻度は高くなること [11]が報告されている。このようにヒトにおいてもダイオキシン類曝露では、卵胞形成やエストロゲン産生などの卵巣機能を障害する可能性が示唆されている。しかしながら、ダイオキシン類曝露が次世代の卵巣機能に及ぼす影響についてはこれまで検討がなされていない。

今回の観察から、油症 2 世における血中 AMH 濃度は、油症 2 世の血中 PeCDF 濃度と有意な相関はないが、母親の血中 PeCDF 濃度、なかでも出生時推定血中 PeCDF 濃度と有意に負の相関を認めることが明らかになった。われわれは、これまでに油症患者と油症 2 世双方の血中ダイオキシン類濃度の観察を介して、油症発症後 30 年以上経過した時点においても油症患者である母親の血中 PeCDF 濃度は、正常健常人の約 30 倍の濃度であったが、油症 2 世の血中 PeCDF 濃度は、正常健常人の値と有意な差はないことを報告している [12]。今回の検討においても、油症 2 世の血中 PeCDF 濃度は、正常健常人の値（17 pg/g lipid）[13]の約 0.5 倍（範囲 0.1-2.6 倍）で、その母親の血中 PeCDF 濃度は、正常健常人の約 2.5 倍（範囲 0.2-41 倍）とこれまでの報告と同様の傾向を示した。これらのことから、油症 2 世のなかで、母親が油症に曝露した場合には、胎児期に高濃度のダイオキシン類の曝露を受け、血中 AMH 濃度に影響を及ぼしているのではないかと考えられた。

血中 AMH 濃度は卵巣の原始卵胞の量と相関することが報告されている [2]。ヒト卵巣における原始卵胞は、胎児期より形成され、妊娠 5 ヶ月には 600～700 万個に達するが、その後減少し、出生時には 100 万～200 万個となり、出生後もさらに減り続け、月経のはじまる思春期には約 30 万個になることが報告されている [14]。これらの成績から、胎児期は原始卵胞の形成に重要な時期であり、この胎児期における油症曝露が原始卵胞の形成障害をきたし、出生後にも血中 AMH 濃度が低値を示すなど卵巣の予備能に影響を及ぼすことが推察された。

血中 AMH 濃度は、早発閉経の診断や不妊の治療方針の決定などに役立つことが報告されている [4]。しかしながら、この AMH 値は年齢とともに減少する傾向はあるものの、年齢に対しては正規分布を示さず、同一年齢層における標準偏差も非常に大きいことから、AMH 値は基準値を設定し、正常か異常かを診断する値ではないと考えられている [15,16]。また、AMH 値と妊娠しやすさは相関しないことから、AMH 値による卵巣予備能の評価は、妊孕性の評価ではなく、残存する卵胞の数の評価であることが報告されている [16,17]。油症 2 世から出生した児（油症 3 世）においては、母親である油症 2 世の血中ダイオキシン類濃度が正常レベルであるため胎児期に高濃度のダイオキシン類曝露を受けていないと考えられるが、今後、油症曝露による継世代的な健康影響を観察する上で、油症 2 世の卵巣機能や生殖機能について注意深く見守ることが重要であると考えられた。

E．結論

油症 2 世における血中 AMH 濃度は、母親の血中 PeCDF 濃度と有意な負の相関を認めた。胎児期における油症曝露が油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが示唆された。

F．研究発表

１．論文発表

1) Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. Environ Sci Pollut Res Int.

2017 in press.
2) Morokuma S, Tsukimori K, Hori T, Kato K, Furue M. The Vernix Caseosa is the Main Site of Dioxin Excretion in the Human Foetus. Sci Rep. 7(1):739, 2017.

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) Ulbrich B et al. Developmental toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs): a systematic review of experimental data. Arch Toxicol. 78:483-487, 2004.
2) La Marca A, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? Hum Reprod. 24(9): 2264-2275, 2009.
3) Tsepelidis S, et al. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. Hum Reprod. 22(7):1837-1840, 2007.
4) Broer SL, et al. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. Hum Reprod Update. 20(5):688-701, 2014.
5) Helden JV, et al. Age-independent anti-Müllerian hormone (AMH) standard deviation scores to estimate ovarian function. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 213:64-70, 2017.
6) Tsukimori K, et al. Long-Term Effects of Polychlorinated Biphenyls and Dioxins on Pregnancy Outcomes in Women Affected by the Yusho Incident. Environ Healt Persp 116:626-630, 2008.
7) Patel S, et al. Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on the Ovary. Biol Reprod. 93(1):20, 2015.
8) 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.
9) Eskenazi B, et al. Serum dioxin concentrations and age at menopause. Environ Health Perspect. 113(7):858-862, 2005.
10) 辻博、池田正春．油症における性腺機能の検討．福岡医誌　98(5);166-169, 2007.
11) 月森清巳．油症患者における婦人科疾患の研究．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 年度分担研究報告書．111-113, 2008.
12) 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.
13) 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. 66(10):1983-1989, 2007.
14) Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in the human ovaries. Proc R Soc Biol Sci. 158:417-433, 1963.
15) Seifer DB, et al. Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. Fertil Steril. 95(2):747-750, 2011.
16) 浅田 義正．生殖医療における AMH

の臨床応用．産婦人科治療 102;781-787, 2011.
17) Steiner AZ, et al. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. JAMA. 318(14): 1367-1376, 2017.

表 1 油症 2 世の臨床像

項目	中央値（範囲）
年齢（才）	37 (9–47)
BMI	20.6 (14.2–27.8)
喫煙習慣あり	10 (30.3%)*
油症曝露状況	
母親曝露	28 (84.8%)*
父親曝露	10 (30.3%)*
油症発生から出生までの期間（年）	8 (0–33)
血中PeCDF濃度(pg/g lipid)	
油症2世血中PeCDF濃度	8.0 (2.0–45.6)
母親血中PeCDF濃度	42.0 (3.7–692.9)
出生時母親推定血中PeCDF濃度	609.2 (3.7–20558.4)

* 症例数（%）

表 2 油症 2 世における血中 AMH 濃度に関連する因子（単回帰分析）

変数	AMH (z-score)		
	回帰係数	相関係数	P
年齢（才）	−0.0461	0.2913	0.1000
BMI	−0.1007	0.1876	0.2957
喫煙習慣あり	0.3223	0.0852	0.6372
油症曝露状況			
母親曝露	−1.3264	0.2737	0.1233
父親曝露	−0.0780	0.2012	0.9069
油症発生から出生までの期間（年）	0.0629	0.3509	0.0453
血中PeCDF濃度(pg/g lipid)			
油症2世血中PeCDF濃度	0.6293	0.1203	0.5048
母親血中PeCDF濃度	−1.0840	0.3854	0.0390
出生時母親推定血中PeCDF濃度	−0.9130	0.5046	0.0052

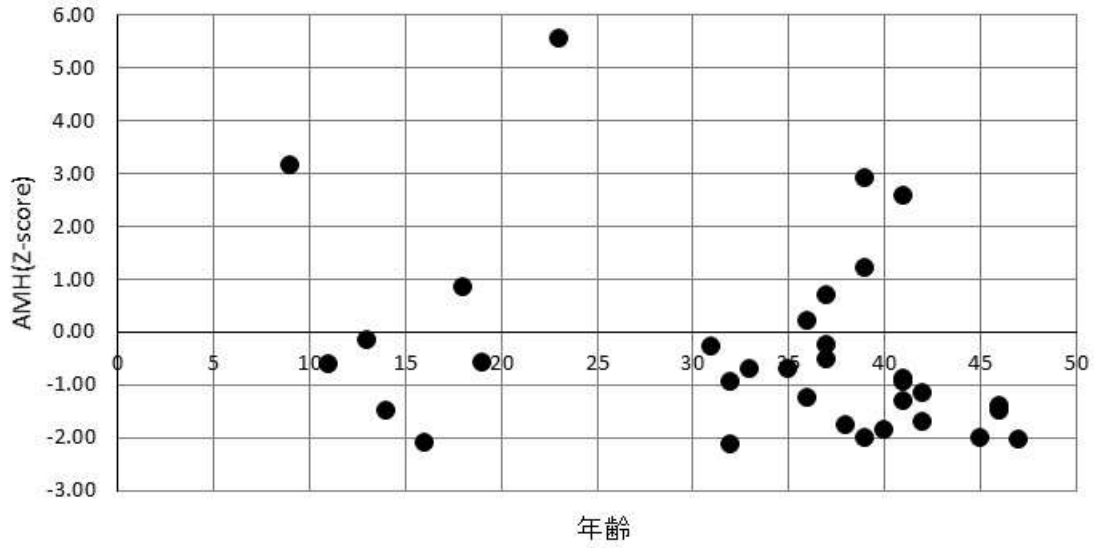


図 1　油症 2 世における血中 AMI 濃度（z-score）の年齢別分布

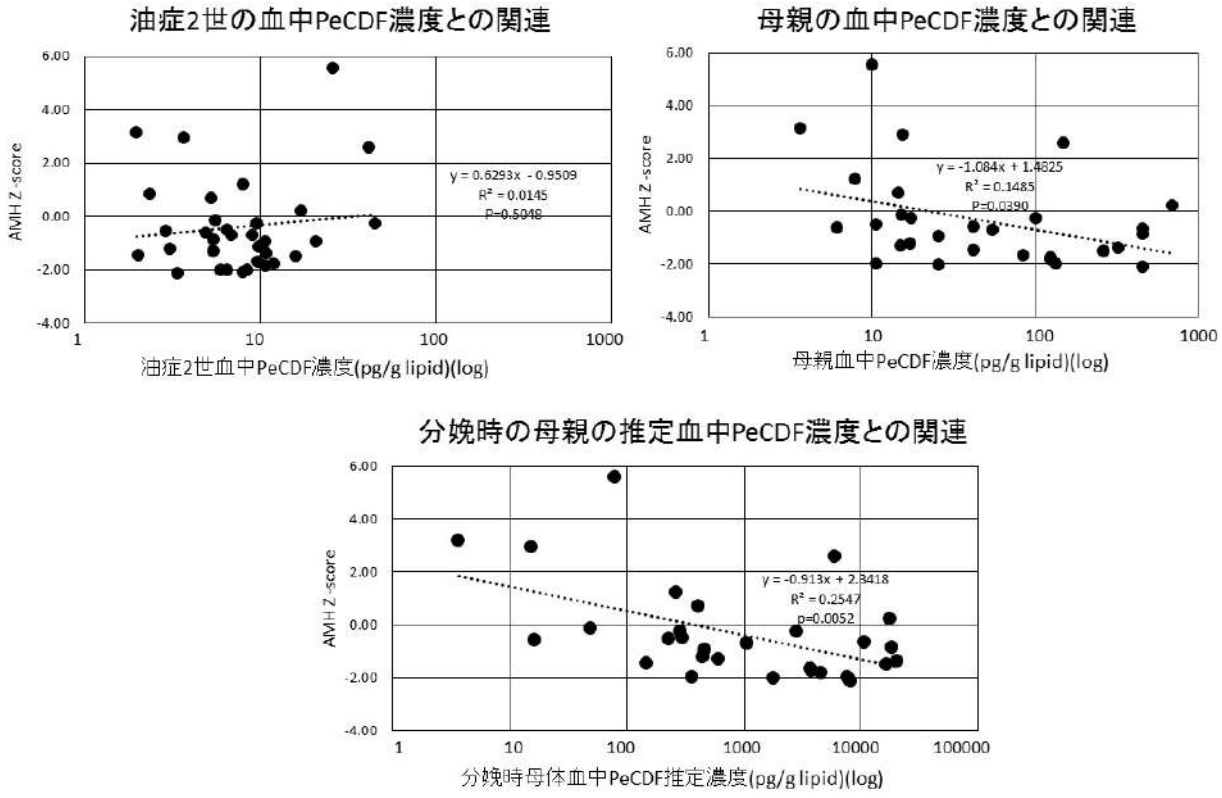


図 2　油症 2 世における血中 AMI 濃度（z-score）と血中 PeCDF 濃度との関連

分担研究報告書

ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける肺サーファクタント蛋白に関する検討

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　鈴木　邦裕　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　C57BL/6 マウスに Benzo[a]pyrene(BaP)を経気道的に投与すると、細気管支領域で気道傷害が観察され、サーファクタント蛋白 A(SP-A)の発現低下を認めた。

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 細胞の壊死が認められると報告されている[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おり、Club 細胞は肺において Arylhydrocarbon receptor(AhR)を発現している数少ない細胞のひとつであるため、ダイオキシン類の AhR を介し CYP1Al の経路を通じた細胞傷害作用から推測される病態生理とも合致する[2)3)]。これまで我々は、ダイオキシン類による肺傷害のメカニズムを解明するために AhR-CYP1Al を介した油症動物実験モデルの作成を目指してきた。現在のところ、マウスの肺に経気管的に AhR 作動性物質である Benzo[a]pyren(BaP)を投与することにより[4)]、気道分泌物の増加を示すモデルを作成している。我々が着目している Club 細胞は、肺サーファクタント蛋白などの肺の恒常性を維持する因子を産生している。肺サーファクタント蛋白は肺胞構造の維持のみならず肺の初期免疫に関わっており、細菌感染防御や免疫細胞の調節など、肺疾患において重要な役割を担っている。今回、我々は、ダイオキシン類による気道上皮傷害(Club 細胞傷害)における肺サーファクタント蛋白に役割に着目して研究を行った。

B．研究方法

BaP をマウスに経気道的に投与し、7 日後に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 Tricaprylin(TR)で溶解した BaP を 1 匹あたり 500μg(50μl) を 気管切開の上、経気管的に投与した[1)2)]。対照群には溶媒のみを 50μl 投与した。投与 7 日後に肺を取り、パラフィン固定を行った。その後、薄切スライドを作成し、HE 染および PAS 染色で病変の作成の確認を行い、次に、SurfactantProtein(SP)-A、CC10 による免疫染色を施行した。

C．研究結果

BaP 経気管投与後、投与 7 日後に肺を取り出して HE 染色にて検討した結果、2 つの群の炎症所見などに差は認めなかった。細気管支領域を中心に観察すると、BaP の群で、細気管支上皮の肥厚と、配列の変化が観察された。 (Figure 1)
PAS 染色では、BaP 群において比較的区域支に近い終末細気管支領域で、PAS 陽性細胞が認められた。 (Figure 2)
Club 細胞特異的タンパク質 CC10 に対する

抗体で免疫染色を行うと、細気管支上皮の大部分が濃染され、ほとんどが Club 細胞であると考えられた。HE 染色同様、終末細気管支の肥厚と、配列の変化が確認された。(Figure 3)
SP-A で免疫染色を行うと、終末細気管支付近、Club 細胞主体の気管支上皮での SP-A の発現は、TR 群と比して Bap 群で抑制されていた。(Figure 4)

D．考察

肺サーファクタントプロテインは界面活性剤として、肺の表面張力を低下させ、肺胞が構造を保持するのに役にたっている。肺サーファクタントプロテインには SP-A、SP-B、SP-C、SP-D の 4 種類があり、そのうち、SP-A と SP-D は水溶性であり、SP－B、SP-C は疎水性である。実臨床では、肺が傷害を受けた際のバイオマーカーとして活用されている[5]。油症患者においては、平成 25 年に我々が報告した通り、SP-A の血中濃度上昇と一部のダイオキシン類の濃度に有意な関連が認められている[6]。肺が傷害を受けた際の SP-A の体内動態は不明であるが、SP-A に類似した SP-D では、びまん性肺疾患における血中 SP-D 上昇時に、気管支肺胞洗浄液中の SP-D 濃度が低下することが報告されており[5]、肺実質から血中へのサーファクタントの漏出が考察される。今回、我々の実験では、SP-A 染色では、BaP を投与された群で、比較的末梢の終末細気管支領域での気道上皮の SP-A の発現の抑制を認めた。これは Club 細胞傷害による結果と血液中への漏出が推測されるが、今後、血中や気管支肺胞洗浄液中の SP-A 濃度を測定することで、病態生理の解明を進めて行く予定である。また、他のサーファクタント蛋白に関して、SP-C の免疫染色も行ったが、主に II 型肺胞上皮が染色されたが、大きな変化を認めなかった(図表なし)。SP-D に関しては、平成 25 年に報告した通り、血中濃度上昇と咳嗽、喀痰といった呼吸器症状に相関を認めおり[6]、SP-D 対しても油症気道傷害に関与する因子として、今後、研究予定である。

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上皮での SP-A の発現の低下を認めた。

F．研究発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況

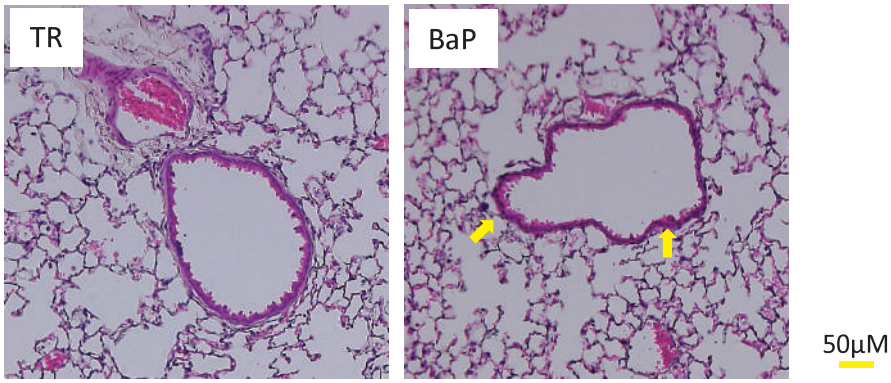
なし

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) Wong PS, et al. Aryl hydrocarbon receptor activation in NCI-H441 cells and C57BL/6 mice: possible mechanisms for lung dysfunction. Am J Respir Cell Mol Biol. 2010;42(2):210-7.
4) 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.
5) Nishikiori et al. Distinct compartmentalization of SP-A and SP-D in the vasculature and lungs of patients wi

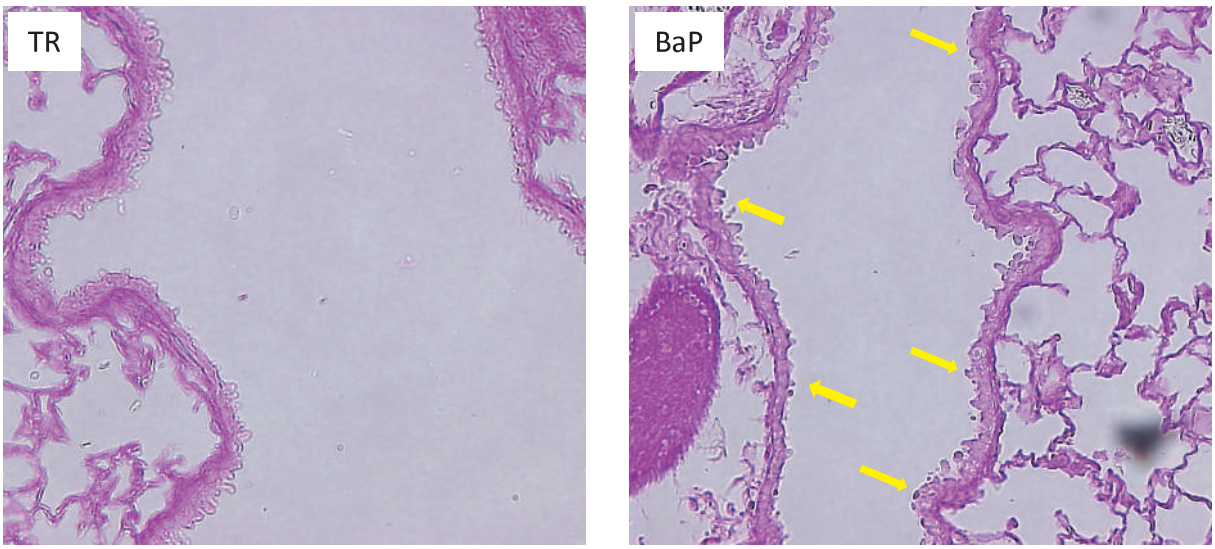
th idiopathic pulmonary fibrosis. BMC Pulmonary Medicine 2014, 14:196
6) 中西洋一、他、(2014). 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究「油症患者における血中 Surfactant protein に関する検討」、平成 25 年度　分担者報告書

Figure.1 HE染色



細気管支領域を中心に観察すると、Bap群で細気管支上皮の肥厚を認める(↑)。

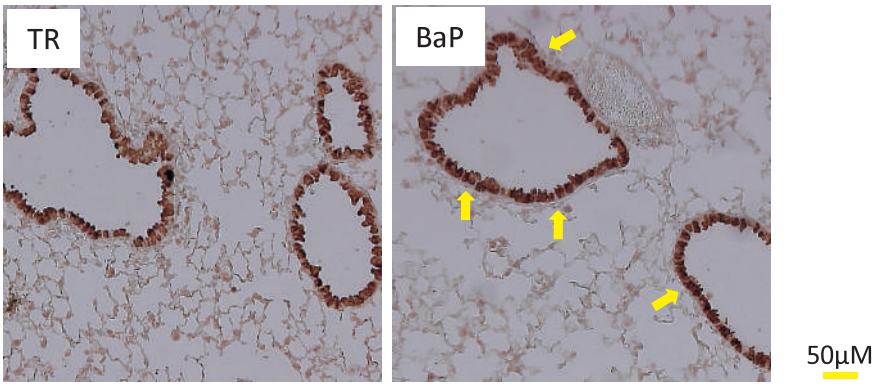
Figure.2 PAS染色



比較的区域支に近い終末細気管支領域で、
TR群に比して、Bap群でPAS陽性細胞の増加を認める(↑)。

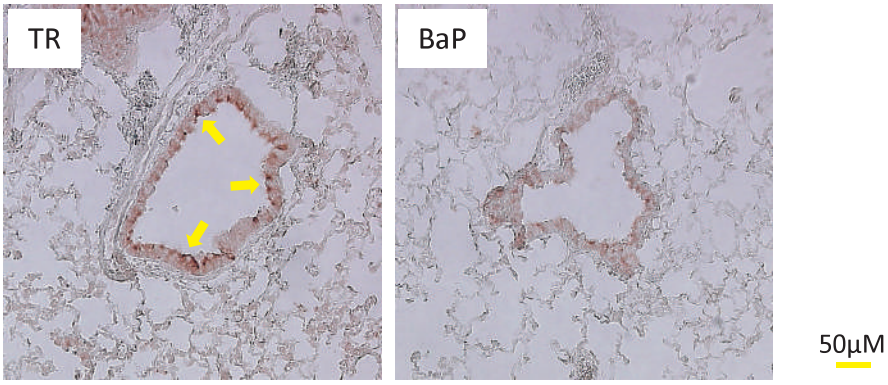
Figure.3 CC10免疫染色

A



細気管支領域を中心に観察すると、HE染色同様Bap群で、
細気管支上皮の肥厚を認める(↑)。

Figure.4 SP-A免疫染色



終末細気管支付近、気管支上皮のSP-Aの発現(↑)は、
TR群と比してBap群で抑制されて見える。

分担研究報告書

ベンゾピレンの投与がラットに及ぼす影響に対する行動学的、電気生理学的、分子生物学的検討

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学科　准教授
研究協力者　吉村　惠　　医療法人社団温故会 直方中村病院　　病院長

研究要旨　ベンゾピレンの投与がラットの求心性末梢神経と行動変化に及ぼす影響について行動学的手法、電気生理学的手法、分子生物学的手法を用いて正常ラットと比較検討した。その結果、VON―FREY 式刺激装置を用いた感覚変化の検討では、ベンゾピレン投与群で時間経過とともに多少の閾値上昇による逃避反応の遅延が見られた。行動実験終了後、ラットの後根神経節標本を作製し、活動電位の伝導速度を比較した結果では、ベンゾピレン投与ラットの後根神経節の Aβ 線維で伝導速度の低下がみられた。また、myelin basic protein (MBP)の検討では正常ラット群に対し、ベンゾピレン投与群で若干の MBP の低下が見られたが有意差はなかった。これらの結果から、ベンゾピレン投与は触・圧覚を伝える Aβ 線維の髄鞘に影響を及ぼし、活動電位の伝導速度を低下させることで感覚の鈍麻等を引き起こした可能性が示唆された。

A．研究目的

1968 年カネミ油症事件発生後、初期の激しい症状は消退傾向にあるが,現在でもしびれや頭重などの神経症状,倦怠感などの全身症状、痤瘡様皮疹などの皮膚症状など様々な症状が後遺症として残っている[1)]。カネミ油症は脱臭のために熱媒体として使用された PCB(ポリ塩化ビニル)による中毒であり、多くの患者で末梢の感覚鈍麻やしびれ感、自律神経失調症などの末梢神経障害および中枢神経障害が報告されている。しかしその発生機序については未だ明らかにされていない[2-4)]。近年、我々の研究結果によると、ダイオキシン類似化合物の一つであるベンゾピレンの投与は Aβ 線維の伝導速度に影響を与える可能性が示唆された。しかし、ベンゾピレン投与によるラットの求心性末梢神経での影響と行動変化に対する関連性は未だ明らかではない。そこで、ベンゾピレン投与後 1 ヶ月間のラットを利用し、行動学的手法、電気生理学的手法、分子生物学的手法を用いて求心性末梢神経に対するベンゾピレンの時間経過的作用とラットの行動変化を正常ラットと比較検討した。

B．研究方法

4 週齢の SD 系雄性ラット(九動㈱,　熊本)を用い、正常ラット群では Corn oil、ベンゾピレン群では 30 mg/ｋｇベンゾピレンを Corn oil に混ぜ経口投与し、時間的経過による感覚の変化を UGO BASILE 社製の VON FREY 式刺激装置を用いて測定した。ラットを測定装置に入れ、一定時間放置し、ラットが環境に慣れた頃合いをみて開始した。測定に際しては 5 分以上間隔を開けて合計 3 回施行した。また、ラットの行動実験後、深麻酔下で後根神経節に後根神経を付した標本を作製した。その一部の後根神経節を記録用チェンバーに設置後、微小ガラス電極を用いて神経節細胞から細胞内記録をとり、静止膜電位や末梢神経刺激によって誘起される活動電位の伝導速度を調べ、正常ラットから得られたものと比

較検討した。また、一部の後根神経節は-80℃に冷凍保存し、Western Blot 法を用いた myelin basic protein(MBP、abcam)の発現検討に使用した。冷凍した後根神経節は解凍後、Lysis buffer を用いてタンパク質を抽出し、得られたタンパク質抽出液を 10%ポリアクリルアミドゲル電気泳動によりタンパク質を分離し これを PVDF 膜に転写した。この PVDF 膜上の MBP による検出は既報に従って実施した。

(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、その後、過量のウレタンを腹腔内に追加投与して死に至らしめるため痛みなどの侵襲は殆ど無い。

C．研究結果

ベンゾピレンの経口投与後、時間的経過による感覚の変化を VON FREY 式刺激装置を用いて測定した。その結果、Corn oil 経口投与した正常ラット群より 30 mg/ｋｇベンゾピレン投与群で時間の経過とともに多少の閾値上昇が見られた。ベンゾピレン投与 7 日目では 1.12 ± 0.12、14 日目では 1.08 ± 0.16 、31 日目では 1.11 ± 0.16 で閾値上昇による逃避反応の遅延が見られた(図 1)。

行動実験における逃避反応の遅延と求心性末梢神経の伝度速度の関係を検討するために、逃避反応の遅延が安定した 14 日目のラットを用いて行動実験終了後、深麻酔下で後根神経節の標本を作製し、細胞内記録で末梢神経刺激によって誘起される活動電位の伝導速度を正常ラットから得られたものと比較検討した。Corn oil を 経口投与した正常ラット群の Aβ線維の伝導速度は 22.5±0.8 m/s、Aδ線維では 9.3±0.7 m/s、C 線維では 0.9± 0.4 m/s であった。30 mg/kg ベンゾピレン投与群の Aβ線維の伝導速度は 17.2±0.9 m/s、Aδ線維では 8.7±0.8 m/s、C 線維では 0.8 ± 0.6 m/s であり、Aβ線維の伝導速度が正常ラット群より低下していることが認められた。

神経線維の伝導速度変化と髄鞘(myelin)の関係を検討するために Corn oil 又はベンゾピレンを投与したラットより得られた 後根神経節に後根神経を付した標本を冷凍凍結後、ホモジナイズし、Western Blot 法による myelin 量の解析を行った。図 2 は myelin の Western Blot の結果を示す。 Myelin 量は Corn oil 投与した正常ラット群に対し、30 mg/kg ベンゾピレン投与群で若干の低下が見られたが有意差はなかった。

D．考察

油症の発生から 45 年以上時間が経過しているが、現在でもダイオキシン類特有の症状に悩まされている患者がいる。これら患者の血液中ポリ塩化ビフェニールやダイオキシン類濃度は健常人により高濃度を示している[1]。PCB、PCDF、dioxin 等の Dioxin 類化合物による神経障害は感覚神経障害が主であり、末梢神経障害によるものと考えられている。発症時には 39.1%であった自覚的感覚異常の患者は、30 年が過ぎた最近では 59.4 %まで増加している[5-7]。

今回の実験では、ベンゾピレン投与がラットの求心性末梢神経と行動変化に及ぼす影響について行動学的手法、電気生理学的手法、分子生物学的手法を用いて正常ラットと比較検討した。その結果、VON―FREY 式刺激装置を用いた感覚変化の検討では、30 mg/ｋｇベンゾピレン群で時間経過とともに多少の閾値上昇による逃避反応の遅延が見られた。行動実験終了後ラットの後根神経節標本を作製し、活動電位の伝導速度を比較した結果では、ベンゾピレン投与

ラットの後根神経節の Aβ線維で伝導速度が低下している結果を得た。しかし、Aδ線維と C 線維では若干の差がみられたものの有意差は無かった。古谷ら[4]によるとカネミ油症患者では、感覚鈍麻や神経のしびれ感などの末梢神経障害および中枢神経障害が多いと報告している。末梢神経の障害による感覚異常の場合、感覚神経の伝導速度の遅延を認めることが多い[8]。これらの結果から、ベンゾピレン投与は触・圧覚を伝えるAβ線維に作用し、活動電位の伝導速度を低下させることで感覚の鈍麻を起こした結果、ラット足裏の触・圧覚刺激による逃避反応の遅延がみられた可能性が示唆される。

Western Blot 法を用いた MBP の検討では正常ラット群に対し、ベンゾピレン群で若干の MBP の低下が見られたが有意差はなかった。髄鞘(Myelin)は伝導性が低いため、髄鞘化された神経線維は神経パルス伝導速度が速くなることが知られている。神経細胞の軸索を取り巻く髄鞘には障害が生じるが、中の軸索は保たれる現象を脱髄という。脱髄は発生部位により視力障害、運動麻痺、感覚障害、排尿障害、精神症状など異なる症状が生じることが報告されている[8]。また、脱髄性病変による感覚障害の電気生理学的検討では、感覚神経の伝導速度遅延が報告されている[8,9]。MBP は脳や脊髄神経細胞の軸索に分布し、髄鞘を形成する基本的な蛋白質である。今回の実験では MBP を用いて、逃避反応の遅延、Aβ線維の伝導速度低下と脱髄の関連性を検討したが有意差はみられなかった。これは、ベンゾピレンがAδとC線維ではなく、Aβ線維のみに影響を及ぼしたことと、また、Aβ線維の伝導速度を完全に低下をさせてはいないことから、一部の髄鞘でのみ脱髄が起ったために、明確な差がみられなかった可能性も考えられる。今後、髄鞘を形成する他の 蛋白質である、myelin associated glycoprotein (MAG) や myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)も更なる検討が必要と考えられる。

E．結論

本実験ではベンゾピレン投与が求心性末梢神経とラットの行動変化に及ぼす影響を行動学的手法、電気生理学的手法、分子生物学的手法を用いて正常ラットと比較検討した。その結果、その結果、VON―FREY 式刺激装置を用いた感覚変化の検討では、ベンゾピレン投与群で時間経過とともに多少の閾値上昇による逃避反応の遅延が見られた。行動実験終了後、ラットの後根神経節標本を作製し、活動電位の伝導速度を比較した結果では、ベンゾピレン投与ラットの後根神経節の Aβ線維で伝導速度の低下がみられた。また、myelin basic protein (MBP)の検討では正常ラット群に対し、ベンゾピレン投与群で若干の MBP の低下が見られたが有意差はなかった。これらの結果から、ベンゾピレン投与は触・圧覚を伝える Aβ線維の髄鞘に影響を起こし、活動電位の伝導速度を低下させることで感覚の鈍麻等を引き起こした可能性が示唆された。

引用文献

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

2)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.

3)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.

4)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.
5) Chia LG, Chu FL：A clinical and electrophysiological study of patients with polychlorinated biphenyl poisoning. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 48(9):894-901, 1985.
6) Michalek JE, Akhtar FZ, Arezzo JC, Garabrant DH, Albers JW：Serum dioxin and peripheral neuropathy in veterans of Operation Ranch Hand. Neurotoxicology 22(4):479-90, 2001.
7) Thömke F, Jung D, Besser R, Röder R, Konietzko J, Hopf HC：Cranial nerve function in workers exposed to polychlorinated dioxins and furans. Acta Neurol. Scand. 106(3):155-158, 2002.
8) 産井良之，楠進：末梢神経の障害．日本内科学会雑誌.97(8)：1771-1777, 2008.
9) 荒記俊一，村田勝敬：鉛による末梢神経障害の診断．26(1)：3-8, 1984.

F．研究発表

１．論文発表

申 敏哲，吉村 惠．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．Fukuoka Acta Med, 108(3), 27-34, 2017.

２．学会発表

無し

G．知的財産権の出願・登録状況

１．特許取得

無し

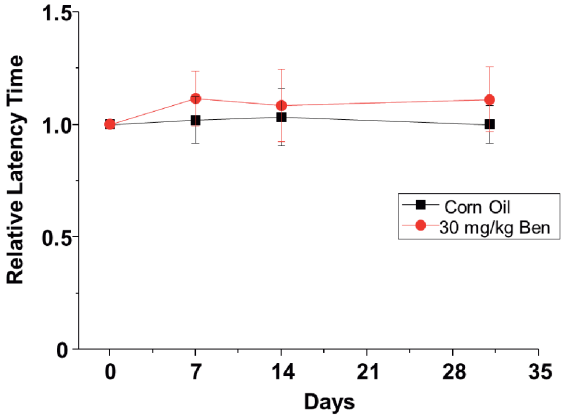
２．実用新案登録

無し

３．その他

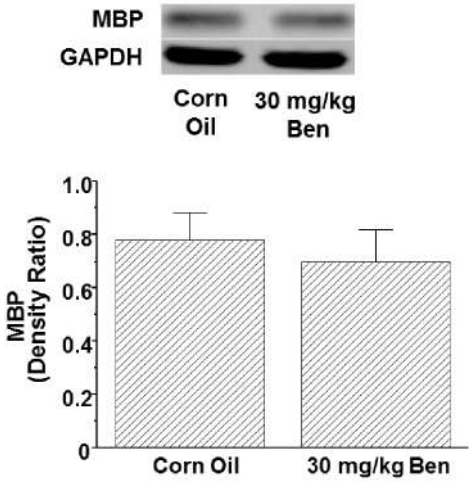
無し

図 1．ベンゾピレン投与による時間的感覚の変化



Ben，ベンゾピレン．n=5

図 2．ベンゾピレン投与が 末梢神経 myelin basic protein(MBP) による時間的感覚の変化



MBP，myelin basic protein；Ben，ベンゾピレン．n=4

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。AID は酸化ストレスのマーカーとも考えられることから、早期胃癌における AID 発現と早期胃癌の臨床病理学的特徴との関連について検討した。その結果、AID 高発現群において粘膜下層浸潤癌が有意に多かったが、腫瘍径、分化度、脈管浸潤の頻度については AID 発現との関連は認めなかった。今後、AID 発現と組織学的炎症の程度や p53 などの癌抑制遺伝子との関連を検討する必要があるが、AID 発現は早期浸潤癌の指標となる可能性が推測された。

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、食生活なども胃癌発生に関与することが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

2004 年から 2015 年に当科で早期胃癌に対して内視鏡治療を行った *H. pylori* 陽性または除菌後の 84 例を対象とした。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 の発現は proportion score（腫瘍細胞における AID 陽性細胞の割合）に基づき 0-5 点、intensity score（AID 染色の強度）を 0-2 点で評価し、合計が 4 点以下のものを低発現群、5 点以上を高発現群に分類した。また、AID 発現で群分けした 2 群間において臨床病理学的背景を比較検討した。

C．研究結果

対象は男性 59 例、女性 25 例、年齢 46-85 歳（平均 68 歳）で、*H. pylori* 陽性 71 例、除菌後 13 例であった。

免疫組織化学染色の結果、AID 低発現群は 61 例、高発現群は 23 例であった。2 群

間における臨床病理学的特徴を比較したところ、高発現群は低発現群に比べて有意に若年であった（年齢中央値；高発現群 66 歳 vs. 低発現群 68 歳、p=0.04）。また、AID 高発現例と低発現例にしめる除菌後胃癌の割合に差を認めなかった（13% vs. 16%）。AID 発現と病理組織学的所見の関連について検討すると、AID 高発現群では低発現群に比べて、U 領域の病変が有意に多かった（30% vs. 10%, p=0.02）。また、高発現群では低発現群に比べて粘膜下層浸潤癌が有意に多かった（31% vs. 9%, p=0.03）が、腫瘍肉眼型、腫瘍径、組織型、脈管浸潤の有無は AID 発現の程度で差を認めなかった。

D．考察

H. pylori 感染は胃癌発生の主要要因であり、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]。

今回、まずは腫瘍組織における AID 発現と腫瘍の臨床病理学的特徴を検討した。その結果、腫瘍発生部位と粘膜下層浸潤において AID 発現との関連が推測された。胃固有胃腺の相違により AID 発現が異なる可能性は否定できないが、これに関しては切除切片において腫瘍の背景粘膜における AID 発現と組織学的炎症の程度との関連を加える必要があると思われる。一方、病理組織学的所見との関連を検討したところ、AID 高発現群で粘膜下層浸潤例が有意に多かった。胃癌腫瘍径、分化度、あるいはリンパ管や静脈への脈管浸潤と AID 発現に関連を認めなかったことから、AID 発現が腫瘍早期浸潤の指標となる可能性が推測された。AID は p53 遺伝子変異をはじめとする癌抑制遺伝子変異を惹起する可能性が推測されていることから、p53 発現との関連を検討するとともに、Rb-1 や DCC などの他のがん抑制遺伝子あるいはミスマッチ修復遺伝子との関連がないかなどについても検討する必要があるかも知れない。

近年、本邦における *H. pylori* 感染率の低下に伴い、*H. pylori* 感染に関連しない胃癌の報告例が増加している。このような *H. pylori* 未感染胃に発症した胃癌における AID 発現の検討は、環境因子に基づく酸化ストレスが胃癌発生に与える影響を検討する上ではより好ましい可能性が推測されるため、*H. pylori* 未感染胃における AID 発現の検討も将来的には視野に入れていきたい。

（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

早期胃癌において AID 発現は粘膜下層

浸潤の程度と関連する可能性が推測された。今後、組織学的炎症の程度や p53 発現との関連についても検討を加えて行きたい。

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

2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有するPCB異性体の動物肝ミクロゾームによる代謝

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

本年度は、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB 異性体の 1 つである PCB188 につき、ラット肝ミクロゾーム(Ms)による代謝を調べた。その結果、フェノバルビタール(PB)前処理ラット肝 Ms でのみ、2 種類の代謝物 M1 および M2 が生成された。GC-MS による分析の結果、両代謝物はいずれも、メチル化体が分子量 422 であることから、一水酸化体であることが明らかとなった。また、主代謝物の M1 は、フラグメントイオン 407 [M^+-15]が比較的多いことから、4-水酸化体であることが示唆された。さらに、代謝酵素として PB 誘導性の CYP2B 酵素（ラット CYP2B1）の関与が示唆された。今回、GC-ECD の故障（修理不可）のため、正確な定量には至らなかったが、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する CB188 は、CB182 同様に、比較的代謝され易いことが明らかになった。

A. 研究目的

ヒト血液中や肝臓中で高濃度検出されるPCB異性体[1-3]は、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、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、2,2',4,4',5,5'-hexaCB (PCB153)、2,2',3,4,4',5,5'-heptaCB (PCB180) および 2,2',3,4,4',5'-hexaCB (PCB138)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。一方、我々は昨年度、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)を用いて調べた結果、いずれの動物肝Msも1種類の代謝物M-1（3'-OH体）を生成することを明らかにした。さらに、PB前処理ラット肝Msでは、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ることも明らかになった[4]。そこで、本研究では2,4,6-三塩素置換ベンゼンと2,3,5,6-四塩素置換ベンゼンから成るPCB188のラット肝Msによる代謝を調べ、PCB182と比較した（Fig. 1）。

B. 研究方法

① PCB188 合成：Hutzinger らの方法で行った。すなわち、2,4,6-trichloroaniline (1g)を濃塩酸 6 ml とともに 2 時間撹拌後、飽和亜硝酸ナトリウムを滴下してジアゾ化した後、これをアセトニトリル 30 ml で溶解した 1,2,4,5-tetrachlorobenzene (2g)中に加えて、110℃で 2 時間反応させた。反応液は chloroform で抽出後、シリカゲルカラムにかけ、最終的に分取用 HPLC で精製した。HPLC の分析条件は以下の通りである。分析機器、高速液体クロマトグラフ LC-10AT（島津製）；カラム、ODS カラム（250 × 20 mm i.d.、5 μm、YMC 製）；プレカラム、ODS プレカラム（50 × 20 mm i.d.、YMC 製）；移動相、acetonitrile；流速、4 ml/min；検出波長、254 nm。② ラット肝 Ms の調製：Wistar 系雄性ラット(体重約 220g)を用いた。ラット肝 Ms は、未処理、フェノバルビタール(PB)前処理（80 mg/kg 体重×3 日）および 3-メチルコラントレン (MC)前処理（20 mg/kg 体重×3 日）したラットから、常法により調製した。③ PCB188 のラット肝 Ms による代謝：40 μM CB188 を NADPH 生成系(0.33 mM NADP、5

mM G-6-P、G-6-PD 1.0 unit)、6 mM $MgCl_2$、ラット肝 Ms (1 mg protein)および 100 mM HEPES 緩衝液(pH 7.4)とともに合計 0.5 ml として、37℃で 60 min インキュベート後、反応液に chloroform-methanol (2:1) 0.5 ml と n-hexane 1.5 ml を加えボルテックスで振とう抽出した。抽出は 2 回行い、有機層を合わせて濃縮後、diazomethane でメチル化し、一部を GC-MS に付した。

(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

PCB188 の合成: PCB188 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 であり、同位体ピークから 7 つの塩素が置換されていることを確認した。収量は 3.6 mg で、純度はほぼ 100%であった（データ未掲載）。以下、これを用いて、代謝研究を行った。

PCB188 のラット肝 Ms による代謝:PCB188 を、NADPH 存在下、好気的にラット肝 Ms とともに、37℃、60 min 反応させた。Fig. 2 には、PB 前処理ラット肝 Ms により生成された PCB188 代謝物（メチル化体）の GC-MS による分析結果を示す。PCB188（保持時間 13.51min）に続き、代謝物と思われるピークが保持時間 15.35min に検出された。そこで、SIM 法により、m/z 424 で代謝物を検索したところ、上記ピークは一水酸化体（メチル化体）であること、さらに、20 倍に拡大したところ、2 種類存在することが明らかになった。以下、大きなピークを M1、小さなピークを M2 とする。なお、未処理 Ms および MC 前処理 Ms では代謝物は検出されなかった（データ未掲載）。

Table 1に、M1およびM2のマススペクトルの結果を示した。M1のメチル化体は，分子量422であり、PCB188の分子量よりm/z 30大きかった。この結果から、M1は一水酸化体であること、さらに、フラグメントイオンm/z 407 [M^+-15]が比較的多く検出されることが明らかになった。この結果から、M1はパラ位、すなわち4位に水酸基を有することが推察された。M2については、現在のところ微量なため不明である。

D. 考察

CB188 の in vitro 代謝を調べた結果、PB 前処理ラット肝 Ms でのみ、2 種類の一水酸化体が生成された。Fig. 3 にラット肝 Ms による CB188 の推定代謝経路を示す。

今回、CB182 と同様に、PCB188 も PB 前処理ラット肝 Ms でのみ生成されたことから、PCB 代謝酵素 [3]として、ラット CYP2B1 が主に関与していることが示唆された。なお、PCB の微量分析に用いていた GC-ECD が修理不可になったことから、今回は代謝物の定量には至らなかった。今後は、PCB188 代謝物の定量を試み、PCB182 との比較を行うとともに、ヒト肝 Ms での検討を加えるつもりである。

E. 結論

PCB188は、PB前処理ラット肝Msでのみ、比較的容易に2種類の一水酸化体へと代謝された。また、この代謝にはPCB182と同様に、PB誘導性のCYP2B酵素が大き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. 太田千穂, 藤井由希子, 原口浩一, 加藤善久, 木村　治, 遠藤哲也, 古賀信幸, 2,2',3,4,4',5,6'-七塩素化ビフェニル(CB182)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. 福岡医誌, **108**(3), 51-57 (2017).
2. O. Kimura, Y. Fujii, K. Haraguchi, Y. Kato,

C. Ohta, N. Koga, and T. Endo, Uptake of perfluorooctanoic acid by Caco-2 cells: Involvement of organic anion transporting polypeptides. *Toxicol. Lett.*, **277**, 18-23 (2017).

3. T. Endo, O. Kimura, M. Terasaki, Y. Fujii, K. Haraguchi, C. Ohta, N. Koga, Y. Kato, Growth-related changes in non-essential metals in the liver of star-spotted smooth-hounds (dogfish) *Mustelus manazo* form the northern region of Japan. *Mar. Environ. Res.*, **131**, 156-161 (2017).
4. Y. Kato, A. Fujii, K. Haraguchi, Y. Fujii, K. Atobe, T. Endo, O. Kimura, N. Koga, C. Ohta, S. Yamada, M. Degawa, Possible mechanism for the polychlorinated biphenyl-induced liver-selective accumulation of thyroxin in rats. *J. Toxicol. Sci.*, **42**(6), 663-669 (2017).

2. 学会発表

1. 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) のラットにおける in vivo 代謝．日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部大会（長崎県立大学、長崎市）平成 29 年 10 月 28, 29 日
2. 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 BSP の取り込みに及ぼすペルフルオロカルボン酸化合物の影響．日本薬学会第 138 年会（金沢市）平成 30 年 3 月 25～28 日
3. 津田侑人，中村　翼，碇元貴士，府髙　昌才輝，藤井由希子，加藤善久，木村　治，遠藤哲也，太田千穂，古賀信幸，原口浩一，食用魚類に含まれる残留性長鎖有機フッ素カルボン酸の分析．日本薬学会第 138 年会（金沢市）平成 30 年 3 月 25～28 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

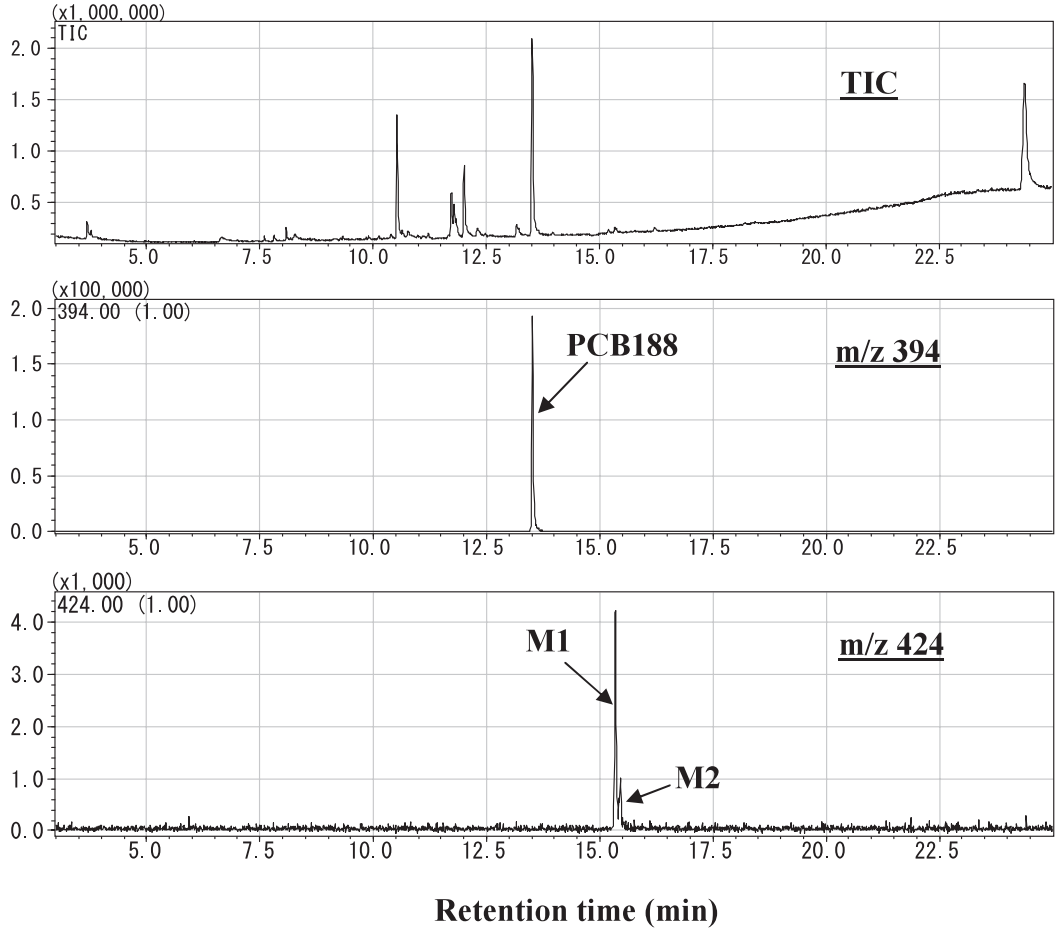
I. 参考文献

1) A. Sjödin, L. Hagmar, E. Klasson-Wehler, J. Björk and Å. Bergman, Environ. Health Perspect., **108**(11), 1035-1041 (2000).
2) D. M. Guvenius, P. Hassanzadeh, Å. Bergman and K. Norèn, Environ. Toxicol. Chem., **21**, 2264-2269 (2002).
3) 古賀信幸，太田千穂，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).
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) 太田千穂，藤井由希子，原口浩一，加藤善久，木村　治，遠藤哲也，古賀信幸，2,2',3,4,4',5,6'-七塩素化ビフェニル (CB182)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．福岡医誌，**108**(3), 51-57 (2017).



Fig. 1　Chemical structures of PCB182 and PCB188

(A) Mass chromatograms



(B) Mass spectra of PCB188 and M1

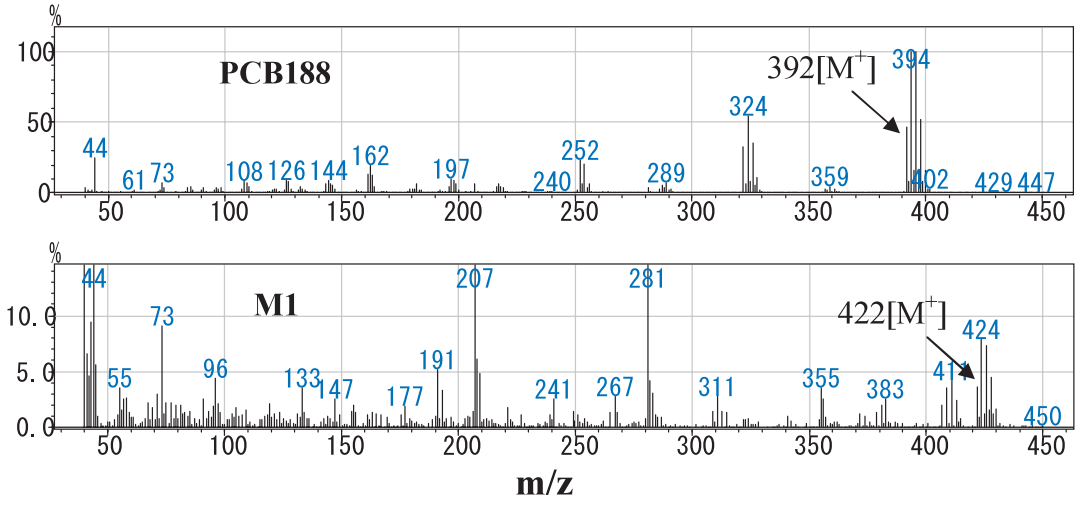


Fig. 2 GC-MS analysis of the methylated derivative of CB188 metabolites produced by liver microsomes of PB-treated rats
(A) Mass chromatograms (B) Mass spectra of PCB188 and M1

Table 1　Mass spectral data and retention times of the methylated derivatives of two PCB188 metabolites

Compound	Molecular weight	Mass spectral data (Relative abundance, %)						Retention time (min) in GC-MS
		$[M^+]$	$[M^+-15]$	$[M^+-35]$	$[M^+-43]$	$[M^+-50]$	$[M^+-70]$	
PCB188	392	100	-	4	-	-	78	13.51
M1	422	100	54	-	35	33	-	15.35
M2	422	100	-	-	-	-	-	15.45

-, not detected.

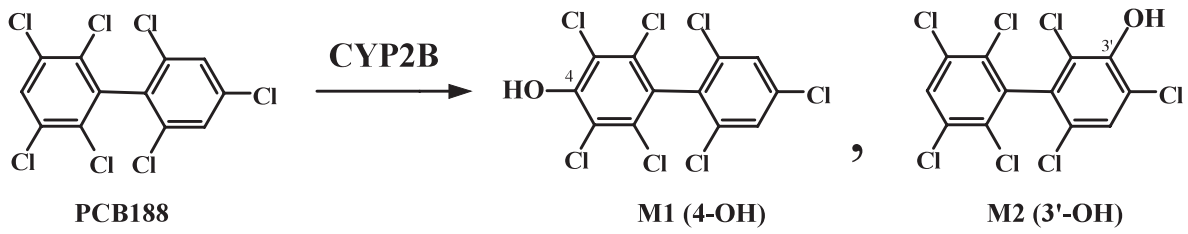


Fig. 3　Postulated metabolic pathways of PCB188 in rat liver

分担研究報告書

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による出生児の性未成熟の機構解析：ゴナドトロピン放出ホルモン神経への影響

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　私たちの研究室では、実験動物としてラットを用いたこれまでの一連の解析によって、妊娠期の 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 曝露によって出生児に見られる性未成熟の一端が、出生後の成長過程で定着する視床下部 gonadotropin-releasing hormone (GnRH) の発現低下に起因することを見出している。本年度は、出生児の GnRH 発現低下の原因を明らかにするための取り組みとして、発達期の GnRH ニューロンに対する TCDD の影響を調査した。胎生期から離乳期にかけての雄児脳を対象として、GnRH 抗体を用いて組織免疫染色を行った結果、TCDD 母体曝露によって生後 14 日目および 28 日目の雄児において双極性 GnRH ニューロン数が有意に減少することが明らかになった。一方、胎生期においては目立った影響は観察されず、GnRH ニューロンの分布や軸索長についても TCDD による変化は認められなかった。これらの結果から、TCDD 胎児期曝露によって出生後に起こる GnRH 発現低下には、双極性 GnRH ニューロンの選択的な減少が寄与する可能性が見出された。

A．研究目的

妊娠期のダイオキシン曝露は、出生児に交尾行動障害などの性未成熟を惹起する (1)。これらは低用量で発現し、一生涯にわたって影響が定着するため問題である。私達はこれまでの一連の研究によって、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD; 1 μg/kg、経口) の妊娠ラットへの曝露が、出生前後の児の luteinizing hormone (LH) の合成を低下させ、これを起点として成長後に交尾行動が障害されること実証している (2, 3)。さらに、上記の障害は視床下部より分泌される神経ペプチドホルモンである gonadotropin-releasing hormone (GnRH) の合成抑制が成長後にまで定着するためであることも見出した (4)。しかし、GnRH 発現低下が固定化する原因は不明である。

GnRH ニューロンは、鼻板で発生し脳内を遊走することで、胎生後期には視床下部に到達する (5)。また、出生後より軸索成長やシナプス増加などの形態学的な変化が始まるが、GnRH が生体で明確な役割を担うと考えられているのは思春期 (4-6 週齢) 以降である (6, 7)。TCDD 依存的な GnRH 発現低下は、出生後早期より出現することから、胎生後期から新生児期の GnRH ニューロンの発生、遊走および軸索成長などの初期成熟過程に及ぼす影響が想定される。そこで本研究では、組織免疫染色法を用いた細胞レベルでの解析を行うことで、TCDD が胎児期から思春離乳期にかけての雄児の GnRH ニューロンに与える影響を検討した。

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。GD20 の雄児は母体から摘出したのち、頭部を切除してパラホルムアルデヒドに浸し、固定を行った。10 - 30% のスクロース溶液 (in 0.1 M PBS) で置換したのち、脳を OCT compound で包埋し、-80°C にて凍結保存した。生後 (PND) 4、PND7、PND14 および PND28 の雄児はパラホルムアルデヒド (4% in 0.1 M PBS) にて灌流固定した。4°C のパラホルムアルデヒド (4% in 0.1 M PBS) 中で 1 ~ 2 日浸したのち、同様にスクロース置換ならび包埋を行った。

2. 免疫染色

(1) 脳切片の作製

脳の凍結ブロックを背側から腹側に向かって冠状面を削り出したのち、連続して薄切した。脳切片は適切な大きさのプレート内に一枚ずついれ、各穴に 50 mM PBS を 1 mL 入れたのち、室温に出し不要な OCT compound を溶かした。

(2) GnRH 単染色

(1) によって得られた脳切片は、50 mM PBS で 15 分間× 3 回洗浄したのち、10% normal goat serum (NGS) 中で 37°C 30 分間静置した。次に、50 mM PBS で 5 分間 × 3 回洗浄し、一次抗体液中で 4°C 60 時間静置した。その後、50 mM PBS で 10 分間 × 3 回洗浄し、二次抗体液中で 25°C 2 時間静置した。再度、50 mM PBS で 10 分間× 3 回洗浄したのち、脳切片をスライドガラスに貼りつけた。作製したスライドガラスを共焦点レーザー顕微鏡 LSM700 (Carl Zeiss) を用いて観察した。画像取得のためのソフトウェアは ZEN 2011 Black edition (Carl Zeiss) を用いた。使用した抗体の希釈倍率は以下の通りである。

一次抗体 : Anti-LHRH antibody (1 I.U. / 1 L) を 1% NGS にて 400 倍希釈

二次抗体 : Anti-Rabbit IgG, Alexa Fluor 647 conjugate を 1% NGS にて 200 倍希釈

(2) 多重染色

GnRH 単染色の二次抗体液の組成に、さらに anti- neuronal nuclei (NeuN) Alexa Fluor 488 (100 倍希釈) および 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) solution (1,000 倍希釈) を加えたものを二次抗体液として用いた。二次抗体液以外は、(2) に記載した操作および条件と同様に行った。

(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 : A27-014-0。

C. 研究結果

検討に先立ち、幼若ラットの脳において GnRH ニューロンが検出できることを確認するため、GnRH 抗体に加えてニューロンマーカーである NeuN 抗体および細胞核マーカーである DAPI の多重染色を行った。PND7 雄児での検討の結果、GnRH と NeuN の陽性領域が完全にマージし、これが GnRH ニューロンであることが確認できた (Fig. 1A)。さらに、本手法では、細胞体から出る主な突起が 2 本の双極性ニューロンと (Fig. 1B)、1 本のみの単極性ニューロン (Fig. 1C) というそれぞれ形態の異なる GnRH ニューロンが明確に分離可能であることも確認した。そこで、TCDD 母体曝露が胎児ならびに出生雄児の GnRH ニューロンの発達 (= 発生、遊走、形態および軸索長) に影響を及ぼすか否かを検討した。GnRH ニューロンが比較的高密度で分布する organum vasculosum lamina terminalis (OVLT) を中心に 1.28 mm^2 四方の領域で検討を行った。GD 20 から PND 28 にかけて切片ごとの GnRH 陽性細胞数を計測した結果を Fig. 2 に示す。グラフの

縦軸が測定領域に含まれる細胞数、横軸がOVLT からの距離について吻側を負、尾側を正として示す。GnRH ニューロンは吻側にある嗅球から視床下部がある尾側方向に遊走するため、遊走不良が起きた場合は分布が吻側にずれる。検討の結果、PND28 の OVLT+200 μm では総細胞数が減少する傾向が見られたが、いずれの日齢においても両群のグラフの形がよく一致していることが確認された (Fig. 2)。従って、少なくとも TCDD は発達児における GnRH ニューロンの発生や遊走には影響は小さいことが明らかになった。

一方、PND7 から PND28 にかけて極性および双極性それぞれのニューロン数を計測した。その結果、PND14 では OVLT+200 μm 付近のニューロン局在領域で TCDD 依存的な双極性ニューロンの減少ないし減少傾向が認められた (Fig. 3)。単極性ニューロンには有意な影響は観察されなかった (Fig. 3)。さらに、これらの傾向はニューロン成熟が完了する PND28 でも継続した (Fig. 3)。なお、TCDD は GnRH ニューロンの軸索長には影響を及ぼさなかった (Fig. 4)。これらの結果から、TCDD 母体曝露は雄児における GnRH ニューロンの遊走や軸索伸張には影響を及ぼさないが、出生後に双極性ニューロン数を減少させることが明らかになった。

D. 考察

本研究では、GD15 の母ラットへの 1 μg/kg TCDD 単回投与が、発達期の GnRH 神経成熟に及ぼす影響を検討した。雄児の GnRH ニューロンの数や形態に及ぼす影響を解析した結果、PND14 ならびに PND28 では双極性 GnRH ニューロンが有意に減少することが明らかになった。胎児期から新生児期の性ステロイド刺激は、軸索成長やシナプス形成などの形態的な成熟化にも重要であるため (8, 9)、本研究の知見と成熟期に見られる形態異常は共に性ステロイド合成低下によって生起する可能性がある。今後、性ステロイド刺激との関連性を追求し、GnRH ニューロンの成熟過程への影響を明確にすることが重要である。

GnRH プロモーターに enhanced green fluorescent protein (EGFP) を連結した遺伝子を導入した GnRH-EGFP ラットでは、思春期前の EGFP 発現が低い時期は単極性ニューロンの比率が高いが、GnRH 発現が高まる思春期には EGFP 陽性の双極性ニューロンが高比率で検出される (10)。従って、双極性ニューロンの方が恒常的に GnRH プロモーター活性が高いために、これの減少が GnRH 発現低下に関与する可能性が考えられる。双極性 GnRH ニューロンの有意な減少が認められたのは、OVLT から尾側に 200 μm のニューロン局在領域に限定された。OVLT には血液脳関門が存在しないため、OVLT 近辺の GnRH ニューロンは末梢からの刺激を受けやすく、他領域のニューロンよりもスパインの分枝構造が複雑であると言う (11)。また、GnRH ニューロンは、γ-aminobutylic acid (GABA) およびセロトニンなどの神経伝達物質の制御を受けることが知られている (12, 13)。ダイオキシンは GABA ニューロンを標的として性分化を障害する可能性 (14)、ならびに母マウスへの TCDD 曝露によって児のセロトニン陽性細胞数が減少することが報告されている (15)。これらを総合すると、TCDD による発達期の性ステロイドや GABA およびセロトニンなどの GnRH 神経成熟に関わる因子の発現を抑制し、双極性ニューロンへの成熟化を障害する可能性が想定される。GnRH ニューロンの発達障害の実態を明らかにするため、引き続き性ステロイドや神経伝達物質との相互作用とこれに対する TCDD の影響を検証することが重要であろう。

E. 結論

妊娠期の TCDD 曝露は、PND14 ならびに PND28 の雄児では双極性 GnRH ニューロンが有意に減少することが明らかになった。

F. 研究発表

1. 第 34 回日本薬学会九州支部大会 (熊本、2017 年 11 月 25 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 Exp Ther*, **329**: 1091-1099 (2009).
4) Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Yamamoto M, Shimazoe T, Ishii Y, Himeno M, Yamada H. *Mol Pharmacol*, **85**: 74-82 (2014).
5) Daikoku S, Koide I. *J Comp Neurol*, **393**: 34-47 (1998).
6) Clarkson J, Herbison AE. *Mol Cell Endocrinol*, **254-255**: 32-38 (2006).
7) Clarkson J, Han SK, Liu X, Lee K, Herbison AE. *Mol Cell Endocrinol*, **324**: 45-50 (2010).
8) Mong JA, Roberts RC, Kelly JJ, McCarthy MM. *J Comp Neurol*, **432**: 259-267 (2001).
9) Wilson CA, Davies DC. *Reproduction*, **133**: 331-359 (2007).
10) Xue H, Gai X, Sun W, Li C, Liu Q. *Neural Regen Res*, **9**: 1303-1312 (2014).
11) Herde MK, Geist K, Campbell RE, Herbison AE. *Endocrinology*, **152**: 3832-3841 (2011).
12) Watanabe M, Fukuda A, Nabekura J. *Front Neurosci*, **8**: 387 (2014).
13) Kim HS, Yumkham S, Choi JH, Son GH, Kim K, Ryu SH, Suh PG. *J Endocrinol*, **190**: 581-591 (2006).
14) Petersen SL, Krishnan S, Hudgens ED. *Endocrinology*, **147**: 33-42 (2006).
15) Kuchiiwa S, Chenga SB, Nagatomo I, Akasaki Y, Uchida M, Tominaga M, Hashiguchi W, Kuchiiwa T. *Neurosci Lett*, **317**: 73-76 (2002).

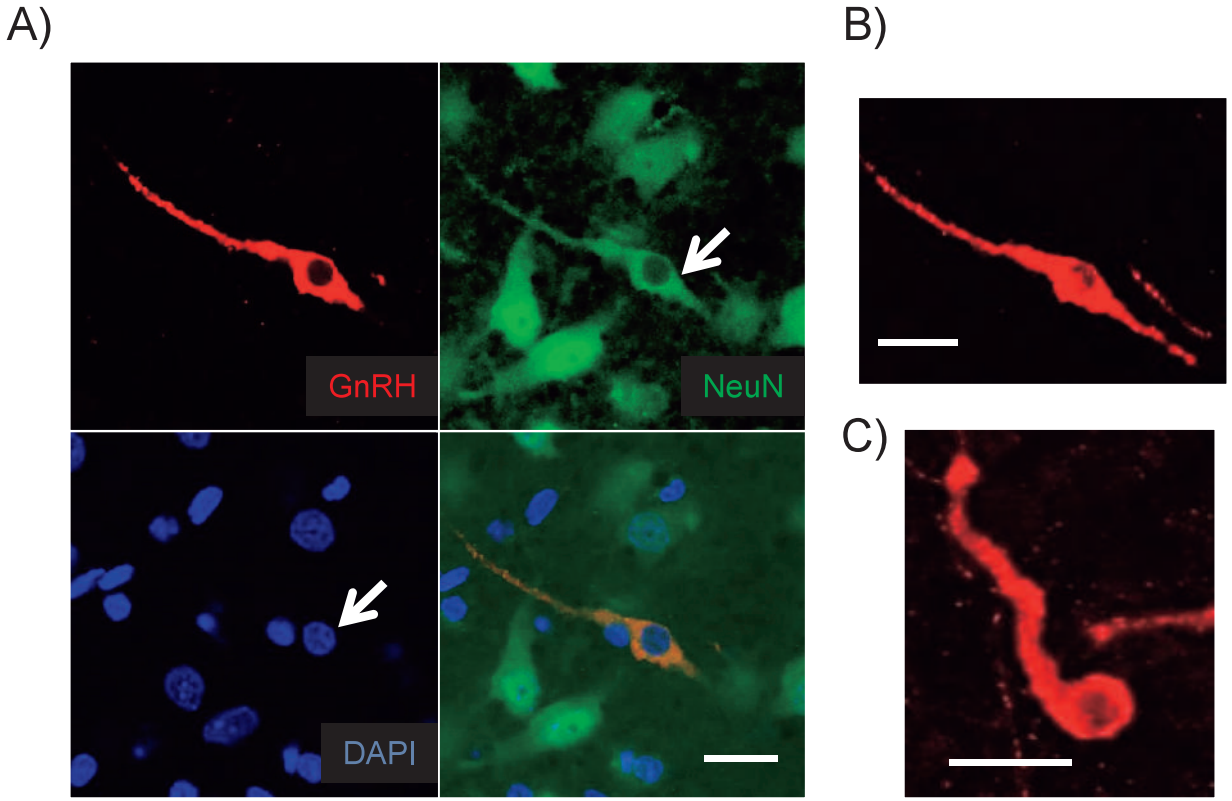


Fig. 1. Detection of GnRH neurons in the male offspring at PND 7 using an immunofluorescence. (A) Each confocal image (×40) is as follows: GnRH (red), NeuN (green) and DAPI (blue). Panels B and C represent the bipolar and unipolar neuron, respectively. Scale bar: 20 μm.

平成 29 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金

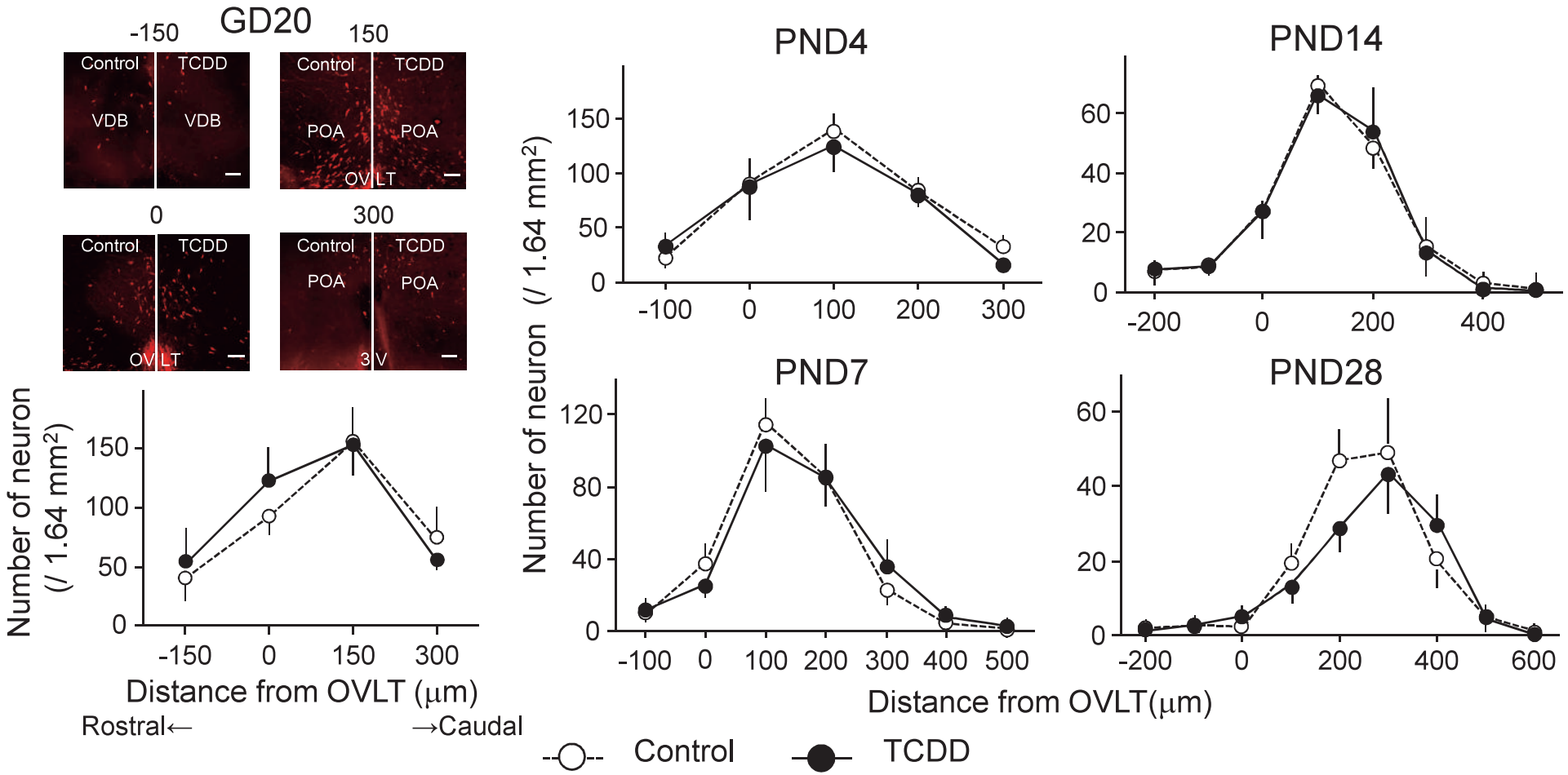


Fig. 2. Little effect of maternal exposure to TCDD on the number and location of GnRH neurons in the male offspring at GD20, PND4, PND7, PND14 and PND28. Pregnant dams were exposed to TCDD (1 μg/kg, orally) at GD15, and brain sections of the male offspring were immunostained for detection of GnRH neurons. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 3-5 male offspring which were removed (born) from different dams. Scale bar: 100 μm. Abbreviations used: 3V, 3rd ventricle; OVLT, vascular organ of the lamina terminalis; POA, preoptic area; VDB, vertical limb of the diagonal band.

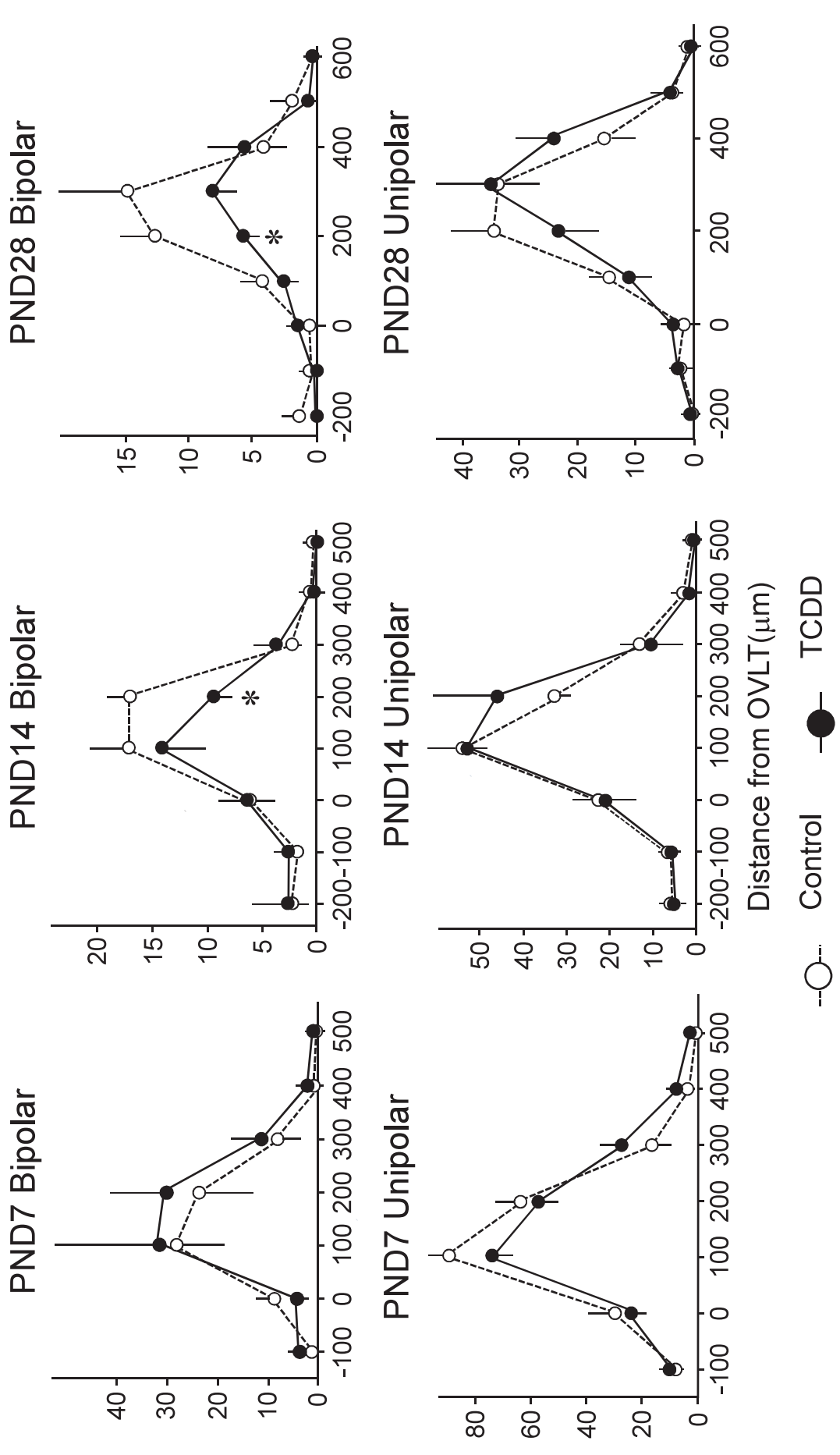


Fig. 3. Effect of maternal exposure to TCDD on the number of bipolar and unipolar GnRH neurons in the male offspring at PND7, PND14 and PND28. The number of bipolar and unipolar neurons was counted per section. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 3-6 male offspring which were born from different dams. Significantly different from the control: *$p<0.05$.

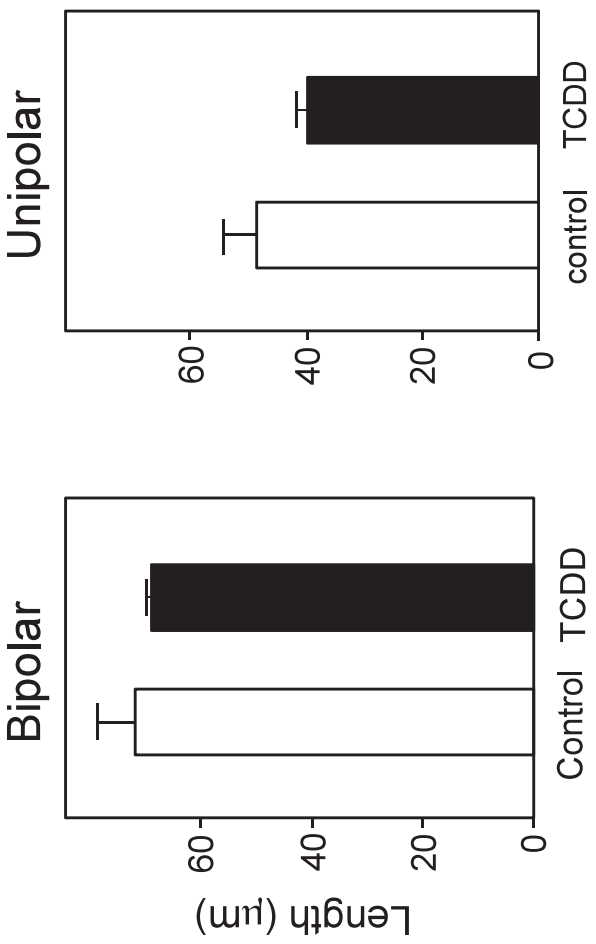


Fig. 4. Failure of the effect of TCDD on the axonal length of GnRH neurons. The length of GnRH neuronal axon of the male offspring at PND14 were measured using 3D images of immunofluorescence. Each bar represents the mean ± S.E.M. of 3 male offspring which were born from different dams.

分担研究報告書

2,3,7,8-Tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin のダイオキシン次世代毒性に対する拮抗作用の検討

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　我々は昨年度、ダイオキシン毒性に対する新たな拮抗剤の創製を目指し、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (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) を合成した。これを用いた検討により、TFDD 自身はラットへの単回経口投与で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は TCDD に対して拮抗作用を持つことを確認した。そこで本年度の研究では、これらの知見に基づいて、TCDD 母体曝露による胎児の脳下垂体ホルモン合成低下に対する拮抗作用を検討した。妊娠 15 日目の母ラットに TCDD を単回経口投与したのち、妊娠 16 日から 19 日まで 1 日 1 回 TFDD を経口投与した。その結果、TCDD によって胎児脳下垂体における黄体形成ホルモンならびに成長ホルモンの発現が低下ないし低下傾向を示したが、TFDD の併用処理による改善効果は観察されなかった。また、TCDD によって胎児数の減少も確認されたが、これに対しても TFDD による改善は認められなかった。これらの結果から、少なくとも 1 日 1 回の併用処理では、TFDD は TCDD 依存的な胎児のホルモン合成障害に対して改善効果を示さないことが示唆された。

A．研究目的

ダイオキシンは、妊娠期母体への比較的低用量曝露によって、出生児に様々な発育障害を惹起する (1)。カネミ油症の被害者追跡調査や出生コホート研究から、ダイオキシンがヒトこどもの発達に及ぼす影響も懸念されており (2, 3)、早期の治療・予防法の確立が求められている。

一般に、ダイオキシン毒性には、受容体型転写因子である芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor; AHR) が重要な役割を演じることが明らかにされている (4)。昨年度、我々はこの事実に着目し、AHR を標的としたダイオキシン毒性拮抗剤の創製を目指した研究に着手した。すなわち、強毒性ダイオキシンである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (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) を合成し、これの生体毒性と細胞株を用いたダイオキシン拮抗作用を検討した。その結果、TFDD 自身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においては TCDD 依存的な AHR 活性化を抑制することを見出した (平成 28 年度分担研究報告書)。

一方、我々はこれまでの一連の解析によって、妊娠ラットへの TCDD 曝露が胎児脳下垂体において成長ホルモン (growth hormone; GH) ならびに黄体形成ホルモン (luteinizing hormone; LH) の合成を低下させることで出生後に低体重や交尾行動障害を引き起こすことを見出している (5, 6)。そこで本年度の研究では、上記の胎児への障害性を指標として、生体内での TFDD の拮抗作用を検討した。

B．研究方法

1. 細胞培養

TFDD は、林純薬工業株式会社に委託して合成した。ヒト乳がん細胞株である T47D 細胞を 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) および TFDD (100 fM～10 μM) を添加した DMEM に置換して継続培養した。24 時間後に細胞を回収したのち、50 mM Tris-HCl にて懸濁して実験に供した。

2. 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 16 日目から 19 日目にかけて、1 日 1 回 TFDD (1 mg/kg/day/2 mL コーン油) あるいはコーン油を経口投与したのち、妊娠 20 日目の雄胎児より脳下垂体を採取した。

3. cytochrome P450 (CYP) 1A1 活性測定

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。

5. 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。

(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 が細胞レベルでダイオキシン依存的な AHR 活性化に対して拮抗作用を示すこと、ならびにその用量依存性を再確認した。指標には、代表的な AHR 標的遺伝子である CYP1A1 のタンパク質発現ならびに酵素活性を用いた。検討の結果、昨年度の報告と同様に、T47D 細胞への 500 pM の TCDD 処理による CYP1A1 タンパク質発現ならびに酵素活性の誘導は、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 (Fig. 1)。

妊娠ラットへの TCDD 単回経口投与によって、胎児脳下垂体において GH ならびに LHβ mRNA 発現は低下ないし低下傾向を示したが、これらに対して TFDD 併用による改善効果は観察されなかった (Fig. 2)。さらに、TFDD 併用処理は CYP1A1 mRNA 発現誘導に対しても効果を示さなかった (Fig. 2)。また、本検討では TCDD 曝露が胎児数を有意に減少させることを確認したが、TFDD の併用はこれに対しても影響を認めなかった (Table 1)。なお、TCDD および TFDD による胎児体重、胎盤重量ならびに性比には影響は観察されなかった (Table 1)。

D. 考察

昨年度の細胞レベルでの検討により、

TCDD (0.5 nM) による TFDD の 50% 効果量が 45.9 nM であることが確認されており、本研究においても同様の傾向での再現性が得られた。さらに、TFDD はマウス腹腔内への投与によっては、24 時間後に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)。これらの事実に基づいて、本研究では TCDD 投与量の 1,000 倍高用量の TFDD を一日一回連続投与し、TCDD 毒性に対する拮抗作用を検討した。検討の結果、本研究で用いた TFDD 処理条件下では、胎児の GH/LHβ mRNA 発現低下ならびに CYP1A1 mRNA 発現誘導のいずれに対しても TFDD は拮抗できないことが示唆された。しかし、細胞レベルの検討においては、100 倍量の TFDD によって拮抗作用が見られており、胎児組織中においては拮抗作用を示すレベルに達していない可能性が考えられる。これまで、TFDD の胎盤透過性に関する情報はないが、ダイオキシン類の胎盤移行性ならびに透過性には脂溶性や AHR への結合親和性が重要であるため、TFDD は TCDD よりもこれらが小さいために胎盤を透過性しにくい可能性が考えられる。上記の通り、TFDD は生体内において比較的代謝されやすいことから (9, 10)、母体での易代謝性も相まって胎児への移行量が制限されている可能性も考えられる。TFDD の生体内での効果を明らかにするため、胎児組織中の TFDD レベルの測定を行うと共に、より効果的な投与法にて再検討することが必要であろう。

E. 結論

妊娠ラットに対する 1 日 1 回の経口投与では、TFDD はダイオキシンによる胎児 GH/LH mRNA 発現低下に対して拮抗作用を示さないことが確認された。

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) Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL. *Crit Rev Toxicol*, **23**: 283-335 (1993).
2) Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M. *Environ Int*, **38**: 79-86 (2012).
3) Nishijo M, Tawara K, Nakagawa H, Honda R, Kido T, Nishijo H, Saito S. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, **18**: 246-251 (2008).
4) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM, Gonzalez FJ. *Toxicol Appl Pharmacol*. **140**: 173-179 (1996).
5) Takeda T, Matsumoto Y, Koga T, Mutoh J, Nishimura Y, Shimazoe T, Ishii Y, Ishida T, Yamada H. *J Pharmacol Exp Ther*, **329**: 1091-1099 (2009).
6) Hattori Y, Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y, Yamada H. *Endocrine*, (2014).
7) Burke MD, Mayer RT. *Drug Metab Dispos*, **3**: 245-253 (1975).
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) Weber R, Schrenk D, Schmitz HJ, Hagenmaier A, Hagenmaier H. *Chemosphere*, **30**: 629-639 (1995).
10) Schmitz HJ, Weber R, Hagenmaier A, Hagenmaier H, Poellinger L, Schrenk D. *Environ Toxicol Pharmacol*, **3**: 105-113 (1997).

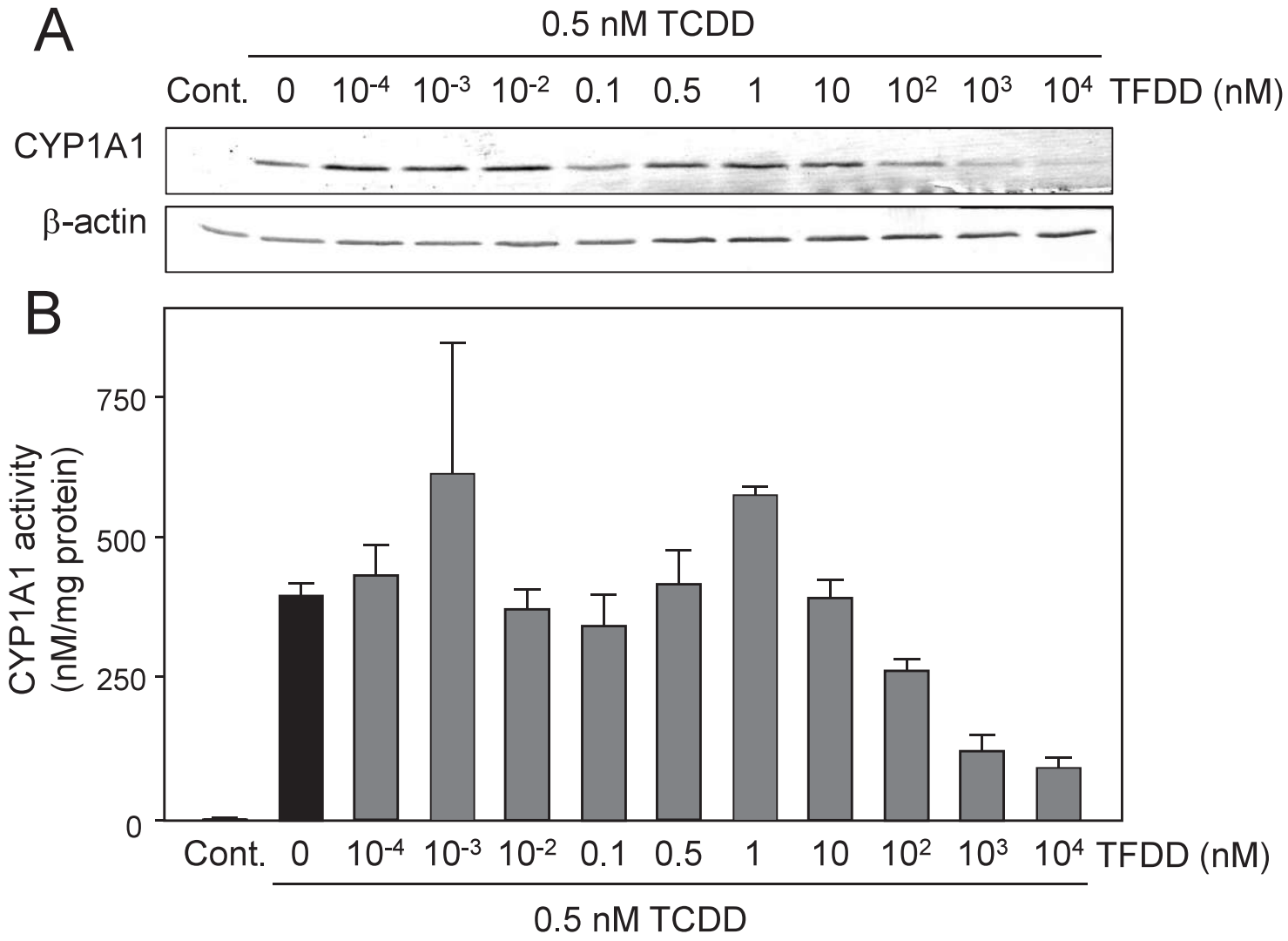


Fig. 1. Effect of 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin (TFDD) on the dioxin-produced induction of the expression (A) and activity (B) of CYP1A1 protein in the T47D cells. Bars are the means ± S.E.M. of 4 cultures.

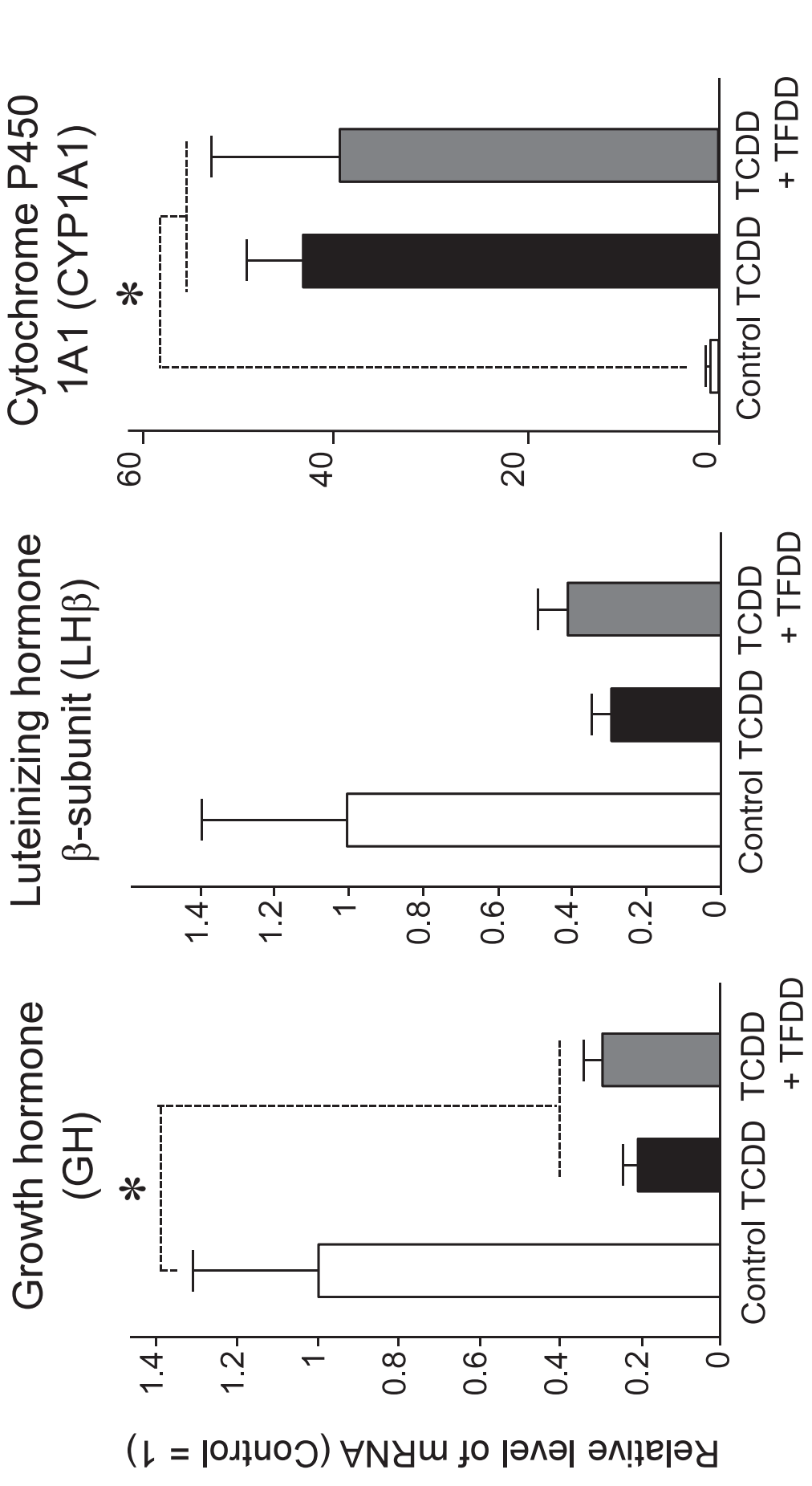


Fig. 2. Effect of maternal exposure to TCDD and TFDD on the pituitary expression of mRNAs coding for CYP1A1, LHβ and GH in male fetuses at gestational day (GD) 20. Pregnant rats at GD15 were orally treated with 1 μg/kg TCDD or corn oil, and treated with TFDD (1 mg/kg/day) during GD16 and GD19. Bars are the means ± S.E.M. of 3 pooled fetal pituitary which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated: *p<0.05.

Table 1 Effects of maternal exposure to TCDD and TFDD on the litter size, sex ratio, and body and placental weight of fetuses.

Treatment	Sex	Litter Size	Sex ratio (% male)	Body weight (g)	Placental weight (mg)	% of BW
Control		13.7 ± 0.9	48.6 ± 7.0			
	Male	6.7 ± 1.2		3.83 ± 0.11	488 ± 3	12.8 ± 0.3
	Female	7.0 ± 1.0		3.62 ± 0.14	453 ± 2	12.6 ± 0.4
TCDD		11.3 ± 1.2*	52.8 ± 7.4			
	Male	6.0 ± 1.2		3.74 ± 0.10	510 ± 18	13.7 ± 0.7
	Female	5.3 ± 1.2		3.45 ± 0.07	487 ± 58	14.1 ± 1.6
TCDD + TFDD		11.7 ± 1.3*	57.6 ± 4.2			
	Male	6.7 ± 1.2		3.75 ± 0.22	528 ± 15	14.2 ± 0.5
	Female	5.0 ± 0.3		3.57 ± 0.14	471 ± 44	13.2 ± 0.8

Each value represents the mean ± S.E.M. of 3 dams. *Significantly different from the control (p<0.05).

分担研究報告書

ペリル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 細胞を用いて、AHR および NRF2 の発現に及ぼすシソの有効成分であるペリル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紫蘇に 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ペリルアルデヒドついて、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、CYP1A1 発現 CCL2, IL-1b 産生、活性酸素種（ROS）産生へのペリルアルデヒドの影響を蛍光免疫染色、RT-PCR、ELISA、フローサイトメトリーで検討した。また NRF2 の核内移行および抗酸化酵素である HO1 発現に及ぼすペリルアルデヒドの効果も検討した。

C. 研究結果

ペリル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）。またペリルアルデヒドはベンゾピレンによるケラチノサイトからの CCL2 産生増強を抑制した（図 2）。さらにペリルアルデヒドは NRF2 の核内移行および HO1 の発現を誘導した（図 3）。ペリルアルデヒドによる HO1 の発現は、NRF2 に対する siRNA によりブロックされた。またペリルアルデヒドはベンゾピレンによる ROS 産生を抑制した（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。今回紫蘇の成分であるペリルアルデヒドに強い抗酸化作用のほか AHR 抑制による抗炎症効果があることを示した。ペリルアルデヒドは紫蘇特有の芳香と辛味の由来となる成分である。積極的に食事に取り入れることで慢性ダイオキシン中毒の症状を緩和する効果が期待できると考えられる。

E. 結論

ペリルアルデヒドに強い AHR 阻害作用があった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Fuyuno Y, Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Tanaka Y, Mitoma C, Furue M. Perillaldehyde Inhibits AHR Signaling and Activates NRF2 Antioxidant Pathway in Human Keratinocytes. Oxid Med Cell Longev. In press.

Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M, Imamura T. Long-Term Health Effects of PCBs and Related Compounds: A Comparative Analysis of Patients Suffering from Yusho and the General Population. Arch Environ Contam Toxicol. In press.

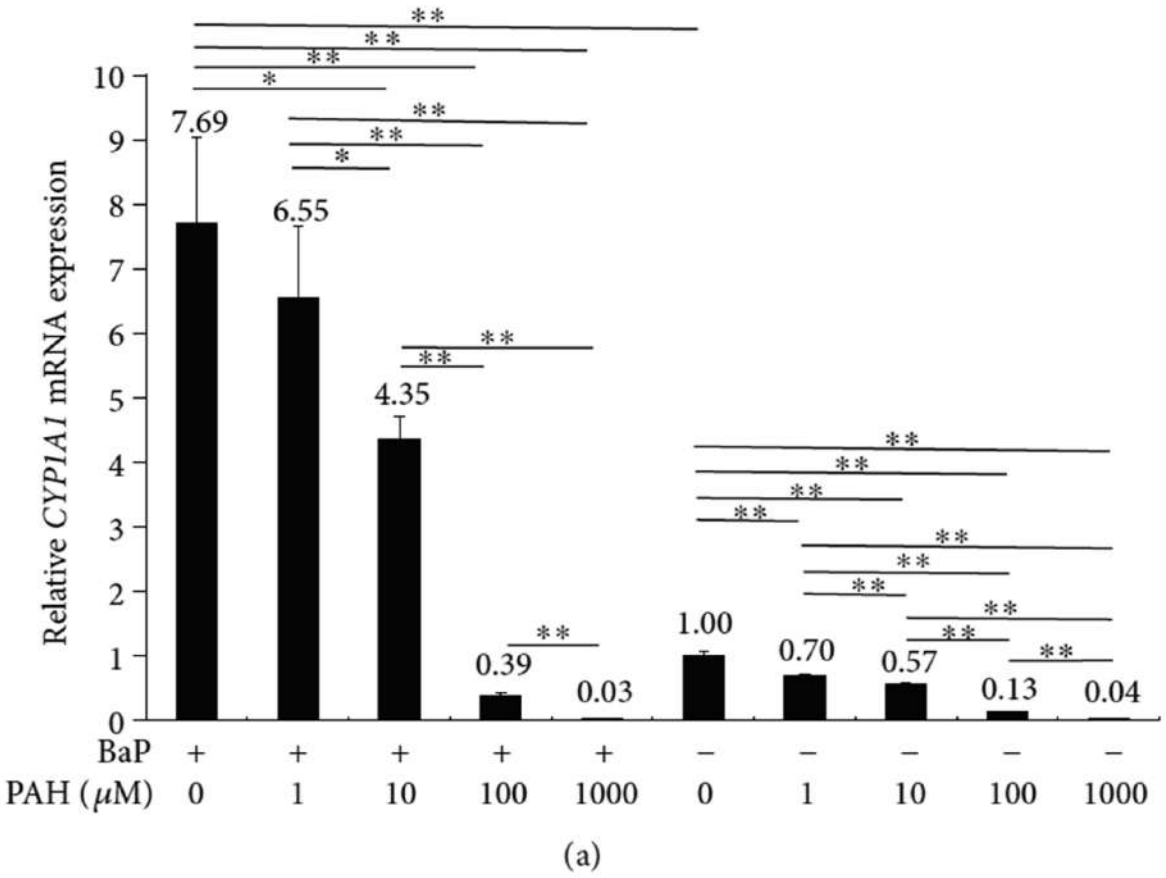
Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. Environ Sci Pollut Res Int. in press.

G. 知的財産権の出願・登録状況

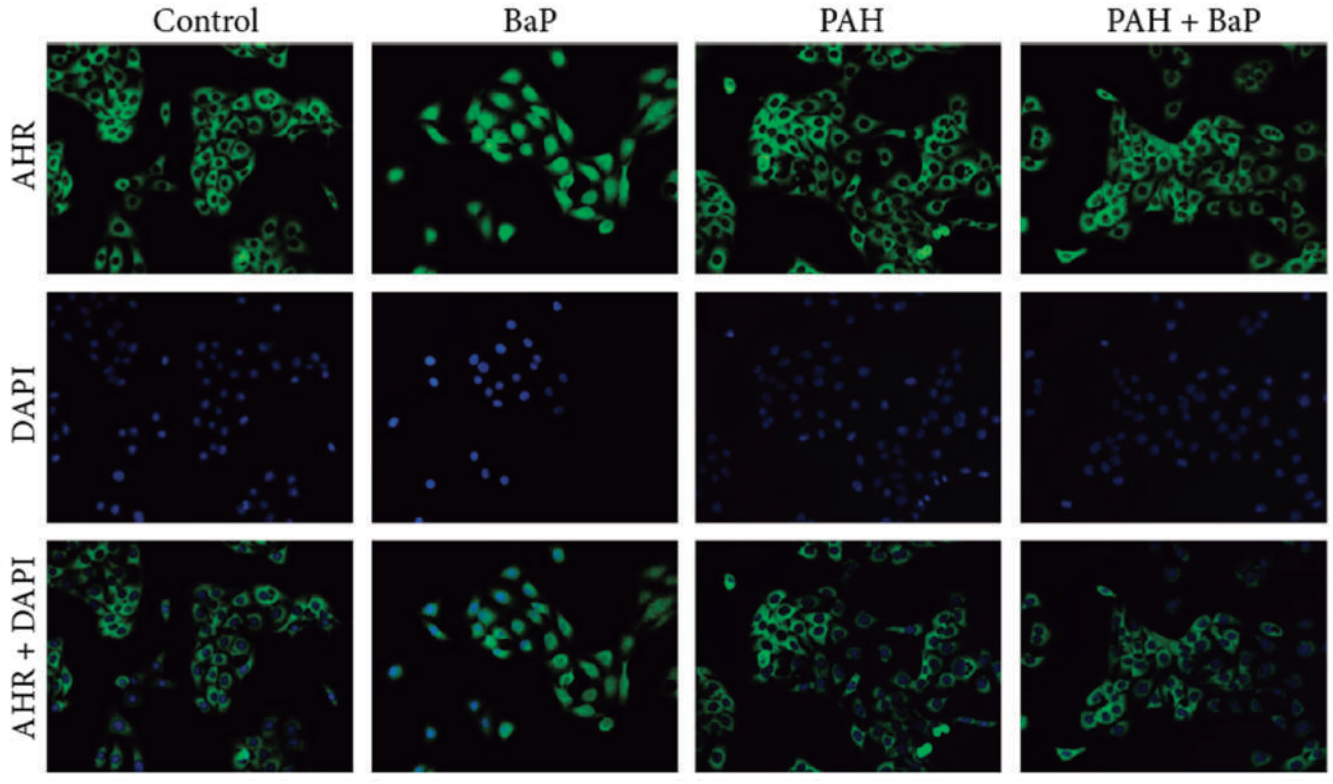
（予定を含む。）

なし

図1

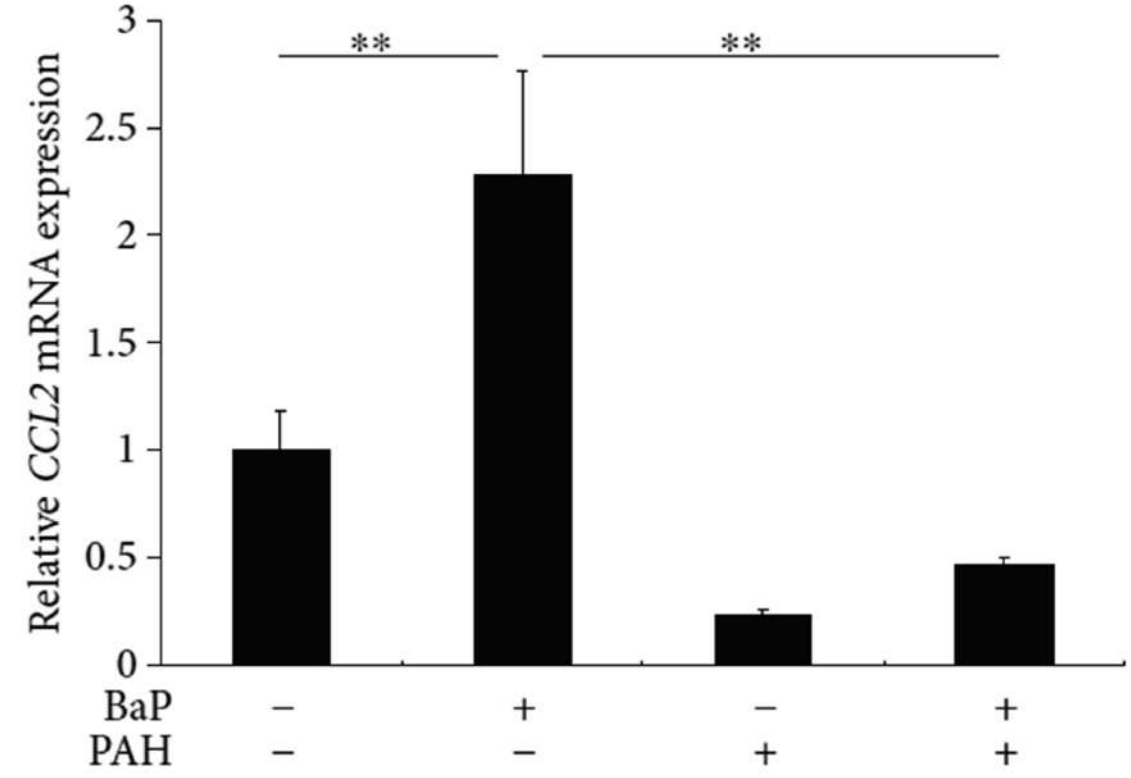

Relative CYP1A1 mRNA expression
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
7.69
6.55
4.35
0.39
0.03
1.00
0.70
0.57
0.13
0.04
**
*
BaP + + + + + − − − − −
PAH (μM) 0 1 10 100 1000 0 1 10 100 1000

(a)

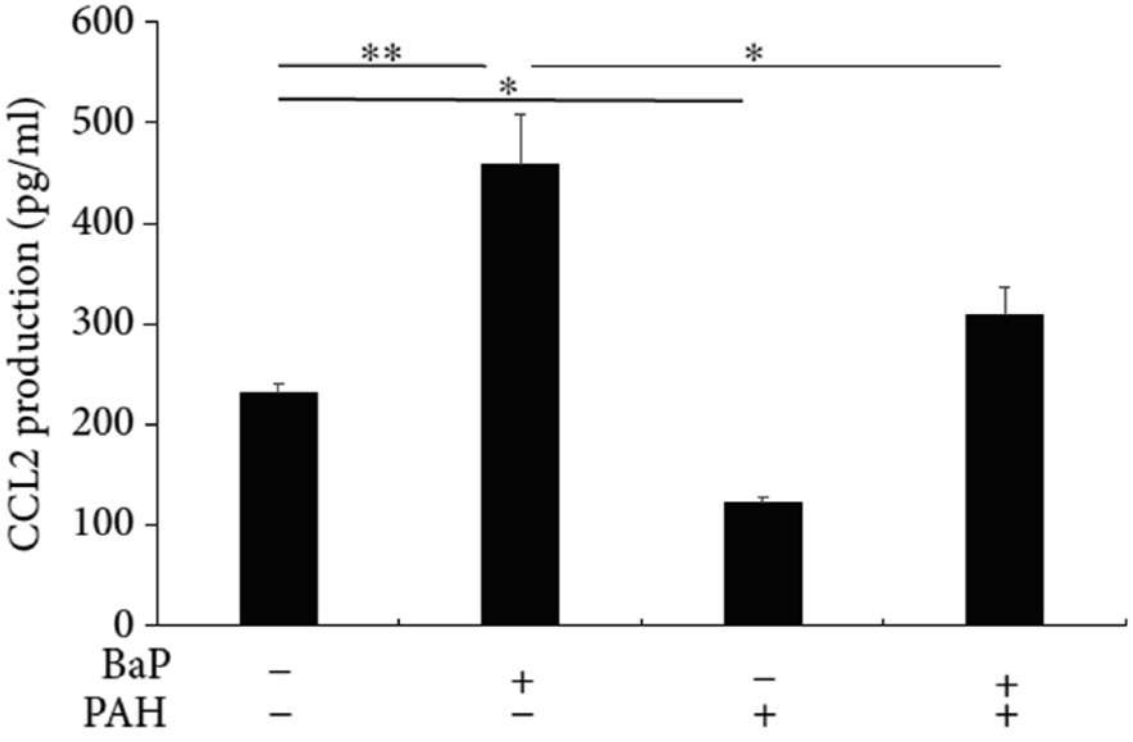

Control
BaP
PAH
PAH + BaP
AHR
DAPI
AHR + DAPI

(b)

図2

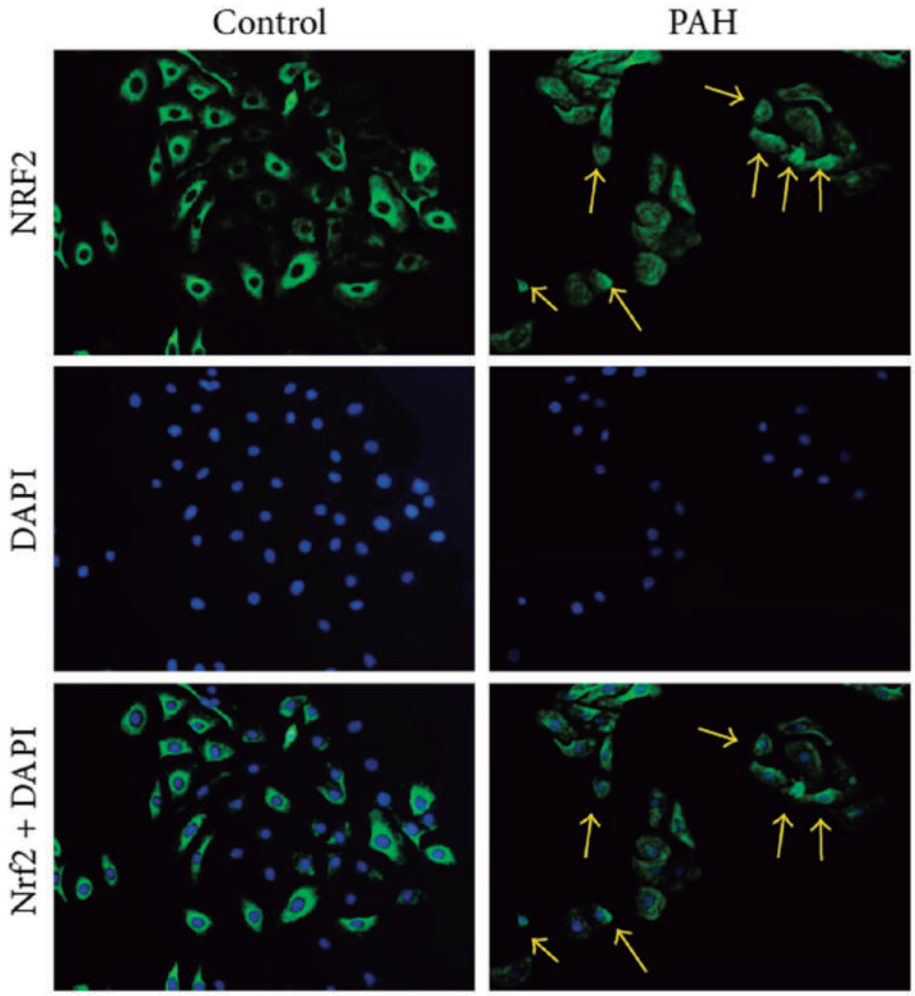

Relative CCL2 mRNA expression
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
**
**
BaP − + − +
PAH − − + +

(a)


CCL2 production (pg/ml)
600
500
400
300
200
100
0
**
*
*
BaP − + − +
PAH − − + +

(b)

図3


Control
PAH
NRF2
DAPI
Nrf2 + DAPI

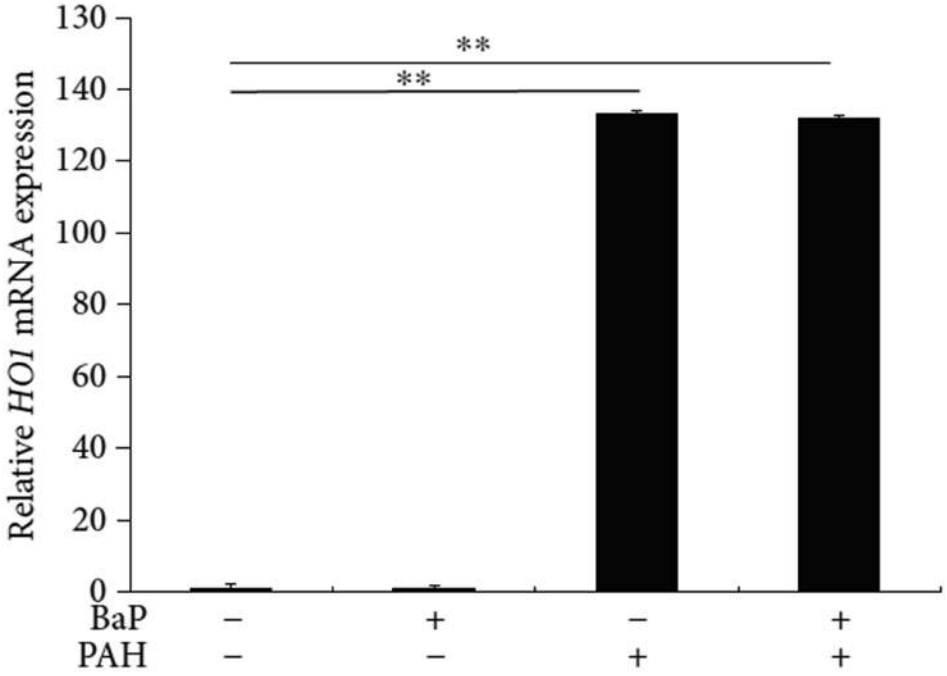

Relative HO1 mRNA expression
130
140
120
100
80
60
40
20
0
**
**
BaP
PAH
−
+
−
+
−
−
+
+

図4

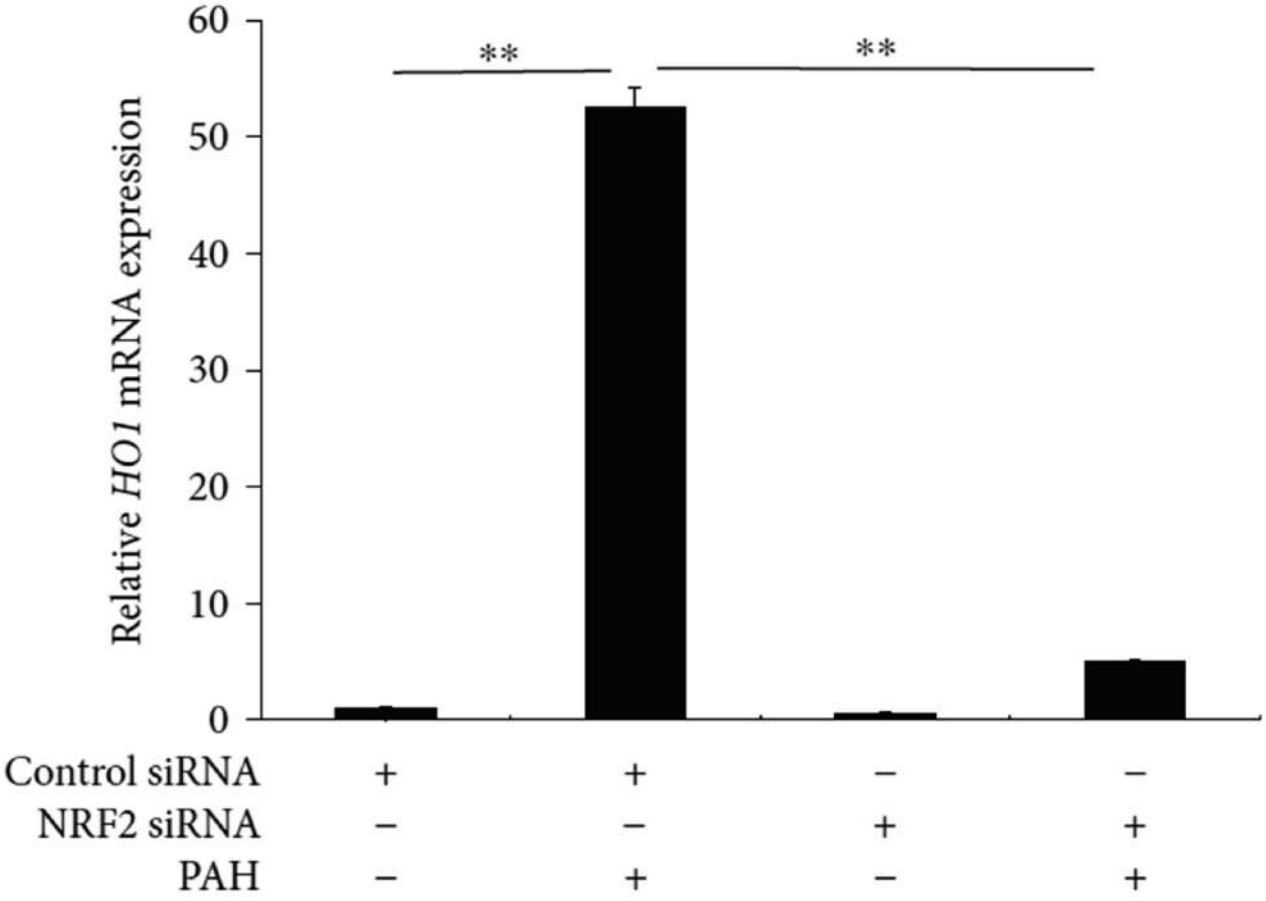
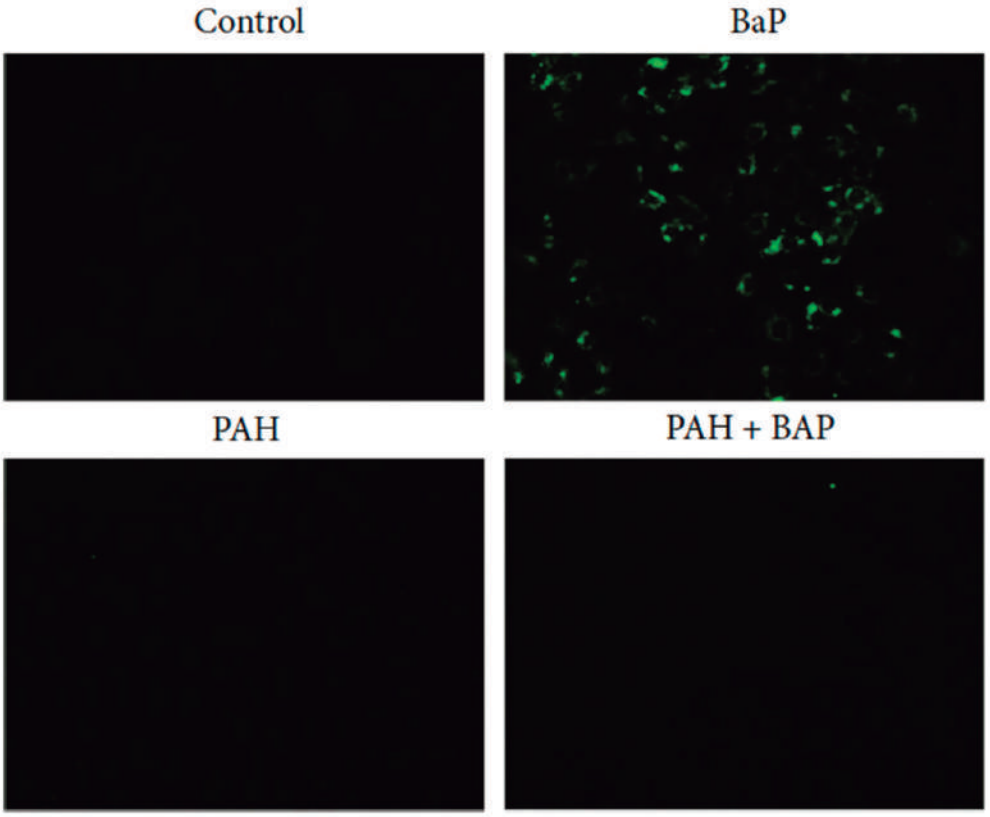
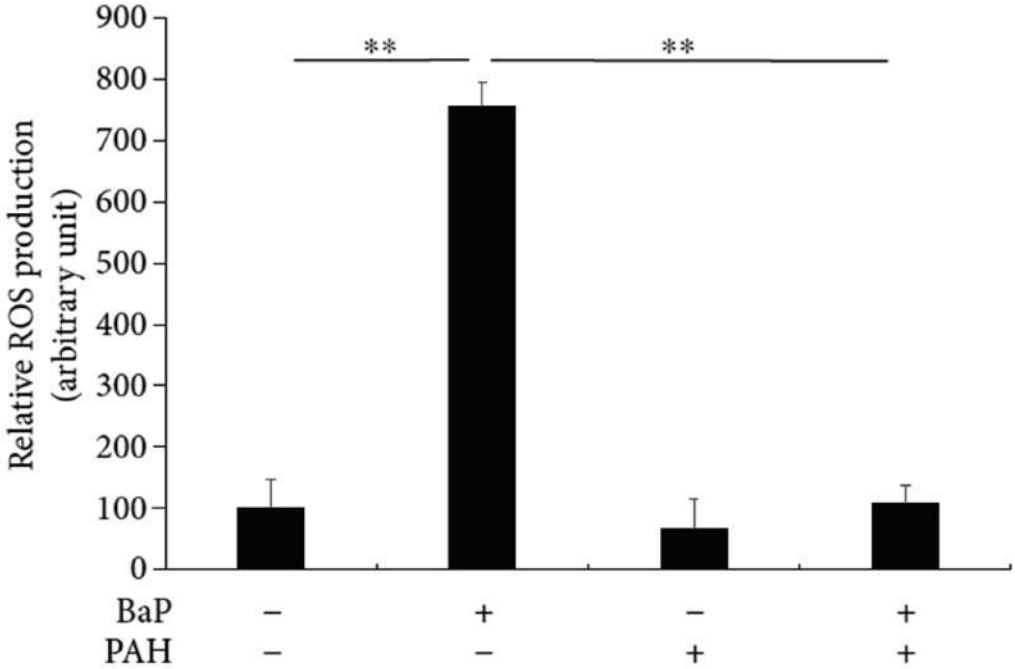

60
50
40
30
20
10
0
Relative HO1 mRNA expression
**
**
Control siRNA + + − −
NRF2 siRNA − − + +
PAH − + − +

図5


Control
BaP
PAH
PAH + BAP


Relative ROS production
(arbitrary unit)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
**
**
BaP
PAH
−
+
−
+
−
−
+
+

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，

【厚生労働科学研究費により刊行】

太田千穂、藤井由希子、原口浩一、加藤善久、木村　治、遠藤哲也、古賀信幸，2,2’,3,4,4’,5,6’−七塩素化ビフェニル(CB182)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．福岡医学雑誌，108(3)，51-57（2017)．

山田健一, 武田知起, 黒木廣明, 三苫千景, 内　博史, 古江増隆, 山田英之, 石井祐次, 油症原因物質 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran による酸化的ストレス惹起の推定機構：肝臓での過酸化水素産生亢進と肝障害.　福岡医学雑誌., 108: 58-67 (2017).

人見将也, 武田知起, 山田英之, 石井祐次, 2,3,7,8-Tetrafluorodibenzo-p-dioxin が思春期ラットに及ぼす影響: ダイオキシン様急性毒性を指標とした解析.
福岡医誌., 108: 68-74 (2017).

申 敏哲，吉村 惠. 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. 福岡医学雑誌, 108(3), 75-82, 2017.

新谷依子、堀就英、安武大輔、平川博仙、小木曽俊孝、宮脇崇、飛石和大、戸高尊、梶原淳睦、香月進、岸玲子、三苫千景、古江増隆, 血液中ダイオキシン類および PCB 類濃度測定のクロスチェック（第 2 報）, 福岡医学雑誌, 2017. 108(3). 83-93.

小木曽俊孝、安武大輔、佐藤環、高橋浩司、堀就英、梶原淳睦、香月進、三苫千景、古江増隆, 2014-2016 年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析, 福岡医学雑誌, 2017. 108(3). 94-101

安武大輔、飛石和大、平川博仙、新谷依子、小木曽俊孝、堀就英、梶原淳睦、香月進、三苫千景、古江増隆, Deans switch 型 SilFlow を用いた血中ダイオキシン類測定におけるソルベントカット大量注入法の開発, 福岡医学雑誌, 2017. 108(3).102-110.

辻 博，蓮尾裕：油症における甲状腺機能の検討．福岡医学雑誌 108：111−117，2017.

松本伸哉、赤羽学、神奈川芳行、梶原淳睦、三苫千景、内博史、古江増隆、今村知明　カネミ油症におけるダイオキシン類の排出速度研究の進展　福岡医学雑誌第 108 巻、第 3 号別刷：118-123, 2017

三苫千景. 油症の治療　-歴史と展望-.　福岡医学雑誌, 2017. 108(3).124-129.

赤羽学、松本伸哉、神奈川芳行、三苫千景、内博史、吉村健清、古江増隆、今村知明.　一般成人を対象とした健康実態調査とカネミ油症患者実態調査の比較　福岡医学雑誌　106（5）：85-118, 2015.

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．福岡医学雑誌 106：119-123，2015.

峯嘉子，鍬塚大，宇谷厚志：長崎県油症患者における制御性 T 細胞(Treg 細胞)の検討．福岡医学雑誌 106(5)：124-126，2015.

服部友紀子，武田知起，田浦順樹，黒木広明，石井祐次，山田英之，ダイオキシン母体曝露による発達児の甲状腺ホルモンへの影響.
福岡医誌., 106: 127-134 (2015).

福士純一，岩本幸英．油症検診における骨密度の解析．福岡医学雑誌．106(5). 135-138. 2015.

松本伸哉、赤羽学、神奈川芳行、梶原淳睦、月森清己、和氣徳夫、三苫千景、内博史、古江増隆、今村知明．　カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期と芳香族炭化水素受容体（AhR）の SNP の関係　福岡医学雑誌　106（5）：139-143、2015.

川﨑五郎，市川陽子，吉冨泉，梅田正博．油症患者の唾液におけるメタボローム解析．福岡医学雑誌．106(5). 144-148. 2015.

梶原淳睦，戸高　尊，平川博仙，堀　就英，平田輝昭，飯田隆雄，内　博史，古江増隆．油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布．福岡医学雑誌．　106(5). 149-153. 2015.

安武大輔、小木曽俊孝、堀　就英、宮脇　崇、山本貴光、梶原淳睦、内　博史，古江増隆．福岡県油症検診(2011-2014 年度)受診者における血液中 PCB 濃度と傾向．福岡医学雑誌．106(5). 154-159. 2015.

2012 年度油症認定患者の血液中に残留するポリ塩素化ビフェニルに関する研究．福岡医学雑誌. 106(5). 160-168. 2015.

山田健一，石井祐次，武田知起，黒木広明，三苫千景，内　博史，古江増隆，山田英之，Cynaropicrin が油症原因物質 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran による wasting syndrome および酸化的ストレスに及ぼす影響.
福岡医誌., 106: 169-175 (2015).

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(5)，176-183 (2015)．

三苫千景、内博史、辻　学、古賀沙緒里、古江増隆．油症の最新の知見と治療開発に向けて．福岡医誌 2015, 106(5): 184-195.

【古江増隆】

Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M, Imamura T. Long-Term Health Effects of PCBs and Related Compounds: A Comparative Analysis of Patients Suffering from Yusho and the General Population. Arch Environ Contam Toxicol. 2017 Dec 18. doi: 10.1007/s00244-017-0486-6. [Epub ahead of print]

Mitoma C, Furue M. Overexpression of S100A7 protein is an integral part of abnormal epidermal differentiation in cornoid lamella of porokeratosis. Int J Dermatol. 2017 Dec 12. doi: 10.1111/ijd.13849. [Epub ahead of print]

Chiba T, Ishida N, Kohda F, Furue M. Air exposure may be associated with the histological differentiation of a cultured epidermal autograft (JACE). Australas J Dermatol. 2017 Dec 11. doi: 10.1111/ajd.12753. [Epub ahead of print]

Takeuchi S, Oba J, Esaki H, Furue M. Non-corticosteroid adherence and itch severity influence perception of itch in atopic dermatitis. J Dermatol. 2017 Nov 23. doi: 10.1111/1346-8138.14124. [Epub ahead of print]

Namikawa K, Tsutsumida A, Mizutani T, Shibata T, Takenouchi T, Yoshikawa S, Kiyohara Y, Uchi H, Furue M, Ogata D, Tsuchida T, Yamazaki N. Randomized phase
III trial of adjuvant therapy with locoregional interferon beta versus surgery alone in stage II/III cutaneous melanoma: Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG1309, J-FERON). Jpn J Clin Oncol. 2017 Jul 1;47(7):664-667.

Murai M, Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Kawakami Y, Furue M, Mitoma C. An endogenous tryptophan photo-product, FICZ, is potentially involved in photo-aging by reducing TGF-β-regulated collagen homeostasis. J Dermatol Sci. 2017 Oct 16. pii: S0923-1811(17)30760-0. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.10.002. [Epub ahead ofprint]

Kuma Y, Yamada Y, Yamamoto H, Kohashi K, Ito T, Furue M, Oda Y. A Novel Fusion Gene CRTC3-MAML2 in Hidradenoma: Histopathological Significance. Hum Pathol. 2017 Oct 24. pii: S0046-8177(17)30373-8. doi: 10.1016/j.humpath.2017.10.004. [Epub ahead of print]

Sagata N, Kato TA, Kano SI, Ohgidani M, Shimokawa N, Sato-Kasai M, Hayakawa K, Kuwano N, Wilson AM, Ishizuka K, Kato S, Nakahara T, Nakahara-Kido M, Setoyama D, Sakai Y, Ohga S, Furue M, Sawa A, Kanba S. Dysregulated gene expressions of MEX3D, FOS and BCL2 in human induced-neuronal (iN) cells from NF1 patients: a pilot study. Sci Rep. 2017 Oct 24;7(1):13905. doi: 10.1038/s41598-017-14440-7.

Miyawaki T, Sugihara M, Hirakawa S, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Mitoma C, Furue M. Compound-specific isotopic and congener-specific analyses of polychlorinated biphenyl in the heat medium and rice oil of the Yusho incident. Environ Sci Pollut Res Int. 2017 Sep 21. doi: 10.1007/s11356-017-0175-z. [Epub ahead of print]

Hirano A, Goto M, Mitsui T, Hashimoto-Hachiya A, Tsuji G, Furue M. Antioxidant Artemisia princeps Extract Enhances the Expression of Filaggrin and Loricrin via the AHR/OVOL1 Pathway. Int J Mol Sci. 2017 Sep 11;18(9). pii: E1948. doi: 10.3390/ijms18091948.

Yamada Y, Kinoshita I, Kenichi K, Yamamoto H, Iwasaki T, Otsuka H, Yoshimoto M, Ishihara S, Toda Y, Kuma Y, Setsu N, Koga Y, Honda Y, Inoue T, Yanai H, Yamashita K, Ito I, Takahashi M, Ohga S, Furue M, Nakashima Y, Oda Y. Histopathological and genetic review of phosphaturic mesenchymal tumours, mixed connective tissue variant. Histopathology. 2017 Aug 31. doi: 10.1111/his.13377. [Epub ahead of print]

Sakoda T, Kanamitsu Y, Mori Y, Sasaki K, Yonemitsu E, Nagae K, Yoshimoto G, Kamezaki K, Kato K, Takenaka K, Miyamoto T, Furue M, Iwasaki H, Akashi K. Recurrent Subcutaneous Sweet's Disease in a Myelofibrosis Patient Treated with Ruxolitinib before Allogeneic Stem Cell Transplantation. Intern Med. 2017 Sep 15;56(18):2481-2485.

Hiraki-Hotokebuchi Y, Yamada Y, Kohashi K, Yamamoto H, Endo M, Setsu N, Yuki K, Ito T, Iwamoto Y, Furue M, Oda Y. Alteration of PDGFRβ-Akt-mTOR pathway signaling in fibrosarcomatous transformation of dermatofibrosarcoma protuberans. Hum Pathol. 2017 Sep;67:60-68.

Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Kiyomatsu-Oda M, Takemura M, Ohno F, Ito T, Morino-Koga S, Mitoma C, Nakahara T, Uchi H, Furue M. Aryl hydrocarbon receptor activation restores filaggrin expression via OVOL1 in atopic dermatitis. Cell Death Dis. 2017 Jul 13;8(7):e2931. doi: 10.1038/cddis.2017.322.

Wada N, Uchi H, Furue M. Bullous pemphigoid induced by pembrolizumab in a patient with advanced melanoma expressing collagen XVII. J Dermatol. 2017 Oct;44(10):e240-e241.

Watanabe S, Ohnishi T, Yuasa A, Kiyota H, Iwata S, Kaku M, Watanabe A, Sato J, Hanaki H, Manabe M, Suzuki T, Otsuka F, Aihara M, Iozumi K, Tamaki T, Funada Y, Shinozaki M, Kobayashi M, Okuda M, Kikyo G, Kikuchi K, Okada Y, Takeshima M, Kaneko O, Ogawa N, Ito R, Okuyama R, Shimada S, Shimizu T, Hatta N, Manabu M, Tsutsui K, Tanaka T, Miyachi Y, Asada H, Furukawa F, Kurokawa I, Iwatsuki K, Hide M, Muto M, Yamamoto O, Niihara H, Takagaki K, Kubota Y, Sayama K, Sano S, Furue M, Kanekura T. The first nationwide surveillance of antibacterial susceptibility patterns of pathogens isolated from skin and soft-tissue infections in dermatology departments in Japan. J Infect Chemother. 2017 Aug;23(8):503-511.

Hirakawa S, Miyawaki T, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Hirano M, Yoshinouchi Y, Iwata H, Mitoma C, Furue M. Accumulation properties of polychlorinated biphenyl congeners in Yusho patients and prediction of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico analysis. Environ Sci Pollut Res Int. 2017 Jun 21. doi: 10.1007/s11356-017-9498-z. [Epub ahead of print]

Uryu M, Furue M. p16(INK4a) Expression in Porokeratosis. Ann Dermatol. 2017 Jun;29(3):373-376.

Morino-Koga S, Uchi H, Mitoma C, Wu Z, Kiyomatsu M, Fuyuno Y, Nagae K, Yasumatsu M, Suico MA, Kai H, Furue M. 6-Formylindolo[3,2-b]Carbazole Accelerates
Skin Wound Healing via Activation of ERK, but Not Aryl Hydrocarbon Receptor. J Invest Dermatol. 2017 Oct;137(10):2217-2226.

Maehara E, Mitoma C, Tsuji G, Ito T, Uchi H, Oda Y, Furue M. Breast angiosarcoma without radiation history, putatively associated with subclinical lymphedema: A case report and review of the Japanese literature. J Dermatol. 2017 Oct;44(10):e266-e267.

Takeda T, Komiya Y, Koga T, Ishida T, Ishii Y, Kikuta Y, Nakaya M, Kurose H, Yokomizo T, Shimizu T, Uchi H, Furue M, Yamada H. Dioxin-induced increase in leukotriene B4 biosynthesis through the aryl hydrocarbon receptor and its relevance to hepatotoxicity owing to neutrophil infiltration. J Biol Chem. 2017 Jun 23;292(25):10586-10599. doi: 10.1074/jbc.M116.764332. Epub 2017 May 9.

Yamada Y, Kinoshita I, Kohashi K, Yamamoto H, Kuma Y, Ito T, Koda K, Kisanuki A, Kurosawa M, Yoshimura M, Furue M, Oda Y. HIF-1α, MDM2, CDK4, and p16 expression in ischemic fasciitis, focusing on its ischemic condition. Virchows Arch. 2017 Jul;471(1):117-122.

Wada N, Uchi H, Furue M. Case of remitting seronegative symmetrical synovitis with pitting edema (RS3PE) syndrome induced by nivolumab in a patient with advanced malignant melanoma. J Dermatol. 2017 Aug;44(8):e196-e197.

Morokuma S, Tsukimori K, Hori T, Kato K, Furue M. The Vernix Caseosa is the Main Site of Dioxin Excretion in the Human Foetus. Sci Rep. 2017 Apr 7;7(1):739.

Wada M, Ito T, Tsuji G, Nakahara T, Hagihara A, Furue M, Uchi H. Acral lentiginous melanoma versus other melanoma: A single-center analysis in Japan. J Dermatol. 2017 Aug;44(8):932-938.

Ito T, Tsuji G, Ohno F, Nakahara T, Uchi H, Furue M. Potential role of the OVOL1-OVOL2 axis and c-Myc in the progression of cutaneous squamous cell carcinoma. Mod Pathol. 2017 Jul;30(7):919-927.

Kitajima K, Ashida K, Wada N, Suetsugu R, Takeichi Y, Sakamoto S, Uchi H, Matsushima T, Shiratsuchi M, Ohnaka K, Furue M, Nomura M. Isolated ACTH deficiency probably induced by autoimmune-related mechanism evoked with nivolumab. Jpn J Clin Oncol. 2017 May 1;47(5):463-466.

Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Takemura M, Kanemaru T, Ichihashi M, Furue M. Palladium and Platinum Nanoparticles Activate AHR and NRF2 in Human Keratinocytes-Implications in Vitiligo Therapy. J Invest Dermatol. 2017 Jul;137(7):1582-1586.

Uryu M, Kido-Nakahara M, Nakahara T, Chiba T, Furue M. Epidermal p16(INK)(4a) expression is more frequently and intensely upregulated in lichen planus than in eczema, psoriasis, drug eruption and graft-versus-host disease. J Dermatol. 2017 Mar;44(3):343-344.

Ruzicka T, Hanifin JM, Furue M, Pulka G, Mlynarczyk I, Wollenberg A, Galus R, Etoh T, Mihara R, Yoshida H, Stewart J, Kabashima K; XCIMA Study Group. Anti-Interleukin-31 Receptor A Antibody for Atopic Dermatitis. N Engl J Med. 2017 Mar 2;376(9):826-835.

Reich A, Chatzigeorkidis E, Zeidler C, Osada N, Furue M, Takamori K, Ebata T, Augustin M, Szepietowski JC, Ständer S. Tailoring the Cut-off Values of the Visual Analogue Scale and Numeric Rating Scale in Itch Assessment. Acta Derm Venereol. 2017 Jun 9;97(6):759-760.

Wada N, Uchi H, Furue M. Case of angiosarcoma of the scalp successfully controlled by eribulin. J Dermatol. 2017 Feb 10. doi: 10.1111/1346-8138.13775. [Epub ahead of print]

Yamamura K, Uruno T, Shiraishi A, Tanaka Y, Ushijima M, Nakahara T, Watanabe M, Kido-Nakahara M, Tsuge I, Furue M, Fukui Y. The transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction. Nat Commun. 2017 Jan 9;8:13946. doi: 10.1038/ncomms13946.

Eto H, Tsuji G, Chiba T, Furue M, Hyodo F. Non-invasive evaluation of atopic dermatitis based on redox status using in vivo dynamic nuclear polarization magnetic resonance imaging. Free Radic Biol Med. 2017 Feb;103:209-215.

Yagami A, Furue M, Togawa M, Saito A, Hide M. One-year safety and efficacy study of bilastine treatment in Japanese patients with chronic spontaneous urticaria or pruritus associated with skin diseases. J Dermatol. 2017 Apr;44(4):375-385.

Mitamura Y, Azuma S, Matsumoto D, Takada-Watanabe A, Takemoto M, Yokote K, Motoshita J, Oda Y, Furue M, Takeuchi S. Case of sarcomatoid carcinoma occurring in a patient with Werner syndrome. J Dermatol. 2016 Nov;43(11):1362-1364.

Esaki H, Takeuchi S, Furusyo N, Yamamura K, Hayashida S, Tsuji G, Takemura M, Hayashi J, Furue M. Levels of immunoglobulin E specific to the major food allergen and chemokine (C-C motif) ligand (CCL)17/thymus and activation regulated chemokine and CCL22/macrophage-derived chemokine in infantile atopic dermatitis on Ishigaki Island. J Dermatol. 2016 Nov;43(11):1278-1282.

Tsuji G, Takei K, Takahara M, Matsuda T, Nakahara T, Anzawa K, Mochizuki T, Furue M, Uchi H. Simultaneous onset of sporotrichosis in mother and daughter. J Dermatol. 2017 Sep;44(9):1068-1069.

Tsuji G, Matsuda T, Shigyo A, Matsuda T, Furue M. Primary cutaneous cryptococcosis successfully managed by surgical debridement and liposomal amphotericin B/flucytosine therapy. Eur J Dermatol. 2017 Feb 1;27(1):96-97.

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.

Ichiki T, Jinnai S, Nakagawa R, Kohda F, Furue M. Case of widespread fat necrosis that was caused by severe pancreatitis and histologically resembled pancreatic panniculitis. J Dermatol. 2017 Aug;44(8):979-981.

Tsuji G, Takei K, Takahara M, Matsuda T, Nakahara T, Furue M, Uchi H. Cutaneous Pseudallescheria boydii/Scedosporium apiospermum complex infection in immunocompromised patients: A report of two cases. J Dermatol. 2017 Sep;44(9):1067-1068.

Hide M, Yagami A, Togawa M, Saito A, Furue M. Efficacy and safety of bilastine in Japanese patients with chronic spontaneous urticaria: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase II/III study. Allergol Int. 2017 Apr;66(2):317-325.

Masaki S, Tatsukawa R, Uryu M, Takahara M, Furue M, Ohata C, Nakama T, Hino R, Nakamura M, Nakayama J, Imafuku S. Treatment satisfaction, willingness to pay and quality of life in Japanese patients with psoriasis. J Dermatol. 2017 Feb;44(2):143-146.

Itoh E, Nakahara T, Murata M, Ito T, Onozuka D, Furumura M, Hagihara A, Furue M. Chronic spontaneous urticaria: Implications of subcutaneous inflammatory cell infiltration in an intractable clinical course. J Allergy Clin Immunol. 2017 Jan;139(1):363-366.

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.

Fukushi JI, 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. 2015 Nov 30;145:25-33.

Kakizuka S, Takeda T, Komiya Y, Koba A, Uchi H, Yamamoto M, Furue M, Ishii Y, Yamada H. Dioxin-Produced Alteration in the Profiles of Fecal and Urinary Metabolomes: A Change in Bile Acids and Its Relevance to Toxicity. Biol Pharm Bull. 2015;38(10):1484-95. doi: 10.1248/bpb.b15-00235. PubMed PMID: 26424014.

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M,Imamura T. Unexpectedly long half-lives of blood 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) levels in Yusho patients. Environ Health. 2015 Sep 17;14:76. doi: 10.1186/s12940-015-0059-y. PubMed PMID: 26384313;PubMed Central PMCID: PMC4574225.

Furue M, Tsuji G, Mitoma C, Nakahara T, Chiba T, Morino-Koga S, Uchi H. Gene regulation of filaggrin and other skin barrier proteins via aryl hydrocarbon receptor. J Dermatol Sci. 2015 Nov;80(2):83-88. doi:10.1016/j.jdermsci.2015.07.011. Epub 2015 Jul 26. Review. PubMed PMID: 26276439.

Mitoma C, Uchi H, Tsuji G, Koga S, Furue M. [Latest Findings of Yusho and Its Therapeutic Development]. Fukuoka Igaku Zasshi. 2015 May;106(5):184-94. Review.
Japanese. PubMed PMID: 26226682.

Yamada K, Ishii Y, Takeda T, Kuroki H, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Yamada H.[Effect of Cynaropicrin on 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran-induced WastingSyndrome and Oxidative Stress]. Fukuoka Igaku Zasshi. 2015 May;106(5):169-75.Japanese. PubMed PMID: 26226680.

Miyawaki T, Hirakawa S, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T,Uchi H, Furue M. A Study on Polychlorinated Biphenyls Specifically—Accumulated in Blood of Yusho Patients Collected from Medical Check-Ups in 2012. Fukuoka Igaku Zasshi. 2015 May;106(5):160-8. PubMed PMID: 26226679.

Yasutake D, Kogiso T, Hori T, Miyawaki T, Yamamoto T, Kajiwara J, Hirata T,Uchi H, Furue M. [Blood PCB Concentrations and their Tendencies Examined in Fukuoka 2011-2014 Annual Inspections for Yusho]. Fukuoka Igaku Zasshi. 2015 May;106(5):154-9. Japanese. PubMed PMID: 26226678.

Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Hirata T, Iida T, Uchi H, Furue M.[The Distribution of Dioxin Concentrations in the Blood of Yusho Patients].Fukuoka Igaku Zasshi. 2015 May;106(5):149-53. Japanese. PubMed PMID: 26226677.

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Tsukimori K, Wake N, MitomaC, Uchi H, Furue M, Imamura T. [Relationships between Half-Lives of Dioxins and SNPs in AhR among Yusho Patients]. Fukuoka Igaku Zasshi. 2015 May;106(5):139-43. Japanese. PubMed PMID: 26226675.

Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M,Imamura T. [Comparison of the prevalence of symptoms and medical histories between Yusho patients and healthy controls]. Fukuoka Igaku Zasshi. 2015 May;106(5):85-118. Japanese. PubMed PMID: 26226670.

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Yamada H, Akahane M, Imamura T, Utani A, Furue M. Yusho and its latest findings-A review in studies conducted by the Yusho Group. Environ Int. 2015 Sep;82:41-8. doi: 10.1016/j.envint.2015.05.004. Epub 2015 May 23. Review. PubMed PMID: 26010306.

Mitoma C, Mine Y, Utani A, Imafuku S, Muto M, Akimoto T, Kanekura T, Furue M, Uchi H. Current skin symptoms of Yusho patients exposed to high levels of 2,3,4,7,8-pentachlorinated dibenzofuran and polychlorinated biphenyls in 1968.
Chemosphere. 2015 Oct;137:45-51. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.03.070. Epub 2015 May 15. PubMed PMID: 25985428.

Li MC, Chen PC, Tsai PC, Furue M, Onozuka D, Hagihara A, Uchi H, Yoshimura T,Guo YL. Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans: a meta-analysis of two highly exposed cohorts. Int J Cancer. 2015 Sep 15;137(6):1427-32. doi: 10.1002/ijc.29504. Epub 2015 Mar 16. PubMed PMID:25754105.

（総説）
Nakahara T, Morimoto H, Murakami N, Furue M. Mechanistic insights on topical tacrolimus for the treatment of atopic dermatitis. Pediatr Allergy Immunol. 2017 Dec 4. doi: 10.1111/pai.12842. [Epub ahead of print]

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. Environ Sci Pollut Res Int. 2017 Dec 1. doi: 10.1007/s11356-017-0833-1. [Epub ahead of print]

Furue K, Mitoma C, Tsuji G, Furue M. Protective role of peroxisome proliferator-activated receptor α agonists in skin barrier and inflammation. Immunobiology. 2017 Oct 27. pii: S0171-2985(17)30188-2. doi: 10.1016/j.imbio.2017.10.047. [Epub ahead of print]

Furue M, Kadono T, Tsuji G, Nakahara T. Topical E6005/RVT-501, a novel phosphodiesterase 4 inhibitor, for the treatment of atopic dermatitis. Expert Opin Investig Drugs. 2017 Dec;26(12):1403-1408.

Furue K, Yamamura K, Tsuji G, Mitoma C, Uchi H, Nakahara T, Kido-Nakahara M, Kadono T, Furue M. Highlighting Interleukin-36 Signalling in Plaque Psoriasis and Pustular Psoriasis. Acta Derm Venereol. 2017 Oct 2. doi: 10.2340/00015555-2808. [Epub ahead of print]

Furue M, Tsuji G, Chiba T, Kadono T. Cardiovascular and Metabolic Diseases Comorbid with Psoriasis: Beyond the Skin. Intern Med. 2017;56(13):1613-1619.

Furue M, Kadono T. "Inflammatory skin march" in atopic dermatitis and psoriasis. Inflamm Res. 2017 Oct;66(10):833-842.

Furue M, Mitoma C, Mitoma H, Tsuji G, Chiba T, Nakahara T, Uchi H, Kadono T. Pathogenesis of systemic sclerosis-current concept and emerging treatments. Immunol Res. 2017 Aug;65(4):790-797.

Furue M, Uchi H, Mitoma C, Hashimoto-Hachiya A, Chiba T, Ito T, Nakahara T, Tsuji G. Antioxidants for Healthy Skin: The Emerging Role of Aryl Hydrocarbon Receptors and Nuclear Factor-Erythroid 2-Related Factor-2. Nutrients. 2017 Mar 3;9(3). pii: E223. doi: 10.3390/nu9030223.

Furue M, Kadono T. Pemphigus, a pathomechanism of acantholysis. Australas J Dermatol. 2017 Aug;58(3):171-173.

Furue M, Chiba T, Tsuji G, Ulzii D, Kido-Nakahara M, Nakahara T, Kadono T. Atopic dermatitis: immune deviation, barrier dysfunction, IgE autoreactivity and
new therapies. Allergol Int. 2017 Jul;66(3):398-403.

Kido-Nakahara M, Furue M, Ulzii D, Nakahara T. Itch in Atopic Dermatitis. Immunol Allergy Clin North Am. 2017 Feb;37(1):113-122.

内　博史．油症とは．皮膚科研修ノート．診断と治療社，2016

【赤羽　学】

Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M, Imamura T, Long-term health effects of PCBs and related compounds: a comparative analysis of patients suf fering from Yusho and the general population, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2017 in press.

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, Environmental Health, 7;15(1):95, doi: 10.1186/s12940-016-0178-0, 2016.

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Imamura T: Unexpectedly long half-lives of blood 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) levels in Yusho patients, Environmental Health, 14(1):76, 2015.

【石井祐次】

Takeda T, Komiya Y, Koga T, Ishida T, Ishii Y, Kikuta Y, Nakaya M, Kurose H, Yokomizo T, Shimizu T, Uchi H, Furue M, Yamada H, Dioxin-induced increase in leukotriene B4 biosynthesis through the aryl hydrocarbon receptor and its relevance to hepatotoxicity owing to neutrophil infiltration. *J. Biol. Chem.*, 292: 10586-10599 (2017).

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).

Kakizuka S, Takeda T, Komiya Y, Koba A, Uchi H, Yamamoto M, Furue M, Ishii Y, Yamada H. Dioxin-produced alteration in the profiles of fecal and urinary metabolomes: a change in bile acids and its relevance to toxicity.
Biol. Pharm. Bull., 38: 1484-1495 (2015).

【内　博史】

Fuyuno Y, Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Tanaka Y, Mitoma C, Furue M. Perillaldehyde Inhibits AHR Signaling and Activates NRF2 Antioxidant Pathway in Human Keratinocytes. Oxid Med Cell Longev. In press.

Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M, Imamura T. Long-Term Health Effects of PCBs and Related Compounds: A Comparative Analysis of Patients Suffering from Yusho and the General Population.
Arch Environ Contam Toxicol. In press.

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. Environ Sci Pollut Res Int. in press.

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.

Fukushi JI, 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 2015;145:25-33.

Kakizuka S, Takeda T, Komiya Y, Koba A, Uchi H, Yamamoto M, Furue M, Ishii Y, Yamada H. Dioxin-Produced Alteration in the Profiles of Fecal and Urinary Metabolomes: A Change in Bile Acids and Its Relevance to Toxicity. Biol Pharm Bull 2015;38:1484-95.

Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Imamura T. Unexpectedly long half-lives of blood 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) levels in Yusho patients. Environ Health 2015;14:76.

Nakahara T, Mitoma C, Hashimoto-Hachiya A, Takahara M, Tsuji G, Uchi H, Yan X, Hachisuka J, Chiba T, Esaki H, Kido-Nakahara M, Furue M. Antioxidant Opuntia ficus-indica Extract Activates AHR-NRF2 Signaling and Upregulates Filaggrin and Loricrin Expression in Human Keratinocytes. J Med Food 2015;18:1143-9.

Mitoma C, Mine Y, Utani A, Imafuku S, Muto M, Akimoto T, Kanekura T, Furue M, Uchi H. Current skin symptoms of Yusho patients exposed to high levels of 2,3,4,7,8-pentachlorinated dibenzofuran and polychlorinated biphenyls in 1968. Chemosphere 2015;137:45-51.

Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Shi W, Furue M. Z-ligustilide ameliorated ultraviolet B-induced oxidative stress and inflammatory cytokine production in human keratinocytes through upregulation of Nrf2/HO-1 and suppression of NF-κB pathway. Exp Dermatol 2015;24:703-8.

Li MC, Chen PC, Tsai PC, Furue M, Onozuka D, Hagihara A, Uchi H, Yoshimura T, Guo YL. Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans: a meta-analysis of two highly exposed cohorts. Int J Cancer 2015;137:1427-32.

Takei K, Mitoma C, Hashimoto-Hachiya A, Uchi H, Takahara M, Tsuji G, Kido-Nakahara M, Nakahara T, Furue M. Antioxidant soybean tar Glyteer rescues T-helper-mediated downregulation of filaggrin expression via aryl hydrocarbon receptor. J Dermatol 2015;42:171-80.

Liu G, Asanoma K, Takao T, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Kato K, Wake N. Aryl hydrocarbon receptor SNP -130 C/T associates with dioxins susceptibility through regulating its receptor activity and downstream effectors including interleukin 24. Toxicol Lett 2015;232(2):384-92.

【香月　進】

Yasutake, D., Tobiishi, K., Hirakawa, H., Shintani, Y., Kogiso, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Mitoma, C., Furue, M. Application of a solvent-cut large-volume injection system using Deans switch-type SilFlow in a dioxin analysis of human blood. Organohalogen Compounds. 2017. 79. In press.

Hirakawa, S., Miyawaki, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Hirano, M., Yoshinouchi, Y., Iwata, H., Mitoma, C., Furu,e M. Characteristics of PCB congeners accumulated in Yusho patients and estimation of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico docking simulation. Organohalogen Compounds. 2017. 79. In press.

Miyawaki, T., Sugihara, M., Hirakawa, S., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Mitoma, C., Furue, M. Compound-specific isotopic and congener-specific analyses of polychlorinated biphenyl in the heat medium and rice oil of the Yusho incident. Environmental Science and Pollution Research, In press.

Hirakawa, S., Miyawaki, T., Hori, T., Kajiwara, J., Katsuki, S., Hirano, M., Yoshinouchi, Y., Iwata, H., Mitoma, C., Furue, M. Accumulation properties of polychlorinated biphenyl congeners in Yusho patients and prediction of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico analysis.　Environmental Science and Pollution Research, In press.

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

Yasutake Daisuke, Hori Tsuguhide, Takahashi Koji, Kajiwara Jumboku, Watanabe Takahiro. Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) and hydroxylated PCBs in seafood samples collectedin Kyushu district, Japan. Organohalogen Compounds. 77, 386-389. 2015.

Kajiwara Jumboku, Todaka Takashi, Hirakawa Hironori, Miyawaki Takashi, Miyasita Cihiro, Itoh Sachiko, Sasaki Seiko, Araki Atsuko, KIshi Reiko, Furue Masutaka. Congener-specific comparison of dioxin and PCB concentrations in umbilical cord blood collected in Hokkaidou, Japan. Organohalogen Compounds. 77, 405-408. 2015.

梶原淳睦. 環境化学物質の暴露（２）　POPs（ダイオキシン・PCB 類）の暴露実態. 公衆衛生. 79(5).347-352. 2015.

【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).

太田千穂, 緒方　瞳, 山本健太,　原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸, 黒ショウガ成分 5,7,3',4'-Tetramethoxyflavone のラット肝ミクロゾームによる代謝. 中村学園研究紀要, 48 号, 155-161 (2016).

【月森清巳】

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. Environ Sci Pollut Res Int. 2017 in press.

Morokuma S, Tsukimori K, Hori T, Kato K, Furue M. The Vernix Caseosa is the Main Site of Dioxin Excretion in the Human Foetus. Sci Rep. 7(1):739, 2017.

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Yamada H, Akahane M, Imamura T, Utani A, Furue M. Yusho and its latest findings-A review in studies conducted by the Yusho Group. Environ Int. 82:41-48,2015.

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

【戸高　尊】

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic. Environmental Science and Pollution Research, 2017 Dec 1.doi:10.1007/s11356-017-0833-1.

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

【二宮利治】

Hata J, Fukuhara M, Sakata S, Arima H, Hirakawa Y, Yonemoto K, Mukai N, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. White-coat and masked hypertension are associated with albuminuria in a general population: the Hisayama Study. *Hypertens Res* 40:937-943, 2017

Sakata S, Hata J, Fukuhara M, Yonemoto K, Mukai N, Yoshida D, Kishimoto H, Ohtsubo T, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Morning and evening blood pressures are associated with intima-media thickness in a general population: the Hisayama Study. *Circ J* 81 :1647-1653, 2017

Oishi E, Ohara T, Sakata S, Fukuhara M, Hata J, Yoshida D, Shibata M, Ohtsubo T, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Day-to-day blood pressure variability and risk of dementia in a general Japanese elderly population: the Hisayama Study. *Circulation* 136:516-525, 2017

Nagata M, Hata J, Hirakawa Y, Mukai N, Yoshida D, Ohara T, Kishimoto H, Kawano H, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. The ratio of serum eicosapentaenoic acid to arachidonic acid and risk of cancer death in a Japanese community: the Hisayama Study. *J Epidemiol* 27: 578-583, 2017

Mukai N, Ohara T, Hata J, Hirakawa Y, Yoshida D, Kishimoto H, Koga M, Nakamura U, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Alternative measures of hyperglycemia and risk of Alzheimer's disease in the community: the Hisayama Study. *J Clin Endocrinol Metab* 102:3002-3010, 2017

Ozawa M, Yoshida D, Hata J, Ohara T, Mukai N, Shibata M, Uchida K, Nagata M, Kitazono T, Kiyohara Y, Ninomiya T. Dietary protein intake and stroke risk in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Stroke* 48:1478-1486, 2017.

Umehara K, Mukai N, Hata J, Hirakawa Y, Ohara T, Yoshida D, Kishimoto H, Kitazono T, Hoka S, Kiyohara Y, Ninomiya T. Association Between Serum Vitamin D and All-Cause and Cause-Specific Death in a General Japanese Population - The Hisayama Study. Circ J 81:1315-1321, 2017

Ohara T, Hata J, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Iwaki T, Kitazono T, Kanba S, Kiyohara Y, Ninomiya T. Trends in dementia prevalence, incidence, and survival rate in a Japanese community. *Neurology* 88:1925-1932, 2017

Takeuchi K, Ohara T, Furuta M, Takeshita T, Shibata Y, Hata J, Yoshida D, Yamashita Y, Ninomiya T. Tooth loss and risk of dementia in the community: the Hisayama Study. *J Am Geriatr Soc* 65:e95-e100, 2017

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

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

Kishimoto H, Ohara T, Hata J, Ninomiya T, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Ikeda F, Fukuhara M, Kumagai S, Kanba S, Kitazono T, Kiyohara Y. The long-term association between physical activity and risk of dementia in the community: the Hisayama Study. *Eur J Epidemiol* 31: 267-74, 2016

Ohkuma T, Hirakawa Y, Nakamura U, Kiyohara Y, Kitazono T, Ninomiya T. Association between eating rate and obesity: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes (Lond)* 39: 1589-1596, 2015

【福士純一】

Fukushi JI, 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;145:25-33.

【三苫千景】

Fuyuno Y, Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, Tanaka Y, Mitoma C, Furue M. Perillaldehyde Inhibits AHR Signaling and Activates NRF2 Antioxidant Pathway in Human Keratinocytes. *Oxid Med Cell Longev* (in press).

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017 Dec 1. doi: 10.1007/s11356-017-0833-1.

Murai M, Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Kawakami Y, Furue M, Mitoma C. An endogenous tryptophan photo-product, FICZ, is potentially involved in photo-aging by reducing TGF-ß-regulated collagen homeostasis. *J Dermatol Sci*. 2017 Oct 16. doi: 10:1016/j.jdermsci. 2017.10.002.

Miyawaki T, Sugihara M, Hirakawa S, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Mitoma C, Furue M. Coupound-specific isotopic and congener-specific analyses of polychlorinated bephenyl in the heat medium and rice oil of the Yusho incident. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017 Sep 21. doi: 10.1007/s11356-017-0175-z.

Hirakawa S, Miyawaki T, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Hirano M, Yoshinouchi Y, Iwata H, Mitoma C, Furue M. Accumulation properties of polychlorinated biphenyl congeners in Yusho patients and prediction of their cytochrome P450-dependent metabolism by in silico anaylsis. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017 Jun 21. doi: 10.1007/s11356-017-9498-z.

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, et al. Change in decay rates of dioxin-like compouds in Yusho patients. *Environ Health* 2016; 15(1): 95. doi: 10.1186/s12940-016-0178-0.

Todaka T, Honda A, Imaji M, Takao Y, Mitoma C, Furue M. Effect of colestimide on the concentrations of polychrotinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. *Environ Health* 2016; 15(1): 63. doi: 10.1186/s12940-016-0150-z.

Fukushi J, Tokunaga S, Nakashima Y, Motomura G, Mitoma C, et al. 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. Unexpectedly long half-lives of blood 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) levels in Yusho patients. *Environ Health* 2015 Sep 17; 14: 76. doi:10.1186/s12940-015-0059-y.

Mitoma C, Mine Y, Utani A, Imafuku S, Muto M, Akimoto T, Kanekura T, Furue M, Uchi H. Current skin symptoms of Yusho patients exposed to high levels of 2,3,4,7,8-pentachlorinated dibenzofuran and polychlorinated biphenyls in 1968. *Chemosphere*. 2015 Oct; 137: 45-51. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.03.070.

Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Yamada H, Akahane M, Imamura T, Utani A, Furue M. Yusho and its latest findings-A review in studies conducted by the Yusho Group. *Environ Int*. 2015 Sep;82:41-8. doi: 10.1016/j.envint.2015.05.004.

三苫千景. 「遠い時代・遠い隣国からのメッセージ（カネミ油症とダイオキシン痤瘡）」 Visual Dermatology 16(4), 2017(株）学研メディカル秀潤社.