

# 福岡医学雑誌

## *FUKUOKA ACTA MEDICA*

第 96 卷 第 5 号 (1004)

平成 17 年 5 月 25 日

---

特 集 号

油症とPCB及びダイオキシン関連化合物

研 究 報 告 第 20 集

責任編集者 古江 増 隆

**The Twentieth Reports of the Study on Yusho and PCBs  
and Dioxin-Related Compounds**

Guest Editor Masutaka Furue

---

# 油 症

## 研究報告 第 20 集

平成 17 年 5 月

九州大学油症治療研究班  
長崎油症研究班

---

**The Twentieth Reports of the Study on “Yusho”  
and PCBs (Polychlorinated Biphenyls) and  
Dioxin-Related Compounds**

May 2005

The Study Group for “Yusho”

*Kyushu University  
Fukuoka 812-8582, Japan  
Nagasaki  
Nagasaki 852-8501, Japan*

# 油症と PCB 及びダイオキシン関連化合物に関する研究

## 報告集 第 20 集

(福岡医学雑誌 第 96 巻 第 5 号 平成 17 年 5 月)

### 目 次

- 序 言 古江 増隆…(111)
- 総 説
- 油症患者体内の PCB および PCDF の 35 年間の挙動と毒性影響 増田 義人・原口 浩一…(113)
- 油症診断基準 (2004 年 9 月 29 日補遺) の策定の経緯 古江 増隆・上ノ土 武…(124)
- 統計学的アプローチによる新油症診断基準の概念 徳永 章二・飯田 隆雄・古江 増隆…(135)
- 油症患者の口腔内粘膜と歯牙所見 橋口 勇・赤峰 昭文…(146)
- 36 年以上経過した油症患者における神経症候 古谷 博和・大八木保政・山田 猛  
三好 甫・藤井 直樹・吉良 潤一…(152)
- 油症の眼所見 中村 隆彦・宮崎 美穂・大西 克尚・石橋 達朗…(157)
- 油症の皮膚症状 皮膚症状と血中ダイオキシン濃度の関連性について  
上ノ土 武・中山樹一郎・旭 正一・高路 修  
秋元 隆道・武藤 正彦・清水 和宏・片山 一朗  
神崎 保・神奈川芳行・今村 知明・古江 増隆…(164)
- カネミ油症患者 (2001 年 78 名, 2002 年 279 名) の血中 PCDFs 値と臨床症状等との  
関係に関する研究 神奈川芳行・今村 知明…(169)
- 油症における血液生化学検査値,  $\alpha$ -フェトプロテインおよび HBs 抗原の検討  
辻 博・伊東 靖夫…(180)
- 油症患者から出生した児の性比について 上ノ土 武・飯尾 靖枝・只熊 幸代・原塚 柳子  
神奈川芳行・今村 知明・古江 増隆…(183)
- ヒト血液中ダイオキシン類の抽出・精製法の改良および油症患者血液中ダイオキシン類濃度  
戸高 尊・平川 博仙・堀 就英  
飛石 和夫・飯田 隆雄…(185)

カネミ油症検診者における血球数と血液生化学の変化 吉村 俊朗・中野 治郎・沖田 実  
菊池 康樹・北村 喬・石川 武彦…(192)

ダイオキシン類の毒性を安全に軽減できる化合物の候補：油症治療を目指した検討  
石井 祐次・石田 卓巳・武藤 純平  
山田 英之・小栗 一太…(204)

## 原 著

油症認定患者尿中 Acrolein の検討 清水 和宏・佐藤 伸一…(214)

2003, 2004 年度の福岡県年次検診による皮膚症状  
上ノ土 武・古江 増隆・中山樹一郎・旭 正一  
神奈川芳行・今村 知明…(216)

ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 及び高分解能ガスクロ  
マトグラフィー / 高分解能質量分析法 (HRGC / HRMS) による  
血中 PCB 異性体別分析 堀 就英・飛石 和大・芦塚 由紀・中川 礼子  
戸高 尊・平川 博仙・飯田 隆雄…(220)

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  
芦塚 由紀・中川 礼子・平川 博仙  
堀 就英・飯田 隆雄…(227)

2,3',4,4',5-五塩素化ビフェニル (CB118) のモルモット肝ミクロゾームによる代謝  
太田 千穂・原口 浩一・加藤 善久・古賀 信幸…(232)

1年間の FBRA 摂取による油症原因ダイオキシン類の体外排泄促進 (英文)  
長山 淳哉・高菅 卓三・辻 博・岩崎 輝明…(241)

油症患者血液中ダイオキシン類濃度の追跡調査 (2002-2003 年) (英文)  
戸高 尊・平川 博仙・堀 就英  
飛石 和大・飯田 隆雄…(249)

**The Twentieth Reports of the Study on Yusho and PCBs and  
Dioxin-Related Compounds  
(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 96, No. 5, 2005)**

*CONTENTS*

- Foreword** M. Furue... (111)
- Review Article (in Japanese)**  
Possible Candidates for the Compound which is Expected to Attenuate Dioxin Toxicity  
Y. Ishii, T. Ishida, J. Mutoh, H. Yamada and K. Oguri... (204)
- Originals (in Japanese)**  
Examination of Urine Acrolein in Yusho Victims  
K. Shimizu and S. Sato... (214)
- Evaluation of Dermatological Symptoms of Yusho Patients in the Annual Examination  
in 2003-2004  
T. Uenotsuchi, M. Furue, J. Nakayama, M. Asahi,  
Y. Kanagawa and T. Imamura... (216)
- Congener Specific Determination of PCBs in Human Blood using Gel Permeation  
Chromatography (GPC) and High Resolution Gas Chromatography / High Resolution  
Mass Spectrometry (HRGC / HRMS)  
T. Hori, K. Tobiishi, Y. Ashizuka, R. Nakagawa, T. Todaka,  
H. Hirakawa and T. Iida... (220)
- Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Yusho Diagnosis  
Y. Ashizuka, R. Nakagawa, H. Hirakawa, T. Hori and T. Iida... (227)
- Metabolism of 2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl by Guinea Pig Microsomes  
C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato and N. Koga... (232)
- Originals**  
Promotive Excretion of Causative Agents of Yusho by One Year Intake of FBRA in  
Japanese People  
J. Nagayama, T. Takasuga, H. Tsuji and T. Iwasaki... (241)
- Follow-up Survey of Dioxins Concentrations in the Blood of Yusho Patients in 2002-2003  
T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, K. Tobiishi and T. Iida... (249)

## 序 言

厚生労働省油症治療研究班・班長

九州大学大学院医学研究院・教授

古 江 増 隆

### Foreword

Masutaka FURUE

*Chief, The Study Group for "Yusho"*

*(Granted by The Ministry of Health, Labour and Welfare)*

*and Professor, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University*

厚生労働省全国油症治療研究班の報告集も第20集になりました。平成15年度と平成16年度の研究成果ならびに総説集としてお届けします。油症は昭和43年に西日本一帯の広範囲な住民の方々が、熱媒体として使用されていたPCBの混入した食用米ぬか油を摂取したことによって起こった食中毒事件です。その後、研究班によってPCDFなどのダイオキシン類も混入していたことがつきとめられ、油症はPCB類とダイオキシン類による複合中毒であったことが証明されました。油症検診では、血液中のPCBをA,B,BC,Cの4つのパターンに分類して報告されてきました。PCBは健常者にも環境汚染に由来するPCBの汚染がありますので、原因油に由来することが明確なAパターンと健常者とは区別できないCパターン、その中間のBあるいはBCパターンです。事件発生から5年後くらいから測定が可能になって以来この分類が指標に使われてきました。その後、PCQも油症に比較的特異的に検出されることが判明し診断基準に加わりました。ダイオキシン類は血中にごくわずかにしか含まれていないために、その定量は困難な状況でしたが、最近の研究班内での技術改良により少ない血液量で再現性のあるダイオキシン類測定が可能となり、平成13年度は福岡県の検診でパイロット的に測定を行い、14年度以降は全国の検診で測定を開始しました。これらのデータを妥当性・精度・再現性などの面から解析しました。その結果、血液中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 値を診断基準に追補することが妥当と考えられ、油症診断基準(平成16年9月29日補遺)が新たに作成されました。本誌にはこの間の解析の結果や経緯が総説としてまとめられています。

患者さんの健康管理と健康相談の窓口として、平成14年度から油症相談員システムを立ち上げました。油症相談員は検診での直接面接、電話や手紙による問診や相談受付などを行ないます。こうして少しずつではありますが、認定者の方々と交流が進みつつある感じがします。これまでの世界中でのダイオキシン被害の検討から、被害者の方々のお子さんに性差があるという報告があります。油症相談員の調査によって、油症の場合には被害を受けた認定者のお子さんには性差は認められませんでした。

認定者の方々と相談会を五島で2回、福岡で2回開催いたしました。その際に、漢方薬による治療によって症状や血中のダイオキシン類を低下させることはできないかという御指摘をいただきました。平成17年度以降は、治療に向けてしっかりと臨床試験を行ないたいと考えております。毎年検診に参加いただいている認定者の方々に御礼申し上げますとともに、油症検診にお力添えをいただいている班員の方々、そして厚労省担当課の皆様にも謝辞を述べさせていただきます。

A mass poisoning, involving at least 1860 individuals, occurred in Kyushu (Western Japan) in 1968. The incident is called Yusho, oil disease, as it was caused by ingestion of rice bran oil that was contaminated with Kanechlor-400, a commercial brand of Japanese polychlorinated biphenyls (PCBs). It was later found the rice oil had been contaminated with not only PCBs but

also polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), polychlorinated quaterphenyls (PCQs) and others. Yusho is, thus, recognized as a poisoning by a mixture of PCBs, dioxins and related compounds. For more than 35 years the patients have been suffering from various symptoms such as general malaise, headache, acneform eruption, dark-brownish nail pigmentation, increased discharge from the eyes with swelling of eyelids, pigmentation of oral mucosa, peripheral neuropathy, irregular menstruation in women.

Chromatograms of blood PCBs have been classified into 4 types : Type A, pattern characteristic of Yusho ; Type C, pattern commonly observed in the general population ; Types B and BC : intermediate patterns between Types A and C. A method for quantification of PCBs in the blood was developed after 1973, five years after the first case of Yusho. The blood polychlorinated quaterphenyls (PCQs) levels were then added to the diagnostic criteria of Yusho as a relatively specific marker. Although the blood levels of dioxins were very low, we recently developed a new method of determining the blood level of dioxins ; this new method has increased sensitivity and can detect low levels of dioxins in 5 to 10 ml of blood. In 2001, we analyzed the level of blood dioxins in patients in the Fukuoka area as a pilot study, and then expanded the screening of dioxin levels to all Yusho patients from 2002. After the evaluation of validity, sensitivity and reproducibility of the blood levels of dioxins, we added the blood levels of 2,3,4,7,8-penta-CDF in the new diagnostic criteria in Sep. 29th, 2004.

The clinical and basic studies and follow-up of patients conducted by this study group are extremely important not only for supporting patients' health but also for understanding the possible prolonged effects of exposure to PCBs and dioxins in humans. From this point of view, a patient-consultation system for Yusho has been established from 2002. The Yusho consultants keep in touch with the patients by direct interview, by phone or by mail. In some cases of dioxins and dioxin-related compounds exposure such as Yu-cheng, Seveso, Russian and Austrian chloracne cohorts, there was a significant reduction in the male-to-female sex ratio in children born to men who had been exposed to dioxins and dioxin-related compounds before age 20 years or in their early 20s. However, in Yusho, the sex ratios of children born to men exposed before age 20, men exposed after age 20, or to parents who were both exposed were not significantly different from the expected sex ratio of 0.514.

Patients with Yusho still complain various subjective and objective symptoms. We are now willing to conduct a clinical trial using several Chinese herbal drugs. We very much appreciate the contribution and participation of the patients in health examinations for follow-up of Yusho each year. I also deeply thank all of the members of the study group and the Japanese Ministry of Health, Welfare and Labor for their efforts to help and support patients' health and well-being.

---

---

## 総 説

---

---

### 油症患者体内の PCB および PCDF の 35 年間の挙動と毒性影響

第一薬科大学健康化学教室  
増 田 義 人, 原 口 浩 一

#### はじめに

1968 年, ポリ塩化ビフェニル (PCB) 中毒事件が北部九州一帯で発生し, 認定患者数は 1860 以上であった。それはカネクロール (鐘淵化学が製造した PCB の商品名) が混入されたライスオイルを食用油として摂取したために発生したので, 油症と呼ばれている。そのライスオイルには PCB だけでなく, PCB の加熱により発生したポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) およびポリ塩化クオータフェニル (PCQ) も含まれていた事が後になって分かった。結局, 油症は PCB, PCDF, PCQ 混合物による中毒であった<sup>1)2)</sup>。油症患者が摂取した PCB, PCDF の 30 年以上の長期間にわたる体内の挙動およびそれに伴う毒性影響について総説する。

#### 1. 油症患者が摂取した毒性化合物

ライスオイルを共同購入して使用していた油症患者 141 名の調査によると, ライスオイルの全摂取量は 1 人当たり 688 ml であり, 症状が最初に表れるまでの潜伏期間における一人あたりのライスオイル摂取量は 506 ml であった<sup>3)</sup>。ライスオイル中の PCBs, PCDFs および PCQs の濃度の平均値はそれぞれ 920, 5 および 866 ppm であったので, 患者 1 人当たりのこれらの化合物の全摂取量はそれぞれ 633, 3.4 および 596 mg であり, 潜伏期間の平均摂取量はそれぞれ 466, 2.5 および 439 mg であった。最小摂取量で発症したある患者の潜伏期間のライスオイル摂取量はそれぞれ 111, 0.6 および 105 mg と計算された。ライスオイル中のダイオキシン毒性相当量 (TEQ) は 0.98 ppm であり, ライスオイルの比重は 0.92 であったので, 一人あたりの TEQ 摂取量は全期間では 0.62 mg であり, 潜伏期間では 0.456 mg と推定された。Table 1 には一人当たりのライスオイル摂取量, TEQ 摂取量およびその最小摂取量をまとめて示している。最小摂取量で発症したある患者 (体重 56 kg) の潜伏期間 135 日におけるライスオイル摂取量は 235 ml であったので, 体重 1 kg, 1 日当たりの TEQ 摂取量は 28 ng / kg / day となった。油症の重症度および血液中 PCB 濃度は患者のライスオイル全摂取量とは有意の正の相関を示したが, 体重 1 kg 当たりの 1 日摂取量とは有意の相関を示さなかった<sup>4)</sup>。このことは摂取された PCB 等は, 非常に生体蓄積性があり, その濃度がある限度を超えた状態で油症の症状があらわれたものと考えられる。患者の重症度を推定する時には, それまでに摂取した TEQ の 1 日当たり摂取量よりも全量で評価する方がよい場合がある。

#### 2. 油症患者の組織および血液中の毒性物質

##### 1. PCBs

血液中の PCB が分析できるようになったのは油症事件から 5 年経過した 1973 年頃からである。その後多くの油症患者および一般人の血液および組織中の PCB を分析させていただいた。分析を始めてから今までは, 油症患者の血液および組織中の PCB 濃度は一般人のそれらの濃度のわずか 2~3 倍程度であり, 大きな濃度差はなかった。しかし, 油症患者の PCB ガスクロマトグラムパターンは一般人のそれとは異なるものであった<sup>5)</sup>。油症患者 PCB のガスクロマトグラムは A, B および C の 3 種類のタイプに分類された。すなわち, タイプ A : 油症患者に特有な PCB タイプ, タイプ B : 油症患者と一般人の中間の PCB タイプおよびタイプ C : 特別な PCB 汚染に曝露されていない一般人によく見られる PCB のガスクロマト

**Table 1** The estimated intakes of rice oil and TEQ by Yusho patients

Intake	Rice oil	TEQ
Average total intake per capita	688 (195-3,375) ml	0.62 (0.18-3.04) mg
Average intake during latent period	506 (121-1,934) ml	0.456 (0.11-1.74) mg
Average daily intake	0.171 (0.031-0.923) ml/kg/day	154 (28-832) ng/kg/day
Smallest intake during the latent period	121 ml	0.11 mg
Smallest daily intake during the latent period	0.031 ml/kg/day	28 ng/kg/day

Data are shown as mean (range) for the 141 patients.

The TEQs are calculated by 0.98 ppm in Yusho oil and 0.92 of oil density.

(Quoted from Dioxins and Health<sup>2)</sup>, pp855-891, John Wiley & Sons Inc., 2003.)

グラムタイプ, である<sup>6)</sup>. 認定油症患者の中でタイプ A のガスクロマトグラム PCB パターンを示す人の血液中 PCB 濃度はタイプ C である一般人の血液中 PCB 濃度よりも有意に高い状態であり, それは現在まで続いている. タイプ A 油症患者の PCB ガスクロマトグラムの主な特徴は 2,3',4,4',5-pentaCB (PCB # 118) 濃度が比較的到低く, 2,3,3',4,4',5-hexaCB (PCB # 156) の濃度が一般人のその濃度より有意に数倍高いことである<sup>7)</sup>. 油症患者 PCB のガスクロマトグラムパターンおよび濃度は油症患者の皮膚重症度, 血清中トリグリセライド濃度等とよく相関しているため, 油症診断基準の一つとして採用されている.

血液中 PCB 濃度が非常に高い, 中毒事件直後の台湾油症患者 3 名 (PCB 濃度: 156-397 ng / g-blood) の血液中 PCB 濃度を長期間測定させていただき, 人体における PCB の半減期を求めた. 台湾油症患者の場合は PCB # 118, 2,2',4,4',5,5'-hexaCB (PCB # 153) および PCB # 156 の平均半減期はそれぞれ 1.6, 4.2 および 5.3 年と計算された (Table 2)<sup>8)</sup>. 事件後 14 年経過した 1982 年以後の福岡油症患者のように PCB 濃度が 3 ng / g-blood 程度に低くなった場合では, 前記 3 種の PCB 異性体の半減期はそれぞれ

**Table 2** Biological half-life of PCDF and PCB congeners in Fukuoka Yusho and Taiwan Yucheng patients

	Half-life (Years)									
	Yucheng patient					Yusho patient				
	0.6 ~ 15.6 years after onset					14.0 ~ 29.1 years after onset				
	BS	SS	RK	Median	KK	TS	YUM	TH	HH	Median
2,3,4,7,8-PentaCDF	2.7	3.6	2.9	2.9	14.3	7.7	6.1	5.2	11.4	7.7
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	2.7	3.6	3.5	3.5	6.5	4.5	3.9	5.1	6.9	5.1
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	2.6	2.5	2.2	2.5	6.6	2.6	3.5	3.5	3.4	3.5
Average	2.7	3.2	2.9	3.0	9.1	4.9	4.5	4.6	7.2	5.4
2,3',4,4',5-PentaCB	1.6	1.9	1.5	1.6	19.5	6.9	33.7	17.6	10.4	17.6
2,2',4,4',5,5'-HexaCB	3.4	4.2	4.2	4.2	9.1	7.4	16.0	12.9	7.4	9.1
2,2',3,4,4',5'-HexaCB	4.4	4.5	5.5	4.5	12.8	8.9	13.7	31.0	9.5	12.8
2,3,3',4,4',5-HexaCB	3.8	5.6	5.3	5.3	9.4	8.5	21.5	13.2	14.4	13.2
2,2',3,3',4,4',5-HeptaCB	4.7	6.0	5.9	5.9	18.4	12.3	-237.5	13.3	443.7	18.4
2,2',3,4,4',5,5'-HeptaCB	4.3	6.0	6.0	6.0	16.7	12.2	20.4	10.3	224.6	16.7
Average	3.7	4.7	4.7	4.6	14.3	9.4	21.1	16.4	118.3	14.6

except  
-237.5

(Quoted from Dioxins and Health<sup>2)</sup>, pp855-891, John Wiley & Sons Inc., 2003.)

17.6, 9.1 および 13.2 年となり, PCB は体内半減期が 10 年以上と非常にゆっくり減少していた (Table 2)<sup>9)</sup>. 台湾油症患者において, PCB # 118 の生体内半減期は他の PCB 異性体よりも小さく 1.6 年であり, その PCB 異性体の血液中濃度は事件後 10 年経過した時点では一般人の濃度よりも低くなった. その後の油症患者血液中の PCB # 118 は一般食品を摂取する事により体内に取り込まれたものが大部分を占めていると思われる. このように PCB # 118 の生体内半減期が他の PCB 異性体とは大きく異なることが, 油症患者において血液中 PCB のガスクロマトグラムパターンが特有のものになることに大きく関与していると考えられる. この現象は油症患者が PCB と一緒に非常に強い酵素誘導剤である PCDF を摂取したために起こったものと考えられている. 油症患者血液中 PCB のうちで高い濃度で検出されたのは PCB # 156 である. この PCB 異性体はラットの肝臓において強い酵素誘導作用を示し, また, 胸腺の萎縮をもたらす<sup>10)11)</sup> ので, 摂取された PCB 異性体のうちでは最も強い油症症状の原因物質であると考えられている.

油症患者に摂取されたライスオイルの中の多くの PCB 異性体のうち, 数年後に患者血液中から高濃度で検出されたものはわずかに数種類である. 大部分の PCB 異性体は 1 年以内に患者体内から排出されたか, 代謝されて水酸化 PCB (OH-PCB) またはメチルスルホン PCB (MeSO<sub>2</sub>-PCB) に変化している. ライスオイル中の PCB から変化したと考えられる MeSO<sub>2</sub>-PCB が油症患者の組織より検出された<sup>12)13)</sup>. MeSO<sub>2</sub>-PCB の脂肪ベース濃度は肺臓 (0.67 ppm) の方が脂肪組織 (0.07 ppm) よりも高かった. これらの濃度は, 肺臓および脂肪組織の PCB 濃度がそれぞれ 0.8 および 1.3 ppm であったのとは対照的である<sup>14)</sup>. ある MeSO<sub>2</sub>-PCB 異性体は人体においても酵素の働きを変化させていると思われる. 5-MeSO<sub>2</sub>-3,3',4,4'-tetraCB (5-MeSO<sub>2</sub>-PCB # 77) は, 幼弱させたヒトリンパ球の細胞培養において, 2,3,7,8-tetraCDD (TCDD) で前もって又は同時に誘導させた芳香族炭化水素水酸化酵素 (AHH) を強く阻害した<sup>15)16)</sup>. この 5-MeSO<sub>2</sub>-PCB # 77 は, 芳香族 (Ah) 感受性マウスの肝ミクロゾームにおいて, メチルコランズレンで誘導された AHH 活性を阻害するが, Ah 非感受性マウスの同じ酵素を強く増進させた<sup>17)</sup>. 3-位にメチルスルホン基が置換された 3-MeSO<sub>2</sub>-PCB は代謝を受ける前の未変化 PCB よりもアミノピリン N-デメチラーゼ, 7-エトキシレゾルフィン-O-デエチラーゼおよびベンゾピレン水酸化酵素を強く誘導させるものがあつた. しかし, 4-MeSO<sub>2</sub>-PCB はそれらの酵素を誘導しなかつた<sup>18)</sup>. 油症患者の健康状態は組織中に蓄積されている MeSO<sub>2</sub>-PCB により変化されている可能性がある.

最近の一般人および油症患者の血液から OH-PCBs がそれぞれ 0.2 および 0.4 ng / g-blood 検出された<sup>19)</sup>. この濃度は全 PCB 濃度のそれぞれ 1 / 5 および 1 / 7 に相当した. カナダの東沿岸地方に住む住民の新生児臍帯血の OH-PCB およびペンタクロロフェノール (PCP) の総濃度はフリーサイロキシン濃度とは逆相関関係であつた. これはこれらのフェノール化合物が新生児のサイロキシンホルモン状態を変化させる可能性があることを示している<sup>20)</sup>. フェノール化合物はトランスサイレチンに競合的に結合してサイロキシン輸送を変化させている<sup>21)</sup>. 妊娠したラットに<sup>14</sup>C 標識 4-OH-2,3,3',4',5-pentaCB (4-OH-PCB # 107) を投与すると, 胎仔血清のサイロキシン濃度を著しく減少させ, 胎仔の肝臓, 脳, 血液に 4-OH-PCB # 107 が蓄積された<sup>22)</sup>. 低濃度 (0.1 nM) の OH-PCB を脳由来の細胞の培養系に与えるとサイロイドホルモンで誘導された転写活性を阻害した<sup>23)</sup>. ヒト血液中の PCB レベルが高い場合は代謝された OH-PCB レベルも高いものと推定できるので, 油症発生初期における PCB 代謝は PCDFs により強く促進されていたので, OH-PCB レベルは 100 nM になっていたこともあると推定できる. 脳プルキンエ細胞の細胞培養において 0.1 nM 以上の OH-PCB をサイロキシンと同時に与えるとプルキンエ細胞の発達が阻害されたと報告されているので, 胎児の脳の発達が遅れていたこともあると考えられる. Kester ら<sup>24)</sup> は各種 OH-PCB 異性体による人体エストロゲンスルフォトランスフェラーゼの活性阻害について研究し, 人体に残留する OH-PCB は非常に強いスルホトランスフェラーゼ活性を示す可能性があることを見出し, 標的組織細胞のエストラジオール生体利用率の増大により, エストロゲン活性を増加させているものと推定した. Shevtsov ら<sup>25)</sup> は 4,4'-diOH-PCB # 80 と硫酸ドナー化合物の 3'-phosphoadenosine-5'-phosphate から生成される人体のエストロゲンスルフォトランスフェラーゼの結晶構造を決定し, 結合した結晶構造は OH-PCB がエストロゲン化合物と結合する物理的証拠であることを示した.

## 2. PCDFs

1975年に油症のライスオイルにはPCBの他にPCDFも含まれていた事が判明した<sup>26)</sup>。その後、長山ら<sup>27)</sup>により油症患者の脂肪組織および肝臓からもPCDFが初めて検出された。ライスオイル中の三から六塩化PCDFのうち、主に五塩化および六塩化PCDFが患者組織から検出された。当時、PCDF濃度はガスクロマトグラフのピーク高さを測定し、別に合成したPCDF混合物のピーク高さと比較して求められた。PCBsが肝臓よりも脂肪組織に高濃度に蓄積されていたのとは対照的にPCDFsは両組織に殆ど同じ程度の濃度で検出された。有毒なPCDF異性体が肝臓に多く蓄積されているのはサルやラットを使用した実験<sup>28)</sup>によって確認されている。その後、それぞれのPCDFs異性体が対応するクロロフェノールおよびクロロニトロベンゼンから合成された<sup>29)</sup>ので、それらを標準品として臓器中のPCDFは異性体ごとに定量分析されるようになった。40種以上のPCDF異性体が含まれていたライスオイル<sup>30)</sup>を摂取したにもかかわらず、油症患者の組織にはそのうちの数種類の特定のPCDFsが残留されていた<sup>31)32)</sup>。残留しているPCDF異性体の主なものはジベンゾフラン骨格の少なくとも2,3,7,8の位置には4個の塩素が置換されており、排泄されたPCDF異性体には少なくとも一つの環には連続した2つの炭素には塩素置換がなく、水素のままの構造であった。PCDF骨格両側の2,3,7,8,の位置には少なくとも4個の塩素が置換されたPCDF異性体は日本の油症患者だけでなく台湾の油症患者からも検出された。最も高濃度で肝臓から検出されたPCDF異性体は、福岡の油症患者では2,3,4,7,8-pentaCDFであったが、台湾油症患者では1,2,3,4,7,8-hexaCDFであった。福岡油症患者では一般人よりも高濃度のPCDFが1986年まで続いていた。その時に測定した福岡油症患者のPCDF異性体の血液中濃度は一般人の2から73倍であった。同時に測定した福岡油症患者のPCB異性体総濃度は一般人の2～5倍程度で大きな差ではなかった<sup>33)</sup>。油症患者において、PCDF濃度が肝臓と脂肪組織であまり変わらないのに対しPCB濃度は肝臓の方が脂肪組織よりもかなり低い値であった。この濃度の違いは注目すべきことである。このようにPCDFが肝臓に比較的蓄積されやすい状態は一般人においても見られた<sup>34)</sup>。

台湾油症患者の1980年から1995年の間に採取された血液を分析させていただいたので、PCDFsの人体における薬物動態を調査する事ができた<sup>9)35)</sup>。1980年の台湾油症患者における2,3,4,7,8-pentaCDF, 1,2,3,4,7,8-hexaCDFおよび1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF濃度がそれぞれ15, 43および5 ng / g-lipidであったものが、その後の15年間において、それぞれの生体内半減期2.9, 3.5および2.5年で徐々に減少した (Table 2)。これらPCDF異性体の生体半減期は同じ台湾油症患者の蓄積されやすいPCB異性体、例えばPCB # 153 (半減期4.2年) およびPCB # 156 (半減期5.3年)、よりも短かった。1982年から1998年の間に14回以上採血された5名の福岡油症患者の血液中PCDFを分析させていただいたので、生体半減期の中央値および (範囲) は2,3,4,7,8-pentaCDF および1,2,3,4,7,8-hexaCDFにおいてそれぞれ7.7 (5.2-14.3)年および5.1 (3.9-6.5)年と推定された。これらの台湾油症患者および福岡油症患者のデータより、油症事件直後の1968年から1999年までの30年間における福岡油症患者のPCBおよびPCDF異性体の濃度変化を推定した<sup>36)</sup>。事件直後における福岡油症患者のPCB総量およびTCDD毒性相当量 (TEQ) の濃度がそれぞれ75  $\mu\text{g} / \text{g-lipid}$  および40 ng / g-lipidであったものが30年後にはそれぞれ2.3  $\mu\text{g} / \text{g-lipid}$  および0.6 ng / g-lipidとなった。その間のPCBおよびTEQの生体半減期は、初めの15年間ではそれぞれ4.2および2.9年、つづく15年間ではそれぞれ9.1および7.7年と推定された (Fig. 1)。1995年に83名の油症患者の血液試料が分析され、PCB総量およびTEQの濃度および (濃度範囲) はそれぞれ0.8 (0.09-5.2)  $\mu\text{g} / \text{g-lipid}$  および0.16 (0.01-1.02) ng / g-lipidであった<sup>37)</sup>。福岡市在住の一般人152名の血液試料が1999年に採取され、PCB, PCDF, PCDD異性体の濃度が測定された<sup>38)</sup>。PCB総量およびTEQの濃度 (濃度範囲) はそれぞれ0.4 (0.06-1.7)  $\mu\text{g} / \text{g-lipid}$  および28 (9.2-100) pg / g-lipidであった。これらの濃度も Fig. 1 に示している。事件後30年を経過した1999年ごろの油症患者グループのPCB総量およびTEQの平均濃度は一般人のそれぞれ2倍および6倍程度となり、両者の間では桁違いの濃度差ではなくなったが、有意な濃度差は維持されている。

それぞれのPCDF異性体についてラットを用いた毒性評価が行われた<sup>10)</sup>。油症患者の組織に蓄積されて

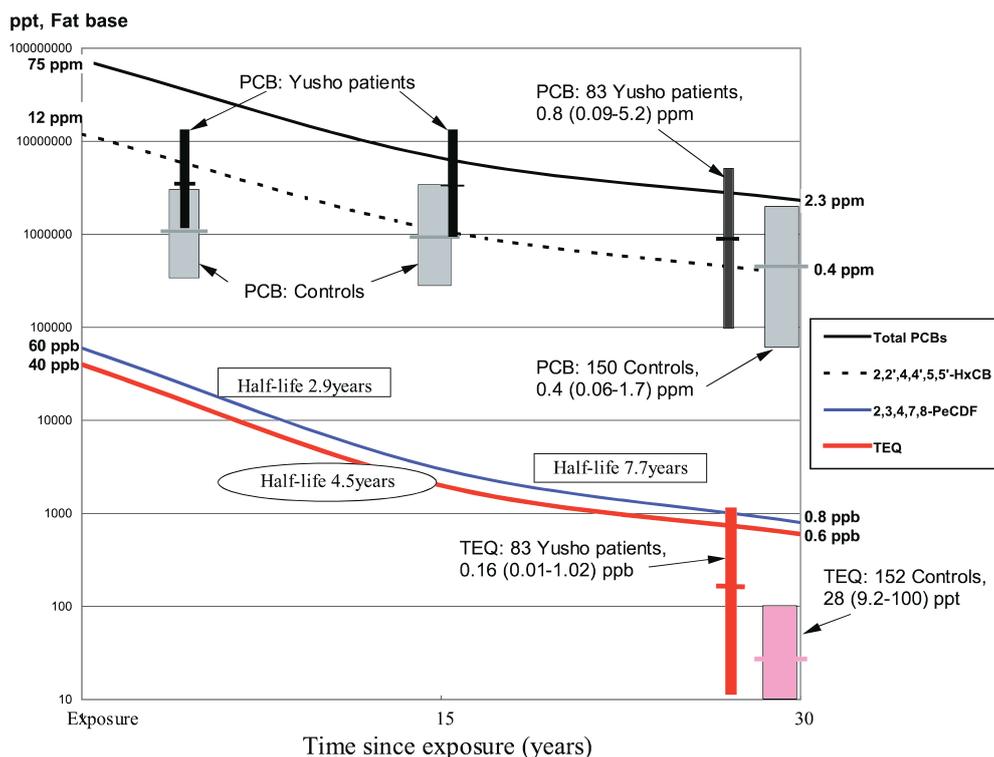


Fig. 1 Changes in PCB and TEQ concentrations in Yusho patients from 1969 to 1999 (Quoted from Masuda Y.: Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

いるすべての PCDF 異性体は強い AHH および DT-ジアホラーゼの誘導作用を持っており、胸腺萎縮、肝臓肥大などの毒性を示した。PCDF 異性体のうち PCDF の 2,3,7,8 のうち少なくとも 3 個所に塩素が置換されているものは強い酵素誘導作用を示した。2,3,7,8-tetraCDF および 2,3,4,7,8-pentaCDF はラット体重当たりわずか  $1 \mu\text{g}$  の 1 回投与で AHH および DT-ジアホラーゼを有意に誘導した。Safe ら<sup>39)</sup> は PCDF 異性体と動物における毒性との関係を次のように要約した：構造の異なる PCDF 異性体の酵素誘導作用は胸腺萎縮、体重の減少、免疫毒性等の作用と直線的に相関している。PCDF 異性体のうちでは 2,3,4,7,8-pentaCDF が動物において最も酵素誘導および毒性が強いので、2,3,4,7,8-pentaCDF は油症症状に対しても最も関連がある原因物質と考えられている。油症患者が摂取したライスオイル中の 2,3,4,7,8-pentaCDF の濃度は 1350 ppb であり、患者 1 人当たりの平均摂取量は 688 ml であった。したがって、体重を 60 kg とすれば、患者の体重 1 kg 当たりのこの PCDF 異性体の平均摂取量は  $14 \mu\text{g} / \text{kg}$  となる。この摂取量はラットにおける酵素誘導を示す量  $1 \mu\text{g} / \text{kg}$  の 10 倍以上となる。梶本らは油症の症状を発生させた主な原因物質が PCDFs であると発表した<sup>40)</sup>。その理由は次のように説明されている。すなわち、油症患者の肝臓およびその他の組織には PCDF が蓄積されているのに対し、PCB を取り扱う作業従事者では油症のような症状はなく、その肝臓などの組織には、PCB は残留されていたが、PCDF は殆ど蓄積されていなかったからである。油症患者の脂肪組織の PCB, PCQ, PCDF 濃度と油症患者における頭痛、痤瘡様皮疹、マイボーム腺異常などの相関関係が調査され、患者の皮下脂肪の PCDF 濃度と臨床症状重症度との相関係数が最も高かったのは女性の油症患者であった<sup>41)</sup>。

多くのポリ塩化ジベンゾジオキシン (PCDD), PCDF, PCB 異性体の TCDD に対する比較的な毒性の強さが多くの研究機関により調査された。最近では、世界保健機関 (WHO) より、最も強い毒性を示す TCDD の毒性を 1 とした場合の他の異性体の毒性を評価する係数 (TEF) が発表された<sup>42)</sup>。Table 3 には WHO の TEF 値および油症患者の脂肪組織および血液中の TCDD に換算した毒性強度 (TEQ) の濃度を示している。油症患者の脂肪組織および血液においては、全 TCDD 毒性のそれぞれ 89 および 76 % は PCDF によりもたらされており、また、TCDD 毒性の 76 および 65 % は 2,3,4,7,8-pentaCDF 一つの化

**Table 3** Concentrations of TEQ in adipose tissue and blood of Yusho patients and controls

	TEQ factor	TEQ concentration (ppt)		
		Yusho patient		Control
		Adipose, 1977 (Wet based)	Blood, 1990 / 91 (Fat based)	Serum, 1991 / 92 (Fat based)
2,3,7,8-TetraCDD	1	0.9	2.3	3.1
1,2,3,7,8-PentaCDD	1	18.0	7.2	9.2
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	0.1	0.1	0.3	0.4
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	0.1	16.0	3.6	3.9
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	0.1	0.1	0.5	0.8
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	0.01	0.1	0.2	0.5
OctaCDD	0.0001	0.0	0.1	0.1
Total PCDDs		35.1	14.1	18.0
<i>Percent to total TEQ</i>		3	8	29
2,3,7,8-TetraCDF	0.1	4.4	0.0	0.5
2,3,4,7,8-PentaCDF	0.5	850.0	120.8	8.7
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.05	1.5	0.1	0.0
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	0.1	130.0	15.3	1.2
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	0.1	14.0	3.4	0.8
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	0.1	0.1	0.0	0.0
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0.1	nd	0.4	0.3
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	0.01	1.0	0.2	0.1
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0.01	nd	0.0	0.0
OctaCDF	0.0001	nd	0.0	0.0
Total PCDFs		1000.9	140.1	11.7
<i>Percent to total TEQ</i>		89	76	19
3,4,5,4'-TetraCB	0.0001	nd	nd	nd
3,3',4,4'-TetraCB	0.0001	0.1	0.0	0.0
3,3',4,4',5-PentaCB	0.1	72.0	4.5	14.2
3,3',4,4',5,5'-HexaCB	0.01	3.8	1.3	0.9
Total Coplanar PCBs		76.2	5.8	15.1
2,3,3',4,4'-PentaCB (PCB # 105)	0.0001	0.3	0.4	1.0
2,3,4,4',5-PentaCB (PCB # 114)	0.0005		1.6	1.4
2,3',4,4',5-PentaCB (PCB # 118)	0.0001	0.4	1.4	4.2
2',3,4,4',5-PentaCB (PCB # 123)	0.0001		0.0	0.1
2,3,3',4,4',5-HexaCB (PCB # 156)	0.0005	16.9	16.7	8.0
2,3,3',4,4',5'-HexaCB (PCB # 157)	0.0005		4.4	1.8
2,3',4,4',5,5'-HexaCB (PCB # 169)	0.00001		0.1	0.1
2,3,3',4,4',5,5'-HeptaCB (PCB # 189)	0.0001		0.2	0.1
Total mono-ortho PCBs		17.5	24.7	16.7
Total PCBs		93.7	30.5	31.8
<i>Percent to total TEQ</i>		8	16	52
Total TEQ		1,130	185	61

(Quoted from Dioxins and Health<sup>2)</sup>, pp855-891, John Wiley & Sons Inc., 2003.)

合物によるものである。一方、一般人においては、3,3',4,4',5-pentaCB (PCB # 126) が全 TCDD 毒性の 23% を占めて、他の異性体よりも強い毒性がもたらされていると考えられる。

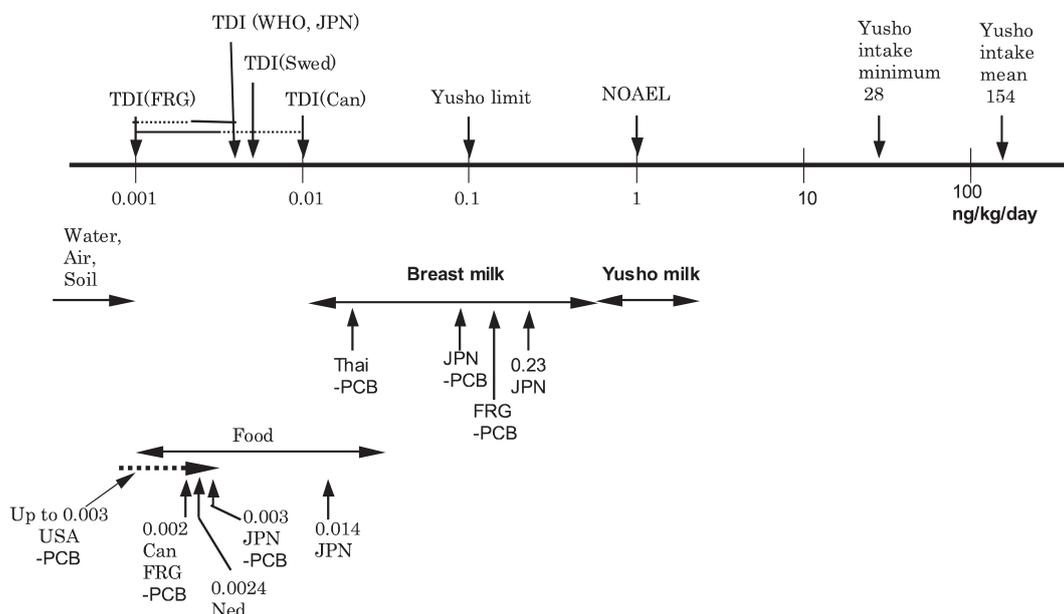
### 3. 油症による PCDD / PCDF および PCB のリスク評価

一般人においては、TEQ 摂取の 90% 以上は食品からであり、その他の摂取経路、例えば空気、水、土壌等、からの直接的な摂取は 10% 以下であると推定されている。PCDD / PCDF およびコプラナ PCB (Co-PCB) による TEQ 濃度 (平均±標準偏差) は沿岸魚ではそれぞれ  $0.87 \pm 0.28$  ppt および  $9.4 \pm 7.3$  ppt であり、魚市場の魚ではそれぞれ  $0.33 \pm 0.25$  ppt および  $0.22 \pm 0.24$  ppt と定量分析された<sup>43)</sup>。Co-PCB からの TEQ 濃度が PCDD / PCDF からの TEQ 濃度よりも大きいのは注目すべき事である。PCDD, PCDF および Co-PCB の 1 日、一人当たりの摂取量はそれぞれ 2.41, 2.16 および 51 ng であるので、TEQ 毒性量の 1 日、一人当たりの摂取量はそれぞれ 40, 135 および 1100 pg となった<sup>44)</sup>。一般人の体重を 60 kg と仮定すると、PCDD / PCDF および Co-PCB からの 1 日、体重 1 kg 当たりの TEQ 毒性摂取量はそれぞれ 3 および 18 pg / kg / day と計算された。この値はオランダで測定された PCB による TEQ の 1 日、1 kg 当たり摂取量の中央値  $1.4$  pg / kg / day<sup>45)</sup> と比べるとかなり大きい。

WHO は多くの国に住む人々の母乳を集めて PCDD / PCDF レベルを初めて調査し、TEQ 濃度では 5-40 ng / kg-lipid であったと発表した<sup>46)</sup>。比較的高濃度の TEQ が検出されたのは西ヨーロッパ諸国と南ベトナムの母乳であった。日本、北欧諸国、北アメリカ諸国の母乳がこれに続いて高く、最も TEQ が低かったのは、東ヨーロッパ諸国、東南アジア諸国およびニュージーランドの母乳であった。産業が多く集まっている国では母乳の汚染も高いようである。乳児が体重 1 kg 当たり 150 ml の母乳を飲んでいるとすると、世界中の乳児は 1 日、体重 1 kg 当たり、24-185 pg / kg / day 範囲の TEQ を摂取している事になる。ある日本人グループの乳児は PCDD / PCDF に Co-PCB を加えたものからの TEQ 摂取量は 100-530 pg/kg/day と推定された。このうち 60% 以上は Co-PCB からの TEQ であった。油症患者の母乳には TEQ として最高 539 pg / g-lipid (このうち 82% は PCDF 由来である) 含まれていた<sup>47)</sup>ので、乳児が 150 ml / kg / day の母乳を飲んでいたらとすると、油症患者の乳児は母乳を通して、多い場合で、3.3 ng / kg / day の TEQ を摂取していたと計算された<sup>47)</sup>。現在適用されているダイオキシン耐容摂取量 (TDI, 1-4 pg / kg / day) は 1998 年に WHO<sup>42)</sup> で設定され、1999 年には日本において設定されたものである。これらの TDI および TEQ の摂取量などを Fig. 2 にまとめて示す。油症患者の平均および最低 TEQ 摂取量も Fig. 2 に書き込み、油症患者と一般人の TEQ 摂取量を比較し易いようにした。油症限度値  $0.1$  ng / kg / day も Fig. 2 に示している。これは  $0.1$  ng/kg/day の摂取を一生 (60 年程度) 続けた場合、全摂取量が油症患者の最低摂取量  $0.11$  mg になるからである。これ以下の摂取では、全部蓄積されたとしても油症患者の最低摂取量には達しない。油症患者の平均および最低 TEQ 摂取量 ( $154$  および  $28$  mg / kg / day) と一般人の平均 TEQ 摂取量 ( $1-19$  pg / kg / day) を比較すると、3 桁以上の違いがある。ただし、油症患者の摂取期間が 71 から 135 日であるのに対し一般人は一生の摂取である。1977-1992 年頃の測定データ (Table 3) 等によれば、油症患者の血清および脂肪組織の TEQ 濃度は  $185-2000$  pg / g-lipid であるのに対し、一般人の母乳の TEQ 濃度が  $10-60$  pg / g-lipid である<sup>48)</sup> ので、10 年程度経過した時点での油症患者に蓄積されている PCB, PCDF および PCDD からの TEQ 濃度は一般人の TEQ 濃度の 3-200 倍高い程度である。23 年経過した 1991 年では、血液 PCB のガスクロマトグラムパターンが油症特有の A パターンである油症患者の TEQ 濃度は一般人の TEQ 濃度より 3 倍高い程度であった。ただし、PCDF レベルは 12 倍異なる (Table 3)。一般人で授乳している乳児の TEQ 摂取量を油症患者において計算で求めた TEQ 摂取量を比較した。一般人の乳児で最も多い TEQ 摂取量は  $530$  pg / kg / day であるのに対し油症患者では  $28$  ng / kg / day であり、その差は 53 倍以上であった (Fig. 2)。ダイオキシン毒性物質の摂取期間は、一般人では数ヶ月から 1 年程度であるのに対し、油症患者では 1-5 ヶ月であるので、大きな違いではない。TEQ の  $28$  ng/kg/day はヒトにおいて油症症状を発現した摂取量であり、その 1 桁ないし 2 桁低い摂取量においても乳児にはホルモンまたは酵素の誘導で起こるような油症の弱い症状が起こる事はありえるかと

えられる。油症患者は皮膚や眼の重症な症状以外にも多くの症状がある。重症な症状は事件後10年ぐらゐより徐々に改善されているが、血清におけるサイロキシン値の上昇<sup>49)50)</sup>、トリグリセライドの上昇<sup>51)52)</sup>およびリンパ球のAHHの上昇<sup>53)</sup>などはPCB、PCDF摂取して30年経過した後においても見られる。Pluimら<sup>54)</sup>は人体のサイロイドホルモン濃度に対するPCDD/PCDFの影響について調査した。母乳で育てられた38名の子供を母親の母乳に含まれていたPCDD/PCDF濃度によって2つのグループに分けられた。母乳のPCDD/PCDF濃度が高いグループの方がその子供の出生時、1週齢時および11週齢時において、子供の血液中全サイロキシン濃度は有意に高かった。新生児の血清中全サイロキシン濃度の上昇はサイロキシンホルモン調節システムによって生じたものと推定されている。高濃度グループの乳児が摂取するTEQ量は170 pg/kg/dayであると推定された。この値は、最小摂取量により油症症状が表れた油症患者のTEQ摂取量、28 ng/kg/day、の2桁程度少ない量であり、実際にサイロキシン濃度の上昇がヒトで認められている。

油症患者において体内のTEQ濃度とそれにより生じたと考えられる症状や異常との関係をFig. 3に示す<sup>55)</sup>。比較のために、ダイオキシン汚染されたヒトのTEQ濃度と症状もFig. 3に書き加えた。TCDDに暴露されたイタリア、セブソにおいて、血液中TCDD濃度が100-2340 pg/g lipidである親から生まれた赤ん坊はいずれも女性であった。職業でTCDDに汚染された労働者では血液中TCDD濃度が高いヒトではテストステロン濃度が低くなっていた。ドイツの農薬製造に従事した労働者では癌死亡率と測定されたTEQ濃度との間に有意の相関傾向がみられた。サルではTCDDが25 pptまで含まれている餌で成長した雌のサルから生まれた子供の数が少なくなり、また、雌のサルには10年後に子宮内膜症の発生率が高くなった。一般人と汚染されて酵素およびホルモンの影響が現れたヒトの間にはTEQレベルは1桁程度しか違ってないので、一般の人でも比較的高濃度にダイオキシン汚染されているヒトでは酵素やホルモン異常のゆるやかな影響が表れる可能性がある。ミシガン湖の魚を食べた母親から生まれた212人の子供の疫学調査では母親の母乳中PCB濃度と子供の知能指数(IQ)の間に有意の相関関係が認められた。



**Fig. 2** Yusho intake, regulation and personal intake of TEQ

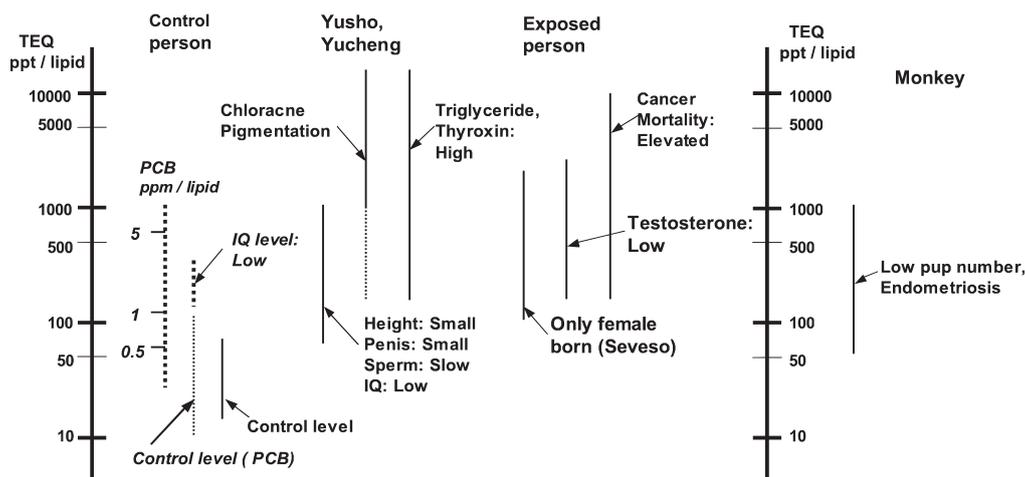
-PCB: this figure does not include the TEQ from PCB

Can: Canada, FRG: Germany, JPN: Japan, Ned: Netherlands, Swed:

Sweden, Thai: Thailand, WHO: World Health Organization,

NOAEL: no observed effects level, TDI: tolerable daily intake.

(Quoted from *Dioxins and Health*<sup>2)</sup>, pp855-891, John Wiley & Sons Inc., 2003.)



**Fig. 3** TEQ and PCB levels and affected symptoms in human and monkey  
 IQ: intelligence quotient  
 (Quoted from Masuda Y.<sup>9)</sup>: Chemosphere 43, 952-930, 2001.)

## 謝 辞

本研究は厚生科学研究補助金によるものである。ここに記して謝意を表します。

## 文 献

- 1) Masuda Y: Causal Agents of Yusho, In Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M, Masuda Y (ed): YUSHO: A human disaster caused by PCBs and related compounds. pp. 49-80, Kyushu University Press, Fukuoka, 1996.
- 2) Masuda Y: The Yusho rice oil poisoning incident. In Schechter A and Gasiewicz TA (ed): Dioxins and Health pp 855-891, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, 2003.
- 3) Hayabuchi H, Yoshimura T and Kuratsune M: Consumption of toxic oil by 'Yusho' patients and its relation to the clinical response and latent period. Food Cosmet. Toxicol. 17: 455-461, 1979.
- 4) Hayabuchi H, Ikeda M, Yoshimura T and Masuda Y: Relationship between the consumption of toxic rice oil and long-term concentration of polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients. Food Cosmet. Toxicol. 19: 53-55, 1981.
- 5) 増田義人, 香川梨絵, 島村京子, 高田真由美, 倉恒匡徳: 油症患者および一般人の血液中塩化ビフェニール, 福岡医誌 65: 25-27, 1974.
- 6) Masuda Y: Health status of Japanese and Taiwanese after exposure to contaminated rice oil. Environ. Health Perspect. 60: 321-325, 1985.
- 7) 増田義人, 山口早苗, 黒木広明, 原口浩一: 最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニール異性体, 福岡医誌. 76: 150-152, 1985.
- 8) 増田義人, 黒木広明, 原口浩一, Ryan JJ, 許書刀: 台湾 PCB 中毒患者の血液中 PCDF 及び PCB の濃度減衰, 福岡医誌. 82: 262-268, 1991.
- 9) Masuda Y: Fate of PCDF/PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years. Chemosphere 43: 925-930, 2001.
- 10) Yoshihara S, Nagata K, Yoshimura H, Kuroki H and Masuda Y: Inductive effect on hepatic enzymes and acute toxicity of individual polychlorinated dibenzofuran congeners in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 59: 580-588, 1981.
- 11) Masuda Y and Yoshimura H: polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance: A review. Am. J. Ind. Med. 5: 31-44, 1984.
- 12) Haraguchi K, Kuroki H and Masuda Y: Capillary gas chromatographic analysis of methylsulphone metabolites of polychlorinated biphenyls retained in human tissues. J. Chromatog. 361: 239-252, 1986.
- 13) Haraguchi K, Kuroki H and Masuda Y: Determination of PCB-methylsulfone congeners in Yusho and control patients. Chemosphere 15: 2027-2030, 1986.

- 14) 原口浩一, 増田義人, Bergman A and Olsson M: PCB メチルスルホン: バルト海アザラシと油症患者組織における残留成分の比較, 福岡医誌. 82: 269-273, 1991.
- 15) Kiyohara C, Mohri N, Hirohata T, Haraguchi K and Masuda Y: In vitro effects of methylsulfonyl polychlorinated biphenyls and 7,8-benzoflavone on aryl hydrocarbon hydroxylase activity in human lympho-blastoid cells. *Pharmacol. Toxicol.* 66: 273-276, 1990.
- 16) Nagayama J, Kiyohara C, Mohri N, Hirohata T, Haraguchi Y and Masuda Y: Inhibitory effect of methylsulphonyl polychlorinated biphenyls on aryl hydrocarbon hydroxylase activity. *Chemosphere* 18: 701-708, 1989.
- 17) Kiyohara C, Hirohata T, Mohri N, and Masuda Y: 3-Methylsulfonyl- 4,5,3',4'-tetrachlorobiphenyl and 7,8-benzoflavone on mouse liver aryl hydrocarbon hydroxylase activity in vitro. *Toxicol. In Vitro* 4: 103-107: 1990.
- 18) Kato Y, Haraguchi K, Kawashima M, Yamada S, Isogai M, Masuda Y and Kimura R: Characterization of hepatic microsomal cytochrome P-450 from rats treated with methylsulphonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners. *Chem-Biol Interact.* 95: 269-278. 1995.
- 19) Masuda Y and Haraguchi K: PCB and hydroxy PCB congeners in the blood of patients with Yusho PCB poisoning. *Organohalogen Compounds* 66: 2561-2565, 2004.
- 20) Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J and Norstrom RJ: Analysis of hydroxylated metabolites of PCBs (OH-PCBs) and other chlorinated phenolic compounds in whole blood from Canadian Inuit. *Environ. Health Perspect.* 108: 611-616, 2000.
- 21) Lans MC, Klasson-Wehler E, Willemsen M, Meussen E, Safe S and Brouwer A: Structure-dependent, competitive interaction of hydroxy-polychlorobiphenyls, -dibenzo-p-dioxins and -dibenzofurans with human transthyretin. *Chem.-Biol. Interact.* 88: 7-21, 1993.
- 22) Meerts IA, Assink Y, Cenijn PH, Van Den Berg JH, Weijers BM, Bergman A, Koeman JH and Brouwer A: Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci* 68: 361-71. 2002.
- 23】** Iwasaki T, Miyazaki W, Takeshita A, Kuroda Y and Koibuchi N, Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone-induced transactivation. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 299: 384-388, 2002.
- 24) Kester MHA, Bulduk S, Tibboel D, Meinel W, Glatt H, Falany CN, Coughtrie MWH, Bergman A, Safe SH, Kuiper GGJM, Schuur AG, Brouwer A and Visser TJ: Potent Inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated PCB metabolites: A novel pathway explaining the estrogenic activity of PCBs. *Endocrinology* 141: 1897-1900, 2000.
- 25) Shevtsov S, Petrotchenko EV, Pedersen LC and Negishi M: Crystallographic analysis of a hydroxylated polychlorinated biphenyl (OH-PCB) bound to the catalytic estrogen binding site of human estrogen sulfotransferase. *Environ. Health Perspect.* 111: 884-888. 2003.
- 26) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M: Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oils used by patients with Yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 66: 593-599, 1975.
- 27】** Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M: Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'Yusho'. *Food Cosmet. Toxicol.* 15: 195-198, 1977.
- 28) Kuroki H, Masuda Y, Yoshihara S and Yoshimura H: Accumulation of polychlorinated dibenzofurans in the livers of monkeys and rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 18: 387-392, 1980.
- 29) Kuroki H, Haraguchi K and Masuda Y: Synthesis of polychlorinated dibenzofuran isomers and their gas chromatographic profiles. *Chemosphere* 13: 561-573, 1984.
- 30) Buser HR, Rappe C and Gara A: Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) found in Yusho oil and used Japanese PCB. *Chemosphere* 7: 439-449, 1978.
- 31】** Kuroki H and Masuda Y: Determination of polychlorinated dibenzofuran isomers retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 7: 771-777, 1978.
- 32) Rappe C, Buser HR, Kuroki H and Masuda Y: Identification of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 8: 259-266, 1979.
- 33) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Nakagawa R, Takenaka S, Morita K, Narazaki Y, Fukamachi K, Takahashi K and Yoshimura H: Levels of polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans in the blood, subcutaneous adipose tissue and stool of Yusho patients and normal subjects. *Toxicol. Environ. Chem.* 35: 17-24, 1992.
- 34) Miyata H, Kashimoto T and Kunita N: Detection and determination of polychlorodibenzofurans in

- normal human tissues and Kanemi rice oils caused "Kanemi Yusho". *J. Food Hyg. Soc.* 18: 260-265, 1977.
- 35) Ryan JJ, Levesque D, Panopio LG, Sun WF, Masuda Y and Kuroki H: Elimination of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) from human blood in the Yusho and Yu-Cheng rice oil poisonings. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 504-512, 1993.
- 36) 増田義人, 原口浩一, 黒木広明, Ryan JJ: 油症患者における PCBs, PCDFs の 30 年間の変遷と症状, 福岡医誌 92: 149-157, 2001.
- 37] 飯田隆雄, 平川博仙, 松枝隆彦, 中川礼子: 油症患者 83 名の血液中 PCDDs, PCDFs および Coplanar PCBs 濃度, 福岡医誌 88: 169-176, 1997.
- 38] Masuda Y, Haraguchi K, Kono S, Tsuji H and Papke O: Concentrations of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents. *Chemosphere* 58: 329-344, 2005.
- 39) Safe S and Phil D: Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), and related compounds: Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Critic. Rev. Toxicol.* 21: 51-88, 1990.
- 40) Kashimoto T, Miyata H, Kunita S, Ohi G, Nakagawa J, Yamamoto S, Tang TC, Hsu ST, Chang KJ and Tang SY: Role of polychlorinated dibenzofuran in Yusho (PCB poisoning). *Arch. Environ. Health* 36: 321-326, 1981.
- 41) 中川礼子, 高橋克己: PCB 及びその関連化合物体内残留濃度の油症診断への適用に関する研究, 福岡医誌 82: 280-294, 1991.
- 42) Brouwer A, Ahlborg UG, van Leeuwen FXR and Feeley MM: Report of the WHO Working Group on the Assessment of Health Risks for Human Infants from Exposure to PCDDs, PCDFs and PCBs. *Chemosphere* 37: 1627-1643, 1998.
- 43) 高山幸司, 宮田秀明, 味村真弓, 榎本隆: 日本の沿岸魚及び市販魚中の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCBs, 衛生化学 37: 125-131, 1991.
- 44) Miyata H: Pollution with dioxin and related compounds of food and human body. *J. Environ. Chem.* 1: 275-290 (1991).
- 45) Theelen RMC, Liem AKD, Slob W and Van Wijnen JH: Intake of 2,3,7,8 chlorine substituted Dioxins, Furans, and planar PCBs from food in the Netherlands: Median and distribution. *Chemosphere* 27: 1625-1635, (1993).
- 46) Yrjanheikki E: Levels of PCBs, PCDDs and PCDFs in breast milk. Results of WHO-coordinated interlaboratory quality control studies and analytical studies. *Environmental Health* 34: 1-92 (1989).
- 47) 松枝隆彦, 飯田隆雄, 平川博仙, 深町和美, 常盤寛, 長山淳哉: 油症患者及び対照者の母乳中の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCBs の濃度比較, 福岡医誌 84: 263-272, 1993.
- 48) Somogy A and Beck H: Nurturing and breast-feeding: Exposure to chemicals in breast milk. *Environ. Health Perspect.* 101: Suppl. 2, 45-52, 1993.
- 49) 村井宏一郎, 辻博, 梶原英二, 赤木公博, 藤島正敏: 油症患者の甲状腺機能, 福岡医誌 76: 233-238, 1985.
- 50] Murai K, Okamura K, Tsuji H, Kajiwarra E, Watanabe H, Akagi L and Fujishima M, Thyroid function in "Yusho" patients exposed to polychlorinated biphenyls (PCB), *Environ. Research* 44: 179-187, 1987.
- 51) 奥村恂, 増田義人, 中牟田澄子: 油症患者における血中 PCB と血清トライグリセライドとの関係, 福岡医誌 65: 84-87, 1974.
- 52) Hirota Y, Kataoka K, Tokunaga S, Hirohata T, Shinohara S and Tokiwa H: Association between blood polychlorinated biphenyl concentration and serum triglyceride level in chronic "Yusho" (Polychlorinated biphenyl poisoning) patients. *Occup. Environ. Health* 65: 221-225, 1993.
- 53) 長山淳哉, 清原千香子, 福田篤志, 中村好一, 広畑富雄, 旭正一, 吉村健清: 油症患者の芳香族炭化水素水酸化酵素活性に関する研究, 福岡医誌 78: 301-304, 1987.
- 54) Pluim HJ, de Vijder JJM, Olie K, Kok JH, Vulsma T, van Tijn DJ, van der Slikke JW and Koppe JG: Effects of pre- and postnatal exposure to chlorinated dioxins and furans on human neonatal thyroid hormone concentrations. *Environ. Health Perspect.* 101: 504-508, 1993.
- 55] Masuda Y: Health effect of polychlorinated biphenyls and related compounds. *J Health Science* 49: 333-336, 2003.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## 油症診断基準（2004年9月29日補遺）の策定の経緯

<sup>1)</sup> 厚生労働省全国油症治療研究班・班長

<sup>2)</sup> 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

<sup>3)</sup> 社団法人 日本食品衛生協会

全国油症治療研究班油症診断基準再評価委員会

古江 増隆<sup>1)2)</sup>, 上ノ土 武<sup>3)</sup>

### はじめに

1968年, polychlorinated biphenyls (PCBs) に汚染されたカネミ米ぬか油の摂食によって油症は発生した。その後, 油症治療研究班によって PCB のみならず毒性の高い polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) などのダイオキシン類も検出されることが判明し, 油症は PCB とダイオキシン類化合物による複合中毒と認識されるようになった<sup>1)~6)</sup>。

油症の発症初期には, 全身倦怠感, 食欲不振, 頭重感などの非特異的な全身症状にひきつづいて, 油症に特徴的ないくつかの症状や所見, すなわち腫脹した上眼瞼と特有の眼脂過多, 暗褐色の爪の着色, 歯肉部の黒褐色の色素沈着, ざ瘡様の皮疹, 黒色面皰, 下肢の知覚過敏または鈍麻などの末梢神経障害, 月経不順, 乳幼児の成長遅延などが出現してきた。しかし, 油症発生以来すでに30年余を経た今日では, 初期にみられたこのような特徴的な所見はほとんど軽快し, 消失している。ただし, 病初期に典型的な所見を示した油症の重症度IV度の症例のなかには, 今日でもなおいくつかの所見や自覚症状を訴えるものがある<sup>1)~6)</sup>。一般向けの説明サイトである「油症の検診と治療の手引き」(<http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html>), ならびに油症に関する邦文の学術的総説書である「油症研究—30年の歩み—」([http://www.kyudai-derm.org/yusho\\_kenkyu/index.html](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html)) も参照していただきたい。また英文の学術的総説書である「Yusho—A human disaster caused by PCB and related compounds.」([http://www.kyudai-derm.org/yusho\\_kenkyu\\_e/index.html](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu_e/index.html)) も是非お読みいただきたい。

### 1. 油症と PCBs, polychlorinated quarterphenyl (PCQs), PCDFs

油症発症後, 患者の皮下脂肪織から PCBs が検出されたのを受けて, 1973年から PCBs の血中濃度が検診にて測定されるようになった<sup>6)7)</sup>。1974年では41例の患者の血中 PCBs 濃度の平均値は7 ppb (健常者37例の平均値は3 ppb) であった。血中 PCBs のガスクロマトグラフィー解析の結果, 油症患者では特有のパターンを示すことが明らかになり, Aパターン; 油症に特有のパターン, B(BC)パターン; AパターンとCパターンの中間型, Cパターン; 健常人, に分類して解析することが提唱された。油症患者の95%はAあるいはBパターンであり, PCBs の平均血中濃度はAパターン; 9 ppb, Bパターン; 4 ppb, Cパターン; 2 ppb であった<sup>6)</sup>。

1981年高松らは油症患者で血中の polychlorinated quarterphenyl (PCQs) が高濃度に検出されることを明らかにした<sup>8)</sup>。PCQs の血中濃度は PCBs 血中濃度や PCBs パターンとよく相関している<sup>9)10)</sup>。健常人の PCQs 濃度は検出限界以下 (0.02 ppb) であり, 職業的に高濃度の PCBs に暴露し血中 PCBs 濃度が33 ppb 以上もあるケースでも血中 PCQs は検出されていないことから, PCQs は油症にかなり特徴的な指標である<sup>11)</sup>。

Nagayama らはカネミ油のみならず患者の体組織中から PCDFs が検出されることを1975~1977年にかけて相次いで明らかにした<sup>12)~14)</sup>。PCDFs のなかでも, 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofurans (PeCDFs) ならびに 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofurans (HxCDFs) が高率に検出された<sup>3)</sup>。PCBs は脂肪に蓄積させやすく, PCDFs は肝臓に蓄積されやすい傾向がある<sup>14)</sup>。

米ぬか油を高温で抽出する過程で、熱媒体として利用していた PCBs (Kanechlor 400) の一部が、高熱化学反応によって PCQs や PCDFs に変化したものと考えられる<sup>15)</sup>。polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and coplanar PCBs も汚染されたカネミ米ぬか油や患者組織中から検出されている<sup>16)</sup>。最近の国際基準では、これらの塩素化合物の毒性は最も毒性が高いとされる 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に換算し toxic equivalent quantity (TEQ) として表記されるようになった<sup>17)~20)</sup>。それによると汚染された米ぬか油の全 TEQ は 0.98 ppm となり、そのうち 91 % を PCDFs, 8 % を PCBs, 1 % を PCDDs が占める換算となる。個別の塩素化合物では、2,3,4,7,8-PeCDF が全 TEQ の 69 % を占め、油症の毒性や病態を考える上で最も重要な化合物であることが分かる<sup>3)</sup>。

## 2. 臨床症状と検査値

全身倦怠感、体重減少、食欲不振といった非特異的な全身症状がほとんどすべての油症患者で認められている<sup>26)</sup>。特徴的な症状として皮膚所見（多発する面皰やにきび様皮疹、顔面や爪および全身の色素沈着など）、眼所見（マイボーム腺の分泌過多、結膜の色素沈着、眼瞼浮腫、一過性視力低下など）、口腔粘膜所見（色素沈着など）が認められた。また多くの患者で、頭重・頭痛、手足の知覚過敏・しびれ、腹痛、咳・痰の増加、生理不順が認められた。黄疸や脾腫は認められていない<sup>7)21)22)</sup>。発症当時の 1968 年 2 月～12 月の 13 例の分娩（10 例は油症認定者、2 例は未認定者、1 例は不明）で、11 例は生存して生まれたが多くの低体重児であり、2 例は死産であった。そのうち 10 例では皮膚の色素沈着が認められている（black baby）が、これらの色素沈着は年齢を経るにつれ消失している。またこれらの児の精神発達・成長障害の事実は認められていない<sup>23)24)</sup>。胎盤や母乳を介して母体の PCBs や PCDFs が胎児や乳児に移行したことが明らかになっている<sup>25)26)</sup>。

多彩な臨床症状とは異なり、臨床検査値はあまり侵されない<sup>6)</sup>。軽度の貧血と白血球増多が重症例でのみ認められた。肝機能試験や bromosulphophthalein 試験では一定した検査異常は認められなかった。血中の総蛋白は正常範囲であるが時に  $\alpha_2$  グロブリン分画の上昇を認めた。血清電解質、尿素窒素、血清鉄、血清銅のレベルは正常範囲内であるが、重症例では血清銅値の上昇を認めた症例もある。耐糖能異常もない。しかし血中脂肪とくにトリグリセリド値は上昇する<sup>9)</sup>。職業的に高濃度の PCBs に暴露した労働者でも、血中の PCBs 濃度とトリグリセリド値には正の相関が観察されている<sup>8)</sup>。

## 3. 油症検診とダイオキシン類の測定

全国油症研究班によって毎年油症認定者の検診が行なわれている。検診は、一般的問診、婦人科的問診、内科的（小児科的）所見、皮膚科的所見、眼科的所見、歯科的所見、血算、血液生化学、PCBs や PCQs の血中濃度の測定、胸部 X 線撮影、心電図、腹部エコーなど組み合わせて行なわれている。基礎医学的進歩に伴い油症に関連すると予想された検査異常（たとえば酸化ストレス異常）なども積極的に解析され、貴重な学術報告がなされている<sup>27)</sup>。油症患者の臨床症状の重症度は発生から 36 年を経過して軽快してきている。しかし塩素化合物は実験動物では発癌性が示されているため長期のフォローが必要である<sup>28)29)</sup>。少なくとも男性の油症患者では発症初期に肝癌が増加した可能性が指摘されている<sup>1)30)</sup>。

一般にダイオキシン類の血中濃度は微量で正確な測定は困難であった。最近 Todaka らによってわずか 5 g の血液サンプルから高精度にしかも再現性に優れた検出法が開発され<sup>31)</sup>、検診の場で血中ダイオキシン類を測定することがようやく可能となり、2001 年からその測定を開始した。2001 年から 3 年間の血中ダイオキシン類濃度の測定値の中から、全 TEQ 値と 2,3,4,7,8-PeCDFs 値の測定結果のみを表 1 に抜粋した。油症発生後 30 年以上経過しているにもかかわらず、全 TEQ 値と 2,3,4,7,8-PeCDFs 値は健常人の 3.4-4.8 倍、11.6-16.8 倍とそれぞれ高い値を維持していることは驚くべきことで、これらの塩素化合物の体内蓄積性が極めて高いことが改めて認識された。

我々は臨床症状や検査値と血中ダイオキシン類濃度との関連性を統計学的に解析した。長期間経過した現在でもご瘡様皮疹や面皰、歯肉の色素沈着、血清トリグリセリド値などとの相関を認めた。この間の測

表1 油症認定者の血中ダイオキシン類濃度

	油症認定者			健常人 (n = 52)
	2001年度 (n = 78)	2002年度 (n = 279)	2003年度 (n = 269)	
血中ダイオキシン類濃度 (pg-TEQ/g 脂肪)				
最大値	1049.7	1126.1	1176.6	85.4
平均値	179.3	136.4	125.0	37.0
SD	180.5	148.9	141.2	17.6
血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度 (pg/g 脂肪)				
最大値	1770.6	1889.7	1953.5	41.7
平均値	256.1	192.0	176.2	15.2
SD	315.3	252.0	240.2	8.9

PeCDF: pentachlorodibenzofuran; SD: standard deviation; TEQ: toxic equivalent quantity.

定値や解析結果の一部は、本誌の他の総説や原著をご覧いただきたい。

#### 4. 新しい診断基準の作成

油症発生に伴って当初の診断基準は1968年に作成された(表2)。その後、1972年および1976年に高脂血症、肺症状、頭痛、PCBsの性状および濃度の異常が診断基準に加わった(表3、表4)。血中PCQの性状および濃度の異常は1981年に加わった(表5)。油症治療指針や生活指針は1986年にそれまでのものに改定が加えられた(表6)。

血中PCBsやPCQs濃度に加えて、検診での血中ダイオキシン類濃度の測定が可能となったことで、1)認定者の体内に蓄積されている塩素化合物の濃度を網羅的に確認することができるようになり、2)PCBsやダイオキシン類の体内濃度を低下させる薬剤や油症症状を軽減させる薬剤の開発に向けてより具体的な戦術を立てやすくなったことは有意義なことである。加えて、3)従前の診断基準に血中ダイオキシン類の濃度を追加することによって、未認定者の認定への新たな可能性を広げることができるのではないかと考えられた。そこでダイオキシン類の測定開始と平行して全国油症治療研究班油症診断基準再評価委員会(表7)を設置し、診断基準にダイオキシン類を追加する妥当性と信頼性について討議が重ねられた。その結果、血液中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF)値を追補することが妥当と考えられ、油症診断基準(2004年9月29日補遺)が新たに作成された(表8)。新診断基準に則って、2004年度は117名の未認定者のうち18名が新たに油症と診定された。

表2 「油症」診断基準と油症患者の暫定的治療指針（1969）  
（勝木司馬之助，序言，福岡医誌 60：403-407，1969.）

### 1. 「油症」診断基準

本基準は、西日本地区を中心に米ぬか油使用に起因すると思われる特異な病像を呈して発症した特定疾患（いわゆる「油症」）に対してのみ適用される。

したがって、食用油使用が発症要因の一部となりうるすべての皮膚疾患に適用されるものではない。  
発症参考状況

- 1) 米ぬか油を使用していること。
- 2) 家族発症が多くの場合認められる。これが認められない場合は、その理由について若干の検討を要する。
- 3) 発病は、本年4月以降の場合が多い。
- 4) 米ぬか油を使用してから発病までには、若干の期間を要するものと思われる。

### 診断基準

症状 上眼瞼の浮腫、眼脂の増加、食思不振、爪の変色、脱毛、両肢の浮腫、嘔気、嘔吐、四肢の脱力感・しびれ感、関節痛、皮膚症状を訴えるものが多い。

特に、眼脂の増加、爪の変色、座瘡様皮疹は、本症を疑わせる要因となりうる。

また、症状に附随した視力の低下、体重減少等もしばしば認められる。

以下、特殊検査に基づかない一般的な本症の所見を述べる。

#### 1. 眼所見

眼脂（マイボーム氏腺分泌）の増加。眼球および眼瞼結膜の充血・混濁・異常着色・角膜輪部の異常着色、一過性視力低下が認められる。

なお、他の眼疾患との鑑別上分泌物のギムザ染色検査が望ましい。

#### 2. 皮膚所見

角化異常を主とし、次のような種々の所見が認められる。

- 1) 爪の変化。時に扁平化をみるが、明らかな変形は認められない。
- 2) 毛孔に一致した黒点（著明化）。
- 3) 手掌の発汗過多。
- 4) 角性丘疹。特に、皮膚汗脂分泌の多い部を侵す（例、腋窩部など）。
- 5) 座瘡様皮疹。面皰より集簇性座瘡とみられる重症型まで、さまざまである。
- 6) 脂腺部に一致した嚢胞（外陰部に多くみられる）。
- 7) 小児の場合も上記症状をしめすが、若干症状を異にすることもある。すなわち、全身、特に四肢屈側に帽針頭大の落屑性紅斑の多発を認める場合があり、多少の痒みを訴える。
- 8) 掻痒は多くの例にはない。また、あっても軽度であり、掻痕は認めない。
- 9) 皮膚は、多少汚黄色を呈するが、著名な色素沈着はない場合が多い。
- 10) 乾性脂漏。
- 11) 口腔粘着および脂肉に着色をみることがある。
- 12) 耳垢の増加を認める。

#### 3. 全身所見

- 1) 貧血、肝脾腫は認めないことが多い。しかし、発熱、肝機能障害を認めることがある。
- 2) 手足のしびれ、脱力感を訴えるが、著明な麻痺は認めない。深部反射は減弱あるいは消失することがある。

四肢末端の感覚過敏を時に認める。

上記所見は、典型例においては、その大多数が認められるが、手掌の発汗過多、爪の変色、眼脂の分泌

増加，頬骨部の面皰形成，および自覚症のいくらかを総合して，偽症をもうけることは必要であろう。

## 2. 油症患者の暫定的治療指針

1. SH 基材などを投与する。
2. ビタミン B2 を投与する。
3. 硫黄あるいはその他の角質溶解剤を含む軟膏またはローションの外用。
4. 二次感染の予防および悪臭防止のために Hexachlorophen などにより皮膚を清潔に保つ。
5. 二次感染があれば化学療法を併せ行う。

**表 3** 「油症」診断基準と油症患者治療指針（昭和 47 年 10 月 26 日改訂）  
（占部治邦，序言，福岡医誌 65：1-4，1974.）

## 1. 油症診断基準

油症は PCB の急性ないし亜急性の中毒と考えられるが，現在全身症状には，成長抑制，神経内分泌障害，酵素誘導現象，呼吸器系障害，脂質代謝異常などがあり，局所症状には皮膚および粘膜の病変として痤瘡様皮疹と色素沈着，さらに眼症状などがみられる。

### 1. 発病条件

PCB の混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。  
多くの場合家族発生がみられる。

### 2. 全身症状

#### 1) 自覚症状

- ①全身倦怠感
- ②頭重ないし頭痛
- ③不定の腹痛
- ④手足のしびれ感または疼痛
- ⑤関節部のはれおよび疼痛
- ⑥咳嗽・喀痰
- ⑦月経の変化

#### 2) 他覚症状

- ①気管支炎様症状
- ②感覚性ニューロパチー
- ③粘液囊炎
- ④小児では成長抑制および歯牙異常
- ⑤新生児の SFD (Small-For-Dates Baby) および全身性色素沈着

#### 3) 検査成績

- ①血液 PCB の性状および濃度の異常
- ②血液中性脂肪の増加
- ③貧血，リンパ球増多，アルブミン減少
- ④知覚神経伝導性と副腎皮質機能の低下

### 3. 皮膚粘膜症状

#### 1) 痤瘡様皮疹

顔面，臀部，その他間擦部などにみられる黒色面皰，痤瘡様皮疹とその化膿傾向

## 2) 色素沈着

顔面, 眼瞼粘膜, 歯肉, 指趾爪, などの色素沈着

## 3) 眼症状

マイボーム腺肥大と眼脂過多, 眼瞼浮腫など

## 2. 油症治療指針

## 1. PCB の排泄促進

現在, 油症患者の PCB 濃度はかなり低下しているものと推定されるが, PCB の排泄を促進することが最も重要である。ただ, PCB の特性上, 適当な排泄促進剤はなお報告されていない。

現在考える PCB の排泄促進法としては

- (1) 絶食
- (2) 酵素誘導法
- (3) 適当な PCB 吸着剤の経口投与

などがあげられている。

ただし, 絶食および酵素誘導法については, その適応および実施に慎重な配慮を要する。

## 2. 対症療法

対症療法としては, 種々の解毒剤 (たとえば還元型グルタチオン) 種々の脂質代謝改善剤などのほか, 脳神経症状にたいしては鎮痛剤, ビタミン B 剤など, 呼吸器症状には鎮咳剤などを投与し, また内分泌症状にたいしてはホルモン療法も考えられる。皮膚症状にたいしては, 種々の対症療法が行われているが, 症例によっては形成手術も行われる。

その他, 眼科, 整形外科, 歯科保存科においては症状に応じた対症療法が行われる。

## 3. 合併症の治療

油症患者においては, 神経, 内分泌障害, 酵素誘導などの所見がみられるため種々の合併症を生じやすく, また合併症が重症化する傾向があるので慎重に治療する必要がある。

また, 酵素誘導により薬物の分解が促進されており, 通常の投与量では治療効果があがらぬことも多い。

---

**表 4** 油症診断基準 (昭和 51 年 6 月 14 日補遺) 油症治療研究班  
(杉山浩太郎, 序言, 福岡医誌 68:93-95, 1977.)

---

油症の診断基準としては, 昭和 47 年 10 月 26 日に改定された基準があるが, その後の時間の経過とともに症状と所見の変化がみられるので, 次のような診断基準によることが妥当と考えられる。

## 発病条件

PCB の混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。

油症母親を介して児に PCB が移行する場合もある。多くの場合家族発生がみられる。

## 重要な所見

## 1. 座瘡様皮疹

顔面, 臀部, そのほか間擦部などにみられる黒色面皰, 面皰に炎症所見の加わったもの, および粥状内容物をもつ皮下嚢胞とそれらの化膿傾向。

## 2. 色素沈着

顔面, 眼瞼結膜, 歯肉, 指趾爪などの色素沈着 (いわゆる “ブラックベイビー” を含む)

- 3. マイボーム腺分泌過多
- 4. 血液 PCB の性状および濃度の異常

参考となる症状と所見

1. 自覚症状

- |                     |           |
|---------------------|-----------|
| 1) 全身倦怠感            | 5) せき, たん |
| 2) 頭重ないし頭痛          | 6) 不定の腹痛  |
| 3) 四肢のパレステジア (異常感覚) | 7) 月経の変化  |
| 4) 眼脂過多             |           |

2. 他覚的所見

- |              |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| 1) 気管支炎所見    | 5) 血清 $\gamma$ -GTP の増加            |
| 2) 爪の変形      | 6) 血清ビリルビンの減少                      |
| 3) 粘液囊炎      | 7) 新生児の SFD (Small-For-Dates Baby) |
| 4) 血清中性脂肪の増加 | 8) 小児では, 成長抑制および歯牙異常(永久歯の萌出遅延)     |

註1. 以上の発病条件と症状, 所見を参考にし, 受診者の年齢および時間的経過を考慮のうえ総合的に診断する。

- 2. この診断基準は油症であるか否かについての判断の基準を示したものであって必ずしも油症の重症度とは関係ない。
- 3. 血液 PCB の性状と濃度の異常については, 地域差, 職業などを考慮する必要がある。

**表 5** 油症診断基準 (昭和 56 年 6 月 16 日追加) 油症治療研究班  
(吉村英敏, 序言, 福岡医誌 74: 189-192, 1983.)

- 1. 油症診断基準 (昭和 51 年 6 月 14 日補遺) 中, 重要な所見「4. 血液 PCB の性状および濃度の異常」の次に「5. 血液 PCQ の性状および濃度の異常」を追加する。
- 2. 今までの研究により, 血中 PCQ の濃度については次のとおり結論した。
  - (1) 0.1 ppb 以上: 異常に高い濃度
  - (2) 0.03~0.09 ppb: (1) と (3) の境界領域濃度
  - (3) 0.02 ppb (検出限界) 以下: 通常みられる濃度

**表 6** 油症治療指針および油症患者の生活指針 (昭和 61 年 6 月 6 日)  
(倉恒匡徳, 序言, 福岡医誌 78: 181-183, 1987.)

1. 油症治療指針

1. PCB 等の排せつ促進

現在, 油症患者の体内の PCB 等の濃度は, 一般に著しく低下している物と推定されるが, 重症者においては今なお一般人より高く, PCB 等の排せつ促進をすることが重要である。しかし PCB 等の特性上, 充分有効な排せつ促進剤はまだ見いだされていない。

現在考える PCB 等の排せつ促進法としては、

- (1) 適当な PCB 等の吸着剤の経口投与
- (2) 絶食療法

などがある。ただし絶食療法については、その適応および実施にあたり慎重な配慮を必要とする。

## 2. 治療

一般的には、各種の症状に対して対症療法が行われる。

### 1) 神経症状

末梢神経症状のうち、しびれ感、感覚低下に対してはビタミン複合剤およびビタミン B 12 の投与、痛み（腹痛を含む）に対しては鎮痛剤や頭痛薬の投与、湿布療法等を行なう。

### 2) 呼吸器症状

本症患者の主な呼吸器症状は咳・たんであるが、非喫煙患者では、たんはかたくり様で、水泡音が聴取された例はなかった。そのように、大気汚染による慢性気管支炎と理学的所見も異なり、気道の粘液産生貯留傾向はなく、気道感染のない時には特別の治療を必要としない。本来、本症患者のたん中には血中濃度の 1/3 ないし 1/10 の PCB の存在を認め、排せつ経路としてのたん症状が考えられる。気道感染の合併によるたんの発現については、たんの検査によって決定し、適切な化学療法を中心とする治療を行なう。

### 3) 皮膚症状

皮膚科症状のなかで癬およびアテローム様皮しんの化膿に対しては、抗生物質の内服、切開排膿、アテローム皮しんの切除を行ない、顔面の陥凹性はん痕の大きなものは切除縫合し、小さい浅いものに対してはプレーニング（皮膚剝削術）を行う。色素沈着に対してはビタミン C やグルタチオン剤等の内服を、皮膚の乾燥・かゆみ等の訴えに対しては抗ヒスタミン剤の内服やステロイド軟膏の外用を、また足底の角化・鶏眼に対してはスピール膏貼付および削除を行なう。第一趾爪の刺入（爪甲湾曲）に対しては、爪囲の腫脹・とう痛のつよい症例では根治術を施行し、軽症例では入浴後に爪甲の両側端をやや深く切らせる。

### 4) その他

眼科、歯科、整形外科においても症状に応じた対症療法が行われる。

## 2. 油症患者の生活指針

油症患者の中には、脂質代謝その他種々の新陳代謝が正常ではなく、免疫も低下している症例がみられる。従って、油症患者は、タンパク質やビタミンが豊富な、栄養的にバランスのとれた食事の摂取に特に心がけるとともに、喫煙や飲酒をできるだけひかえることが望ましい。

表 7 油症診断基準再評価委員会

古江 増隆	九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野	教授
赤峰 昭文	九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯内疾患制御学研究分野	教授
秋元 隆道	大阪府立急性期・総合医療センター皮膚科	部長
旭 正一	産業医科大学	名誉教授
飯田 隆雄	福岡県保健環境研究所保健科学部	部長
石川 武彦	常葉会 長与病院	院長
石橋 達朗	九州大学大学院医学研究院眼科学分野	教授
今村 知明	東京大学医学部附属病院企画情報運営部	助教授

奥村 恂	福岡大学 名誉教授
片岡恭一郎	福岡県保健環境研究所管理部情報管理課 課長
片山 一朗	大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学講座 教授
金子 聰	国立がんセンター研究所がん予防・検診研究センター情報研究部 室長
倉恒 匡徳	九州大学 名誉教授
桑原 正雄	県立広島病院 総合診療科(兼)呼吸器内科 部長
佐藤 伸一	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学分野 教授
清水 和宏	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学分野 助教授
辻 博	北九州津屋崎病院内科 部長
徳永 章二	九州大学大学院医学研究院予防医学分野 助手
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
月森 清巳	九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学分野 講師
中山樹一郎	福岡大学医学部皮膚科学教室 教授
原田 壽彦	洗心会荒尾中央病院 副院長
増田 義人	第一薬科大学 名誉教授
吉村 英敏	九州大学 名誉教授
吉村 健清	福岡県保健環境研究所 所長
上ノ土 武	社団法人日本食品衛生協会 非常勤職員(厚生労働省 リサーチレジデント)

表 8 油症診断基準(2004年9月29日補遺)

全国油症治療研究班

油症の診断基準としては、1972年10月26日に改訂、1976年6月14日に補遺、1981年6月16日に血液中PCQ濃度が追加された基準があるが、その後の時間の経過とともに症状と所見の変化ならびに分析技術の進歩に伴って、血液中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 値を追補することが妥当と考えられたので、追補・改訂することとした。

#### 発病条件

- PCBなどの混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。
- 油症母親を介して児にPCBなどが移行する場合もある。
- 多くの場合家族発生がみられる。

#### 重要な所見

1. ざ瘡様皮疹  
顔面、臀部、そのほか間擦部などにみられる黒色面皰、面皰に炎症所見の加わったもの、および粥状内容物をもつ皮下嚢胞とそれらの化膿傾向。
2. 色素沈着  
顔面、眼瞼結膜、歯肉、指趾爪などの色素沈着(いわゆるブラックペイビーを含む)
3. マイボーム腺分泌過多
4. 血液PCBの性状および濃度の異常
5. 血液PCQの濃度の異常(参照1)
6. 血液2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF)の濃度の異常(参照2)

## 参考となる症状と所見

## 1. 自覚症状

- |                     |           |          |
|---------------------|-----------|----------|
| 1) 全身倦怠感            | 4) 眼脂過多   | 7) 月経の変化 |
| 2) 頭重ないし頭痛          | 5) せき, たん |          |
| 3) 四肢のパレステジア (異常感覚) | 6) 不定の腹痛  |          |

## 2. 他覚的所見

- |                         |                                    |
|-------------------------|------------------------------------|
| 1) 気管支炎所見               | 6) 血清ビリルビンの減少                      |
| 2) 爪の変形                 | 7) 新生児の SFD (Small-For-Dates Baby) |
| 3) 粘液囊炎                 | 8) 小児では, 成長抑制および歯牙異常<br>(永久歯の萌出遅延) |
| 4) 血清中性脂肪の増加            |                                    |
| 5) 血清 $\gamma$ -GTP の増加 |                                    |

参照 1 血中 PCQ の濃度は以下のとおりとする。

- |                        |                     |
|------------------------|---------------------|
| (1) 0.1 ppb 以上         | : 高い濃度              |
| (2) 0.03 - 0.09 ppb    | : (1) と (3) の境界領域濃度 |
| (3) 0.02 ppb (検出限界) 以下 | : 通常みられる濃度          |

参照 2 血中 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度は以下のとおりとする。

- |  |            |
|--|------------|
| (1) 50 pg/g lipids 以上                    | : 高い濃度     |
| (2) 30 pg/g lipids 以上, 50 pg/g lipids 未満 | : やや高い濃度   |
| (3) 30 pg/g lipids 未満                    | : 通常みられる濃度 |
- また, 年齢・性別についても勘案して考慮する。

註 1. 以上の発病条件と症状, 所見を参考にし, 受診者の年齢および時間的経過を考慮のうえ総合的に診断する。

2. この診断基準は油症であるか否かについての判断の基準を示したものであって必ずしも油症の重症度とは関係ない。
3. 血液 PCB の性状と濃度の異常および血液 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) の濃度の異常については, 地域差, 職業などを考慮する必要がある。
4. 測定は全国油症研究班が適切と認めた精度管理が行われている検査機関にて行う。

## 文 献

- 1) Yoshimura T: Yusho in Japan. *Ind Health* 41: 139-148, 2003.
- 2) Katsuki S: Foreword. *Fukuoka Igaku Zasshi* 60: 403-407, 1969.
- 3) Kuratsune M, Morikawa Y, Hirohata T, Nishizumi M, Seishi K, Yoshimura T et al.: An epidemiologic study on Yusho or chlorobiphenyls poisoning. *Fukuoka Igaku Zasshi* 60: 513-532, 1969.
- 4) Kuratsune M, Yoshimura T, Matsuzaka J and Yamaguchi A: Epidemiologic study of polychlorinated biphenyls. *Environ Health Perspect* 1: 119-128, 1972.
- 5) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Matsuda Y: editors. *Yusho - A human disaster caused by PCB and related compounds*. Fukuoka, Japan: Kyushu University Press; 1996.
- 6) Okumura M: Past and current medical states of yusho patients. *Am J Ind Med* 5: 13-18, 1984.
- 7) Goto M and Higuchi K: The symptomatology of Yusho (chlorobiphenyls poisoning) in dermatology. *Fukuoka Igaku Zasshi* 60: 409-431, 1969.
- 8) Takamatsu M, Oki M, Maeda K, Inoue Y, Hirayama H and Yoshizuka K: PCBs in blood of workers exposed to PCBs and their health status. *Am J Ind Med* 5: 59-68, 1984.

- 9) Iida T, Keshino M, Takata S, Nakamura S, Takahashi K and Masuda Y : Polychlorinated biphenyls and polychlorinated quarterphenyls in human blood. *Fukuoka Igaku Zasshi* 72 : 185-191, 1981.
- 10) Kataoka K, Ohkubo A, Shinohara S, Takahashi K and Masuda Y : Statistical analyses of the annual examination data for yusho in Fukuoka. *Fukuoka Igaku Zasshi* 74 : 296-301, 1983.
- 11) Kashimoto T, Miyata H, Kunita S, Tung TC, Hsu ST, Chang KJ et al. : Role of polychlorinated dibenzofuran in yusho (PCB poisoning). *Arch Environ Health* 36 : 321-326, 1981.
- 12]** Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oils used by patients with yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 66 : 593-599, 1975.
- 13) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in kanechlors and "yusho oil". *Bull Environ Contam Toxicol* 15 : 9-13, 1976.
- 14) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'yusho'. *Food Cosmet Toxicol* 15 : 195-198, 1977.
- 15) Hayabuchi H, Yoshimura T and Kuratsune M : Consumption of toxic rice oil by 'yusho' patients and its relation to the clinical response and latent period. *Food Cosmet Toxicol* 17 : 455-461, 1979.
- 16) Tanabe S, Kannan N, Wakimoto T, Tatsukawa R and Phillips DJ : Isomer-specific determination and toxic evaluation of potentially hazardous coplanar PCBs, dibenzofurans and dioxins in the tissues of "Yusho" and PCB poisoning victim and in the causal oil. *Toxicol Environ Chem* 34 : 215-231, 1989.
- 17) Barnes DG, Bellin J and Cleverly D : Interim procedures for estimating risks associated with exposures to mixtures of chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans (CDDs and CDFs). *Chemosphere* 15 : 1895-1903, 1986.
- 18]** Safe S : Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds : environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol* 21 : 51-88, 1990.
- 19) Safe SH : Polychlorinated biphenyls (PCBs) : environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 24 : 87-149, 1994.
- 20) Kutz FW, Barnes DG, Bottimore DP et al. : The international toxicity equivalency factor (I-TEF) method of risk assessment for complex mixtures of dioxins and related compounds. *Chemosphere* 20 : 751-757, 1990.
- 21]** Okumura M and Katsuki S : Clinical observation on Yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 1969 ; 60 : 440-6
- 22) Kuroiwa Y, Murai Y and Santa T : Neurological and nerve conduction velocity in Yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 60 : 462-463, 1969.
- 23) Yamaguchi A, Yoshimura T and Kuratsune M : A survey on pregnant women having consumed rice oil contaminated with chlorobiphenyls and their babies. *Fukuoka Igaku Zasshi* 62 : 117-122, 1971.
- 24) Abe S, Inoue Y and Takamatsu M : Polychlorinated biphenyl residues in plasma of yusho children born to mothers who had consumed oil contaminated by PCB. *Fukuoka Acta Med* 66 : 605-609, 1975.
- 25) Masuda Y, Kagawa R, Kuroki H, Kuratsune M, Yoshimura T, Taki I et al. : Transfer of polychlorinated biphenyls from mothers to fetuses and infants. *Food Cosmet Toxicol* 16 : 543-546, 1978.
- 26) Kodama H and Ota H : Transfer of polychlorinated biphenyls to infants from their mothers. *Arch Environ health* 35 : 95-100, 1980.
- 27) Shimizu K, Tsukazaki N, Watanabe M, Ogawa F, Kondo T and Katayama I : Serum concentration of nitric oxide in Yusho patients over 30 years after the accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Japan. *Toxicol Ind Health* 18 : 45-47, 2002.
- 28) Kimura NT and Baba T : Neoplastic change in the rat liver induced by polychlorinated biphenyl. *Gann* 64 : 105-108, 1973.
- 29) Kociba RJ, Keyes DG, Beyer JE, Carreon RM, Wade CE, Dittenber DA et al. : Results of a two-year chronic toxicity and oncogenicity study of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 46 : 279-303, 1978.
- 30) Kuratune M, Nakamura Y and Ikeda M : Analysis of deaths seen among patients with Yusho - a preliminary report. *Chemosphere* 16 : 2085-2088, 1987.
- 31) Todaka T, Hirakawa H, Tobiihi K and Iida T : New protocol of dioxins analysis in human blood. *Fukuoka Acta Med* 94 : 148-157, 2003.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## 統計学的アプローチによる新油症診断基準の概念

1) 九州大学大学院医学研究院予防医学分野

2) 福岡県保健環境研究所

3) 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

徳永章二<sup>1)</sup>, 飯田隆雄<sup>2)</sup>, 古江増隆<sup>3)</sup>

### はじめに

油症患者は「油症診断基準」により診断・認定されてきた。これまでに1800人以上が油症患者と認定された<sup>1)</sup>。1968年刊行の最初の基準は油症の症状・徴候に基づいていたが、1973, 1976, 1981年の改訂により、血液中のポリ塩化ビフェニール(PCB)とポリ塩化クアターフェニール(PCQ)の性状及び濃度が基準に加わった<sup>2)</sup>。しかし、ダイオキシン類の1群であるポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)は油症患者の血液中の総毒性等量(TEQ)のうち最も大きな割合を占める事が示されている<sup>3)4)</sup>にもかかわらず、血液中ダイオキシン類濃度の測定が困難なため、これまで診断基準に入れられていなかった。近年、5gという少量の血液サンプルから高い妥当性と再現性をもってダイオキシン類濃度を測定できる方法が開発された<sup>5)</sup>。この改良された方法により、全国油症患者追跡検診受診者から得られた多数の血液サンプルでダイオキシン濃度を定型作業として測定する事ができるようになった。この論文では、全国油症患者追跡検診受診者と一般人口の血液中ダイオキシン濃度を統計学的に解析することで考案された、血液中ダイオキシン濃度を用いた油症の新しい診断基準を提案する。これは血液中ダイオキシン濃度をもとに油症患者を識別しようとする最初の試みである。

### 1. 対象者と方法

#### (1) 全国油症患者追跡検診参加者

全国油症患者追跡検診は、油症患者の健康増進と慢性的となった油症の患者の健康状況や病状を把握する目的で1986年より毎年行われている<sup>6)</sup>。この検診は認定された油症患者のみならず、自らを潜在的な患者と見なす者、いわゆる「未認定者」も受診することができる。受診は自由である。受診者のうち、ダイオキシン濃度の測定を希望する者のみ血液サンプルを採取し分析した。対象者数とその性、年齢、居住地を表1に示す。計391人から452の血液サンプルを得た。2001年度に認定患者78人、未認定者3人から、2002年度に認定患者279人、未認定者92人から血液サンプルを得た。認定患者60人、未認定者1人が両年とも血液サンプルを提供したので、合計して認定患者297人、未認定者94人から血液サンプルを得た。血液中ダイオキシン濃度の測定は飯田・戸高(2003)の方法により福岡県保健環境研究所で行われた<sup>5)</sup>。

#### (2) 対照群

対照群のデータは九州大学古野教授の厚意により提供された。対象者と分析方法は増田ら(2005)に記述されている<sup>7)</sup>。この研究は1999年に無作為抽出された福岡市住民を対象に行われた。年齢、性の分布は表1に示した。対照は152人(男性75人、女性77人)で、平均年齢は36.5歳(範囲=20~60歳)であった。

#### (3) 測定値の再現性

この研究では同一人物の異なった年度の測定値間に見られる一致の程度を「再現性」と定義した。2001, 2002年度ともに血液中ダイオキシン濃度が測定された認定患者60人と未認定者1人を再現性調査の対象者とした。それら61人(男性23, 女性38人)の2002年度における年齢の平均値は65.5歳(範囲=34~

表1 調査対象者の年齢、性、居住地

	測定年度	人数 (男/女)	年齢 <sup>a</sup>		居住地 (%)		
			平均 (SD)	最小 - 最大	福岡県	長崎県	その他
油症認定患者 <sup>b</sup>	2001	78 (32/46)	65.3 (11.2)	33-84	100	0	0
	2002	279 (135/144)	63.6 (12.6)	30-88	40	28	32
未認定者 <sup>b</sup>	2001	3 (1/2)	57.0 (3.5)	53-59	100	0	0
	2002	92 (38/54)	54.1 (17.4)	5-81	26	39	35
対照群	1999	152 (75/77)	36.5 (11.8)	20-60	100	0	0

<sup>a</sup> 測定年度における年齢.

<sup>b</sup> 油症認定患者60人と未認定者1人は2001, 2002年度の2回とも血液中ダイオキシン類濃度が測定された.

85歳)であった。同一人物の2回の測定値の差を求め、その平均値をバイアスの指標とした。測定値は対数変換して解析されたので、平均値の差は2001年度と2002年度の測定値の比の幾何平均値として表された。2回の測定値の一致度は級内相関係数 ( $r_i$ ) で表した<sup>8)</sup>。一致度の大きさはLandisとKochにより提案された等級により評価した<sup>9)</sup>。この等級は、本来はカッパ統計量による一致度の大きさを評価するためのものであるが、カッパ統計量と級内相関係数は等価であるため、この等級を級内相関係数に適用した<sup>10)</sup>。

#### (4) 統計学的方法

血液中ダイオキシン濃度の分布が偏っていたため、常用対数値 (10を底とした対数変換値) によりダイオキシン類測定値の統計解析を行った。測定値が検出限界未満の場合、その異性体の濃度を検出限界値の1/2と仮定した。2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度と年齢・性間の関連は重回帰モデルにより統計解析を行った。年齢は連続変数、性は女性を0、男性を1とするダミー変数とした。年齢と性の交互作用は年齢と性の積をモデルに入れて統計学的に検定した。分布の正規性はシャピロ・ウィルク W 検定により検定した。油症患者である確率はロジスティック回帰解析により推定した。従来の基準で判定された油症患者か、対照群か、を従属変数とし、2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の対数変換値、年齢の対数変換値、性を説明変数とした。全ての統計学的検定は両側検定で、P値0.05未満を統計学的に有意と判定した。統計学的解析は全て統計解析ソフト Stata ver. 8.2 (Stata Corporation, Texas) を用いた。

## 2. 結果

### (1) 対象者の特性

対象者を油症認定患者、未認定者、対照群の3群に分け、受診年度別に年齢、性、居住地の情報を表1に示した。全国油症追跡検診受診者と対照群の間に年齢と居住地の分布に違いが見られた。2002年度検診受診者のうち、油症認定患者297人の平均年齢は63.9歳(範囲=30~88歳)で、未認定者94人の平均年齢は54.2歳(範囲=5~81歳)であった。対照群は検診受診者より若く、平均年齢は36.5歳(範囲=20~60歳)であった。対照群は全て福岡県居住者であったが、検診受診者のうち福岡県居住者は40%で、残りは長崎県及び西日本を中心とした他県に居住していた。女性は認定患者、未認定者、対照群の各群でそれぞれ51.5%、56.5%、50.7%を占めていた。

### (2) 血液中ダイオキシン濃度

表2に対象者群及び測定年度別の血液中ダイオキシン濃度を示す。2001年度に測定された未認定者は3人のみのため表に示していない。油症患者と対照群の間で、一部のダイオキシン類の血液中濃度に顕著な違いが見られた。2002年度検診受診の油症認定患者における1,2,3,4,6,7,8-七塩化ジベンゾジオキシン、八塩化ジベンゾジオキシン、2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン、1,2,3,4,7,8-六塩化ジベンゾフラン、1,2,3,6,7,8-六塩化ジベンゾフラン、3,3',4,4',5,5'-六塩化ビフェニール (PCB 169) の血液中濃度の幾何平均値は対照群の

3倍以上であった。最も大きな差が見られたのは2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度であった。血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度を比較すると、2002年度検診受診の油症患者は対照群に比較し、幾何平均値で11倍、最大値で73倍高かった。このように大きな違いのため、油症認定患者のうち血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が対照群の範囲内であったのは、2001年度受診者で22%、2002年度受診者で28%に過ぎなかった。

未認定者と対照群の血液中ダイオキシン類濃度の違いは、認定患者と対照群間で見られたほど顕著でなかった。未認定者の血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度幾何平均値は対照群の2.4倍であった。他のダイオキシン類では、1,2,3,4,6,7,8-七塩化ジベンゾジオキシンと8-ジベンゾジオキシンを除いて対照群の2倍未満であった。未認定者の74%は血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が対照群の範囲内であった。

### (3) 測定値の再現性

2001, 2002年の両年度で測定された同一人物間における測定値の比の幾何平均値と級内相関係数を表3に示す。バイアスの指標である測定値の比の幾何平均値は、2,3,7,8-四塩化ジベンゾジオキシン, 2,3,7,8-四塩化ジベンゾフラン, 1,2,3,7,8-五塩化ジベンゾフラン, 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン, 1,2,3,4,7,8-六塩化ジベンゾフラン, 1,2,3,6,7,8-六塩化ジベンゾフラン, 3,3',4,4',5,5'-六塩化ビフェニール (PCB 169) で統計学的に有意でなかった。この中で2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランの測定値バイアスは最も小さかった。比の幾何平均値は1.1% (95%信頼区間=-6.8~9.7%) に過ぎなかった。

ダイオキシン類異性体の一部は2001, 2002年度間で非常に高い一致度を示した。級内相関係数が0.8より大で「ほぼ完全に一致」と判定された異性体は、1,2,3,6,7,8-六塩化ジベンゾフラン, 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン, 1,2,3,4,7,8-六塩化ジベンゾフラン, 1,2,3,6,7,8-六塩化ジベンゾフラン, 3,3',4,4',5-五塩化ビフェニール (PCB 126), 3,3',4,4',5,5'-六塩化ビフェニール (PCB 169) であった。1,2,3,7,8,9-六塩化ジベンゾジオキシンと8-ジベンゾジオキシンは、「十分な」一致度が見られた。最も高い一致度を示したのは2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランであった。同一人物における2回測定の一貫の程度を図1に示す。

表2 対象者群、年度別に示した血液中ダイオキシン類濃度 (pg / g 脂肪)

異性体名	DL	油症認定患者 (2001年度, 78人)				油症認定患者 (2002年度, 279人)				未認定者 <sup>a</sup> (2002年度, 92人)				対照群 (152人)			
		n <sup>b</sup>	幾何平均 <sup>c</sup>	最小 <sup>c</sup>	最大	n <sup>b</sup>	幾何平均 <sup>c</sup>	最小 <sup>c</sup>	最大	n <sup>b</sup>	幾何平均 <sup>c</sup>	最小 <sup>c</sup>	最大	n <sup>b</sup>	幾何平均 <sup>c</sup>	最小 <sup>c</sup>	最大
2,3,7,8-TCDD	1	56	1.43	0.5	4.1	230	1.43	0.5	4.4	63	1.17	0.5	5.0	123	1.38	0.5	5.0
1,2,3,7,8-PeCDD	1	78	17.5	3.3	53.5	279	9.71	1.5	46.8	92	6.84	1.2	22.1	151	5.18	0.5	15.0
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2	34	1.80	1.0	7.7	197	2.36	1.0	10.8	68	2.55	1.0	11.4	97	2.26	1.0	9.3
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2	78	44.1	4.4	230	279	40.8	6.0	291	92	24.0	5.9	106	152	18.3	4.4	45.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2	70	3.92	1.0	11.0	250	4.11	1.0	41.0	80	4.18	1.0	17.7	115	2.68	1.0	10.0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2	78	21.6	5.4	144	279	51.2	10.8	556	92	62.1	14.5	288	152	16.6	5.1	96.0
OCDD	4	78	514	137	6226	279	739	172	9159	92	776	229	2836	151	231	2.0	4200
2,3,7,8-TCDF	1	41	1.12	0.5	14.4	189	1.12	0.5	6.3	40	0.82	0.5	6.2	21	0.60	0.5	5.7
1,2,3,7,8-PeCDF	1	32	0.84	0.5	4.2	95	0.75	0.5	6.3	20	0.64	0.5	2.8	20	0.57	0.5	8.8
2,3,4,7,8-PeCDF	1	78	105.9	6.7	1771	279	80.6	3.1	1890	92	17.4	2.2	263	152	7.25	2.2	26.0
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2	78	30.6	2.0	632	273	20.3	1.0	770	85	5.11	1.0	112	146	4.41	1.0	29.0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2	77	16.8	1.0	176	278	12.7	1.0	210	88	5.39	1.0	26.0	149	3.93	1.0	18.0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2	28	1.45	1.0	6.4	67	1.27	1.0	10.3	25	1.33	1.0	10.0	69	1.63	1.0	14.0
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2	3	1.03	1.0	2.3	2	1.01	1.0	5.8	0	-	-	-	0	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2	65	3.21	1.0	10.8	186	2.31	1.0	39.8	59	2.30	1.0	27.3	60	1.82	1.0	39.0
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2	0	-	-	-	2	1.01	1.0	3.5	0	-	-	-	1	1.01	1.0	3.5
OCDF	4	0	-	-	-	1	2.01	2.0	9.1	1	2.03	2.0	7.5	2	2.07	2.0	42.0
3,4,4',5-TCB(#81)	10	2	5.18	5.0	20.6	14	5.27	5.0	41.0	5	5.23	5.0	15.5	6	5.24	5.0	22.0
3,3',4,4'-TCB(#77)	10	27	6.88	5.0	28.5	154	9.17	5.0	46.1	50	8.94	5.0	44.6	1	5.06	5.0	30.0
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	10	78	70.0	17.8	320	277	83.4	5.0	561	91	63.2	5.0	387	131	41.6	5.0	430
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	10	78	158	31.0	964	279	153	12.7	1131	91	61.8	5.0	318	151	37.1	5.0	160

CB: 塩化ビフェニール, CDD: 塩化ジベンゾジオキシン, CDF: 塩化ジベンゾフラン, DL: 検出限界, HpC 7塩化, HxC 六塩化, OCDD: 八塩化ジベンゾジオキシン, OCDF: 八塩化ジベンゾフラン, PeC 五塩化, pg: ピコグラム (1兆分の1グラム), TCB: 四塩化ビフェニール, TCDD: 四塩化ジベンゾジオキシン, TCDF: 四塩化ジベンゾフラン

<sup>a</sup> 油症患者と認定されていないが全国油症追跡検診を受診した者。

<sup>b</sup> 検出限界以上の濃度が測定された対象者数。

<sup>c</sup> 検出限界未満の場合、検出限界値の1/2に置き換えた。

表3 2001, 2002年度の測定値における再現性

異性体名	平均増加率 <sup>a</sup> (%)	(95%信頼区間)	P	級内相関係数
2,3,7,8-TCDD	-10.1	(-26.2 ~ 9.5)	0.29	0.33
1,2,3,7,8-PeCDD	-39.1	(-48.0 ~ -28.8)	<0.001	0.31
1,2,3,4,7,8-HxCDD	55.1	(30.5 ~ 84.2)	<0.001	0.43
1,2,3,6,7,8-HxCDD	13.4	(6.3 ~ 21.0)	<0.001	0.93
1,2,3,7,8,9-HxCDD	23.7	(11.4 ~ 37.4)	<0.001	0.75
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	206.0	(165.0 ~ 253.4)	<0.001	0.29
OCDD	51.3	(38.7 ~ 65.1)	<0.001	0.74
2,3,7,8-TCDF	-3.8	(-24.9 ~ 23.2)	0.75	0.32
1,2,3,7,8-PeCDF	-6.4	(-24.1 ~ 15.4)	0.53	0.31
2,3,4,7,8-PeCDF	1.1	(-6.8 ~ 9.7)	0.78	0.98
1,2,3,4,7,8-HxCDF	-2.1	(-11.7 ~ 8.5)	0.68	0.97
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-5.0	(-12.9 ~ 3.5)	0.24	0.95
2,3,4,6,7,8-HxCDF <sup>b</sup>				
1,2,3,7,8,9-HxCDF <sup>b</sup>				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-27.5	(-36.9 ~ -16.7)	<0.001	0.63
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF <sup>b</sup>				
OCDF <sup>b</sup>				
3,4,4',5'-TCB(#81) <sup>b</sup>				
3,3',4,4'-TCB(#77)	39.8	(13.0 ~ 72.8)	<0.01	-0.14
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	12.2	(4.1 ~ 20.9)	<0.01	0.85
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	6.8	(-0.3 ~ 14.4)	0.06	0.94

CB: 塩化ビフェニール, CDD: 塩化ジベンゾジオキシン, CDF: 塩化ジベンゾフラン, DL: 検出限界, HpC 七塩化, HxC 六塩化, OCDD: 八塩化ジベンゾジオキシン, OCDF: 八塩化ジベンゾフラン, PeC 五塩化, TCB: 四塩化ビフェニール, TCDD: 四塩化ジベンゾジオキシン, TCDF: 四塩化ジベンゾフラン

<sup>a</sup>2002年度測定値/2001年度測定値比の幾何平均値。

<sup>b</sup>調査参加者の半数以上で測定結果が検出限界未満であったため、再現性を分析していない。

#### (4) 血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の年齢・性との関連

対照群における血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度と年齢・性間の関連を乗法回帰モデルにより解析した。年齢と性の交互作用は統計学的に有意でなかった ( $P=0.89$ ) のでモデルから除いた。年齢と性はどちらも統計学的に有意であった。モデルでは性 (変数名 sex) を男性 0, 女性 1 のダミー変数としたので、乗法モデルは、

【血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度】=  $A \times \text{年齢}^B \times C^{\text{sex}}$

と表される。回帰係数は、 $A = 0.293$  (95%信頼区間=0.139 ~ 0.618),  $B = 0.884$  (95%信頼区間=0.678 ~ 1.090),  $C = 1.152$  (95%信頼区間=1.006 ~ 1.319) と推定された。対照群の各個人の血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度、そして、乗法モデルによる回帰曲線とその 95%予測区間を年齢に対してプロットしたものを図2に示す。

#### (5) 血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の各群間の比較

血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度は年齢・性に依存して変化していた。従って、年齢・性の分布が異なる対象者群を比較する時に年齢と性を考慮に入れる必要がある。乗法モデルを適用した血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の年齢・性調整値の計算では、年齢を 63.9 歳 (解析対象者となった油症認定患者の平均年齢)、性を男性に調整した。図3に対照群と未認定者における年齢・性調整血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の分布を示す。図3には油症認定患者の血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾ

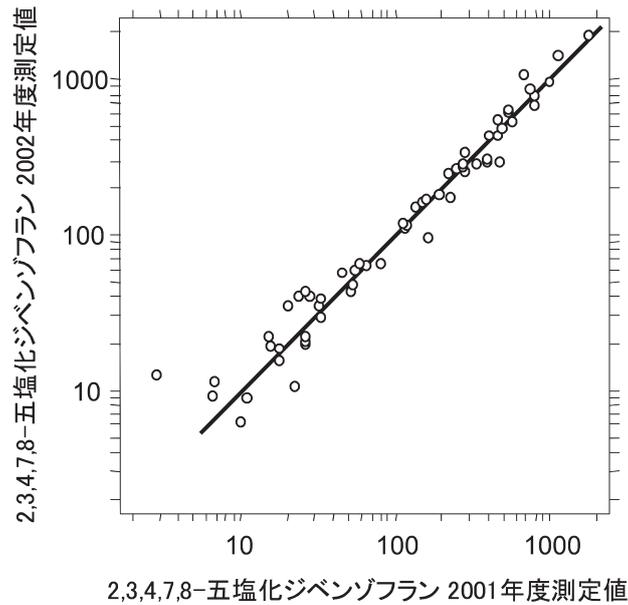


図1 血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度測定値の再現性。同一人物の2002年度測定値を2001年度測定値に対して両対数プロットした。単位はpg/g脂肪、すなわち、脂肪1gあたり1兆分の1gである。

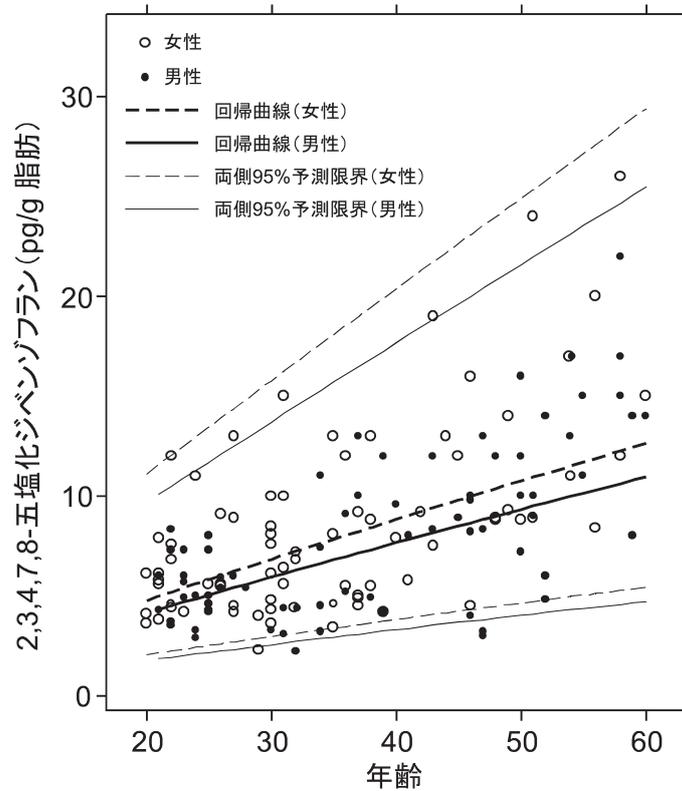


図2 対照群における血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度 (pg/g 脂肪) を年齢に対してプロットしたもの。乗法回帰モデルにあてはめた曲線と、その回帰曲線の両側95%信頼区間を男女別に示した。

ラン濃度も示したが、これは年齢・性を調整していない。なぜなら、油症患者の血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランの大部分は汚染された米糠油による短期間の曝露によると考えられるが、一般住民では環境から主に食物を介した曝露によってポリ塩化ジベンゾフランが長期的に年齢依存で蓄積したと広く認められているからである<sup>11)</sup>。同一人物が2回測定された場合は平均値を示した。

対照群の年齢・性調整血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度は3.94～26.75（単位は脂肪1gあたり1兆分の1g、以下pg/g脂肪と略す）の範囲で、幾何平均値は11.60pg/g脂肪であった。血液中濃度の値は対数変換すると正規分布に近似できた。観察値の対数変換値の分布と正規分布からのずれは統計学的に有意でなかった（ $P=0.08$ ）。血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の対数変換値の年齢・性調整値の平均と標準偏差は、それぞれ、1.064（95%信頼区間=1.035-1.093）、0.181（95%信頼区間=0.163-0.204）であった。未認定者の年齢・性調整血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の分布も右に裾をひいており、最小値は対照群の場合とほぼ同じ4.71pg/g脂肪であったが、最大値は対照群の8.5倍で、227.3pg/g脂肪であった。

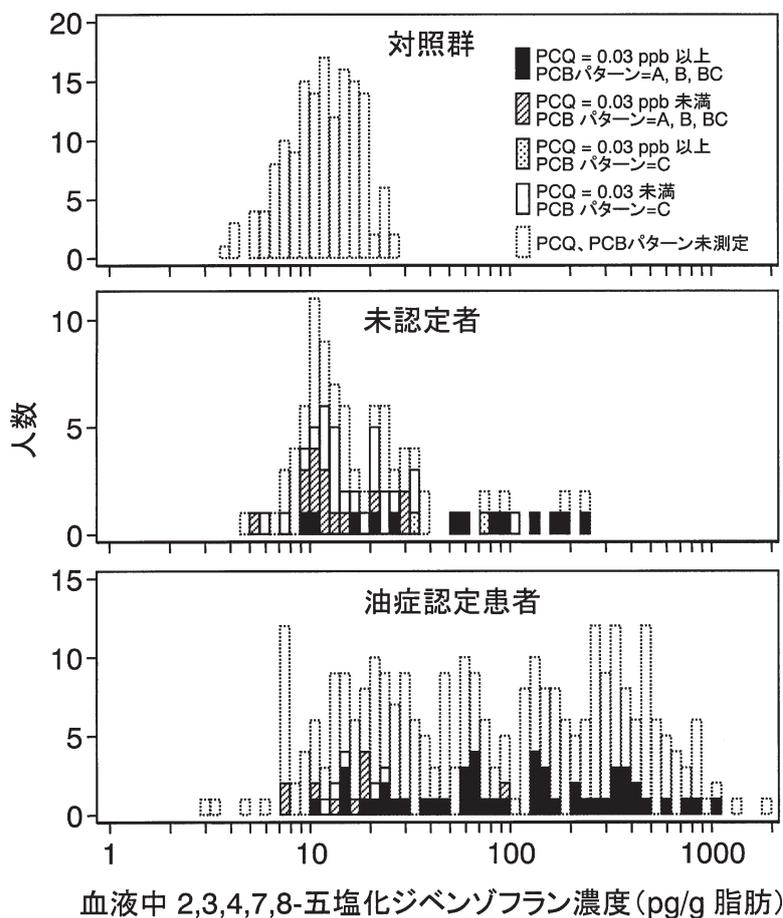


図3 血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度 (pg/g脂肪) の分布を対象者群別に示した。対照群と未認定者の値は年齢・性調整値である。乗法モデルにより、年齢は油症認定患者群の平均年齢に、性は男性に調整した。油症認定患者群の測定値は年齢・性で調整していない。2001, 2002年の両年度で測定された場合、2回の値の平均値を示した。

### (6) 血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度と血液中ポリ塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターン

表4に油症認定患者と未認定者の血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度と血液中ポリ塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンを示す。同一人物で2001, 2002年の両年度とも測定された場合、血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度は高い方を、塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンは油症患者に典型的な方のタイプを採用した。高い血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度(0.03 ppb以上)と塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンのタイプA, B, BCは油症の原因となった汚染米糠油への曝露を示すと見なされている。血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度と塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンの両方ともが測定されたのは油症認定患者63人と未認定者52人であった。これらの受診者の中で、油症患者49人(78%)と未認定者13人(25%)が血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度0.03 ppb以上、かつ、塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンのタイプA, B, BCを示した。図3に血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度、及び、塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンの分布を血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度との関連で示した。

### 3. 新しい油症診断基準の提案

異なったアプローチによる3種類の油症診断基準案を以下に提案する。第1のアプローチは診断対象者の血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度を一般人口の血液中濃度と比較するものである。第2のアプローチは回帰モデルを使うもので、一般人口における血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の回帰分析での予測限界を利用する。第3のアプローチはロジスティック回帰分析を用い、油症である確率を推定する。この方法では診断対象者を血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度、年齢、性により診断できることになる。血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度を用いたのは、今回調べたダイオキシン類のうち、1)油症患者と一般人口の間で血液中濃度に最も大きな差が見られた事、2)2年間の測定値についてバイアスが最小で級内相関係数が最大であった、すなわち、再現性が最も高かった事による。提案された診断基準案を、ポリ塩化クアターフェニール濃度と血液中ポリ塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンから油症原因物質への曝露の高い可能性が示された13人の未認定者(表4参照)に適用し、診断を試みた。

#### (1) 診断基準案1

診断対象者の対数変換した年齢・性調整血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が対照群の上側99パーセントイル、すなわち、平均+2.33×標準偏差より高い場合に油症と判定する。この診断基準案は、

表4 2001, 2002年度全国油症追跡検診受診者における血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度とポリ塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターン

PCQ濃度 (ppb)	油症認定患者						未認定者					
	PCBパターンのタイプ <sup>a</sup>					計	PCBパターンのタイプ <sup>a</sup>					計
	A	B	BC	C	NA		A	B	BC	C	NA	
0.1以上	26 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	0	4	52	3 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	1	2	11
0.03~0.09	0 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0	0	1	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	1	1	7
0.03未満	0	9	0	5	2	16	2	11	1	23	10	47
NA	82	66	9	47	24	228	9	1	0	2	17	29
計	108	91	16	52	30	297	16	20	1	27	30	94

NA: 測定せず, PCB: ポリ塩化ビフェニール, PCQ: ポリ塩化クアターフェニール, ppb: 10億分の1

<sup>a</sup>血液中PCBのガスクロマトグラムパターン: タイプA, 油症に典型的; タイプB, タイプAとタイプCの中間; タイプBC, タイプAとタイプCの中間であるが一般人と判別し難い; タイプC, 一般人と同様。

<sup>b</sup>油症原因物質の汚染米糠油に曝露された可能性が高い。

年齢・性調整血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が 30.6 pg / g 脂肪より高い場合に相当する。この診断基準案で 13 人の未認定者のうち、8 人が油症患者と判定された。これら 8 人は 57 ~ 81 歳で、年齢・性未調整血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度は 58 ~ 237 pg / g 脂肪の範囲にあった。

## (2) 診断基準案 2

血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が、年齢・性を説明変数とした乗法モデルによる回帰曲線の上方片側 99 % 予測限界より高い場合に油症患者と判定する。この診断基準案で案 1 と同じ 8 人が油症患者と判定された。

## (3) 診断基準案 3

以下のロジスティックモデルを油症患者である確率の推定に用いた。

$$\log \left( \frac{p}{1-p} \right) = \alpha + \beta_1 \log_{10} \left[ 2,3,4,7,8\text{-PeCDF level (pg / g lipid)} \right] + \beta_2 \log_{10} (\text{age}) + \beta_3 \text{sex}$$

“ $p$ ” は油症患者である確率，“age” は年齢，“PeCDF level” は五塩化ジベンゾフラン濃度を示し，“sex” は性を示すダミー変数で、男性を 0、女性を 1 としている。回帰係数  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  は、それぞれ -15.07 (95 % 信頼区間 = -19.70 ~ -10.44), 4.70 (95 % 信頼区間 = 3.18 ~ 6.22), 6.62 (95 % 信頼区間 = 3.69 ~ 9.55), -0.78 (95 % 信頼区間 = -1.48 ~ -0.07) と推定された。油症患者である確率 ( $p$ ) が 0.99 以上と推定された場合に診断対象者は油症患者と判定された。この診断基準案で 8 人が油症患者と判定された。この結果は診断基準案 1, 2 の結果と同一であった。

## 4. 考 察

本研究により、油症患者と一般人口から無作為抽出された対照群の間に、血液中ダイオキシン濃度分布の顕著な差が示された。測定された 21 の異性体のうち、血液中濃度に最も大きな差が見られたのは 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランであった。油症患者の血液中濃度の幾何平均値は対照群の 11 倍であった。血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度と年齢・性の間に統計学的に有意な関連があった。この異性体の血液中濃度は年齢とともに増加し、女性が男性より高い傾向があった。

油症患者が汚染された米糠油を摂取して 30 年以上経過している事を考慮すると、油症患者と対照群間で血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度に大きな差が見られたのは驚くべき事である。この原因は主に 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランが体内で分解し難い性質による。油症患者における 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランの半減期は 7.7 年と推定されている<sup>12)</sup>。この血液中 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の違いを利用して、著者らは油症患者を識別する 3 種類の診断基準案を提案した。この異性体濃度を基準に用いるのは生物学的な観点からも適切であろう。なぜなら 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランはポリ塩化ジベンゾフランの主要な成分であるが、ポリ塩化ジベンゾフランは油症の毒性の大部分を占めると推定されているからである<sup>3)4)</sup>。

提案された 3 診断基準案を、血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度が高く油症患者に典型的な塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンを示す未認定者に適用したところ、同一の 8 人が油症と判定された。3 診断基準案のうち、診断基準案 1 は概念が最も単純で解釈が容易であった。判定結果は他の基準による結果と同一であった。従って、実用的な観点から考えると、診断基準案 1 が最も優れていると結論づけられるかもしれない。

本研究の限界の一つは油症追跡検診受診者群と対照群間の測定値が比較可能かという点である。血液中ダイオキシン濃度は、受診者群は福岡県保健環境研究所で、対照群は ERGO 研究所(ドイツ, ハンブルグ)で測定された。両研究所はともにダイオキシン類の測定で高い評価を得ている。両研究所で採用された方法による測定値は定量的に確かめられている<sup>4)5)7)13)</sup>。もしも両測定機関の間で 2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン測定値に違いがあったとしても、それは比較の際に問題にならないほど小さかったであろう。

2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度を比較する上で、油症追跡検診受診者と対照群間の特性の違いが問題となる可能性がある。両群の特性が異なる事で2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が影響されると、対照群で決定した限界値は検診受診者に適用できないかもしれない。両群は居住地が異なっていた。すなわち、対照群は全員福岡県に居住していたが、検診受診者の60%は他の県に住んでいた。現在まで、日本人集団で血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の地域的な違いについて詳細な報告はないが、日本国内の地域間で総ダイオキシン類の血液中濃度に差がある事が示されている<sup>14)</sup>ので、2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランの血液中濃度も地域により異なる可能性がある。しかしながら、もし2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度に地域的な差が存在しても、それは一般的でないかもしれない。スペインと台湾北部の一般人口で2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の地域的な違いを調査した研究があるが、地域差は示されなかった<sup>15)16)</sup>。1国内で同異性体濃度の地域差が観察されたものの、その差は地域間の住民の年齢差によるとされた例もある<sup>17)</sup>。本研究で2群間の居住地域の違いが、年齢調整された血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度に差をもたらしたかは不明である。

以上に加え、検診受診者群と対照群の年齢分布の違いにより血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の比較が困難になっている可能性がある。対照群は60歳未満であったが、受診者群の43%は60歳以上であった。この異性体の血液中濃度が年齢に依存していることは、既に従来の研究で示されている<sup>17)~19)</sup>。この研究では乗法モデルに基づく多重回帰により血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の年齢調整値と予測限界が推定された。従って、対照群で求めた回帰曲線を年齢60歳以上まで外挿せねばならず、年齢調整と予測限界の推定の両方で誤差が増加した。しかし、外挿による誤差があっても、限界値が99パーセントイルと高かったため、診断基準案1で偽陽性となった者（油症患者でない者が誤って油症と判定された者）は最小限であったと期待される。敏感度と特異度間のトレードオフにより、特異度を高くすると敏感度が低下し、潜在的な油症患者のうち正しく油症患者と判定される者が減少する可能性がある。本研究では、高い限界値を暫定的に設定した。これは、日本人口において2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度についても、その年齢との関連についてもデータが僅かであったからである。一旦油症患者と認定すると取り消すことが極めて困難である事を考慮すると、特異度を優先した事は受け入れられるであろう。

注意すべきは、ある個人が本論文で提案された診断基準案により油症患者と診断されなかったとしても、その判定結果を根拠にしてその個人の油症を否定する証明は不可能である、という点である。血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の半減期は個人間で大きな違いがあるかもしれない。油症が起こった時点で血液中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が高かったとしても、その個人の減少率が高ければ、現在の血液中濃度は他の油症患者に比べて低い濃度に減少している事もあり得る。また、個人間で2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランへの生理的感受性に違いがあるかもしれない。現在2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度が低くても、他の者より高い感受性を持つ者は油症がより重篤となる可能性がある。

診断基準の精度を向上させるためには、対照群の血液中ダイオキシン濃度のデータを増やすことが必要である。理想的には対照群は一般人口から無作為に選択し、年齢、性、居住地の分布が油症患者と近似しているべきである。判定の統計学的方法にも改善の余地があり、血液中ダイオキシン濃度に影響している可能性のある他の要因を診断基準に加えれば判定の精度が向上するかもしれない。2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度に加え、他の異性体濃度を組み合わせる事でも精度の向上が見込まれる。これらの努力により、特異度を犠牲にすることなく診断基準の敏感度を増加させる事が期待される。

## おわりに

「未認定患者」という言葉が無造作に使われる事がある。しかし、一人の未認定者を「患者」と科学的に証明するのは容易でない。通常の食中毒と異なり、油症の疫学的研究には本質的な難しさがある。全てのカネミ・ライスオイルに油症を引き起こす量の原因物質が含まれていたわけではなく、ごく短期間に製造された限られた量の汚染米糠油だけが油症の原因となったと指摘されている。しかし、ある個人が油症に罹患するほど「原因物質を含んだカネミ・ライスオイル」に曝露したかを確かめるのは困難である。1970年

代には血液中ポリ塩化クアターフェニール濃度や血中塩化ビフェニールのガスクロマトグラムパターンで原因物質への曝露推定が可能となったものの、主要な原因物質であるダイオキシン類の血中濃度が少量の血液で定量可能となったのはごく近年である。油症の症状は多様で、病状は複雑である。そもそも油症は人類史上稀なダイオキシン類を中心とした有機塩素中毒であり、どのような症状がどれだけ長期間続くか既存の知見は皆無と言って良い。このような背景のもと、発生から30年以上の時間を経た現在、油症の診断は容易でない。患者体内に残存するダイオキシン類は次第に希釈され、油症患者と健常人の間で濃度の差が減少していることは以前から指摘されてきた。外見から判別できる特徴的な症状は目立たなくなり、現在観察される症状は、油症の症状と特定し難い慢性症状も多い。

今回提案された診断基準は、ダイオキシン類の体内濃度が少量の血液で定量可能となった事から、「これまでの基準で油症と診断されなかった人達の中に、血中ダイオキシン類濃度によって油症と診断できる人を見つけ出せないか」という期待から生まれた。この診断方法は、「健常人と比較して異常に高い2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度を示す人は健常人である可能性が低く、油症患者と分類できる」という仮説に基づいている。しかし、健常人程度の血中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の油症認定患者が存在する事から分かるように、その濃度が健常人と同等の人達についてこの基準は何も言えない。油症と診断する事は可能でも、油症でないと診断する事は原理上不可能な基準である。

2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフランが油症を引き起こす主要な物質であると繰り返し指摘されてきた。本研究でも、認定患者は健常人に比べ、その血中濃度の平均値が現在でも高い事が確かめられた。未認定者も血中2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン濃度の平均値が健常人より高く、未認定者が全体として健常人と異なった集団であると推測できる。すなわち、未認定者の中に油症患者が存在する可能性が示唆された。しかし、集団として異なっている事が明白でも、その集団中のある特定の個人を油症患者と判定できるかは別問題である。

今回、実用的な観点から採用された診断基準案は年齢・性調整2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン血中濃度を判定基準に用いた。その基準をどこに置くかが判定の鍵を握るが、その決定は困難を極めた。2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン血中濃度は健常人でも大きなばらつきがあった。しかもそれは年齢や性と関連していた。正確な判定のためには健常人のダイオキシン類血中濃度のばらつき、その年齢、性との関連が高い精度で分かっている必要がある。しかし、利用できる健常人のダイオキシン類濃度のデータは限られていた。未認定患者の40%以上は60歳を越えていたが、対照群は全員60歳以下であった。そこで、対照群で得られた年齢・性の関連を61歳以上に外挿する必要が生じた。これは統計学的には避けるべき手段であった。

外挿による統計学的誤差を考慮し、当初は非常に慎重に判定の基準値を設定した。しかし、その当初の案に対し、「慎重過ぎて救済されるべき患者を見逃すより、少しでも救済する方向で基準を決めるべきだ」との御意見をいただいた。統計学的な面ばかりを考慮した事に気づき、判定基準をどこまで緩和できるか検討を始めた。しかし、基準値を下げると油症患者群に分類される未認定者が幾何級数的に増加するとともに、彼らと健常者との区別が曖昧になってしまった。ある個人の血中濃度の値がランダムなばらつきによるのか、ばらつき以上の高値なのか客観的に示せなくなるのである。加えて、年齢・性調整値による基準値を下げると、統計学的に調整しない血中濃度が同じで油症と判定される個人と判定されない個人が混在する事例が多数生じた。今回採用した99パーセントイルという値はそれらの妥協点であった。

今回の判定基準を考えるにあたって、ここに示された以外にも多くの方法を試みた。いずれも統計学的な観点から判別できたように見えたが、その医学的意義付けが困難であったため判定基準に採用できなかった。異性体の組合せを使えないか、様々な症状の組合せで油症を捉えられないか、など様々なアプローチが考えられるが、どのようなアプローチを採用しても、集団として違いを認識する事と個人に判定を下す基準を見つける事は別問題である。後者は前者に比べ格段に困難である。健常人のダイオキシン類血中濃度や諸症状のデータを増やす事も含め、油症判定の研究を継続する必要がある。

## 謝 辞

福岡県居住者の血液中ダイオキシン濃度のデータを油症研究班に提供していただいた九州大学大学院予防医学分野の古野純典教授に感謝します。倉恒匡徳九州大学名誉教授には論文草稿に極めて貴重なコメントをいただきました。この研究は厚生労働省科学研究費補助金による。

## 文 献

- 1] Yoshimura T: Yusho in Japan. *Ind Health*. 41: 139-148, 2003.
- 2] Furue M, Uenotsuchi T and Urabe K: Overview of Yusho. *J. Dermatol Sci*. 37 Suppl. 1 (in press)
- 3) Masuda Y: Approach to risk assessment of chlorinated dioxins from Yusho PCB poisoning. *Chemosphere*. 32: 583-594, 1996.
- 4) Masuda Y, Schecter A and Päpke O: Concentrations of PCBs, PCDFs and PCDDs in the blood of Yusho patients and their toxic equivalent contribution. *Chemosphere*. 37: 1773-1780, 1998.
- 5) Iida T and Todaka T: Measurement of dioxins in human blood: improvement of analytical method. *Ind Health*. 41: 197-204, 2003.
- 6] Hirota Y, Kataoka K and Hirohata T: Annual health examination of Yusho patients, In Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M, Masuda Y (eds): *Yusho - A Human Disaster Caused by PCBs and Related Compounds*. pp. 249-266, Kyushu University Press Fukuoka, 1996. (訳: 廣田良夫, 片岡恭一郎, 廣畑富雄. 油症患者の追跡検診. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆(編). 油症研究: 30年の歩み. 241-256. (財)九州大学出版会. 福岡. 2000.)
- 7] Masuda Y, Haraguchi K, Kono S, Tsuji H and Päpke O: Concentrations of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents. *Chemosphere*. 58: 329-344, 2005.
- 8] Armitage P and Berry G: *Statistical Methods in Medical Research* 3rd ed. Blackwell Science, Inc. Cambridge, 1994.
- 9) Landis JR and Koch GG: The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 33: 159-174, 1977.
- 10) Fleiss JI and Cohen J: The equivalence of weighted Kappa and the intraclass correlation coefficient as measures of reliability. *Educ Psychol Meas*. 33: 613-619, 1973.
- 11) Päpke O: PCDD / PCDF: human background data for Germany, a 10-year experience. *Environ Health Perspect*. 106 Suppl 2: 723-731, 1998.
- 12] Masuda Y: Fate of PCDF / PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years. *Chemosphere*. 43: 925-930, 2001.
- 13) Päpke O, Ball M, Lis Z and Scheunert K: PCDD / PCDF in whole blood samples of unexposed persons. *Chemosphere*. 19: 941-948, 1989.
- 14) Otani K, Ohtaki M and Watanabe S: A random effects nonlinear regression model for analysis of environmental contamination data. *Environmetrics*. 14: 149-157, 2003.
- 15) Schuhmacher M, Domingo JL, Llobet JM, Lindstrom G and Wingfors H: Dioxin and dibenzofuran concentrations in blood of a general population from Tarragona, Spain. *Chemosphere*. 38: 1123-1133, 1999.
- 16) Chen HL, Su HJ, Liao PC, Chen CH and Lee CC: Serum PCDD / F concentration distribution in residents living in the vicinity of an incinerator and its association with predicted ambient dioxin exposure. *Chemosphere*. 54: 1421-1429, 2004.
- 17) LeBel GL, Williams DT, Benoit FM and Goddard M: Polychlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans in human adipose tissue samples from five Ontario municipalities. *Chemosphere*. 21: 1465-1475, 1990.
- 18) Wittsiepe J, Schrey P, Ewers U, Wilhelm M and Selenka F: Decrease of PCDD / F levels in human blood - trend analysis for the German population, 1991-1996. *Environ Res*. 83: 46-53, 2000.
- 19] Wittsiepe J, Schrey P, Ewers U, Selenka F and Wilhelm M: Decrease of PCDD / F levels in human blood from Germany over the past ten years (1989-1998). *Chemosphere*. 40: 1103-1109, 2000.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示しているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## 油症患者の口腔内粘膜と歯牙所見

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯内疾患制御学研究分野 (主任: 赤峰昭文教授)

橋 口 勇, 赤 峰 昭 文

### はじめに

油症発症後約 35 年が経過しようとしている。油症発症後早期においては、体調不良、食欲不振や眼脂過多等の所見に加えて、痤瘡様皮疹や色素沈着が顕著に認められた<sup>1)</sup>。歯科領域においても、歯根形態異常や永久歯萌出遅延が観察されている<sup>2)</sup>。時間の経過とともに、口腔内色素沈着の色調は徐々に薄くなってきているが、依然として被検者の約半数に色素沈着が認められている<sup>3)</sup>。本論文では、口腔内疾患、特に色素沈着発現の経年的推移ならびに PCB 等とこれら疾患との関連について述べてみたい。

### 1. 方 法

九州大学歯学部付属病院あるいは福岡県油症一斉検診時に歯科を受診した油症患者を対象に、問診後表 1 に示す項目について視診ならびにポケット診査やエックス線診査を行った。口腔内色素沈着は部位別に歯肉色素沈着、頬粘膜色素沈着、口蓋色素沈着や口唇色素沈着の 4 種に分類した。色素沈着の程度は色調によって、- (色素沈着なし)、± (非常に軽微)、+ (軽微)、++ (中等度) および+++ (重度) の 5 段階に分類した(図 1~4)。パントモグラフを用いて、歯槽骨の吸収程度、歯根の形態異常や永久歯歯胚の欠如について検索した。

### 2. 結 果

口腔内色素沈着は油症患者の口腔内で最も高頻度に認められる所見である。油症発症初期においては、油症患者の口腔内色素沈着の発現率は健常者の約 7 倍と高い値を示していた(表 2)。色素沈着の色調は褐色や黒褐色を呈しており、また、瀰漫性、帯状、斑点状や嶋嶼状等と多様な形態を示していた(図 1~4)。しかし、油症患者に特有な様相は見つけることはできなかった。また、男女間に顕著な差は観察されなかった。口腔内色素沈着の認められる部位は、歯肉が最も多く、ついで口唇や頬粘膜であったが、舌には観察されなかった(図 5)。口腔内色素沈着の発現率の推移を見ると、歯肉色素沈着は 1972 年から 1982 年にかけては 60%以上の油症患者に観察されたが、その後経年的に減少し 1993 年には 20%以下であった。しかし、近年では発現率が高い値を示すようになってきている。一方、口唇や頬粘膜の色素沈着は 1982 年から発現率が低下しており、2003 年においては発現率は 5%以下となっていた。色調をみると、油症発症初期においては+++や++の色素沈着を呈する患者が多かったが、時間が経過するにつれて徐々に色調は薄くなっており±や+の色素沈着が多く見られるようになってきている。血中 PCB パターンと口腔内色素沈着の発現率についてみると(表 3)、1973 年においては A パターンを示す患者における発現率が最も高い値を示しており、逆に健常者と同じ C パターンを示す患者では発現率が低かった。1982 年や 2002 年の検診では、血中 PCB パターンと口腔内色素沈着との間に関連は認められなかった。図 6 は年代別の色素沈着発現率と平均血中 PCDF 濃度の関連を示したものである。色素沈着の発現率は比較的若年者で高い傾向を示しているのに対し、血中 PCDF 濃度は 60 代の患者で最も高い値を示した。

口腔内色素沈着以外の疾患としては、若年者における永久歯の萌出遅延(表 4)、永久歯歯胚の欠如(表 5)や歯根湾曲(図 7・表 6)が挙げられる。一方、咬合異常、歯牙の着色や歯牙形成不全はほとんどみられない。1969 年から 1976 年の一斉検診を受診した児童油症患者のうち、永久歯の萌出遅延は 51 人中 9 人(17.6%)、永久歯歯胚欠如は 43 人中 4 人(9.3%)および歯根湾曲は 47 人中 36 人(76.6%)に認められた。しかし、近年の一斉検診受診児童にはほとんど認められない。



図1 瀰漫性の非常に軽微な色素沈着が下顎歯肉にみられる。



図2 軽微な带状を呈する色素沈着が下顎歯肉にみられる。



図3 带状を呈する中等度の色素沈着が上顎歯肉に、嶋嶼状を呈する中等度の色素沈着が下顎歯肉にみられる。



図4 带状を呈する重度の色素沈着が上下顎歯肉にみられる。



図7 油症患者より抜歯した下顎右側第二大臼歯の側方面観。著しい歯根の湾曲が認められる。

表1 口腔内診査項目

歯肉炎 辺縁性歯周炎 歯牙萌出異常 歯牙着色 歯牙形成不全 咬合異常 色素沈着
---

表2 油症発症初期における年代別にみた口腔内色素沈着発現率

年代		0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61≤	計
油症患者	+	10	5	12	10	4	2	1	44
	-	6	5	5	5	2	3	0	26
	%	62.5	50.0	70.6	66.7	66.7	40.0	100.0	62.9
健常者	+	2	2	3	4	4	3	2	20
	-	26	26	40	42	26	20	14	194
	%	7.1	7.1	7.0	8.7	13.3	13.0	12.5	9.3

+: 口腔内色素沈着を有する油症患者あるいは健常者の人数, -: 口腔内色素沈着の見られない油症患者あるいは健常者の人数, %: 油症患者あるいは健常者における年代別検診者総数に占める口腔内色素沈着を有する検診者の百分率. (青野, 岡田. 油症患者の口腔所見について. 福岡医誌, 60巻, 468-470, 1969より転載)

表3 油症患者のPCBパターン別にみた口腔内色素沈着発現率の変化

PCBパターン*	1973			1982			2002		
	+	-	%	+	-	%	+	-	%
A	23	9	71.9	30	9	76.9	24	14	63.2
B	15	7	68.2	10	4	71.4	16	14	53.3
BC	7	8	46.7	1	0	100.0	1	0	100.0
C	20	14	58.8	19	5	79.2	28	15	65.1
計	65	38	63.1	60	18	76.9	69	43	61.6

\*: 血中PCBのガスクロマトグラフによるパターン. A: 油症患者に特有なパターン. B: AパターンとCパターンの中間. BC: パターンBとパターンCと鑑別困難なパターン. C: 一般人の血中PCBパターン. +: 色素沈着を有する油症患者数. -: 色素沈着の認められない油症患者数. %: 各パターン別の総被検者数に占める色素沈着を有する油症患者数の百分率.

表4 油症発症時年齢と歯牙萌出遅延

発症時年齢	+	-	%
油症新生児	2	4	33.3
0-2歳	0	10	0
3-5歳	3	10	23.1
6-8歳	3	11	21.4
9-11歳	1	4	20.0
12-14歳	0	3	0
計	9	42	17.6

+: 歯牙萌出遅延が認められた被検者数. -: 歯牙萌出遅延が認められなかった被検者数. %: 各年齢の被検者総数に占める歯牙萌出遅延が認められた被検者数の百分率. (福山 宏 他, 油症患者における口腔病変の推移. 福岡医誌 70巻 P187-198, 1979より転載)

表5 油症発症時年齢と永久歯胚欠如

発症時年齢	+	-	%
油症新生児	1	5	16.7
0-2歳	0	10	0
3-5歳	1	12	7.7
6-8歳	2	12	14.3
計	4	39	9.3

+: 永久歯胚の欠如が認められた被検者数. -: 永久歯胚の欠如は認められなかった被検者数. %: 各年齢の被検者総数に占める永久歯胚欠如が認められた被検者数の百分率. (福山 宏 他, 油症患者における口腔病変の推移. 福岡医誌 70巻 P187-198, 1979より転載)

表 6 油症発症時年齢と永久歯根湾曲

発症時年齢	+	-	%
油症新生児	0	4	0
0 - 2 歳	6	3	66.7
3 - 5 歳	9	3	75.0
6 - 8 歳	13	1	92.9
9 - 11 歳	5	0	100.0
12 - 14 歳	3	0	100.0
計	36	11	76.6

+: 永久歯根湾曲が認められた被検者数. -: 永久歯根湾曲は認められなかった被検者数. %: 各年齢の被検者総数に占める永久歯根湾曲が認められた被検者数の百分率. (福山 宏 他, 油症患者における口腔病変の推移. 福岡医誌, 70巻, P187-198, 1979より転載)

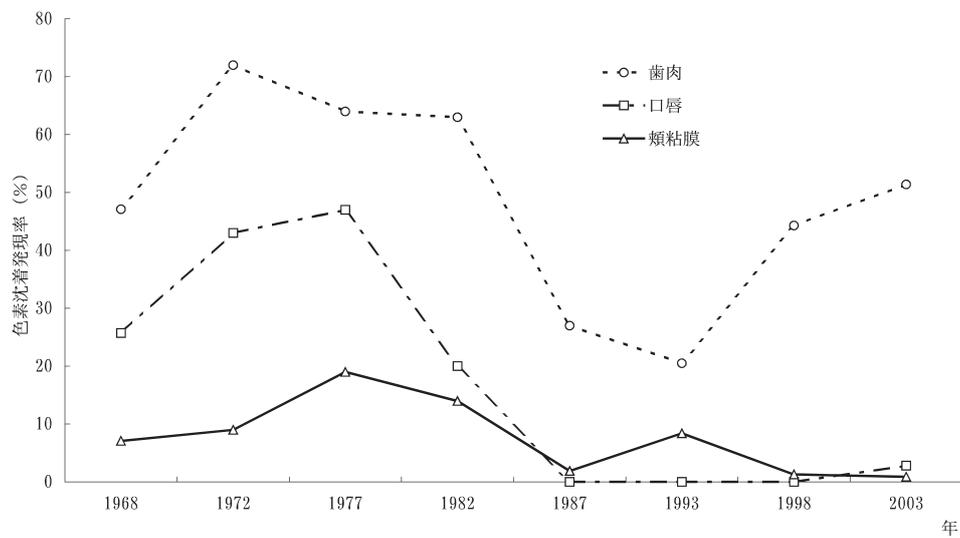


図 5 部位別の色素沈着発現率の経年的変化

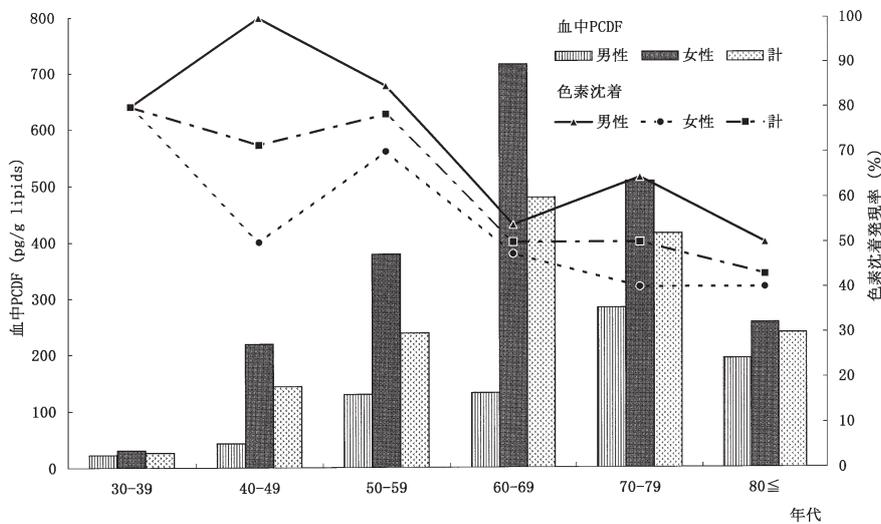


図 6 年代別にみた平均血中 PCDF 濃度と色素沈着発現率の変化

### 3. 考 察

油症患者の口腔内疾患としては、口腔内色素沈着、歯肉の過角化や錯角化、歯根形態異常、永久歯萌出遅延や歯胚の欠如等が生じることが知られている<sup>2)4)</sup>。なかでも、最も顕著に認められる疾患として口腔内色素沈着が挙げられる。発症早期の油症患者における口腔内色素沈着の発現率は、健常者の約7倍と非常に高い値を示した<sup>5)</sup>。動物実験では口腔内色素沈着は生じないことから、口腔内色素沈着が生じる機序については不明である<sup>6)7)</sup>。油症患者歯肉色素沈着部の生検を行い組織学的に観察したところ、基底細胞層から上基底細胞層にかけて多数のメラノゾームやメラノゾーム複合体が認められ<sup>8)</sup>、また、油症患者の眼瞼結膜の組織学的観察でも同様の所見が得られている<sup>9)</sup>。MSH (melanocyte stimulating hormone) や ACTH (adrenocorticotrophic hormone) は下垂体で分泌され、両者ともメラノサイトを活性化することが知られている<sup>10)</sup>。PCB は MSH や ACTH の分泌を抑制すると考えられている副腎皮質ホルモンの産生を抑えることが知られている<sup>11)</sup> ことから、メラノサイトに間接的に作用して、その結果メラノゾームの過剰産生が生じている可能性が考えられる。

油症発症早期では、油症患者に特有な血中 PCB パターンを呈する患者の色素沈着発現率が高く、健常者に見られる血中 PCB パターンを示す患者の色素沈着発現率は低かった。一方、油症発症後 14 年あるいは 34 年経過した時点では、いずれの血中 PCB パターンを呈する患者においても同様の色素沈着発現率を示していた。時間の経過と共に色素沈着発現率に差が認められなくなった原因として、個々の血中 PCB パターンはほとんど変化が無いのに対し血中 PCB 濃度は時間の経過と共に低下していること<sup>12)</sup> が考えられる。事実、眼科や皮膚科領域でも血中 PCB 濃度の低下と共に眼瞼結膜や皮膚の色素沈着発現率が低下していることが報告されている<sup>13)14)</sup>。しかし、1992 年度油症一斉検診から色素沈着発現率が上昇してきたことは非常に興味深い。油症発症早期において、審美的理由で色素沈着部の歯肉搔爬術を施した 2 名の油症患者両者とも、1 年以内に術前とほぼ同様の色素沈着が再発したことが報告されている<sup>2)</sup>。また、口腔粘膜内の PCB や PCQ 濃度は血中に比べてそれぞれ約 36 倍、91 倍と非常に高い値を示すことも報告されている<sup>15)</sup>。口腔粘膜内に高濃度に蓄積された PCB 等によって色素沈着の再発が生じ、その結果色素沈着の発現率が上昇した可能性が考えられる。あるいは、母集団の数の変化、すなわち検診受診者数の減少に起因している可能性も考えられる。油症に特有の臨床症状が消失した患者の受診率が低下した結果、見掛け上色素沈着発現率が高くなった可能性も考えられる。

近年、油症の原因物質として PCDF が注目されるようになってきた<sup>16)</sup>。2002 年度の一斉検診においては、年代別に見た色素沈着の発現率と平均血中 PCDF 濃度の間には相関はみられなかった。しかし、three-way ANOVA による解析では、血中 PCDF 濃度と上顎歯肉における色素沈着発現率との間に相関があることが報告されている<sup>17)</sup> ことから、PCDF も色素沈着発現における重要な因子の一つと考えられる。しかし、下顎歯肉の色素沈着との間に有意な差は無かったことから、更なる検討が必要である。

咬合異常、歯牙着色や歯牙形成不全はほとんどみられなかったが、歯牙萌出遅延や歯根形態異常の出現頻度は、健常者に比べて高い傾向を示した。歯胚の欠如や歯牙萌出遅延の原因として、それぞれ栄養失調や歯胚の位置異常が挙げられる。加えて、歯根は生理学的に遠心方向に曲がることから、健常者でも歯根湾曲がみられることは稀ではない。これらのことから、歯根形態異常や歯牙萌出異常に必ずしも PCB の関与が必要なわけではない。しかし、福山らは血中 PCB 濃度の低い児童に比べて血中 PCB 濃度の高い児童でより多くの異常が認められることを報告している<sup>2)</sup> ことから、油症患者児童の歯牙萌出異常や歯根形態異常に PCB が関与している可能性が考えられる。実験的に PCB や PCDF 中毒を起こしたサルにおいて、上皮の角化異常が生じるが、一方結合組織には変化がないことが報告されている<sup>6)</sup>。同様に、実験的に PCB や PCDF 中毒を起こしたラットを用いた組織学的観察で、分泌期のエナメル芽細胞間に嚢胞様構造物が観察されるが、セメント芽細胞や象牙芽細胞には異常はみられなかった<sup>7)</sup>。これらの所見から、PCB や PCDF は外胚葉由来の細胞に対して毒性を示すが、神経堤由来の細胞には影響を与えないことが示唆された。外胚葉由来の歯堤やヘルトヴィッヒの上皮鞘は歯胚や歯根の発育に重要や役目を担ってい

ることが知られている<sup>18)</sup>ことから、PCB や PCDF は外胚葉由来の細胞に直接あるいは間接的に作用して、歯牙の萌出異常や歯根形態異常に関与していると考えられる。加えて、油症児童ではビタミン D やカルシウムの代謝異常が生じ、その結果、骨の石灰化や発育が抑制されることが明らかになっている<sup>19)20)</sup>。また、PCB 投与ラットにおいては、腎臓ではカルシウム濃度が上昇するが骨では低下することが報告されている<sup>21)</sup>。PCB によって惹起された歯槽骨の石灰化異常が歯牙の形態異常に関与している可能性も考えられる。

### 参 考 文 献

- 1) Okumura M: Medical aspects, In Kuratune M, Yoshimura H et al. (eds): Yusho A Human Disaster Caused by PCBs and Related Compounds. pp. 159-181, Kyushu University Press Fukuoka, 1996.
- 2) 福山 宏, 阿南ゆみ子, 赤峰昭文, 青野正男: 油症患者における口腔病変の推移, 福岡医誌 70: 187-198, 1979.
- 3) Hashiguchi I, Yoshimine Y, Gotou Y, Maeda H, Wada N and Akamine A: An epidemiologic examination on the prevalence of periodontal diseases and oral pigmentation in Yusho patients in 2002. Fukuoka Acta Med. 94: 81-86, 2003.
- 4) 福山 宏, 日高雄一, 佐野 茂, 青野正男: 油症患者の血中 PCB と口腔内色素沈着の関係について, 福岡医誌 68: 128-132, 1977.
- 5) 青野正男, 岡田 宏: 油症患者の口腔所見について, 福岡医誌 60: 468-470, 1969.
- 6) 橋口 勇, 赤峰昭文, 中野嗣久, 青野正男, 福山 宏: 実験的 PCB 中毒サルにおける歯肉上皮の微細構造について, 福岡医誌 74: 246-254, 1983.
- 7) 橋口 勇, 赤峰昭文, 原 宜興, 前田勝正, 阿南 壽, 阿部隆夫, 青野正男, 福山 宏: PCB 投与ラットにおける歯牙硬組織形成への影響について, 福岡医誌 76: 221-228, 1985.
- 8) 橋口 勇, 赤峰昭文, 宮武祥子, 原 宜興, 前田勝正, 鳥谷芳和, 青野正男, 福山 宏, 奥村英彦: 油症患者および PCB 中毒サル歯肉の組織学的検索, 福岡医誌 78: 259-265, 1987.
- 9) 生井 浩, 杉 健児, 宇賀茂三: 油症患者の眼症状および油症患者結膜の電子顕微鏡組織学的所見, 福岡医誌 60: 432-439, 1969.
- 10) Bleehens SS and Ebling FJ: Disorders of skin colour, In Rook A, Wilkinson DS et al. (eds): Textbook of Dermatology. 3rd ed. Vol. 2, pp. 1377-1431, Blackwell Scientific Publications Oxford, 1979.
- 11) Inao S: Adrenocortical insufficiency induced in rats by prolonged feeding of PCB. Kumamoto Med. J. 23: 27, 1970.
- 12) Nakayama J, Urabe A and Hori Y: The clinical course of dermatological symptoms in Yusho patients over the past 25 years, In Kuratune M, Yoshimura H, et al. (eds): Yusho A Human Disaster Caused by PCBs and Related Compounds. pp. 182-196, Kyushu University Press Fukuoka, 1996.
- 13) 本房昭三, 堀 嘉昭, 利谷昭治, 旭 正一: 1989, 1990 年度の福岡県油症年次検診における皮膚症状, 福岡医誌 82: 345-350, 1991.
- 14) 向野利彦, 大西克尚: 油症患者の眼症状 (第 7 報), 福岡医誌 82: 342-344, 1991.
- 15) 奥村英彦, 益田宣弘, 赤峰昭文, 青野正男: 油症患者の頬粘膜における PCB, PCQ 濃度, PCB パターンおよび CB%比について, 福岡医誌 78: 358-364, 1987.
- 16) Masuda Y: Causal agents in Yusho, In Kuratune M, Yoshimura H et al. (eds): Yusho A Human Disaster Caused by PCBs and Related Compounds. pp. 49-80, Kyushu University Press Fukuoka, 1996.
- 17) Kanagawa Y and Imamura T: A study on the relationship with clinical symptoms or others in Kanemi Yusho patients (78 in 2001, 279 in 2002) in whom PCDFs levels were measured. Journal of Dermatological Science (in press).
- 18) Ten Cate AR: Development of the tooth and its supporting tissues, In Ten Cate AR (ed): Oral Histology, 4th ed. pp. 58-80, Mosby-Year Book Inc. St. Louis. 1994.
- 19) 吉村健清: 油症児童・生徒の発育調査, 福岡医誌 62: 109-116, 1971.
- 20) 平山千里: PCB 中毒と肝細胞機能, 福岡医誌 70: 238-245, 1979.
- 21) Yagi N, Kimura M and Itokawa Y: Sodium, potassium, magnesium and calcium levels in polychlorinated biphenyl (PCB) poisoned rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 16: 516-519, 1976.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## 36年以上経過した油症患者における神経症候

<sup>1)</sup> 国立病院機構大牟田病院神経内科

<sup>2)</sup> 九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科

<sup>3)</sup> 麻生飯塚病院神経内科

<sup>4)</sup> 大牟田労災病院神経内科

古谷博和<sup>1)2)</sup>, 大八木保政<sup>\*2)</sup>, 山田 猛<sup>3)</sup>, 三好 甫<sup>4)</sup>, 藤井直樹<sup>1)</sup>, 吉良潤一<sup>2)</sup>

### はじめに

PCB 汚染によるカネミ油症の発生からすでに 36 年以上が経過するが, PCB の代謝産物であるポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の血中濃度は, 正常対照と比べて油症患者ではなお高値である<sup>1)</sup>. 一般に, 油症患者では中枢および末梢神経の障害は多くないと考えられているが, その一方, 痺れ, 感覚低下や異常感覚などの自覚症状はしばしば見られる. さらに, 対称性で遠位優位の感覚ニューロパチーがダイオキシンを取り扱う労働者に高頻度であることが報告されており<sup>2)</sup>, 油症患者では末梢神経障害が潜在している可能性も考えられる<sup>3)</sup>. 従って, 我々は, 初発から 36 年経った油症患者の全国健診における他覚的神経症候と血清 PCB 濃度とそのパターンの相関性の有無を検討した.

### 1. 対象と方法

1986 年から 2002 年までの全国油症患者健診で収集した血液試料中のダイオキシン様同位体濃度を, 高速ガスクロ / マススペクトロメトリー (HRGC / HRMS) を用いて測定した<sup>1)</sup>. 最近の血清 PCB 濃度, そのパターンと自覚的 / 他覚的神経症候のデータを, 1,007 名の認定あるいは非認定の油症患者 (男性 450 名, 年齢  $58.2 \pm 17.6$  歳; 女性 557 名, 年齢  $58.9 \pm 16.9$  歳) から収集した. 自覚的神経症状は問診で, 他覚的症候は神経内科医の診察で評価した. 年齢一致の正常対照群として, 男性 71 名 (年齢  $55.8 \pm 19.9$  歳) および女性 66 名 (年齢  $64.3 \pm 15.0$  歳) のボランティアを, 大牟田労災病院脳ドック, 国立筑後療養所, および九州大学病院神経内科にて募った. 収集データは one-way ANOVA を用いて, 統計学的に有意差検定を行った.

### 2. 結果

まず, 頭痛, 四肢異常感覚や痺れ感のような自覚的神経症状の頻度を油症患者と年齢一致の対照群で比較した. 神経症状は, 認定・非認定にかかわらず, 油症患者群で有意に高頻度だった (表 1). 他覚的神経症状として, 腱反射低下および四肢の他覚的感覚障害は, 感覚障害が公的認定の油症患者群において有意に高頻度だった (男性,  $p=0.014$ ; 女性,  $p=0.001$ ) (表 2).

次に, 血清 PCB 濃度およびそのパターンと他覚的神経症候の関係について検討した. 血清 PCB パターンと神経症候については特に関連性は見られなかった (表 3). また, PCB 濃度と比べてみると, 血清 PCB 濃度が高くなると腱反射低下の頻度が高くなる傾向が, 女性の認定・非認定両群で有意に見られた ( $p=0.014$ ) (表 4). また, 非認定男性油症患者において, PCB 濃度と感覚障害の間に軽度の相関を認めた ( $p=0.030$ ) (表 4).

### 3. 考察

依前, PCB 汚染による油症患者 28 名中の 54 % に末梢神経障害の存在が示唆されている<sup>4)</sup>. 我々は今回,

\* 連絡先: Tel. 092-642-5340, Fax. 092-642-5352  
E-mail: ohyagi@neuro.med.kyushu-u.ac.jp

表1 認定・非認定油症患者と年齢一致正常対照における神経学的自覚症状 (the chi-square test)

症状	なし (%)	あり (%)	計	p= (†<0.05)
<b>頭痛</b>				
認定群				
男性	191 (55.0)	156 (45.0)	347	<.0001†
女性	121 (32.5)	251 (67.5)	372	<.0001†
非認定群				
男性	55 (55.0)	45 (45.0)	100	<.0001†
女性	53 (29.8)	125 (70.2)	178	<.0001†
正常対照群				
男性	61 (85.9)	10 (14.1)	71	—
女性	52 (78.8)	14 (21.2)	66	—
<b>異常感覚</b>				
認定群				
男性	152 (43.8)	195 (56.2)	347	<.0001†
女性	140 (37.6)	232 (62.4)	372	<.0001†
非認定群				
男性	58 (58.0)	42 (42.0)	100	<.0001†
女性	83 (46.6)	95 (53.4)	178	<.0001†
正常対照群				
男性	66 (93.0)	5 (7.0)	71	—
女性	60 (90.9)	6 (9.1)	66	—

表2 認定・非認定油症患者と年齢一致正常対照における他覚的神経症候 (the chi-square test)

神経症候	なし (%)	あり (%)	計	p= (†<0.05)
<b>腱反射低下 / 消失</b>				
認定群				
男性	284 (81.8)	63 (18.2)	347	0.088
女性	310 (83.3)	62 (16.7)	372	0.547
非認定群				
男性	85 (87.6)	12 (12.4)	97	0.258
女性	156 (88.1)	21 (11.9)	177	0.117
正常対照群				
男性	64 (90.1)	7 (9.9)	71	—
女性	53 (80.3)	13 (19.7)	66	—
<b>他覚的感觉障害</b>				
認定群				
男性	288 (83.0)	59 (17.0)	347	0.014†
女性	309 (83.5)	61 (16.5)	370	0.001†
非認定群				
男性	91 (91.0)	9 (9.0)	100	0.413
女性	166 (93.8)	11 (6.2)	177	0.134
正常対照群				
男性	67 (94.4)	4 (5.6)	71	—
女性	64 (97.0)	2 (3.0)	66	—

表3 神経症候と血清 PCB パターンの相関 (the goodness test of fit for chi-square test)

PCBパターン	C (%)	BC (%)	B (%)	A (%)	計	p = (* < 0.05)
<b>神経症候</b>						
<b>腱反射</b>						
男性						
認定群						
正常	42 (17.6)	33 (13.9)	77 (32.4)	86 (36.1)	238	0.146
低下	13 (28.3)	2 (4.3)	13 (28.3)	18 (39.1)	46	
非認定群						
正常	27 (39.1)	9 (13.0)	17 (24.6)	16 (23.2)	69	0.319
低下	5 (50.0)	1 (12.5)	7 (12.5)	3 (25.0)	16	
合計						
正常	69 (22.5)	42 (13.7)	94 (30.6)	102 (33.2)	307	0.231
低下	18 (31.3)	3 (4.8)	20 (32.2)	21 (33.9)	62	
女性						
認定群						
正常	57 (22.8)	13 (5.2)	59 (23.6)	121 (48.4)	250	0.799
低下	12 (26.1)	2 (4.3)	8 (17.4)	24 (38.7)	46	
非認定群						
正常	43 (37.4)	16 (13.9)	30 (26.1)	26 (22.6)	115	0.278
低下	5 (45.5)	3 (27.3)	3 (27.3)	0 (0)	11	
合計						
正常	100 (27.3)	29 (7.9)	89 (24.4)	147 (40.3)	365	0.948
低下	17 (23.3)	5 (6.8)	11 (15.1)	24 (32.9)	57	
<b>感覚障害</b>						
男性						
認定群						
なし	43 (18.1)	30 (12.6)	76 (31.9)	89 (37.4)	238	0.432
あり	13 (24.5)	5 (9.4)	20 (37.7)	15 (28.3)	53	
非認定群						
なし	27 (38.0)	10 (14.1)	17 (23.9)	17 (23.9)	71	0.600
あり	4 (57.1)	0 (0)	1 (14.3)	2 (28.6)	7	
合計						
なし	70 (22.6)	40 (12.9)	93 (30.1)	106 (34.3)	309	0.477
あり	17 (28.3)	5 (8.3)	21 (35.0)	17 (28.3)	60	
女性						
認定群						
なし	58 (22.7)	13 (5.1)	52 (20.3)	133 (52.0)	256	0.072
あり	14 (26.9)	2 (3.8)	18 (34.6)	18 (34.6)	52	
非認定群						
なし	45 (37.2)	18 (14.9)	32 (26.4)	26 (21.5)	121	0.854
あり	4 (44.4)	1 (11.1)	3 (33.3)	1 (11.1)	9	
合計						
なし	103 (27.3)	31 (8.2)	84 (22.3)	159 (42.2)	377	0.131
あり	18 (29.5)	3 (4.9)	21 (34.4)	19 (31.1)	61	

表4 神経症候と血清 PCB 濃度の相関 (one factor ANOVA.)

神経症候	PCB 濃度	人 数	濃度 (pg / g lipid) ± SD	p = ( <sup>†</sup> < 0.05)
腱反射				
男性				
認定群				
正常		279	3.66 ± 3.35	0.880
低下		56	3.59 ± 2.51	
非認定群				
正常		80	2.67 ± 1.93	0.222
低下		7	3.67 ± 3.29	
合計				
正常		359	3.44 ± 3.11	0.994
低下		73	3.44 ± 2.50	
女性				
認定群				
正常		293	3.36 ± 2.92	0.140
低下		49	4.02 ± 2.51	
非認定群				
正常		152	2.61 ± 2.30	0.434
低下		14	3.10 ± 2.10	
合計				
正常		445	3.10 ± 2.74	0.014 <sup>†</sup>
低下		71	3.95 ± 2.48	
感覚障害				
男性				
認定群				
なし		283	3.56 ± 3.23	0.426
あり		58	3.59 ± 2.51	
非認定群				
なし		84	2.62 ± 1.96	0.030 <sup>†</sup>
あり		7	4.38 ± 2.76	
合計				
なし		367	3.34 ± 3.01	0.120
あり		65	3.98 ± 3.02	
女性				
認定群				
なし		294	3.41 ± 2.78	0.462
あり		59	3.59 ± 2.51	
非認定群				
なし		161	2.62 ± 2.33	0.380
あり		10	3.28 ± 1.49	
合計				
なし		455	3.19 ± 2.79	0.801
あり		69	3.28 ± 2.18	

対象患者数を増やし、曝露後36年以上経過した慢性油症患者で検討した。約17%に感覚障害を認め、既報に比べて頻度は低いものの、その結果を支持した。神経学的症候は急性あるいは慢性PCB中毒では一般に多くはない。しかし、PCBは脂溶性であり、そのPCBの痕跡は曝露から36年以上経った現在も患者体内に検出されている<sup>1)</sup>。これらの事実は、PCBの半減期が非常に長いことや脂肪組織や末梢神経の髄鞘にも蓄積していることが、慢性的な末梢神経障害を引き起こしている可能性が考えられる<sup>5)6)</sup>。一般に、腱反射の低下・消失は大径有髄線維障害を、感覚異常は小径線維障害を示唆するので、油症患者では小径線維障害主体であるかもしれない。

今回の全国規模の油症検診においては、このような神経学的異常が末梢神経か頸椎/腰椎神経根のどちらに起因するのか、神経生理学的、神経放射線学的に詳細な検査はなされていない。しかし、急性PCB中毒後の脂肪組織からの持続的な非常に低量のPCB放出が神経系の微小障害を誘導し、高頻度の末梢神経や神経根障害をきたすのかもしれない<sup>7)8)</sup>。従って、神経症候検査に加えて、電気生理学的・神経放射線学的検査を今後おこない、その末梢神経障害の病態メカニズムに関して検討すべきである。

#### 4. 結 論

発生36年経過後の油症患者の検診データを解析し、認定患者群において自覚的感覚障害が高頻度に見られ、女性群では腱反射低下と血清PCB濃度上昇に相関を認めた。長期間経過後も、脂肪組織に蓄積したPCBが末梢神経系、特に感覚神経系を障害している可能性が示唆された。

#### 文 献

- 1) Iida T, Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Matsueda T, Hori T, Nakagawa R and Furue M: Follow-up survey of dioxins in the blood of Yusho patients (in 2001). *Fukuoka Acta Medica* 94: 126-135, 2003.
- 2) Thomke F, Jung D, Besser R, Roder R, Konietzko J and Hopf HC: Increased risk of sensory neuropathy in workers with chloracne after exposure to 2, 3, 7, 8-polychlorinated dioxins and furans. *Acta Neurol. Scand.* 100: 1-5, 1999.
- 3) Tokunaga S and Kataoka K: Association between blood concentration of polychlorinated biphenyls and manifestations of symptoms and signs in chronic "Yusho" patients from 1986 to 1997. *Fukuoka Acta Medica* 92: 122-133, 2001.
- 4) Chia LG and Chu FL: A clinical and electrophysiological study of patients with polychlorinated biphenyl poisoning. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 48: 894-901, 1985.
- 5) Chia LG and Chu FL: Neurological studies on polychlorinated biphenyl (PCB)-poisoned patients. *Am. J. Ind. Med.* 5: 117-126, 1984.
- 6) Altenkirch H, Stoltenburg G, Haller D, Hopmann D and Walter G: Clinical data on three cases of occupationally induced PCB-intoxication. *Neurotoxicol.* 17: 639-643, 1996.
- 7) Matsuoka Y, Takayanagi T and Sobue I: Experimental ethambutol neuropathy in rats. Morphometric and teased-fiber studies. *J. Neurol. Sci.* 51: 89-99, 1981.
- 8) Thomke F, Jung D, Besser R, Roder R, Konietzko J and Hopf HC: Cranial nerve function in workers exposed to polychlorinated dioxins and furans. *Acta Neurol. Scand.* 106: 155-158, 2002.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## 油症の眼所見

<sup>1)</sup>九州大学大学院医学研究院眼科学分野

<sup>2)</sup>九州厚生年金病院

<sup>3)</sup>和歌山県立医科大学眼科学教室

中村隆彦<sup>1)</sup>, 宮崎美穂<sup>2)</sup>, 大西克尚<sup>3)</sup>, 石橋達朗<sup>1)</sup>

### はじめに

油症発症初期の疫学的調査で、油症の眼所見は結膜からの眼脂の増加、上眼瞼浮腫、視力障害、眼痛であることが示された。汚染食物多量摂取から一年後の眼症状にはマイボーム腺分泌過多、球結膜、結膜輪部、眼瞼結膜の異常色素沈着、眼瞼浮腫がある。これらの眼症状は患者血液中のPCB濃度、PCBのガスクロマトグラフィーパターンに強く関連していることが示されている。米ぬか油の加熱媒体として用いられたPCBが当初油症の原因物質と考えられていたが、その後ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs:ダイオキシン関連物質で、PCBの熱による崩壊産物)の健康への関与が疑われるようになった。更なる研究の結果、油症発症の最も重要な原因物質はPCBではなくPCDFであることが示された。

油症発症当初は非常に顕著だった眼症状は近年沈静化しつつあるものの、いまだに多数の患者が眼症状、特に異常な眼脂に悩まされている。近年の、ポリ塩化ジベンゾダイオキシン(PCDDs)、PCDFsといったダイオキシン類の測定法の進歩により、油症患者の検診時に得られる少量の血液検体からPCDFやその関連物質の測定が可能になった。そこで2001年次の油症検診時より、血液中PCDF関連物質の濃度測定が開始された。

油症患者の摂取した米ぬか油から約40種のPCDF関連物質が同定されている。油症患者や、油症発症11年後に起きた油症類似の事件の被害者であるYu-Cheng患者体内に残存するそれらのPCDF関連物質のうち2,3,4,7,8-五塩化ジベンゾフラン(PeCDF)が大半を占めていることが知られている。動物を用いた研究ではPCDF投与で重度の胸腺萎縮や肝増生が見られた。今回、我々は油症患者における血中PCDF濃度と現在の眼症状との関連について検討した。

### 1. 研究方法

#### 対象と検査項目

2002年に眼科検査5項目全てが行われ、かつ血中PCDF濃度の測定できた259人(男128人、女131人)について調べた。年齢は30歳から88歳であった。眼科検査項目は、眼脂の増加、眼瞼浮腫、眼瞼の色素沈着、マイボーム腺分泌過多、及び結膜濾胞形成の5項目であり、それぞれの眼所見はその重症度から(1)無症候、(2)軽度、(3)中等度、(4)重度、(5)劇症の5段階に分類した。それぞれの眼科検査項目の重症度と、血中2,3,4,7,8-PCDF, total PCDFs, total 等価毒性 (TEQ), total PCDF-TEQ値との関連分析を行った。

#### 調査および統計解析方法

259名の患者を対象として、2002年に測定されたPCDFsおよびその他の関連のある化合物の値に関するデータを用いて詳細な解析をおこなった。全PCDF値, 2,3,4,7,8-PeCDF値, 全PCDF-TOG, および全TEQ値は対数をとって従属変数とし、それぞれの検査項目の重症度を目的変数として多重線形回帰分析をおこなった。全PCDF値, 2,3,4,7,8-PeCDF値, 全PCDF-PEQ, および全TEQ値の実測値と対数変換後の値を比較すると、対数変換後の値は正規分布に近い分布をとった。そのため対数変換後の値を解析に使用した。それぞれの検査の重症度と全PCDF値, 2,3,4,7,8-PeCDF値, 全PCDF-TEQ, および全TEQ

値の対数変換後の値との関連は多重線形回帰分析法を用いて評価した。すべての統計解析は SAS ソフトウェアパッケージを用いておこなった。P 値は 0.05 を有意水準とした。

## 2. 結 果

調べた 259 人の患者の眼所見は以下の通りである。異常眼脂(139 / 259 = 53.7%), 眼瞼腫脹(27 / 259 = 10.4%), 眼瞼結膜の異常色素沈着(51 / 259 = 19.7%), 結膜の濾胞形成(43 / 259 = 16.6%), マイボーム腺からの過剰分泌(28 / 259 = 10.8%)。

ダイオキシン類の血中濃度と眼所見との関連について調べたところ, 2,3,4,7,8-PeCDF 値, 全 PCDF 値, 全 PCDF-TEQ, および全 TEQ 値が有意に異常眼脂と相関していることが分かった ( $p < 0.05$ , 年齢と性別修正後)。その他の眼症状と調べたダイオキシン類との間に有意な関連はなかった (表 1)。

## 3. 考 察

カネミ油症は PCB やその熱分解副産物である PCDD や PCDF 等が混入した米ぬか油による食中毒である。油症事件は 1968 年, 主に九州で, 広くは西日本各地で発生している。この奇妙な病気の特徴は, 座瘡状発疹, 皮膚への色素沈着, 眼脂であった。11 年後, 同様な事件が台湾の Yu-Cheng で発生した。カネミ油症患者と同様, Yu-Cheng 事件でも事件発生 1 年以内の眼症状を 114 人の患者について調べた結果, 眼脂増加(81%), 眼瞼の浮腫様肥厚(59%), 結膜色素沈着(67%), マイボーム腺分泌過多(70%)であった。カネミ油症患者と同様, これら眼症状の頻度や重症度と血中 PCB 濃度は強く相関していた<sup>9)</sup>。尚, カネミ油症では発生 1 年以内の眼症状はマイボーム腺分泌過多(52.6%), 結膜輪部の異常色素沈着(45.2%), 瞼板結膜の異常色素沈着(29.4%), 眼瞼浮腫(15.8%)であった。事件発生から 35 年以上が経過した現在, 発生当初に比較すると眼所見は減少しつつあるものの(図 1), なお多くの油症患者がこれらの眼症状に苦しんでいるのも事実である。今回の研究で, 油症患者の多くがいまだに異常眼脂に悩まされており(53.7%), マイボーム腺分泌過多, 眼瞼浮腫, 瞼板結膜の濾胞形成または瞼結膜の異常色素沈着を来している患者がそれぞれ 10~20%いることが分かった。

職業上純粋な PCB にさらされた患者は PCB 血中濃度は通常カネミ油症患者に比較して非常に高いにもかかわらず, 症状は軽く, 比較的良い経過をたどることが知られており<sup>9)</sup>, 逆にいえばカネミ油症患者の臨床症状や経過は, PCB 血中濃度に対して不釣り合いに重篤である。1975 年から 1977 年にかけて Nagayama らは油症患者血中および組織から多量の PCDF を検出した<sup>10)~12)</sup>。更なる調査の結果, カネミ油症の最も重要な原因物質は PCB よりむしろ PCDF であることが示された<sup>1)</sup>。

動物実験で PCB 中毒による眼症状について調べられている。PCB 投与されたサルは眼瞼浮腫や化膿性

表 1 眼症状と血中ダイオキシン類との関係

Discharge: 結膜からの異常分泌, Meibomian glands: マイボーム腺からの過剰分泌, Pigmentation: 瞼結膜の異常色素沈着, Follicle: 結膜の濾胞形成, Swelling: 眼瞼腫脹

	2,3,4,7,8-PCDF	total-PCDF	total-PCDF TEQ	total TEQ
Discharge	0.045	0.024	0.024	0.039
Meibomian gland	0.607	0.392	0.69	0.38
Pigmentation	0.731	0.708	0.82	0.645
Follicle	0.326	0.654	0.364	0.558
Edema	0.873	0.799	0.815	0.857



図1 油症発症後の眼瞼結膜過剰色素沈着の経年変化（発症時33歳，女性）

A：発症1年以内（33歳）

B：発症13年後（46歳）

C：発症29年後（62歳）

発症初期は眼瞼結膜の過剰色素沈着は非常に強かったが（A），徐々に消退し（B），最後には色素沈着は消失した（C）。

眼脂が報告されている<sup>13)</sup>。PCB投与された実験動物の瞼板腺組織の検査や油症患者の剖検例から、PCBまたはPCBとPCDF同時摂取数ヵ月後には典型的な瞼板腺の肥厚や眼瞼肥厚が引き起こされることが分かった。

眼瞼圧迫で出てくるマイボーム腺開口部からの白いチーズ様分泌物は油症の一つの特徴である（図2）。カニクイザルでは組織病理学的検査で導管上皮の過剰角化が認められた<sup>14)</sup>。サルにPCBを摂取させると、一ヶ月後には眼脂が自発的に出るようになり、眼瞼を圧迫すると白いチーズ様物質が排出された。組織検査ではマイボーム腺は角質嚢胞に圧迫され、萎縮していた<sup>1)</sup>。PCB摂取サルマイボーム腺をKOH処理してSudan III染色すると、腺の一部が消失し導管の拡大が見られた（図3）<sup>15)</sup>。慢性眼瞼炎でもマイボーム腺の病理学的変化が見られている。マイボーム腺機能不全はマイボーム線所見，マイボーム腺造影，涙液浸透圧，シルマーテストから診断される<sup>16)</sup>。

マイボーム腺の変化はPCBやPCDF中毒サルで詳細に調べられている（図4）<sup>17)</sup>。その研究によるとマイボーム腺の変化は組織検査所見から4段階に分けられる。第一期（初期）には導管上皮の過角化が起こり導管内腔の軽度の拡張を来すが、周囲の腺房には明らかな変化は認めない。第二期（進行期）には導管内皮にケラチンの集積及び腺房の萎縮が認められ、脂腺細胞の減少と扁平上皮化生を来するのが特徴である。第三期にはマイボーム腺は最も特徴的な組織の変化を来し、角化嚢胞期とも呼ばれる。この時期には著しく拡張した導管管腔内に多量の角栓が形成され、導管の壁は薄く周囲の腺房は消失している。第四期は虚脱期とも呼ばれ、嚢胞には萎縮した腺房壁が残るのみで、おそらく嚢胞の内容物が自然排出または圧迫排



図2 油症患者の異常なチーズ様マイボーム腺分泌物。

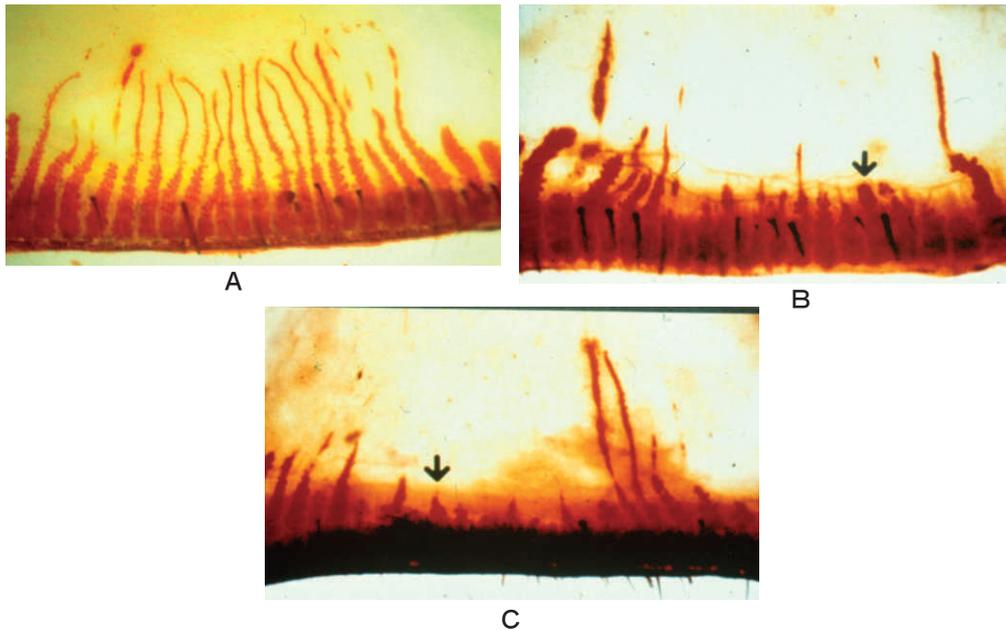


図3 実験的PCB汚染におけるマイボーム腺の組織像。  
 (A) 対照：rhesus monkeyの右上眼瞼のマイボーム腺  
 (B) PCB汚染群：rhesus monkey 右上眼瞼のマイボーム腺が一部消失し、導管の拡張がみられる。  
 (C) PCB汚染群：カニクイザル右上眼瞼のマイボーム腺

出された後と見られる。萎縮した導管の角質嚢胞形成，または瞼板腺腺房の消失が変化の基本であるので，瞼板腺からの過剰分泌は腺の活動性の増強によるものではなく，角質性の栓の分泌によるものと考えられる。五塩化ビフェニルとスクアレンを実験的に投与された犬も同様の特徴的なマイボーム腺の変化：すなわち導管の拡張および腺房の扁平上皮化生を来す。カネミ油症発症1年目の25歳男性患者から試験切除したマイボーム腺組織を調べると導管の拡張およびケラチンの集積，扁平上皮化生を伴った腺房の萎縮を認めた。油症患者マイボーム腺の病理学的変化は導管のケラチン嚢胞形成によるものとみなすことができる。

Yu-Cheng患者も油症患者同様の症状や血中ダイオキシン濃度を示すが，2,2',4,4',5,5'-六塩化ビフェニル(HxCB)血中濃度は高く，2,3,4,7,8-PeCDF血中濃度は低い(Yu-Cheng患者は油症患者と比較してYu-



図4 サル下眼瞼の矢状断。  
 左：正常対照；正常の腺と導管。  
 右：PCB投与32日後；導管は拡張し，腺は萎縮して導管壁はやや過角化している。

Cheng 患者の 2,2',4,4',5,5'-HxCB 血中濃度は 2.2 倍高く, 2,3,4,7,8-PeCDF 血中濃度は 3.8 倍低い<sup>19)</sup>。油症患者の眼所見と血中 2,3,4,7,8-PeCDF や他のダイオキシン関連物質の濃度との関係を調べるのは興味深い。なぜなら異常眼脂を呈する油症患者の 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は呈さないものに比べ 2 倍弱高いからである (data not shown)。

PCBs, PCDFs, PCDDs はそれに汚染された魚や肉など食物に濃縮される<sup>20)21)</sup>。これらの化学物質は長い期間人体内に貯留するので<sup>22)</sup>、胎盤をとおして<sup>23)24)</sup>、また母乳をとおして<sup>25)</sup> 子供に影響を与える。動物をもちいた研究では、胎児への PCB や四塩化ジベンゾフラン (TCDD) の曝露は視覚障害を含む重大な発育障害を来することが示されている<sup>26)</sup>。人間では、胎盤や母乳を介してダイオキシンに暴露された子供は重大な傷害を来している<sup>27)28)</sup>。PCB やその誘導体で出生前または出生後に暴露された子供は出生体重が低く<sup>29)</sup>、発育<sup>30)31)</sup>、免疫<sup>32)~34)</sup>、神経学的<sup>35)36)</sup>、知覚<sup>37)38)</sup>、筋骨発達<sup>39)</sup>、行動障害<sup>35)</sup>を来し、知能も低い<sup>37)40)41)</sup>。しかしながら PCB やその誘導体の出生前後の曝露による眼科的異常についての詳細な報告はない。今回の研究では、11 人(男 6 人, 女 5 人)は PCB やその誘導体に胎盤や母乳を通して暴露されていると考えられ、そのうち 3 人(男 2 人, 女 1 人)が異常眼脂を来しているものの、彼らの血中 PCDF, total PCDF, total PCDF-TEQ, total TEQ は高くはない (data not shown)。この理由についてはまだ良くわかっていない。

今回の研究では、油症患者の血中 PCDF 濃度と眼症状との関係について示した。以前の研究では PCB 濃度と眼症状との関係について調べられ、PCB 濃度と眼症状の重さとの間に相関があることが示された。しかしながら今回しらべた 5 つの眼症状のうち、異常眼脂 1 つのみが現在 PCDF 濃度と相関のあることが明らかとなった。他の 4 つの眼症状と相関がなかった理由のひとつとして、多くの患者でマイボーム腺の萎縮性変化が完了してしまい、腺内に形成されたすべての角栓が排出されてしまったため、もはやマイボーム腺からの異常分泌はなくなってしまったというのが考えられる。

カネミ油症事件が発生して 35 年以上がたち、血中 TEQ 濃度はカネミ油症発生直後は 40 ppb だったのが 1995 年には 600 ppt にまで減少しており<sup>19)</sup>、この TEQ の減少が症状の減少に関係していると考えられる。異常色素沈着の減少は、このような体内のダイオキシン類濃度が減少することで病勢が弱まるのに加え、各々の患者の治癒能力で異常に沈着した色素が吸収されたのかもしれない。

PCB そのものはカネミ油症のようなひどい症状をきたさない、という報告に加え、高濃度の PCDF にさらされた人もカネミ油症患者と比較すると症状は軽いとの報告もある。今回の報告では、PCDF とカネミ油症の眼症状との関連について述べたが、カネミ油症患者の症状は、PCDF のみならず米ぬか油に含まれる PCB を含む他の多くの毒素がもたらしたものであることを常に考慮しなければならないと思われる。

## References

- 1) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Masuda Y, editors. Yusho: a human disaster caused by PCBs and related compounds. Fukuoka: Kyushu University Press; 1996.
- 2) Ikui H, Sugi K and Uga S: Ocular signs of chronic chlorobiphenyls poisoning ("Yusho"). Fukuoka Igaku Zasshi 60: 432-439, 1969.
- 3) Ohnishi Y and Yoshimura T: Relationship between PCB concentrations or patterns in blood and ocular signs among people examined for "yusho". Fukuoka Igaku Zasshi 68: 123-7, 1977.
- 4) Yoshimura T: Yusho in Japan. Ind Health 41: 139-148, 2003.
- 5) Kashimoto T, Miyata H, Kunita S, Tung TC, Hsu ST, Chang KJ et. al.: Role of polychlorinated dibenzofuran in yusho (PCB poisoning). Arch Environ Health 36: 321-326, 1981.
- 6) Buser HR, Rappe C and Gara A: Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) found in Yusho oil and in used Japanese PCB. Chemosphere 7: 439-49, 1978.
- 7) Masuda Y, Kuroki H, Haraguchi K and Nagayama J: PCB and PCDF congeners in the blood and tissues of yusho and yu-cheng patients. Environ Health Perspect 59: 53-58, 1985.
- 8) Nagayama J, Kuroki H, Masuda Y and Kuratsune M: A comparative study of polychlorinated dibenzofurans, polychlorinated biphenyls and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on aryl hydrocarbon hydroxylase inducing potency in rats. Arch Toxicol 53: 177-184, 1983.

- 9] Fu YA : Ocular manifestation of polychlorinated biphenyl (PCB) intoxication. Its relationship to PCB blood concentration. *Arch Ophthalmol* 101 : 379-381, 1983.
- 10] Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oils used by patients with yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 66 : 593-599, 1975.
- 11) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in kanechlors and "yusho oil". *Bull Environ Contam Toxicol* 15 : 9-13, 1976.
- 12) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'yusho'. *Food Cosmet Toxicol* 15 : 195-198, 1977.
- 13) Allen JR and Norback DH : Polychlorinated biphenyl- and triphenyl-induced gastric mucosal hyperplasia in primates. *Science* 179 : 498-499, 1973.
- 14] Ohnishi Y and Kohno T : Polychlorinated biphenyls poisoning in monkey eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18 : 981-984, 1979.
- 15] Ohnishi Y, Kohno T, Ishibashi T and Shinoda Y : Macroscopic observation of the meibomian gland of the monkeys with PCB intoxication. *Fukuoka Igaku Zasshi* 74 : 240-245, 1983.
- 16) Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM and Jester JV : Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea* 10 : 277-285, 1991.
- 17] Yoshihara S, Ozawa N, Yoshimura H, Masuda Y, Yarmayo T, Kuroki H et. al. : Preliminary studies on the experimental PCB poisoning in rhesus monkeys. *Fukuoka Igaku Zasshi* 70 : 135-171, 1979.
- 18] Kohno T and Ohnishi Y : Histopathology of meibomian gland abnormalities in experimental PenCB intoxicated beagle treated with squalane. *Fukuoka Igaku Zasshi* 80 : 258-262, 1989.
- 19] Masuda Y. Fate of PCDF/PCB congeners and change of clinical symptoms in patient with Yusho PCB poisoning for 30 years. *Chemosphere* 43 : 925-30, 2001.
- 20) Schwartz PM, Jacobson SW, Fein G, Jacobson JL and Price HA : Lake Michigan fish consumption as a source of polychlorinated biphenyls in human cord serum, maternal serum, and milk. *Am J Public Health* 73 : 293-296, 1983.
- 21) Chen HL, Lee CC, Liao PC, Guo YL, Chen CH and Su HJ : Associations between dietary intake and serum polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofuran (PCDD/F) levels in Taiwanese. *Environ Res* 91 : 172-178, 2003.
- 22] Steele G, Stehr-Green P and Welty E : Estimates of the biologic half-life of polychlorinated biphenyls in human serum. *N Engl J Med* 314 : 926-927, 1986.
- 23] Kodama H and Ota H : Transfer of polychlorinated biphenyls to infants from their mothers. *Arch Environ Health* 35 : 95-100, 1980.
- 24] Masuda Y, Kagawa R, Kuroki H, Kuratsune M, Yoshimura T, Taki I et al. : Transfer of polychlorinated biphenyls from mothers to fetuses and infants. *Food Cosmet Toxicol* 16 : 543-546, 1978.
- 25] Matsueda T, Iida T, Hirakawa H, Fukamachi K, Tokiwa H and Nagayama J : Concentration of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in breast milk of Yusho patients and normal subjects. *Fukuoka Igaku Zasshi* 84 : 263-272, 1993.
- 26) Tilson HA, Jacobson JL and Rogan WJ : Polychlorinated biphenyls and the developing nervous system : cross-species comparisons. *Neurotoxicol Teratol* 12 : 239-248, 1990.
- 27) Guo YL, Lambert GH, Hsu CC and Hsu MM : Yucheng : health effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Int Arch Occup Environ Health* 77 : 153-158, 2004.
- 28) ten Tusscher GW and Koppe JG : Perinatal dioxin exposure and later effects--a review. *Chemosphere* 54 : 1329-1336, 2004.
- 29) Fein GG, Jacobson JL, Jacobson SW, Schwartz PM and Dowler JK : Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls : effects on birth size and gestational age. *J Pediatr* 105 : 315-320, 1984.
- 30) Rogan WJ, Gladen BC, Hung KL, Koong SL, Shih LY, Taylor JS et al. : Congenital poisoning by polychlorinated biphenyls and their contaminants in Taiwan. *Science* 241 : 334-336, 1988.
- 31) Guo YL, Lin CJ, Yao WJ, Ryan JJ and Hsu CC : Musculoskeletal changes in children prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and related compounds (Yu-Cheng children). *J Toxicol Environ Health* 41 : 83-93, 1994.
- 32) Chang KJ, Hsieh KH, Tang SY, Tung TC and Lee TP : Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning : evaluation of delayed-type skin hypersensitive response and its relation to clinical studies. *J Toxicol Environ Health* 9 : 217-223, 1982.

- 33) Lu YC and Wu YC : Clinical findings and immunological abnormalities in Yu-Cheng patients. *Environ Health Perspect* 59 : 17-29, 1985.
- 34) Nagayama J, Tsuji H, Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Okamura K et al. : Postnatal exposure to chlorinated dioxins and related chemicals on lymphocyte subsets in Japanese breast-fed infants. *Chemosphere* 37 : 1781-1787, 1998.
- 35) Chen YJ and Hsu CC : Effects of prenatal exposure to PCBs on the neurological function of children : a neuropsychological and neurophysiological study. *Dev Med Child Neurol* 36 : 312-320, 1994.
- 36) Huisman M, Koopman-Esseboom C, Fidler V, Hadders-Algra M, van der Paauw CG, Tuinstra LG et al. : Perinatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins and its effect on neonatal neurological development. *Early Hum Dev* 41 : 111-127, 1995.
- 37) Chen YJ, Guo YL, Hsu CC and Rogan WJ : Cognitive development of Yu-Cheng ("oil-disease") children prenatally exposed to heat-degraded PCBs. *JAMA* 268 : 3213-3218, 1992.
- 38) Lai TJ, Liu X, Guo YL, Guo NW, Yu ML, Hsu CC et al. : A cohort study of behavioral problems and intelligence in children with high prenatal polychlorinated biphenyl exposure. *Arch Gen Psychiatry* 59 : 1061-1066, 2002.
- 39) Guo YL, Chen YC, Yu ML and Hsu CC : Early development of Yu-Cheng children born seven to twelve years after the Taiwan PCB outbreak. *Chemosphere* 29 : 2395-2404, 1994.
- 40) Jacobson JL, Jacobson SW and Humphrey HE : Effects of exposure to PCBs and related compounds on growth and activity in children. *Neurotoxicol Teratol* 12 : 319-26, 1990.
- 41) Walkowiak J, Wiener JA, Fastabend A, Heinzow B, Kramer U, Schmidt E et al. : Environmental exposure to polychlorinated biphenyls and quality of the home environment : effects on psychodevelopment in early childhood. *Lancet* 358 : 1602-1607, 2001.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## 油症の皮膚症状 皮膚症状と血中ダイオキシン濃度の関連性について

全国油症治療研究班・追跡調査班

上ノ土 武, 中山樹一郎, 旭 正一, 高路 修, 秋元隆道, 武藤正彦,  
清水和宏, 片山 一朗, 神崎 保, 神奈川芳行, 今村 知明, 古江 増隆

### はじめに

油症が発生した1968年当時は、食用油を加熱する過程で使用された Polychlorinated biphenyls (PCBs) が原因物質であると考えられていたが、その後、研究班により PCBs だけでなく Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) も原因物質であることが判明した。現在では、油症は PCBs と PCDFs の混合中毒と考えられている<sup>1)</sup>。

油症発生から5年経過した1973年に患者血液中の PCB 濃度の測定が開始された。クロマトグラフィーのパターンにより4つのタイプに分類された。すなわち、Aパターンは油症に特徴的であり、Cパターンは一般人に見られるパターンである。Bパターン、BCパターンはAパターンとCパターンの中間に位置する<sup>2)</sup>。測定開始以来、臨床症状と血液中 PCB 濃度との関連については検討が加えられた。しかしながら、技術的な問題により PCDF 濃度の正確な測定は困難であった。

近年測定技術が著しく改善し、血液中 PCDF 濃度測定が正確に、かつ再現性をもって行われるようになった。PCDF の異性体のうち 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF) が、油症におけるダイオキシン類毒性の約70%をしめ、主要な原因物質のひとつであることが判明した<sup>3)</sup>。1968年当時の重症患者の血中 PCB 濃度とダイオキシン類濃度はそれぞれ  $75 \mu\text{g/g lipid}$ 、 $40 \text{ ng/g lipid}$  であると考えられている。これらの PCB やダイオキシン類は糞便や尿、喀痰、皮脂、汗などを通して体外に排泄され、現在では重症患者の血中 PCB 濃度とダイオキシン類濃度はそれぞれ  $2.3 \mu\text{g/g lipid}$ 、 $0.6 \text{ ng/g lipid}$  に低下している。しかしながら、一般人の濃度と比較すると、依然としてはるかに高い<sup>4)5)</sup>。

ダイオキシン類濃度測定は、2001年の福岡県検診で開始され、2002年からは全国で開始された。これにより皮膚症状を含めた臨床症状や検査値と、PCB 濃度やダイオキシン類濃度との関連についての検討がはじまった。

油症の症状は全身倦怠感や食欲不振、頭痛などの自覚症状からはじまり、ざ瘡様皮疹、爪の色素沈着、マイボーム腺の過剰分泌や眼瞼の腫脹、口腔内の色素沈着、末梢神経症状、女性では月経不順、幼児や新生児には成長遅延などの特徴的な症状が徐々に出現した。

油症発生当時は、これらの皮膚症状や粘膜症状が際立っており、診断の際に、非常に重要な所見であった。そのほかの皮膚症状としては、皮膚の乾燥、多汗、爪変形、角化亢進、脱毛などが観察された<sup>6)~8)</sup>。これらの症状は年月が経過するとともに徐々に改善している。その一方で、患者が高齢化するにつれ、加齢による変化が加わり、油症による皮膚症状を抽出するのは困難になりつつある。

我々は油症発生以来の皮膚症状の年次推移を検討した。また、血液中総 PCB 濃度、総 PCDF 濃度と、皮膚症状との関連についても検討を加えた。

### 1. 検討項目に関する説明

#### 1) 皮膚科検診 検診項目について

1968年以來、油症患者一斉検診が毎年行われ、その中には皮膚科検診も含まれている。2002年は279人の患者が、血中 PCB およびダイオキシン類濃度測定検査に参加した。表1に油症検診で使用される検診票を示した。

## 2) 皮膚重症度について

皮膚症状を評価することを目的として「皮膚重症度」評価が1969年から用いられている。この評価では、重症度0：症状なし、重症度I：皮膚、爪の色素沈着、重症度II：黒色面皰、重症度III：ざ瘡様皮疹、重症度IV：以上の皮膚症状が高度かつ広汎に分布、と分類する。2002年の福岡検診では、皮膚科検診と血液中PCBおよびダイオキシン類濃度測定検査を受けたものは112名であった。

## 3) PCBとダイオキシン類濃度の測定法および測定項目について

血中PCBとダイオキシン類濃度測定は、超高感度迅速分析法で行われた。この方法では、測定に必要な血液量は5g程度である<sup>9)</sup>。ダイオキシンについては2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin (2,3,7,8-TCDD), 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzodioxin (1,2,3,7,8-PeCDD), 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzodioxin (1,2,3,4,7,8-HxCDD), 1,2,3,6,7,8-hexachlorodibenzodioxin (1,2,3,6,7,8-HxCDD), 1,2,3,7,8,9-hexachlorodibenzodioxin (1,2,3,7,8,9-HxCDD), 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzodioxin (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD), octachlorodibenzodioxin (OCDD)の7種類を測定した。フランについては、2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (2,3,7,8-TCDF), 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzofuran (1,2,3,7,8-PeCDF), 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran (1,2,3,4,7,8-HxCDF), 1,2,3,6,7,8-hexachlorodibenzofuran (1,2,3,6,7,8-HxCDF), 1,2,3,7,8,9-hexachlorodibenzofuran (1,2,3,7,8,9-HxCDF), 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzofuran (1,2,3,4,6,7,8-HpCDF), 1,2,3,4,7,8,9-heptachlorodibenzofuran (1,2,3,4,7,8,9-HpCDF), octachlorodibenzofuranの10種類を測定した。また、コプラナーPCBとしては、3,4,4',5-tetrachlorobiphenyls (3,4,4',5-TCB), 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyls (3,3',4,4'-TCB), 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyls (3,3',4,4',5-PeCB), 3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyls (3,3',4,4',5,5'-HxCB)の4種類を測定した。そしてPCDFの総濃度とtoxicity equivalent quantity (TEQ)を算定した。

## 4) 皮膚症状と、血液中PCBおよびダイオキシン類濃度の関連性の統計学的検討について

皮膚症状と血液中ダイオキシン類濃度の関連を統計学的に検討した。データの解析は三元配置分散分析を使用して行った。解析には総PCDF濃度が適していることが明らかになった。性と年齢は独立変数として使用した。同様の手法で皮膚症状と血液中PCB濃度についても関連を検討した。

表1 油症検診で使用される検診票。21の評価項目から構成される。

問診	最近の化膿傾向	無	有				
	最近の粉瘤再発傾向	無	有				
	かつてのざ瘡様皮疹	無	有				
	かつての色素沈着	無	有				
他覚所見	項目						
	黒色面皰	顔面	-	±	+	++	+++
		耳介	-	±	+	++	+++
		軀幹	-	±	+	++	+++
		そのほか	-	±	+	++	+++
	ざ瘡様皮疹	顔面	-	±	+	++	+++
		外陰部	-	±	+	++	+++
		臀部	-	±	+	++	+++
		軀幹	-	±	+	++	+++
	瘢痕化	顔面	-	±	+	++	+++
		軀幹	-	±	+	++	+++
		そのほか	-	±	+	++	+++
	色素沈着	顔面	-	±	+	++	+++
		指爪	-	±	+	++	+++
		趾爪	-	±	+	++	+++
		そのほか	-	±	+	++	+++
	爪変形	-	±	+	++	+++	

## 2. 測定および統計学的検討の結果

### 1) 1969年以降の皮膚重症度年次推移について

表2には、1969年来の福岡県における皮膚重症度の推移を示す。発生後20年までは皮膚症状は著明に改善した。しかし、その後軽快の速度は鈍っている。最近では年次による若干の違いがあるもののほとんど変化は認められない。患者の約60%は重症度0であり、これらの患者には油症に特徴的な皮膚症状はほとんど認められない。約40%の患者は重症度I, II, III, IVであり、これらの患者には現在でもなお、油症に特徴的な皮膚症状が認められる。

### 2) 血液中ダイオキシン類濃度測定結果について

2002年検診での患者血液中ダイオキシン類濃度は  $136.4 \pm 148.3$  pg-TEQ / g lipid (平均値±標準偏差) であった(最小値: 7.0 pg-TEQ / g lipid, 最大値: 1126.1 pg-TEQ / g lipid)。患者血液中2,3,4,7,8-PeCDFの濃度は  $192.0 \pm 252.1$  pg / g lipid (平均値±標準偏差) であった(最小値: 3.1 pg / g lipid, 最大値: 1889.7 pg / g lipid)。患者血液中PCB濃度は  $3.383 \pm 2.765$  ppb (平均値±標準偏差) であった(最小値: 0.25 ppb, 最大値: 25.1 ppb)。52人の健常者では、血液中ダイオキシン類濃度は  $37.0 \pm 17.6$  pg-TEQ / g lipid (平均値±標準偏差) であった(最小値: 8.5 pg-TEQ / g lipid, 最大値: 85.4 pg-TEQ / g lipid)。健常者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度は、 $15.2 \pm 8.9$  pg / g lipid (平均値±標準偏差) であった(最小値: 3.5 pg / g lipid, 最大値: 41.7 pg / g lipid)。

### 3) 血液中ダイオキシン類濃度と皮膚症状との相関について

表3に、皮膚科検診票中の21項目とPCDFとの相関を示した。性、年齢もしくはどちらにも交互作用があるものは除外した。皮膚科検診項目21項目中9項目が血液中総PCDF濃度と有意に相関があった( $P < 0.05$ を有意とした)。皮膚重症度0と皮膚重症度I, II, III, IVの2群にわけ、2群の血液中ダイオキシン類濃度をStudent's t検定を用いて比較した。皮膚重症度0群の血液中ダイオキシン類濃度は  $126.691 \pm 138.985$  pg-TEQ / g lipid (平均値±標準偏差) で、皮膚重症度I, II, III, IV群は  $202.279 \pm 227.492$  pg-TEQ / g lipid (平均値±標準偏差) であり、両群は有意に異なっていた( $P = 0.0316$ )。同様に血液中2,3,4,7,8-PeCDFについても検討を行ったところ、皮膚重症度0群では  $179.414 \pm 241.132$  pg / g lipid (平均値±標準偏差) で、皮膚重症度I, II, III, IV群は  $304.498 \pm 382.392$  pg / g lipid (平均値±標準偏差) であり、両群は有意に異なっていた( $P = 0.0363$ )。

### 4) 血液中PCB濃度と皮膚症状との相関について

皮膚科検診票中の21項目と血液中PCB濃度の相関についても検討した。結果は表3に呈示する。ダイオキシン類濃度の検討と同様に、年齢、性もしくはどちらとも交互作用があるものは除外した。21項目のうち5項目が血液中PCB濃度と有意に相関があった。「軀幹の癍痕形成」のみ血液中PCDF濃度、PCB濃度両者と有意に相関があった。また、皮膚重症度0群と皮膚重症度I, II, III, IV群の血液中PCB濃度を比較したところ、皮膚重症度0群では、 $2.238 \pm 1.395$  ppb (平均値±標準偏差) であり、皮膚重症度I, II, III, IV群では  $3.357 \pm 2.268$  ppb (平均値±標準偏差) であり、両群は有意に異なっていた( $P = 0.001$ )。

表2 皮膚重症度の年次推移

1969年から10年ごとの皮膚重症度について記載している。

皮膚重症度	0	I	II	III	IV
1969年	11.6%	24.7%	25.6%	24.7%	13.4%
1979年	42.7%	15.5%	22.7%	17.3%	1.8%
1989年	54.6%	13.0%	18.5%	13.0%	0.9%
1999年	61.6%	9.6%	17.8%	11.0%	0.0%
2002年	59.5%	4.3%	16.4%	16.4%	3.4%

表 3 2002 年度における皮膚科検診票 21 項目と血液中 PCDF 濃度, PCB 濃度との統計学的検討.  
性, 年齢を独立変数とする三元配置分散分析で解析した.

		P 値		
		PCDF	PCB	
問 診	最近の化膿傾向	0.006 *	0.503	
	最近の粉瘤再発傾向	0.000 §	0.197 §	
	かつてのざ瘡様皮疹	0.025 *	0.596	
	かつての色素沈着	0.008 *	0.230	
他 覚 所 見	項目			
	黒 色 面 皰	顔面	0.013 §	0.002 *
		耳介	0.006 *	0.000 §
		躯幹	0.155	0.002 *
		そのほか	0.006 §	0.022 *
	ざ 瘡 様 皮 疹	顔面	0.025 *	0.458 §
		外陰部	0.053 §	0.682 §
		臀部	0.002 *	0.087 §
		そのほか	0.002 *	0.603
	癩 痕 化	顔面	0.000 §	0.008 *
		躯幹	0.037 *	0.001 *
		そのほか	0.062 #	0.009 §
	色 素 沈 着	顔面	0.193	0.022 §
		指爪	0.594	0.892
		趾爪	0.786	0.999
		そのほか	0.460	0.000 §
		爪変形	0.038 *	0.001 §

\*:  $P < 0.05$ , #:  $P < 0.10$ , §: 年齢、性別もしくは両方に交互作用がある

### 3. まとめ

以前の報告では、油症の皮膚症状は徐々に軽快していることが述べられていた<sup>5)6)</sup>。油症発生後 20 年までは年々皮膚症状は軽快したが、最近ではほとんど症状の軽快は見られない。皮膚症状については、二極化が認められる。すなわち 60% の患者はほとんど油症に特徴的な皮膚症状は残存していないが、その一方で黒色面皰やざ瘡様皮疹のような油症に特徴的な皮膚症状を呈する患者が 40% 近く認められる。

三元配置分散分析を用いて血液のダイオキシン類濃度、PCB 濃度と皮膚症状との関連性を検討した。油症検診の皮膚科 21 項目のうち、9 項目が血液中 PCDF 濃度と相関があり、5 項目が PCB 濃度と相関があった。そして 1 項目が血液中 PCDF 濃度と PCB 濃度両者ともに相関があった。これらの結果により、油症に特徴的な皮膚症状の形成には、PCB と PCDF をはじめとするダイオキシン類の両方が関与していたことが示唆された。

### 文 献

- 1) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M: Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oil used by patients with yusho. Fukuoka Acta. Med. 66: 593-599, 1975.
- 2) Masuda Y: Health status of Japanese and Taiwanese after exposure to contaminated rice oil. Environ. Health Perspect. 60: 321-325, 1985.
- 3) Masuda Y: Approach to risk assessment of chlorinated dioxins from Yusho PCB poisoning. Chemosphere 32: 583-595, 1996.
- 4) Masuda Y, Haraguchi K, Kuroki H and Ryan JJ: The changes of PCBs and PCDFs as well as symptoms in Yusho patients for 30 years. Fukuoka Acta. Med. 92: 149-157, 2001. [In Japanese.]

- 5】 Masuda Y : Fate of PCDF / PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years. *Chemosphere* 43 : 925-930, 2001.
- 6) Urabe H and Asahi M : Past and current dermatological status of yusho patients. *Am. J. Ind. Med.* 5 : 5-11, 1984.
- 7】 Urabe H and Asahi M : Past and current dermatological status of yusho patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 11-15, 1985.
- 8】 Ikeda M : Comparison of clinical picture between Yusho/Yucheng cases and occupational PCB poisoning cases. *Chemosphere* 32 : 559-566, 1996.
- 9) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol of dioxins analysis in human blood. *Fukuoka Acta. Med.* 94 : 148-157, 2003.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## カネミ油症患者（2001年78名，2002年279名）の血中 PCDFs値と臨床症状等との関係に関する研究

東京大学医学部附属病院企画情報運営部  
神奈川 芳行，今村 知明

### はじめに

カネミ油症事件は，1968年に九州を中心として広く西日本に被害が広がった，米糠油による食品中毒である<sup>1)</sup>。当初，米糠油の熱媒体として利用されていたPCBがその原因物質とされていたが，その後の調査研究により，PCBが熱により変性してできたダイオキシン類の一種である，PCDF等による健康影響も疑われるようになり<sup>1)~6)</sup>，現在では，カネミ油症の原因物質は，PCB及びその類縁物質による健康被害と考えられている。

また，最近のPCDF等ダイオキシン類の測定技術の発達に伴い，通常の油症一斉検診で行う採血量と同じ程度の血液量にて，血中のPCDF等の測定が可能となったことを受けて，2001年度の油症検診より，多くの認定患者に対してその測定が開始されている。

今回，この検診の結果を踏まえて，カネミ油症患者におけるPCDF等の化学物質の血中濃度と身体各症状や検査結果との関連性について検証を行ったので報告する。

### 1. 方法

#### 1.1. 対象及び検討項目

- ① 2001年にPCDF等を測定した油症認定患者78名
- ② 2002年にPCDF等を測定した油症認定患者279名

を対象に，それぞれの年度において内科検診，検診票（血液検査等検査），皮膚科検診，歯科検診，眼科検診を受診した患者の検診結果と血中PCDF測定値等とをリンクさせ関連分析し，症状や検査値と血中PCDF値との関連について検証を行った。

#### 1.2. 検討方法

2001年度にPCDF等を測定したカネミ油症患者78名については，2002年度に国立がんセンターの金子室長により詳細な分析がなされた<sup>7)</sup>。これによると，

- ① PCDF等を代表する数値については，Total PCDFが最も適切
- ② PCDF値に影響を与える因子として，性，年齢に有意差があるなどの指摘がなされている。

これらの分析をもとに，Total PCDF値の対数値を従属変数とし，性と年齢を固定因子とし，この他に検診項目における各症状の有無をもう一つの固定因子とし，3元配置分散分析を用いて分析を行い一定の結果を得ている。

今回の分析により，2002年度のデータにおいても同様の方向性を有していることから，2001年度同様，2002年度についても

- ① Total PCDF値の対数値を従属変数とし
- ②性及び年齢を常に固定因子とし
- ③この他に検診項目における各症状の有無をもう一つの固定因子として3元配置分散分析を行った。

今回、分析方法を決めるために、2001年度と2002年度のデータを用い、共分散分析も試行してみたが、性と年齢を固定因子とした3元配置分散分析が最も有意差を確認するにあたり適切なモデルであると考えた。

また、従属変数を Total PCDF 値の実測値と対数値で比較したところ、対数値の分布がより正規分布に近づくことから対数値を用いることにした。

分散分析は、検診票（血液検査等）、内科検診、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診の項目全てに対して、2001年度、2002年度それぞれに対して、検診結果別に分析を加えた。

分析には、統計分析用ソフト SPSS を使用した。

### 1.3. 検診項目

油症検診の結果と PCDF 値の検定を行った検診項目数は、表1～表5に示す241項目である。

検診分類	項目数
検診票	52
内科検診	55
皮膚科検診	21
歯科検診	108
眼科検診	5
計	241

## 2. 結果

### 2.1. 血中 PCDF 濃度と有意差が認められた項目について

2001年度及び2002年度に有意確率が10%未満であった項目を表6に示す。分析の結果、これらの項目の中でも、性・年齢との交互作用が見られた項目が多く見られた。

#### 2.1.1. 2年存続して、性、年齢との交互作用がなく、有意差が見られた項目（表6、表7）

2001年度、2002年度と2年連続して有意確率5%未満で有意差が見られた項目は、以下の3項目である（P値 2001年度 / 2002年度）。

検診票項目（1項目）；ピーク3（P値 0.000 / 0.000）

歯科検診項目（2項目）；上歯肉の色素沈着（P値 0.029 / 0.036）、上歯肉の色素沈着（びまん性）（P値 0.011 / 0.008）

また、有意確率10%未満で見た場合、皮膚科検診項目（1項目）；黒色面皰（その他）（P値 0.062 / 0.006）

歯科検診項目（1項目）；上歯肉の色素沈着（部位2；3-3）（P値 0.035 / 0.061）、

の2項目で有意差が見られている。

#### 2.2.2. 2001年度もしくは2002年度のどちらかで性、年齢との交互作用が無く、有意確率5%未満で有意差が見られた項目（表6、表8）

2001年度もしくは2002年度のどちらかで性、年齢との交互作用が無く、有意確率5%未満で有意差が見られた項目を以下に示す。

検診票項目（7項目）；PCB濃度の上昇、ピーク2の上昇、PCBパターン、CB%比の上昇、直接ビリル

表1 油症検診における血液検査等の検診票

Blood concentration of PCBs and PCB-related compounds	
PCB濃度	ppb
ピーク1 (2, 4, 5, 3', 5'-pentachlorobiphenyl)	ppb
ピーク2 (2, 4, 5, 2', 4', 6'-hexachlorobiphenyl)	ppb
ピーク3 (2, 4, 5, 3', 5'-hexachlorobiphenyl)	ppb
PCBパターン	A B BC C
CB%比	
PCQ濃度	ppb

尿所見	
尿蛋白	- ± + ++ +++
尿糖	- ± + ++ +++
尿潜血	- ± + ++ +++
尿ウロビリ	- ± + ++ +++
尿PH	

血算	
血沈1時間	mm
血沈2時間	mm
白血球数	$\times 10^3/\mu\text{l}$
赤血球数	$\times 10^4/\mu\text{l}$
血色素	g/dl
ヘマトクリット	%
MCV	$\mu\text{m}^3$
MCH	pg
MCHC	$\times 10^4/\mu\text{l}$
血小板	

血液生化学検査	
総ビリルビン	mg/dl
直接ビリルビン	mg/dl
GOT	U/l
GPT	U/l
総たんぱく	g/dl
アルブミン	g/dl
A/G	
クンケル	K.U.
チモール	K.U.
アルカリフォスファターゼ	U/l
LAP	U/l
$\gamma$ -GTP	U/l
コリンエステラーゼ	U/l
LDH	U/l
CPK	U/l
総コレステロール	mg/dl
HDLコレステロール	mg/dl
中性脂肪	mg/dl
$\beta$ リポ蛋白	mg/dl
尿素窒素	mg/dl
クレアチニン	mg/dl
Na	mEq/l
K	mEq/l
Ca	mg/dl
無機リン	mg/dl
アミラーゼ	U/l
血糖	mg

HBs抗原	- ± +
AFP	ng/ml

表2 油症検診における内科検診票（問診と診察所見）

<b>生活歴</b>	
飲酒歴	無 酒, <180 ml/day 酒 180- 540 ml/day 酒, >540 ml/day
喫煙歴	無 かつて喫煙 有
<b>主訴</b>	無 有 ( ) ( )
<b>既往歴</b>	
S43年以前の既往歴の有無	無 有 ( ) ( )
S43年以後の既往歴の有無	無 有 ( ) ( )
<b>主観的所見</b>	
<b>項目</b>	<b>重傷度</b> <b>頻度</b>
全身倦怠感	- 土 + 時々 しばしば
頭重・頭痛	- 土 + 時々 しばしば
咳嗽	- 土 + 時々 しばしば
喀痰	- 土 + 時々 しばしば
腹痛	- 土 + 時々 しばしば
下痢	- 土 + 時々 しばしば
便秘	- 土 + 時々 しばしば
しびれ感	- 土 + 時々 しばしば
関節痛	- 土 + 時々 しばしば
月経異常	- 土 + 時々 しばしば
<b>診察所見</b>	
身長	cm
体重	kg
脈拍数	bpm
血圧	/ mmHg (max / min)
栄養	正常 肥満 痩せ
心音	正常 異常
呼吸音	正常 異常
肝腫	- + 大きさ( )
脾腫	- + 大きさ( )
浮腫	- + 部位( )
リンパ節腫大	- + 部位( )
四肢けん反射	正常 減弱 亢進
感覚障害	正常 異常
胸部レ線検査	正常 異常 (肺, 縦郭, 肺+縦郭)
心電図	正常 異常
腹部エコー検査	正常 異常

表3 油症検診の皮膚科検診票

<b>問診</b>			
最近の化膿傾向		有	無
最近の粉りゆう再発傾向		有	無
かつてのざ瘡様皮疹		有	無
かつての色素沈着		有	無
<b>診察結果</b>			
<b>症状</b>	<b>部位</b>	<b>重傷度</b>	
黒色面皰	顔面	- 土 +	++ +++
	耳介	- 土 +	++ +++
	軀幹	- 土 +	++ +++
	その他	- 土 +	++ +++
ざ瘡様皮疹	顔面	- 土 +	++ +++
	外陰部	- 土 +	++ +++
	臀部	- 土 +	++ +++
	軀幹	- 土 +	++ +++
	その他	- 土 +	++ +++
癬痕化	顔面	- 土 +	++ +++
	軀幹	- 土 +	++ +++
	その他	- 土 +	++ +++
色素沈着	顔面	- 土 +	++ +++
	指爪	- 土 +	++ +++
	趾爪	- 土 +	++ +++
	その他	- 土 +	++ +++
爪変形		- 土 +	++ +++

表 4 油症検診の歯科検診票

主訴	歯痛 歯肉 出血排膿 歯肉腫脹 歯牙挺出感 色素沈着									
口腔内検査所見			部位							
歯肉炎	No	Yes	7-4 7-4	3-3 3-3	4-7 4-7					
辺縁性歯周炎	No	Yes	7-4 7-4	3-3 3-3	4-7 4-7					
歯牙萌出異常	No	Yes	7-4 7-4	3-3 3-3	4-7 4-7					
歯牙着色	No	Yes	7-4 7-4	3-3 3-3	4-7 4-7					
歯牙形成不全	No	Yes	7-4 7-4	3-3 3-3	4-7 4-7					
咬合異常	No	Yes								
その他	No	Yes	( )							
粘膜の色素沈着				*性状	**色調					
上歯肉	-	±	+	++	+++	7-4	3-3	4-7		
下歯肉	-	±	+	++	+++	7-4	3-3	4-7		
右頬粘膜	-	±	+	++	+++					
左頬粘膜	-	±	+	++	+++					
口蓋粘膜	-	±	+	++	+++					
上口唇粘膜	-	±	+	++	+++					
下口唇粘膜	-	±	+	++	+++					
Teeth radiograph	No	Yes								

\*性状の選択肢；びまん性 斑点状 帯状 線状) 雲状 嶋嶼状

\*\*色調の選択肢；黒色 褐色 暗褐色

表 5 油症検診における眼科検診項目

自覚所見					
眼脂過多	-	±	+	++	+++
他覚所見					
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	-	±	+	++	+++

ビンの低下，中性脂肪の上昇， $\beta$  リポ蛋白の上昇

内科検診項目（6項目）；喫煙年数，心音の異常，呼吸音の異常，脾腫，肝腫大，リンパ節腫大

皮膚科検診項目(10項目)；最近の皮膚の化膿傾向，かつてのざ瘡様皮疹，かつての色素沈着，黒色面皰(耳介)，黒色面皰(軀幹)，黒色面皰(その他)，ざ瘡様皮疹(臀部)，ざ瘡様皮疹(その他)，癬痕化(軀幹)，爪変形

歯科検診項目（9項目）；歯肉炎（下；3-3），上歯肉の色素沈着（部位1；7-4）上歯肉の色素沈着（部位3；4-7），下歯肉の色素沈着（部位3；4-7），下歯肉の色素沈着（斑点状），下歯肉の色素沈着（嶋嶼状），下歯肉の色素沈着（茶色），左頬粘膜の色素沈着（雲状），口蓋粘膜の色素沈着（斑点状） 部位3，下歯肉性状1（びまん性），左頬性状1（びまん性）

## 用語解説

- 1) CB%比；ガスクロマトグラフの2,3,3',4,4',5-hexa-CB / 2,3,3',4,4',5-penta-CB の濃度比はCB%，全 PCB 濃度に対する各 PCB 濃度百分率から，CB%比の高いほど，より典型的な油症患者である。
- 2) PCB パターン；ガスクロマトグラフによる PCB の同定では，そのパターンが一般の人と異なり，以下の様の分類される。  
 タイプ A；油症特有，  
 タイプ B；タイプ A とタイプ C の中間，  
 タイプ C；一般人の血液中 PCB パターン
- 3) 黒色面皰（その他）；顔面，耳介，軀幹以外にできた黒色面皰
- 4) 口腔内所見について  
 油症患者の口腔内病変としては，歯肉の色素沈着や錯角化，歯根形態異常，歯牙放出遅延等が知られている。  
 油症検診では，口腔内所見の記録方法として，  
 ①上歯，下歯をそれぞれ，部位 1=7-4，部位 2=3-3，部位 3=4-7 に区別。  
 ②色素沈着パターンでは，油症患者特有の色素沈着パターンは認められいことから，性状 1 = (びまん性)，性状 2 = (斑点状)，性状 3 = (線状)，性状 4 = (帯状)，性状 5 = (雲状)，性状 6 = (嶋嶼状)  
 として記録している。

## 3. 考 察

カネミ油症患者については，事件発生直後の 1968 年より，国の研究班により，その原因物質の解明と，治療方法等の研究が行われている。

近年，研究班の研究により，通常の採血とほぼ同量の血液で，血中ダイオキシン類の測定が可能となったことより，従来から油症患者の各種症状の関連の可能性が示唆されていた，ダイオキシン類と各種臨床症状の関連性の分析を行った<sup>8)9)</sup>。

有意確立 5%未満で有意差が PCB 関連項目で多く見られたが，平成 14 年度の「熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究」における，山口，金子らによる「油症患者における発癌性の評価に関する研究」ならびに「油症における健康評価に関する研究」<sup>7)</sup>では，PCB パターン・CB 比と油症特有のダイオキシン類値との関係について分析がなされた結果，PCB パターンが A, B であった油症認定患者の PCDF 値の多くは，一般住民の測定最大値を越えていること，及び CB 比についても，PCDF 値との関連が見られたことが報告されている。今回，2001 年の分析では交互作用のため検定不能であった PCB 関連項目もあったが，2002 年の分析では PCB 関連項目の多くに有意差が見られたことから，従前の結果と同じ傾向が認められているといえる。

カネミ油症が，PCDF を含む PCB 関連化合物に汚染されていた米糠オイルによる食中毒事件であるから，PCB と PCDFs に関係があるのは当然の結果である。しかしながら，事件発生から 34 年が経過した現在において，これらの化合物が高濃度で体内に残留していることは留意すべき事項である。

「油症」診断基準と油症患者の暫定的治療指針（1968 年）<sup>1)</sup>で示されているように，初期の患者では，主観的，客観的な種々の症状が見られた。

最も顕著な徴候として，次の示すような口腔内と皮膚症状が見られている。

- 1) 色素沈着と爪の変化。時に扁平化をみるが，明らかな変形は認められない。
- 2) 毛孔に一致した黒点（著明化）
- 3) 手掌の発汗過多

表 6 2001 年度と 2002 年度に有意確率 10%未満を示した項目一覧

	検診票項目(血液検査等)	2001年度			2002年度			2年連続
		p 値	交互作用		p 値	交互作用		
			性	年齢		性	年齢	
1	PCB濃度 ↑	0.000**	○		0.000**			△
2	ピーク 2 ↑	0.005**	○		0.000**			△
3	ピーク 3 ↑	0.000**			0.000**			◎
4	PCBパターン	0.000**			0.000**	○		△
5	CB%比 ↑	0.000**			0.000**	○		△
6	PCQ濃度 ↑	—			0.000**			
7	尿蛋白 ↑	0.064			0.940			
8	白血球数 ↑	0.122			0.090*	○		
9	総ビリルビン ↓	0.158			0.029**	○		
10	直接ビリルビン ↓	0.007**			0.15			
11	γ-GTP ↑	0.657			0.068*	○		
12	HDL コレステロール ↓	0.148			0.077*			
13	中性脂肪 ↑	0.016**			0.105			
14	βリポ蛋白 ↑	0.016**			0.418			
15	クレアチニン ↑	0.237			0.081*			
内科検診項目								
1	飲酒有無	0.877			0.055*			
2	喫煙有無	0.590			0.003**		○	
3	喫煙本数 ↑	0.895			0.001**		○	
4	喫煙年数 ↑	0.134			0.011**			
5	下痢 ↑	0.192			0.038**	○		
6	しびれ感	0.073*			0.464			
7	しびれ感の頻度	0.061*			0.671			
8	体重 ↓	0.596			0.098*			
9	栄養 ↓	0.940			0.065*			
10	心音	0.940			0.026**			
11	呼吸音	0.708			0.023**			
12	肝腫	0.880			0.013**			
13	肝腫の大きさ	—			0.039**			
14	脾腫	0.880			0.058*			
15	浮腫	0.292			0.015**		○	
16	リンパ節腫大	0.948			0.042**			
17	肝胆脾エコー異常	0.105			0.062*			
皮膚科検診項目								
1	最近の化膿傾向	0.378			0.006**			
2	粉瘤の再発傾向	0.061*			0.000**	○		△
3	かつてのざ瘡様皮疹	0.471			0.025**			
4	かつての色素沈着	0.623			0.008**			
5	黒色面皰 (顔面)	0.514			0.013**	○		
6	黒色面皰 (耳介)	0.441			0.009**			
7	黒色面皰 (躯幹)	0.426			0.000**			
8	黒色面皰 (その他)	0.062*			0.006**			○
9	ざ瘡様皮疹 (外陰部)	0.332			0.006**	○		
10	ざ瘡様皮疹 (臀部)	0.516			0.025**			
11	ざ瘡様皮疹 (躯幹)	0.957			0.053*	○		
12	ざ瘡様皮疹 (その他)	0.500			0.002**			
13	癬痕化 (顔面)	0.014**			0.000**	○		△
14	癬痕化 (躯幹)	0.217			0.037**			
15	癬痕化 (その他)	0.575			0.062*			
16	爪変形	0.648			0.038**			

歯科検診項目							
1	歯肉炎 (下3~3)	0.048**			0.609		
2	その他	0.959			0.067*		
3	上歯肉の色素沈着	0.029**			0.036**		◎
4	上歯肉の色素沈着 (部位1 ; 7-4)	0.171			0.095*		
5	上歯肉の色素沈着 (部位2 ; 3-3)	0.035**			0.061*		○
6	上歯肉の色素沈着 (部位3 ; 4-7)	0.167			0.062*		
7	上歯肉の色素沈着 (びまん性)	0.011**			0.008**		◎
8	下歯肉の色素沈着 (部位3 ; 4-7)	0.077*			0.012**	○	△
9	下歯肉の色素沈着 (びまん性)	0.985			0.068*	○	
10	下歯肉の色素沈着 (斑点状)	-			0.039**		

2年連続欄の印について

◎は、2001年と2002年で連続して有意確率5%未満を示したもの。

○は、2001年と2002年で連続して有意確率10%未満を示したもの。

△は、有意確率が10%未満であるが、性・年齢との交互作用が見られたもの。

表7 2001年度・2002年度の連続して有意確率が10%未満であり、かつ性・年齢共に交互作用が無い項目

	項目	p 値		2年連続
		2001年度	2002年度	
検診票関係				
	ピーク3	0.000**	0.000**	◎
皮膚科検診項目				
	黒色面皰(その他)	0.062*	0.006**	○
歯科検診項目				
	上歯肉	0.029**	0.036**	◎
	上歯肉部位2	0.035**	0.061*	○
	上歯肉性状1(びまん性)	0.011**	0.008**	◎

2年連続欄の印について

◎は、2001年と2002年で連続して有意確率5%未満を示したもの。

○は、2001年と2002年で連続して有意確率10%未満を示したもの。

\*\* ; p < 0.05

\* ; p < 0.10

表8 2001年度及び2002年度に有意差が見られたものの内、性・年齢共に交互作用が無い項目数

p値	2001年度		2002年度		延べ		内2年連続	
	<0.1	<0.05	<0.1	<0.05	<0.1	<0.05	<0.1	<0.05
検診票	7	6	6	4	12	9	1	1
内科検診	2	0	11	6	13	6	0	0
皮膚科検診	3	1	11	10	13	11	1	0
歯科検診	7	5	9	5	13	7	3	2
眼科検診	0	0	0	0	0	0	0	0
計	19	12	37	25	51	33	5	3

- 4) 角性丘疹。特に皮膚汗脂分泌の多い部分 (例; 腋下部)
- 5) ざ瘡様皮疹, 面皰より集簇性ざ瘡とみられる重症型まで, さまざまである。
- 6) 脂腺部に一致した嚢胞 (外陰部に多く見られる)。
- 7) 小児の場合も上記を示すが, 若干症状を異にすることもある。すなわち, 全身特に四肢屈側に帽針頭大の落屑性紅斑の多発を認める場合があり, 多少のかゆみを訴える。
- 8) 掻痒は多くの例にはない。また, あっても軽度であり, 掻痕を認めない。
- 9) 皮膚は, 多少汚黄色を呈するが, 著名な色素沈着はない場合が多い。
- 10) 乾性脂漏
- 11) 口腔粘膜および歯肉に着色を見ることがある。
- 12) 耳垢の増加をみとめる。

眼科的にも特徴的な症状がみられた。

- 1) 脂漏 (meibomian 腺分泌) の増加
- 2) 眼球および眼瞼結膜の充血・混濁。異常着色
- 3) 角膜輪部の異常着色, 一過性視力低下
- 4) 上眼瞼の腫大

さらに, 全身所見としては, 手足のしびれ, 脱力感を訴えるが, 著明な麻痺は認めない。深部反射の減弱・消失や, 四肢末端の痛覚過敏を時に認めたが, これらの特有の徴候は, 数年の間に次第に低下した。これに従って, 診断基準は 1972 年, 1976 年, 1981 年に改訂された。

1976 年と 1981 年に改訂された「油症診断基準」 ([17] 参照) では, 重要な所見として, 次の症状が挙げられている。

- 1) ざ瘡様皮疹

顔面, 臀部, そのほか間擦部などに見られる黒色面皰, 面皰に炎症所見の加わったもの, および粥状内容物をもつ皮下嚢胞とそれらの化膿傾向。

- 2) 色素沈着

顔面, 眼瞼結膜, 歯肉, 指趾爪などの色素沈着 (いわゆる “ブラックベイビー” を含む)

- 3) マイボーム氏腺分泌過多
- 4) 血液 PCB の性状および濃度の異常

さらに, 参考となる症状と所見として, 以下の症状が示されている。

- 1) 全身倦怠感
- 2) 頭重ないし頭痛
- 3) 四肢のパレステジア (異常感覚)
- 4) 眼脂過多
- 5) せき, 痰
- 6) 不定の腹痛
- 7) 月経の変化
- 8) 気管支炎所見
- 9) 爪の変形
- 10) 粘液嚢炎
- 11) 血清中性脂肪の増加
- 12) 血清  $\gamma$ -GTP
- 13) 血清ビリルビンの減少
- 14) 新生児の SFD (Small-For-Dates Baby)
- 15) 小児では, 成長抑制および歯牙異常 (永久歯の崩出遅延)

特徴的な症状などは改善が見られるが、最近の研究の結果、下痢、心音の異常、呼吸音の異常、肝腫大、浮腫、リンパ節腫大、ざ瘡様皮疹、面皰、爪の奇形、歯肉への色素沈着などの症状が、2001年あるいは2002年に血中 PCDFs 濃度と有意な関係を示した。これらの中でも、歯肉の色素沈着と黒色面皰は、2001年、2002年と連続して血中 PCDFs 濃度との関係が見られている。

油症特有の臨床的な特徴を比較してみると、検査所見の大部分は、油症発生時においてさえも正常範囲内であったが、今も残っていることが判明した<sup>10)</sup>。

軽度の貧血と白血球増加が重症な患者でのみ観察されていた。

bromosulphalein bromosulphophthalein テストを含む肝機能テストでは、一定の異常を示すことは無かった。

$\alpha$ 2-グロブリン分画の偶然の上昇を除いては、血清タンパク質レベルもまた、正常範囲内であった。

血清電解質、BUN、血清鉄、血清亜鉛レベルも同じく正常範囲内であった。

血清脂質、特に血清中性脂肪の上昇は、極めて特徴的であった。

これらの上昇は、アガロースゲルを使用した電気泳動により、pre- $\beta$  分画の増加に起因することが判明している<sup>10)</sup>。

現在の研究では、2001年または2002年度において、血中 PCDFs 濃度は、直接ビリルビンの減少や、中性脂肪の増加、 $\beta$  リポ蛋白の増加とは、明らかに有意な関係が認められており、脂質代謝における PCB 化合物の慢性影響を示している。

興味深いことに、職業的に PCB に暴露された労働者についての研究においては、血液 PCB と血清中性脂肪の間に肯定的な相互関係を報告しているが<sup>11)</sup>、それは、中性脂肪の増加が PCDFs よりむしろ PCB の毒性に影響される可能性が考えられるからである<sup>12)~16)</sup>。

油症検診における血中ダイオキシン類の分析により、油症患者における PCB やダイオキシン類の血液濃度と臨床症状等の関係を明らかにすることができた。

今後、PCB 化合物等による慢性影響を明らかにしていくために、更なる研究が必要である。

## おわりに

最後に、本研究が平成 15 年度厚生労働省厚生科学研究費補助金事業により行うことができたことに、深く感謝申し上げます。

## 参 考 文 献

- 1) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Masuda Y editors. Yusho: a human disaster caused by PCBs and related compounds. Fukuoka: Kyushu University Press; 1996.
- 2) Kataoka K, Ohkubo A, Shinohara S, Takahashi K and Masuda Y: Statistical analyses of the annual examination data for yusho in Fukuoka. Fukuoka Igaku Zasshi 74: 296-301, 1983.
- 3) Takamatsu M, Oki M, Maeda K, Inoue Y, Hirayama H and Yoshizuka K: PCBs in blood of workers exposed to PCBs and their health status. Am J Ind Med 5: 59-68, 1984.
- 4) Imamura M, Masuda Y and Hirayama C: Blood levels of polychlorinated biphenyls in patients with polychlorinated biphenyls poisoning after fasting. Igakunoayumi 101: 78-79, 1977.
- 5) Toyota M, Utibe H, Yanagi T, Kono Y, Hori S and Iida T: Intake of PCDDs, PCDFs, and Coplanar PCBs via meals in Japan. Shokuhin Eiseigaku Zasshi 40-41; 98-110, 1999.
- 6) Yoshimura T: Yusho in Japan. Ind Health 41: 139-148, 2003.
- 7) Yamaguchi N and Kaneko S: 'A study on evaluation of carcinogenesis in patients with Yusho' and 'A study on health evaluation in Yusho'. Health and Labour Sciences Research, 2001 and 2002 integrated study report, 2002 summarized and allotted study report. p68-72, 2002.
- 8) Iida T, Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Matsueda T, Hori T et al.: Follow-up survey of dioxins in the blood of Yusho (in 2001). Fukuoka Igaku Zasshi 94: 126-135, 2003.
- 9) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T: New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Igaku Zasshi 94: 148-157, 2003.

- 10) Okumura M: Past and current medical states of yusho patients. *Am J Ind Med* 5: 13-18, 1984.
- 11) Takamatsu M, Oki M, Maeda K, Inoue Y, Hirayama H and Yoshizuka K: PCBs in blood of workers exposed to PCBs and their health status. *Am J Ind Med* 5: 59-68, 1984.
- 12) Junya Nagayama: A study on extracorporeal excretion of causative substances of Yusho. Health and Labour Sciences Research, 2001 and 2002 integrated study report, 2002 integrated and allotted study report.
- 13) Toyama C and Mamasa R: Risk assessment of dioxins. *Saishin Igaku* 57: 266-272, 2002.
- 14) Kumagai S, Oda H, Tabuchi T, Akasaka S, Kosaka H, Yoshida H et al.: The relationship between concentration of dioxins accumulated in dust of municipal incineration facilities and serum concentration of dioxins in those workers. *J Occup Health* 46: 1-9, 2004.
- 15) Barnes DG, Bellin J and Cleverly D: Interim procedures for estimating risks associated with exposures to mixtures of chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans (CDDs and CDFs). *Chemosphere* 15: 1895-903, 1986.
- 16) Safe S: Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol* 21: 51-88, 1990.
- 17) Furue M, Uenotsuti T and Urabe K: Overview of Yusho. *J Dermatol Sci*, in press.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## 油症における血液生化学検査値, $\alpha$ -フェトプロテインおよび HBs 抗原の検討

北九州津屋崎病院内科  
辻 博, 伊 東 靖 夫

### はじめに

1968年4月頃より, 北部九州を中心に polychlorinated biphenyls (PCB) 混入ライスオイル摂取による食中毒事件が発生した<sup>1)</sup>. ライスオイル製造工程で熱媒体として使用されていた PCB 製品のカネクロール 400 により汚染されたライスオイルを摂取したために起こったもので, 今日では油症として知られている. 油症発生以来 30 年以上が経過し発症当初みられた瘡瘡様皮疹等の種々の症状は徐々に軽快しているが, 一般住民に比べ体内の 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みられる. また, 油症ではポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) が原因油より検出され<sup>2)</sup>, 原因油の分析から算出した毒性等量 (TEQ: Toxic Equivalents) より原因物質として PCB より PCDF の毒性影響が大きいと考えられる<sup>3)</sup>. しかしながら, 油症において血液生化学検査値,  $\alpha$ -フェトプロテイン (AFP) あるいは HBs 抗原に対する PCDF の影響に関する報告はみられない. そこで, 今回は油症患者における血液生化学検査値, AFP あるいは HBs 抗原に対する血中 PCDF 濃度の慢性的影響について統計学的分析をおこない検討した.

### 1. 対象および方法

平成 14 年度に血液中ダイオキシン類の測定に同意の得られた油症患者 279 例を対象者とした. 検診の内容は自覚症状, 既往歴, 家族歴, 理学的所見, 検尿, 赤血球沈降速度, 末梢血液検査, 血液生化学検査, 胸部レントゲン検査, 心電図および腹部超音波検査などよりなり, 採血は午前中の空腹時に行なった.

血液生化学検査は総蛋白, アルブミン, ALT, AST, LDH, アルカリフォスファターゼ, LAP,  $\gamma$ -GTP, 総ビリルビン, 直接ビリルビン, コリンエステラーゼ, 総コレステロール, HDL コレステロール, 中性脂肪, 血糖, アミラーゼ, CPK, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸の 20 項目を自動分析装置 (日立 7150, 日立) を用い測定した. 腫瘍マーカーである AFP は RIA 法 (アーキテクト AFP, アボットジャパン) にて, HBs 抗原は CLIA 法 (オーストリア II, ダイナボット) により測定した.

血液中の PCDF 濃度の測定は福岡県保健環境研究所で行なった<sup>4)</sup>. 血液試料は以下の PCDFs, 10 同族体を測定し, 総 PCDF 値および TEQ を計算した.

2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran, 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzofuran, 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran, 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran, 1,2,3,6,7,8-hexachlorodibenzofuran, 2,3,4,6,7,8-hexachlorodibenzofuran, 1,2,3,7,8,9-hexachlorodibenzofuran, 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzofuran, 1,2,3,4,7,8,9-heptachlorodibenzofuran, octachlorodibenzofuran

結果は総 PCDF 値の対数値を従属変数とし, 血液検査値, 性, 年齢を固定因子として 3 元配置分散分析を行って検定した. 本分析における従属変数としては総 PCDF 値が最も適していると判定された. 性, 年齢との交互作用がみられず, 有意確率 10%未満を有意差とした.

### 2. 結果

20 項目の血液生化学検査値, 総蛋白, アルブミン, ALT, AST, LDH, アルカリフォスファターゼ, LAP,  $\gamma$ -GTP, 総ビリルビン, 直接ビリルビン, コリンエステラーゼ, 総コレステロール, HDL コレステロール, 中性脂肪, 血糖, アミラーゼ, CPK, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸および AFP, HBs 抗原

**Table 1** 油症患者における血液生化学検査値, AFP および HBs 抗原と総 PCDF 値の関連

	P
総蛋白	0.129
アルブミン	0.887
ALT	0.349
AST	0.129
LDH	0.382
アルカリフォスファターゼ	0.308
LAP	0.262
$\gamma$ -GTP	0.068 <sup>a</sup>
総ビリルビン	0.029 <sup>a, b</sup>
直接ビリルビン	0.150
コリンエステラーゼ	0.401
総コレステロール	0.944
HDLコレステロール	0.077 <sup>a</sup>
中性脂肪	0.105
血糖	0.569
アミラーゼ	0.558
CPK	0.309
尿素窒素	0.169
クレアチニン	0.081 <sup>a</sup>
尿酸	0.161
AFP	0.945
HBs 抗原	0.874

<sup>a</sup>P < 0.10, <sup>b</sup>性と交互作用あり.

について、総 PCDF 値の対数値を従属変数とし、血液検査値、性、年齢を固定因子として 3 元配置分散分析を行った検定結果を Table 1 に示した。3 元配置分散分析において  $\gamma$ -GTP (P=0.068)、HDL コレステロール (P=0.077) およびクレアチニン (P=0.081) の 3 項目に有意差が認められた。総ビリルビンの有意確率は 5%未満 (P=0.029) であったが、性との交互作用がみられ有意差は認められなかった。

### 3. 考 察

油症では、これまで血中 PCB 濃度と血液生化学検査値との関連が中性脂肪、総コレステロール、 $\gamma$ -GTP、総ビリルビン、および直接ビリルビンについて報告されている<sup>5)~8)</sup>。油症は原因油の分析から原因物質として PCB より PCDF の毒性影響が大きいと考えられている。しかしながら、油症において血液生化学検査値、AFP あるいは HBs 抗原に対する PCDF の影響に関する報告はみられない。そこで、20 項目の血液生化学検査値、AFP および HBs 抗原について総 PCDF 値を従属変数として血液検査値、性、年齢を固定因子とした 3 元配置分散分析を行った。検定結果において、 $\gamma$ -GTP、HDL コレステロールおよびクレアチニンの 3 項目に有意差が認められ、総 PCDF 値と  $\gamma$ -GTP、HDL コレステロールおよびクレアチニンの 3 項目との関連が考えられた。

油症患者における血液生化学検査値、AFP あるいは HBs 抗原に対する PCDF の影響についてはさらなる検討が必要と考えられた。

## 総 括

平成 14 年度に血液中 PCDF 濃度を測定した油症患者 279 例を対象に血液生化学検査値, AFP および HBs 抗原に対する PCDF の関与を検討した。総蛋白, アルブミン, ALT, AST, LDH, アルカリフォスファターゼ, LAP,  $\gamma$ -GTP, 総ビリルビン, 直接ビリルビン, コリンエステラーゼ, 総コレステロール, HDL コレステロール, 中性脂肪, 血糖, アミラーゼ, CPK, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸の 20 項目の血液生化学検査値, AFP および HBs 抗原について, 総 PCDF 値を従属変数として血液検査値, 性, 年齢を固定因子とした 3 元配置分散分析を行った。検定結果において,  $\gamma$ -GTP, HDL コレステロールおよびクレアチニンの 3 項目に有意差が認められ, 油症患者の  $\gamma$ -GTP, HDL コレステロールおよびクレアチニンに対して PCDF が関与していると考えられた

## 文 献

- 1) Kuratsune M, Yoshimura T, Matsuzaka J and Yamaguchi A : Epidemiologic study on Yusho, a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. Environ Health Perspect 1 : 119-128, 1972.
- 2] Hayabuchi H, Yoshimura T and Kuratsune M : Consumption of toxic rice oil by 'Yusho' patients and its relation to the clinical response and latent period. Food Cosmet Toxicol 17 : 455-461, 1979.
- 3] Oishi S, Morita M and Fukuda H : Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. Toxicol Appl Pharmacol 43 : 13-22, 1978.
- 4) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Igaku Zasshi 94 : 148-157, 2003.
- 5] 辻 博, 赤木公博, 村井宏一郎, 梶原英二, 藤島正敏 : 油症患者における肝障害および肝細胞癌。福岡医学雑誌 78 (5) : 343-348, 1987。福岡医誌 78 : 343-348, 1987.
- 6) 村井宏一郎, 辻 博, 藤島正敏 : 油症患者における腎機能。福岡医誌 80 : 318-323, 1989.
- 7) Hirota Y, Hirohata T, Kataoka K, Shinohara S and Tokiwa H : Laboratory findings in the medical examination of chronic "Yusho" (PCB Poisoning) patients : with special reference to blood PCB and serum triglyceride. Fukuoka Igaku Zasshi 84 : 287-293, 1993.
- 8] 辻 博, 池田耕一, 鈴木統久, 藤島正敏 : 油症患者における臨床検査所見の推移 油症発生 26 年後の検討。福岡医誌 86 : 273-276, 1995.

(参考文献のうち, 数字がゴシック体で表示されているものについては, 著者により重要なものと指定された分です.)

## 油症患者から出生した児の性比について

<sup>1)</sup> 全国油症治療研究班・追跡調査班

<sup>2)</sup> 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

<sup>3)</sup> 日本食品衛生協会

<sup>4)</sup> 東京大学病院企画情報運営部

上ノ土 武<sup>1)2)3)</sup>, 飯尾 靖枝<sup>1)</sup>, 只熊 幸代<sup>1)</sup>, 原塚 柳子<sup>1)</sup>,  
神奈川 芳行<sup>1)4)</sup>, 今村 知明<sup>1)4)</sup>, 古江 増隆<sup>1)2)</sup>

### はじめに

ダイオキシンやダイオキシン関連化合物の、次世代に対する影響について社会的関心が高まっている。吉村らは1968年から1977年の間に、油症患者から出生した85人の性比を、一般人の期待される男女比0.514と比較し、明確な差はない、と報告した<sup>1)</sup>。しかしながら、曝露者が父親か母親かと、親の曝露時の年齢との関連についての検討は、油症ではまだ行われていない。

油症と同様に、PCBやダイオキシン関連化合物が食用油に混入した例としては、台湾で発生したYu-chengがある。Yu-chengの原因物質は、油症の原因物質と極めて類似しており、Polychlorinated biphenyls (PCBs)やPolychlorinated dibenzofurans (PCDFs)が主なものである<sup>2)3)</sup>。

ダイオキシンやダイオキシン関連化合物に曝露された例は、イタリアのSevesoをはじめ複数の国から報告がある<sup>4)</sup>。Yu-chengや、Seveso、ロシアやオーストリアの塩素ざ瘡コホートでは、20歳前や20代前半に、ダイオキシンやダイオキシン類関連化合物に曝露した男性が父親である児の男女比は有意に低下している、との報告されている<sup>4)~7)</sup>。一方で、曝露した女性が母親である児の男女比については影響が認められない、との報告がYu-chengやSevesoからなされている<sup>3)8)</sup>。

### 性比の調査

我々は、油症において、ある特定の年代、すなわち20歳前や20代前半にダイオキシンやダイオキシン類関連化合物に曝露した男性が父親である児の男女比に影響があるかどうかを調査した。

調査の対象は、1969年から2002年の間に、少なくとも片方の親が油症患者である児である。本人、両親もしくは近縁の親類から、面談もしくは電話により聞き取り調査を行った。

その結果、417組の調査を行うことができた。その内訳は、195組では男親のみが患者であり、186組では女性のみが患者であり、36組では両親ともに油症患者である(表1)。そして、その両親から出生した児について男女比を検討した。男女比は男性数(M)を、男性数と女性数(F)の和で除したもの、すなわち $M/(M+F)$ を用いた。そしてその数値と、期待される男女比0.514と比較し、 $\chi^2$ 検定を用い、検定した。その結果を表2にまとめた。

この結果からは、母親のみが患者である場合は、児の男女比には影響がないことがわかった。20歳になる前に曝露した父親から出生した児の男女比、曝露時に20歳以上であった父親から出生した児の男女比、両親ともに曝露した親から出生した児は、いずれも期待される男女比0.514と比較して有意ではなかった。Sevesoやオーストリア塩素ざ瘡コホートでは、2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)が主な原因物質であり<sup>4)7)</sup>、ロシアでの2つのコホートでは、1, 2, 3, 7, 8-pentachlorodibenzo-p-dioxin (PeCDD)が主な原因物質であった<sup>6)</sup>。Yu-chengでは、PCDFsとPCBsが主な原因物質であり、それぞれ原因物質は異なる<sup>3)</sup>。ダイオキシンやダイオキシン関連化合物がどのようにして児の男女比に影響を及ぼすのかそのメカニズムについては解明されていない。油症のコホートで、有意な差が認められなかった理由についても、今後検討を加える必要がある。

**表1** 調査対象者の内訳  
両親ともに曝露した36組のうち、1人の母親は、曝露時18歳であった。

両親の曝露状況と人数		児の性別と人数	
非曝露女性と結婚した曝露男性 195人		男児	237人
		女児	210人
非曝露男性と結婚した曝露女性 186人		男児	190人
		女児	196人
両親ともに曝露 36組		男児	36人
		女児	29人
計 417家族			

**表2** 1969年から2002年の間に、油症患者から出生した児の数と性別  
両親ともに曝露した36組のうち、1人の母親は、曝露時18歳であった。

曝露状況	児の性		男女比	P値
	男性	女性		
父親のみ曝露、曝露時年齢20歳未満	194	174	0.527	0.613
父親のみ曝露、曝露時年齢20歳以上	43	36	0.544	0.590
母親のみ曝露、曝露時年齢20歳未満	168	181	0.481	0.223
母親のみ曝露、曝露時年齢20歳以上	22	15	0.595	0.327
両親ともに曝露	36	29	0.554	0.520

## 文 献

- 1) Yoshimura T, Kaneko S and Hayabuchi H: Sex ratio in offspring of those affected by dioxin and dioxin-like compounds: the Yusho, Seveso, and Yucheng incidents. *Occup. Environ. Med.* 58: 540-541, 2001.
- 2) Ikeda M: Comparison of clinical picture between Yusho / Yucheng cases and occupational PCB poisoning cases. *Chemosphere* 32: 559-566, 1996.
- 3) Rogan WJ, Gladen BC, Guo YL and Hsu CC: Sex ratio after exposure to dioxin-like chemicals in Taiwan. *Lancet* 353: 206-207, 1999.
- 4) Mocarelli P, Gerthoux PM, Ferrari E, Patterson DG Jr, Kieszak SM, Brambilla P, Vincoli N, Signorini S, Tramacere P, Carreri V, Sampson EJ, Turner WE and Needham LL: Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring. *Lancet* 355: 1858-1863, 2000.
- 5) del Rio Gomez I, Marshall T, Tsai P, Shao YS and Guo YL: Number of boys born to men exposed to polychlorinated biphenyls. *Lancet* 360: 143-144, 2002.
- 6) Ryan JJ, Amirova Z and Carrier G: Sex ratios of children of Russian pesticide producers exposed to dioxin. *Environ. Health Perspect.* 110: A 699-701, 2002.
- 7) Moshhammer H and Neuberger M: Sex ratio in the children of the Austrian chloracne cohort. *Lancet* 356: 1271-1272, 2000.
- 8) Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, Chee WY, Gerthoux PM, Samuels S, Needham LL and Patterson DG Jr: Maternal serum dioxin levels and birth outcomes in women of Seveso, Italy. *Environ Health Perspect* 111: 947-953, 2003.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## ヒト血液中ダイオキシン類の抽出・精製法の改良および 油症患者血液中ダイオキシン類濃度

<sup>1)</sup> 社団法人日本食品衛生協会

<sup>2)</sup> 福岡県保健環境研究所

戸高 尊<sup>1)</sup>, 平川博仙<sup>2)</sup>, 堀 就英<sup>2)</sup>, 飛石和大<sup>2)</sup>, 飯田隆雄<sup>2)</sup>

### はじめに

1968年、九州北部を中心に西日本一帯で発生したカネミ油症事件は、国内最大の食品公害事件である。油症は polychlorinated biphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) および polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) 等が混入したライスオイルを摂取したことにより生じた<sup>1)</sup>。この症状は、これら化合物の残留性が極めて高いために、当初の予想を超えて、従来の医学的治療法で処置することが非常に困難であることが、やがて明らかになった。油症が発症してから30年以上が過ぎ、多くの患者で初期に見られたような特徴的な所見がほとんど消失している。しかしながら、患者は、今でもいくつかの自覚症状に悩まされている。近年、塩素系炭化水素による環境汚染が懸念され、地球的な規模で生態系を脅かしている事実が明らかになってきている。それゆえ、油症研究は、この病気の被害者のためにも、また PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs による暴露を受けている一般の人々にも重要である。

油症に関する広範囲な研究が油症研究グループにより行われてきた<sup>1)</sup>。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、血液中 PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度の追跡調査を行って来た<sup>2)~4)</sup>。一般に、血液試料から正確に PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 濃度を測定するのに、血液 20-50 ml 必要である<sup>5)</sup>。しかしながら、患者の大部分は60歳以上の高齢者なので血液の採血量は制限される。したがって、患者の身体的負担を軽減させるため、5g程度の血液量で PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 濃度を正確に評価できる超高感度分析法の開発が必要である。加えて、現在汎用されている抽出・精製法は、操作が煩雑で測定に至るまでに長時間を要し、迅速な対応ができないという問題があった。近年、5gの血液量でダイオキシン類濃度を正確に評価できる超高感度分析法および血液試料の前処理(抽出・精製)法を迅速化する方法について検討を行った。この方法は3つのステップから構成される、高速溶媒抽出装置 (accelerated solvent extractor, ASE) による血液試料から脂肪の抽出; 従来法の1/4スケールでのカラムクリーンアップ操作; 大量注入装置 (solvent-cut large volume injection system, SCLV) を装備した高分解能ガスクロマトグラフ / 高分解能質量分析法 (high-resolution gas chromatography / high-resolution mass spectrometry, HRGC / HRMS) による PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 類の超高感度分析である。大量注入装置の装備により HRGC / HRMS の相対感度は10倍以上向上した。その結果、5gの血液量でも PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 濃度の測定が可能となった。この方法を用いて、2001年に福岡県在住の油症患者78名から採取した血液中 PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 濃度を測定した<sup>4)</sup>。

今回、新しい油症診断基準を策定するために、平成14年度から3年計画で全国油症患者血液中ダイオキシン濃度の追跡調査を含めた研究事業が立ち上げられた。初年度は、約400人の患者血液中ダイオキシン類濃度を測定計画予定で、一昨年度報告した方法よりも、高い再現性で短時間の間に多数のサンプルを効率的に処理する方法が必要であった。このため血液試料の前処理段階で費やす時間を大幅に短縮するために、以前報告した方法を一部改良した。この方法を用いて、平成14および15年度に、それぞれ279名および269名の油症患者から採取した血液中のダイオキシン類濃度を測定し、以前測定した一般健常人(52名)の結果と比較した。

## 1. 実験方法

### (1) 試薬

n-ノナンは関東化学社製の試薬特級を、その他の溶媒はすべてダイオキシン分析用（関東化学㈱）を用いた。無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験・PCB分析用（関東化学㈱）を用いた。GC/MSのキャリブレーションスタンダードはWellington Lab.社製のCS-3 C / CP 81を使用した。内部標準物質として<sup>13</sup>Cでラベルした7種のPCDDs, 10種のPCDFs及び4種のNon-ortho-coplanar-PCBsを使用した。硝酸銀 / シリカゲルは和光純薬工業㈱製を使用した。活性炭（ナカライテスク社製）はトルエンで還流精製し、無水硫酸ナトリウムに分散させ用いた（1 : 1000, w / w）。使用したカラム充填材（無水硫酸ナトリウム, 硝酸銀シリカゲルおよび活性炭硫酸ナトリウム）は高速溶媒抽出装置を用いてヘキサンあるいはトルエン溶媒で脂肪抽出時と同条件下で洗浄した。使用したすべてのガラス器具はダイオキシンクリーンオープン（アルプ㈱）で450°C（6時間）加熱後、使用した。その他の試薬は市販の試薬特級を用いた。

### (2) 血液試料からの抽出・精製法

血液中からの脂質の抽出は高速溶媒装置（ASE-200, 日本ダイオネクス社製）を用いて行った<sup>67)</sup>。血液試料5 gを3 gのIsolute（珪藻土）を充填した抽出セル中に注入し、約14時間凍結乾燥を行った。クリーンアップスパイクを添加後、抽出セルを装置本体に装着し、温度150°C, 圧力2000 psiの条件下で10分間、アセトン / ヘキサン（1 : 3, v / v）で2回抽出した。得られたアセトン / ヘキサン抽出液を減圧下濃縮し、秤量ビンに移した。溶媒を完全に留去させ、恒量とした後の重量から秤量ビンの風袋重量を差し引いた値を脂質の重量とした。抽出した脂質にn-ヘキサン5 mlを加えて溶解し、濃硫酸3 mlを加えて一夜放置した。そのヘキサン層を10%（w / w）硝酸銀シリカゲルを乾式充填したカラムに負荷した後、ヘキサン15 mlで溶出させた。その溶出液を0.1%（w / w）活性炭 / 無水硫酸ナトリウム0.5 gを乾式充填したカラムに直接負荷させ、ジクロロメタン / n-ヘキサン（1 : 9, v / v）10 mlでMono-ortho-Co-PCB類を、トルエン25 mlでダイオキシン類（PCDDs, PCDFs および Non-ortho-Co-PCBs）を溶出した。得られた両画分は0.5 ml以下に減圧下濃縮した。トルエン画分は風乾後、ジクロロメタンを用いて洗いこみ、その溶液を0.2 mlまで室温で濃縮後、10 μlのn-ノナンを加えたGC / MS用バイアルビンに添加した。ジクロロメタンを室温で完全に留去後、シリンジスパイクを加えて質量分析用試料液とした。

### (3) PCDDs, PCDFs および Co-PCBs の分析法

血液中PCDDs, PCDFs および Co-PCBsの濃度は、大量注入装置（SCLV）を装備した高分解能ガスクロマトグラフ / 高分解能質量分析装置（HRGC/HRMS）を用いて行った<sup>67)</sup>。HRGC / HRMSは、GC部はAgilent社製HP-6890 A, MS部はMicromass社製AutoSpec-Ultima NTを使用し、SCLVはSGE社製を使用した。カラムとして、プレカラムにBPX5（SGE社製、内径；0.25 mm；膜厚 0.25 mm；長さ；6 m）および分析カラムにBPX5-Dioxin I（SGE社製、内径；0.15 mm；長さ；30 m）を使用した。昇温条件は、160°C（0分間保持）から300°Cまで20°C / 分で昇温、300°C（8分間保持）、70°C / 分で降温、195°C（0.5分間保持）から300°Cまで3°C / 分の割合で昇温、300°C（1分間保持）で行った。試料注入法は、SCLV injectionシステムを用いた。イオン化法はEI法で、イオン源温度とインターフェイス温度は、それぞれ280°Cで、イオン化電圧、イオン化電流および加速電圧は、それぞれ40 eV, 750 μA および8000 Vに設定し、分解能10000に調整した。キャリアーガスとしてHeを用い、流速1.3 mL / minで行った。

Selected Ion Monitor (SIM)法によって、PCDDs, PCDFs および Co-PCBs類の定量を行った。PCDDs類の定量には、<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-2,3,4,7,8-TCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,7,8-PeCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,7,8-HxCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,6,7,8-HxCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,7,8,9-HxCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD 及び<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,6,7,8,9-OCDDを内標準とした。PCDFs類の定量には、<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-2,3,7,8-TCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,7,8-PeCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-2,3,4,7,8-PeCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-

1,2,3,6,7,8-HxCDF,  $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF,  $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF,  $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF,  $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8,-HpCDF,  $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF 及び $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF を内標準とした。また、Non-ortho-Co-PCBs 類の定量には、 $^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4,4'-TCB,  $^{13}\text{C}_{12}$ -3,4,4',5'-TCB,  $^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4,4',5'-PeCB および  $^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4,4',5',5'-HxCB を内標準とし、相対検量線法を用いた。検出下限値は厚生労働省の血液中ダイオキシン類の測定分析法（暫定）に記載の脂質中濃度を用いた。

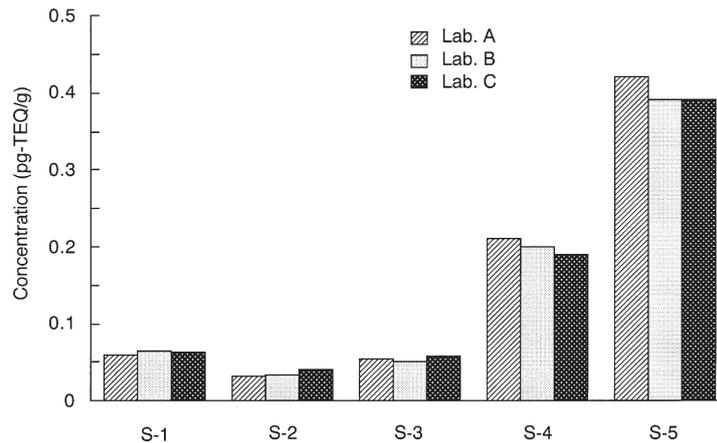
## 2. 結果および考察

新しい油症診断基準を策定するために、平成 14 年度から 3 年計画で全国油症患者血液中ダイオキシン濃度の追跡調査を含めた研究事業が立ち上げられた。初年度は、約 400 人の患者血液中ダイオキシン類濃度を測定計画で、血液試料の前処理段階で費やす時間を大幅に短縮するために、一昨年度報告した方法を一部改良した。血液試料からの脂肪の抽出は、前回同様高速溶媒抽出装置 (ASE) を用いて行った<sup>6)7)</sup>。ASE は、温度と圧力を加えることで、抽出目的物の溶媒への溶解度を増大し、従来の液-液抽出法に比べて少量の溶媒で、ソックスレー法や超臨界液体抽出法に匹敵する回収率と再現性が得られる抽出装置として注目されている<sup>8)~11)</sup>。今回、血液試料を ASE で抽出させる前に、血液試料を一昼夜凍結乾燥させることにより、前回まで実施していた無水硫酸ナトリウムによる脱水処理操作を省くことが可能となり、この操作に費やす時間と労力を大幅に軽減することができた。さらに、クリーンアップ時に別々に行っていた硝酸銀カラムおよび活性炭カラムクロマトグラフィーを連結して行うことで、一日に処理するサンプル数を飛躍的に向上することができた。従って、今回改良した方法は一昨年度報告した方法より効率的で迅速な人体暴露評価に対応できる方法であると言える。

ヒト血液中 PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度は、環境試料と異なり極めて低濃度である。測定しようとするダイオキシン類は、環境中に存在しているので、試料以外のあらゆるところに分布している。抽出・精製操作中の血液試料をダイオキシン類の汚染から守り、ブランク値を低減化することが、血液中ダイオキシン類分析における最重要課題である。従って、血液中 PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度に影響を及ぼさないようにブランク値を定量下限値の 1 / 10 以下に低減化する必要がある。この問題を解決するために、血液試料から PCDDs, PCDFs および Co-PCBs の抽出・精製を行う実験室を専用化した。実験室内もクリーン度を上げるために徹底的に改善した。使用したカラム充填材（無水硫酸ナトリウム、硝酸銀シリカゲルおよび活性炭硫酸ナトリウム）も高速溶媒抽出装置を用いてヘキサンあるいはトルエン溶媒で脂肪抽出時と同条件下で洗浄したものを用いた。使用したすべてのガラス器具も 450°C, 6 時間ダイオキシンクリーンオープンで加熱して用いた。さらに、前処理法を簡略化し、各溶媒の消費量を可能な限り削減した。以上のことより、PCDDs, PCDFs および Co-PCBs の測定に影響をおよぼさない程度にブランク値を低減化することができた。

今回改良した方法の測定精度を明らかにする目的で、血液 5 検体を調製し、各血液検体中ダイオキシン類濃度の測定を、20 g の試料を用いて公定法に準じて行う測定機関に依頼し、測定結果を比較した (Fig. 1)。その結果、各検体の脂質含量とダイオキシン類濃度は、20 g を用いて公定法で行った測定機関とほぼ同じ値を示した。同じ血清サンプルを用いて 10 週間再現性を検討した結果、高い再現性が得られた (Table 1)。さらに、再現性検討時の内部標準物質の回収率もほとんど 65% 以上であった (Table 2)。以上の結果から、今回改良した方法は、公定法で実施した場合と同等の結果が得られることが示された。

本法を用いて、平成 14 および 15 年度に日本在住の、それぞれ 279 名および 269 名の油症患者から採取した血液中 PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度を測定した結果と平成 13 年度に測定した 78 名の福岡県在住の油症患者の測定結果を Table 3 に示す。平成 13 から 15 年度に受診した油症患者の血液中ダイオキシン類の総 toxic equivalent quantity (TEQ) 濃度の平均値は、それぞれ 179.3, 136.4 および 125.0 pg-TEQ / g lipid で、その濃度は一般健常人のそれぞれ 4.9 倍, 3.7 倍および 3.4 倍であった。油症患者の血液中 PCDDs および Co-PCBs 濃度は、ほぼ健常人と同レベルなのに対し、PCDFs 濃度は健常人のそれぞれ 13.8 倍 (平成 13 年), 10.3 倍 (平成 14 年) および 9.5 倍 (平成 15 年) 高い値を示した。総 TEQ 濃度



**Fig. 1** Comparison of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs concentrations in the five human control blood samples by our laboratory (Lab. A) and two differ dioxin analysis organization (Lab. B and C). Co- PCB: coplanar polychlorinated biphenyls; PCDD: polychlorinated dibenzo-p-dioxins; PCDF: polychlorinated dibenzofurans; TEQ: toxic equivalent quantity. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

**Table 1** Reproducibility test of the improved method conducted using the same control serum sample for 10 weeks

Congeners	Concentration (pg/g lipid)									
	Week									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2,3,7,8-TCDD	1.9	2.0	1.7	1.6	2.0	1.9	1.7	1.9	1.8	1.9
1,2,3,7,8-PeCDD	5.8	6.2	6.7	6.8	6.1	6.4	7.1	7.4	7.3	6.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7.9	7.9	7.3	7.1	8.1	6.9	8.3	8.0	7.6	6.5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	58.4	51.9	57.6	57.9	60.9	57.5	59.5	56.2	54.1	57.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	10.9	9.4	9.1	8.9	10.1	8.5	9.8	9.4	8.8	9.4
1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	152.0	151.3	144.5	155.6	142.9	142.7	136.8	132.8	124.2	134.7
OCDD	1804.8	1783.8	1817.8	1785.1	1761.9	1804.8	1852.9	1843.5	1640.5	1887.6
2,3,7,8-TCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	ND								
2,3,4,7,8-PeCDF	6.0	6.1	5.6	5.1	7.1	6.1	6.1	6.6	5.7	6.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7.5	7.1	7.2	7.0	7.7	6.4	7.9	7.3	7.7	7.6
1,2,3,6,7,8-HxCDF	7.5	6.6	7.4	7.9	7.7	7.2	7.9	8.2	7.5	7.5
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.0	ND	2.8							
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	15.7	16.7	16.6	17.0	18.0	18.3	18.0	15.5	17.7	18.6
1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4,4'-TCB(77)	54.4	44.9	44.8	46.6	46.1	46.9	47.4	45.5	45.0	47.4
3,3',4,4',5'-PeCB(126)	28.5	24.9	23.9	25.9	25.9	25.4	23.9	23.4	25.6	23.4
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	23.6	22.4	22.5	23.5	22.9	22.4	24.5	20.2	23.3	22.8
Total PCDD	2041.7	2012.6	2044.6	2023.1	2028.6	2076.1	2059.3	1844.4	2103.9	2061.9
Total PCDF	44.3	42.5	42.8	43.0	43.7	46.2	46.1	43.0	46.8	47.4
Total PCDD/PCDF	2086.0	2055.1	2087.4	2066.1	2072.3	2122.3	2105.3	1887.4	2150.7	2109.3
Total co-planar PCB	111.5	97.3	96.2	101.1	99.9	99.7	100.9	94.1	98.9	98.6
Total	2197.5	2152.3	2183.6	2167.2	2172.2	2222.1	2206.2	1981.6	2249.6	2207.9
Total PCDDs-TEQ	17.1	16.8	17.4	17.6	17.1	18.1	18.2	17.6	17.5	16.3
Total PCDFs-TEQ	5.1	4.9	4.7	4.5	4.9	5.1	5.3	4.9	5.3	5.3
Total PCDDs/PCDFs-TEQ	22.2	21.7	22.1	22.1	22.0	23.2	23.5	22.5	22.7	21.6
Total coplanar PCBs-T	3.1	2.7	2.6	2.8	2.8	2.8	2.6	2.5	2.8	2.6
Total TEQ	25.3	24.4	24.7	24.9	24.9	26.0	26.2	25.1	25.5	24.2
Lipid (%)	0.27	0.28	0.28	0.27	0.27	0.26	0.26	0.29	0.27	0.27

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: 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. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

Table 2 Recovery of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs at the reproducibility test

Congeners	Recovery (%)									
	Week									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
13C-2,3,7,8-TCDD	70.0	72.8	68.4	84.4	76.7	66.0	70.6	74.4	66.1	57.6
13C-1,2,3,7,8-PeCDD	81.7	92.7	85.2	96.2	85.6	72.0	79.0	86.7	80.6	68.2
13C-1,2,3,4,7,8-HxCDD	100.0	114.2	101.1	111.5	95.6	74.2	91.0	108.0	93.1	81.6
13C-1,2,3,6,7,8-HxCDD	89.6	104.1	89.3	100.0	85.2	67.1	84.7	96.4	87.1	73.9
13C-1,2,3,7,8,9-HxCDD	91.9	102.8	93.9	98.3	89.0	73.5	79.9	92.6	82.1	68.6
13C-1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	100.6	111.6	93.3	102.8	84.5	74.7	88.9	108.7	88.7	79.4
13C-OCDD	92.2	101.5	91.7	97.6	81.4	73.5	88.6	106.4	80.9	84.5
13C-2,3,7,8-TCDF	88.2	92.4	83.6	101.6	97.9	79.2	89.8	84.3	87.6	76.0
13C-1,2,3,7,8-PeCDF	72.3	78.4	70.6	80.5	73.6	60.9	69.1	66.6	67.0	56.9
13C-2,3,4,7,8-PeCDF	77.7	82.0	82.1	96.2	84.1	72.6	80.0	83.9	81.5	69.2
13C-1,2,3,4,7,8-HxCDF	86.0	96.7	85.0	95.1	85.5	69.3	82.1	90.4	82.8	72.3
13C-1,2,3,6,7,8-HxCDF	81.4	94.6	81.1	92.8	81.1	67.9	78.8	88.7	77.1	69.8
13C-2,3,4,6,7,8-HxCDF	108.2	113.3	100.9	115.5	96.9	80.2	91.2	98.6	92.7	82.3
13C-1,2,3,7,8,9-HxCDF	104.9	112.1	94.6	100.1	85.5	72.8	86.7	85.1	90.1	75.1
13C-1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	91.1	97.1	85.6	93.6	80.1	68.2	80.8	84.1	74.6	74.0
13C-1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	96.3	102.1	92.2	98.3	83.5	70.9	89.0	102.7	85.8	79.3
13C-OCDF	83.3	96.5	87.4	95.5	77.2	71.1	85.7	101.7	79.5	80.0
13C-3,4,4',5'-TCB(81)	62.2	77.6	70.0	90.6	88.1	64.0	59.1	77.3	62.1	58.2
13C-3,3',4,4'-TCB(77)	64.3	76.3	67.2	89.9	85.0	64.4	63.3	75.8	62.0	57.9
13C-3,3',4,4',5'-PeCB(126)	68.0	79.0	71.1	88.1	78.9	64.6	71.4	75.9	70.5	58.2
13C-3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	85.2	90.7	87.5	93.6	87.3	71.6	76.5	86.3	76.2	67.9

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: hepta; 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.

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

に対する PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度の割合を健常人と比較した結果, 油症患者の場合, PCDFs 濃度が総濃度の約 8 割を占めていた. PCDFs 異性体間で特に高い濃度を示す 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は, 健常人のそれぞれ 16.8 倍 (平成 13 年), 12.6 倍 (平成 14 年) および 11.6 倍 (平成 15 年) 高い値を示した. 以上の結果から, 油症発症から 34 年経過した現在も患者の血中 PCDFs 濃度, 特に 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は依然高いレベルにあり, 新しい油症診断基準を策定する上で最も重要な要素と考えられる.

今後の検討課題として, 血液試料からダイオキシン類の抽出に ASE を用いた場合, 1,2,3,6,7,8-HpCDD 及び OCDD の濃度が公定法で実施した研究機関の結果と比較して, それぞれ 1.5 倍及び 2.0 倍高い値を示した. その要因については, まだ明らかにしていないが, 1,2,3,6,7,8-HpCDD 及び OCDD の toxic equivalent factor (TEF) 値がそれぞれ 0.01 及び 0.0001 と低い値なので, TEQ 濃度に換算した場合, これまで大きな影響を及ぼさなかった. しかしながら, この要因についての解明を早急に実施したいと考えている. さらに, 患者の身体的負担を軽減させるために, 5 g 以下の血液量でも, 十分測定可能になるよう HRGC / HRMS の測定感度を現在よりも向上させたいと思っている. 大量注入装置として, SCLV injection system を用いると, 注入した試料中の溶媒がほとんどプレカラムにより除去され, 分析目的成分のみがコールドトラップ部で濃縮されるため, 通常のスプリットレス方式と比較して, 分析カラム内における初期の試料バンドを狭くすることが可能となる<sup>12)</sup>. そのため, 各異性体の良好な分離が得られるばかりでなく, ピークの半値幅が狭くなり, ピーク強度が向上した. この原理を応用して, さらに今よりも内径の細い分析用キャピラリーカラムを用いることでピーク強度が向上し S / N 比の改善が期待される. この新しいテクニックを現在検討中である.

## 謝 辞

本研究は 2003 年度厚生科学研究費補助金 (生活安全研究事業部) に負うものである. ここに記して謝意を表します.

Table 3 Concentrations of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in the blood of Yusho patients collected in 2001-2003

Congeners	Concentration (pg/g lipid)											
	Yusho patients						Normal controls					
	2001 (n = 78)		2002 (n = 279)		2003 (n = 269)		1997 (n = 54)		1997 (n = 54)		1997 (n = 54)	
Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.1	ND	4.1	1.7	0.8	ND	4.4	1.7	0.8	ND	5.6
1,2,3,7,8-PeCDD	20.4	11.0	3.3	53.5	11.1	5.9	1.5	46.8	9.7	5.4	ND	45.2
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.4	1.8	ND	7.7	2.9	1.8	ND	10.8	2.6	1.6	ND	8.5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	56.7	43.4	4.4	230.1	53.0	41.7	6.0	290.7	50.4	42.6	3.8	348.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	2.3	ND	11.0	5.1	3.8	ND	41.0	3.9	2.7	ND	17.9
1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	26.6	20.7	5.4	143.6	63.4	53.7	10.8	556.3	38.6	22.9	8.5	167.2
OCDD	667.7	750.5	137.5	6226.3	877.2	728.2	172.5	9158.6	763.3	438.9	147.6	3706.1
2,3,7,8-TCDF	1.8	2.5	ND	14.4	1.4	0.9	ND	6.3	1.2	0.7	ND	4.9
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	0.9	ND	4.2	0.9	0.8	ND	6.3	0.8	0.7	ND	5.6
2,3,4,7,8-PeCDF	256.1	315.3	6.7	1770.6	192.0	252.1	3.1	1889.7	176.2	240.2	2.6	1953.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	82.7	117.2	2.0	632.3	59.0	99.6	ND	769.9	52.0	87.2	ND	737.7
1,2,3,6,7,8-HxCDF	29.7	34.4	ND	176.1	22.4	29.1	ND	210.0	20.4	27.0	ND	231.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	10.8	3.2	4.0	ND	39.8	2.8	2.6	ND	22.8
1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	3.9	2.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(81)	5.4	2.3	ND	20.6	5.6	3.1	ND	41.0	5.3	1.8	ND	21.8
3,3',4,4'-TCB(77)	7.8	4.7	ND	28.5	11.0	7.2	ND	46.1	8.6	6.4	ND	71.8
3,3',4,4',5'-PeCB(126)	84.4	58.5	17.8	319.5	103.1	71.7	ND	560.9	98.1	65.3	11.2	531.7
3,3',4,4',5',5'-HxCB(165)	207.1	166.0	31.0	964.0	200.0	154.5	12.7	1131.4	183.8	139.2	12.7	1115.6
Total PCDD	780	766	177	6423	1014	782	212	9802	870	470	181	3924
Total PCDF	381	461	18	2594	284	375	13	2744	259	352	12	2938
Total PCDD/PCDF	1161	840	308	6493	1299	866	232	9886	1129	602	242	3991
Total coplanar PCBs	305	168	66	1006	320	186	28	1220	296	168	37	1218
Total	1466	921	373	6822	1618	948	313	10294	1425	703	293	4933
PCDDs-TEQ	28.9	14.0	5.7	70.2	19.5	10.4	3.3	78.5	17.6	9.9	2.2	82.5
PCDFs-TEQ	139.8	171.8	4.1	966.7	104.6	137.9	2.1	1029.4	95.8	131.1	1.8	1074.4
PCDDs/PCDFs-TEQ	168.7	180.4	11.7	1036.9	124.1	146.7	5.4	1107.9	113.3	139.7	3.9	1156.9
Coplanar PCBs-TEQ	10.5	5.8	2.2	32.6	12.3	7.7	0.6	59.4	11.7	6.9	1.4	56.0
Total TEQ	179.3	180.5	13.9	1049.7	136.4	148.3	7.0	1126.1	125.0	141.2	5.5	1176.6
Lipid (%)	0.3	0.1	0.2	0.6	0.3	0.1	0.2	0.6	0.4	0.1	0.2	0.6
Age (years)	65.3	11.2	33.0	84.0	63.6	12.6	30.0	88.0	65.7	11.7	32.0	89.0

The data from normal controls are cited in the report by Matsueda et al. (7th Symposium on Environmental Chemistry, 4-5 Jun 1998, Kyoto, Japan).  
 CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: 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; SD: standard deviation; TCDD: tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.  
 (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

## 文 献

- 1] Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura Y and Masuda Y, editors. Yusho : A human disaster caused by PCBs and related compounds. Fukuoka : Kyushu University Press ; 1996.
- 2] Iida T, Hirakawa H, Matsueda T and Nakagawa R : Concentrations of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in blood of 83 patients with Yusho. Fukuoka Igaku Zasshi 88 : 169-176, 1997.
- 3] Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Yu ML and Guo YL : Recent trend of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and their related compounds in the blood and sebum of Yusho and Yu Cheng patients. Chemosphere 38 : 981-993, 1999.
- 4] Takenaka S, Hirakawa H, Nakamura M, Nakagawa R, Iida T and Todaka T : Follow-up survey of dioxins in the blood of Yusho patients (in 1998-1999). Fukuoka Igaku Zasshi 2001 ; 92 : 139-48.
- 5] Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Nagayama J, Nagata T. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related compounds : correlations of levels in human tissues and in blood. Chemosphere 38 : 2767-2774, 1999.
- 6] Todaka T, Hirakawa H, Tobiihi K and Iida T : New protocol for dioxin analysis of human blood. Fukuoka Igaku Zasshi 94 : 148-157, 2003.
- 7] Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood : Improvement of analytical method. Ind Health 41 : 197-204, 2003.
- 8) Bautz H, Polzer J and Stieglitz L : Comparison of pressurized liquid extraction with Soxhlet extraction for the analysis of PCDDs and PCDFs from fly ash and environmental matrices. J Chromatogr 815 : 231-241, 1998.
- 9) McCant DD, Inouye LS and McFarland VA : A one-step ASE extraction method for TCDD TEQ determination. Bull Environ Contam Toxicol 63 : 282-288, 1999.
- 10) Richter BE, Ezzell JL, Knowles DE and Hoefler F : Extraction of polychlorinated-p-dioxin and polychlorinated dibenzofurans from environmental samples using accelerated solvent extraction (ASE). Chemosphere 34 : 975-987, 1997.
- 11) Windal II, Miller DJ, Pauw E and Hawthorne SB : Supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction of dioxins from high- and low-carbon fly ash. Anal Chem 72 : 3916-3921, 2000.
- 12) Matsumura T, Masuzaki Y, Ezaki T, Ohashi M and Morita M : Detection of low femto gram dioxins- Development of column switching-solvent cut large volume/multiple injection cryofocus trap GC-HRMS. 20th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs ; 2000 August 13-17 ; Monterey, California, USA. Organohalogen Compounds 45 : 25-28, 2000.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## カネミ油症検診者における血球数と血液生化学の変化

- 1) 長崎県カネミ油症研究班  
2) 長崎大学医学部保健学科  
3) 星城大学リハビリテーション部  
4) (財)長崎原対協中央診療所  
5) 長与病院

吉村俊朗<sup>1)2)</sup>, 中野治郎<sup>2)</sup>, 沖田 実<sup>3)</sup>, 菊池康樹<sup>2)</sup>, 北村 喬<sup>1)4)</sup>, 石川武彦<sup>1)5)</sup>

### はじめに

工業化合物のひとつであるポリ塩化ビフェニル (polychlorinated biphenyls; PCBs) は蛍光灯の安定器, コンデンサー, 印刷用インクなどに使用されてきた。また, 日本では PCBs の生産は 1973 年より禁止されたものの, PCBs を含む製品の廃棄や焼却, 処理場や保管場所からの漏洩, 違法投棄などにより, 環境中に放出され, 海洋や河川などの低泥や土壌への残留が指摘されている。PCBs は化学的に安定した親油性物質であるため, 食物連鎖で生物濃縮され, 食物中に残留し, 最終的にはヒトの体内に蓄積されていくことが報告されている<sup>1)</sup>。また, 一度上昇した血中 PCBs 濃度は不変であり, むしろ増加傾向を示すと報告されている<sup>2)</sup>。

一方, 1968 年, 熱交換目的に使用されていた PCBs が米ぬか油に混入し, 西日本の広範囲で食中毒として油症が発生した<sup>5)</sup>。また, 米ぬか油の製造工程での高熱処理によって PCBs と塩素化ベンゼンは熱分解され, ポリ塩化ジベンゾフラン (polychlorinated dibenzofurans; PCDFs) やポリ塩化ジベンゾダイオキシン (polychlorinated dibenzo-p-dioxins; PCDDs) が生成される。汚染された米ぬか油には, PCB やコプラナー PCB だけでなく, ポリ塩化クアターフェニール (polychlorinated quarterphenyl; PCQ), PCDFs, PCDDs およびそれらの関連物質も含まれていた。

しかし, PCBs ならびにダイオキシン類のヒトに及ぼす影響を長期間にわたって観察した報告はない<sup>3)4)</sup>。1968 年に発生したカネミ油症患者の血液を 1986 年から 2002 年の期間, 調査し, 血中の PCBs, PCQ, ポリ塩化ジベンゾダイオキシン (dibenzo-p-dioxins; PCDDs), ポリ塩化ジベンゾフラン (polychlorinated dibenzofurans; PCDFs) 濃度, ならびに血液血球成分, 腎機能, 電解質, 尿に及ぼす影響を検討したので報告する。

### 1. 対象と方法

1986 年から 2002 年までの期間, 1041 名の油症検診者から採血し, 延べ 5584 の検体を得た。油症検診者の内訳は, 男性が 474 名 (平均年齢 50.3 歳, 1~91 歳), 女性が 567 名 (平均年齢 51.7 歳, 1~87 歳) であった。そして, その 1041 名からさらに, 血中 PCQs 濃度が 0.1 ppb 以上を示した患者群 374 名 (血液: 1666 検体, 尿: 1652 検体) と血中 PCQs 濃度が 0.02 ppb 以下を示した検診者を対照群として用いた。対照群には 151 名 (血液: 373 検体, 尿: 302 検体) が該当した (表 1)<sup>6)</sup>。血中 PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs 濃度は, 吸光分析によるガスクロマトグラフィー法を用い, 長崎または福岡の公害衛生研究所で測定した。また, 血液ならび尿の検査は西日本 SRL 社にて行った。その検査項目は, 赤血球, ヘモグロビン, ヘマトクリット, 血小板, 白血球, ナトリウム, カリウム, カルシウム, リン, 総タンパク質, アルブミン, 血尿素窒素, クレアチニン, クレアチンキナーゼ (CK), アルファフェトプロテイン (AFP), B 型肝炎ウィ

代表者: 吉村俊朗

長崎大学医学部保健学科

〒852-8520 長崎県長崎市坂本町1-7-1 095-849-7991

E-mail: toshiro@net.nagasaki-u.ac.jp

**Table 1** Demographic data

Sex	Patient group (PCQ $\geq 0.10$ ppb)			Control group (PCQ $< 0.02$ ppb)		
	n	Number of samples	Age, mean $\pm$ SD (years)	n	Number of samples	Age, mean $\pm$ SD (years)
Male	181 (48.4%)	802 (48.1%)	58.9 $\pm$ 14.5	53 (35.1%)	101 (27.1%)	56.1 $\pm$ 15.4
Female	193 (51.6%)	864 (27.9%)	61.8 $\pm$ 10.7	98 (64.9%)	272 (72.9%)	58.6 $\pm$ 14.5
Total	374 (100%)	1666 (100%)	60.9 $\pm$ 12.7	151 (100%)	373 (100%)	58.7 $\pm$ 14.8

PCQ: polychlorinated quarterphenyl. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

ルス表面 (HBs) 抗原, 血沈速度であり, 尿では尿ペーハー (pH), 尿タンパク質, 尿糖, ウロビリノゲンを測定した。

## 2. 統計学的処理

統計学的処理には統計解析ソフト (Stat View) を用い, 以下に述べる解析を行った。患者群, 対照群それぞれの各年の平均血中 PCBs, PCQ 濃度を用いて回帰直線を作成し, PCBs, PCQs の半減期を算出した。すべての項目での患者群と対照群の比較には, Student の t 検定 (両側) または Mann-Whitney 検定 (両側) を用いた。患者群の血球数, 血液生化学に関しては, CK, 尿 pH とその他項目ならびに血中 PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs, TEQ (toxic equivalent quantity) との相関関係を検討した。CK に関しては, その値が標準値より高値である延べ人数を求め, カイ二乗検定を用いて患者群と対照群を比較した。また, HBs についても CK と同様な方法で検討した。患者群では, PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs, TEQ それぞれが総タンパク質, CK, 尿 pH に及ぼす影響を検討するために多重回帰分析を行った。なお, 有意水準は, 二群間の比較では危険率 5%未満, 相関解析では危険率 1%未満とした。

## 3. 結果

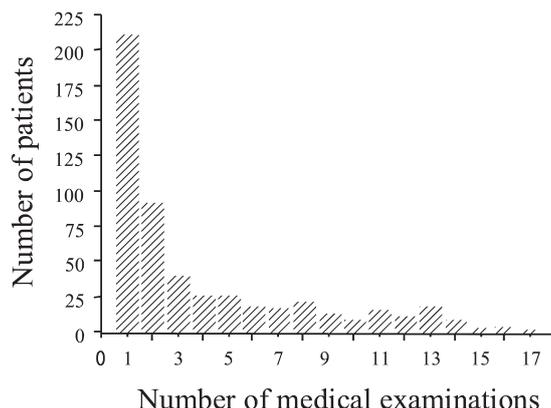
1986年から2002年の期間中, 患者がカネミ油症検診を受けた回数のヒストグラムを図1に示す。患者群の血中 PCBs, PCQs, PCDFs, TEQ 濃度は対照群に比べ有意に高値を示した (表2)。患者群, 対照群それぞれの各年の平均血中 PCBs, PCQ 濃度は図2, 3に示す通りで, 患者群の回帰直線から PCBs の半減期を算出したところ 19.5年であった (図2)。それに比べて PCQ の半減期は長く, 57.9年であった (図

**Table 2** Blood levels of PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs and TEQ

Sex	Index	Patient group			Control group		
		n	Mean $\pm$ SD	Maximum - minimum	n	Mean $\pm$ SD	Maximum - minimum
Male	PCBs (ppb) <sup>a</sup>	802	4.8 $\pm$ 3.7	31.0-0.0	101	2.9 $\pm$ 2.0	11.0-0.0
	PCQs (ppb) <sup>a</sup>	802	0.9 $\pm$ 10.8	12.0-0.1	101	0.0 $\pm$ 0.001	0.01-0.0
	PCDDs (pg/g lipid)	28	1085.4 $\pm$ 934.0	5037.8-289.7	21	731.6 $\pm$ 414.9	1897.5-305.7
	PCDFs (pg/g lipid) <sup>a</sup>	28	134.0 $\pm$ 167.5	804.5-25.0	21	29.7 $\pm$ 18.9	68.7-14.4
	TEQ (pg/g lipid) <sup>a</sup>	328	78.7 $\pm$ 77.9	372.8-19.4	21	23.6 $\pm$ 13.8	62.6-8.5
Female	PCBs (ppb) <sup>a</sup>	864	4.6 $\pm$ 3.4	32.0-0.0	272	2.8 $\pm$ 2.2	12.0-0.0
	PCQs (ppb) <sup>a</sup>	864	1.8 $\pm$ 1.2	9.4-0.1	272	0.0 $\pm$ 0.001	0.01-0.0
	PCDDs (pg/g lipid)	25	879.7 $\pm$ 306.8	1741.5-365.9	23	1186.2 $\pm$ 661.5	3121.6-390.1
	PCDFs (pg/g lipid) <sup>a</sup>	25	492.2 $\pm$ 392.7	1365.3-63.9	23	32.4 $\pm$ 14.5	71.0-11.2
	TEQ (pg/g lipid) <sup>a</sup>	25	221.7 $\pm$ 158.5	595.9-48.4	23	31.7 $\pm$ 17.9	72.8-6.7

<sup>a</sup>P < 0.05 between control and patient groups (t-test).

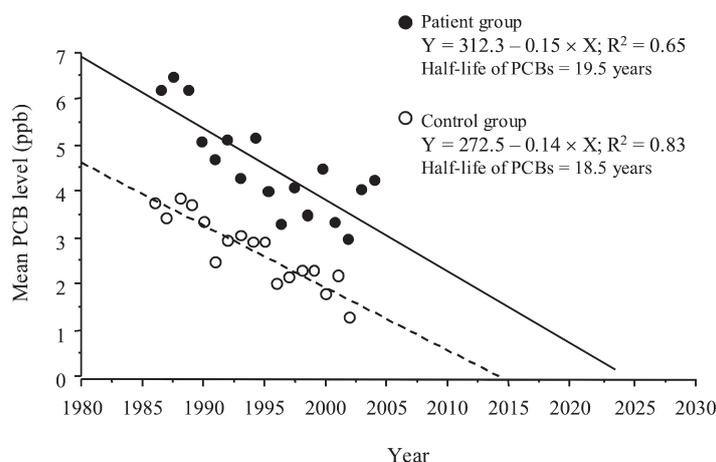
PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzodioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; PCQ: polychlorinated quarterphenyl; SD: standard deviation; TEQ: toxic equivalent quantity. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)



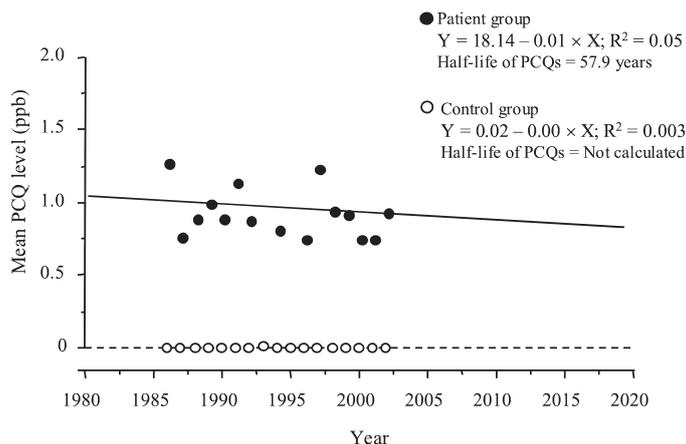
**Fig. 1** Histogram of number of medical examinations (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

3). 表3は、患者群、対照群の血球数（赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板、白血球数）の解析結果を示す。赤血球数は、男性で対照群より患者群の方が有意に高値を示したが、その平均値の差はわずかであり、女性においては有意差を認めなかった(表3)。血中 PCBs 濃度と赤血球数ならびにヘモグロビンの間には、負の相関が認められた。また、男性に限っては、血中 PCBs 濃度と白血球数の間にも軽度の負の相関が認められた。血中 PCQs 濃度と赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板の間には、男性においてのみ、軽度の相関が認められた(表4)。

患者群、対照群の血清電解質（ナトリウム、カリウム、カルシウム、リン）の測定値はすべて正常範囲内であった。また、患者群と対照群を比較すると、カリウムは男女とも患者群の方が有意な高値を、リンは女性にのみ患者群の方が有意な低値を示したが、それらの平均値の差は小さかった。総タンパク質、アルブミン、尿素窒素、クレアチニンの測定値は、患者群、対照群ともすべて正常範囲内であった(表5)。しかしながら、患者群においては、血中 PCQs 濃度とナトリウム、クレアチニン(男性のみ)、リン(女性のみ)、総タンパク質(女性のみ)、アルブミン(女性のみ)との間に相関が認められた(表6)。患者群の総タンパク質はわずかながら対照群よりも低値であり、男性においては血中 PCBs 濃度と総タンパク質、尿素窒素との間に相関が認められた(表5, 6)。そして、患者群の総タンパク質と尿素窒素の間には、男性(n=800)、女性(n=862)、合計(n=1662)のいずれにおいても相関が認められた(相関係数：男性；-



**Fig. 2** Change in PCB level over time. PCB: polychlorinated biphenyl (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)



**Fig. 3** Change in PCQ level over time  
 PCQ: polychlorinated quarterphenyl  
 (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

0.11, 女性；-0.12, 合計；-0.13)。

患者群の男性の CK は対照群のそれよりも有意に高値を示した(表 7-A)。また, CK が異常値である割合を患者群, 対照群の 2 群間で比較すると, 患者群の方が有意に多かった(表 7-A, B)。患者群の男性においては, CK と血中 PCBs 濃度の間に相関が認められた(表 8)。さらに, 多重回帰分析の結果によると, 血中 PCSs 濃度, 総タンパク質, アルブミン, 尿素窒素それぞれが CK に対して影響を及ぼしていた(表 9)。

血沈, アミラーゼ (男性), AFP に関しては患者群と対照群とに有意差を認めなかった。アミラーゼは, 女性では対照群より患者群の方が有意に高値を示したが, 男性では有意差は認められなかった。HBs 抗原が陽性である割合は, 対照群より患者群の方が有意に多かった(表 10, 11)。患者群, 対照群とも尿検査の結果はすべて正常範囲内であったが, 2 群間を比較すると患者群の尿 pH は対照群のそれよりも有意に低かった。患者群においては, 尿 pH と血中 PCBs 濃度との間に相関が認められ(表 13), また, 多重回帰分析の結果, 血中 PCBs 濃度, 総タンパク質, PCDDs, CK が尿 pH に対して影響を及ぼしていた。

**Table 3** Blood cell count data

Sex	Index	Patient group			Control group		
		n	Mean ± SD	Maximum - minimum	n	Mean ± SD	Maximum - minimum
Male	RBC (× 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	795	461.7 ± 45.4	601.0-287.0	74	447.8 ± 57.4	571.0-285.0
	Hb (g/dl) <sup>a</sup>	795	14.7 ± 1.4	19.0-8.0	74	13.3 ± 1.7	17.8-9.4
	Hct (%)	795	44.1 ± 3.8	59.1-29.7	74	43.2 ± 5.1	55.1-29.8
	Plt (× 10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	795	22.1 ± 6.0	41.0-1.4	74	21.5 ± 4.7	35.7-12.3
	WBC (× 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	795	6.3 ± 1.5	12.4-2.9	74	6.1 ± 1.6	10.0-3.1
	MCV (μm <sup>3</sup> )	795	95.7 ± 5.9	119.0-60.0	74	96.6 ± 5.1	108.0-86.0
	MCH (pg)	795	32.0 ± 2.1	37.6-15.5	74	32.0 ± 1.6	36.5-28.4
	MCHC (%)	795	33.4 ± 1.2	36.9-25.9	74	33.2 ± 1.0	35.3-30.9
Female	RBC (× 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	854	417.8 ± 34.8	514.0-209.0	198	423.7 ± 38.4	545.0-333.0
	Hb (g/dl) <sup>a</sup>	854	12.8 ± 1.2	16.0-6.7	198	13.0 ± 1.4	16.7-9.4
	Hct (%) <sup>a</sup>	854	39.3 ± 3.3	52.7-22.7	198	40.2 ± 3.8	50.7-29.9
	Plt (× 10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	854	21.9 ± 8.0	46.4-4.4	198	21.7 ± 5.8	41.3-4.2
	WBC (× 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	854	5.2 ± 1.3	10.4-2.4	198	5.8 ± 1.6	10.1-3.0
	MCV (μm <sup>3</sup> )	854	94.3 ± 5.4	113.0-66.0	198	94.9 ± 5.0	110.0-76.0
	MCH (pg)	854	30.7 ± 1.9	37.8-18.7	198	30.8 ± 1.7	35.0-24.5
	MCHC (%)	854	32.6 ± 1.3	36.1-27.5	198	32.4 ± 1.2	34.9-28.1

<sup>a</sup>P < 0.05 between control and patient groups (t-test).

Hb: hemoglobin; Hct: hematocrit; MCH: mean cell hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV: mean corpuscular volume; Plt: platelet; RBC: red blood cell; SD: standard deviation; WBC: white blood cell.

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

**Table 4** Correlation of PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs and TEQ with blood cell count

Sex	Index	Correlation coefficient (n)				
		vs. PCBs	vs. PCQs	vs. PCDDs	vs. PCDFs	vs. TEQ
Male	RBC	-0.22 (795) <sup>a</sup>	-0.14 (795) <sup>a</sup>	0.12 (28)	0.25 (28)	0.24 (28)
	Hb	-0.13 (795) <sup>a</sup>	-0.11 (795) <sup>a</sup>	-0.05 (28)	0.00 (28)	0.00 (28)
	Hct	-0.06 (795)	-0.13 (795) <sup>a</sup>	0.02 (28)	0.01 (28)	0.02 (28)
	Plt	-0.18 (789) <sup>a</sup>	0.10 (789) <sup>a</sup>	0.15 (28)	-0.11 (28)	-0.13 (28)
	WBC	-0.13 (795) <sup>a</sup>	-0.05 (795)	0.16 (28)	0.01 (28)	-0.03 (28)
	MCV	0.28 (795) <sup>a</sup>	0.05 (795)	-0.14 (28)	-0.36 (28)	-0.34 (28)
	MCH	0.16 (795) <sup>a</sup>	0.06 (795)	-0.20 (28)	-0.32 (28)	-0.31 (28)
	MCHC	-0.18 (795) <sup>a</sup>	0.04 (795)	-0.18 (28)	-0.02 (28)	-0.05 (28)
Female	RBC	-0.14 (854) <sup>a</sup>	0.03 (854)	-0.40 (25)	0.02 (25)	0.00 (25)
	Hb	-0.09 (854) <sup>a</sup>	0.03 (854)	0.17 (25)	0.15 (25)	0.15 (25)
	Hct	-0.06 (854)	0.00 (854)	0.12 (25)	0.13 (25)	0.13 (25)
	Plt	-0.03 (854)	0.09 (844)	-0.31 (24)	-0.14 (24)	-0.15 (24)
	WBC	-0.02 (854)	-0.01 (854)	-0.10 (25)	-0.14 (25)	-0.13 (25)
	MCV	0.11 (854) <sup>a</sup>	-0.05 (854)	0.48 (25)	0.16 (25)	0.17 (25)
	MCH	0.06 (854)	0.00 (854)	0.50 (25) <sup>a</sup>	0.18 (25)	0.39 (25)
	MCHC	-0.08 (854)	0.07 (854)	0.29 (25)	0.16 (25)	0.45 (25)

<sup>a</sup> $P < 0.01$  (significant correlation).

Hb: hemoglobin; Hct: hematocrit; MCH: mean cell hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV: mean corpuscular volume; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzodioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; PCQ: polychlorinated quarterphenyl; Plt: platelet; RBC: red blood cell; TEQ: toxic equivalent quantity; WBC: white blood cell. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

#### 4. 考察

本研究では、対象を血中PCQs濃度が高値である患者群(PCQs $\geq$ 0.1 ppb)と、そうでない対象群(PCQs $<$ 0.02 ppb)の2群に分け、検査所見とPCBsならびにダイオキシンを比較検討した。カネミ油症では、汚染された米ぬか油にPCQが含まれていた。このPCQsの血中半減期は57.9年で、長期に血液中に存在することが明らかとなった。また、Kashimotoら<sup>7)</sup>は、PCBs暴露で、血中PCQs濃度は正常値を呈していることを報告している。従って、血中PCQs濃度が高値であることは、カネミ油症の重要な指標になると判断し、血中PCQs濃度を患者群と対照群に分ける基準に用いた。

今回の結果を見る限り、患者群の血球数も正常値を呈している。しかし、患者群と対照群を比較すると、

**Table 5** Serum chemistry data

Sex	Index	Patient group			Control group		
		n	Mean $\pm$ SD	Maximum - minimum	n	Mean $\pm$ SD	Maximum - minimum
Male	Na (mEq/l)	802	141.0 $\pm$ 2.4	149.0-127.0	75	141.1 $\pm$ 2.0	145.0-138.0
	K (mEq/l) <sup>a</sup>	802	4.2 $\pm$ 0.4	8.9-3.1	75	4.1 $\pm$ 0.5	6.4-3.3
	Ca (mg/dl)	638	9.2 $\pm$ 0.4	10.7-7.8	75	9.2 $\pm$ 0.4	10.1-8.1
	P (mg/dl)	801	3.1 $\pm$ 0.5	5.0-0.8	75	3.1 $\pm$ 0.5	4.8-1.7
	TP (g/dl) <sup>a</sup>	800	7.2 $\pm$ 0.4	8.7-5.1	75	7.4 $\pm$ 0.5	8.9-6.3
	Albumin (g/dl)	802	4.4 $\pm$ 0.3	5.6-3.3	75	4.4 $\pm$ 0.3	5.0-3.0
	BUN (mg/dl)	802	16.8 $\pm$ 4.8	40.0-2.0	75	16.8 $\pm$ 5.7	42.0-7.0
	Creatinine (mg/dl)	801	1.1 $\pm$ 0.3	2.9-0.5	75	1.1 $\pm$ 0.3	2.1-0.6
Female	Na (mEq/l)	861	141.5 $\pm$ 1.9	147.0-134.0	203	141.6 $\pm$ 1.8	147.0-135.0
	K (mEq/l) <sup>a</sup>	861	4.3 $\pm$ 0.4	6.0-3.1	203	4.2 $\pm$ 0.4	5.6-3.2
	Ca (mg/dl)	828	9.3 $\pm$ 0.4	10.8-8.2	203	9.3 $\pm$ 0.4	10.7-7.6
	P (mg/dl) <sup>a</sup>	861	3.4 $\pm$ 0.0	5.5-1.1	203	3.5 $\pm$ 0.5	6.1-2.2
	TP (g/dl)	862	7.4 $\pm$ 0.4	8.9-6.3	203	7.4 $\pm$ 0.5	9.0-6.2
	Albumin (g/dl)	862	4.4 $\pm$ 0.2	5.4-3.3	203	4.4 $\pm$ 0.3	5.4-3.7
	BUN (mg/dl)	863	16.0 $\pm$ 5.6	90.0-5.0	203	15.4 $\pm$ 4.7	32.0-7.0
	Creatinine (mg/dl)	861	0.9 $\pm$ 0.3	9.0-0.4	203	0.9 $\pm$ 0.2	1.6-0.3

<sup>a</sup> $P < 0.05$  between control and patient groups (*t*-test).

BUN: blood urea nitrogen; TP: total protein.

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

**Table 6** Correlation of PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs and TEQ with serum chemistry in the patient group

Sex	Index	Correlation coefficient (n)				
		vs. PCBs	vs. PCQs	vs. PCDDs	vs. PCDFs	vs. TEQ
Male	Na	-0.08 (802)	0.13 (802) <sup>a</sup>	-0.09 (28)	0.17 (28)	0.14 (28)
	K	-0.02 (802)	0.01 (802)	0.15 (28)	-0.11 (28)	-0.14 (28)
	Ca	0.01 (638)	0.02 (638)	-0.35 (21)	-0.48 (21)	-0.51 (21)
	P	0.04 (801)	0.08 (801)	0.00 (28)	0.24 (28)	0.20 (28)
	TP	-0.10 (800) <sup>a</sup>	0.00 (800)	0.15 (28)	0.15 (28)	0.18 (28)
	Albumin	-0.26 (802) <sup>a</sup>	0.00 (802)	0.31 (28)	-0.32 (28)	-0.34 (28)
	BUN	0.16 (802) <sup>a</sup>	0.01 (802)	-0.15 (28)	0.06 (28)	0.33 (28)
	Creatinine	0.00 (801)	-0.10 (801) <sup>a</sup>	0.10 (28)	0.30 (28)	0.30 (28)
Female	Na	0.02 (861)	-0.04 (861)	-0.23 (25)	-0.30 (25)	-0.27 (25)
	K	0.06 (861)	0.05 (861)	0.08 (25)	0.06 (25)	0.04 (25)
	Ca	-0.01 (828)	0.06 (828)	-0.06 (23)	0.51 (23)	0.47 (23)
	P	0.06 (861)	0.10 (861) <sup>a</sup>	-0.09 (25)	0.08 (25)	0.08 (25)
	TP	0.08 (862)	0.20 (862) <sup>a</sup>	0.01 (24)	0.26 (24)	0.23 (24)
	Albumin	-0.05 (862)	0.10 (862) <sup>a</sup>	-0.15 (24)	0.23 (24)	0.23 (24)
	BUN	0.08 (863)	-0.06 (863)	0.42 (25)	0.46 (25)	0.44 (25)
	Creatinine	0.17 (861) <sup>a</sup>	0.01 (861)	0.09 (25)	0.17 (25)	0.12 (25)

<sup>a</sup>*P* < 0.01 (significant correlation).

BUN: blood urea nitrogen; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzodioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; PCQ: polychlorinated quarterphenyl; TEQ: toxic equivalent quantity; TP: total protein. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

平均値の差はわずかであるものの統計学的に有意差を認める項目があり、PCBsやPCQsが血球数に及ぼす影響を一概に否定することはできない。患者群の女性の赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリットは対照群よりも低値であり、患者群の男性の赤血球およびヘモグロビンは対照群よりも高値であった。そして、赤血球数、ヘモグロビン値と血中PCBs濃度ならびに血中PCQs濃度との間には負の相関が男女ともに認められた。台湾の油症のコホート研究<sup>9)</sup>によれば、重度にPCBs暴露した女性の多くは貧血と診断され、通常よりも2~3倍の治療を要していたとされている。このような女性油症患者に限って見られる貧血は、PCBsにエストロゲン活性化作用があるため、月経量が増加することに起因する可能性が指摘されている。

**Table 7**

A: Serum CK value						
Sex	n	Patient group		Control group		
		CK, mean ± SD (U/l)	Maximum - minimum	n	CK, mean ± SD (U/l)	Maximum - minimum
Male <sup>a</sup>	541	143.5 ± 90.7	942.0-28.0	46	113.6 ± 47.7	278.0-13.0
Female	580	125.8 ± 71.5	827.0-31.0	124	112.5 ± 54.0	329.0-15.0

B: Rates of high serum CK					
Sex		Patient group		Control group	
		n (%)	CK, mean ± SD (U/l)	n (%)	CK, mean ± SD (U/l)
Male <sup>b</sup>	High (CK > 197 U/l)	99 (8.8%)	288.1 ± 117.8	2 (1.2%)	258.5 ± 27.6
	Normal (CK ≤ 197 U/l)	442 (39.4%)	111.1 ± 35.4	43 (25.4%)	106.8 ± 36.3
Female	High (CK > 181 U/l)	84 (7.5%)	253.3 ± 100.3	18 (10.7%)	218.1 ± 35.5
	Normal (CK ≤ 181 U/l)	496 (44.2%)	104.2 ± 32.5	106 (62.7%)	88.1 ± 31.6
Total <sup>b</sup>	High	183 (16.3%)	272.1 ± 111.2	20 (11.8%)	242.6 ± 102.4
	Normal	938 (83.7%)	107.4 ± 34.1	149 (88.2%)	94.4 ± 35.3

<sup>a</sup>*P* < 0.05 between control and patient groups (*t*-test); <sup>b</sup>*P* < 0.05 between control and patient groups ( $\chi^2$  test).

CK: creatine kinase; SD: standard deviation.

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

**Table 8** Correlation of CK with PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs and TEQ in the patient group

Sex	Correlation coefficient (n)				
	vs. PCBs	vs. PCQs	vs. PCDDs	vs. PCDFs	vs. TEQ
Male	0.14 (541) <sup>a</sup>	0.06 (541)	0.13 (28)	-0.27 (28)	-0.23 (28)
Female	0.08 (580)	-0.01 (580)	0.08 (25)	0.0 (25)	-0.01 (25)

<sup>a</sup> $P < 0.01$  (significant correlation).

CK: creatine kinase; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzodioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; PCQ: polychlorinated quarterphenyl; TEQ: toxic equivalent quantity. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

る<sup>8)</sup>。しかし、この研究で対象とした女性のほとんどが閉経していたと判断されるため（平均年齢が61.8歳）、PCBsのエストロゲン作用で貧血が生じたとは考え難い。男性では、赤血球数とヘマトクリット値が対照群に比べ増加し、赤血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値は血液PCBs値と血液PCQs値と逆相関を示した。一方、ラットにダイオキシン（TCDD）のみを投与すると軽度の低色素性小球性貧血を認めるが、PCBsを追加投与しても赤血球には変化を認めてはいない<sup>9)</sup>。また、職業性にPCBs暴露があったとする別の報告では貧血は認められていない<sup>10)11)</sup>。ラットにPCB105を過剰摂取させると好酸球の増加を伴い、赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリットが低下し、雌の方が雄よりも影響を受けやすい<sup>12)</sup>。以上のことから、PCBsおよびPCQsは血球数に対してなんらかの影響を及ぼしており、その程度または作用機序は男性と女性では異なると推測される。詳細をあきらかにするためにはさらなる検討が必要である。

今回の結果では、患者群の女性の白血球数は血中PCBs、PCQs、PCDDs、PCDFs、TEQのいずれとも相関関係ではなかったものの、対照群と比較すると有意に低値を示した。また、患者群の男性では、白血球数と血中PCBs濃度との間に負の相関が認められた。ニューヨークでPCBsとPCDFsに暴露した消防

**Table 9** Multiple regression analysis of CK in the patient group

A: with PCBs			B: with PCQs			C: with PCDDs		
Parameter	Standard regression coefficient	t value	Parameter	Standard regression coefficient	t value	Parameter	Standard regression coefficient	t value
PCBs	0.12	3.88 <sup>a</sup>	PCQs	0.03	0.89	PCDDs	0.30	1.72
Total protein	-0.15	-4.01 <sup>a</sup>	Total protein	-0.14	-3.72 <sup>a</sup>	Total protein	-0.17	0.17
Albumin	0.13	3.13 <sup>a</sup>	Albumin	0.11	2.77 <sup>a</sup>	Albumin	0.05	0.23
BUN	0.19	4.79 <sup>a</sup>	BUN	0.20	5.15 <sup>a</sup>	BUN	0.26	1.23
Creatinine	0.07	1.73	Creatinine	0.06	1.54	Creatinine	0.07	0.31
Hct	-0.08	-2.38	Hct	-0.08	-2.28	Hct	0.18	1.05
Ca	-0.04	-1.16	Ca	-0.05	-1.33	Ca	0.12	0.55
Urine pH	0.02	0.68	Urine pH	0.01	0.22	Urine pH	0.53	2.89 <sup>a</sup>
Intercept	227.78	3.00 <sup>a</sup>	Intercept	262.80	3.46 <sup>a</sup>	Intercept	-820.94	-1.60
n = 941; R <sup>2</sup> = 0.09			n = 941; R <sup>2</sup> = 0.08			n = 43; R <sup>2</sup> = 0.24		
D: with PCDFs			E: with TEQ					
Parameter	Standard regression coefficient	t value	Index	Standard regression coefficient	t value			
PCDFs	0.10	0.51	TEQ	0.09	0.49			
Total protein	-0.002	0.01	Total protein	0.01	0.003			
Albumin	0.10	0.43	Albumin	0.10	0.43			
BUN	0.24	1.08	BUN	0.24	1.10			
Creatinine	0.06	0.27	Creatinine	0.06	0.27			
Hct	0.21	1.18	Hct	0.21	1.17			
Ca	-0.03	-0.13	Ca	-0.20	-0.10			
Urine pH	0.43	2.37	Urine pH	0.44	2.37			
Intercept	-433.61	-0.87	Intercept	-452.28	0.91			
n = 43; R <sup>2</sup> = 0.18			n = 43; R <sup>2</sup> = 0.18					

<sup>a</sup> $P < 0.01$ .

BUN: blood urea nitrogen; CK: creatine kinase; Hct: hematocrit; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzodioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; PCQ: polychlorinated quarterphenyl; TEQ: toxic equivalent quantity. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

Table 10 Other blood data

Sex	Index	Patient group			Control group		
		n	Mean $\pm$ SD	Maximum – minimum	n	Mean $\pm$ SD	Maximum – Minimum
Male	ESR 1-hour (mm)	764	8.5 $\pm$ 9.3	100.0–0.5	84	10.7 $\pm$ 13.8	105.0–0.5
	ESR 2-hour (mm)	753	19.0 $\pm$ 16.4	134.0–0.5	81	22.7 $\pm$ 23.0	153.0–1.5
	Amylase (IU/l)	801	108.1 $\pm$ 53.3	593.0–4.4	75	107.5 $\pm$ 49.2	346.0–42.0
	AFP (ng/ml)	794	9.8 $\pm$ 4.4	102.2–0.1	45	3.9 $\pm$ 2.6	10.1–0.5
Female	ESR 1-hour (mm)	838	13.3 $\pm$ 11.0	85.0–0.5	211	14.0 $\pm$ 12.3	111.0–0.5
	ESR 2-hour (mm)	830	28.0 $\pm$ 19.3	128.0–0.5	211	29.4 $\pm$ 21.0	129.0–1.0
	Amylase (IU/l) <sup>a</sup>	858	108.2 $\pm$ 38.8	367.0–8.9	202	97.1 $\pm$ 35.9	276.0–49.0
	AFP (ng/ml)	851	3.4 $\pm$ 2.6	47.5–0.1	139	4.0 $\pm$ 4.7	48.5–0.3

<sup>a</sup> $P < 0.05$  between control and patient groups ( $t$ -test).

AFP: alpha fetoprotein; ESR: erythrocyte sedimentation rate; SD: standard deviation.

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

隊員の白血球数は異常なかったと報告とされている<sup>10</sup>。しかし動物を用いた研究では、有機塩素化合物の暴露による白血球数の変化は一定の結果は出ていない<sup>13)14</sup>。また、非繁殖期のハヤブサを PCBs に暴露した実験では、雄の白血球数は増加したが、雌では増加しなかった<sup>15</sup>。そして、長期間にわたる PCBs 暴露は、顆粒球の細胞内カルシウムイオン濃度を高め、細菌の貪食能などの機能異常を引き起こす可能性がある<sup>16)17</sup>。

加えて、コプラナーPCB はサイトキニン T 細胞活性を減少させ抗体産生を減少する<sup>18)19</sup>。そして、PCB126 (3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl) は 2,3,7,8-dioxins と同様にアрил炭化水素受容体と結合し<sup>20</sup>、抗体産生に異常をもたらす<sup>21)22</sup>。

患者群のナトリウム、カリウム、カルシウム、リン、などの血清電解質には明らかな異常は認められなかった。ただ、カリウムに関しては、血中 PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs, TEQ 濃度との相関は認められなかったものの、対照群より患者群の方が高値を示した。また、患者群の血清無機リンは、女性のみ、対照群よりわずかに低値を示し、血中 PCQs 濃度との間に正の相関が認められた。一方、Smithwick ら<sup>23</sup>は、PCBs に暴露した白ペリカンの血清カリウムは増加したが、血清無機リンは変わらず、血清 PCBs 濃度と尿排泄量との関連も認められなかったと報告している。これとは対照的に、1998 年の村井ら<sup>24</sup>の報告では、102 人のカネミ油症患者の血清カリウムには異常は無かったが、尿中カリウム排泄量は正常より多かったとされている。また、Ruprich ら<sup>25</sup>は、雛に PCBs を投与すると無機リンの血清値が有意に減少したと報告している。このように、PCBs と血清カリウムならびに無機リンとの関係に関する見解は一致していない。

患者群の男性の総タンパク質は対照群のそれよりも低値であり、血中 PCBs 濃度と負の相関が認められた。また、患者群では、総タンパク質と尿素窒素との間に正の相関が認められたが、対照群では認められ

Table 11 HBs antibody positive rates

Sex	Patient group, n (%)			Control group, n (%)		
	(-)	( $\pm$ )	(+)	(-)	( $\pm$ )	(+)
Male	709 (43.2%)	2 (0.1%)	77 (4.7%)	47 (24.6%)	0 (0%)	4 (2.1%)
Female <sup>a</sup>	805 (49.1%)	4 (0.2%)	44 (2.7%)	139 (72.8%)	0 (0%)	1 (0.5%)
Total <sup>a</sup>	1514 (92.3%)	6 (0.4%)	121 (7.4%)	186 (97.4%)	0 (0%)	5 (2.6%)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  between control and patient groups ( $\chi^2$  test).

HBs: hepatitis B virus surface.

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

**Table 12** Urinalysis

Sex	Index	Patient group				Control group			
		n	Mean $\pm$ SD	Maximum – minimum	Median	n	Mean $\pm$ SD	Maximum – minimum	Median
Male	Urinary protein (rank 1-5)	735	1.2 $\pm$ 0.5	4-1	1	85	1.4 $\pm$ 0.8	5-1	1
	Urinary glucose (rank 1-5)	794	1.1 $\pm$ 0.4	5-1	1	85	1.1 $\pm$ 0.4	5-1	1
	Occult blood (rank 1-5)	795	1.2 $\pm$ 0.7	5-1	1	85	1.3 $\pm$ 0.7	3-1	1
	Urinary urobilinogen (rank 1-5)	789	2.1 $\pm$ 0.8	4-2	2	85	2.1 $\pm$ 0.3	3-2	2
	Urinary pH	778	5.8 $\pm$ 0.8	8-5	6	83	6.0 $\pm$ 0.9	8-5	6
Female	Urinary protein (rank 1-5)	857	1.1 $\pm$ 0.5	5-1	1	217	1.1 $\pm$ 0.4	4-1	1
	Urinary glucose (rank 1-5)	857	1.0 $\pm$ 0.3	5-1	1	217	1.1 $\pm$ 0.4	4-1	1
	Occult blood (rank 1-5)	857	1.5 $\pm$ 0.9	5-1	1	217	1.4 $\pm$ 0.9	5-1	1
	Urinary urobilinogen (rank 1-5)	854	2.1 $\pm$ 0.2	4-2	2	216	2.1 $\pm$ 0.3	4-2	2
	Urinary pH <sup>a</sup>	853	5.8 $\pm$ 0.8	8-5	6	216	6.0 $\pm$ 0.9	8-5	6

Urinary protein, glucose, occult blood and urobilinogen ranks: 1 (-), 2 ( $\pm$ ), 3 (+), 4 (++) , 5 (+++).

<sup>a</sup> $P < 0.05$  between control and patient groups (Mann-Whitney test).

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

なかった。Borlakoglu ら<sup>26)</sup> は、ハトに Arochlor (PCB) 1254 を投与すると総タンパク質ならびにアルブミン血漿濃度が低下したと報告し、それは肝臓でのタンパク質合成が抑制されたことに起因すると述べている。また、タンパク質分解が相対的に増加すると、その結果として尿素の血清濃度が増加する。

対照群に比べ、患者群では血清 CK が上昇している率が増加していた。Arochlor (PCB) 1254 は、濃度依存性に筋芽細胞が多核の筋管細胞と融合することを抑制し、CK の活性を抑制する<sup>27)</sup>。血清 CK の上昇に脱水、過剰な運動、血中 PCBs 濃度が関与する<sup>28)</sup>。しかし、PCBs が血清 CK を上昇させる機序は不明である。

大規模に行われた研究によれば、PCBs 暴露で癌、リンパ腫・肉腫、脳腫瘍、非ホジキンリンパ腫、悪性黒色腫、腫瘍での死亡率は増加していると報告されている<sup>29)~34)</sup>。また、ラットを用いた実験で、PCBs は肝臓癌を誘発することが確認されており、発ガン物質に分類される<sup>35)36)</sup>。しかしながら、PCBs 暴露が肝臓癌を誘発しないと報告もある<sup>33)</sup>。Yu-cheng 油症患者の悪性腫瘍での死亡率は台湾市民と有意差はないと報告されている<sup>37)</sup>。そして本研究でも、悪性腫瘍マーカーとして測定した AFP は患者群と対照群で変わらなかった。一方、血液から HBs 抗原が検出された割合は、対照群では 2.6%、患者群では 7.4%であり、対照群に比べ患者群の方が約 2.9 倍高値を示した。B 型肝炎ウイルスは C 型肝炎ウイルスと同じく発ガンを促進する。また、カネミ油症事件が発生した地域は、肝臓癌の好発地域とされている<sup>38)39)</sup>。したがって、カネミ油症患者で肝臓癌が高率かどうかは慎重に検討すべきであろう。

**Table 13** Correlation of urinary pH with PCBs, PCQs, PCDDs, PCDFs and TEQ in the patient group

Sex	Correlation coefficient (n)				
	vs. PCBs	vs. PCQs	vs. PCDDs	vs. PCDFs	vs. TEQ
Male	-0.13 (778) <sup>a</sup>	0.05 (778)	-0.06 (25)	-0.35 (25)	-0.41 (25)
Female	-0.10 (853)	-0.04 (853)	-0.45 (28)	-0.32 (28)	-0.30 (28)
Total	-0.10 (1631) <sup>a</sup>	0.00 (1631)	-0.16 (53)	-0.18 (53)	-0.19 (53)

<sup>a</sup> $P < 0.01$  (significant correlation).

PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzodioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; PCQ: polychlorinated quarterphenyl; TEQ: toxic equivalent quantity.

(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

**Table 14** Multiple regression analysis of urinary pH in the patient group

A: with PCBs			B: with PCQs			C: with PCDDs		
Parameter	Standard regression coefficient	t value	Parameter	Standard regression coefficient	t value	Parameter	Standard regression coefficient	t value
PCBs	-0.14	-4.23 <sup>a</sup>	PCQs	-0.08	-2.34	PCDDs	-0.41	-2.97 <sup>a</sup>
CK	0.02	0.68	CK	0.01	0.22	CK	0.37	2.89 <sup>a</sup>
Total protein	-0.10	-0.10 <sup>a</sup>	Total protein	-0.11	-3.00 <sup>a</sup>	Total protein	-0.14	-0.82
Albumin	0.10	0.10	Albumin	0.12	2.97 <sup>a</sup>	Albumin	0.15	0.83
BUN	-0.16	-0.16 <sup>a</sup>	BUN	-0.18	-4.60 <sup>a</sup>	BUN	-0.15	-0.83
Creatinine	-0.04	-0.04	Creatinine	-0.03	-0.75	Creatinine	-0.17	0.92
Hct	-0.05	-0.05	Hct	-0.06	-1.76	Hct	-0.31	-2.34
Ca	-0.01	-0.01	Ca	0.001	0.03	Ca	-0.23	-1.37
Intercept	6.92	9.68 <sup>a</sup>	Intercept	6.68	9.29 <sup>a</sup>	Intercept	15.56	3.75 <sup>a</sup>
n = 941; R <sup>2</sup> = 0.06			n = 941; R <sup>2</sup> = 0.08			n = 43; R <sup>2</sup> = 0.18		
D: with PCDFs			E: with TEQ					
Parameter	Standard regression coefficient	t value	Index	Standard regression coefficient	t value			
PCDFs	-0.28	-1.78	TEQ	-0.29	-1.86			
CK	0.33	2.37	CK	0.33	2.37			
Total protein	-0.05	-0.27	Total protein	-0.04	-0.21			
Albumin	0.11	0.56	Albumin	0.10	0.54			
BUN	-0.08	-0.41	BUN	-0.09	-0.45			
Creatinine	-0.20	-1.02	Creatinine	-0.20	-1.03			
Hct	-0.43	-3.03 <sup>a</sup>	Hct	-0.42	-3.02 <sup>a</sup>			
Ca	-0.03	-0.20	Ca	-0.05	-0.32			
Intercept	10.06	2.22	Intercept	10.52	2.78			
n = 43; R <sup>2</sup> = 0.16			n = 43; R <sup>2</sup> = 0.16					

<sup>a</sup>P < 0.01.

BUN: blood urea nitrogen; CK: creatine kinase; Hct: hematocrit; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzodioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; PCQ: polychlorinated quarterphenyl; TEQ: toxic equivalent quantity.  
(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

患者群の尿 pH は対照群のそれに比べて酸性であり、血中 PCBs 濃度との相関が認められた。諸家らは<sup>40)~42)</sup>、ラットを PCBs 暴露すると、尿中のアスコルビン酸が増加したと報告している。患者群では、PCBs の影響によって尿中のアスコルビン酸やその他の代謝物が増加し、尿アシドーシスが惹起されていた可能性がある。

カネミ油症患者の血球数、血液生化学、尿生化学に異常を認めないが、PCB、PCQs、PCDFs が造血作用、血清カリウム、血清リン、タンパク質代謝、CK 代謝に影響を与える可能性があり、PCB と関連した有機塩素化合物への暴露は避けるべきであると結論する。

## References

- 1) Safe S: Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). Crit Rev Toxicol 21: 51-88, 1990.
- 2) Robinson PE, Mack GA, Remmers J, Levy R and Mohadjer L: Trends of PCB, hexachlorobenzene, and beta-benzene hexachloride levels in the adipose tissue of the U.S. population. Environ Res 53: 175-192, 1990.
- 3) Kimbrough RD: Polychlorinated biphenyls (PCBs) and human health: an update. Crit Rev Toxicol 25: 133-163, 1995.
- 4) Fitzgerald EF, Standfast SJ, Youngblood LG, Melius JM and Janerich DT: Assessing the health effects of potential exposure to PCBs, dioxins, and furans from electrical transformer fires: The Binghamton State Office Building medical surveillance program. Arch Environ Health 41: 368-376, 1986.
- 5) Kuratsune M, Yoshimura T, Matsuzaka J and Yamaguchi A: Epidemiologic study on Yusho, a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. Environ Health Perspect 1: 119-128, 1972.
- 6) Appendix. In: Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Masuda Y, editors: Yusho - A human disease caused by PCBs and related compounds. Fukuoka: Kyushu University Press, 1996,

- pp335-339.
- 7) Kashimoto T, Miyata H, Kunita S, Tung TC, Hsu ST, Chang KJ et al.: Role of polychlorinated dibenzofuran in Yusho (PCB poisoning). *Arch Environ Health* 36 : 321-326, 1981.
  - 8) Gou YL, Yu ML, Hsu CC and Rogan WJ : Chlorance, goiter, arthritis, and anemia after polychlorinated biphenyl poisoning : 14-year follow-up of the Taiwan Yucheng cohort. *Environ Health Perspect* 107 : 715-719, 1999.
  - 9) Kelly KJ, Connelly E, Reinhold GA, Byrne M and Prezant DJ : Assessment of health effects in New York City firefighters after exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs): the Staten Island Transformer Fire Health Surveillance Project. *Arch Environ Health* 57 : 282-293, 2002.
  - 10) Smith AB, Schloemer J, Lowry LK, Smallwood AW, Ligo RN, Tanaka S et al. : Metabolic and health consequences of occupational exposure to polychlorinated biphenyls. *Br J Ind Med* 39 : 361-369, 1982.
  - 11) Chu I, Lecavalier P, Hakansson H, Yagminas A, Valli VE, Poon P, et al. : Mixture effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Chemosphere* 43 : 807-814, 2001.
  - 12) Chu I, Poon R, Yagminas A, Lecavalier P, Hakansson H, Valli VE et al. : Subchronic toxicity of PCB 105 (2,3,3',4,4' -pentachlorobiphenyl) in rats. *J Appl Toxicol* 18 : 285-292, 1998.
  - 13) Grasman KA, Scanlon P and Fox GA : Geographic variation in hematological variables in adult and pre fledgling herring gulls (*Larus argentatus*) and possible associations with organochlorine exposure. *Arch Environ Contam Toxicol* 38 : 244-253, 2000.
  - 14) Gross WB and Siegel HS : Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dis* 27 : 972-979, 1983.
  - 15) Smits JE, Fernie KJ, Bortolotti GR and Marchant TA : Thyroid hormone suppression and cell-mediated immunomodulation in American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to PCBs. *Arch Environ Contam Toxicol* 43 : 338-344, 2002.
  - 16) Voie OA, Wiik P and Fonnum F : Ortho-substituted polychlorinated biphenyls activate respiratory burst measured as luminol-amplified chemoluminescence in human granulocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 150 : 369-375, 1998.
  - 17) Kettle AJ and Winterbourn CC : Myeloperoxidase : a key regulator of neutrophil oxidant production. *Redox Rep* 3 : 3-15, 1997.
  - 18) Kerkvliet NI, Baecher-Steppan L, Smith BB, Youngberg JA, Henderson MC and Buhler DR : Role of the Ah locus in suppression of cytotoxic T lymphocyte activity by halogenated aromatic hydrocarbons (PCBs and TCDD) : structure-activity relationships and effects in C57B1/6 mice congenic at the Ah locus. *Fundam Appl Toxicol* 14 : 532-541, 1990.
  - 19) Silkworth JB, Antrim L and Kaminsky LS : Correlations between polychlorinated biphenyl immunotoxicity, the aromatic hydrocarbon locus, and liver microsomal enzyme induction in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 75 : 156-165, 1984.
  - 20) Van Den Heuvel RL, Leppens H and Schoeters GE : Use of in vitro assays to assess hematotoxic effects of environmental compounds. *Cell Biol Toxicol* 17 : 107-116, 2001.
  - 21) Holsapple MP, Dooley RK, McNerney PJ and McCay JA : Direct suppression of antibody responses by chlorinated dibenzodioxins in cultured spleen cells from (C57BL/6 x C3H)F1 and DBA/2 mice. *Immunopharmacology* 12 : 175-186, 1986.
  - 22) Smithwick LA, Smith A, Quensen JF 3rd, Stack A, London L and Morris PJ : Inhibition of LPS-induced splenocyte proliferation by ortho-substituted polychlorinated biphenyl congeners. *Toxicology* 188 : 319-333, 2003.
  - 23) Greichus YA, Call DJ and Ammann BM : Physiological effects of polychlorinated biphenyls or a combination of DDT, DDD and DDE in penned white pelicans. *Arch Environ Contam Toxicol* 3 : 330-343, 1975.
  - 24) 村井宏一郎, 辻博, 藤島正敏 : 油症患者における腎機能. *福岡医誌* 80 : 318-323, 1989.
  - 25) Ruprich J and Piskac A : The effect of polychlorinated biphenyls (PCB) on chickens : the effect of long-term administration of medium doses of Delor 103 on the levels of thyroxine, triiodothyronine and total calcium in the blood serum. *Vet Med (Praha)* 35 : 97-103, 1990.
  - 26) Borlakoglu JT, Welch VA, Edwards-Webb JD and Dils RR : Transport and cellular uptake of polychlor-

- inated biphenyls (PCBs)-II. Changes in vivo in plasma lipoproteins and proteins of pigeons in response to PCBs, and a proposed model for the transport and cellular uptake of PCBs. *Biochem Pharmacol* 40: 273-281, 1990.
- 27] Coletti D, Palleschi S, Silvestroni L, Cannavo A, Vivarelli E, Tomei F et al.: Polychlorobiphenyls inhibit skeletal muscle differentiation in culture. *Toxicol Appl Pharmacol* 175: 226-233, 2001.
- 28) 吉村俊朗, 沖田実, 東登志夫, 上山裕文, 伊藤聖, 後藤公文, 未松貴史: カネミ油症におけるクレアチンキナーゼ上昇の意義. *福岡医誌* 88: 216-219, 1997.
- 29] Fingerhut MA, Halperin WE, Marlow DA, Piacitelli LA, Honchar PA, Sweeney MH et al.: Cancer mortality in workers exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *N Engl J Med* 324: 212-218, 1991.
- 30) Sinks T, Steele G, Smith AB, Watkins K and Shults RA: Mortality among workers exposed to polychlorinated biphenyls. *Am J Epidemiol* 136: 389-398, 1992.
- 31) Kogevinas M, Becher H, Benn T, Bertazzi PA, Boffetta P, Bueno-de-Mesquita HB et al.: Cancer mortality in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and dioxins: an expanded and updated international cohort study. *Am J Epidemiol* 145: 1061-1075, 1997.
- 32) Hooiveld M, Heederik DJ, Kogevinas M, Boffetta P, Needham LL, Patterson DG Jr et al.: Second follow-up of a Dutch cohort occupationally exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and contaminants. *Am J Epidemiol* 147: 891-901, 1998.
- 33) Loomis D, Browning SR, Schenck AP, Gregory E and Savitz DA: Cancer mortality among electric utility workers exposed to polychlorinated biphenyls. *Occup Environ Med* 54: 720-728, 1997.
- 34) Ott MG, Zober A: Cause specific mortality and cancer incidence among employees exposed to 2,3,7,8-TCDD after a 1953 reactor accident. *Occup Environ Med* 53: 606-612, 1996.
- 35) IARC Working Group on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Update of IARC Monographs, Volumes 1-42 (Suppl 7). Lyon, France: IARC, 1987.
- 36) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Occupational Exposures in Insecticide Application, and Some Pesticides, Volumes 53, 1-42. Lyon, France: IARC, 1991.
- 37) Yu ML, Guo YL, Hsu CC and Rogan WJ: Increased mortality from chronic liver disease and cirrhosis 13 years after the Taiwan "yu-cheng" ("oil disease") incident. *Am J Ind Med* 31: 172-175, 1997.
- 38) Matsuo A, Kusumoto Y, Ohtsuka E, Ohtsuru A, Nakamura Y, Tajima H et al.: Changes in HBsAg carrier rate in Goto Islands, Nagasaki Prefecture, Japan. *Lancet* 335: 955-957, 1990.
- 39) Munehisa T, Nakata K, Fukahori A, Muro T, Kono K, Furukawa R et al.: Significance of HB virus infection in an area of Japan with high incidence of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma: an analysis of consecutive studies among inhabitants of Tomie-Town, Goto Islands.. *Am J Gastroenterol* 79: 633-636, 1984.
- 40) Quazi S, Yokogoshi H and Yoshida A: Effect of dietary fiber on hypercholesterolemia induced by dietary PCB or cholesterol in rats. *J Nutr* 113: 1109-1118, 1983.
- 41) Conney AH and Burns JJ: Stimulatory effect of foreign compounds on ascorbic acid biosynthesis and on drug-metabolizing enzymes. *Nature* 184: 363-365, 1959.
- 42) Kato N, Tani T and Yoshida A: Effect of dietary quality of protein on liver microsomal mixed function oxidase system, plasma cholesterol and urinary ascorbic acid in rats fed PCB. *J Nutr* 111: 123-133, 1981.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

## ダイオキシン類の毒性を安全に軽減できる化合物の候補： 油症治療を目指した検討

<sup>1)</sup>九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

<sup>2)</sup>九州保健福祉大学薬学部

石井 祐次<sup>1)</sup>, 石田 卓巳<sup>1)</sup>, 武藤 純平<sup>1)</sup>, 山田 英之<sup>1)</sup>, 小栗 一太<sup>2)</sup>

### Possible Candidates for the Compound which is Expected to Attenuate Dioxin Toxicity

Yuji ISHII<sup>1)</sup>, Takumi ISHIDA<sup>1)</sup>, Junpei MUTOH<sup>1)</sup>, Hideyuki YAMADA<sup>1)</sup> and Kazuta OGURI<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

<sup>2)</sup> School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University of Health and  
Welfare, Nobeoka, Miyazaki 882-8508

**Abstract** This review deals with the three candidate compounds which may combat with dioxins' toxicity. Geranylgeranylacetone (GGA), an antiulcer drug, counteracts suppression of body weight gain and lethality produced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in C57BL/6J mice. Similarly, curcumin, a food ingredient anticipates the TCDD's toxicity on body weight gain. Both GGA and curcumin had no effect on the induction of hepatic ethoxyresorufin *O*-deethylase activity by TCDD. These data suggest that both compounds exhibit a protective effect against some forms of dioxin toxicity by a mechanism without involving inhibition of aryl hydrocarbon receptor activation. Further, the mechanism involved in resveratrol action on dioxin's toxicity was also discussed. Prior to the application of these compounds to Yusho patients, the limitation and possibility of these candidate compounds are seemed to be further studied.

#### はじめに

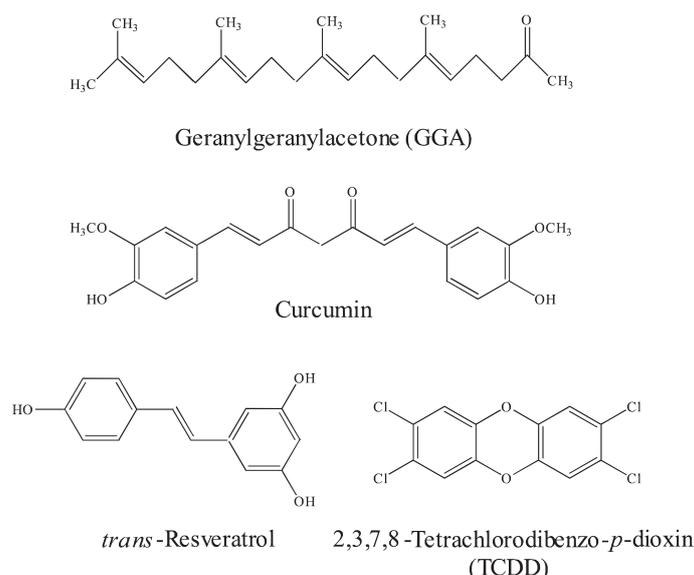
1968年に西日本一帯で起った油症は、その原因が主としてポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入油を摂取したことよることが明らかになった<sup>42)43)</sup>。その後、その中に含まれていたポリ塩化ジベンゾフランを中心としたダイオキシン類が毒性発現の主たる原因と考えられるようになり<sup>47)</sup>、2004年には油症患者血液中のダイオキシンレベルを基に、油症患者認定制度の見直しがされるに至っている。ダイオキシン類の作用メカニズムは、その受容体であるとともに、転写調節因子でもある aryl hydrocarbon receptor (AhR) を介して発現するものが大部分であることが多くの研究から支持されている<sup>19)58)</sup>。油症発症から既に37年が経過しており、客観的な油症の症状は改善されてきてはいるものの、高齢化した油症患者において、今なお血中のダイオキシンレベルは健常人に比べて高く、長期に亘る高レベルのダイオキシン類への曝露が恒常性へ与える影響が懸念される。油症研究班では、これまでに、油症の毒性軽減、症状緩和を期待していくつもの取組みがなされてきた。すなわち、米ぬかファイバーやコレステラミンが排泄促進効果を期待して、介入研究へと展開された<sup>23)51)67)</sup>。これらは、効果を期待するには必要摂取量が多いこと、被害者での効果ははっきりしないことが問題であった。また、スクワランにも排泄促進剤としての期待がもたれたが、動物実験で肝臓に蓄積することから、実際に被害者に適用するには至っていない<sup>35)36)</sup>。

当研究室では、ダイオキシン類の一つである3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126)によるラット肝臓のタンパク質発現変動について検討し、約30種の酵素活性やタンパク質のレベルの変動を見出し報告して来た<sup>16)24)28)29)31)39)54)66)72)</sup>。しかし、ダイオキシン類の毒性は多面的であり、毒性発現の決定的メカニズ

ムに迫ることはできていない。同様のアプローチは、マイクロアレイを用いた最近の研究にも詳しい<sup>15)</sup>。上記の当教室での研究成績には、PCB126により細胞質の heat shock protein 70 (HSP70) のレベルが増加するという事実も含まれていた。HSP70 は分子シャペロンとよばれ、タンパク質合成の過程や品質管理で重要な機能を有する<sup>40)64)</sup>。このことから、我々は「HSP70 レベルの上昇は、生体側の防御反応であり、ダイオキシンの毒性発現を抑える働きにつながる」との作業仮説を立て、研究を展開し、HSP70 誘導作用を示すと報告のある geranylgeranylacetone (GGA)<sup>21)</sup> およびクルクミン<sup>63)</sup> には、ダイオキシン毒性軽減作用があることを明らかにしてきた<sup>26)27)</sup>。本総説では、これらの作用についてまとめるとともに、ダイオキシンの作用を阻害するとされるレスベラトロールの作用の特徴についてもまとめ、その有用性についても考察した。

### 1. GGA によるダイオキシン毒性の軽減

ダイオキシン応答性の C57BL/6J マウスにダイオキシンが引き起こす毒性に対し、HSP70 の誘導剤として知られている GGA が、毒性軽減作用を有するか否か検討を行った<sup>26)</sup>。その結果、TCDD (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  および 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) を経口投与したマウスに、GGA を毎日一回、30 日間継続的に投与することにより、ダイオキシンによる体重増加抑制作用と致死性が軽減された。GGA の防御効果は、TCDD (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 経口投与において顕著であった (Table 1)。一方、肝臓の肥大および胸腺萎縮については改善を見ることはできなかった。さらに、ダイオキシン催奇形性への軽減作用の有無を検討したが、妊娠マウスへのダイオキシン投与によって胎仔に引き起こされる口蓋裂および水腎症に対して、GGA は防御効果を示さなかった。GGA のダイオキシンによる体重増加抑制と致死性に対する軽減作用に Hsp70.1 が関与しているか検討する目的で、肝臓と小腸の Hsp70.1 mRNA の誘導について reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法によって検討した。しかし、少なくともこれらの組織の Hsp70.1 の誘導から、GGA の効果を説明するのは難しかった。ダイオキシンは、AhR を介して肝臓のシトクロム P450 1A1 (CYP1A1) を誘導することが良く知られており<sup>19)58)</sup>、この事実から、CYP1A1 活性である ethoxyresorfin-*O*-deethylase (EROD) 活性の誘導は AhR を介した毒性の指標の一つとされている。しかし、GGA はダイオキシンによる EROD 活性の誘導に対しては、影響を与えなかった。これらのことから、GGA はダイオキシン毒性の一部に対して防御的な働きを示すことが示唆されたが、その影響は AhR の活性化の段階に対して



**Fig. 1** Chemical structures of TCDD and compounds which anticipate dioxin's toxicity

**Table 1** Effect of candidate compounds which are expected to reduce aryl hydrocarbon-induced toxicity *in vivo*

	Suppression of Body weight gain (Lethality)	Tissue atrophy		CYP1A1 induction
		Thymus	Spleen	
GGA (200 mg/kg, p.o. 30 days) <sup>a,c</sup>	inhibition	n.i.	n.i.	n.i. <sup>f</sup>
Curcumin (100 mg/kg, p.o. 28 days) <sup>a,c</sup>	inhibition	n.i.	n.i.	n.i. <sup>f</sup>
<i>trans</i> -Resveratrol (1 mg/kg, i.p.) <sup>b,e</sup>	—	—	—	inhibition <sup>g</sup>

<sup>a</sup>TCDD (100  $\mu$ g/kg) was given by gavage once 4 h post initial treatment of GGA or curcumin. <sup>b</sup>Benz[*a*] pyrene/7,12-dimethylbenz [*a*] anthracene (1 mg/kg, in olive oil) was injected s.c. with resveratrol. <sup>c</sup>Ishida et al<sup>26</sup>), <sup>d</sup>Ishida et al<sup>27</sup>), <sup>e</sup>Casper et al<sup>8</sup>). <sup>f</sup>Ethoxyresorfin-*O*-deethylase activity was measured as an AhR-dependent induction of CYP1A1. <sup>g</sup>CYP1A1 level was measured by Western blot. n.i., not improved; —, no data.

ではないと推定された。この研究では、GGA 最終投与約 20 時間後に、臓器を摘出して HSP70 の誘導や EROD 活性を測定した。しかし、GGA による HSP70 誘導効果が、投与 4 時間以内ではっきりと観察されている例があることから<sup>53</sup>、更なる評価にあたっては適切なサンプリング時間の設定も配慮する必要がある。GGA の一日の投与回数を増やすことも検討課題である。GGA は抗潰瘍薬として汎用される安全性の高い医薬品であることから<sup>52</sup>、ヒトへの適用の可能性もある。ダイオキシン毒性の一部であるとは言え、消耗症やダイオキシンによる致死性を軽減できたことから、ダイオキシンの急性中毒事故などの場合の対症療法としての有用性には期待が持たれる。

## 2. クルクミンによるダイオキシン毒性の軽減

ダイオキシン応答性の C57BL/6J マウスにダイオキシンが引き起こす毒性に対し、HSP70 の誘導剤として知られているクルクミンが軽減作用を有するか否かについて検討を行った<sup>27</sup>。Fig. 1 にクルクミンの構造を示す。TCDD (100  $\mu$ g/kg) 処理マウスにクルクミン 100 mg/kg を毎日一回、28 日間投与することによりダイオキシンによる体重増加抑制作用が軽減された (Table 1)。興味深いことに、この毒性軽減効果は TCDD 投与 12 日以前には認められず、12 日以降に顕著であった。このような傾向は、上述の GGA による毒性軽減効果に類似するものであった。一方、ダイオキシンによる肝臓の肥大および胸腺萎縮については改善を見ることはできなかった。肝臓と小腸の Hsp70.1 mRNA レベルは、クルクミン併用によって影響を受けないか、あるいは減少する傾向にあった。クルクミンはダイオキシンによる EROD 活性の誘導に対しても影響を与えなかった。これらのことから、クルクミンはダイオキシン毒性の一部に対して防御的な働きを示すことが示唆されたが、その影響は AhR の活性化の段階に対してではないと推定された。クルクミンによるダイオキシン毒性軽減効果が、12 日以降にしか現れない理由は明らかでないが、少なくともダイオキシン毒性軽減に限って考えた場合、継続的摂取が必要と考えられる。クルクミンは、ウコンの成分であり、代表的な食品としてはカレーが考えられる。食生活に起因して、クルクミンの摂取量が多いと思われるインドなどの国や地域もあるが、ダイオキシン汚染による健康障害が軽減されたとの説明に結び付けるだけの疫学的研究は、著者らの知る限りは存在しない。近年、ウコンは健康食品として流通しており、上述の検討に用いたクルクミンの用量も、数日間というレベルにおいては毒性を発現しない用量であると思われる。しかし、ウコンあるいはクルクミンを継続的に摂取し続けた場合のヒトへの生体影響に

については熟慮する必要があり、実験動物を用いた更なる基礎研究が必要と思われる。

### 3. レスベラトロールによるダイオキシン毒性軽減の可能性と制約

植物ポリフェノールの一つであるレスベラトロールには多環芳香族炭化水素による AhR を介した CYP1A1 の転写活性化の阻害や<sup>10)11)</sup>, *in vivo* および *in vitro* でダイオキシンの毒性を軽減することを示唆する報告がなされ (Table 1)<sup>8)</sup>, 注目を集めた。その後、レスベラトロールは AhR のアンタゴニストであるとの考えが普及しており、この前提で、いくつもの研究が展開されている<sup>37)50)57)62)</sup>。

*Trans*-レスベラトロール (図 1) は、日本の民間薬であるイタドリ (痛取) の根に多く含まれるほか、赤ワインやピーナッツの渋皮などにも多く含まれるスチルベン骨格を有するポリフェノール成分である<sup>6)</sup>。市販の赤ワインの平均的レスベラトロール濃度は、2.0~40.0  $\mu$ M の範囲である<sup>48)</sup>。レスベラトロールには、*trans* と *cis* が存在する (以下、特に断らない限り、*trans*-レスベラトロールをレスベラトロールとする)。ブドウ、ピーナッツ、イタドリ茶には、レスベラトロールはグルコシドの形で多く存在する。一方、赤ワインでは *cis* および *trans* のレスベラトロールのアグリコーン (糖が離脱したもの) が主であり<sup>6)</sup>, ブドウをワインの材料として収穫後、乾燥や加温をする過程において増加する<sup>71)</sup>。*Trans* 体が増える理由の一つとしては、UV 照射による *cis* と *trans* の異性化が起ることもあげられる<sup>71)</sup>。また、感染が起った時に、グルコシドが加水分解され、レスベラトロールが生成されることから、ファイトアレキシンとして防御的に働くと考えられている<sup>44)</sup>。フランス人は、脂肪の多い食事をするにも関わらず、心臓病などが少ないことが知られており、これは「フレンチパラドックス」と呼ばれている<sup>12)</sup>。フレンチパラドックスは、フランス人においてワイン摂取量が多いことと、ワイン中に疾患防止効果を有するポリフェノールが含まれることに起因すると推定されている。レスベラトロールは、その主要な候補と考えられている<sup>22)</sup>。ただ、ワインの中には、レスベラトロール以外にも重要な有効成分がある。例えば、ワインの中に含まれるフラボノイドにはケルセチンもあり、これらが単独あるいは他の成分と協働で一定の薬理効果を発揮する可能性は十分に考えられる<sup>12)38)</sup>。

レスベラトロールの作用は多岐に亘る。このことは、他の総説に詳しい<sup>18)22)</sup>。AhR の阻害作用以外にも、レスベラトロールは抗酸化作用、血小板凝固抑制作用およびシクロオキシゲナーゼ阻害作用を通じての抗炎症性作用などを併せ持ち、多段階発がんを調節する多面的生物学的エフェクターであると言われている<sup>22: references therein)</sup>。レスベラトロールの作用のうち、ダイオキシンの作用と関連するものを Table 2 に列挙する。

レスベラトロールを用いたダイオキシン毒性軽減の研究は、*in vitro* で行われたものがほとんどである<sup>10)37)50)57)62)</sup>。また、唯一 *in vivo* で検討がなされているものも、腹腔内投与されたものであり<sup>8)</sup>, 経口的に投与されたレスベラトロールにダイオキシン毒性軽減作用があるか否かは、検討されていない。

**Table 2** List of biological effects of resveratrol which may alter dioxin's effect

Target	Effect	Refs.
AhR	antagonist / agonist	1,2,8,10,37,50,57,62)
ER	antagonist / agonist	4,17,46)
NF $\kappa$ B	inhibition	18,59)
PPAR $\alpha$ / $\gamma$	activation	25)
Antioxidant	chemopreventive activity	18,22,34)
Cyclooxygenase	inhibition	18,70)
CYP1A1, CYP1B1	inhibition	9,11,73)
Cardiovascular disease	inhibition of platelet aggregation and coagulation	56,59)

レスベラトロールの体内動態やバイオアベイラビリティは、下記のような報告もあるが詳細にはまだ研究が必要な状況にある。ごく最近、レスベラトロールのトキシコゲノミクスを行った報告がなされた<sup>20)</sup>。この論文では、レスベラトロールを0.5%メチルセルロース/0.2%ツイーン80に懸濁して1 g/kg/dayの高用量で24日間連続経口投与し、antioxidant responseと推定される第二相酵素のmRNAレベルの上昇が報告されている。レスベラトロールは消化管でグルクロニドとなり、ほとんどがグルクロニドの形で血中へ循環されると言う<sup>41)</sup>。また、赤ワインを用いてレスベラトロールのバイオアベイラビリティが検討された例がある<sup>5)</sup>。この研究では、レスベラトロールを *trans* と *cis* あわせて7.06 mg/L 含むイタリア中部産の赤ワイン (Carbnet Sauvignon) を、体重約300 gのラットに強制経口投与で4 mL 与えて kinetics の解析が行われている。これによると、血漿のレスベラトロールのAUCを100%としたとき、腎臓で295%、肝臓で218%、および心臓で24%となり、これらの臓器で見ると、前二者への集積性が高い。この研究条件では、2時間以上に亘って肝臓と腎臓中のレスベラトロール濃度が $10^{-4}$  Mになること、および4時間に亘って心臓中のレスベラトロールの濃度が $10^{-5}$  Mになることが示されている<sup>5)</sup>。血漿中の半減期は約30分であり投与3時間後には血漿中には検出できなくなると言う。ヒトおよびマウスに対し、グレープジュースあるいはレスベラトロールを投与し尿中と血漿中のレベルを調べた検討もある<sup>49)</sup>。この場合、レスベラトロールは、ヒトにはウィスキーに溶解して投与し、動物には、10%エタノールに溶解して投与されており、グルコシド体は吸収が悪いことが支持されている。治療目的でワインを用いるのは、油症治療の目的にはそぐわないが、ワインにはアルコールが含まれており、これが溶解補助剤になっているため、ワインを摂取することによってレスベラトロールを吸収することは期待される。

レスベラトロールには *in vitro* でHSP70を増加させる働きがある<sup>7)</sup>。上述のGGAとクルクミンにおいては、HSP70の増加を目指して、ダイオキシン毒性の軽減を試み、部分的ではあるものの毒性軽減の成績を収めている。この点から言っても、経口投与でレスベラトロールの作用を検討することにより、*in vivo* でダイオキシン毒性を軽減できる可能性はある。

レスベラトロールは、AhRの阻害剤であることを前提とした研究が多い点は先に述べた。しかし、レスベラトロールはダイオキシン応答配列 xenobiotic responsive element (XRE) をプロモーター上流に組み込んだルシフェラーゼレポーターシステムを用いたAhRのfunctional assayにおいてアンタゴニスト作用<sup>1)</sup>だけでなくアゴニスト作用<sup>2)</sup>も示すことが報告されている。また、レスベラトロールのAhRへの影響は、AhRアゴニストのそれとよく一致しているが、乳癌細胞においては、機能的なアゴニスト作用もアンタゴニスト作用も示さないとも報告されている<sup>45)</sup>。これらのことから、レスベラトロールのAhR機能への影響については矛盾した結果が報告されていて、本物質を単純なAhRアンタゴニストと解釈することには、問題があると思われる。しかし、少なくとも、腹腔内投与において多環芳香族炭化水素によるAhR依存性のCYP1A1の誘導を低下させていることから、AhRリガンドとなる多環芳香族炭化水素共存下では毒性を阻害するものとして働き得ると思われる<sup>8)</sup>。レスベラトロールには、CYP1A1やCYP1B1活性の直接阻害作用も報告されていることから<sup>9)11)73)</sup>、CYP1A1/CYP1B1に起因するであろうエストロゲン活性代謝物の生成も抑えられDNA損傷が抑えられる可能性は否定できない<sup>9)</sup>。一方、AhR依存性のNAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1)の誘導には、レスベラトロールによる抑制がかからないとの報告がある<sup>8)</sup>。この理由は十分には明らかにされていないが、NQO1の調節には、antioxidant response element (ARE)も関与しており、これが転写調節因子であるNrf2が関与する機構で正に調節されることが知られている<sup>33)</sup>。レスベラトロールそれ自身が*in vivo* でNQO1を誘導することも知られており<sup>20)</sup>、レスベラトロールが転写調節因子Nrf2-ARE系を介したNQO1発現調節にも関与すると考えれば説明可能と思われる<sup>20)60)</sup>。

レスベラトロールは、*in vitro* でエストロゲン非存在下に、estrogen receptor (ER) 依存的に、ターゲット遺伝子の転写を活性化する<sup>17)</sup>。レスベラトロールはエストロゲンアンタゴニストでもあり、エストロゲン存在下では、エストロゲンアンタゴニストとして働く<sup>41)746)</sup>。このメカニズムは、ERにおける $17\beta$ -estradiolとの直接的競合によると思われるが、ERのestrogen responsive element (ERE)への結合の

阻害や ER による転写活性化の阻害をも包含する可能性がある。興味深いことに、アゴニストにより活性化された AhR はリガンドが結合していない ER $\alpha$  および ER $\beta$  をコアクチベーター p300 とともに ERE ヘリクルートし、結果的に ER 支配下の遺伝子の転写を促進させると報告されている<sup>59)</sup>。一方、ヒト乳癌由来の MCF7 細胞では、ダイオキシン類はエストロゲン誘導性のカテプシン D 生合成阻害等の抗エストロゲン様作用を示すことも知られている<sup>69)</sup>。ダイオキシン類によるエストロゲン様作用/抗エストロゲン様作用へのレスベラトロールの影響については興味を持たれるところである。

AhR が心血管障害の基本的な引き金になりうることも問題であり<sup>59)</sup>、レスベラトロールは、これに対する防護効果も期待されている。この点に関しては、Savouret らの総説に詳しい<sup>59)</sup>。

著者らは、これまでにラット肝臓のタンパク質の発現に対するダイオキシン類の影響を検討して来たが、その中には CYP4A1 タンパク質やビリルビン UDP-グルクロン酸転移酵素活性の著しい減少を含んでいた<sup>39)54)</sup>。これらの酵素は、いずれもペルオキシソーム増殖剤に応答して誘導されることが知られている<sup>14)</sup>。ペルオキシソーム増殖剤への応答には、peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) が重要であることが示されている<sup>32)</sup>。一方、代表的なペルオキシソーム増殖剤で、プラスチック可塑剤として知られる diethylhexylphthalate は、ダイオキシンの毒性、殊に体重増加の抑制に関して、毒性軽減作用があることが、1980 年代に既に見い出されている<sup>65)</sup>。最近、AhR リガンドが PPAR $\alpha$  機能を抑制することを示唆する報告もなされている<sup>61)</sup>。これらのことから、PPAR $\alpha$  の活性化による毒性軽減の可能性は有望であり、今後、研究の価値がある。これに関連して、興味深いことに、レスベラトロールは、PPAR $\alpha$  および PPAR $\gamma$  のリガンドにもなるという報告が最近なされている<sup>25)</sup>。

## おわりに

油症の治療の目的で、これまでいくつもの対策が取られてきたが、根本的な治療に結びつく方法は未だ確立されていない。本総説では、油症の原因となるダイオキシン類の毒性軽減作用を有する化合物を取り上げ、最近の我々の成果を紹介しながら作用と実用の可能性および制約についてまとめ、油症患者の毒性軽減や症状緩和の可能性について考察した。GGA は胃潰瘍の治療に用いられる化合物であり、ダイオキシン高用量投与マウスにおける消耗症を有意に抑制した。また、ウコンの成分であり、カレーにも含まれるクルクミンも、同様に消耗症を有意に軽減する効果があった。これらの化合物の併用によりダイオキシン毒性の一部として消耗症は軽減されたが、これらの化合物は、調べた限りではいずれも AhR を介したダイオキシンの毒性指標である肝臓の CYP1A1 の誘導には影響しなかった。これらの化合物のダイオキシン毒性軽減作用には、ダイオキシン高用量曝露の事故などへの適用に期待が持たれる。一方、近年、ワインの成分であるポリフェノールの一種、*trans*-レスベラトロールが、ダイオキシンの作用を阻害することが見い出されており、関連する研究も蓄積されてきた。本総説では、レスベラトロールの作用の特徴についてもまとめ、その有用性についても考察した。

GGA およびクルクミンは、ダイオキシン毒性の一部を軽減することから、所期の目的の一部を果たせたものと思われる。これらの適用に関しては、さらなる検討を要する。また、もう一つの有力な候補であるレスベラトロールについては、文献情報をもとに、その可能性と制約を調べた。レスベラトロールは、グルクロン酸抱合を受けることが知られている<sup>3)41)</sup>。また、硫酸抱合も受ける<sup>13)</sup>。代謝を受け易い構造を有しているため、ダイオキシン毒性軽減を期待するには高用量の継続的摂取が必要になると思われる。レスベラトロールのバイオアベイラビリティを上げるには、UDP-グルクロン酸転移酵素や硫酸転移酵素の基質となるフラボノイドを多く含有する食事を併用するなどして、代謝に拮抗を試みることも考えられる。最近では、収穫後 UV 照射をすることで、レスベラトロール含量を増加させたブドウも発売されている。既に、海外で市販されているサプリメントにも期待は持たれるが、実験動物での適切な経口投与方法による、レスベラトロールのダイオキシン毒性軽減作用の検討が必要である。

## 参 考 文 献

- 1) Amakura Y, Tsutsumi T, Sasaki K, Yoshida T and Maitani T : Screening of the inhibitory effect of vegetable constituents on the arylhydrocarbon receptor-mediated activity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Biol. Pharm. Bull.* 26 : 1754-1760, 2003.
- 2) Amakura Y, Tsutsumi T, Nakamura M, Kitagawa H, Fujino J, Sasaki K, Toyoda M, Yoshida T and Maitani T : Activation of the aryl hydrocarbon receptor by some vegetable constituents determined using in vitro reporter gene assay. *Biol. Pharm. Bull.* 26 : 532-539, 2003.
- 3) Aumont V, Krisa S, Battaglia E, Netter P, Richard T, Merillon JM, Magdalou J and Sabolovic N : Regioselective and stereospecific glucuronidation of trans- and cis-resveratrol in human. *Arch. Biochem. Biophys.* 393 : 281-289, 2001.
- 4) Basly JP, Marre-Fournier F, Le Bail JC, Habrioux G and Chulia AJ : Estrogenic / antiestrogenic and scavenging properties of (E)- and (Z)-resveratrol. *Life Sci.* 66 : 769-777, 2000.
- 5) Bertelli AA, Giovannini L, Stradi R, Urien S, Tillement JP and Bertelli A : Kinetics of trans- and cis-resveratrol (3, 4', 5-trihydroxystilbene) after red wine oral administration in rats. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 16 : 77-81, 1996.
- 6) Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean ME and Crozier A : Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 3337-3340, 2002.
- 7) Cardile V, Scifo C, Russo A, Falsaperla M, Morgia G, Motta M, Renis M, Imbriani E and Silvestre G : Involvement of HSP70 in resveratrol-induced apoptosis of human prostate cancer. *Anticancer Res.* 23 : 4921-4926, 2003.
- 8) Casper RF, Quesne M, Rogers IM, Shirota T, Jolivet A, Milgrom E and Savouret JF : Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor : implications for prevention of dioxin toxicity. *Mol. Pharmacol.* 56 : 784-790, 1999.
- 9) Chen ZH, Hurh YJ, Na HK, Kim JH, Chun YJ, Kim DH, Kang KS, Cho MH and Surh YJ : Resveratrol inhibits TCDD-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1 and catecholesterogen-mediated oxidative DNA damage in cultured human mammary epithelial cells. *Carcinogenesis* 25 : 2005-2013, 2004.
- 10) Ciolino HP, Daschner PJ and Yeh GC : Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. *Cancer Res.* 58 : 5707-5712, 1998.
- 11) Ciolino HP and Yeh GC : Inhibition of aryl hydrocarbon-induced cytochrome P-450 1A1 enzyme activity and CYP1A1 expression by resveratrol. *Mol. Pharmacol.* 56 : 760-767, 1999.
- 12) Constant J : Alcohol, ischemic heart disease, and the French paradox. *Coron Artery Dis.* 8 : 645-649, 1997.
- 13) De Santi C, Pietrabissa A, Spisni R, Mosca F and Pacifici GM : Sulphation of resveratrol, a natural product present in grapes and wine, in the human liver and duodenum. *Xenobiotica* 30 : 609-617, 2000.
- 14) Fournel-Giglux S, Magdalou J, Thomassin J, Villoutreix J, Siest G, Caldwell J and Andre J-C : Structure-dependent induction of bilirubin glucuronidation and lauric acid 12-hydroxylation by arylcarboxylic acids chemically related to clofibrate. *Biochim. Biophys. Acta* 842 : 202-213, 1985.
- 15) Frueh FW, Hayashibara KC, Brown PO and Whitlock JP, Jr : Use of cDNA microarrays to analyze dioxin-induced changes in human liver gene expression. *Toxicol. Lett.* 122 : 189-203, 2001.
- 16) Fukuda A, Ishii Y, Tasaki K, Matsusue K, Ishida T and Oguri K : Induction of molecular chaperones HSP70 and HSP90 in rat liver cytosol by a highly toxic coplanar PCB. *Fukuoka Igaku Zasshi* 90 : 259-271, (1999) (Japanese).
- 17) Gehm BD, McAndrews JM, Chien PY and Jameson JL : Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94 : 14138-14143, 1997.
- 18) Gusman J, Malonne H and Atassi G : A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis* 22 : 1111-1117, 2001.
- 19) Hankinson O : The aryl hydrocarbon receptor complex. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 35 : 307-340, 1995.
- 20) Hebbar V, Shen G, Hu R, Kim BR, Chen C, Korytko PJ, Crowell JA, Levine BS and Kong AN : Toxicogenomics of resveratrol in rat liver. *Life Sci.* 76 : 2299-2314, 2005.
- 21) Hirakawa T, Rokutan K, Nikawa T and Kishi K : Geranylgeranylacetone induces heat shock proteins

- in cultured guinea pig gastric mucosal cells and rat gastric mucosa. *Gastroenterology* 111 : 345-357, 1996.
- 22]** Ignatowicz E and Baer-Dubowska W : Resveratrol, a natural chemopreventive agent against degenerative diseases. *Pol. J. Pharmacol.* 53 : 557-569, 2001.
- 23) Iida T : Clinical experiments on accelerating the excretion of PCBs and PCDFs. In "YUSHO-A human disaster caused by PCBs and related compounds" Kuratsune, M., Yoshimura, H., Hori, Y., Okumura, M. and Masuda, Y. eds., Kyushu University Press, Fukuoka, Japan, pp. 283-307, 1996.
- 24) Ikeda M, Ishii Y, Kato H, Akazawa D, Hatsumura M, Ishida T, Matsusue K, Yamada H and Oguri K : Suppression of carbonic anhydrase III in rat liver by a dioxin-related toxic compound, coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. *Arch. Biochem. Biophys.* 380, 159-164, 2000.
- 25) Inoue H, Jiang XF, Katayama T, Osada S, Umesono K and Namura S : Brain protection by resveratrol and fenofibrate against stroke requires peroxisome proliferator-activated receptor alpha in mice. *Neurosci. Lett.* 352 : 203-206, 2003.
- 26) Ishida T, Oshimo T, Nishimura A, Mutoh J, Ishii Y, Koga N, Yamada H, Hashiguchi I, Akamine A and Oguri K : Reducing the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin using the antiulcer drug, geranylgeranylacetone. *Biol. Pharm. Bull.* 27 : 1397-1402, 2004.
- 27) Ishida T, Taketoh J, Nakatsune E, Kan-o S, Naito E, Takeda S, Mutoh J, Ishii Y and Yamada H : Curcumin anticipates the suppressed body weight gain with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice. *J. Health Sci.* 50 : 474-482, 2004.
- 28) Ishii Y, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N and Oguri K : Significant induction of a 54 kDa protein in rat liver with homologous alignment to mouse selenium binding protein by a coplanar polychlorinated biphenyl, 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl and 3-methylcholanthrene. *Toxicol. Lett.* 87 : 1-9, 1996.
- 29) Ishii Y, Kato H, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N and Oguri K : Significant suppression of rat liver aldolase B by a toxic coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. *Toxicology*, 116 : 193-199, 1997.
- 30) Ishii Y, Kato H, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N, Yamada H and Oguri K : Role of the dioxin-like toxic compound coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in reducing hepatic alcohol dehydrogenase levels in rats in vivo. *J. Health Sci.* 47 : 575-578, 2001.
- 31]** Ishii Y and Oguri K : Liver proteins that are sensitive to a dioxin-like toxic compound, coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. *J. Health Sci.* 48 : 97-105, 2002.
- 32) Issemann I and Green S : Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347 : 645-650, 1990.
- 33) Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, Oyake T, Hayashi N, Satoh K, Hatayama I, Yamamoto M and Nabeshima Y : An Nrf2 / small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236 : 313-322, 1997.
- 34) Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, Fong HH, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, Moon RC and Pezzuto JM : Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 275 : 218-220, 1997.
- 35) Kamimura H, Fuchigami K, Inoue H, Kodama R and Yoshimura H : Studies on distribution and excretion of squalane in dogs administered for 2 weeks. *Fukuoka Igaku Zasshi* 82 : 300-304, 1991 (Japanese).
- 36) Kamimura H, Koga N, Oguri K, Yoshimura H, Inoue H, Sato K and Ohkubo M : Studies on distribution, excretion and subacute toxicity of squalane in dogs. *Fukuoka Igaku Zasshi* 80 : 269-280, 1989 (Japanese).
- 37) Kawamura T and Yamashita I : Aryl hydrocarbon receptor is required for prevention of blood clotting and for the development of vasculature and bone in the embryos of medaka fish, *Oryzias latipes*. *Zoolog. Sci.* 19 : 309-319, 2002.
- 38) Klinge CM, Risinger KE, Watts MB, Beck V, Eder R and Jungbauer A : Estrogenic activity in white and red wine extracts. *J. Agric. Food Chem.* 51 : 1850-1857, 2003.
- 39) Koga Y, Tsuda M, Ariyoshi N, Ishii Y, Yamada H, Oguri K, Funae Y, and Yoshimura H : Induction of bilirubin UDP-glucuronyltransferase and CYP4A1 P450 by co-planar PCBs : different responsiveness of guinea pigs and rats. *Chemosphere* 28 : 639-645, 1994.
- 40) Kozutsumi Y, Segal M, Normington K, Gething MJ and Sambrook J : The presence of malformed proteins in the endoplasmic reticulum signals the induction of glucose-regulated proteins. *Nature* 332 :

- 422-464, 1988.
- 41) Kuhnle G, Spencer JP, Chowrimootoo G, Schroeter H, Debnam ES, Srail SK, Rice-Evans C and Hahn U : Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 272 : 212-217, 2000.
  - 42) Kuratsune M, Yoshimura H, Matsuzaka J and Yamaguchi A : Epidemiologic study on Yusho, a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. *Environ. Health Perspect. Experimental Issue No. 5* : 119-128, 1972.
  - 43) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Masuda Y : eds. YUSHO-A human disaster caused by PCBs and related compounds, Kyushu University Press, Fukuoka, Japan, 1996.
  - 44) Langcacke P and Pryce RJ : The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol. Plant Pathol.* 9 : 77-86, 1976.
  - 45) Lee JE and Safe S : Involvement of a post-transcriptional mechanism in the inhibition of CYP1A1 expression by resveratrol in breast cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 62 : 1113-1124, 2001.
  - 46) Lu R and Serrero G : Resveratrol, a natural product derived from grape, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells. *J. Cell. Physiol.* 179 : 297-304, 1999.
  - 47) Masuda Y and Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance. A review. *Amer. J. Ind. Med.* 5 : 31-44, 1984.
  - 48) McMurtrey KD : Chapter 5 Resveratrol in Wine In : "Wine : Nutritional and therapeutic benefits" (Ed Watokins TR), A.C.S. symposium series, Vol. 661, pp. 44-55, 1997.
  - 49) Meng X, Maliakal P, Lu H, Lee MJ and Yang CS : Urinary and plasma levels of resveratrol and quercetin in humans, mice, and rats after ingestion of pure compounds and grape juice. *J. Agric. Food Chem.* 52 : 935-942, 2004.
  - 50) Mollerup S, Ovrebø S and Haugen A : Lung carcinogenesis : resveratrol modulates the expression of genes involved in the metabolism of PAH in human bronchial epithelial cells. *Int. J. Cancer* 92 : 18-25, 2001.
  - 51) Murai K, Tsuji H and Fujishima M : Treatment of Yusho patients with cholestyramine. *Fukuoka Igaku Zasshi* 82 : 326-329, 1991 (Japanese).
  - 52) Nishizawa Y, Sakurai H, Oketani K, Horie T, Yamato C and Moriga M : Effects of taurocholic acid / HCl alone or after pretreatment with geranylgeranylacetone on phospholipid metabolism in rat gastric mucosa. *Biochem. Pharmacol.* 36 : 4111-4117, 1987.
  - 53) Oda H, Miyake H, Iwata T, Kusumoto K, Rokutan K and Tashiro S : Geranylgeranylacetone suppresses inflammatory responses and improves survival after massive hepatectomy in rats. *J. Gastrointest. Surg.* 6 : 464-472, 2002.
  - 54) 小栗一太, 古賀淑子, 津田 実, 有吉範高, 石井祐次, 山田英之, 吉村英敏 : Co-planar PCB による肝ビリルビン UDP-グルクロン酸転移酵素の誘導 : モルモットとラット間の顕著な相違. *福岡医誌* 84 : 175-180, 1993.
  - 55) 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 and Kato S : Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature* 423 : 545-550, 2003.
  - 56) Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G and Goldberg DM : The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis : implications for protection against coronary heart disease. *Clin. Chim. Acta* 235 : 207-219, 1995.
  - 57) Pocar P, Augustin R and Fischer B : Constitutive expression of CYP1A1 in bovine cumulus oocyte-complexes in vitro : mechanisms and biological implications. *Endocrinology* 145 : 1594-1601, 2004.
  - 58] Poland A and Knutson JC : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons : examination of the mechanism of toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 22 : 517-554, 1982.
  - 59] Savouret JF, Berdeaux A and Casper RF : The aryl hydrocarbon receptor and its xenobiotic ligands : a fundamental trigger for cardiovascular diseases. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 13 : 104-113, 2003.
  - 60) Sekhar KR, Spitz DR, Harris S, Nguyen TT, Meredith MJ, Holt JT, Gius D, Marnett LJ, Summar ML and Freeman ML : Redox-sensitive interaction between KIAA0132 and Nrf2 mediates indomethacin-induced expression of gamma-glutamylcysteine synthetase. *Free Radic. Biol. Med.* 32 : 650-662, 2002. Erratum in : *Free Radic. Biol. Med.* 33 : 149, 2002.

- 61) Shaban Z, El-Shazly S, Abdelhady S, Fattouh I, Muzandu K, Ishizuka M, Kimura K, Kazusaka A and Fujita S : Down regulation of hepatic PPAR $\alpha$  function by AhR ligand. *J. Vet. Med. Sci.* 66 : 1377-1386, 2004.
- 62) Singh SU, Casper RF, Fritz PC, Sukhu B, Ganss B, Girard B. Jr, Savouret JF and Tenenbaum HC : Inhibition of dioxin effects on bone formation in vitro by a newly described aryl hydrocarbon receptor antagonist, resveratrol. *J. Endocrinol.* 167 : 183-195, 2000.
- 63) Sood A, Mathew R and Trachtman H : Cytoprotective effect of curcumin in human proximal tubule epithelial cells exposed to shiga toxin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 283 : 36-41, 2001.
- 64) Sorger PK and Pelham HR : The glucose-regulated protein grp94 is related to heat shock protein hsp90. *J. Mol. Biol.* 194, 341-344, 1987.
- 65) Tomaszewski KE, Montgomery CA and Melnick RL : Modulation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity in F344 rats by di (2-ethylhexyl) phthalate. *Chem.-Biol. Interact.* 65 : 205-222, 1988.
- 66) Tasaki K, Ishii Y, Ishida T and Oguri K : Suppression of stress proteins in endoplasmic reticulum in liver of rats treated with a highly toxic coplanar PCB. *Fukuoka Igaku Zasshi* 90, 251-258, 1999 (Japanese).
- 67) Tsuji H, Ikeda K, Nomiyama K and Fujishima M : Effects of treatment with rice bran fiber and cholestyramine on clinical and laboratory findings in Yusho patients. *Fukuoka Igaku Zasshi* 84 : 282-286, 1993 (Japanese).
- 68) Tutel'yan VA, Gapparov MM, Telegin LY, Devichenskii VM and Pevnitskii LA : Flavonoids and resveratrol as regulators of Ah-receptor activity : protection from dioxin toxicity. *Bull. Exp. Biol. Med.* 136 : 533-539, 2003.
- 69) Wang F, Samudio I and Safe S : Transcriptional activation of cathepsin D gene expression by 17 $\beta$ -estradiol : mechanism of aryl hydrocarbon receptor-mediated inhibition. *Mol. Cell. Endocrinol.* 172 : 91-103, 2001.
- 70) Wolfle D, Marotzki S, Dartsch D, Schafer W and Marquardt H : Induction of cyclooxygenase expression and enhancement of malignant cell transformation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Carcinogenesis* 21 : 15-21, 2000.
- 71) Versari A, Parpinello GP, Tornielli GB, Ferrarini R and Giulivo C : Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in grape cv. Corvina. *J. Agric. Food Chem.* 49 : 5531-5536, 2001.
- 72) Yoshioka Y, Ishii Y, Ishida T, Yamada H, Oguri K and Motojima K : Suppression of stress proteins, GRP78, GRP94, calreticulin, calnexin in liver endoplasmic reticulum of rat treated with a highly toxic coplanar PCB. *Fukuoka Igaku Zasshi* 92 : 201-216, 2001 (Japanese).
- 73) Yueh MF, Kawahara M and Raucy J : Cell-based high-throughput bioassays to assess induction and inhibition of CYP1A enzymes. *Toxicol. In Vitro* 19 : 275-287, 2005.

---



---

原 著

---



---

## 油症認定患者尿中 Acrolein の検討

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
病態解析・制御学講座 皮膚病態学分野  
清水和宏, 佐藤伸一

### Examination of Urine Acrolein in Yusho Victims

Kazuhiro SHIMIZU and Shinichi SATO

*Department of Dermatology, Nagasaki University School of Medicine,  
1-7-1, Sakamoto, Nagasaki 852-8501, Japan*

**Abstract** Polychlorinated biphenyls (PCB) causes the release of superoxide during the metabolic process. Therefore, Yusho victims are thought to be exposed to oxidative stress caused by PCB, because high concentrations of PCB are still detected in the serum of Yusho victims. Recently, acrolein (ACR) has been reported to be one of excellent markers of oxidative stresses. In order to estimate the influence of oxidative stress by PCB, we measured urine ACR in Yusho victims and age-matched controls. The mean concentration of urine ACR was  $355.4 \pm 37.2$  in Yusho victims and  $314.5 \pm 54.6$  nmol / ml in controls, respectively. Unfortunately, there was no difference in urine concentrations of ACR between Yusho victims and controls. ACR is reported to be one of ubiquitous pollutants in the environment. It was supposed that PCB can give rise to ACR as an oxidative stress, but the influence seemed to be common even in the control subjects who had never been exposed to PCB. The exact mechanism is still unclear, and further examinations should be conducted in the near future.

#### はじめに

事件発生から35年を経て、激的な症状を呈する患者はほとんど見られなくなった現在、良好なQOLを維持するための保健指導、健康相談の重要性が増してきている。油症患者は現在でも血中のPCB、PCQ濃度が高く油症認定の基準として重要視されている。PCBはsuperoxideを発生するため<sup>1)</sup>、油症患者は酸化ストレスに慢性的にさらされている事になる。我々は一昨年脂質酸化ストレスのマーカーである8-Isoprostane (8-IP)が油症患者尿中において有意に高値を示している事を報告した。油症患者が酸化ストレスにさらされている事が証明された事になるが、今回別の酸化ストレスのマーカーであるAcrolein (ACR)を選択し<sup>2)</sup>、油症患者の酸化ストレスの評価を試みた。

#### 実験方法

##### 1. 対象

2004年7月の玉之浦、奈留地区油症検診受診者のうち同意を得られた57名を対象とし、検診時に採尿を行い、凍結保存しACR測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人31名を対照とした。

##### 2. 尿中 Acrolein 濃度測定

尿中Acrolein濃度はACROLINE-LYSINE ADDUCT ELISA SYSTEM(日本油脂株式会社)を用いて計測した。

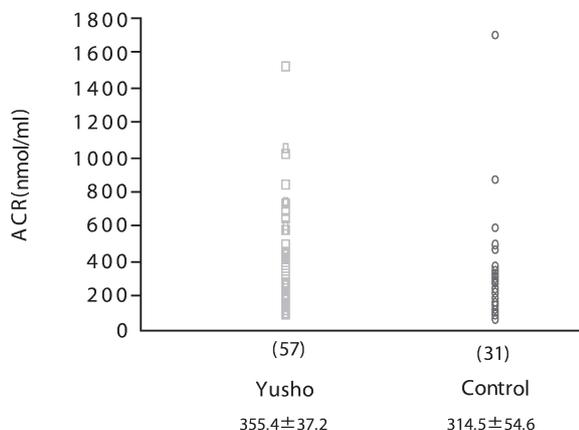
##### 3. 統計的処理

計測値をもってMann-Whitney's U testにて検討した。

#### 実験結果

油症患者57名および健常人31名の平均年齢は各々 $69.5 \pm 1.4$ 及び $67.1 \pm 1.6$ 才で、尿中ACR

濃度は各々  $355.4 \pm 37.2$ ,  $314.5 \pm 54.6$  nmol / ml であった。対照群と油症患者に有意差を認めなかった (図)。



- ☒ There is no statistical difference in urine concentration of acrolein between Yusho victims and age-matched controls.

### 考 察

ACR は石油などの燃焼やタバコ、排ガス、油脂の加熱によって生成される化学物質である。ACR は細胞毒性が強く、脂質の過酸化によっても生ずる事があきらかになり、酸化ストレスの産物として有用であることが内田らによって報告されてい

る<sup>2)</sup>。一昨年我々は脂質酸化ストレスのマーカーである 8-IP が油症患者尿中において有意に高値を示す事を報告した。油症が酸化ストレスである可能性が考えられたが、今回の測定では尿中 ACR において有意差を認めなかった。どちらも脂質酸化ストレスのマーカーとして考えられているが油症尿の検索において異なる結果を示した事になる。この解離の説明として ACR が広く環境中に存在する汚染物質であり、油症患者に限らず万人の生体に慢性的に浸襲していることが予想された<sup>3)</sup>。即ち外因性 ACR による影響が高 PCB 血症による変化を隠してしまっている可能性が考えられたが、正確な理由はいまだはっきりせず更なる検索が必要と考えられた。

### 文 献

- 1) Gregory G and Oakley et al.: Oxidative DNA Damage Induced by Activation of Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implications for PCB-Induced Oxidative Stress in Breast Cancer. *Chem. Res. Toxicol.*, 9, 1285-1292, 1996.
- 2) Uchida K et al.: Protein-bound acrolein: Potential markers for oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 4882, 1998.
- 3) 内田浩二: 脂質過酸化反応によるアクロレインの生成と蛋白質修飾 *日本油化学誌* 47 (11): 29-37, 1998.

(受付 2005-3-22)

## 2003, 2004 年度の福岡県年次検診による皮膚症状

<sup>1)</sup> 社団法人 日本食品衛生協会

<sup>2)</sup> 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

<sup>3)</sup> 福岡大学医学部皮膚科学教室

<sup>4)</sup> 産業医科大学皮膚科学教室

<sup>5)</sup> 東京大学医学部附属病院企画情報運営部

上ノ土 武<sup>1)</sup>, 古江 増隆<sup>2)</sup>, 中山樹一郎<sup>3)</sup>, 旭 正一<sup>4)</sup>, 神奈川芳行<sup>5)</sup>, 今村 知明<sup>5)</sup>

### Evaluation of Dermatological Symptoms of Yusho Patients in the Annual Examination in 2003-2004

Takeshi UENOTSUCHI<sup>1)</sup>, Masutaka FURUE<sup>2)</sup>, Juichiro NAKAYAMA<sup>3)</sup>, Masakazu ASAHI<sup>4)</sup>, Yoshiyuki KANAGAWA<sup>5)</sup> and Tomoaki IMAMURA<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> *Japan Food Hygiene Association, Tokyo, 150-0001*

<sup>2)</sup> *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyusyu University, Fukuoka 812-8582*

<sup>3)</sup> *Department of Dermatology, Fukuoka University School of Medicine, Fukuoka 814-0180*

<sup>4)</sup> *Department of Dermatology, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu 807-8555*

<sup>5)</sup> *Planning Information Management Division, University of Tokyo Hospital, Tokyo 113-8655*

**Abstract** We evaluated the severity grades and the skin severity scores of the skin symptoms who visited the annual examinations of Fukuoka prefecture in 2003 and 2004. The severity of skin symptoms improved significantly in the first 20 years; nowadays, however, further improvement can hardly be observed. More than 36 years have passed since the Yusho incident, and about 60 % of the patients currently present no skin symptoms. In contrast, in about 40 % of the patients, characteristic skin symptoms of Yusho, such as pigmentation of skin, black comedones and acneform eruptions, could still be observed. Using Pearson's correlation coefficient test and Spearman's correlation coefficient test, we analyzed correlation between "PCB pattern" and the blood PCB concentration, the skin severity grade and the skin severity scores. However, we could not find out any obvious correlation.

### はじめに

最近の皮膚科検診での傾向は、二極化しつつある。約 60～70 % の患者では油症に特徴的な皮疹が全くないか、あってもきわめて軽微なものである。その一方で約 30～40 % の患者ではいまだに特徴的な皮疹が残存している。油症が発生してから最初の約 20 年では、皮膚症状は急速に改善する傾向があった。しかしながら、それ以降は、改善する傾向は鈍化しており、大きな動きは見られない。この傾向は持続するのか、それともさらに症

状の改善がすすみ、特徴的な皮疹が全くないか、あっても軽微なものである患者が増加するのか観察を継続する必要がある。

### 2003・2004 年度の受診結果

#### 受診状況

2003 年度は 112 名 (男性 44 名, 女性 68 名), 2004 年度は 100 名 (男性 46 名, 女性 54 名) であった。検診票に則り検診を行った。検診票の記述をもとに皮膚重症度, 皮膚重症度得点数を決定した。

表 1 2003, 2004 年度の皮膚重症度

年度 重症度	1993 例数(%)	1997 例数(%)	2002 例数(%)	2003 例数(%)	2004 例数(%)
0	41 (55.8)	34 (54.0)	50 (59.5)	61 (66.0)	60 (70.0)
O I	7	13	19	13	10
I	4 (7.0)	9 (18.4)	4 (4.3)	4 (3.6)	3 (3.0)
I II	2	7	1	0	0
II	0 (24.4)	12 (23.0)	8 (16.4)	9 (14.3)	7 (17.0)
II III	21	8	11	7	10
III	8 (12.8)	3 (4.6)	1 (16.4)	7 (16.1)	2 (10.0)
III IV	3	1	18	11	8
IV	0	0	4 (3.4)	0	0
計	86	87	116	112	100

### 皮膚重症度

表 1 に 2003 年度, 2004 年度の皮膚重症度分布を示す<sup>1)~3)</sup>。皮膚重症度 0 の患者は, 2003 年度は 74 名 (66.0%), 2004 年度は 70 名 (70.0%) であった。皮膚重症度 I 以上の患者は, 2003 年度は 38 名 (34.0%), 2004 年度は 30 名 (30.0%) であった。皮膚重症度 IV の患者は 2003 年度, 2004 年度ともに 0 名であった。ほとんど症状がない患者が約 70% 前後であるのに対し, いまだに油症特有の皮膚症状が残存している患者が約 30% 前後いる。

### 皮膚重症度得点数

表 2 に 2003 年度, 2004 年度の皮膚重症度得点数分布を示す<sup>1)~3)</sup>。皮膚重症度得点 0/1 の患者は, 2003 年度は 55 名 (49.1%), 59 名 (59.0%) であった。2003 年度と 2004 年度の異なる点は, 2/3 の患者が 2003 年度は 40 名 (35.7%) であったのに対し, 2004 年度は 19 名 (19.0%) であっ

た。しかしながら, 2004 年度は 2002 年度の分布ときわめて類似している。現在までも, 年度による分布の若干の違いは認められており, この, 2003 年度と 2004 年度の違いもおそらくこの範疇に入るものと考えられた。

### 血中 PCB パターン, PCB 平均濃度と皮膚重症度得点数

表 3 に 1993, 1997, 2002, 2003, 2004 年度ごとの血中 PCB パターンと血中 PCB 濃度, 皮膚重症度得点数の推移あらわした。各パターンにおいて, 血中 PCB 濃度は徐々に低下している。平均重症度得点数の低下はほとんど認められず, 皮膚症状が改善する傾向にある, ということは明らかにはできなかった。

### 血中 PCB パターンと皮膚重症度について

表 4 に血中 PCB パターンと皮膚重症度についてまとめた<sup>4)</sup>。1995 年度, 2003 年度, 2004 年度に

表 2 2003, 2004 年度の皮膚重症度得点数

得点数	1993 例数(%)	1997 例数(%)	2002 例数(%)	2003 例数(%)	2004 例数(%)
0・1	51 (59.3)	54 (62.1)	56 (48.3)	55 (49.1)	59 (59.0)
2・3	21 (24.4)	21 (25.3)	20 (17.2)	40 (35.7)	19 (19.0)
4・5	7 (8.1)	7 (8.0)	27 (23.3)	11 (9.8)	19 (19.0)
6・7	4 (4.7)	3 (3.4)	10 (8.6)	5 (4.5)	3 (3.0)
8・9	3 (3.5)	1 (1.1)	1 (0.9)	1 (0.9)	0
10-13	0	1 (1.1)	2 (1.7)	0	0
14-	0	0	0	0	0
計	86	87	116	112	100

表3 血中PCBパターン、血中PCB平均濃度、皮膚重症度得点数の関連性

	1993年度			1997年度			2002年度			2003年度			2004年度		
	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症度得点数												
A	37	7.03	2.27	36	3.49	2.29	38	4.07	3.84	30	3.44	2.47	26	3.65	2.65
B	21	4.22	1.43	20	2.68	1.05	33	2.37	2.12	35	2.34	1.60	36	2.31	1.47
BC	1	1.60	1.00	4	2.65	2.00	1	2.14	0.00	4	1.37	2.50	8	1.51	1.13
C	30	3.27	1.30	29	2.19	1.14	44	1.73	1.34	43	2.01	1.28	30	1.68	1.43
計	89	5.04	1.72	89	2.85	1.62	116	2.68	2.38	112	2.48	1.74	100	2.406	1.74

ついてそれぞれまとめた。Aパターンについては、1995年度、2003年度、2004年度にあきらかな変化は認められなかった。Cパターンでは、1995年度と比較すると2003年度、2004年度は重症度0の割合が高くなり、重症度は低下する傾向にある。Bパターンでは、重症度0が若干増加した。Aパターンでは、現在でも油症に典型的な皮膚症状を呈する患者が約半数占める。その一方でCパターンでは、7割から8割の患者では油症の典型

的な皮膚症状は残存していないことがあきらかになった。

#### 血中PCBパターンと血中PCB濃度、皮膚重症度、皮膚重症度得点数の関係に関する統計学的検討について

2004年度において、血中PCBパターンと血中PCB濃度、皮膚重症度、皮膚重症度得点数の関係について統計学的手法により検討を行った。まず、PCBパターンとPCB濃度、PCBパターンと皮膚重症度、PCBパターンと皮膚重症度得点数について一元配置分散分析で解析したところ、それぞれ有意に差があることがあきらかになった(表5)。次にPCBパターンとPCB濃度、皮膚重症度、皮膚重症度得点数の相関についてPearsonの相関係数検定、Spearmanの順位相関係数検定を用いて検討した(表6)。PCBパターンとPCB濃度については弱い相関があることが示唆されたが、そのほかの項目ではあきらかな相関は認められなかった。

表4 2003, 2004年度の血中PCBパターンと皮膚重症度

皮膚重症度 パターン	1995年					計
	0	I	II	III	M	
A	14 (46.7)	1 (3.3)	8 (26.7)	7 (23.3)	0 (0.0)	30
B	15 (71.4)	3 (14.3)	2 (9.5)	1 (4.8)	0 (0.0)	21
BC	0 (0.0)	0	2 (100.0)	0	0	2
C	22 (61.1)	3 (8.3)	8 (22.2)	3 (8.3)	0 (0.0)	36

皮膚重症度 パターン	2003年					計
	0	I	II	III	M	
A	15 (50.0)	2 (6.7)	4 (13.3)	9 (30.0)	0 (0.0)	30
B	26 (74.3)	0 (0.0)	5 (14.3)	4 (11.4)	0 (0.0)	35
BC	3 (75.0)	0	1 (25.0)	0	0	4
C	30 (69.77)	2 (4.65)	6 (13.95)	5 (11.63)	0 (0.0)	43

皮膚重症度 パターン	2004年					計
	0	I	II	III	M	
A	12 (46.2)	1 (3.8)	9 (34.6)	4 (15.4)	0 (0.0)	26
B	27 (75.0)	0 (0.0)	6 (16.7)	3 (8.3)	0 (0.0)	36
BC	8 (100)	0	0	0	0	8
C	23 (76.66)	2 (6.67)	3 (10.0)	2 (6.67)	0 (0.0)	30

#### 考 察

2003, 2004年度の皮膚症状について重症度、重症度得点数により評価した。

2001年度以前と比較すると2002, 2003年度は受診者数が増加した。この背景には、血液中ダイオキシン類濃度測定が開始されたこと、報道などにより患者の関心が高まったことなどがあるものと考えられる。しかしながら、2004年度は2002, 2003年度と比較すると受診者は減少しており、今後受診者数の推移について注意を払う必要があることが示唆された。

皮膚症状については2001年、2002年度とほぼ同様の結果であった。6~7割の患者には油症特

表 5 2004 年度における血中 PCB パターンと血中 PCB 濃度, 皮膚重症度, 皮膚重症度得点数との一元配置分散分析の結果

	F値	P値	F(0.95)
PCB濃度	12.49391	5.759 X 10 <sup>-7</sup>	2.69939449
皮膚重症度	3.820657	0.0123737	
皮膚重症度得点数	2.930818	0.037468	

表 6 2004 年度における血中 PCB パターンと血中 PCB 濃度, 皮膚重症度, 皮膚重症度得点数との相関

	Pearsonの相関係数	Spearmanの相関係数
PCB濃度	0.476**	0.498**
皮膚重症度	0.232*	0.255*
皮膚重症度得点数	0.213*	0.204*

\*: p<0.05  
\*\*: p<0.01

有の皮膚症状は認められなかった。その一方で3割前後の患者では発生後37年が経過しようとする現在でも油症特有の症状が残存しており、二極化の傾向が続いている。油症発生後最初の20年では皮膚症状は著明に改善したが、その後は改善の度合いは非常に緩やかなものになっている。この二極化の傾向が今後どのように推移するのか長期にわたって観察を続ける必要がある。

PCBパターンと皮膚重症度, 皮膚重症度得点数を統計学的に検討した報告は現在までなく、今回はじめて検討を行った。2004年度において血液中 PCBパターンと血液中 PCB濃度, 皮膚重症度, 皮膚重症度得点数の関係について検討を加えた。PCBパターンがAパターンでは、血液中濃度も高く、皮膚重症度, 皮膚重症度得点数ともに重症である傾向があったが、統計学的には強い相関が認められるものはなかった。しかしながら、はじめての検討であるため、今後さらに検討を繰り返し、結論を導く必要がある。

油症は、人類が PCB および PCDF をはじめとするダイオキシン類に経口摂取により暴露された

人類史上きわめてまれな例であり、そこから得られる知見は非常に貴重なものである。今後も注意深い観察を続け、皮膚症状がどのように推移するか把握する必要がある。また、皮膚症状と検査値をはじめとする様々な項目との関連性についても調査する必要がある。

## 文 献

- 1) 中山樹一郎, 堀 嘉昭, 利谷昭治, 旭 正一: 1993・1994年度の福岡県油症年次検診における皮膚症状. 福岡医誌 86:277-281, 1995.
- 2) 中山樹一郎, 利谷昭治, 旭 正一: 1997・1998年度の福岡県油症年次検診における皮膚症状. 福岡医誌 90:277-281, 1999.
- 3) 上ノ土武, 古賀哲也, 古江増隆, 中山樹一郎, 旭正一: 2001・2002年度の福岡県年次検診による皮膚症状. 福岡医誌 94:87-96, 2003.
- 4) 中山樹一郎, 堀 嘉昭, 利谷昭治, 旭 正一: 1995・1996年度の福岡県油症年次検診における皮膚症状—各年齢層での血中 PCB濃度と皮膚重症度の相関性. 福岡医誌 88:236-239, 1995.

(受付 2005-4-5)

## ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 及び高分解能 ガスクロマトグラフィー / 高分解能質量分析法 (HRGC / HRMS) による血中 PCB 異性体別分析

<sup>1)</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup> 財団法人 日本食品衛生協会

堀 就英<sup>1)</sup>, 飛石和大<sup>1)</sup>, 芦塚由紀<sup>1)</sup>, 中川礼子<sup>1)</sup>,  
戸高 尊<sup>2)</sup>, 平川博仙<sup>1)</sup>, 飯田隆雄<sup>1)</sup>

### Congener Specific Determination of PCBs in Human Blood using Gel Permeation Chromatography (GPC) and High Resolution Gas Chromatography / High Resolution Mass Spectrometry (HRGC / HRMS)

Tsuguhide HORI<sup>1)</sup>, Kazuhiro TOBIISHI<sup>1)</sup>, Yuki ASHIZUKA<sup>1)</sup>, Reiko NAKAGAWA<sup>1)</sup>,  
Takashi TODAKA<sup>2)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>1)</sup> and Takao IIDA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Fukuoka 818-0135, Japan*

<sup>2)</sup> *Japan Food Hygiene Association, Tokyo 050-0001, Japan*

**Abstract** We studied the progressive analytical method for polychlorinated biphenyls (PCBs) in blood samples collected from Yusho patients. This study established a systematic procedure for determining both “total concentration of PCBs and their profiles” and “concentrations of mono-*ortho* PCBs as dioxin-like compounds”, providing a significant index for diagnosis. The method we developed consists of a rapid clean-up using gel permeation chromatography (GPC) and sensitive identification with high resolution gas chromatography / high resolution mass spectrometry (HRGC / HRMS). This method provides identification of all of PCB congeners typically detected in human blood samples, especially it is worth noting that nine significant congeners on Yusho diagnosis (IUPAC # 105, # 114, # 118, # 123, # 153, # 156, # 157, # 167, # 189) were detected from a five-gram blood sample. Using the present method, we analyzed sixty-six individual blood samples collected during the annual Yusho inspection in the 2004, and could identified sixty-eight PCB isomers in all samples. As a result, ten patients were classified into pattern A, the typical Yusho pattern. The mean total PCB concentration of pattern A subjects was 2.95 ppb, while that of control subjects was 0.77 ppb, at whole blood basis respectively.

### はじめに

油症検診において「血中 PCB の性状及び濃度の異常」は重要な診断所見である。「血中 PCB の性状」とは電子捕獲型検出器 (ECD) を備えたパックドカラム/ガスクロマトグラフ (GC) 測定で得られるガスクロマトグラムパターン (GC パターン) を、「血中 PCB 濃度」とはその測定結果から得られる PCB 濃度の総和を指す。油症患者血液の GC パターンの特徴は、DDE (農薬 DDT の代謝物) のピークから数えて 1 番目のピークが相対的に低く、5 番目のピークが相対的に高いことであり、

2 番目のピークを基準にそれぞれの比を取り健常者と比較する (統計上の離れ度合いを比較する) ことで、患者と健常者との違いを区別している。このようにして、血中 PCB の性状が健常者群と大きく異なる場合は「A」、健常者とは区別できない場合「C」、その中間は「B」または「BC」と分類される。近年、患者の血中 PCB 濃度は低下傾向にあり、健常者との明確な区別は困難になりつつある。したがって、血中 PCB の高精度かつ高感度な定量方法を確立することが望まれる。我々はそのための予備検討として、油症患者の血中 PCB のパターン分類におけるパックドカラム / ガスク

ロマトグラフ法と高分解能ガスクロマトグラフィー / 高分解能質量分析法 (HRGC/HRMS) 法の同等性を確認した<sup>3)</sup>。

一方、平成 16 年度から検診項目に「血中 PCDF 濃度」が追加され、血液中の PCDF とその類縁化合物の PCDD 及び coplanar PCB を含めたダイオキシン類を測定し、臨床症状との関連性を調べることになった。血液中ダイオキシン類の分析には通常 50 g 以上の血液を必要とするので受診者の大きな負担になること、また試験操作が煩雑でデータ確定に長期間を要する等の課題があった。そこで我々は血中ダイオキシン類分析の迅速化・精密化に関する技術的検討を行い、5 グラムという少量の血液からダイオキシン類 (8 種類の mono-ortho PCBs を含む) を迅速かつ高感度に検出する手法を開発し、全国の油症患者の血中ダイオキシン類濃度を測定した<sup>1)2)</sup>。

本研究では、これらの分析方法の効率性と分析値の精密性をさらに向上させるための検討を行った。すなわち「PCB 濃度と性状の分析」と「ダイオキシン類分析」を統合・一元化し、血液中の PCB を正確・精密に定量する方法の開発を試みた。ここに報告するのは (1) ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) による血液試料のクリーンアップ、(2) HRGC / HRMS による血中 PCB の異性体別微量分析、(3) 新しい系統分析法による平成 16 年度油症一斉検診血中 PCB 分析 (約 70 試料) の結果である。

## 実験方法

### 1. 分析試料

平成 16 年度に福岡県内の油症一斉検診を受診しインフォームドコンセントを得た 66 名について PCB 測定を実施した。66 名の内訳は認定患者 37 名、所見なし (OB) 19 名、初回受診者 (初回) 8 名及び観察者 2 名であった。対照血液として福岡県内に在住する一般成人 10 名から提供された血液を等量ずつ混合したものをを用いた。

### 2. 試薬

n-ヘキサン、アセトン、ジクロロメタンはダイオキシン分析用 (関東化学<sup>®</sup>) を用いた。硝酸銀シリカゲルは和光純薬<sup>®</sup>製のダイオキシン分析用を、無水硫酸ナトリウムは関東化学<sup>®</sup>製の PCB・残留農薬分析用を用いた。活性炭 (ナカラ

イテスク<sup>®</sup>) はトルエンで 1 時間ずつ 3 回還流洗浄し、無水硫酸ナトリウムに対して 0.1 % (w/w) になるように混合して用いた。n-ノナン、PCDD / DF 及び PCB 標準品は Wellington Laboratories 社製を用いた。

### 3. 装置及び条件

GPC システムは GL サイエンス<sup>®</sup>製を用いた。システム構成はオートサンプラー (MIDAS)、デガッシングユニット (DG660B)、送液ポンプ (PU 614-F)、UV デテクター (UV702)、フラクションコレクター (FC693) 及び汎用レコーダーである。GPC カラムは MSpak GF-310 4D (内径 4.6 mm、長さ 150 mm、昭和電工<sup>®</sup>) を用いた。移動相はアセトンを用い、流速は 0.1 ml / min とした。

HRGC / HRMS には HP6890 ガスクロマトグラフ (Agilent 社製) / 質量分析計 AutoSpec Ultima (Micromass 社製) を用いた。本研究ではヒト血液中に検出される 68 種類の PCB 同族体 (3~10 塩素化物) を分析対象とした。これらの測定条件を Table 1 及び 2 にまとめた。PCB 異性体の溶出順位は松村らの報告を参考に決定した<sup>4)</sup>。PCB の同定・定量には定量計算ソフトウェア OPUSquan (Micromass 社製) を用いた。

### 4. 分析試料の調製

血液約 5 g を正確に量り取り、凍結乾燥を行って水分を除いた後、クリーンアップスパイクとして<sup>13</sup>C<sub>12</sub>ラベル標識の 2,3,7,8 位塩素置換体 PCDD / DF 17 種類及び non-ortho coplanar PCB 4 種類 (IUPAC # 77, # 81, # 126 及び # 169) を各 50 pg、さらに PCB の 3~10 塩素置換体 21 種類 (IUPAC # 28, # 37, # 52, # 70, # 95, # 101, # 123, # 118, # 114, # 105, # 153, # 138, # 157, # 178, # 180, # 170, # 189, # 202, # 194, # 206 及び # 209) 各 500 pg を添加した。これを既報<sup>1)2)</sup> に従って高速溶媒抽出器により抽出し、得られた脂質を硫酸処理した後、硝酸銀シリカゲルカラム及び活性炭カラムで精製を行った。活性炭カラムの第 1 画分 (10% (v/v) ジクロロメタン / n-ヘキサン画分) を減圧濃縮した後、ガラス製マイクロバイアルに移し、クリーンベンチ内で室温常圧下に放置し濃縮乾固した。アセトン 100  $\mu$ l を加えてミキサーで攪拌し、残留物を溶解させ、GPC 精製用試料とした。GPC 注入に当たって

**Table 1** Condition of HRGC/HRMS for congener specific determination of PCB

GC	HP-6890 (Agilent Technology)
MS	AutoSpec-Ultima (Micromass)
Column	HT8-PCB: 0.25mm×60m (Kanto Kagaku Co., Ltd.)
Oven temperature	130°C (1.0min) — 20.0°C /min — 220°C (0min) — 3.0°C /min — 280°C (0min) — 20.0°C /min — 300°C
Carrier gas	Constant flow, 1.3ml/min
Injection volume	1μl
Injector temperature	280°C
Interface temperature	280°C
Ion source temperature	280°C
Accelerating voltage	8kV
Resolution	≥ 10000

はサンプルロスが少なく大容量注入の可能な「 $\mu$ lピックアップ」モードを選択し、注入量は50  $\mu$ lに設定した。GPC精製後の試料にシリンジスパイクとして $^{13}\text{C}_{12}$ ラベル標識の2,3,3',5,5'-PeCB (IUPAC # 111) 250 pgを添加し、全量を50  $\mu$ lとしてHRGC/HRMS測定試料とした。

## 結果と考察

### 1. GPC及びHRGC/HRMSによる血中PCB分析法の検討

PCBには1から10塩素化物の209種類の異性体が存在するが、人体試料から検出されるPCB異性体の数は約70種類である<sup>9)</sup>。血液抽出物の活性炭カラム第1画分(以下PCB画分)には、non-ortho coplanar PCBを除いた大部分のPCBが含まれるので、この画分を分析すれば血中PCBの性状を調べることができる。但し、この画分は機器分析上の妨害物(主として脂肪族炭化水素類

を含み、何らかの精製を追加して行う必要がある。既報では、共平面性物質に対して強い親和性を発揮する活性炭分散シリカゲルを用いて再度カラムクロマトグラフィーを行い、mono-ortho体8種類を分離し、測定している<sup>12)</sup>。しかし本研究ではmono-ortho体のみならず、大多数の非共平面性PCBを網羅する必要がある。この場合の追加精製法として一般的なものは、液/液分配法(アセトニトリル/ヘキサン分配<sup>6)</sup>やDMSO分配<sup>7)</sup>であるが、これらは精製効果が高い反面、操作が煩雑で効率性が低い。一方、分子篩効果による精製法のGPCは食品中残留農薬分析等に適用例も多く<sup>8)~10)</sup>、安定した回収率が望めるほか、関連機器のシステム構築によって自動的に多検体を連続処理することが可能で効率性の面からも有利と考えられ、条件検討を行うこととした。

まずPCB標準品(3から10塩素化物の混合物)をGPCに注入しその溶出挙動を調べた。その

**Table 2** Selected ions on HRGC/HRMS analysis

Congener	Monitor ions (m/z)		
	Native compound		$^{13}\text{C}$ -Labeled compound
	For quantitation	For identification	
TrCB	255.9613	257.9585	268.0016
TeCB	291.9195	289.9224	303.9597
PeCB	325.8805	327.8776	337.9207
HxCB	359.8415	361.8385	371.8817
HpCB	393.8025	395.7995	405.8428
OcCB	429.7606	427.7636	441.8008
NoCB	463.7217	461.7246	475.7619
DeCB	497.6827	499.6798	509.7229

結果、移動相の流速を 0.1 ml / min に設定した場合、PCB は注入後 22 分から溶出し始め、25 ～ 26 分付近で溶出量が最大になったあと減少に転じ、30 分までに溶出が終わった。PCB の塩素数による溶出パターンの違いはほとんど認められなかった。次に実際の血液試料から得られた PCB 画分を同条件で注入し溶出させた。その結果、妨害成分（マトリックス成分）の溶出は PCB よりも早く、注入開始から 21 分で始まり、22 ～ 23 分で最大となって、24 分には完了することがわかった。すなわち、22 分から 24 分付近でマトリックス成分と PCB の溶出が重なっていることになる。そこで、注入開始から 23 分までを捨て（ドレイン）、それ以降 30 分までを測定試料として回収すれば、PCB の回収率に大きな影響を与えずに大部分のマトリックス成分を分離除去でき、測定が可能になるものと考えられた。

この方法によって調製した血液試料を HT8-PCB キャピラリーカラムを装着した HRGC / HRMS で測定したところ、全設定質量数及び全走査時間におけるロックマスチャンネルに妨害ピークやベースラインの大きな変動は認められず、良好なクロマトグラムが得られた。特に油症診断上重要である 2,3',4,4',5-PeCB (IUPAC # 118, パックドカラム分析におけるピーク No. 1 の主成分)、2,2',4,4',5,5'-HxCB (# 153, ピーク No. 2 の主成分) 及び 2,3,3',4,4',5-HxCB (# 156, ピーク No. 5 の主成分) に相当するピークの形状や定量性また周辺ピークとの分離性のいずれも良好であった (Fig. 1 及び 2)。また、全操作ブランクは定量値に影響を与えない範囲内であり、全操作回収率も 80 ～ 90% (5 塩化物ベース) と良好であった。

本分析方法の検出限界値を Table 3 に示す。HRGC / HRMS に標準品を注入して得られたクロマトグラムより異性体ごとにシグナル / ノイズ比 (S / N 比) = 3 に相当する量を求めた。「血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル」(平成 12 年, 厚生省) における目標検出下限値と比較して、本方法はこれを十分に満足しており、血液中のダイオキシン類測定と毒性評価にも適用が可能と考えられる。すなわち、PCB 画分を GPC 精製したのち HRGC/HRMS 測定により異性体別濃度を求め、そこで得られた 8 種類の mono-ortho co-

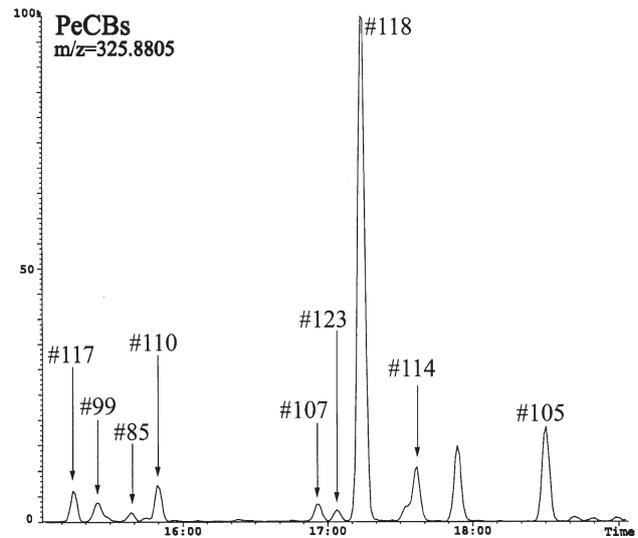


Fig. 1 HRGC / HRMS chromatogram of extract from blood of a typical Yusho patient (PeCB)

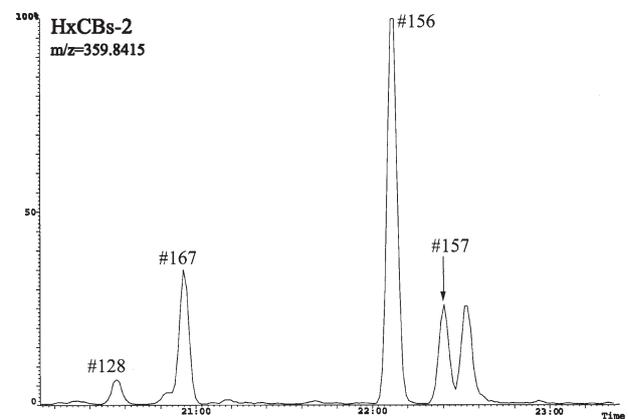
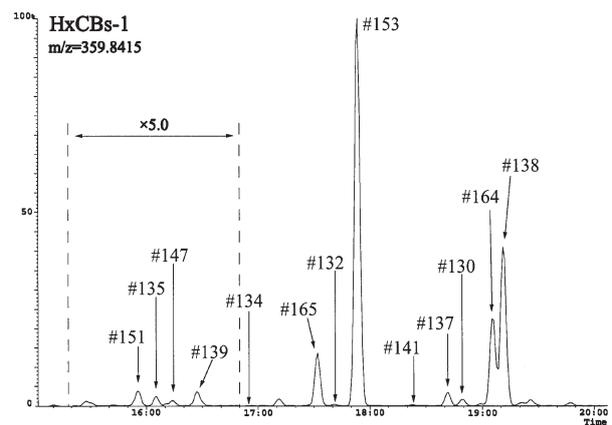


Fig. 2 HRGC / HRMS chromatograms of extract from blood of a typical Yusho patient (HxCB)

**Table 3** Limit of detection for each PCB congener

Congeners	LODs (pg/g whole basis)	
	Evaluated	Demanded
TrCB	0.0006	-
TeCB	0.0003	-
PeCB	0.0004 - 0.0007	0.03
HxCB	0.0009 - 0.0013	0.03
HpCB	0.0007 - 0.0022	0.03
OcCB	0.0010	-
NoCB	0.0009	-
DeCB	0.0008	-

planar PCB の定量値をダイオキシン類の毒性濃度計算へ取り込むことが可能である。

## 2. 平成 16 年度油症一斉検診受診者の血中 PCB 分析とパターン解析結果

受診者 66 名の PCB 分析結果をもとにパターン解析を実施した。結果の内訳は以下の通りであった。認定患者 37 名のうち 10 名は A パターンに、7 名が B パターンに、5 名が BC パターンに、15 名が C パターンに分類された。OB 15 名は全て C パターンとなった。初回 8 名のうち 1 名は B パターンに、残りの 7 名は C パターンに分類された。観察者は 1 名が B パターン、もう 1 名は C パターンに分類された。結果として A パターンに分類された 10 名と BC パターンに分類された 5 名は全て認定患者であった。

総 PCB 濃度 (全血重量あたり) は A パターン (10 名) で 1.01~5.79 ppb (平均 2.95 ppb), B パターン (9 名) では 0.53~2.58 ppb (平均 1.31 ppb), BC パターン (5 名) で 0.12~1.14 ppb (平均 0.64 ppb), C パターン (42 名) で 0.06~2.48 ppb (平均 0.95 ppb) の範囲であった。一方、コントロール群の総 PCB 濃度は 0.77 ppb であった。受診者 66 名のうち総 PCB 濃度の最高値は 5.79 ppb であり、これはコントロール群に対して 7.5 倍高い値であった。

認定患者 37 名に関する結果を Table 4 にまとめた。B パターン (7 名) の総 PCB 濃度は 0.61~2.58 ppb (平均 1.41 ppb), C パターン (15 名) では 0.13~2.48 ppb (平均 1.11 ppb) の範囲であった。1998 年度に三村らは四重極型 GC/MS を用いて油症患者 13 名の血液及び 2 名の母乳試料について PCB 異性体別分析を行い、血液からは 49

種の PCB 異性体を検出、定量している<sup>5)</sup>。今回の分析における A パターン 10 名の平均濃度 (2.95 ppb) は、このときの油症患者の平均総 PCB 濃度 4.97 ppb に比べてやや低くなっている。

油症検診受診者 66 名の血液を分析した結果、全ての受診者について PCB 同族体 68 種類 (うち 4 成分はクロマトグラム上で未分離) を検出・定量することができた。これに「血中ダイオキシン類分析」の結果から得られる 4 種類の non-ortho 体を加えると異性体数は計 72 種類となる。今回、一般健常者は PCB 体内残留量が患者よりも少なく、異性体によっては検出が困難と考えられたが、結果として 68 種の異性体を検出した。この結果は、本分析法が油症患者のみならずバックグラウンド群を対象とした調査にも適用可能であることを示唆している。

## 総 括

高分解能ガスクロマトグラフィー / 高分解能質量分析法 (HRGC / HRMS) を用い、血液中の PCB を異性体別に迅速同定するための試料の精製方法としてゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) の条件検討を行った。「血中ダイオキシン類分析」における活性炭カラム第 1 画分 (PCB 画分) を GPC 精製して測定した結果、良好なクロマトグラムが得られ、68 種類の PCB 異性体を分別定量することが可能であった。

本分析法は血中ダイオキシン類の毒性評価に必要な 8 種類の mono-ortho coplanar PCB の迅速分析方法として有効である。従来、血中ダイオキシン類測定における PCB 画分の精製には煩雑で長時間の手作業を余儀なくされていたが、本分析法では 1 試料あたり約 30 分という短時間で、多検体を自動的に連続精製することができる。

本法を用いて 2004 年度油症検診を受診した 66 名の血液を分析したところ、10 名が A パターンに分類された。総 PCB 濃度の最高値は 5.79 ppb であり、これはコントロール群に対して 7.5 倍高い値であった。

## 謝 辞

本研究は 2004 年度厚生労働科学研究費補助金 (生活安全研究事業) に負うものである。ここに記して謝意を表します。

**Table 4** Summary of determination of PCBs in blood of thirty-seven Yusho patients on the 2004 annual inspection (pg / g whole blood basis)\*

No.	Compounds	Yusho patients (n=37)												Normal control**
		Pattern A (n=10)			Pattern B (n=7)			Pattern BC (n=5)			Pattern C (n=15)			
		Mean	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	
1	245-TrCB(#29)	0.11	0.06	0.22	0.11	0.07	0.18	0.09	0.05	0.11	0.10	0.02	0.14	0.04
2	244'-TrCB(#28)	4.35	2.75	6.02	6.29	2.91	14.87	3.24	2.22	4.75	8.61	4.35	19.19	5.38
3	344'-TrCB(#37)	0.92	0.02	2.94	2.38	0.02	7.77	0.88	0.02	2.50	0.51	0.02	2.21	0.34
4	22'55'-TeCB(#52)	5.47	2.63	12.51	4.38	2.18	7.41	2.81	1.47	3.57	4.09	2.58	6.57	2.97
5	22'45'-TeCB(#49)	1.29	0.79	2.71	1.03	0.64	1.79	0.77	0.46	0.96	1.03	0.78	1.35	0.83
6	22'44'-TeCB(#47)	2.21	1.76	3.16	2.17	1.32	4.69	1.59	1.03	1.87	2.23	1.52	3.87	1.55
7	22'35'-TeCB(#44)	1.66	1.23	2.46	1.44	0.97	2.15	1.25	0.67	1.79	1.57	1.19	2.22	1.31
8	23'4'6'-TeCB(#71)	0.80	0.36	1.46	0.65	0.16	1.21	0.24	0.02	0.51	0.81	0.53	1.15	0.71
9	23'4'5'-TeCB(#63)	0.27	0.05	0.41	0.30	0.22	0.67	0.12	0.06	0.26	0.40	0.11	0.85	0.29
10	24'4'5'-TeCB(#74)	23.93	5.87	47.69	21.02	5.14	37.78	13.23	0.02	25.92	53.05	2.19	165.30	27.38
11	23'4'5'-TeCB(#70)	0.93	0.58	1.52	0.82	0.52	1.66	0.83	0.53	1.35	1.09	0.66	1.52	0.70
12	23'4'4'-TeCB(#66)	3.24	1.17	6.06	5.85	2.54	17.61	1.73	1.11	2.53	6.52	1.89	13.44	5.48
13	23'3'4'-/23'4'4'-TeCBs(#56/60)	2.25	0.55	4.04	1.72	0.96	4.56	0.81	0.36	1.02	2.45	0.69	4.75	1.79
14	22'3'5'6'-PeCB(#95)	3.42	2.06	6.45	2.99	1.65	6.92	1.71	1.00	2.31	2.65	1.62	4.08	1.97
15	22'3'5'5'-PeCB(#92)	2.58	0.60	7.27	2.02	1.29	4.56	0.75	0.33	1.32	2.14	0.65	5.82	2.07
16	22'4'5'5'-PeCB(#101)	8.09	2.08	16.98	5.60	3.34	14.78	2.00	1.10	3.00	4.88	1.73	10.19	5.42
17	22'4'4'5'-PeCB(#99)	98.45	26.37	257.60	32.18	14.72	71.05	18.42	2.43	35.82	29.73	5.65	60.59	22.99
18	23'4'5'6'-PeCB(#117)	11.71	1.05	28.31	2.05	1.13	3.22	0.96	0.42	1.96	2.47	0.43	6.18	1.52
19	22'3'4'5'-PeCB(#87)	3.88	1.20	6.70	1.82	0.69	4.64	1.14	0.60	1.70	1.74	0.68	3.44	1.48
20	22'3'4'4'-PeCB(#85)	0.58	0.35	1.13	0.56	0.22	1.78	0.24	0.11	0.45	0.47	0.24	0.82	0.52
21	23'3'4'6'-PeCB(#110)	1.24	0.86	2.38	1.38	0.58	3.46	0.82	0.54	1.19	1.12	0.56	1.79	1.17
22	23'3'4'5'-PeCB(#107)	1.52	0.38	2.95	1.96	1.15	4.73	0.53	0.20	0.92	2.54	0.38	5.31	1.80
23	2'3'4'4'5'-PeCB(#123)	0.51	0.06	1.16	0.64	0.22	1.69	0.21	0.02	0.40	1.15	0.19	2.65	0.73
24	23'4'4'5'-PeCB(#118)	33.82	9.38	77.93	37.27	19.06	91.49	15.37	1.88	27.62	59.13	7.86	127.31	40.30
25	23'4'4'5'-PeCB(#114)	10.30	1.70	22.51	3.85	0.91	6.69	1.80	0.02	3.57	4.47	0.17	12.06	3.12
26	23'3'4'4'-PeCB(#105)	7.54	2.43	17.13	8.99	5.08	23.79	3.44	0.60	5.79	12.48	2.28	25.56	9.58
27	22'3'5'5'6'-HxCB(#151)	5.04	0.97	21.43	3.34	1.62	9.12	1.30	0.41	2.41	3.57	0.77	11.32	3.24
28	22'3'3'5'6'-HxCB(#135)	1.62	0.65	5.11	1.47	0.78	3.81	0.54	0.20	0.99	1.18	0.34	2.31	1.08
29	22'3'4'5'6'-HxCB(#147)	2.65	0.48	4.92	1.32	0.77	2.99	0.56	0.26	1.11	1.34	0.31	2.97	1.34
30	22'3'4'4'6'-HxCB(#139)	3.64	1.75	7.78	3.11	1.32	11.43	1.05	0.49	1.53	2.01	0.61	3.66	2.05
31	22'3'3'5'6'-HxCB(#134)	0.15	0.02	0.40	0.15	0.02	0.43	0.09	0.02	0.18	0.14	0.02	0.26	0.14
32	23'3'5'5'6'-HxCB(#165)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	2.17	0.02	23.83	0.02
33	22'3'4'5'5'-HxCB(#146)	101.06	31.28	192.37	46.04	20.26	83.42	20.90	3.49	39.79	37.61	3.14	91.17	26.14
34	22'3'3'4'6'-HxCB(#132)	1.43	0.69	3.59	1.02	0.34	3.06	0.37	0.17	0.81	0.71	0.07	1.38	0.91
35	22'4'4'5'5'-HxCB(#153)	515.00	186.66	899.57	270.68	104.38	520.15	135.65	18.22	252.30	223.53	20.93	517.51	159.73
36	22'3'4'5'5'-HxCB(#141)	0.85	0.31	2.41	0.93	0.34	3.33	0.31	0.15	0.44	0.81	0.25	1.51	0.97
37	22'3'4'4'5'-HxCB(#137)	48.59	13.68	117.25	11.53	4.55	21.76	4.70	0.46	9.04	7.09	0.78	15.33	5.65
38	22'3'3'4'5'-HxCB(#130)	34.33	4.96	81.02	7.99	4.70	12.53	3.28	0.77	6.93	6.70	0.89	14.49	5.24
39	23'3'4'5'6'-HxCB(#164)	149.45	44.46	295.63	61.36	27.71	97.53	26.31	4.89	45.00	51.62	5.12	116.64	29.64
40	22'3'4'4'5'-HxCB(#138)	355.61	108.82	810.19	122.77	54.16	251.80	64.59	7.02	121.78	99.30	13.41	196.15	75.60
41	22'3'3'4'4'-HxCB(#128)	2.21	0.77	4.89	2.25	1.03	6.52	0.85	0.22	1.49	1.95	0.81	3.94	2.53
42	23'4'4'5'5'-HxCB(#167)	9.53	2.10	17.94	7.04	2.45	11.25	3.54	0.41	6.40	8.50	0.61	19.62	5.95
43	23'3'4'4'5'-HxCB(#156)	251.85	67.23	611.07	53.92	27.89	89.26	14.83	1.75	27.10	20.21	1.70	48.82	14.89
44	23'3'4'4'5'-HxCB(#157)	69.76	17.77	163.48	14.03	7.15	23.98	3.93	0.45	7.17	5.10	0.32	12.14	3.68
45	22'3'3'5'6'6'-HpCB(#179)	0.79	0.35	2.53	0.72	0.32	2.26	0.28	0.18	0.46	0.54	0.02	1.19	0.57
46	22'3'3'5'5'6'-HpCB(#178)	26.17	10.65	49.69	19.28	6.30	39.05	9.49	1.20	16.61	15.29	0.89	37.64	11.14
47	22'3'4'4'5'6'-HpCB(#182)	120.32	56.92	226.93	87.72	39.37	177.74	46.56	9.50	79.45	75.09	6.04	174.91	47.09
48	22'3'4'4'5'6'-HpCB(#183)	36.64	16.69	67.76	18.61	9.14	35.63	11.14	1.92	22.26	15.65	2.06	34.35	10.19
49	22'3'4'4'5'6'-HpCB(#181)	3.48	0.88	9.06	0.50	0.24	0.97	0.19	0.04	0.48	0.19	0.02	0.35	0.12
50	22'3'3'4'5'6'-HpCB(#177)	35.85	12.53	61.65	17.37	8.96	34.63	8.52	2.07	16.59	15.51	2.11	32.38	12.36
51	22'3'3'4'5'5'-HpCB(#172)	30.37	10.60	65.34	13.41	5.37	24.07	5.39	0.68	10.02	7.92	0.66	16.89	6.55
52	22'3'4'4'5'5'-HpCB(#180)	433.22	164.34	803.70	249.63	88.06	527.22	106.45	17.01	192.73	153.92	10.54	369.46	114.49
53	23'3'4'4'5'6'-HpCB(#191)	12.82	3.76	30.93	3.48	1.61	5.49	1.37	0.21	2.97	1.84	0.11	3.83	1.33
54	22'3'3'4'4'5'-HpCB(#170)	195.14	65.36	427.42	77.15	33.12	127.88	29.68	3.90	53.71	41.12	2.37	100.34	33.54
55	23'3'4'4'5'5'-HpCB(#189)	32.47	10.41	73.56	8.96	5.62	14.19	2.06	0.43	3.55	2.46	0.14	5.75	1.94
56	22'3'3'5'5'6'6'-OcCB(#202)	7.95	3.78	17.91	7.84	2.17	17.16	3.58	0.42	7.04	13.51	0.17	54.73	4.61
57	22'3'3'4'5'6'6'-OcCB(#200)	1.56	0.49	3.27	1.16	0.44	3.21	0.68	0.11	1.54	2.17	0.10	9.25	0.92
58	22'3'3'4'5'5'6'-/22'3'3'4'5'5'6'-OcCBs(#201/198)	54.84	25.43	91.90	44.88	15.60	95.34	19.74	3.39	36.30	24.36	0.50	68.66	14.83
59	22'3'4'4'5'5'6'-OcCB(#203)	59.89	23.82	115.84	34.75	14.03	63.66	14.67	2.80	27.79	19.81	0.46	49.70	6.27
60	22'3'3'4'4'5'6'-OcCB(#195)	17.97	6.21	36.36	8.20	3.90	14.92	3.51	0.62	6.65	4.89	0.50	12.01	3.27
61	22'3'3'4'4'5'5'-OcCB(#194)	65.84	29.03	121.93	41.05	18.84	87.02	16.09	3.80	27.62	22.13	0.99	50.80	15.89
62	23'3'4'4'5'5'6'-OcCB(#205)	3.45	1.14	6.89	1.36	0.99	2.44	0.58	0.20	0.94	0.80	0.15	1.75	0.50
63	22'3'3'4'5'5'6'6'-NoCB(#208)	4.06	1.95	6.38	2.70	1.26	5.78	1.19	0.55	2.16	1.98	0.08	4.36	0.71
64	22'3'3'4'4'5'6'6'-NoCB(#207)	2.18	1.01	4.05	1.29	0.75	2.90	0.55	0.25	0.97	0.89	0.13	1.71	0.38
65	22'3'3'4'4'5'5'6'-NoCB(#206)	13.33	5.47	24.22	7.65	4.73	15.05	3.17	1.14	5.78	4.72	0.19	10.51	1.45
66	22'3'3'4'4'5'5'6'6'-DeCB(#209)	4.82	2.84	8.45	4.50	2.50	11.11	2.07	1.02	3.56	3.47	0.24	6.96	0.06
Total TrCBs		5.39	2.87	9.03	8.78	3.99	16.04	4.21	2.89	6.11	9.22	4.89	19.63	5.77
Total TeCBs		42.05	16.42	61.08	39.39	22.79	78.55	23.39	10.60	38.33	73.26	18.46	191.61	43.03
Total PeCBs		183.63	48.81	359.88	101.30	55.13	236.71	47.38	11.25	85.91	124.99	24.79	253.44	92.69
Total HxCBs		1552.79	482.62	3197.14	608.97	261.29	1152.38	282.79	39.90	522.70	473.57	51.26	1045.54	338.76
Total HpCBs		927.26	352.51	1742.86	496.84	200.30	962.64	221.14	37.23	396.21	329.52	25.18	774.43	239.31
Total OcCBs		211.51	89.90	385.81	139.25	56.03	278.53	58.87	11.34	107.42	87.66	2.96	197.99	46.29
Total NoCBs		19.57	8.67	34.65	11.65	6.74	23.73	4.91	1.94	8.92	7.59	0.40	16.57	2.54
Total PCBs		2947.01	1006.33	5792.52	1410.68	608.78	2583.23	644.75	116.18	1142.30	1109.28	128.97	2480.72	768.45

\* Concentrations of four kinds of non-ortho coplanar PCB (IUPAC#77, #81, #126 and #169) are excluded in this summary.

\*\*Determined from blood mixture of ten adults living in Fukuoka.

## 文 献

- 1) 飯田隆雄, 戸高 尊, 平川博仙, 飛石和大, 松枝隆彦, 堀 就英, 中川礼子: 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査(2001年). 福岡医誌 94: 126-135, 2003.
- 2) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T: New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Acta Med. 94: 148-157, 2003.
- 3) 中川礼子, 芦塚由紀, 堀 就英, 平川博仙, 飛石和大, 飯田隆雄: 血中 PCB パターン判定における従来法と異性体分析法の同等性について. 福岡医誌 94: 144-147, 2003.
- 4) 松村千里, 鶴川正寛, 中野 武, 江崎達也, 大橋 眞: キャピラリーカラム (HT8-PCB) による PCB 全 209 異性体の溶出順位. 環境化学 12: 855-862, 2002.
- 5) 三村敬介, 田村水穂, 原口浩一, 増田義人: 油症患者母乳及び血液中の全 PCB 異性体の分析. 福岡医誌 90: 202-209, 1999.
- 6) Ashizuka Y, Hori T, Takenaka S, Tobiishi K, Nakagawa R and Iida T: Improvement of the methods for analyzing mono-ortho PCBs in food. Organohalogen Compounds 50: 146-149, 2001.
- 7) 松本 司, 竹井秀夫, 下田義則, 矢野泰正, 今村光徳: 四重極型 GC / MS による PCB の分析方法の検討 (その 2). 広島市衛生研究所年報 22: 73-78, 2003.
- 8) 残留農薬多成分分析法開発検討委員会: 残留農薬多成分分析法の開発について. 食品衛生研究 45: 31-49, 1995.
- 9) Holstege D M, Scharberg D L, Tor E R, Hart L C and Galey F D: A rapid multiresidue screen for organophosphorus, organochlorine, and N-methyl carbamate insecticides in plant and animal tissues. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 77: 1263-1274, 1994.
- 10) 剣持堅志, 吉岡敏行, 西島倫子, 難波順子, 武 志保: GPC (Gel Permeation Chromatography) の微量化学物質 (PCB, PCN 等) 分析への応用. 第 11 回環境化学討論会講演要旨集 pp 164-165, 2002.  
(受付 2005-4-5)

## 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

福岡県保健環境研究所

芦塚由紀, 中川礼子, 平川博仙, 堀 就英, 飯田隆雄

### Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Yusho Diagnosis

Yuki ASHIZUKA, Reiko NAKAGAWA, Hironori HIRAKAWA, Tsuguhide HORI and Takao IIDA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39,  
Mukaizano, Dazaifu-shi, Fukuoka 818-0135*

**Abstract** The polychlorinated quaterphenyl (PCQ) concentrations in the blood are important discriminative parameters in Yusho patients. In this study, the analytical method of PCQ was improved, and a high speed and precision analysis could be achieved. A recovery test showed satisfactory recoveries of 99.5 % (RSD4.8 %, n=5). Using this method, the authors analyzed 62 blood samples which were collected from the 2004 annual inspection for Kanemi rice oil poisoning. PCQ was detected in 20 blood samples (ranging from 0.03 to 4.15 ng / g). The average concentration was 2.07 ng / g in the pattern A (typical Yusho patients), 0.76 ng / g in the pattern B, 0.18 ng / g in the pattern BC and 0.01 ng / g in the pattern C, respectively.

ポリ塩化クアテルフェニル (PCQ) は、油症患者が摂取したライスオイル中に高濃度に含まれていたことが報告されており<sup>1)</sup>, PCDF と同様に PCB を熱媒体として加熱使用中に生成し、ライスオイルに混入した物質であると考えられている<sup>2)</sup>。PCQ は酵素誘導能、肝肥大、胸腺萎縮、体重増加抑制などを指標とした動物実験結果から毒性は弱いと考えられたが<sup>3)</sup>, 油症患者の血液に健常者には見られないレベルの PCQ が検出されたため<sup>4)</sup>, PCQ 濃度は油症診断の有用な基準として 1976 年に追加された。その基準では、血中 PCQ 濃度は 0.1 ppb 以上が異常に高い濃度とされ、0.02 ppb 以下が通常みられる濃度、0.03 ~ 0.09 ppb が境界領域濃度とされている。

健常者の血中の PCQ 濃度は平均で 0.02 ppb 以下であると結論づけられている<sup>5)</sup>。そのため、健常者と油症患者の境界領域と考えられている 0.03 ppb ~ 0.09 ppb の濃度を精度よく分析を行うことが不可欠である。PCQ の分析法は前田ら<sup>6)</sup>により、完全塩素化物である 18 塩化クアテルフェニル (ODCQ) として電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (ECD / GC) で定量する方法として確立された。そして、飯田ら<sup>7)</sup>によりキャピラリーカラムを用いた分析法が開発され、前処理段階で混入する妨害物がクロマトグラム上で除かれるこ

とにより、ECD / GC 測定における精度、感度が向上した。

しかしながら、従来から PCQ 分析の前処理は血液 4 ~ 10 g を用いて行われており、その前処理は多くの労力と時間を費やすものであった。さらに現在は PCB と PCQ に加えて、新しい診断基準として追加された PCDF の測定も必要になったため、採血者の負担を減らすためにも、より少ない血液量で分析を行う必要が生じている。我々は、PCQ を定量するために血液試料 2 g から前処理を行い、必要な感度である 0.02 ng / g の検出下限値を達成することができた。そして試料量を減らすことにより、アルカリ分解やカラム精製をより小スケールで行うことが可能となり、検査の迅速性を高めることができた。今回は、その分析方法とそれを用いて行った平成 16 年度油症一斉検診における PCQ の分析結果について考察し、いくつかの知見が得られたので報告する。

### 材料及び実験方法

#### 1. 血液試料

平成 16 年度油症一斉検診で、PCQ 測定対象 62 名の受診者血液について PCQ 検査を実施した。N = 5 の添加回収試験には、健常者 1 名の血液を使用した。

## 2. 標準液

PCQ 標準液 (10 ng/ml) を完全塩素化して PCQ 濃度で 5 ng/ml に相当する ODCQ 標準溶液を調製した。この標準溶液を希釈し、0.2~2 ng/ml の検量線溶液を調製した。

## 3. 試薬・試液

ヘキサン、エタノールはキシダ化学社製の残留農薬・PCB 分析用を用いた。ジエチルエーテル、ジクロロメタンは関東化学社製の残留農薬・PCB 分析用を用いた。水酸化カリウムは和光純薬株式会社製の特級を、無水硫酸ナトリウムは関東化学社製の残留農薬・PCB 分析用を用いた。硫酸は和光純薬株式会社製の有害金属測定用を、発煙硫酸はキシダ化学社製を用いた。フロリジルは Floridin 社製のものを 130°C で 3 時間活性化させ、アルミナはメルク社製の Aluminiumoxid (70~230 mesh) を 130°C で 3 時間活性化後、精製水を 2% 加えてよく混合したものを用いた。

## 4. 使用機器

ガスクロマトグラフ ECD: Hewlett-Packard 社 HP5890A ( $^{63}\text{Ni}$ -ECD)

## 5. 測定条件

キャピラリーカラムカラム: Quadrex社製MPS 50(長さ 25 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.1  $\mu\text{m}$ ), カラムヘッド圧: 25psi, 注入口温度: 300°C, 注入方法: スプリットレス, カラム温度: 80°C で 5 分間保持した後, 320°C まで 1 分間に 30°C の割合で昇温後 45 分間保持, 注入量: 3  $\mu\text{l}$ , 検出器温度: 350°C.

## 6. 分析方法

血液試料をよく混和し、約 2 g を 10 ml の丸底遠心管に正確に秤量した。1.5 N の水酸化カリウム/エタノールを 3.5 ml 加えてよく混合した後、90°C で 1 時間還流させた。放冷後、ヘキサンを 2 ml 加えて振とう抽出した。2000 rpm で 5 分間遠心分離した後、ヘキサン層を別の 10 ml スピッチに移した。再度ヘキサン 2 ml を加え、振とう抽出を行い先のヘキサン層と合わせた。ヘキサン層に精製水 3 ml を加えて水洗した後、無水硫酸ナトリウム (1.5 g) を充填したパスツールピペットに流し込み、7 ml のヘキサンで溶出させた。ヘキサ

ン溶液を窒素ガスで約 1 ml に濃縮し、パスツールにフロリジル 0.5 g (130°C で 3 時間活性化させたもの)、無水硫酸ナトリウム 0.2 g を積層させたカラムに負荷し、5%ジエチルエーテル/ヘキサン 7 ml で溶出させた。窒素ガスで濃縮乾固し、ヘキサン 2 ml を加えた。10%発煙硫酸 1 ml を加えて、攪拌し、2000 rpm, 5 min で遠心分離を行った後、硫酸層を捨てた。この操作を硫酸層が透明になるまで繰り返した。ヘキサン層をガラス製反応管に移し、0.5 ml ヘキサンで 3 回洗い込んだ後、窒素ガスで乾固させた。さらに 30 分以上減圧デシケーターに入れて完全に溶媒を留去させた。5 塩化アンチモンを 0.5 ml 加えて封管した後、200°C で 3 時間加熱し完全塩素化した。反応終了後、冷却し、開管した反応管にクロロホルム 2 ml を加えて、振とうした。次に 20%塩酸を 0.5 ml 加えて十分に振とうした後氷冷し、さらに 20%塩酸 2 ml を加えて振とうした。1000 rpm で 5 分遠心分離した後、上層を捨て、同様に 20%塩酸 2 ml で 2 回洗浄した。続いて、蒸留水 2 ml, 5%酒石酸 2 ml, 5%炭酸水素ナトリウム 2 ml, 蒸留水 2 ml の順番で洗浄を行った。無水硫酸ナトリウム (1.5 g) を充填したパスツールピペットに、クロロホルム層を流し込み、5 ml のクロロホルムで溶出させた。窒素ガスで濃縮を行い、完全にクロロホルムを留去した後、ヘキサン 0.5 ml に溶解させた。次にパスツールピペットにアルミナ 0.25 g (130°C で 3 時間活性化後、精製水を 2% 加えてよく混合したもの) と無水硫酸ナトリウム 0.2 g を積層したカラムに試料液を負荷し、2%ジクロロメタン/ヘキサン 6 ml で溶出させた。10 ml 先細スピッチにとり、窒素ガスで濃縮を行い、完全に溶媒を留去させた。ヘキサン 0.2 ml を加えて最終検液とした。試料は ECD/GC に 3  $\mu\text{l}$  注入し、分析を行った。

## 7. 添加回収試験

健常者の血液 2 g に PCQ 標準溶液 10 ng/ml を 40  $\mu\text{l}$  ずつ添加した。(血液試料 1 g 当たり PCQ が 0.2 ng となるように添加した。) 6 に示す分析方法を用いて N=5 で添加回収試験を行った。

## 結果及び考察

### 1. 分析方法の簡易化および添加回収試験

一回の分析に用いる血液量を 2 g に減らすにより、アルカリ分解処理、無水硫酸ナトリウムによる脱水、フロリジル、アルミナカラムによる精製を全て小スケールで多検体同時に処理できるようになり、カラムの溶出に用いる溶媒量は 10 ml 以下に減らすことができた。また、溶出液の濃縮はすべて窒素ガスを用いて多検体を同時に行った。それにより分析時間が短縮され、以前は 8 検体の前処理に約 1 週間必要であったが、3～4 日で行うことが可能となった。分析法のフローを Fig. 1 に示す。

PCQ が検出されない健常者の血液を用いて、本法を用いた PCQ の添加回収試験を行ったところ、回収率は平均 99.5% で、RSD が 4.8% と良好な結果が得られた。ECD / GC における検出下限値は 0.2 ng / ml であり、検量線には良好な直線性がみられた。Fig. 2 に 2 ng / ml 標準溶液及びサンプル（受診者 2 名）の ECD / GC クロマトグラムを示す。試料における定量下限値は 0.02 ng / g であった。

分析の精度を確認するために、受診者 62 名の血液試料測定途中に、ポジティブコントロールとして患者 1 名の血液を計 3 回分析した。その結果、1 回目が 4.15 ng / g、2 回が 4.75 ng / g、3 回目が 4.43 ng / g であり、平均 4.44 ng / g、RSD 6.8% と良好であった。PCQ 分析の期間、分析の精度が維持されていることが確認できた。

## 2. 平成 16 年度油症一斉検診における PCQ 分析の結果

平成 16 年度油症一斉検診受診者で PCQ 測定対象者 62 名の血液について PCQ 検査を実施した。PCQ が検出されたのは 20 名で、その濃度は 0.03 ng / g ～ 4.15 ng / g であった。

Table 1, Fig. 3 は今回測定を行った 62 名の血液中 PCQ 濃度を PCB パターン別に示したものである。A パターンの 4 名は PCQ 濃度が 0.7 ～ 4.2 ng / g で他と比べ非常に高濃度であった。B パターンについては 0.1 ～ 1 ng / g の範囲が多く、C パターンでは 38 名中 37 名が ND であった。濃度の平均値は A パターンが 2.07 ng / g、B パターンが 0.76 ng / g、BC パターンが 0.18 ng / g、C パターンが 0.01 ng / g であった。典型的な油症患者の PCB 濃度パターンである A、B パ

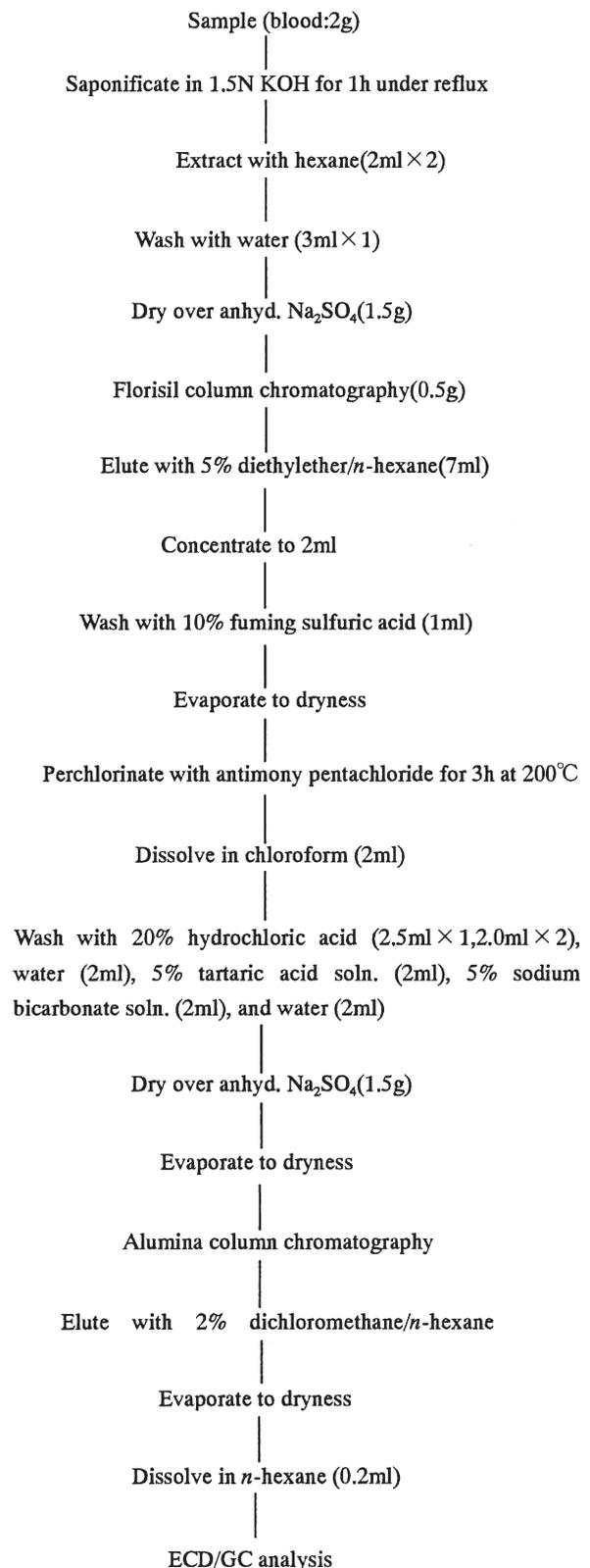
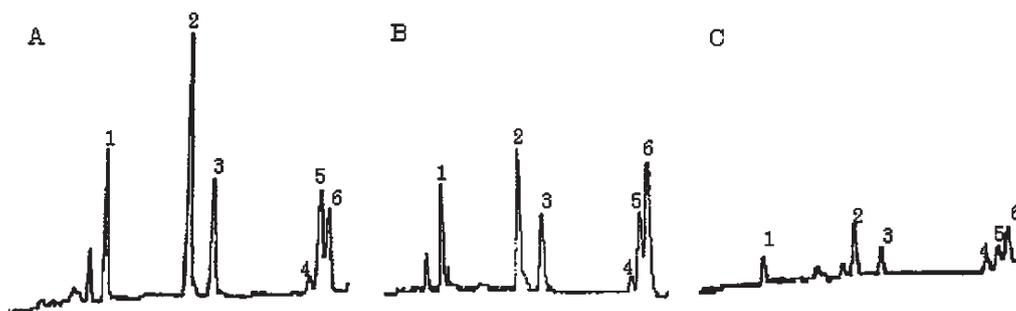


Fig. 1 Analytical scheme for polychlorinated quaterphenyls (PCQs) in blood



**Fig. 2** The ECD / GC chromatograms of six skeletal types of perchlorinated PCQ congener (ODCQ)  
 (Peak 1: 2,2'-ODCQ, Peak 2: 2,3'-ODCQ, Peak 3: 2,4'-ODCQ, Peak 4: 4,4'-ODCQ, Peak 5: 3, 3'-ODCQ, Peak 6: 3,4'-ODCQ)  
 A: PCQ standard (2 ng/ml)  
 B: Sample (pattern A, 4.15 ng / g)  
 C: Sample (pattern BC, 0.03 ng / g)

ターンのほとんどは、現在も PCQ が 0.1 以上の高い濃度を示していることがわかる。一方、PCB のパターンが B パターンでも PCQ が ND (< 0.02 ng / g) という例が 4 例、逆に健常者と見分けができない C パターンの人で PCQ が 0.4 ng / g と高い濃度を示す例が 1 例見られた。

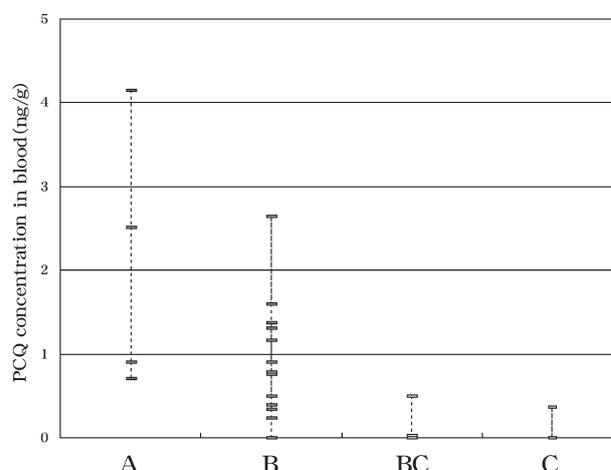
Fig. 4 は毎年測定を行っているポジティブコントロール (福岡県内在住の患者) 血液中 PCQ 濃度の経年変化を示している。血中 PCQ 濃度は昭和 60 年から平成 16 年の 19 年間で 8.3 ng / g から 4.15 ng / g と、およそ 1 / 2 の濃度まで減少していることがわかる。PCQ は体内残留性が高く皮下脂肪組織中に蓄積していると考えられるが<sup>8)</sup>、血液中の PCQ 濃度と皮下脂肪組織中 PCQ の間に有意な相関あることから<sup>8)9)</sup>、油症患者体内の PCQ は徐々にではあるが排泄され、減少していることが推測される。

## 総 括

油症検診における血液中 PCQ の分析において、一回の分析に用いる血液試料量を減らし、分析の小スケール化を行うことによって、分析時間の大幅な短縮が可能となった。この方法による PCQ の回収率は平均 99.5 %、RSD 4.8 % と良好であり、また必要な感度である 0.02 ng / g の定量下限値を達成することが可能であることが確認された。この方法を用いて平成 16 年度油症一斉検診受診者 62 名の血液中における PCQ 濃度を分析した結果、20 名の血液から PCQ が検出された。典型的

**Table 1** The blood PCQ levels of subjects classified to each PCB pattern in the 2004 annual inspection

PCQ concentration (ng / g)	PCB pattern			
	A	B	BC	C
1 ~	2	5	0	0
0.1 ~ 1	2	8	1	1
ND (<0.02) ~ 0.1	0	0	1	0
ND (<0.02)	0	4	1	37
Total	4	17	3	38



**Fig. 3** The blood PCQ levels of subjects classified to each PCB pattern in the 2004 annual inspection

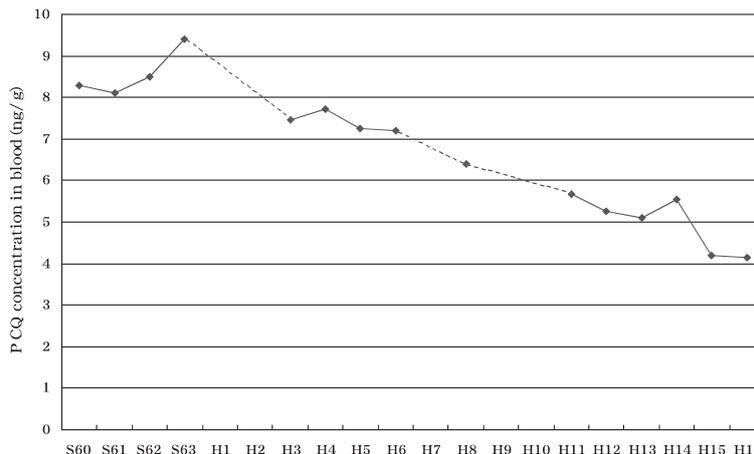


Fig. 4 Time trend of PCQ concentration in the positive control blood

な油症患者の濃度パターンである A, B パターンのほとんどは、現在も PCQ が 0.1 ng / g 以上の高い濃度を示していることがわかった。しかしながら、PCB のパターンが B パターンであっても PCQ が検出されない例や、逆に健常者と見分けができない C パターンの人で PCQ が高濃度 (0.4 ng / g) で検出された例が見られた。患者血液中 PCQ 濃度は油症発生から 30 年以上経過した現在、代謝や排泄等により明らかに減少しているが、油症診断基準としての有用性は不変であり、油症検診において PCB, PCDF 濃度とともに PCQ 濃度についても継続的な追跡調査が重要であると思われる。

謝 辞

本研究は平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金に負うものである。ここに記して謝意を表します。

文 献

- 1) 飯田隆雄, 深町和美, 高橋克巳, 増田義人: 油症原因油および油症患者血液中の PCB, PCQ および PCT, 福岡医誌 76: 126-131, 1985.
- 2) 増田義人, 倉恒匡徳: 油症を起こしたライスオイル中の毒性物質, 福岡医誌 70: 229-237, 1979.
- 3) Takenaka S, Iida T, Nagase M, Takata S,

Masuda Y, Koga N, Kuroki J, Hokama Y and Yoshimura H: Accumulation, excretion and effects on hepatic enzymes of polychlorinated quaterphenyl congeners in rats, J. Pharmacobio. Dyn., 8: 571-577, 1985.

- 4) Kashimoto T, Miyata H and Kunita N: The presence of polychlorinated quaterphenyls in the tissues of Yusho victims. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 19: 335-340, 1981.
- 5) 飯田隆雄, 竹中重幸, 中川礼子, 深町和美, 高橋克巳, 旭 正一: 正常者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル濃度, 福岡医誌 78, 305-308, 1987.
- 6) 前田浩一郎, 櫻本 隆: 大阪府立公衆衛生研究所報告 食品衛生編 9: 89, 1978.
- 7) 飯田隆雄, 深町和美, 竹中重幸, 中川礼子, 高橋克巳: ポリ塩化クアテルフェニルのキャピラリーガスクロマトグラフィーによる定量, 分析化学 37: 230-235, 1988.
- 8) 大神太郎, 野中薫雄, 吉田彦太郎, 村山史男, 山下和徳, 益田宣弘: 油症患者の血液および皮脂肪組織中の polychlorinated biphenyls (PCB), polychlorinated quaterphenyls(PCQ) の濃度と性状について, 福岡医誌 78: 337-342, 1987.
- 9) 中川礼子, 高橋克巳: PCB 及びその関連化合物体内残留濃度の油症診断への適用に関する研究, 福岡医誌 82: 280-294, 1991.

(受付 2005-4-5)

## 2,3',4,4',5-五塩素化ビフェニル (CB118) の モルモット肝ミクロゾームによる代謝

<sup>1)</sup> 中村学園大学栄養科学部栄養科学科

<sup>2)</sup> 第一薬科大学健康化学教室

<sup>3)</sup> 静岡県立大学薬学部機構薬剤学教室

太田千穂<sup>1)</sup>, 原口浩一<sup>2)</sup>, 加藤善久<sup>3)</sup>, 古賀信幸<sup>1)</sup>

### Metabolism of 2, 3', 4, 4', 5-Pentachlorobiphenyl by Guinea Pig Microsomes

Chiho OHTA<sup>1)</sup>, Koichi HARAGUCHI<sup>2)</sup>, Yoshihisa KATO<sup>3)</sup> and Nobuyuki KOGA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Faculty of Nutritional Sciences, Nakamura Gakuen University, 5-7-1, Befu, Johnan-ku, Fukuoka 814-0198

<sup>2)</sup> Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, 22-1 Tamagawa-cho, Minami-ku, Fukuoka, 815-8511

<sup>3)</sup> School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, 52-1, Yada, Shizuoka 422-8526

**Abstract** The *in vitro* metabolism of 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (pentaCB) (CB118) was studied using liver microsomes of guinea pigs and the effect of cytochrome P450 inducers, phenobarbital (PB) and 3-methylcholanthrene (MC) on CB118 metabolism was also compared. After 30 min-incubation at 37°C with liver microsomes of guinea pigs, CB118 was hydroxylated to two metabolites (M-1 and M-2) with retention times of 15.84 min and 20.01 min in GC/ECD, respectively. GC/MS showed that the methylated derivative of a major metabolite M-2 had the molecular weight of 354 and an intense fragment ion of  $[M^+-50]$  which is a characteristic ion for PCBs possessing a methoxy-group at the 2 (2')- or the 6 (6')-position. By comparison of the mass fragmentation and the retention times in GC/MS with the synthetic authentic compounds, M-2 was identified as 2-hydroxy-3,3',4,4',5-pentaCB (CB126). On the other hand, the methylated derivative of a minor metabolite M-1 had the molecular weight of 320 and the similar fragment ion of  $[M^+-50]$  to the methylated M-2, assuming that M-1 was a dechlorinated monohydroxy-tetrachlorobiphenyl (tetraCB) possessing hydroxy-group at the 2 (2')- or the 6 (6')- position. However, the precise structure of M-1 could not be determined because its retention time in GC was in disagreement with that of the candidate 6-hydroxy-3,3',4,4'-tetraCB. PB-treatment increased the formation of M-1 and M-2 to 2.2- and 6.8-fold of untreated animals, whereas MC-treatment increased only M-2 to 2.6-fold of untreated ones. Addition of antiserum against a PB-inducible guinea pig cytochrome P450, CYP2B18, completely inhibited the formation of M-2. These results suggest that CB118 is principally metabolized by CYP2B18 to 2-hydroxy-CB126 which is formed via a 2,3-epoxide intermediate and the subsequent NIH-shift of a chlorine at the 2-position to the 3-position in guinea pig liver.

### はじめに

2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl (pentaCB) (CB 118) はカネミ油症の原因物質である PCB 製品 (Kanechlor 400) の主要な成分の1つである<sup>28)</sup>とともに、油症患者血液中の PCB 成分のうちで、健常者よりも濃度が低い PCB 異性体として知られている<sup>23)</sup>。PCB を含むダイオキシン類の毒性の

強さを表す指標として毒性評価係数 (TEF) があるが、CB118 に対しては、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin を 1.0 とした場合、0.00001 の強さを有するとされている<sup>34)</sup>。

PCB 異性体は毒性の1つとして、肝チトクロム P450 (P450) を中心とした肝薬物代謝酵素に対する強い誘導能を有しており、その誘導様式の違いから、phenobarbital (PB) 型、3-methylcholanth-

rene (MC) 型および混合型に分類されている<sup>32)</sup>。PB 型には, mono-ortho-および di-ortho-PCB が, また, MC 型には高毒性の coplanar PCB が含まれる。CB118 は mono-ortho-PCB であるが coplanar PCB の性質も有することから, 2,3,3',4,4'-pentaCB (CB105) とともに混合型に分類されている<sup>37)</sup>。

一方, PCB 異性体のうち, 2,4,5-三塩素置換 PCB, 例えば CB118, 2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (hexaCB) (CB138), 2,2',4,4',5,5'-hexaCB (CB 153), 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (heptaCB) (CB180) および 2,2',3,4',5,5',6-heptaCB (CB187) は, 肝, 脂肪組織および血液などへの残留性が非常に高いことが知られている<sup>5)9)11)33)</sup>。また, 最近, ヒト血液において, 4-水酸化 (OH)-CB187 や 4-OH-2,2',3,4',5,5'-hexaCB (CB146) などの, 特に PCB の 4 位が水酸化された代謝物が高濃度で検出されている<sup>5)9)33)</sup>。さらに, これらの OH 体は血液中の甲状腺ホルモン輸送タンパク質である transthyretin と高い親和性を有していることから, 結果的に血中甲状腺ホルモンの低下をもたらすといわれる<sup>6)7)</sup>。これらの事実は, PCB によるヒトへの生体影響を明らかにするためには, 2,4,5-三塩素置換 PCB の代謝研究が急務であることを示している。

モルモットはダイオキシン類などの毒性に対して, 最も感受性の高い動物として知られているが<sup>17)</sup>, 一方, PCB に対する代謝活性に関してもラットとかなり異なっている。例えば, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (tetraCB) (CB77) などの coplanar PCB に対する代謝能はラットに比べ, かなり低い<sup>22)</sup> のに対し, 2,4,5-三塩素置換 PCB に対する代謝能は逆にラットよりかなり高い<sup>21)2)</sup>。当研究室では, 高蓄積性 PCB の CB153 や CB138 などの *in vitro* 代謝を調べ, その結果, モルモットではラットより数倍高い代謝活性を有すること, NIH 転位代謝物である 2-OH 体が主代謝物であること, さらに, これらの代謝に PB 誘導性 P450 である CYP2B18 が強く関与することを報告した<sup>3)19)</sup>。

しかしながら, 2,4,5-三塩素置換 PCB の原型ともいえる CB118 の代謝に関する報告はほとんどない。Haraguchi ら<sup>10)</sup> は CB118 投与ラットの

糞中に, 4 種類の OH 体, すなわち, 4-OH-2,3',4',5-tetraCB (CB70), 4-OH-2,3,3',4',5-pentaCB (CB107), 4'-OH-2,3',4,5,5'-pentaCB (CB120) および 5'-OH-CB118 と 2 種類のメチルチオ (MeS) 体, すなわち 5'-および 6'-MeS-CB118 を検出した。また, 4-OH-CB107 および 4'-OH-CB120 は特に血液中および肝, 肺, 腎などの臓器に高濃度分布していることも明らかにした。さらに, 最近, Haraguchi ら<sup>12)</sup> は Kanechlor 500 投与のラット, ハムスターおよびモルモットにおいて, 代謝物の組織分布を比較したところ, ラットおよびハムスター血液中では CB118 由来と考えられる 4-OH-CB107 が高濃度検出されたが, モルモットではラットやハムスターとは全く異なり 3-OH-CB118 のみが検出されたと報告した。これらの結果は CB118 の *in vivo* 代謝において, 大きな動物種差があることを示しているが, われわれがモルモット肝を用いて行った CB153 や CB138 の *in vitro* 代謝で報告した 2-OH 体について, CB118 では全く検出されていない。そこで本研究では, この点を明らかにするため, モルモット肝ミクロゾームを用いて CB118 の *in vitro* 代謝を調べた。また, 代謝に関与する P 450 分子種を明らかにするため, 代表的な P 450 誘導剤として知られている PB および MC で前処理した動物でも同様に検討した。

## 実験方法

### 1. 実験材料

#### (1) CB 118 の合成

CB 118 は Cadogan の方法<sup>8)</sup> で合成した。まず, 1,2-dichlorobenzene および 2,4,5-trichloroaniline を tetrachloroethylene で溶解し, さらに亜硝酸イソペンチルを加えて, 110°C で 24 時間反応させた。反応物はアルミナカラム (100 g, Merck) およびシリカゲル 60 カラム (65 g, Merck) で精製した後, 不純物を除くため, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に付した。HPLC 条件は次の通りである。カラム, ODS (250 × 20 mm i.d., 5 μm, YMC); 移動相, acetonitrile; 流速, 4 ml/min; 検出波長, 254 nm。CB118 の純度を電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー (GC/ECD) により調べた結果, 最終的に 99.0% 以上であった。

CB 118 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 324 (100)  $[M^+]$ , 326 (163)  $[M^++2]$ , 328 (99)  $[M^++4]$ , 330 (32)  $[M^++6]$ , 254 (40)  $[M^+-CH_3Cl]$ .

#### (2) 代謝物の合成

2-OH-CB 126 の合成は, 3,4-dichloroaniline と 2,3,4-trichlorophenol を合成原料として用い, Hutzinger らの方法<sup>13)</sup>で行った. 反応後, シリカゲル 60 カラム (65 g, Merck) および HPLC で精製した. なお, メチル化は, アルカリ性条件下, ジメチル硫酸の添加により行った<sup>24)</sup>. 一方, 3-methoxy (MeO)-CB118 および 4-MeO-2,3,3',4',5-pentaCB (CB107) の合成は, Cadogan の方法<sup>8)</sup>で行った. 合成原料として 3,4-dichloroaniline と 2,3,6-trichloroaniline を用い, これらを tetrachloroethylene で溶解し, さらに亜硝酸イソペンチルを加えて, 110°C で 24 時間反応させた. 精製は上記と全く同様に, アルミナカラム (100 g, Merck), シリカゲル 60 カラム (65 g, Merck) および HPLC で行った. また, 6-MeO-CB77, 5-MeO-2,3,3',4'-tetraCB (CB56) および 6-MeO-CB56 の合成は, 3,4-dichloroaniline と 3,4-dichlorophenol を合成原料として用い, Hutzinger らの方法<sup>13)</sup>で行った. 反応後, シリカゲル 60 カラム (65 g, Merck) および HPLC で精製した. なお, メチル化は, diazomethane により行った.

2-OH-CB126 : <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, chloroform-*d*)  $\delta$  7.52 (1H, d,  $J=8.3$  Hz, 5'-H), 7.47 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, 2'-H), 7.28 (1H, s, 6-H), 7.22 (1H, dd,  $J=8.3$  Hz, 2.0 Hz, 6'-H), 3.95 (3H, s, 4-MeO).

2-MeO-CB126 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 354 (100)  $[M^+]$ , 356 (160)  $[M^++2]$ , 358 (109)  $[M^++4]$ , 360 (38)  $[M^++6]$ , 304 (103)  $[M^+-CH_3Cl]$ , 284 (26)  $[M^+-Cl_2]$ , 241 (35)  $[M^+-COCH_3Cl_2]$ .

3-MeO-CB118 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 354 (100)  $[M^+]$ , 356 (156)  $[M^++2]$ , 358 (93)  $[M^++4]$ , 360 (35)  $[M^++6]$ , 311 (53)  $[M^+-COCH_3]$ , 241 (40)  $[M^+-COCH_3Cl_2]$ .

4-MeO-CB107 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 354 (100)  $[M^+]$ , 356 (120)  $[M^++2]$ , 358 (82)  $[M^++4]$ , 360 (35)  $[M^++6]$ , 339 (48)  $[M^+-$

$CH_3]$ , 311 (45)  $[M^+-COCH_3]$ , 241 (21)  $[M^+-COCH_3Cl_2]$ . <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, chloroform-*d*)  $\delta$  7.52 (1H, d,  $J=8.1$  Hz, 5'-H), 7.47 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, 2'-H), 7.28 (1H, s, 6-H), 7.22 (1H, dd,  $J=8.3$  Hz, 2.0 Hz, 6'-H), 3.95 (3H, s, 4-MeO).

5-MeO-CB 56 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 320 (100)  $[M^+]$ , 322 (127)  $[M^++2]$ , 324 (43)  $[M^++4]$ , 326 (8)  $[M^++6]$ , 277 (14)  $[M^+-COCH_3]$ , 207 (16)  $[M^+-COCH_3Cl_2]$ .

6-MeO-CB 56 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 320 (100)  $[M^+]$ , 322 (132)  $[M^++2]$ , 324 (63)  $[M^++4]$ , 326 (13)  $[M^++6]$ , 270 (103)  $[M^+-CH_3Cl]$ , 207 (37)  $[M^+-COCH_3Cl_2]$ .

6-MeO-CB 77 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 320 (100)  $[M^+]$ , 322 (132)  $[M^++2]$ , 324 (67)  $[M^++4]$ , 326 (15)  $[M^++6]$ , 270 (120)  $[M^+-CH_3Cl]$ , 207 (34)  $[M^+-COCH_3Cl_2]$ .

## 2. 薬物投与

Hartley 系雄性モルモット (体重約 300 g) に, P 450 誘導剤として PB (80 mg/kg/day) あるいは MC (20 mg/kg/day) を 3 日間腹腔内に投与した. PB は生理食塩水に, MC はコーン油に溶解した. モルモット肝ミクロゾームは, PB および MC の最終投与日の翌日に屠殺した後, 肝を摘出し, 常法により調製した.

## 3. 代謝物の分析

モルモット肝ミクロゾームによる CB118 の代謝は既報<sup>20)</sup>に準じて行った. すなわち, 40  $\mu$ M CB118, NADPH 生成系 (0.33 mM NADP, 5 mM glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase 1.0 unit), 6 mM  $MgCl_2$  およびモルモット肝ミクロゾーム (1 mg protein) を 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) とともに合計 1 ml として, 37°C で 30 min インキュベート後, 代謝物を chloroform-methanol (2 : 1) 1 ml と *n*-hexane 3 ml でそれぞれ 3 回ずつ抽出した. 抽出液は diazomethane でメチル化後, GC/ECD に付した. GC/ECD の条件は次の通りである. 分析機器, ECD 付 HP 5890 Series II ガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard 製); カラム, DB-1 fused silica capillary column (30 m  $\times$  0.25 mm

i.d., 0.25  $\mu$ m 膜厚, J & W Scientific 製); オープン温度, 220°C; 注入口温度, 250°C; 検出器温度, 250°C; キャリアーガス, N<sub>2</sub> (1 ml/min).

一方, 代謝物の質量分析 (GC/MS) は質量分析計付ガスクロマトグラフ (Agilent 5973 inert MSD, Agilent 製) を用いて, EI モードで行った. 分析条件は次の通りである. カラム, HP-5 fused silica capillary column (60 m  $\times$  0.25 mm i.d., 0.25  $\mu$ m 膜厚, Agilent 製); オープン温度, 70°C (1.5 min) - 20°C/min - 230°C (0.5 min) - 4°C/min - 280°C (5 min); 注入口温度, 250°C; 検出器温度, 230°C; キャリアーガス, He (1 ml/min).

<sup>1</sup>H-NMR スペクトルの測定は日本電子製の JEOL GSX-500 (500 MHz) を用いて行った. 試料は, chloroform-*d* に溶解し, tetramethylsilane を内部標準物質として用いた.

#### 4. 抗体阻害実験

モルモット肝 P450 (CYP2B18) に対する抗血清をウサギで調製した<sup>21)</sup>. 抗血清を 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) 中で, 肝ミクロゾームとともに, 室温で 30 min 放置した. 抗血清の添加量は, 50, 100 および 150  $\mu$ l とした. 次に, CB118 および MgCl<sub>2</sub> を添加後, NADPH 生成系を加えることにより, インキュベーションを開始した. 代謝物の分析は, 上記の通りである.

#### 5. その他

肝ミクロゾームのタンパク質の定量は, Lowry らの方法<sup>25)</sup> に従って行った. なお, 標準タンパク質としてウシ血清アルブミンを用いた.

### 実験結果

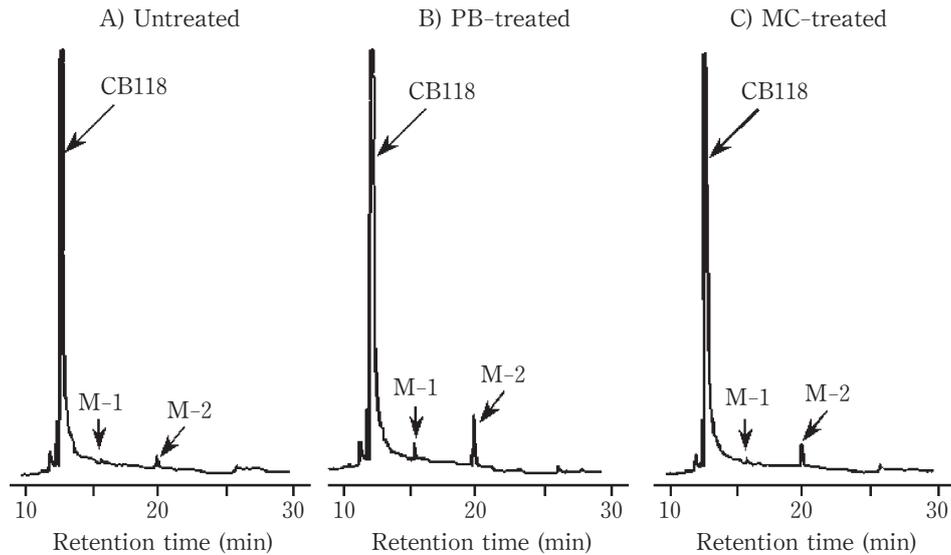
#### 1. 肝ミクロゾームによる CB118 の代謝

CB118 を, 未処理, PB 前処理あるいは MC 前処理モルモットから調製した肝ミクロゾームとともに, NADPH 存在下, 37°C, 30 min インキュベーションした. 有機溶媒抽出物をメチル化後, GC/ECD に供した結果, いずれの肝ミクロゾームによっても, 未変化体 (保持時間 12.80 min) 以外に, 代謝物と思われる 2 本のピークが保持時間 15.84 min および 20.01 min に検出された (Fig. 1). これを以下, それぞれ M-1 および M-2 とす

る. PB 前処理ミクロゾームの場合, M-2 が未処理ミクロゾームの 6.8 倍に著しく増加した. また, M-1 も 2.2 倍に増加した. 一方, MC 前処理ミクロゾームの場合にも, M-2 は未処理ミクロゾームの 2.6 倍に増加したが, M-1 は逆に 50% 以下に減少した.

#### 2. 代謝物の化学構造

両代謝物の化学構造を明らかにするために, PB 前処理ミクロゾームを用いて 100 倍量 (100 ml) でインキュベーションを行った後, 代謝物を抽出し, さらにメチル化後, GC/MS により, M-1 および M-2 の分子量を調べた. その結果, M-1 および M-2 はそれぞれ分子量 320 および 354 を有することが明らかとなった (Table 1). これらの結果から, M-1 は塩素が 1 個脱離した OH-tetraCB であることが明らかとなった. さらに, 両代謝物のメチル誘導体のマススペクトルにおいて, いずれもフラグメントイオン [M<sup>+</sup>-50] が非常に多いことから, ortho 位すなわち 2 (6) 位または 2' (6') 位に MeO 基を有していることが示唆された. これまでの報告<sup>18)20)</sup> によると, ビフェニル骨格の para 位すなわち 4 (4') 位に MeO 基が置換されている場合にはフラグメントイオン [M<sup>+</sup>-15] が, また meta 位すなわち 3 (5) 位あるいは 3' (5') 位に MeO 基が置換されている場合にはフラグメントイオン [M<sup>+</sup>-43] が多く検出されることが知られている. そこで, M-1 および M-2 がそれぞれ 6-OH-CB 77 と 2-OH-CB 126 であると予想し, これらを別途合成した. その結果, 主代謝物 M-2 (メチル化体) の GC 保持時間 15.43 min は, 2-MeO-CB126 のそれと完全に一致した (Table 1). また, マスフラグメンテーションもほとんど一致した. なお, 合成標品 3-MeO-CB 118 および 4-MeO-CB107 は, GC 保持時間がそれぞれ 15.45 min と 15.51 min であり, また, マスフラグメンテーションも M-2 (メチル化体) と異なっていた. 次に, M-1 (メチル化体) について, 合成標品の 6-MeO-CB77 と比較したところ, 分子量およびマスフラグメンテーションはほぼ一致したが, GC 保持時間では 0.03 min 遅く検出され完全には一致しなかった. 以上の結果から, M-2 は 2 位の塩素が 3 位に NIH 転位をした 2-OH-CB 126



**Fig. 1** Gas chromatograms of methylated derivatives of CB118 metabolites formed by liver microsomes of untreated (A), PB-treated (B) and MC-treated (C) guinea pigs. Column for GC/ECD used was DB-1 capillary column (30 m long).

であると推定されたものの、M-1についての正確な化学構造は未定となった。

### 3. 抗 CYP2B18 抗血清による代謝阻害

モルモット肝 P450 の CYP2B18 は、PB 誘導性 P450 としてだけでなく、未処理肝ミクロゾームにおいて主要な P450 としても知られている<sup>19)30)</sup>。そこで、CB118 代謝における CYP2B18 の寄与を明らかにするために、この P 450 に対する抗血清を用いて、主代謝物 M-2 の生成阻害を試みた。なお、肝ミクロゾームは最も M-2 生成活性が高かつ

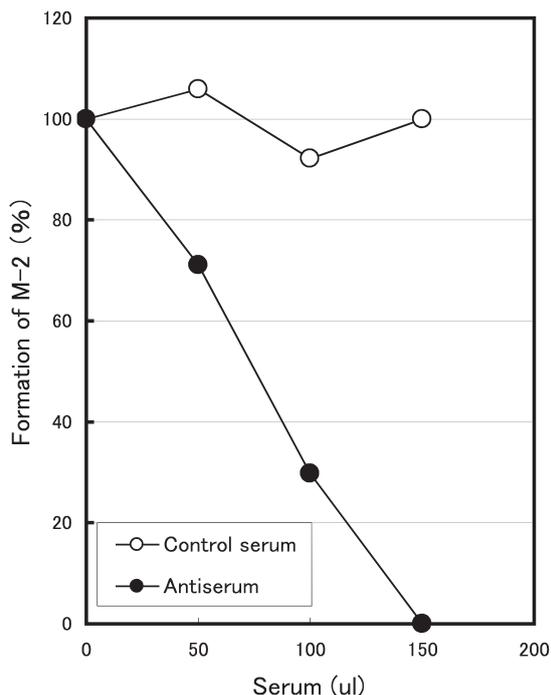
た PB 前処理モルモット肝ミクロゾームを用いた。その結果、抗血清 150  $\mu$ l の添加で、M-2 の生成はほとんど完全に阻害された (Fig. 2)。これらの結果から、モルモット肝における M-2 の生成には CYP2B18 が強く関与していることが明らかとなった。

### 考 察

今回、CB118 のモルモット肝ミクロゾームによる *in vitro* 代謝を調べたところ、2 種類の代謝物 (M-1 および M-2) が生成された。さらに、GC/

**Table 1** Mass spectral data and retention times of methylated derivatives of two metabolites and six synthetic compounds in GC/MS

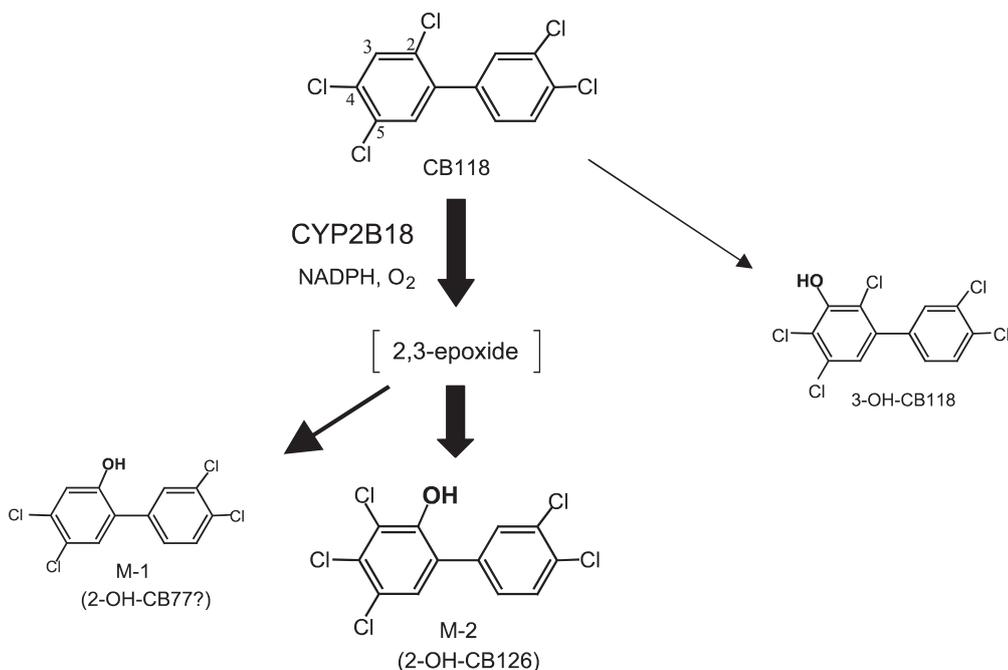
Compound	Molecular weight	Mass spectral data				Retention time (min)
		[M <sup>+</sup> ]	[M <sup>+</sup> -15]	[M <sup>+</sup> -43]	[M <sup>+</sup> -50]	
M-1	320	100	—	—	108	14.40
M-2	354	100	—	—	103	15.43
6-MeO-CB 56	320	100	—	—	103	13.72
5-MeO-CB 56	320	100	—	13	—	14.32
6-MeO-CB 77	320	100	—	—	120	14.37
2-MeO-CB 126	354	100	—	—	103	15.43
3-MeO-CB 118	354	100	—	53	—	15.45
4-MeO-CB 107	354	100	48	45	—	15.51



**Fig. 2** Effect of antiserum against CYP2B18 on CB118 metabolism by liver microsomes from PB-treated guinea pigs. Open and closed circles indicated control serum and antiserum against CYP2B18, respectively. Each point represents the mean of duplicate determinations.

MS により、M-1 は塩素が 1 個脱離し、かつ ortho 位に水酸基が置換された OH-tetraCB であること、また M-2 は 2-OH-CB126 であることが明らかとなった。これまでに、われわれは CB153 や CB138 などの 2,4,5-三塩素置換 PCB の代謝をモルモットで調べ、主代謝物として NIH 転位代謝物の 2-OH 体が生成されることを報告している<sup>2)20)</sup>。今回の CB118 の場合も、NIH 転位代謝物の 2-OH 体が主代謝物であったことから、モルモット肝における CB 118 の代謝は、CB153 や CB138 と同様に、まず中間体として 2,3-epoxide の生成、さらには 2 位の塩素の 3 位への NIH 転位を経て進行することが示唆された (Fig. 3)。

前述のように、Haraguchi らは CB 118 投与ラットにおいて、4-OH-CB107、4'-OH-CB120 および 3-OH-CB118 が生成されること、このうち前 2 者は主に血液に局在することを報告している<sup>10)</sup>。さらに、Kanechlor 500 を腹腔内投与したモルモット血中では、3-OH-CB118 のみが局在していることも報告した<sup>12)</sup>。これらの代謝物のうち、4-OH-CB107 は、CB118 からだけではなく CB 105 から生成されること<sup>10)16)</sup>、また血中での半減期が比較的長い主要な PCB 代謝物の 1 つであることが明らかにされている<sup>26)29)</sup>。さらには、ヒト



**Fig. 3** Postulated metabolic pathways of CB118 in guinea pig liver.

エストロゲン硫酸転移酵素に対し強い阻害活性を有する<sup>15)</sup>ことやラット胎児への神経毒性を示す<sup>27)</sup>ことから、注目されている。しかしながら、今回モルモット肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝系では、4-OH-CB107 および 4'-OH-CB120 は全く生成されなかった。ただ、3-OH-CB118 については large scale (100 ml) で行ったときに、痕跡程度検出されたにすぎなかった(データ未掲載)。このように、*in vitro* 代謝で生成された 2-OH 体がなぜ *in vivo* 代謝でみられなかったのか現在不明であるが、代謝物の局在性が異なっていることによるのかもしれない。すなわち、2-OH 体はそのほとんどが血液以外の組織に分布したり、糞中へと排泄されることによるのかもしれない。今後、CB118 投与モルモットにおける代謝物の生体内分布と糞中への排泄を調べることが必要であろう。

PCB 代謝物として、脱塩素化された OH 体がしばしば報告されている。Di-ortho-PCB の CB138<sup>20)</sup>、CB153<sup>1)-3)</sup> および 2,2',4,4',6,6'-hexaCB (CB155)<sup>4)14)</sup>、また tri-ortho-PCB の CB187<sup>31)</sup> だけではなく、coplanar PCB の CB77<sup>35)36)</sup> でもみられている。しかしながら、この生成機構に関しては、P450 による酸化反応に伴い生成されるという事実を除き、ほとんど不明のままである。本研究の CB118 代謝においても、同様に脱塩素化された代謝物 M-1 が生成された。マススペクトルより、ortho 位に OH 基が入った tetraCB であることから、6-OH-CB77 であろうと予想された。そこで、これを合成し M-1 と比較したが、期待に反して GC 保持時間が一致しなかった。以上のことから、M-1 の正確な化学構造については現在不明であるが、モルモット肝ミクロゾームに存在する酵素系は、この酸化的脱塩素化機構を検討するのに有益であろう。

CB153 や CB138 の代謝に関与する P450 分子種として、モルモット肝では PB 誘導性の CYP2B18 が最も重要であることが明らかになっている<sup>2)3)20)</sup> が、抗 2B18 抗血清を用いて CB118 の代謝阻害を試みたところ、M-2 の生成がほぼ完全に阻害された。この結果から、CB118 を含め 2,4,5-三塩素置換 PCB の代謝では、CYP2B18 が強く関与していることが示唆された。一方、MC 前処理ミクロゾームにより、M-2 の生成が未処理ミ

クロゾームの約 2 倍に増加したが、この事実は MC 誘導性の P450、特に CYP1A1 あるいは CYP1A2 の関与を示唆している。しかしながら、モルモット肝において、これらの MC 誘導性 P450 が PCB 代謝に関与するかどうかは全く報告がなく、今後の研究課題である。

## 総括

1. 未処理、PB および MC 前処理モルモット肝ミクロゾームによる CB118 の代謝を調べた。その結果、2 種類の代謝物 (M-1 および M-2) が生成された。これらのうち、主代謝物の M-2 は合成標品との比較により、2-OH-CB126 であることが明らかとなった。また、M-1 はマススペクトルより、ortho 位置換 OH-tetraCB であることが明らかとなった。
2. CB118 代謝に及ぼす P450 誘導剤の影響を調べたところ、PB 前処理により M-1 は未処理の 2.2 倍、M-2 は 6.8 倍に増加した。また、MC 前処理でも M-2 は 2.6 倍に増加したが、M-1 は逆に 50% 以下に減少した。
3. 抗モルモット CYP2B18 抗血清を用いて、主代謝物 M-2 の代謝阻害を試みたところ、抗血清 150  $\mu$ l の添加で、M-2 の生成はほとんど完全に阻害された。

以上の結果から、モルモットにおいて、CB118 は主に CYP2B18 によって代謝され、中間体として 2,3-epoxide を経由した後、NIH 転位を経て、主代謝物 2-OH-CB126 へと変換されることが示唆された。

## 謝辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金(生活安全総合研究事業、化学物質リスク研究事業)および科学研究費補助金基盤研究(C)(2)(No.14572119 古賀信幸; No.16590101 原口浩一; No.15510058 加藤善久)に一部負うものである。ここに記して謝意を表します。

## 文献

- 1) Ariyoshi N, Koga N, Oguri K and Yoshimura H: Metabolism of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl with liver microsomes of phenobarbital-treated dog; the possible formation of

- PCB 2, 3-arene oxide intermediate. *Xenobiotica* 22 : 1275-1290, 1992.
- 2) Ariyoshi N, Koga N, Yoshimura H and Oguri K : Metabolism of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl (PCB153) in guinea pig. *Xenobiotica* 27 : 973-983, 1997.
  - 3) Ariyoshi N, Oguri K, Koga N, Yoshimura H and Funae Y : Metabolism of highly persistent PCB congener, 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl by human CYP2B6. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 212 : 455-460, 1995.
  - 4) Ariyoshi N, Yoshimura H and Oguri K : Identification of in vitro metabolites of 2, 4, 6, 2', 4', 6'-hexachlorobiphenyl from phenobarbital-treated dog liver microsomes. *Biol. Pharm. Bull.* 16 : 852-857, 1993.
  - 5) Bergman Å, Klasson-Wehler E and Kuroki H : Selective retention of hydroxylated PCB metabolites in blood. *Environ. Health Perspec.* 102 : 464-469, 1994.
  - 6) Brouwer A, Klasson-Wehler E, Bokdam M, Morse DC and Traag WA : Competitive inhibition of thyroxin binding to transthyretin by monohydroxy metabolites of 3, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl. *Chemosphere* 20 : 1257-1262, 1990.
  - 7) Brouwer A and van den Berg KJ : Binding of a metabolite of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl to transthyretin reduces serum vitamin A transport by inhibiting the formation of the protein complex carrying both retinol and thyroxin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 85 : 301-312, 1986.
  - 8) Cadogan JIG : A convenient new method of aromatic arylation. *J. Chem. Soc.* : 4257-4258, 1962.
  - 9) Fångström B, Athanasiadou M, Grandjean P, Weihe P and Bergman Å : Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ. Health Perspec.* 110 : 895-899, 2002.
  - 10) Haraguchi K, Kato Y, Kimura R and Masuda Y : Hydroxylation and methylthiolation of mono-ortho-substituted polychlorinated biphenyls in rats : identification of metabolites with tissue affinity. *Chem. Res. Toxicol.* 11 : 1508-1515, 1998.
  - 11) Haraguchi K, Kato Y, Koga N and Degawa M : Metabolism of polychlorinated biphenyls by Gunn rats : Identification and serum retention of catechol metabolites. *Chem. Res. Toxicol.* 17 : 1684-1691, 2004.
  - 12) Haraguchi K, Koga N and Kato Y : Comparative metabolism of polychlorinated biphenyls and tissue distribution of persistent metabolites in rats, hamsters and guinea pigs. *Drug Metab. Dispos.* 33 : 373-380, 2005.
  - 13) Hutzinger O, Safe S and Zitko V, Polychlorinated biphenyls : synthesis of some individual chlorobiphenyls. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 6 : 209-219, 1971.
  - 14) Kato S, McKinney JD and Matthews HB : Metabolism of symmetrical hexachlorobiphenyl isomers in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53 : 389-398, 1980.
  - 15) Kester MH, Bulduk S, van Toor H, Tibboel D, Neill W, Glatt H, Falany CN, Coughtrie MW, Schuur AG, Brouwer A and Visser TJ : Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated metabolites of polyhalogenated aromatic hydrocarbons reveals alternative mechanism for estrogenic activity of endocrine disrupters. *J. Clin. Endoc. Metab.* 87 : 1142-1150, 2002.
  - 16) Klasson-Wehler E, Lindberg L, Jonsson CJ and Bergman Å : Tissue retention and metabolism of 2, 3, 4, 3', 4'-pentachlorobiphenyl in mink and mouse. *Chemosphere* 27 : 2397-2412, 1993.
  - 17) Kociba RJ and Cabey O : Comparative toxicology and biologic activity of chlorinated dibenzo-p-dioxins and furans relative to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Chemosphere* 14 : 649-660, 1985.
  - 18) Koga N, Beppu M, Ishida C and Yoshimura H : Further studies on metabolism in vivo of 3, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl in rats : identification of minor metabolites in rat faeces. *Xenobiotica* 19 : 1307-1318, 1989.
  - 19) Koga N, Kanamaru T, Kikuichi N, Oishi N, Kato S and Yoshimura H : Guinea pig liver cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2, 5, 2', 5'-tetrachlorobiphenyl. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 60 : 898-903, 1998.
  - 20) 古賀信幸, 金丸知代, 大石奈穂子, 加藤善久, 木村良平, 原口浩一, 増田義人 : 2,4,5,2',3',4'-六塩素化ビフェニルの in vitro 代謝における動物種差. *福岡医誌* 92 : 167-176, 2001.
  - 21) Koga N, Kikuichi-Nishimura N, Hara T, Harada N, Ishii Y, Yamada H, Oguri K and Yoshimura H : Purification and characterization of a newly identified isoform of cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl in hamster liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 317 : 464-470,

- 1995.
- 22) Koga N, Kikuichi-Nishimura N and Yoshimura H: Effect of cytochrome P450 inducers on liver microsomal metabolism of tetrachlorobiphenyls in rats, guinea pigs and hamsters. *Biol. Pharm. Bull.* 18: 705-710, 1995.
- 23) Kuroki H and Masuda Y: Structures and concentrations of the main components of polychlorinated biphenyls retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 6: 469-474, 1977.
- 24) Lehmler HJ and Robertson LW: Synthesis of hydroxylated PCB metabolites with the Suzuki-coupling. *Chemosphere* 45: 1119-1127, 2001.
- 25) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
- 26) Malmberg T, Hoogstraate J, Bergman Å and Klasson-Wehler E: Pharmacokinetics of two major hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites with specific retention in rat blood. *Xenobiotica* 34: 581-589, 2004.
- 27) Meerts IA, Lilienthal H, Hoving S, van den Berg JH, Weijers BM, Bergman Å, Koeman JH, Brouwer A: Developmental exposure to 4-hydroxy-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl (4-OH-CB107): long-term effects on brain development, behavior, and brain stem auditory evoked potentials in rats. *Toxicol Sci.* 82: 2007-2218, 2004.
- 28) 三村敬介, 田村水穂, 原口浩一, 増田義人: 高分解能ガスクロマトグラフ/低分解能質量分析計による全PCB異性体の分析. *福岡医誌* 90: 192-201, 1999.
- 29) Oberg M, Sjodin A, Casabona H, Nordgren I, Klasson-Wehler E and Hakansson H: Tissue distribution and half-lives of individual polychlorinated biphenyls and serum levels of 4-hydroxy-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl in the rat. *Toxicol. Sci.* 70: 171-182, 2002.
- 30) Oguri K, Kaneko H, Tanimoto Y, Yamada H and Yoshimura H: A constitutive form of guinea pig liver cytochrome P450 closely related to phenobarbital inducible P450b (e). *Arch. Biochem. Biophys.* 287: 105-111, 1991.
- 31) Ohta C, Haraguchi K, Kato Y and Koga N: In vitro metabolism of 2, 2', 3, 4', 5, 5', 6-heptachlorobiphenyl (CB187) with liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. *Xenobiotica*, in press, 2005.
- 32) Parkinson A, Safe SH, Robertson LW, Thomas PE, Ryan DE, Reik LM and Levin W: Immunochemical quantitation of cytochrome P-450 isozymes and epoxide hydrolase in liver microsomes from polychlorinated or polybrominated biphenyl-treated rats. - A study of structure-activity relationships. *J. Biol. Chem.* 258: 5967-5976, 1983.
- 33) Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J and Norstrom RJ: Analysis of hydroxylated metabolites of PCBs (OH-PCBs) and other chlorinated phenolic compounds in whole blood from Canadian Inuit. *Environ. Health Perspec.* 108: 611-616, 2000.
- 34) Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld AT, Brunstrom B, Cook P, Feeley M, Giesy JP, Hanberg A, Hasegawa R, Kennedy SW, Kubiak T, Larsen JC, van Leeuwen FX, Liem AK, Nolt C, Peterson RE, Poellinger L, Safe S, Schrenk D, Tillitt D, Tysklind M, Younes M, Waern F and Zacharewski T: Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ. Health Perspect.* 106: 775-792, 1998.
- 35) Wehler EK, Bergman Å, Brandt I, Darnerud PO and Wachtmeister CA: 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl: Excretion and tissue retention of hydroxylated metabolites in the mouse. *Drug Metab. Dispos.* 17: 441-448, 1989.
- 36) Yoshimura H, Yonemoto Y, Yamada H, Koga N, Oguri K and Saeki S: Metabolism in vivo of 3, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl and toxicological assessment of the metabolites in rats. *Xenobiotica* 17: 897-910, 1987.
- 37) Yoshimura H, Yoshihara S, Ozawa N and Miki M: Possible correlation between induction modes of hepatic enzymes by PCBs and their toxicity in rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 320: 179-192, 1979.

(受付 2005-3-30)

---

---

**Original Article**

---

---

**Promotive Excretion of Causative Agents of Yusho by  
One Year Intake of FBRA in Japanese People**Junya NAGAYAMA<sup>1)</sup>, Takumi TAKASUGA<sup>2)</sup>, Hiroshi TSUJI<sup>3)</sup> and Teruaki IWASAKI<sup>4)</sup><sup>1)</sup> *Laboratory of Environmental Molecular Epidemiology, School of Health Sciences,  
Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812-8582*<sup>2)</sup> *Shimadzu Techno-Research Inc., Kyoto 604-8436*<sup>3)</sup> *Kitakyushu-Tsuyazaki Hospital, Fukuoka 811-3307*<sup>4)</sup> *Genmaikouso Corp., Sapporo 001-0012*

**Abstract** Thirty-six years have passed since the outbreak of Kanemi rice oil poisoning, namely, Yusho in the western Japan. However, even now the patients with Yusho have been still suffering from several objective and subjective symptoms. In order to improve or, if possible, to cure the such symptoms, the most important therapeutic treatment is considered to actively excrete the causative agents, that is, polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) from the bodies of the patients and to reduce their body burdens.

In rats, dietary fiber and chlorophyll have been shown to promote the fecal excretion of dioxins and to reduce their levels in rat liver. In this study, we examined whether such kinds of effect were also observed by FBRA, which was the health food and relatively rich with dietary fiber and chlorophyll, in nine married Japanese couples.

As a result, concentrations of PCDFs and PCDDs on the lipid weight basis in the blood of the FBRA-intake group in which they took 7.0 to 10.5g of FBRA after each meal and three times a day for one year were more lowered than those in the blood of the non-intake group; Blood levels of PCDFs and PCDDs in the FBRA-intake group were decreased by 41.0 and 37.2 %, respectively, and those decreases were 33.7 and 29.4 % in the non-intake group.

Their total body burdens just before and one year after the study were calculated on the assumptions that the body fat was also contaminated with these dioxins at their blood levels on the lipid weight basis and the content of body fat was 20 % of the body weight. Then, we computed the average amounts in excretion of PCDFs and PCDDs from the body in both the FBRA-intake and non-intake groups. Consequently, the amounts of excretion of PCDFs and PCDDs in the FBRA-intake group were 1.81 and 1.74 times, respectively, greater than those in the non-intake group. Therefore, FBRA seemed to promote the fecal excretion of causative agents of Yusho, from the human body.

We also expect FBRA to reduce their body burdens of patients with Yusho and to improve some objective and subjective symptoms of Yusho patients.

**Introduction**

Our environments including foods have been polluted with extremely toxic dioxins such as polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated dibenzo-*p*-

dioxins (PCDDs) not only in Japan<sup>1)2)</sup> but also other countries<sup>3)~7)</sup>. Consequently, human beings also have already been contaminated with these dioxins<sup>8)~10)</sup>. We already have investigated the effects of this kind of compounds on the foetus and suck-

lings which are considered the most sensitive stages of human beings as well as animals, and observed their unfavorable effects on thyroid hormone and immune response systems in Japanese infants perinatally and lactationally exposed to them<sup>11)~14)</sup>. Their adverse effects on developmental condition have also been found in 10-month-old breast-fed Japanese infants<sup>15)16)</sup>.

PCDFs and PCDDs have been the most important etiological agents of Yusho<sup>17)</sup>, a mass food poisoning that occurred in western Japan in 1968 and even now<sup>18)</sup>. At present, namely, more than 35 years after the outbreak, many patients with Yusho are still suffering from several objective and subjective symptoms.

In order to prevent or avoid their adverse health consequences on fetuses and sucklings, active reduction of their contamination levels in mother's body seems quite important. And also, in order to improve or to cure various symptoms of patients with Yusho, their promotive excretion from the body of Yusho patients is considered very useful. In rats, dietary fiber and chlorophyll have been shown to promote the fecal excretion of dioxins, probably due to the restriction or some inhibition of their absorption and re-absorption in the digestive tract and therefore to reduce their levels in rat liver<sup>19)20)</sup>. In this study, we examined whether such kinds of effect were observed by FBRA, which was the brown rice fermented with *Aspergillus-oryze* and rich with dietary fiber, or not in Japanese adults.

### Materials and Methods

FBRA has been manufactured for over 30 years with Genmaikouso Corp., Sapporo, Japan, and taken by more than 100,000

people as one of the health foods. Ingredients of FBRA have already been reported in our previous study<sup>21)</sup>.

Nine married couples of 37 to 48 years old were voluntarily participated in this study, and divided into two groups which were tried to match for sex and age, namely, FBRA-intake and non-intake groups. FBRA-intake group consisted of 5 males and 4 females with the mean age of 44.3 years old and non-intake group 4 males and 5 females with that of 43.8 years old. In FBRA-intake group, they took 7.0 to 10.5g of FBRA after each meal and three times a day for one year and in non-intake group they didn't.

Before starting this study, 60 to 80 ml of the peripheral blood was individually taken by venipuncture in both the FBRA-intake and non-intake groups twice at one week intervals. These blood samples were analyzed for PCDFs and PCDDs by HRGC-HRMS technique using a Micromass Autospec-Ultima mass spectrometer directly interfaced with Hewlett Packard 6890 Series gas chromatograph<sup>22)</sup>.

To express the toxic potency of the mixture of dioxin congeners in the blood samples, the 1998 WHO toxic equivalency factor (TEF) approach was used for PCDFs and PCDDs<sup>23)</sup>. By multiplying the concentration (pg / g lipid) and TEF value, the toxic equivalent (TEQ) of each congener was calculated and expressed as pg TEQ / g lipid. The TEQ-sum of all 2, 3, 7, 8-substituted PCDFs / DDs congeners was summarized as the total TEQ concentrations. The average TEQ concentration of PCDFs or PCDDs in the two blood samples of the same person was expressed as the individual original level in both groups. In order to evaluate the effect of FBRA on their excretion from the human body, their blood TEQ concentra-

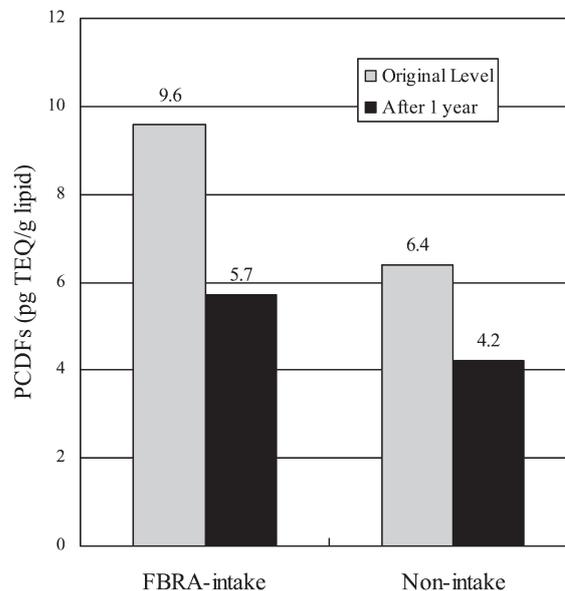
tions were determined again exactly with the same manner one year later in both the FBRA-intake and non-intake groups. Then, their mean levels were individually compared each other.

### Results

Respective initial levels of PCDFs (mean  $\pm$  S.D.) in the blood were  $9.6 \pm 4.6$  and  $6.4 \pm 2.0$  pg TEQ / g lipid in FBRA-intake and non-intake groups. In the same manner, those of PCDDs were  $13.5 \pm 6.7$  and  $9.9 \pm 4.7$  pg TEQ / g lipid. Accordingly, the average initial concentrations of PCDFs and PCDDs in the FBRA-intake group were somewhat higher than those in the non-intake group. One year later, blood levels of PCDFs or PCDDs showed a decreasing tendency in both FBRA-intake and non-intake groups. In order to see the changes in their blood levels more clearly, their relative concentrations were computed based upon their respective initial ones as the standard (1.0). In case of PCDFs, relative blood levels in the FBRA-intake group decreased in all the nine subjects with the average relative level of 0.62 and three people were less than 0.5. Meanwhile, in the non-intake group seven of nine subjects showed less than 1.0 in relative blood levels with the average of 0.66 and three people were less than 0.5. In case of PCDDs, the relative blood levels in the FBRA-intake group showed decreasing tendency in all the nine subjects with the average of 0.65. However, in the non-intake group six of nine people were less than 1.0 with the average of 0.75.

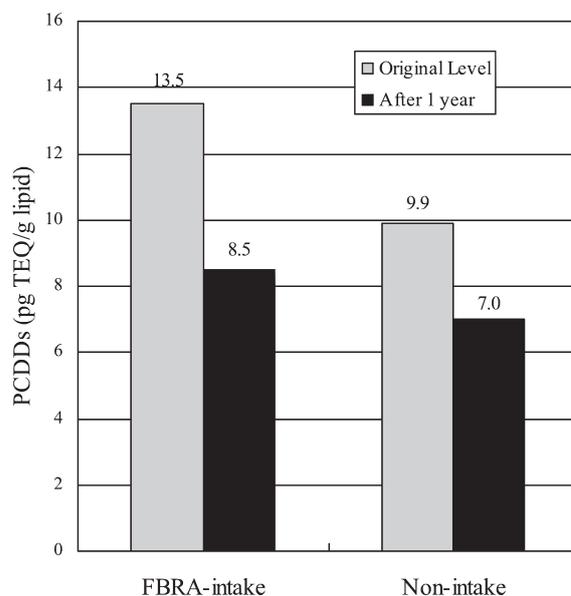
Average concentrations of PCDFs and PCDDs in the blood of FBRA-intake and non-intake groups are indicated in Figs. 1 and 2, respectively. The concentrations (mean  $\pm$  S.D.) at one year after the FBRA

intake were  $5.7 \pm 3.2$  pg TEQ / g lipid in PCDFs and  $8.5 \pm 4.9$  pg TEQ / g lipid in PCDDs. In the non-intake group, respective those were  $4.2 \pm 2.1$  and  $7.0 \pm 3.2$  pg



**Fig. 1** Changes in average concentrations of PCDFs in the blood of FBRA-intake (left) and non-intake (right) groups for one year.

FBRA-intake Group ;  $-40.6\%$ , Non-intake Group ;  $-34.4\%$

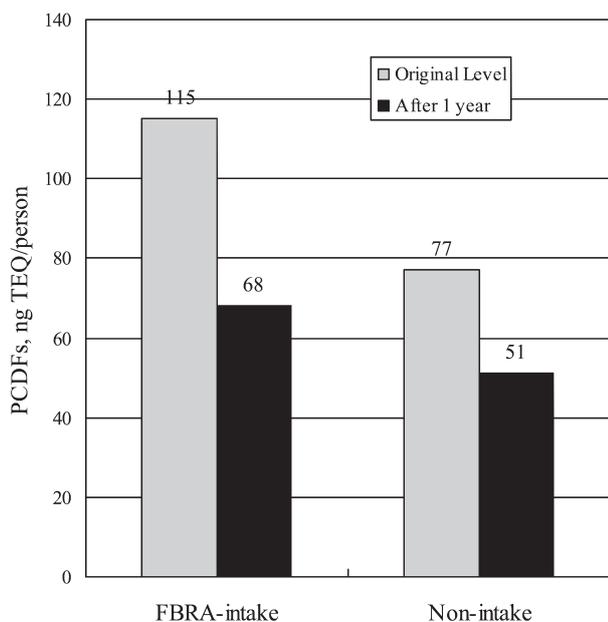


**Fig. 2** Changes in average concentrations of PCDDs in the blood of FBRA-intake (left) and non-intake (right) groups for one year.

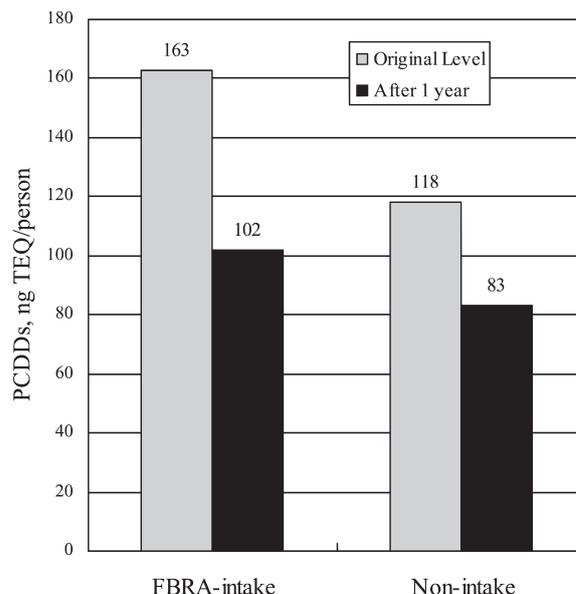
FBRA-intake Group ;  $-37.0\%$ , Non-intake Group ;  $-29.3\%$

TEQ / g lipid. Therefore, blood levels of PCDFs and PCDDs in the FBRA-intake group were decreased by 40.6 and 37.0 %, respectively. In the meantime, in the non-intake group respective those were 34.4 and 29.3 %.

We calculated the total body burdens of PCDFs and PCDDs on the assumptions that body fat was also contaminated with these compounds at their blood levels on the lipid weight basis and the content of body fat was 20 % of body weight and the results are shown in Figs. 3 and 4. Initial average total body burdens of PCDFs were 115 ng TEQ / person in the FBRA-intake group and 77 ng TEQ / person in the non-intake group. Those of PCDDs were 163 and 118 ng TEQ / person, respectively. After one year, average total body burden of PCDFs were 68 ng TEQ / person and that of PCDDs 102 ng TEQ / person in the FBRA-intake group, and respective those of the non-intake group 51 and 83 ng TEQ / person. Accordingly, as indicated in Fig. 5, average



**Fig. 3** Changes in mean total body burdens of PCDFs in the FBRA-intake (left) and non-intake (right) groups for one year.

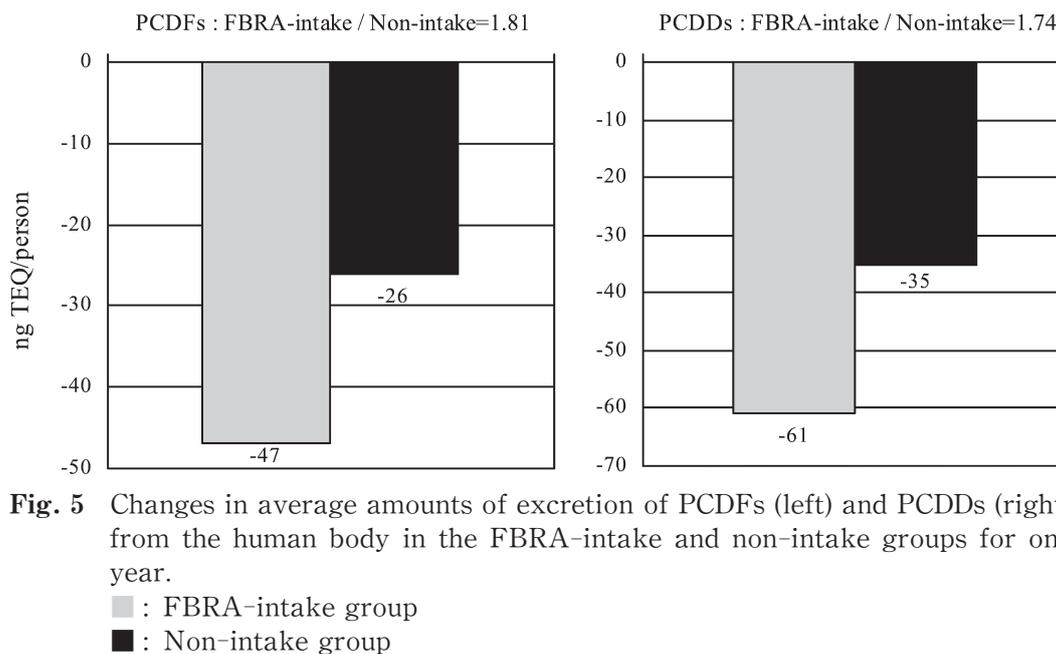


**Fig. 4** Changes in mean total body burdens of PCDDs in the FBRA-intake (left) and non-intake (right) groups for one year.

amounts in excretion of PCDFs from the body for one year were 47 ng TEQ / person in the FBRA-intake group and 26 ng TEQ / person in the non-intake group. Respective those of PCDDs were 61 and 35 ng TEQ / person. Therefore, amounts of excretion of PCDFs and PCDDs in the FBRA-intake group were 1.81 and 1.74 times, respectively, greater than those in the non-intake group.

### Discussion

In male rats, the fecal excretion of PCDDs was 1.3 to 2.9 times greater in the groups fed with the rice-bran and spinach fibers than in the group fed with a non-fiber diet<sup>19)</sup>. Therefore, rice-bran fiber seems to promote the excretion of PCDDs and also hopefully PCDFs from not only rats but also humans. As we previously reported<sup>21)</sup>, 100g of FBRA contain about 20g of dietary fiber. So, if the subjects take 10g of FBRA after each meal and three times a day, they will have 2g of dietary fiber each time and 6g in



**Fig. 5** Changes in average amounts of excretion of PCDFs (left) and PCDDs (right) from the human body in the FBRA-intake and non-intake groups for one year.

a day. In addition to dietary fiber, FBRA contains chlorophyll, which also showed the promotional fecal excretion of PCDDs in male rats<sup>20</sup>. Accordingly, we expected FBRA to promote the fecal excretion of PCDFs and PCDDs from the human body and decrease their blood levels. Actually, as shown in Figs. 1 and 2, one year intake of FBRA lowered their blood levels more in the FBRA-intake group than in the non-intake group. Consequently, total body burdens of PCDFs and PCDDs were also markedly decreased more in the former group than in the latter and their elimination rates were about 1.81 and 1.74 times, respectively, higher in the FBRA-intake group than in the non-intake one, as indicated in Figs. 3 to 5.

In conclusion, even though in such small scale clinical trial, FBRA seemed to promote the fecal excretion of PCDFs and PCDDs from the human body probably through the inhibition of their absorption and / or re-absorption in the digestive tract to some extent and to decrease their body

burdens.

In addition to the promotive excretion of the causative agents of Yusho, namely, PCDFs and PCDDs, FBRA is a health food and good for health, as shown before<sup>21</sup>, so it may also improve various objective and subjective symptoms of patients with Yusho. Hence, the clinical trial of FBRA for Yusho patients is now in progress since March, 2003.

## References

- 1) Ohta S, Nakano T, Nishimura H, Okumura T, Aozasa O and Miyata H: Contamination levels of PBDEs, TBBPA, PCDDs / DFs, PBDDs / DFs and PXDDs / DFs in the environment of Japan. *Organohal. Comp.* 57 : 57-60, 2002.
- 2) Uegaki R, Kurokawa S and Yoshimura Y: The fate of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofutans and coplanar PCBs in silage corn. *Ibid.* 51 : 302-305, 2001.
- 3) Bocio A, Llobet JM, Domingo JL, Casas C, Teixido A and Muller L: Levels of PCDD / PCDFs in food samples from Catalonia, Spain. *Ibid.* 57 :

- 105-108, 2002.
- 4) Coutinho M, Mata P, Borrego C and Boia C: Levels of PCDD / PCDF in agricultural materials in the region of Oporto, Portugal. *Organohal. Comp.* 57: 101-104, 2002.
  - 5) Kim B-H, Jung J-S, Chang Y-S and Park Y-H: Congener specific distribution of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in animal feed. *Ibid.* 57: 121-124, 2002.
  - 6) Kiviranta H, Vartiainen T, Parmanne R, Hallikainen A, Ruokojarvi P and Koistinen J: PCDD / Fs in Baltic herring in the gulf of Finland during 1990's. *Ibid.* 57: 153-156, 2002.
  - 7) Wu Y, Li J, Zhao Y, Chen Z, Li W and Chen J: Dietary intake of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in populations from China. *Ibid.* 57: 221-224, 2002.
  - 8) Furst P and Papke O: PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in human milk and blood from Germany. *Ibid.* 55: 251-254, 2002.
  - 9) Hirakawa H, Matsueda T, Iida T, Nakamura M, Nagata T and Nagayama J: Age-related increase of PCDDs / PCDFs and coplanar PCBs levels in human adipose tissue. *Ibid.* 21: 419-421, 1994.
  - 10) Todaka T, Hirakawa H, Takenaka S, Tobiishi K, Nakagawa R and Iida T: New protocol for dioxins analysis of human blood. *Ibid.* 55: 155-158, 2002.
  - 11) Nagayama J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushima J and Watanabe T: Condition of thyroid hormone system in 10-month-old Japanese infants perinatally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 48: 236-239, 2000.
  - 12) Nagayama J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushima J and Watanabe T: Thyroid hormone status in Japanese infants lactationally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 53: 140-144, 2001.
  - 13) Nagayama J, Tsuji H, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushima J and Watanabe T: Condition of helper and suppressor T lymphocyte subpopulations in 10-month-old Japanese infants perinatally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 49: 87-90, 2000.
  - 14) Nagayama J, Tsuji H, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushima J and Watanabe T: Status of helper and suppressor T lymphocyte subpopulations in Japanese infants lactationally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 53: 121-125, 2001.
  - 15) Nagayama J, Fukushima J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T and Watanabe T: Effects of exposure to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins through human milk on total development in 10-month-old Japanese infants. *Ibid.* 48: 240-243, 2000.
  - 16) Nagayama J, Fukushima J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T and Watanabe T: Developmental condition in 10-month-old Japanese infants perinatally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 48: 244-247, 2000.
  - 17) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M: Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'Yusho'. *Fd Cosmet. Toxicol.* 15: 195-198, 1977.
  - 18) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T and Nakagawa R: Concentrations of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in blood of 83 patients with Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 88: 169-176, 1997. (in Japanese)
  - 19) Morita K, Matsueda T and Iida T: Effect of dietary fiber on fecal excretion of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins in rat. *Jpn J. Toxicol. Environ. Health* 43: 35-41, 1997. (in Japanese)
  - 20) Morita K, Matsueda T and Iida T: Effect of chlorella, spirulina and chlorophyllin on fecal excretion of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins in rat.

- Ibid. 43 : 42-47, 1997. (in Japanese)
- 21) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H, Umehara M, Sada T and Iwasaki T : Active elimination of causative PCDFs / DDs congeners of Yusho by one year intake of FBRA in Japanese people. *Fukuoka Acta Med.* 94 : 118-125, 2003.
- 22) Takasuga T, Senthilkumar K, Takemori H, Ohi E, Tsuji H and Nagayama J : Impact of FEBRA (fermented brown rice with *Aspergillus oryzae*) intake and concentrations of PCDDs, PCDFs and PCBs in blood of humans from Japan. *Chemosphere* 57 : 1409-1426, 2004.
- 23) Van den Berg M, Birnbaum LS, Bosveld ATC, Brunstorm B et al. : Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ. Health Perspect.* 106 : 775-792, 1998.

(Received for publication March 22, 2005)

(和文抄録)

## 1年間のFBRA摂取による油症原因ダイオキシン類の体外排泄促進

<sup>1)</sup>九州大学医学部保健学科環境分子疫学研究室

<sup>2)</sup>株式会社島津テクノリサーチ

<sup>3)</sup>北九州津屋崎病院内科

<sup>4)</sup>株式会社玄米酵素

長山淳哉<sup>1)</sup>, 高菅卓三<sup>2)</sup>, 辻博<sup>3)</sup>, 岩崎輝明<sup>4)</sup>

カネミ油症中毒事件が発生してから36年が経過したが、今でも油症患者は種々様々な自覚および臨床症状で苦しんでいる。このような症状を改善し治療するには、その主要な原因物質であるポリ塩化ダイベンゾフラン(PCDFs)とポリ塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン(PCDDs)を積極的に体外へ排泄し、汚染レベルを低下させることが第一である。この研究では動物実験によりダイオキシン類の体外排泄促進作用が認められている食物繊維と葉緑素を比較的多量に含む栄養補助食品FBRA(発酵玄米栄養補助食品ハイ・ゲンキ, (株)玄米酵素, 本社:北海道札幌市)によるカネミ油症原因物質の体外排泄促進を9組の夫婦の協力に

より調べた。

その結果、毎食後7~10.5gのFBRAを1日3回1年間摂取することにより、血液脂質重量当りのPCDFsとPCDDsの濃度が非摂取群よりもそれぞれ6.2%と7.7%低下した。この血液脂質濃度で体脂肪も汚染されており、体脂肪率を体重の20%と仮定し、1人当たり1年間の体外排泄量を両化学物質について計算した。そうすると、FBRAを摂取することによりPCDFsとPCDDsの排泄量がそれぞれ1.81倍と1.74倍高まることが示された。以上のような結果より、FBRAは油症原因物質のPCDFsとPCDDsの体外への排泄を促進するので、油症患者の治療にも有効と考えられた。

## Follow-up Survey of Dioxins Concentrations in the Blood of Yusho Patients in 2002–2003

Takashi TODAKA<sup>1)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>2)</sup>, Tsuguhide HORI<sup>2)</sup>,  
Kazuhiro TOBIISHI<sup>2)</sup> and Takao IIDA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> *Japan Food Hygiene Association, 2-6-1, Jingumae, Shibuya-ku, Tokyo, 150-0001*

<sup>2)</sup> *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39, Mukaizano, Dazaifu-shi, Fukuoka, 818-0135*

**Abstract** We measured the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and non-ortho-coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs) in blood collected from 279 Yusho patients and 92 Yusho-suspected persons living in Japan in 2002, 269 Yusho patients and 74 Yusho-suspected persons living in Japan in 2003 and 128 normal controls living in Fukuoka Prefecture, and compared with the concentrations of these compounds among the groups. The total TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in the blood of Yusho patients were 3.6 times and 3.3 times higher than those in the normal controls in 2002 and 2003, respectively. In the case of Yusho-suspected persons, the concentrations were 1.1 times and 1.0 times higher in 2002 and 2003, respectively. Among the TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs, the concentrations of PCDFs in the blood of Yusho patients were 10.3 times and 9.4 times higher than those of the normal controls in 2002 and 2003, respectively, whereas the concentrations of PCDDs and Co-PCBs in blood were identical in Yusho patients, Yusho-suspected persons and normal controls. Yusho patients indicated the highest concentrations ratio of PCDFs to the total TEQ concentrations. Moreover, of the PCDFs congeners for Yusho patients, the concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF were about 11.0 times and 10.1 times higher in 2002 and 2003 than those in normal controls. These results indicated that Yusho patients have a much higher concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF in their blood than do unaffected persons even though over 34 years have passed since the outbreak of Yusho.

### Introduction

The Yusho poisoning accident, which affected over 1800 persons, occurred in 1968 in western Japan. The study group for Yusho quickly identified the immediate cause of the disease to be the ingestion of the rice oil<sup>1)2)</sup>. Since Yusho patients had ingested rice oil that was initially found to be contaminated with a large amount of PCBs that are used as a heat transfer medium in the process of rice oil production, the PCBs were thought to be the causal compounds of Yusho<sup>3)</sup>. From the results of extensive study by the study group for

Yusho, it has become clear that PCDFs rather than PCBs are now considered to play an overwhelmingly important role in the pathogenesis of the disease<sup>4)~10)</sup>. Recently, a re-evaluation of the diagnostic criteria, including the concentrations of PCDFs in the blood, was begun. However, since most of the patients are now over 60 years old, these patients can safely supply only small volumes of blood for the measurement of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs concentrations. In order to establish new diagnostic criteria for Yusho, we have developed an analytic method for measuring the concentrations of PCDDs, PCDFs, and

Co-PCBs in human blood samples as small as 5 g and an efficient method for speeding up the pretreatment procedure for blood samples<sup>11)12)</sup>, and we have measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in blood samples collected from 78 Yusho patients living in Fukuoka Prefecture in 2001<sup>6)</sup>. In consideration of the fact that the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in the blood samples of about 400 subjects living in Japan were scheduled for measurement in 2002–2004, it is desirable to develop more effective methods to speed up the pretreatment procedure for blood samples. Therefore, to make this procedure more effective, a portion of the previously reported method was improved<sup>13)</sup>.

In this study, we measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in blood collected from 279 Yusho patients and 92 Yusho-suspected persons living in Japan in 2002, 269 Yusho patients and 74 Yusho-suspected persons living in Japan in 2003 and 128 normal controls living in Fukuoka Prefecture who were in the same age range as the Yusho patients, and we compared the blood concentrations of these compounds among these different groups.

## Materials and Methods

### 1. Sampling

The Yusho and Yusho-suspected blood samples were collected from a total of 371 and 343 subjects at their medical checkups in 2002 and 2003, respectively; all gave their informed consent. The patients were 279 Yusho patients as authorized by the Yusho medical team according to the diagnostic criteria for Yusho disease, and 92 Yusho-suspected persons that were suspected to have ingested the rice bran oil, though unauthorized by the Yusho medical team according to the diagnostic criteria for

Yusho disease in 2002, and were 269 Yusho patients and 76 Yusho-suspected persons in 2003, respectively. The blood samples of the normal controls were collected from a total of 128 subjects from whom informed consent was also obtained. 10 ml of blood samples were collected using a vacuum blood-collecting pipe containing heparin and stored at 4 °C until analyze for concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs.

### 2. Materials

Native PCDDs, native PCDFs and native Co-PCBs, as authentic standards, were purchased from Wellington Laboratories (Ontario, Canada). [<sup>13</sup>C<sub>12</sub>]-PCDDs, [<sup>13</sup>C<sub>12</sub>]-PCDFs, and [<sup>13</sup>C<sub>12</sub>]-PCBs, as internal standards, were also purchased from Wellington Laboratories. An active carbon column was prepared as follows: active carbon was purchased from Nacalai Tesque (Kyoto, Japan), refluxed 3 times with toluene for 1 hour, and dried in vacuum, after which 500 mg of the active carbon was mixed with 500 g of anhydrous sodium sulfate (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Tokyo, Japan). A silver nitrate / silica gel was purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Distilled water used in this experiment was treated with n-hexane. All reagents and solvents used in this experiment were of the analytic grade of dioxin that is commercially available.

### 3. Sample preparation

The extraction of lipid from the blood samples was performed with an accelerated solvent extractor (ASE) system as previously described<sup>11)12)</sup>. Each 5 g blood sample was loaded into the extraction cell filled with 3 g Isolute (International Sorbent Technology Ltd., Hengoed, Mid Glamorgan, UK). After 15 hours of freeze-drying with a

freeze dryer (VirTis Co. Inc., NY, USA), [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-PCDDs, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-PCDFs, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-PCBs were added as internal standards, and lipids were extracted. The following programmed parameters were used for these extractions: a pressure of 2,000 psi and a temperature of 150°C, a static time of 10 minutes, a flushing volume of 50 ml, 180 seconds purging, a 60 % flushing volume for two cycles, and acetone: n-hexane (1: 3, v/v) as the extraction solvent. The extract was concentrated to near dryness, and the lipid contents were determined gravimetrically. The extracted lipid was used to carry out the clean-up procedure at a scale one-quarter of that of the conventional method. More specifically, the lipid was dissolved in n-hexane and treated with concentrated sulfuric acid. The separated hexane layer was applied to a column that linked a silver nitrate / silica gel column (0.5 g) and an active carbon sodium sulfate column (0.5 g), and it was separated into two fractions. The first fraction, containing mono-ortho-coplanar polychlorinated biphenyls (mono-ortho-Co-PCBs), was eluted with 15 ml of hexane and 10 ml of 10% (v/v) dichloromethane / n-hexane. PCDDs, PCDFs and Co-PCBs were eluted with 25 ml of toluene as the second fraction. The eluate was concentrated to near dryness with a multiple sample concentrator (BUCHI, Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) and transferred to a GC injection vial, and the syringe standard was added. The column packing (silver nitrate silica gel, active carbon column and anhydrous sodium sulfate) used in this experiment was washed by an ASE-200 system under the same conditions as the lipid extraction with n-hexane or toluene. All glassware instruments used in this experiment were treated in a high-temperature oven (ALP Co. Ltd.,

Tokyo, Japan) at 450°C for 6 hours.

#### 4. Analysis of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs

Concentrations of the PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs were measured using high-resolution gas chromatography / high-resolution mass spectrometry (HRGC / HRMS) equipped with a solvent cut large-volume (SCLV) injection system (SGE Ltd., Victoria, Australia)<sup>(11)(12)</sup>. The analytic conditions were as follows: the gas chromatograph was an HP-6890A (Agilent Technologies Inc., California, USA) equipped with an Autospec Ultima NT, (Micromass Ltd., Manchester, UK) and an SCLV injection system; the column used was a BPX-5 fused silica pre-capillary column, 0.25 mm i.d.  $\times$  6 m, 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness (SGE Ltd.); the analytic column (BPX-Dioxin I) was 0.15 mm i.d.  $\times$  30 m (SGE Ltd.); the column was heated from 160°C to 300°C at a rate of 20°C / minute, maintained at 300°C for 8 minutes, cooled to 195°C at a rate of 70°C / minute, maintained at 195°C for 0.5 minutes, heated to 300°C at a rate of 3°C / minute, and then maintained at 300°C for 1 minute. The injection temperature and ion source temperature were both maintained at 280°C, and the carrier gas (helium) flow rate (constant flow) was 1.3 ml / minute. The ionizing current, ionizing energy, accelerating voltage and trap current were 750  $\mu\text{A}$ , 40 eV, 8.0 kV and 750  $\mu\text{A}$ , respectively. PCDDs, PCDFs and Co-PCBs were analyzed in a single-ion record mode. The resolution was maintained at 10,000 at 5% valley. For the analysis of tetrachlorodibenzo-p-dioxins (TCDDs), pentachlorodibenzo-p-dioxins (PeCDDs), hexachlorodibenzo-p-dioxins (HxCDDs), heptachlorodibenzo-p-dioxins (HeCDDs), and octachlorodibenzo-p-dioxin (OCDD), we used [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,7,8-TCDD,

[ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8-PeCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,7,8-HxCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,6,7,8-HxCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8,9-HxCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8-HeCDD, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD as internal standards, respectively. For the analysis of tetrachlorodibenzofurans (TCDFs), pentachlorodibenzofurans (PeCDFs), hexachlorodibenzofurans (HxCDFs), heptachlorodibenzofurans (HeCDFs), and octachlorodibenzofuran (OCDF), we used [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,7,8-TCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8-PeCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,4,7,8-PeCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,7,8-HxCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,6,7,8-HxCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8,9-HxCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,4,6,7,8-HxCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8-HeCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,7,8,9-HeCDF, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF as internal standards, respectively. For the analysis of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (TCB), 3,4,4',5-TCB, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PeCB), and 3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (HxCB), we used [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,3',4,4'-TCB, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,4,4',5-TCB, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,3',4,4',5-PeCB, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,3',4,4',5,5'-HxCB as internal standards, respectively. [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4-TCDD was used as a syringe spike.

### Results and discussion

We have developed an analytic method for measuring the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in human blood samples as small as 5 g and an efficient method for speeding up the pretreatment procedure for blood samples<sup>11,12)</sup> Moreover, we have improved a method that is more effective than the previously reported method for treating many samples within a short period of time with high reproducibility<sup>13)</sup>. Using this method, we measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in blood collected from 279 Yusho patients and 92 Yusho-suspected persons living in Japan in 2002, 269 Yusho patients and 74 Yusho-

suspected persons living in Japan in 2003 and 128 normal controls living in Fukuoka Prefecture. Because the risk assessment of exposure to PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs is expressed in the toxic equivalent quantity (TEQ) concentrations, it was estimated based on the toxic equivalent factors (TEF) values proposed by the World Health Organization (WHO)<sup>14)</sup>. The TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in the blood of Yusho patients, Yusho-suspected persons and normal controls, including the data in 2001, are presented in Table 1-2. The total TEQ concentrations of these isomers in the blood of Yusho patients collected in 2002 and 2003 were 136.4 and 125.0 pg-TEQ / g lipid, respectively, values that were 3.6 and 3.3 times higher than those in normal controls, respectively. In the case of Yusho-suspected persons, the total TEQ concentrations were 42.5 and 37.0 pg-TEQ / g lipid, respectively, which were slightly higher than those of the normal controls.

The TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in the blood of Yusho patients were 19.5, 104.6 and 12.3 pg-TEQ / g lipid in 2002, respectively, and 17.6, 95.8 and 11.7 pg-TEQ / g lipid in 2003, respectively. In the case of Yusho-suspected persons, these concentrations were 13.8, 18.7 and 10.0 pg-TEQ / g lipid in 2002, respectively, and 11.7, 16.9 and 8.3 pg-TEQ / g lipid in 2003, respectively. On the other hand, the TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in the blood of normal controls were 15.3, 10.2 and 11.9 pg-TEQ/g lipid, respectively. The TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons in 2003 resulted in almost the same concentrations as those obtained in 2002. The TEQ concentrations

**Table 1** Concentrations of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in the blood of Yusho patients collected in 2001-2003

Congeners	Concentration (pg/g lipid)															
	Yusho patients						Normal controls									
	2001 (n = 78)		2002 (n = 279)		2003 (n = 269)		2004 (n = 128)		2003 (n = 269)		2004 (n = 128)					
Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.1	ND	4.1	1.7	0.8	ND	4.4	1.7	0.8	ND	5.6	1.9	0.8	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	20.4	11.0	3.3	53.5	11.1	5.9	1.5	46.8	9.7	5.4	ND	45.2	9.0	3.4	3.2	19.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.4	1.8	ND	7.7	2.9	1.8	ND	10.8	2.6	1.6	ND	8.5	3.6	1.9	ND	13.4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	56.7	43.4	4.4	230.1	53.0	41.7	6.0	290.7	50.4	42.6	3.8	348.5	27.7	11.0	7.3	70.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	2.3	ND	11.0	5.1	3.8	ND	41.0	3.9	2.7	ND	17.9	4.5	2.8	ND	16.4
1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	26.6	20.7	5.4	143.6	63.4	53.7	10.8	556.3	38.6	22.9	8.5	167.2	78.5	55.4	17.6	470.5
OCDD	667.7	750.5	137.5	6226.3	877.2	728.2	172.5	9158.6	763.3	438.9	147.6	3706.1	1216.6	938.3	181.2	7613.9
2,3,7,8-TCDF	1.8	2.5	ND	14.4	1.4	0.9	ND	6.3	1.2	0.7	ND	4.9	1.0	0.7	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	0.9	ND	4.2	0.9	0.8	ND	6.3	0.8	0.7	ND	5.6	0.7	0.5	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	256.1	315.3	6.7	1770.6	192.0	252.1	3.1	1889.7	176.2	240.2	2.6	1953.5	17.5	7.7	6.0	63.4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	82.7	117.2	2.0	632.3	59.0	99.6	ND	769.9	52.0	87.2	ND	737.7	5.0	2.7	ND	19.8
1,2,3,6,7,8-HxCDF	29.7	34.4	ND	176.1	22.4	29.1	ND	210.0	20.4	27.0	ND	231.8	5.7	2.6	ND	15.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	3.9	2.3	ND	10.8	3.2	4.0	ND	39.8	2.8	2.6	ND	22.8	2.2	2.1	ND	14.2
1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5'-TCB(81)	5.4	2.3	ND	20.6	5.6	3.1	ND	41.0	5.3	1.8	5.0	21.8	5.6	2.3	ND	24.0
3,3',4,4'-TCB(77)	7.8	4.7	ND	28.5	11.0	7.2	ND	46.1	8.6	6.4	5.0	71.8	8.4	4.8	ND	31.2
3,3',4,4',5'-PeCB(126)	84.4	58.5	17.8	319.5	103.1	71.7	ND	560.9	98.1	65.3	11.2	531.7	112.5	80.5	16.8	518.8
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	207.1	166.0	31.0	964.0	200.0	154.5	12.7	1131.4	183.8	139.2	12.7	1115.6	63.9	27.0	16.4	191.5
Total PCDD	780	766	177	6423	1014	782	212	9802	870	470	181	3924	1342	1003	214	8171
Total PCDF	381	461	18	2594	284	375	13	2744	259	352	12	2938	37	14	15	86
Total PCDD/PCDF	1161	840	308	6493	1299	866	232	9886	1129	602	242	3991	1379	1010	235	8234
Total coplanar PCBs	305	168	66	1006	320	186	28	1220	296	168	37	1218	190	106	59	744
Total	1466	921	373	6822	1618	948	313	10294	1425	703	293	4933	1569	1045	293	8452
PCDDs-TEQ	28.9	14.0	5.7	70.2	19.5	10.4	3.3	78.5	17.6	9.9	2.2	82.5	15.3	5.7	5.0	34.5
PCDFs-TEQ	139.8	171.8	4.1	966.7	104.6	137.9	2.1	1029.4	95.8	131.1	1.8	1074.4	10.2	4.3	3.5	33.5
PCDDs/PCDFs-TEQ	168.7	180.4	11.7	1036.9	124.1	146.7	5.4	1107.9	113.3	139.7	3.9	1156.9	25.5	9.2	8.5	54.2
Coplanar PCBs-TEQ	10.5	5.8	2.2	32.6	12.3	7.7	0.6	59.4	11.7	6.9	1.4	56.0	11.9	8.2	2.0	53.8
Total TEQ	179.3	180.5	13.9	1049.7	136.4	148.3	7.0	1126.1	125.0	141.2	5.5	1176.6	37.4	15.9	12.3	99.7
Lipid (%)	0.35	0.07	0.20	0.56	0.34	0.06	0.21	0.56	0.36	0.06	0.24	0.64	0.33	0.05	0.22	0.49
Age (years)	65.3	11.2	33	84	63.6	12.6	30	88	65.7	11.7	32	89	68.0	5.4	86	60

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: 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; SD: standard deviation; TCDD: tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.

**Table 2** Concentrations of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in the blood of Yusho-suspected persons collected in 2002–2003

Congeners	Concentration (pg/g lipid)															
	Yusho-suspected persons							Normal controls								
	2002 (n = 92)			2003 (n = 74)				2004 (n = 128)			2004 (n = 128)					
	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum
2,3,7,8-TCDD	1.4	0.9	ND	5.0	1.5	0.7	ND	3.2	1.9	0.8	ND	4.3				
1,2,3,7,8-PeCDD	7.8	4.0	1.2	22.1	6.6	3.2	ND	16.3	9.0	3.4	3.2	19.8				
1,2,3,4,7,8-HxCDD	3.1	1.9	ND	11.4	2.4	1.4	ND	6.1	3.6	1.9	ND	13.4				
1,2,3,6,7,8-HxCDD	28.7	18.8	5.9	106.1	26.0	17.1	2.9	93.2	27.7	11.0	7.3	70.1				
1,2,3,7,8,9-HxCDD	5.4	3.9	ND	17.7	3.6	2.1	ND	14.2	4.5	2.8	ND	16.4				
1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	76.4	55.1	14.5	287.8	39.8	24.1	11.7	152.5	78.5	55.4	17.6	470.5				
OCDD	908.9	560.1	228.9	2835.9	796.2	589.2	200.3	3835.1	1216.6	938.3	181.2	7613.9				
2,3,7,8-TCDF	1.0	0.8	ND	6.2	1.0	0.6	ND	3.5	1.0	0.7	ND	4.5				
1,2,3,7,8-PeCDF	0.8	0.6	ND	2.8	0.7	0.6	ND	4.8	0.7	0.5	ND	4.6				
2,3,4,7,8-PeCDF	33.2	51.9	2.2	262.7	30.0	50.3	1.2	272.4	17.5	7.7	6.0	63.4				
1,2,3,4,7,8-HxCDF	9.2	15.5	ND	111.7	8.3	14.6	ND	103.9	5.0	2.7	ND	19.8				
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.9	5.2	ND	26.0	6.3	5.7	ND	38.6	5.7	2.6	ND	15.8				
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND				ND				ND							
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND							
1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	3.3	4.0	ND	27.3	3.6	3.9	ND	23.0	2.2	2.1	ND	14.2				
1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	ND				ND				ND							
OCDF	ND				ND				ND							
3,4,4',5'-TCB(81)	5.4	1.6	ND	15.5	5.2	0.9	ND	11.1	5.6	2.3	ND	24.0				
3,3',4',4'-TCB(77)	10.6	6.7	ND	44.6	7.8	4.2	ND	20.8	8.4	4.8	ND	31.2				
3,3',4,4',5'-PeCB(126)	91.6	78.0	ND	387.3	75.9	61.4	ND	264.8	112.5	80.5	16.8	518.8				
3,3',4,4',5',5'-HxCB(169)	83.1	68.2	ND	318.1	74.0	58.7	ND	263.7	63.9	27.0	16.4	191.5				
Total PCDD	1031.7	617.7	253.8	3121.6	876.0	620.9	220.1	4043.7	1342	1003	214	8171				
Total PCDF	59.9	72.2	11.2	429.9	55.3	69.1	11.8	423.4	37	14	15	86				
Total PCDD/PCDF	1091.6	643.9	269.8	3251.3	931.3	652.8	237.0	4096.2	1379	1010	235	8234				
Total coplanar PCBs	190.7	136.9	25.3	723.9	162.9	113.6	20.0	514.4	190	106	59	744				
Total	1282.3	732.4	351.3	3576.9	1094.2	719.9	257.0	4263.3	1569	1045	293	8452				
PCDDs-TEQ	13.8	6.9	2.8	39.2	11.7	5.4	1.8	25.7	15.3	5.7	5.0	34.5				
PCDFs-TEQ	18.7	27.8	1.6	145.2	16.9	26.9	1.1	150.9	10.2	4.3	3.5	33.5				
PCDDs/PCDFs-TEQ	32.5	31.3	5.6	162.1	28.6	30.2	3.3	173.9	25.5	9.2	8.5	54.2				
Coplanar PCBs-TEQ	10.0	41.9	0.8	8.3	8.3	6.6	0.6	28.8	11.9	8.2	2.0	53.8				
Total TEQ	42.5	35.2	6.7	178.0	37.0	32.9	3.9	188.5	37.4	15.9	12.3	99.7				
Lipid (%)	0.3	0.1	0.2	0.7	0.35	0.05	0.24	0.46	0.33	0.05	0.22	0.49				
Age (years)	54.1	17.4	5.0	81.0	51.8	20.3	6	82	68.0	5.4	86	60				

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: 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; SD: standard deviation; TCDD: tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.

of PCDDs and Co-PCBs were nearly the same among Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls in 2002 and 2003. However, the PCDF levels of Yusho patients were significantly higher than those of Yusho-suspected persons and normal controls. The PCDF concentrations of the Yusho patients and Yusho-suspected persons were about 10.3 and 1.8 times higher, respectively, than those of normal controls in 2002, and 9.4 and 1.7 times higher in 2003. These findings indicated that Yusho patients have a much higher concentration of PCDFs in their blood than do unaffected persons even now, after over 34 years have passed since the outbreak of Yusho.

The relative contribution ratios of the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs to the total TEQ concentrations are shown in Table 3. The ratios of the PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs concentrations to the total TEQ concentrations for normal controls were 41.0, 27.2 and 31.8%, respectively. In the case of Yusho-suspected persons, the contribution ratios of these three concentrations were 32.6, 43.9 and 23.5% in 2002, respectively, and 31.8, 45.7 and 22.5% in 2003, respectively. Interestingly, the ratios of these concentrations in Yusho patients were 14.3, 76.7 and 9.0% in 2002, respectively, and 14.1, 76.6 and 9.3% in 2003, respectively. The ratios of the PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs concentrations contri-

bution to the total TEQ concentrations for Yusho patients and Yusho-suspected persons in 2003 were almost the same as those obtained in 2002. Yusho patients had the highest contribution ratio of PCDFs to total TEQ concentration. These findings indicated that PCDFs, thought to be the primary cause of the Yusho disease, still constituted a high ratio compared with Yusho-suspected persons and normal controls. Therefore, PCDFs were considered to be important factors for evaluating the toxicity of Yusho patients. In the Yusho-suspected persons, when the PCDFs ratio to the total TEQ concentrations was compared with Yusho patients and normal controls, it was found to be at a level intermediate between those of Yusho patients and normal controls. However, some of the Yusho-suspected persons showed high PCDFs concentrations.

Among PCDFs congeners, the concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, and 1,2,3,6,7,8-HxCDF showed particularly high concentrations for Yusho patients compared with those of normal controls (Table 1). The TEQ concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, and 1,2,3,6,7,8-HxCDF in the blood samples collected in 2002 for Yusho patients were 192.0, 59.0 and 22.4 pg/g lipid, respectively. These levels were 11.0, 11.8 and 3.9 times higher, respectively, than those of normal controls. In 2003, those for Yusho patients were 176.

**Table 3** Relative contribution ratios of the concentrations of PCDDs, PCDF, and Co-PCBs to the total TEQ concentrations

isomers	Relative contribution ratio (%)					
	Yusho patients			Yusho-suspected persons		Normal controls
	2001 (n=78)	2002 (n=279)	2003 (n=269)	2002 (n=92)	2003 (n=74)	2004 (n=128)
PCDDs	16.1	14.3	14.1	32.6	31.8	41.0
PCDFs	78.0	76.7	76.6	43.9	45.7	27.2
Co-PCBs	5.9	9.0	9.3	23.5	22.5	31.8

PCB: non-ortho-coplanar polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran.

2, 52.0 and 20.4 pg/g lipid, respectively, which were 10.1, 10.4 and 3.6 times higher, respectively, than those of normal controls. In the case of Yusho-suspected persons, the concentrations were 1.9, 1.8 and 1.2 times higher than those of normal controls, respectively, in 2002, and 1.7, 1.7 and 1.1 times higher, respectively, in 2003. Among the PCDFs congeners measured in Yusho patients in 2002 and 2003, a very high concentration of 2,3,4,7,8-PCDF and 1,2,3,4,7,8-HxCDF were found in comparison with the level in normal controls. These findings indicated that the persisting PCDFs in the blood of Yusho patients, in particular 2,3,4,7,8-PeCDF, remain at a much higher concentration than normal controls even now. Therefore, 2,3,4,7,8-PeCDF was indicated to be the most important compound for the establish of diagnostic criteria for Yusho.

Five years after the outbreak of Yusho, the follow-up survey of PCBs concentrations in the blood of the patients was begun. The diagnostic criteria for Yusho have been based on the gas chromatographic patterns of PCBs retained in the blood and the PCQ concentrations in the blood<sup>15)16)</sup>. Yusho patients even now have a much higher concentration of PCBs and PCQs in their blood. Therefore, the PCBs and PCQ concentrations in the blood of Yusho patients are still regarded as a pertinent index of the exposure in these patients, since these concentrations may well reflect the amount of rice bran oil ingested<sup>1)2)</sup>. From the results of extensive study of Yusho, PCDFs were concluded to be the principal causal compound in Yusho poisoning<sup>4)~10)</sup>. In order to establish new diagnostic criteria for Yusho, we measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in blood samples collected from 78 Yusho patients living in Fukuoka Prefecture in 2001, 279 Yusho

patients living in Japan in 2002 and 269 Yusho patients living in Japan in 2003. From the results of measuring the concentrations of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in the blood samples of Yusho patients, it became clear that Yusho patients still have a much higher concentration of PCDFs in their blood than do unaffected people more than 34 years after the Yusho incident. Moreover, it was indicated that the concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF, which was the highest among the congeners of PCDFs, is an effective indicator for establishing new diagnostic criteria for Yusho. When this new diagnostic criterion is introduced, some of the Yusho-suspected persons may be found to be Yusho patients.

#### Acknowledgment

This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Health Labour and Welfare, Japan.

#### References

- 1) Kuratsune M, Morikawa Y, Hirohata T, Nishizumi M, Kohchi S, Yoshimura T, Matsuzaki J, Yamaguchi A, Saruta N, Ishinishi N, Kunitake E, Shimono O, Takigawa K, Oki K, Sonoda M, Ueda T and Ogata M: An epidemiologic study on "Yusho" or chlorobiphenyls poisoning. *Fukuoka Igaku Zasshi* 60: 513-532, 1969. [in Japanese with an abstract in English]
- 2) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura Y and Masuda Y, editors, *Yusho: a human disaster caused by PCBs and related compounds*. Fukuoka: Kyushu University Press 1996.
- 3) Tsukamoto H, Makisumi S, Hirose H, Kojima T, Fukumoto H et al.: The chemical studies on detection of toxic compounds in the rice bran oils used by the patients of Yusho. *Fukuoka Igaku zasshi* 60 (6): 496-512, 1969. [in Japanese with an abstract in English]
- 4) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T and

- Nakagawa R : Concentrations of PCDDs, PCDFs and Coplanar PCBs in blood of 83 patients with Yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 88 : 169-176, 1997. [in Japanese with an abstract in English]
- 5) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Yu ML and Guo YL : Recent trend of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and their related compounds in the blood and sebum of Yusho and Yu Cheng patients. *Chemosphere* 38 : 981-993, 1999.
  - 6) Iida T, Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Matsueda T, Hori T and Nakagawa R : Follow-up survey of Dioxins in the blood of Yusho patients (in 2001). *Fukuoka Igaku Zasshi* 94 (5) : 118-125, 2003. [in Japanese with an abstract in English]
  - 7) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oils used by patients with Yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 66 : 593-599, 1975.
  - 8) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and "Yusho oil". *Bull Environ Contam Toxicol* 15 : 9-13, 1976.
  - 9) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with "Yusho". *Food Cosmet Toxicol* 15 : 195-198, 1977.
  - 10) Takenaka S, Hirakawa H, Nakamura M, Nakagawa R, Iida T and Todaka T : Follow-up survey of dioxins in the blood of Yusho patients (in 1998-1999). *Fukuoka Igaku Zasshi* 92 : 139-148, 2001. [in Japanese with an abstract in English]
  - 11) Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood : improvement of analytical method. *Ind Health* 41 : 197-204, 2003.
  - 12) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol for dioxin analysis of human blood. *Fukuoka Igaku Zasshi* 94 : 148-157, 2003.
  - 13) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T : Improvement in dioxin analysis of human blood and their concentrations in blood of Yusho patients. *J Dermatol Sci*, in press 2005.
  - 14) Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld, ATC, Brunstrom B, Cook P, Feeley M, Giesy JP, Hanberg A, Hasegawa R, Kennedy SW, Kubiak T, Larsen JC, Van Leeuwen FXR, Liem AKD, Nott C, Peterson RE, Poellinger L, Safe S, Schrenk D, Tillitt D, Tyskklind M, Younes M, Warn F and Zacharewski T : Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 106 (12) : 775-792, 1998.
  - 15) Iida T, Keshino M, Takata S, Nakamura S, Takahashi K and Masuda Y : Polychlorinated biphenyls and polychlorinated quarterphenyls in human blood. *Fukuoka Igaku Zasshi* 72 : 185-191, 1981. [in Japanese with an abstract in English]
  - 16) Masuda Y, Kagawa R, Shimamura K, Takada M and Kuratsune M : Polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients and ordinary persons. *Fukuoka Igaku Zasshi* 65 : 25-27, 1974. [in Japanese with an abstract in English]

(Received for publication April 5, 2005)

(和文抄録)

**油症患者血液中ダイオキシン類濃度の追跡調査 (2002-2003 年)**

1) 社団法人日本食品衛生協会

2) 福岡県保健環境研究所

戸高 尊<sup>1)</sup>, 平川博仙<sup>2)</sup>, 堀 就英<sup>2)</sup>, 飛石和大<sup>2)</sup>, 飯田隆雄<sup>2)</sup>

平成 14 年度に日本在住の 279 名の油症患者と 92 名の未認定者, 平成 15 年度に日本在住の 269 名の油症患者と 78 名の未認定者および福岡県在住の一般健常人 128 名から採取した血液中の PCDDs, PCDF, および Co-PCBs 濃度を測定し, これら化合物の濃度を比較した。平成 14 および 15 年度に受診した油症患者の血液中 PCDDs, PCDF, および Co-PCBs の総 TEQ 濃度は, それぞれ一般健常人の 3.6 倍および 4.5 倍であった。未認定者の場合, 血液中ダイオキシン類の総 TEQ 濃度は, それぞれ一般健常人の 1.1 倍および 1.0 倍であった。油症患者の血液中 PCDDs および Co-PCBs 濃度は, ほぼ健常人と同レベルなのに対し, PCDFs

濃度は健常人のそれぞれ 10.3 倍 (平成 14 年) および 9.4 倍 (平成 15 年) 高い値を示した。総 TEQ 濃度に対する PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度の割合を比較した場合, 油症患者の PCDFs 濃度は総濃度の約 8 割を占めていた。PCDFs 異性体間で特に高濃度を示す 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF は, 健常人のそれぞれ 11.0 倍 (平成 14 年) および 10.1 倍 (平成 15 年) 高い値を示した。以上の結果から, 油症発症から 34 年経過した現在も患者の血中 PCDFs 濃度, 特に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は依然高いレベルにあり, 新しい油症診断基準を策定する上で最も重要な要素と考えられる。

平成17年 5 月 25 日 発行

発行所 〒 812-8582 福岡市東区馬出 3 丁目1-1  
九州大学医学部内

**福 岡 医 学 会**

印刷所 福岡市南区向野 2 丁目13-29

秀巧社印刷株式会社

頒 価 2,000 円