

昭和29年11月5日第三種郵便物認可
平成23年4月25日（毎月25日発行）
第1075号

Vol. 102 No. 4
April 2011

CODEN: FKIZA4
ISSN 0016-254X

福岡医学雑誌

FUKUOKA ACTA MEDICA

第 102 卷 第 4 号 (1075)

平成 23 年 4 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 23 集

責任編集者 古 江 増 隆

The Twenty-third Reports of the Study on Yusho
—PCBs and Dioxin-Related Compounds—

Guest Editor Masutaka Furue

福岡医誌

Fukuoka Acta Med.

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 23 集

(福岡医学雑誌 第 102 卷 第 4 号 平成 23 年 4 月)

目次内容

序言	古江 増隆
総説 ダイオキシン類と骨代謝	福士 純一・岩本 幸英… (69)
原著 油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査 (第八報)	橋口 勇・吉嶺 嘉人・前田 英史・後藤 康治 和田 尚久・藤井 慎介・友清 淳・齋籐 桐枝 門野内 聡・河野 清美・奥村 英彦・赤峰 昭文… (75)
油症におけるリンパ球幼若化反応の検討	辻 博・伊東 靖夫… (81)
全国油症検診者における 2,3,4,7,8-塩化ジベンゾフラン血中濃度の時間変化	徳永 章二… (87)
血中ダイオキシン類の半減期の関係と想定される代謝機構	松本 伸哉・赤羽 学・神奈川芳行・梶原 淳睦・戸高 尊 千葉 貴人・安川 史子・内 博史・古江 増隆・今村 知明… (92)
油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と血清 IgE 値に関する研究 第 2 報	内 博史・安川 史子・古江 増隆… (100)
油症認定患者における血清ケモカイン濃度に関する研究	内 博史・安川 史子・古江 増隆… (105)
胎児性油症原因物質の時系列的濃度変化—PCDDs と PCDFs—	長山 淳哉・戸高 尊・平川 博仙 堀 就英・梶原 淳睦・吉村 健清… (109)
胎児性油症関連物質の時系列的濃度変化—ダイオキシン様 PCBs と PCBs—	長山 淳哉・戸高 尊・平川 博仙 堀 就英・梶原 淳睦・吉村 健清… (116)
玄米発酵食品による油症原因物質の体外排泄促進	長山 淳哉・戸高 尊・平川 博仙・梶原 淳睦 飯田 隆雄・柴田 智子・辻 博・岩崎 輝明… (123)
事件発生時, 生後から思春期と成人であったカネミ油症検診者の骨密度の差	吉村 俊朗・川崎 涼子・中野 治郎・柘田 智子・徳田 昌紘 中田 るか・片岡 英樹・佐賀里 昭・沖田 実… (130)
福岡県油症検診 (2007 - 2010 年度) 受診者における血液中 PCB 濃度と傾向	堀 就英・安武 大輔・芦塚 由紀・高橋 浩司 梶原 淳睦・平田 輝昭・内 博史・古江 増隆… (134)

油症認定患者の男女間の血液中ダイオキシン類濃度差

梶原 淳陸・戸高 尊・平川 博仙・堀 就英・小野塚大介
高尾 佳子・平田 輝昭・飯田 隆雄・内 博史・古江 増隆… (140)

高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた異径キャピラリーカラムによる
血液中ポリ塩化クアテルフェニルの迅速測定

安武 大輔・芦塚 由紀・堀 就英・黒川 陽一・梶原 淳陸
平田 輝昭・石黒 靖尚・飯田 隆雄・内 博史・古江 増隆… (145)

液体クロマトグラフ質量分析計による油症認定患者血液中の
水酸化ポリ塩化ビフェニルの測定法 (英文)

飛石 和夫・戸高 尊・平川 博仙・堀 就英・梶原 淳陸
平田 輝昭・飯田 隆雄・内 博史・古江 増隆… (153)

ダイオキシン母体曝露が胎児ステロイド産生臓器の性ステロイドホルモン合成系に及ぼす影響

武田 知起・田浦 順樹・藤井美彩紀
古賀 貴之・石井 祐次・山田 英之… (159)

2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル (CB138) のモルモットにおける *in vivo* 代謝

太田 千穂・原口 浩一・加藤 善久・遠藤 哲也・古賀 信幸… (167)

**The Twenty-third Reports of the Study on Yusho
and PCBs and Dioxin-Related Compounds
(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 102, No. 4, 2011)**

CONTENTS

Foreword	M. Furue
Review Article (in Japanese) Effects of Dioxin-Related Compounds on Bone Metabolism	J. Fukushi and Y. Iwamoto... (69)
Originals	
An Epidemiologic Examination on the Prevalence of the Periodontal Diseases and Oral Pigmentation in Yusho Patients in 2010 I. Hashiguchi, Y. Yoshimine, H. Maeda, Y. Gotou, N. Wada, S. Fujii, A. Tomokiyo, K. Saito, S. Monnouchi, K. Kouno, H. Okumura and A. Akamine...	(75)
Impaired Mitogen-induced Lymphocyte Transformation in Patients with Yusho	H. Tsuji and Y. Ito... (81)
The Temporal Change Rate of 2,3,4,7,8-PCDF Level among Examinees of Annual Health Checkups of Yusho	S. Tokunaga... (87)
Relationship between Half-Lives of Blood Dioxins and Possible Metabolic Mechanism S. Matsumoto, M. Akahane, Y. Kanagawa, J. Kajiwara, T. Todaka, T. Chiba, F. Yasukawa, H. Uchi, M. Furue and T. Imamura...	(92)
Prevalence of Atopic Dermatitis and Serum IgE of Yusho Patients Born before 1967	H. Uchi, F. Yasukawa and M. Furue... (100)
Chemokine Profile of Yusho Patients	H. Uchi, F. Yasukawa and M. Furue... (105)
Time Serial Changes in the Concentrations of the Etiological Agents of Fetal Yusho -PCDDs and PCDFs-	J. Nagayama, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, J. Kajiwara and T. Yoshimura... (109)
Time Serial Changes in the Concentrations of the Related Agents to Fetal Yusho -Dioxin-like PCBs and PCBs-	J. Nagayama, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, J. Kajiwara and T. Yoshimura... (116)
Promotive Excretion of Causative Agents of Yusho by Fermented Brown Rice with <i>Aspergillus oryze</i> in Yusho Patients	J. Nagayama, T. Todaka, H. Hirakawa, J. Kajiwara, T. Iida, S. Shibata, H. Tsuji and T. Iwasaki... (123)

- Differences in the Bone Mineral Density in Patients with
Kanemi Yusho Treated before and after the Age of 18 Years
T. Yoshimura, R. Kawasaki, J. Nakano, T. Masuda, M. Tokuda,
R. Nakata, H. Kataoka, A. Sagari and M. Okita... (130)
- Blood PCB Concentrations and their Tendencies Examined
in Fukuoka 2007–2010 Annual Inspections for Yusho
T. Hori, D. Yasutake, Y. Ashizuka, K. Takahashi,
J. Kajiwara, T. Hirata, H. Uchi and M. Furue... (134)
- The Difference between Male and Female Dioxin Concentrations in the Blood of Yusho Patients
J. Kajiwara, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, D. Onozuka,
Y. Takao, T. Hirata, T. Iida, H. Uchi and M. Furue... (140)
- The Rapid Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Blood Using
Different Diameter Capillary Column with the High-Resolution
Gas Chromatograph High-Resolution Mass Spectrometer
D. Yasutake, Y. Ashizuka, T. Hori, Y. Kurokawa, J. Kajiwara,
T. Hirata, Y. Ishiguro, T. Iida, H. Uchi and M. Furue... (145)
- Measurement Method for Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls
in the Blood of Yusho Patients by Liquid
Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry
K. Tobiishi, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, J. Kajiwara,
T. Hirata, T. Iida, H. Uchi and M. Furue... (153)
- The Effect of Maternal Exposure to Dioxin on Fetal Steroidogenesis
in the Steroidogenic Organs
T. Takeda, J. Taura, M. Fujii, T. Koga, Y. Ishii and H. Yamada... (159)
- In Vivo* Metabolism of 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl (CB138) in Guinea Pigs
C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo and N. Koga... (167)

序 言

厚生労働省全国油症治療研究班・班長

九州大学大学院医学研究院・教授

古 江 増 隆

Foreword

Masutaka FURUE

Chief of The Study Group for Yusho

(granted by The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan)

Professor, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University

A mass poisoning, involving at least 1961 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 40 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.

A method for quantification of PCBs in the blood was developed after 1973, five years after the outbreak 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 highly sensitive method has allowed us to 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 potential 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. Various types of questionnaire were carried out by Yusho consultants. Statistical correlations were analyzed between blood PeCDF levels and clinical/laboratory manifestations in addition to questionnaire comments.

Patients with Yusho still complain various subjective and objective symptoms. 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, Labour and Welfare for their efforts to help and support patients' health and well-being.

Acknowledgement ; This work was supported by a grant from The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

厚生労働省全国油症治療研究班の第 23 報告集を刊行することができましたことを大変うれしく思っております。平成 21 年度と平成 22 年度の研究成果ならびに関連分野の情報などをまとめております。油症は 1968 年（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。事件発生 5 年後くらいから PCB の血中濃度測定が可能になりました。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、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、2001 年（平成 13 年）は福岡県の検診でパイロット的に測定を行い、2002 年（平成 14 年）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。

患者さんの健康管理と健康相談の窓口として、2002 年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。油症相談員の活躍によって、従来よりも信頼性の高いアンケート調査を行なうことが可能となりました。そのようなアンケート調査や実際の検診結果などと血液中のダイオキシン類濃度を統計学的に比較することが可能となりました。本報告集のいくつかの論文はその成果です。いくつかの研究成果は油症ニュース (<http://www.kyudai-derm.org/part/yusho/index.html>) にとりあげて、認定者の方々に送付しております。こうして少しずつではありますが、認定者の方々と交流をさらに深めたいと思っています。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 (<http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html>) にお力添えをいただいている班員の方々、そして各県の行政の方々、厚生労働省担当課の皆様にも深く感謝申し上げます。

謝辞：本誌は、平成 21 年度および平成 22 年度において厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）（課題番号：H22 - 食品 - 指定 - 001）を受け実施した研究の成果です。ここに記して謝意を表します。

総 説

ダイオキシン類と骨代謝

九州大学大学院医学研究院 整形外科学分野

福 士 純 一, 岩 本 幸 英

はじめに

油症は1968年に発生した Polychlorinated biphenyls (PCBs) と Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) による混合中毒で、発生より40年以上が経過した現在でも、多くの被害者が骨・関節の症状を訴えている。なかでも骨粗鬆症は、油症被害者全体の高齢化に伴って顕在化しており、油症との関連が社会的にも注目されている。

骨は、骨形成と骨吸収のバランスによってダイナミックに制御される組織で、そのバランスには性ホルモンや環境因子など、様々な要素が複雑に影響している。PCBに代表される有機塩化物、なかでもダイオキシン類は性ホルモン様の作用を示すことから、骨代謝に及ぼす影響が懸念され、実験室レベルでも、また生体レベルにおいても骨代謝への様々な影響が検討されている。

ここでは、ダイオキシン類を中心とした有機塩化物が骨代謝に及ぼす影響について、近年明らかとなった知見を中心に紹介する。なお本稿では PCB 異性体を、3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl であれば CB126 のように表記する。

1. 細胞レベルでの知見

骨密度は骨を作る骨芽細胞と、骨を吸収する破骨細胞の機能のバランスによって調整され、骨吸収が骨形成を上回ると骨量が減少し、ひいては骨粗鬆症へと進展する。ダイオキシン類受容体である Arylhydrocarbon receptor (AhR) は骨芽細胞と破骨細胞の両者に発現しており、培養細胞の増殖や分化におけるダイオキシン類の影響が検討されている。

骨芽細胞においては、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) はラットおよびマウス骨芽細胞の分化を阻害する¹⁾²⁾。また、AhR リガンドである 3-methylcholanthrene は、骨芽細胞の増殖と分化を抑制し³⁾、破骨細胞分化に必要な RANKL の発現を低下させる⁴⁾。

一方、破骨細胞に対しての作用として、Korkalainen らは TCDD が 100fM という低濃度でマウス間葉系幹細胞から破骨細胞への分化を抑制すると報告した²⁾。同程度の TCDD 濃度にて骨芽細胞の分化が阻害されることから、培養細胞レベルにおいては、骨形成と骨吸収がともに抑制されることが示唆される。

2. 実験動物における長期投与の知見

有機塩化物暴露が骨代謝へ及ぼす影響は、マウスからサルに至るまで様々な動物種において検討されている (表1)^{5)~15)}。生体における骨代謝の評価法として、骨密度のほかに、定量的 CT を用いた骨の形態測定や骨強度の定量などが行われている。

Nishimura らは、出生直後のマウスに母乳を介して TCDD を投与し、骨への影響を検討した。生後 21 日目の評価で、TCDD 投与群では脛骨の石灰化が低下し、オステオカルシン、1型コラーゲン、およびアル

表 1 実験動物における有機塩化物の骨代謝への影響

有機塩化物	動物種	年齢	骨代謝への影響	文献
Aroclor 1254	ラット	1M	髄腔減少, 骨密度増加, 骨強度低下* (オス)	5)
CB118	ヒツジ	胎仔	BMC 低下 (オス), 大腿骨長低下 (メス)	6)
CB126	ラット	3M	椎体石灰化低下, 骨密度増加 (メス)	7)
	ラット	成体	骨密度増加, 骨強度低下* (メス)	8)
CB153	ヒツジ	9M	髄腔減少, 骨密度増加 (メス), 大腿骨長低下 (メス)	6)
	ヤギ	9M	髄腔減少, 骨密度増加	9)
TCDD	マウス	新生仔	皮質骨石灰化減少 (オス)	10)
	ラット	8M	大腿骨長低下, 髄腔減少, 骨強度低下* (メス)	11) 12)
	ラット	胎仔	大腿骨長低下, 骨強度低下*	13)
	アカゲザル	胎仔	BMC 増加, 横径増大 (メス), 強度増加 (オス)	14)
tetradifon	ラット		類骨増加, 骨梁増加 (メス)	15)

BMC : bone mineral content

* : 骨強度低下と同時に体重減少も伴う

カリフォスファターゼといった骨芽細胞由来の遺伝子発現レベルが減少したと報告している¹⁰⁾。

ラットにおいては, PCB (Aroclor 1254) 投与により低濃度投与群において骨密度が増加, 高濃度投与では髄腔面積が減少し骨強度が低下したと報告されている⁵⁾。ダイオキシン様異性体である CB126 も同様に, 骨密度を増加させるが, 骨強度を低下させることが報告されている⁷⁾⁸⁾。TCDD の作用では成体ラットで髄腔面積の減少と骨強度の低下が¹¹⁾¹²⁾, また母体への投与によって, 新生仔大腿骨長の短縮と, 骨密度および骨強度の低下が報告されている¹³⁾。

ヤギにおいては CB153 の影響が検討されている。CB153 は妊娠および授乳を介して新生仔に投与され, 生後 9 ヶ月にて骨への影響が評価された。CB153 投与群では骨密度が増加し, 髄腔面積が減少していたが, 骨強度の変化はなかった⁹⁾。ヒツジにおいても, ほぼ同様の結果が報告されている⁶⁾。

Hermesen らは, アカゲザルの妊娠初期より生後 90 日までの間, TCDD を低濃度 (40ng/kg) と高濃度 (400ng/kg) で投与し, 生後 7 年時点での骨の変化を検討した。低濃度投与群のメスでは, 大腿骨の定量的 CT による計測で石灰沈着の増加と横径の増大を認めた。また低濃度投与群のオスでは骨強度の増大を認めた。一方, 高濃度投与群では, 変化を認めなかった¹⁴⁾。低濃度投与群での TCDD 体内濃度は, ヒトでの 2,3,7,8-TCDD toxic equivalent (TEQ) の 10 - 15 倍程度であることから, ヒトにおいても生じうる観察結果であると考察している。

実験動物を用いた研究からは, 動物種や化合物の種類, 暴露の時期や性別などによって, 骨代謝への影響が大きく異なることが分かる。骨髄の髄腔面積の減少は皮質骨部分の増大を意味し, 骨密度の増加をもたらすものと考えられる。ラットにおいては骨強度低下の報告が散見されるが, いずれの報告も高濃度暴露による体重減少を生じる条件下での観察であり, 結果の解釈には注意を要する。

3. 野生動物における知見

ダイオキシンや PCB, dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT) といった有機塩化物は, その化学的安定性と生体内への蓄積性, そして毒性から残留性有機汚染物質とも表現される。脂肪に濃縮されることで食物連鎖の高次にある生物ほど体内に蓄積されやすいことから, 野生動物を対象とした調査研究が行われている (表 2)^{16)~19)}。

Sonne らはグリーンランドのホッキョクグマにおいて, 頭蓋骨の骨密度が, 脂肪組織中の PCB や DDT 濃度と負に関連すると報告した¹⁶⁾。対照的に米国フロリダ州においては, 農薬工場からの DDT で汚染さ

表2 野生動物における有機塩化物と骨代謝との関連性

有機塩化物	動物種	地域	骨代謝への影響	文献
Σ PCB	ホッキョクグマ	グリーンランド	骨密度と負に関連	16)
Aroclor 1268	オニクイナ	米国ジョージア州	骨中のアパタイト含有量と正に関連	17)
TCDD-TEQ	セグロカモメ	米国五大湖	骨密度との関連なし、骨強度が高 TEQ 群で増加	19)
DDT	アメリカワニ	米国フロリダ州	汚染を受けた湖において、骨密度が増加	18)

れたアポプカ湖のアリゲーターで、他の湖と比して骨密度の上昇が認められており、その機序として DDT 代謝物のエストロゲン様作用による影響が考察されている¹⁸⁾。

Rodriguez-Navarro らは、工業廃棄物で汚染された米国ジョージア州の海岸におけるオニクイナの調査を行った。雛鳥の足の骨において、体内の PCB (Aroclor 1268) と骨中のアパタイト結晶量とが正に関連することから、PCB が骨の成熟を促進すると考察している¹⁷⁾。また米国五大湖のセグロカモメの調査では、TEQ の高い地域のコロニーにおいて大腿骨の骨強度が高いことが報告され、性ホルモンと AhR との相互作用の関与が考察されている¹⁹⁾。

4. ヒトにおける知見

有機塩化物、なかでも PCB とヒトの骨粗鬆症との関連については、北欧を中心に複数の疫学調査が行われている^{20)~24)}。また、DDT の代謝産物である 1,1-dichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethylene (p,p'-DDE) については、北欧以外の地域においても調査が行われている²⁵⁾²⁶⁾。

Hodgson らによるスウェーデン住人 325 名の調査では、ダイオキシン様異性体である CB118 が男性では骨密度と負に関連する一方で、女性においては骨密度と正に関連していた。もっとも濃度の高い非ダイオキシン様 PCB 異性体 3 種 (CBs-138, 153, 180) を合計した値は、男性において骨密度と正に関連していた²⁰⁾。また Glynn らの調査では、スウェーデン人男性 115 名において、ダイオキシン様異性体である CB167 と骨密度が、交絡因子を調整した後に正に関連していた²⁴⁾。

Cote らはグリーンランドの閉経前後のイヌイット女性 153 名において、超音波法を用いて骨密度を測定し、血中の有機塩化物濃度との関連を検討した。有機塩化物暴露の指標となる CB153 と骨密度は負に関連したが、体重や治療の既往などを考慮した多変量解析を行うと関連を認めなかった。ダイオキシン様 PCB の中では、CB105 と CB118 は骨密度と関連しないが、CB156 は有意に正に関連したと報告している²¹⁾。

Rignell-Hydbom らは、閉経後のスウェーデン女性 908 名において、血清中のカドミウム、CB153 および p,p'-DDE 濃度と骨密度の関連を検討した。カドミウムと CB153 は骨密度との関連を認めなかったが、p,p'-DDE は交絡因子の調整後も、骨密度と正に関連したと報告している²³⁾。p,p'-DDE については、アメリカ人女性 103 名での調査において、腰椎および橈骨の骨密度との関連がないと²⁶⁾、またオーストラリア人女性 68 名の調査においては、骨密度と負に関連したとの報告がある²⁵⁾。

ヒトの骨密度に関する知見を表 3 にまとめた。CB153 のように複数の調査で骨密度との関連を認めない異性体がある一方^{21)~23)}、CB118 や p,p'-DDE のように、性別あるいは地域によって異なる関連が報告されている化合物もあり^{20)~23)25)26)}、一定の結論は得られていない。

5. 油症における骨粗鬆症

2005 年に油症認定患者 1257 名を対象として、骨粗鬆症に関するアンケート調査が行われ、身長縮みの有無、背中の曲がりや痛みなどの有無が調査された。血中ダイオキシン類レベルの判明している 307 名について、有訴割合とダイオキシン類レベルの関連を、多重ロジスティックモデルを用いて解析したところ、血中 2,3,4,7,8-PeCDF レベルの増加と身長縮みの間に、オッズ比 2.24 の関連を認めた。また血中 CB126 および CB169 レベルの増加は、背中の痛みや背中の曲がりとの正に関連していた²⁷⁾。

表3 世界における有機塩化物とヒト骨密度との関連

有機塩化物	地域	性別	人数	骨密度との関連	文献
CB118	スウェーデン	男	154	負	20)
	スウェーデン	女	167	正	20)
	グリーンランド	女	153	関連なし	21)
CB153	グリーンランド	女	153	関連なし	21)
	スウェーデン	女	184	関連なし	22)
	スウェーデン	女	908	関連なし	23)
CB156	グリーンランド	女	153	正	21)
CB167	スウェーデン	男	115	正	24)
p,p-DDE	オーストラリア	女	68	負	25)
	アメリカ	女	103	関連なし	26)
	スウェーデン	女	184	関連なし	22)
	スウェーデン	女	908	正	23)

骨粗鬆症に関連した愁訴が多いことを背景に、2007年度に福岡県と長崎県の油症一斉検診時に骨密度測定が行われた。測定に参加したのは男性146名、女性211名、平均年齢は62.7才で、非利き手側の橈骨遠位端部をDXA法で測定した。測定結果は若年成人(20-44才)の平均骨密度(YAM)に対する相対値であるTスコア、同一年齢の平均骨密度に対する相対値であるZスコアにて評価される。骨粗鬆症と判定される、YAM 70%未満のTスコアの低下を男性7名(4.8%)、女性では80名(37.9%)に認めた。男女ともに年齢が高いほどTスコアは減少し、両者の間には強い負の関連を認めた。Zスコアはばらつきがあるものの平均は男性0.2480、女性0.0937と、ほぼ0に等しく、全体としては年齢相応の骨密度であることが示された(図1)²⁸⁾。

我々は福岡県の検診受診者196名において、ダイオキシン類濃度(2,3,4,7,8-PeCDF, CB126, CB169)と骨密度の関連を検討した。Tスコアは、女性で3種類のダイオキシン類濃度と、男性で2,3,4,7,8-PeCDFおよびCB169と負に関連していた。一方、Zスコアとダイオキシン類濃度との間には明らかな関連を認めなかった。骨粗鬆症治療歴のない受診者(141名)において検討したところ、上記と同様の傾向であった²⁹⁾。

吉村らは2008年度の長崎県での油症一斉検診受診者194名を検討し、男性において血中PCB濃度と橈骨骨密度値との間に負の関連を認めた。対象群として雲仙地区の住民と比較したところ、踵骨骨密度値には違いを認めないが、骨吸収マーカーである尿中NTX値が油症検診者群において有意に低下していたと報告している³⁰⁾。

現時点では、油症患者における骨密度低下がダイオキシン類暴露に関連するかの結論は出ていない。骨

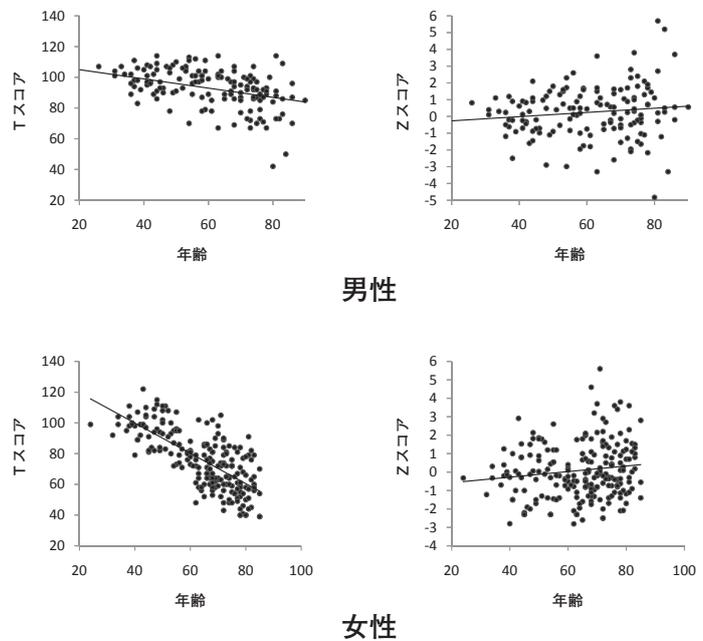


図1 油症一斉検診におけるTスコアとZスコアの分布(2007年)

密度は年齢や性別、飲酒・喫煙などの生活習慣、閉経など様々な要因によって影響を受けるため、解析には多くの条件を考慮する必要がある。なかでも骨粗鬆症治療薬の内服歴は重要であるため、油症研究班では2010年度の一斉検診時に聞き取り調査を行った。各自治体の協力により465名から回答を得ており、現在解析を進めている。

おわりに

ダイオキシン類を中心とした有機塩化物が骨代謝に及ぼす影響について紹介した。細胞レベルにおいては、骨芽細胞、破骨細胞ともに分化の阻害効果が報告されている。一方、生体の骨における作用の報告は一様ではなく、骨密度や骨強度が低下するとの報告もあれば、骨髄腔面積の減少や骨密度の増加といった、骨形成の促進を示唆する報告もある。化合物の種類のほか、動物種や性別、暴露の時期などによって骨代謝への影響が異なるものと思われるが、それはすなわちダイオキシン類の複合汚染である油症被害を、他の動物種や単一の化合物で得られた知見を用いて解釈することの難しさを意味する。2010年の全国油症一斉検診ではほとんどの地域にて骨密度の測定が実施されており、骨粗鬆症治療歴の有無などを考慮した詳細な解析の結果が期待される。

参 考 文 献

- 1) Gierthy JF, Silkworth JB, Tassinari M, Stein GS and Lian JB : 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin inhibits differentiation of normal diploid rat osteoblasts in vitro. *J Cell Biochem.* 54 : 231-238, 1994.
- 2) Korkalainen M, Kallio E, Olkku A, Nelo K, Ilvesaro J, Tuukkanen J, Mahonen A and Viluksela M : Dioxins interfere with differentiation of osteoblasts and osteoclasts. *Bone.* 44 : 1134-1142, 2009.
- 3) Naruse M, Ishihara Y, Miyagawa-Tomita S, Koyama A and Hagiwara H : 3-Methylcholanthrene, which binds to the arylhydrocarbon receptor, inhibits proliferation and differentiation of osteoblasts in vitro and ossification in vivo. *Endocrinology.* 143 : 3575-3581, 2002.
- 4) Naruse M, Otsuka E, Ishihara Y, Miyagawa-Tomita S and Hagiwara H : Inhibition of osteoclast formation by 3-methylcholanthrene, a ligand for arylhydrocarbon receptor : suppression of osteoclast differentiation factor in osteogenic cells. *Biochem Pharmacol.* 67 : 119-127, 2004.
- 5) Andrews JE : Polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) induced changes in femur morphometry calcium metabolism and nephrotoxicity. *Toxicology.* 57 : 83-96, 1989.
- 6) Gutleb AC, Arvidsson D, Orberg J, Larsson S, Skaare JU, Aleksandersen M, Ropstad E and Lind PM : Effects on bone tissue in ewes (*Ovis aries*) and their foetuses exposed to PCB 118 and PCB 153. *Toxicol Lett.* 192 : 126-133, 2010.
- 7) Alvarez-Lloret P, Lind PM, Nyberg I, Orberg J and Rodriguez-Navarro AB : Effects of 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126) on vertebral bone mineralization and on thyroxin and vitamin D levels in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Lett.* 187 : 63-68, 2009.
- 8) Lind PM, Larsson S, Oxlund H, Hakansson H, Nyberg K, Eklund T and Orberg J : Change of bone tissue composition and impaired bone strength in rats exposed to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126). *Toxicology.* 150 : 41-51, 2000.
- 9) Lundberg R, Lyche JL, Ropstad E, Aleksandersen M, Ronn M, Skaare JU, Larsson S, Orberg J and Lind PM : Perinatal exposure to PCB 153, but not PCB 126, alters bone tissue composition in female goat offspring. *Toxicology.* 228 : 33-40, 2006.
- 10) Nishimura N, Nishimura H, Ito T, Miyata C, Izumi K, Fujimaki H and Matsumura F : Dioxin-induced up-regulation of the active form of vitamin D is the main cause for its inhibitory action on osteoblast activities, leading to developmental bone toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 236 : 301-309, 2009.
- 11) Jamsa T, Viluksela M, Tuomisto JT, Tuomisto J and Tuukkanen J : Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on bone in two rat strains with different aryl hydrocarbon receptor structures. *J Bone Miner Res.* 16 : 1812-1820, 2001.
- 12) Herlin M, Kalantari F, Stern N, Sand S, Larsson S, Viluksela M, Tuomisto JT, Tuomisto J, Tuukkanen J, Jamsa T, Lind PM and Hakansson H : Quantitative characterization of changes in bone geometry, mineral density and biomechanical properties in two rat strains with different Ah-receptor structures after long-term exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicology.* 273 : 1-11, 2010.

- 13) Miettinen HM, Pulkkinen P, Jamsa T, Koistinen J, Simanainen U, Tuomisto J, Tuukkanen J and Viluksela M : Effects of in utero and lactational TCDD exposure on bone development in differentially sensitive rat lines. *Toxicol Sci.* 85 : 1003-1012, 2005.
- 14] Hermsen SA, Larsson S, Arima A, Muneoka A, Ihara T, Sumida H, Fukusato T, Kubota S, Yasuda M and Lind PM : In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) affects bone tissue in rhesus monkeys. *Toxicology.* 253 : 147-152, 2008.
- 15) Badraoui R, Abdelmoula NB, Sahnoun Z, Fakhfakh Z and Rebai T : Effect of subchronic exposure to tetradifon on bone remodelling and metabolism in female rat. *C R Biol.* 330 : 897-904, 2007.
- 16) Sonne C, Dietz R, Born EW, Riget FF, Kirkegaard M, Hyldstrup L, Letcher RJ and Muir DC : Is bone mineral composition disrupted by organochlorines in east Greenland polar bears (*Ursus maritimus*)? *Environ Health Perspect.* 112 : 1711-1716, 2004.
- 17) Rodriguez-Navarro AB, Romanek CS, Alvarez-Lloret P and Gaines KF : Effect of in ovo exposure to PCBs and Hg on Clapper Rail bone mineral chemistry from a contaminated salt marsh in coastal Georgia. *Environ Sci Technol.* 40 : 4936-4942, 2006.
- 18) Lind PM, Milnes MR, Lundberg R, Bermudez D, Orberg JA and Guillette LJ, Jr : Abnormal bone composition in female juvenile American alligators from a pesticide-polluted lake (Lake Apopka, Florida). *Environ Health Perspect.* 112 : 359-362, 2004.
- 19) Fox GA, Lundberg R, Wejheden C, Lind L, Larsson S, Orberg J and Lind PM : Health of herring gulls (*Larus argentatus*) in relation to breeding location in the early 1990s. III. Effects on the bone tissue. *J Toxicol Environ Health A.* 71 : 1448-1456, 2008.
- 20] Hodgson S, Thomas L, Fattore E, Lind PM, Alfven T, Hellstrom L, Hakansson H, Carubelli G, Fanelli R and Jarup L : Bone mineral density changes in relation to environmental PCB exposure. *Environ Health Perspect.* 116 : 1162-1166, 2008.
- 21] Cote S, Ayotte P, Dodin S, Blanchet C, Mulvad G, Petersen HS, Gingras S and Dewailly E : Plasma organochlorine concentrations and bone ultrasound measurements : a cross-sectional study in peri- and postmenopausal Inuit women from Greenland. *Environ Health.* 5 : 33, 2006.
- 22] Wallin E, Rylander L, Jonsson BA, Lundh T, Isaksson A and Hagmar L : Exposure to CB-153 and p,p'-DDE and bone mineral density and bone metabolism markers in middle-aged and elderly men and women. *Osteoporos Int.* 16 : 2085-2094, 2005.
- 23] Rignell-Hydbom A, Skerfving S, Lundh T, Lindh CH, Elmstahl S, Bjellerup P, Junsson BA, Strumberg U and Akesson A : Exposure to cadmium and persistent organochlorine pollutants and its association with bone mineral density and markers of bone metabolism on postmenopausal women. *Environ Res.* 109 : 991-996, 2009.
- 24] Glynn AW, Michaelsson K, Lind PM, Wolk A, Aune M, Atuma S, Darnerud PO and Mallmin H : Organochlorines and bone mineral density in Swedish men from the general population. *Osteoporos Int.* 11 : 1036-1042, 2000.
- 25) Beard J, Marshall S, Jong K, Newton R, Triplett-McBride T, Humphries B and Bronks R : 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethane (DDT) and reduced bone mineral density. *Arch Environ Health.* 55 : 177-180, 2000.
- 26) Bohannon AD, Cooper GS, Wolff MS and Meier DE : Exposure to 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDT) in relation to bone mineral density and rate of bone loss in menopausal women. *Arch Environ Health.* 55 : 386-391, 2000.
- 27) 岩本幸英, 福士純一 : 油症骨・関節病変の臨床的研究. 熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究 平成18年度 総括・分担研究報告書. 30-33, 2007.
- 28] 岩本幸英, 福士純一 : 油症患者における骨・関節症状の実態. 古江増隆 et al. eds. 油症研究 II 治療と研究の最前線. 115-119, 九州大学出版会. 福岡, 2010.
- 29) 岩本幸英, 福士純一, 徳永章二 : 福岡県油症患者における骨密度の解析. 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究 平成21年度 総括・分担研究報告書. 39-43, 2010.
- 30) 吉村俊朗, 中野治郎 : カネミ油症患者の血清アルドラーゼ, 血清CK年次変化と骨代謝マーカー. 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究 平成21年度 総括・分担研究報告書. 49-58, 2010.

(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.)

 原 著

 油症患者における歯周疾患ならびに
 口腔内色素沈着の疫学的調査 (第八報)

¹⁾九州大学大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野
²⁾奥村歯科医院

橋口 勇¹⁾, 吉嶺嘉人¹⁾, 前田英史¹⁾, 後藤康治¹⁾, 和田尚久¹⁾,
 藤井慎介¹⁾, 友清 淳¹⁾, 齋籐桐枝¹⁾, 門野内 聡¹⁾,
 河野清美¹⁾, 奥村英彦²⁾, 赤峰昭文¹⁾

An Epidemiologic Examination on the Prevalence of the Periodontal Diseases and Oral Pigmentation in Yusho Patients in 2010

Isamu HASHIGUCHI¹⁾, Yoshito YOSHIMINE¹⁾, Hidefumi MAEDA¹⁾, Yasuharu GOTOU¹⁾,
 Naohisa WADA¹⁾, Shinsuke FUJII¹⁾, Atsushi TOMOKIYO¹⁾, Kirie SAITO¹⁾,
 Satoshi MONNOUCHI¹⁾, Kiyomi KOUNO¹⁾, Hidehiko OKUMURA²⁾ and Akifumi AKAMINE¹⁾

¹⁾*Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka 812-8582*

²⁾*Okumura Dental Clinic, Nagasaki*

Abstract An epidemiologic examination was carried out to reveal the prevalence of the periodontal diseases and oral pigmentation in patients with Yusho in 2010. The results obtained were as follows. 1) Yusho patients complained of tooth pain and periodontal diseases such as gingival swelling, but not of oral pigmentation.

2) 104 patients out of 117 patients with Yusho, who were measured periodontal pocket depth according to Ramfjord' methods, had at least one tooth with periodontal pocket deeper than 3 mm. Similarly, 314 teeth out of a total 551 examined teeth showed a periodontal pocket with more than 3 mm in depth. However, it was determined that 57 teeth had a periodontal pocket deeper than 4 mm.

3) Oral pigmentation was observed in 63 patients out of 122 patients with Yusho. In this study, gingival pigmentation was most predominant among oral pigmentation. The prevalence of oral pigmentation in male patients seemed to be somewhat higher than that in female patients. In addition, the prevalence of oral pigmentation tended to be higher in patients under seventy years old than patients beyond the age of seventy.

These results indicated that PCB-related compounds may be responsible for the higher prevalence of both periodontal diseases and oral pigmentation.

Key words : Yusho, Periodontal diseases, Oral pigmentation

はじめに

我々は、年一回行われる福岡県油症一斉検診の場において、油症患者の口腔内所見について追跡調査を行っている。その結果、油症発症後早期に

認められた所見のうち歯根形態異常や永久歯萌出遅延はほとんど認められなくなってきているが、依然として被検者の約半数に口腔内色素沈着が認められることや歯周疾患罹患率が高いことを報告してきた¹⁾。そこで、平成22年度の福岡県にお

る油症患者の一斉検診時の結果を基に、口腔内疾患特に歯周疾患や口腔内色素沈着の罹患状況について報告するとともに、平成 21 年度のデータと比較しこれら疾患の経年的変化についても検討を行った。

検診方法

平成 22 年度の福岡県油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者を対象として、問診、視診や X 線診（パントモグラフ）と同時に歯周ポケット診査を行った。歯周ポケット診査は Ramfjord が提唱している方法に準じて行った。すなわち、上顎右側第一大臼歯、上顎左側中切歯、上顎左側第一小臼歯、下顎右側第一小臼歯、下顎右側中切歯、下顎左側第一大臼歯を対象歯として、各歯牙の近心頬側歯肉溝に約 25 g の荷重下でポケット探針 PCP-11（Hu-Friedy 社）を挿入し、3mm以上の歯周ポケットを有する歯牙についてmm単位で測定した。また、パントモグラフを用いて歯槽骨吸収の程度や残存歯の状態の把握を行った。

結 果

平成 22 年度に歯科を受診した油症認定患者は

男性 56 名、女性 66 名、計 122 名であった（表 1）。問診にて口腔内の病変ないし不快症状を訴えた患者数は 43 名で、その内訳としては歯痛、義歯不適合や歯肉腫脹が多かったが、口腔内色素沈着による審美障害はなく、例年多かった歯肉出血も頻度としては少なくなっていた（表 2）。

歯周ポケット診査は、無歯顎患者ならびに歯周診査対象歯を全て喪失している患者を除いた 117 名（男性 54 名、女性 63 名）を対象として行った（表 1）。深さ 3mm以上の歯周ポケットを 1 歯でも有している患者は 104 名（88.9%）と高い割合を示した。同様に 3mm以上の歯周ポケットを有する歯牙は、551 の総被検歯のうち 314 歯（57.0%）であり、女性に比べて男性の方が高い罹患率を示した（表 3）。一方、4 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は 57 歯（男性 34 歯、女性 23 歯）で、総被検歯に占める割合は 10.3%（男性 13.7%、女性 7.6%）と低かった。歯種別では、下顎左側第一大臼歯が 67.5%と最も罹患率が高く、次いで、下顎右側第一小臼歯、上顎左側第一小臼歯、上顎左側中切歯、上顎右側第一大臼歯と続き、最も罹患率の低い下顎右側中切歯でも約 46%と高い値を示した（表 3）。年齢別にみると、80 歳以上の

表 1 油症患者の年齢別受診者数

年齢	性別		計
	男性	女性	
30 ~ 49	12(12*)	7(7)	19 (19)
50 ~ 59	6(6)	13(13)	19 (19)
60 ~ 69	12(11)	19(18)	31 (29)
70 ~ 79	19(19)	19(19)	38 (38)
80 ~ 99	7(6)	8(6)	15 (12)
計	56(54)	66(63)	122(117)

() : 歯周ポケット診査対象歯が少なくとも 1 歯以上残存している患者数

表 2 主訴の内訳

主訴*	男性 (名)	女性 (名)	計 (名)
歯痛	5	9	14
歯肉腫脹	4	2	6
義歯不適	1	3	4
食片圧入	2	1	3
歯肉出血	1	2	3
歯牙動揺	1	2	3
歯牙挺出感	1	2	3
その他	6	6	12

*重複回答有り。

表 3 歯種別の 3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙数

性別	歯種	6	1	4	4	1	6	計
男性	罹患歯数	21	24	26	37	25	26	159
	総被検歯数	37	38	40	50	47	36	248
	罹患率 (%)	56.8	63.2	65.0	74.0	53.2	72.2	64.1
女性	罹患歯数	19	20	32	35	21	28	155
	総被検歯数	45	52	51	57	54	44	303
	罹患率 (%)	42.2	38.5	62.7	61.4	38.9	63.6	51.2
計	罹患歯数	40	44	58	72	46	54	314
	総被検歯数	82	90	91	107	101	80	551
	罹患率 (%)	48.8	48.9	63.7	67.3	45.5	67.5	57.0

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

患者の罹患率が最も高く 68.1%であった。他の年代の患者においてもいずれも 50%以上の高い罹患率を示した。男女別にみると、80歳以上の患者では男女ともほぼ同様の発現率を示したが、その他の年代の患者においては男性の発現率が高い傾向を示し、特に 50代の患者では男性の発現率は約 91%で女性の発現率の約 2 倍に達していた(図 1)。平成 22 年度の歯牙残存率と歯周ポケット発現率について平成 21 年度と比較すると、歯牙残存率にはほとんど変化がみられないのに対し、歯周ポケット罹患率はいずれの年代でも平成 22 年度が低い値を示した(図 2)。また、すべての歯種で同様の結果が得られた(図 3)。

口腔粘膜に色素沈着を有する者の割合は 51.6% (男性 53.6%, 女性 50.0%) で、以前の結果と同様に男性の発現率が高い傾向を示した。発現率を年齢別にみると、70歳未満の患者ではすべての年代で 60%以上の発現率を示し、特に 60歳代では約 70%と最も高い発現率を示した。一方、70歳以上の患者では発現率は低く、30%前後の値を示した(図 4)。色素沈着の発現率を平成 21 年度と比較すると、60歳代ではほとんど発現率に差は認められないが、それ以外の年齢では色素沈着発現率は低い値を示した(図 4)。部位別にみると、色素沈着は歯肉に認められることが多く、歯肉以外の色素沈着の発現率は低かった(図 5)。

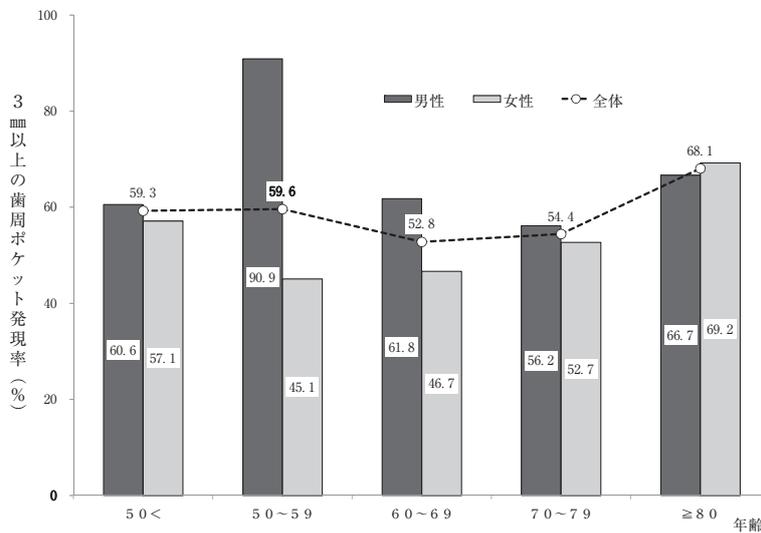


図 1 年齢別にみた 3mm以上の歯周ポケット罹患率

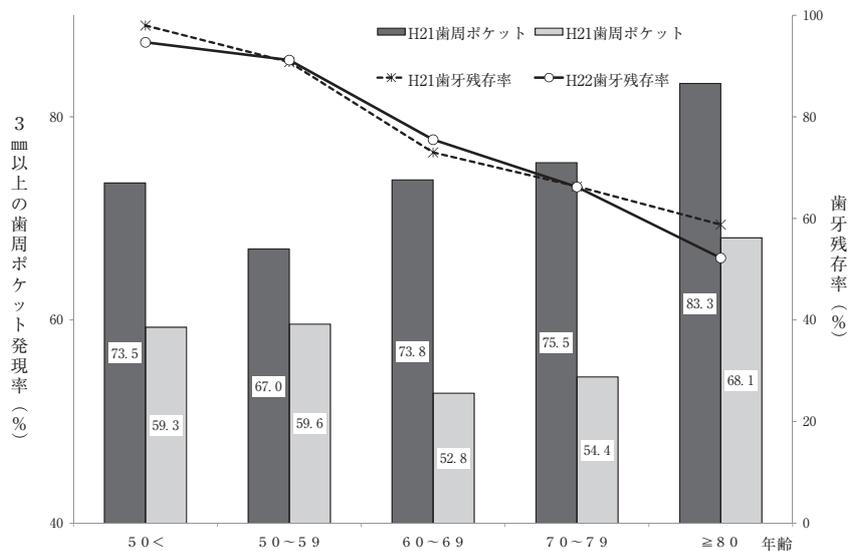


図 2 平成 21 年度, 22 年度における年齢別にみた歯周ポケット発現率と歯牙残存率

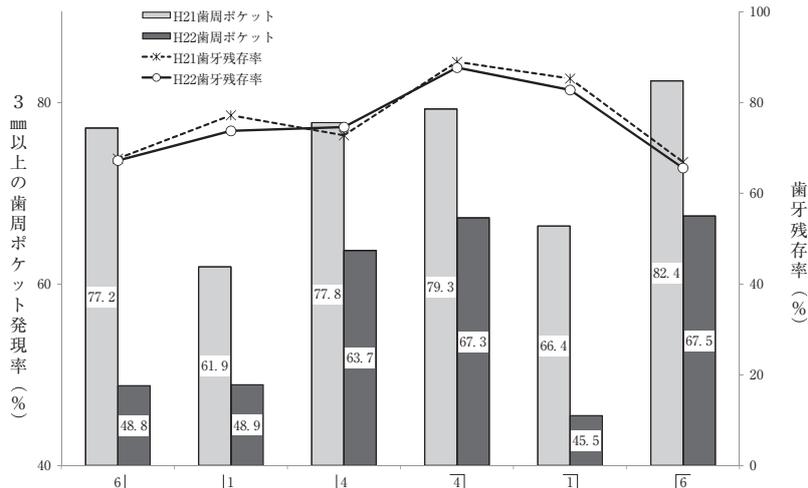


図3 平成21年度、22年度における歯種別にみた菌周ポケット発現率と歯牙残存率
 6] : 上顎右側第一大臼歯, 1] : 上顎左側中切歯, 4] : 上顎左側第一小臼歯
 7] : 下顎右側第一小臼歯, 7] : 下顎右側中切歯, 6] : 下顎左側第一大臼歯

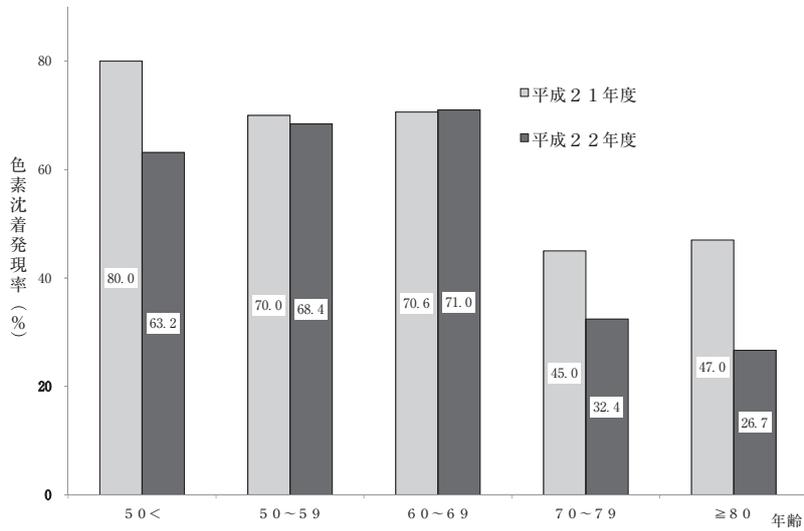


図4 平成21年度と平成22年度における年齢別の色素沈着発現率

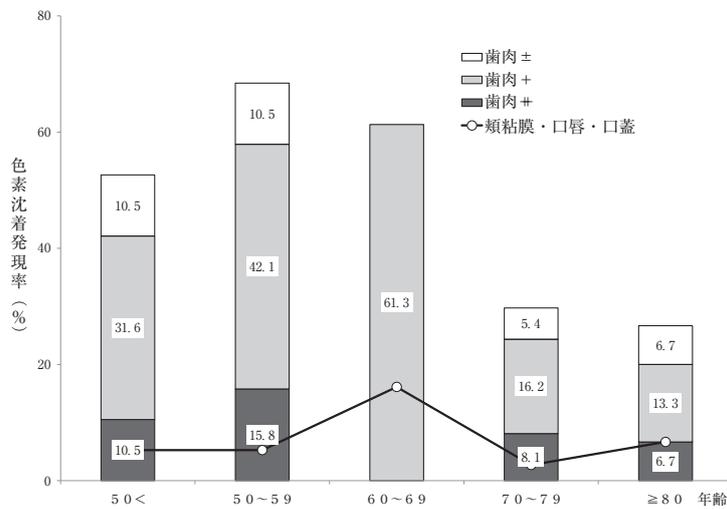


図5 年齢別、部位別にみた色素沈着発現率

考 察

前回までの報告と同様に、高齢者はもとより50歳未満の比較的若い世代でも高い歯周ポケット罹患率を示すことが明らかになった。プラーク中の細菌が歯周疾患の主体であるが、全身因子も歯周疾患の進展に寄与していることが考えられる²⁾。PCB 投与ラットにおいて骨中のカルシウム濃度が低下することが報告されている³⁾。同様に、PCB 中毒によってビタミンDやカルシウムの代謝が生じ、その結果、骨の石灰化不全や発育遅延がみられることが報告されている⁴⁾⁵⁾。また、歯周疾患の成立・進展には免疫反応も重要な役割を担っていると考えられる⁶⁾。動物実験でPCB等の投与によって免疫反応に異常が出ることが知られている⁷⁾。これらのことから、PCDF等の油症発症物質が原因となって生じた歯槽骨の代謝異常や免疫調節機構の異常によって、歯周炎症状が惹起された可能性も考えられる。しかし、各歯種ともわずか1年で約15~30%の急激な罹患率の低下を示していることから、PCDF中毒の直接的な関与によって歯周炎が発症したとは考えにくい。歯種別の歯周ポケット罹患率をみると、臼歯に比べて清掃しやすく、また咬合負担の少ない前歯部で罹患率が低かった。これらのことから、油症患者においても歯周病の発症にはデンタルプラーク等の局所因子が直接的な因子として働き、骨代謝異常は間接的に作用すると思われる。近年、8020運動により口腔内清掃の重要性が広く認識されている。急激な歯周疾患罹患率の低下が生じた原因として、口腔内清掃による口腔内環境の改善が考えられる。今回、前年に比べて歯周ポケット罹患率の低下がみられたことより、油症患者においても適切な口腔衛生環境を維持することで歯周疾患の発症が阻止される可能性が示唆された。

口腔内色素沈着の発現率と血中PCB濃度および血中PCBパターンとの間には関連性があることが報告されている⁸⁾。口腔内色素沈着の発現率は健常者に比して依然として高く、50%以上の発現率を示した。しかし、平成21年度の発現率(平均63.2%、男性70.0%、女性57.9%)に比べて、男性ならびに女性の両者とも発現率が低下していた。眼科や皮膚科領域では油症発症後経年的に色素沈着は減少していることが報告されている⁹⁾¹⁰⁾。

同様の機序で歯周組織においても色素沈着の減少が生じているのかもしれない。しかし、歯肉色素沈着については平成5年度までは経年的な減少が観察されたがその後発現率が上昇したことに加えて、PCDF濃度の高い高齢者で口腔内色素沈着発現率が低いことから、PCDFの直接的な関与については不明な点が多く、今後の更なる観察が必要と思われる。

結 論

油症患者における歯周組織疾患の罹患状態や口腔内色素沈着の発現頻度の経年的変化を把握するために、平成22年度油症一斉検診受診者を対象に口腔内診査を行い、以下の結果が得られた。

1. 油症患者の主訴としては歯周組織炎や歯髄炎が多く、色素沈着による審美障害の訴えはなかった。
2. 深さ3mm以上の歯周ポケットを1歯でも有している患者は、被験者117名中104名(88.9%)と非常に高い割合を示した。同様に3mm以上の歯周ポケットを有する歯牙は、551の総被検歯のうち314歯(57.0%)であったが、そのほとんどは深さ4mm未満であった。
3. 口腔内色素沈着を有している患者は総被験者122名中63名で、発現率は51.6%であった。部位としては、歯肉の色素沈着が最も多かった。傾向としては、女性より男性の発現率が高く、また高齢者に比較して70歳未満の患者に多く認められた。

参 考 文 献

- 1) 橋口 勇, 吉嶺嘉人, 前田英史, 後藤康治, 藤井慎介, 友清 淳, 吉田桐江, 西垣奏一郎, 門野内聡, 堀 清美, 奥村英彦, 赤峰昭文: 油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査(第七報), 福岡医誌 100: 111-117, 2009.
- 2) Glickman I: Clinical Periodontology 4th ed. pp. 290-414, W. B. Saunders, Philadelphia, 1972.
- 3) 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.
- 4) 吉村健清: 油症児童, 生徒の発育調査, 福岡医

- 誌 62 : 109-116, 1971.
- 5) 平山千里 : PCB 中毒と肝細胞機能, 福岡医誌 70 : 238-245, 1979.
 - 6) Newman MG, Sang M and Nisengard R : Host-bacterial interactions in periodontal diseases, In Carranza FA (ed) : Glickman's Clinical Periodontology. 7th ed. pp. 372-386, W. B. Saunders, Philadelphia, 1990.
 - 7) Vos JG and DeRoiji TH : Immunosuppressive activity of a polychlorinated biphenyl preparation on the humoral immune response in guinea pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol. 21 : 549-555, 1972.
 - 8) 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.
 - 9) 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.
 - 10) 向野利彦, 大西克尚 : 油症患者の眼症状, 福岡医誌 82 : 342-344, 1991.

(Received for publication March 15, 2011)

油症におけるリンパ球幼若化反応の検討

北九州津屋崎病院 内科

辻 博, 伊 東 靖 夫

Impaired Mitogen-induced Lymphocyte Transformation in Patients with Yusho

Hiroshi TSUJI and Yasuo ITO

Department of Internal Medicine, Kitakyushu-Tsuyazaki Hospital, Fukuoka 811-3307, Japan

Abstract To investigate chronic immune effects of polychlorinated biphenyl (PCB) and polychlorinated dibenzofuran (PCDF), in vitro lymphocyte transformation in response to phytohemagglutinin (PHA) and concanavalin A (Con A) was studied in 139 patients with Yusho and 61 controls. PHA-induced lymphocyte transformation was significantly lower in patients with Yusho than in controls. PHA-induced lymphocyte transformation was inversely correlated with the concentrations of PCB and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) in the blood. Con A-induced lymphocyte transformation showed similar inverse correlations with the concentrations of PCB and 2,3,4,7,8-PeCDF. We conclude that impairment of mitogen-induced lymphocyte transformation in patients with Yusho may be associated with PCB and 2,3,4,7,8-PeCDF in the blood.

Key words : Yusho, Mitogen-induced lymphocyte transformation, PCB, PCDF

はじめに

本邦において1968年4月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライスオイル摂取により北九州を中心に発生した油症では, 原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の毒性影響が大きいと考えられる¹⁾²⁾. PCDFは, 狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン (PCDD) およびコプラナー PCB とともにダイオキシン類と総称され, これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) を介すると考えられている³⁾. しかし, その機構の詳細は未だ不明である. 油症発生以来40年以上が経過し種々の症状は軽快しているが, 重症例においては体内の PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ, 慢性中毒に移行していると推定される⁴⁾⁻⁶⁾. 2001年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され, 油症患者では現在においても未だに血

中 PCDF 濃度が高値であり, PCDF の体内残留が推測される⁷⁾.

最近, PCBあるいはダイオキシン類が内分泌攪乱物質として正常なホルモン作用を攪乱し, 生殖機能の阻害, 悪性腫瘍の発生, 免疫能の低下等を引き起こす可能性が指摘されている⁸⁾⁹⁾. 油症における免疫機能影響については, 1996年度福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認め油症患者における免疫機能の障害が推測された¹⁰⁾. 1997年度の福岡県油症一斉検診において免疫グロブリン IgA, IgG, IgM のいずれか1分画以上の上昇を40.0%に, 抗核抗体を45.6%と高率に認め, 油症において液性免疫の障害を高頻度に認めることが報告されている¹¹⁾. そして, 2007年度福岡県油症一斉検診において, 血中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に有意の相関を, 抗核抗体を血中2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に有意に高頻

度に認め、油症における免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現に PCDF が関与している可能性が考えられ、液性免疫に対する PCDF の慢性的影響が示唆された。

今回我々は、2009 年度福岡県油症一斉検診においてリンパ球機能検査として phytohemagglutinin (PHA) および concanavalin A (Con A) の mitogen 刺激によるリンパ球幼若化反応を測定し、油症原因物質である PCB および PCDF の細胞性免疫に対する慢性的影響について検討した。

対象および方法

2009 年度福岡県油症一斉検診の受診者 202 例にアンケートによるインフォームドコンセントを実施し、PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた 200 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および心電図などよりなり、採血は午前中の空腹時に行なった。PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応は³H-サイミジン取り込み能により測定した。リンパ球はヘパリン加末梢血から Ficoll-Conray 法により分離後、PBS にて洗浄し 10% FCS 添加 RPMI1640 培地にて 5×10^5 cells/ml に調整した。リンパ球浮遊液 0.2 ml を mitogen を添加したマイクロプレートに分注し、5% CO₂ 培養器にて 37°C、64 時間培養後に³H-サイミジン 0.25 μCi を加え、さらに 8 時間培養後、培養細胞をセルハーベスターにて回収、乾燥しマイクロプレートシンチレーション・ルミネッセンスカウンター (PerkinElmer, Inc., TopCount NXT) にて³H の放射能を測定した。対照として mitogen 無添加の試料を測定した。

PCB の測定は福岡県保健環境研究所、福岡市保健環境研究所、北九州市環境科学研究所および北九州生活科学センターで、2,3,4,7,8-PeCDF の測定は福岡県保健環境研究所で行なった。血中 PCB 濃度は 2009 年度福岡県油症一斉検診において測定した 200 例の測定値を用い、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 2009 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2002 年度 1 例、2006 年度 81 例、2007 年度 19 例、2008 年度 17 例、

2009 年度 80 例の計 198 例の測定値を用い、PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応との関連について検討した。

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

結 果

2009 年度福岡県油症一斉検診を受診し、PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた 200 例 (認定患者 139 例、未認定患者 61 例) の内訳は女性 115 例、男性 85 例で、平均年齢は 60.8 ± 16.8 (4 - 92) 歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r = 0.537$, $P < 0.001$) を、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r = 0.327$, $P < 0.001$) を認めた。

福岡県油症一斉検診を受診した油症認定患者 139 例の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について未認定患者 61 例を対照として検討した (Table 1)。PHA によるリンパ球幼若化反応は油症患者において $36,416 \pm 14,368$ cpm と対照者 $42,841 \pm 15,748$ cpm に比べ有意の低下を認めた ($P < 0.01$)。Con A によるリンパ球幼若化反応は油症患者において $28,376 \pm 12,023$ cpm と対照者 $30,810 \pm 13,401$ cpm に比べ低い傾向が認められたが有意ではなかった。mitogen 無添加の対照は両群間に差をみなかった。

検診受診者 200 例について血中 PCB 濃度とリンパ球幼若化反応の関連について検討した (Table 2)。血中 PCB 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応 ($r = -0.341$, $P < 0.001$) (Fig. 1)、Con A によるリンパ球幼若化反応 ($r = -0.233$, $P < 0.001$) の間に有意の負の相関を認めたが、mitogen 無添加の対照 ($r = -0.134$) との間に相関をみなかった。

次に、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 未満の 154 例を PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 以上の 46 例を PCB 高濃度群として、両群間の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について検討を行なった (Table 3)。PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 0.93 ± 0.52 ppb、PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 3.11 ± 1.14 ppb であった。PHA によるリンパ球幼若化反応は PCB 高濃度群において $30,907 \pm 11,373$ cpm と PCB 低濃度群

40,607 ± 15,332 cpm に比べ有意の低下を認めた (P < 0.001). そして, Con A によるリンパ球幼若化反応も PCB 高濃度群において 24,562 ± 9,765 cpm と PCB 低濃度群 30,479 ± 12,895 cpm に比べ有意の低下を認めた (P < 0.005). 対照は PCB 低濃度群 237 ± 114 cpm, PCB 高濃

度群 213 ± 83 cpm と両群間に差をみなかった.

2009 年度福岡県油症一斉検診を受診し, リンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた受診者 200 例中, 血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が測定された 198 例について 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度とリンパ球幼若化反応の関連について検討した (Table 4).

Table 1 Mitogen-induced lymphocyte transformation in patients with Yusho and controls

No.		Yusho 139	Controls 61
PHA-induced LT*	(cpm)	36,416 ± 14,368 [†]	42,841 ± 15,748
Con A-induced LT*	(cpm)	28,376 ± 12,023	30,810 ± 13,401
Non-mitogen treated control	(cpm)	230 ± 106	234 ± 113

*Lymphocyte transformation, [†]P < 0.001 vs. controls.

Table 2 Correlation coefficients between mitogen-induced lymphocyte transformation and blood PCB concentration

	r
PHA-induced LT*	- 0.341 [†]
Con A-induced LT*	- 0.233 [†]
Non-mitogen treated control	- 0.134

*Lymphocyte transformation, [†]P < 0.001.

Table 3 Mitogen-induced lymphocyte transformation in Yusho patients with high PCB concentration and subjects with low PCB concentration

No.		PCB concentration	
		≥ 2.0 ppb 46	< 2.0 ppb 154
PHA-induced LT*	(cpm)	30,907 ± 11,373 [†]	40,607 ± 15,332
Con A-induced LT*	(cpm)	24,562 ± 9,765 [‡]	30,479 ± 12,895
Non-mitogen treated control	(cpm)	213 ± 83	237 ± 114

*Lymphocyte transformation, [†]P < 0.001 vs. PCB concentration < 2.0 ppb, [‡]P < 0.005 vs. PCB concentration < 2.0 ppb.

Table 4 Correlation coefficients between mitogen-induced lymphocyte transformation and 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF concentration in blood

	r
PHA-induced LT*	- 0.158 [†]
Con A-induced LT*	- 0.147 [†]
Non-mitogen treated control	0.02

*Lymphocyte transformation, [†]P < 0.05.

Table 5 Mitogen-induced lymphocyte transformation in Yusho patients with high 2,3,4,7,8-PeCDF concentration and subjects with low 2,3,4,7,8-PeCDF concentration

No.		2,3,4,7,8-PeCDF concentration	
		≥ 30 pg/g lipids 82	< 30 pg/g lipids 116
PHA-induced LT*	(cpm)	34,156 ± 12,406 [†]	41,867 ± 15,616
Con A-induced LT*	(cpm)	26,603 ± 10,361 [‡]	31,325 ± 13,172
Non-mitogen treated control	(cpm)	236 ± 111	229 ± 106

*Lymphocyte transformation, [†]P < 0.001 vs. 2,3,4,7,8-PeCDF concentration < 30 pg/g lipids, [‡]P < 0.01 vs. 2,3,4,7,8-PeCDF concentration < 30 pg/g lipids.

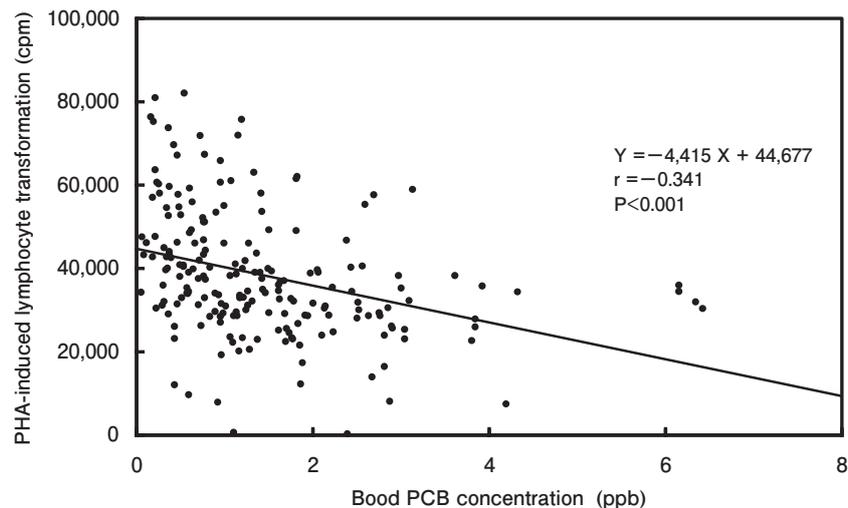


Fig. 1 Correlation between PHA-induced lymphocyte transformation and blood PCB concentration for each subject.

2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応 ($r = -0.158$, $P < 0.05$), Con A によるリンパ球幼若化反応 ($r = -0.147$, $P < 0.05$) の間に有意の負の相関を認めたが, 対照 ($r = 0.020$) との間に相関をみなかった。

次に, 血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 未満の 116 例を 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群, 30 pg/g lipids 以上の 82 例を 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群として両群の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について検討した (Table 5). 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は 13.40 ± 7.29 pg/g lipids, 高濃度群の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は 240.31 ± 227.90 pg/g lipids であった。PHA によるリンパ球幼若化反応は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群において $34,156 \pm 12,406$ cpm と低濃度群 $41,867 \pm 15,616$ cpm に比べ有意の低下を認めた ($P < 0.001$)。Con A によるリンパ球幼若化反応は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群において $26,603 \pm 10,361$ cpm と低濃度群 $31,325 \pm 13,172$ cpm に比べ有意の低下を認めた ($P < 0.01$)。対照は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群 229 ± 106 cpm, 高濃度群 236 ± 111 と両群間に差をみなかった。

考 察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されて

いる。油症発症 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査において, 甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0 ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかったが, 抗サイログロブリン抗体を PCB 高濃度群の 41 例中 8 例 (19.5%) と低濃度群の 40 例中 1 例 (2.5%) に比べ高頻度に認めた¹⁰⁾。そして, 1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し, 油症患者において免疫グロブリン IgA, IgG, IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0% に, 自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9% に, 抗核抗体を 45.6% と高率に認め, 油症において液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された¹¹⁾。また, 末梢血リンパ球亜集団の検討において血中 PCB 濃度が高値の油症患者では低値の患者に比べ helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加が認められ, 油症患者に高頻度にみられる免疫グロブリン上昇や自己抗体出現の原因となっている可能性が示唆された。さらに, 2008 年度福岡県油症一斉検診において血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数, CD4 陽性細胞数の間に有意の正の相関を認め, 血中 PCB 濃度が高値の油症患者において低値の患者に比べ CD4 陽性細胞の増加を, 血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者において末梢血リンパ球, CD4 陽性細胞の増加を認めた¹²⁾。油症患者の末梢血リンパ球数, helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞

胞の増加に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の関与が示唆された。

今回の検討では、油症患者において対照者に比べ PHA によるリンパ球幼若化反応の低下を認め、Con A によるリンパ球幼若化反応、mitogen 無添加の対照は両群間に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応、Con A によるリンパ球幼若化反応の間に有意の負の相関を認め、血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比べ PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。さらに、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応、Con A によるリンパ球幼若化反応の間に有意の負の相関を認め、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群において低濃度群に比べ PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。PHA, Con A は T 細胞の mitogen であるが、helper/inducer T 細胞は PHA および Con A により、suppressor/cytotoxic T 細胞は Con A により幼弱化することが知られている¹³⁾¹⁴⁾。油症患者においては helper/inducer T 細胞のリンパ球幼若化反応が低下していると考えられる。そして、helper/inducer T 細胞のリンパ球幼若化反応は血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と負の相関を示した。血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では helper/inducer T 細胞の幼若化反応が低下していると考えられる。血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加を認めることが報告されている¹²⁾が、helper/inducer T 細胞の幼若化反応は低下し、helper/inducer T 細胞のリンパ球機能は低下していると考えられる。

油症発生以来 40 年以上が経過しているが、血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者においては PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応が低下を認め、helper/inducer T 細胞のリンパ球幼若化反応が低下していると考えられる。油症患者において細胞性免疫に対する PCB および PCDF の慢性的影響が示唆された。

総 括

2009 年度福岡県油症一斉検診の受診者 200 例（認定患者 139 例、未認定患者 61 例）において PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応を測定した。油症患者において対照者に比べ PHA によるリンパ球幼若化反応の低下を認めた。そして、血中 PCB 濃度と PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の間に負の相関を認め、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の間に負の相関を認めた。さらに、血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者においては PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の低下を認め、油症患者において細胞性免疫に対する PCB および PCDF の慢性的影響が示唆された。

参 考 文 献

- 1) Masuda Y and Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzo-furans in patients with Yusho and their toxicological significance : A Review. Amer. J. Ind. Med. 5 : 31-44, 1984.
- 2) Oishi S, Morita M and Fukuda H : Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 43 : 13-22, 1978.
- 3) Gonzalez FJ, Liu SY and Yano M : Regulation of cytochrome P450 genes : molecular mechanism. Pharmacogenetics 3 : 51-57, 1993.
- 4) 飯田隆男, 芥野岑男, 高田智, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人 : ヒトの血液におけるポリ塩化ビフェニルおよびポリ塩化クアテルフェニルについて. 福岡医誌 72 : 185-191, 1981.
- 5) 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ル異性体. 福岡医誌 76 : 150-152, 1985.
- 6) 増田義人, 原口浩一, 古野純典 : 油症患者における PCB 異性体の 30 年にわたる特異な残留. 福岡医誌 94 : 136-143, 2003.
- 7) 飯田隆男, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和夫, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆 : 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001 年). 福岡医誌 94 : 126-135, 2003.
- 8) Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP and Becker JL : Endometriosis in rhesus monkeys (Macaca mulatta) following chronic exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Fundam. Appl. Toxicol. 21 : 433-441, 1993.
- 9) Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, Kitaga-

- wa 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.
- 10) 辻 博, 佐藤薫, 下野淳哉, 東晃一, 橋口衛, 藤島正敏 : 油症患者における甲状腺機能 : 油症発生 28 年後の検討. *福岡医誌* 88 : 231-235, 1997.
 - 11) 辻 博, 平橋高明, 緒方久修, 藤島正敏 : 油症患者における免疫機能の検討. *福岡医誌* 90 : 147-149, 1999.
 - 12) 辻 博 : 油症における末梢血リンパ球亜集団の検討. *福岡医誌* 100 : 131-135, 2009.
 - 13) Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G and Schlossman SF : A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic/suppressor T cell subset previously defined by a heteroantiserum treated TH2. *J. Immunol.* 124 : 1301-1307, 1980.
 - 14) Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G and Schlossman SF : Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 : 4061-4065, 1979.

(Received for publication March 17, 2011)

全国油症検診者における2,3,4,7,8-塩化ジベンゾフラン血中濃度の時間変化

九州大学病院 メディカル・インフォメーションセンター

徳 永 章 二

The Temporal Change Rate of 2,3,4,7,8-PCDF Level among Examinees of Annual Health Checkups of Yusho

Shoji TOKUNAGA

Medical Information Center, Kyushu University Hospital

Abstract

Background : Yusho is an incidence of food poisoning caused by rice bran oil in 1968. Its main causal agent is considered as 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF). The patients have been suffered by the various symptoms, and their blood concentration of PeCDF is still higher than the general population.

Objectives : The purpose of this study is to estimate the change rate of PeCDF concentration among the examinees of annual health examination of Yusho patients.

Results and conclusions : PeCDF concentration of 118 men and 140 women who received the health examination four times or more from 2001 to 2008 was statistically analyzed. The estimated annual change rate of the PeCDF concentration was low; 1.43% reduction and 1.03% increase were observed, respectively, for men and women who have low PeCDF concentration, and 3.6% and 3.7% reductions, respectively, for men and women who have high concentration of PeCDF. The reduction rate was associated with age and smoking habit in men, and drinking habit in women.

Key words : Yusho, 2,3,4,7,8 Polychlorinated dibenzofuran, Half-life, Non-linear regression model, Weighted regression

はじめに

2,3,4,7,8-塩化ジベンゾフラン (2,3,4,8,7-PCDF, 以下 PeCDF と略す) は油症の主要な原因物質と見なされている¹⁾。油症発生から約 40 年経過した時点でも油症被害者の体内には PeCDF などのダイオキシン類異性体や PCB 類が一般住民以上の血中濃度で残存している²⁾。

油症発生後の PeCDF 血中濃度の変化については関心が持たれてきたが, PeCDF 血中濃度の変化速度には様々な要因との関連が指摘されている³⁾⁴⁾。また, 血中 PeCDF 血中濃度の時間変化 (半減期) には対象者間で大きなばらつきがあることが報告されている⁵⁾。しかし, そのばらつきの一部は測定誤差や受診者の身体的要因などによるランダムな変動と考えられる。

本解析では, ダイオキシン類血中濃度が継続的に測定された全国油症検診者を対象に, その血中 PeCDF 血中濃度の時間的変化を調べた。その際に, 直線回帰への適合度で加重する事により, パラメーター推定の際にランダム変動の程度を考慮した。直線回帰に適合している事はランダム変動が小さい事と完全に一致してはいないが, 適合度による加重でランダム変動による外れ値の影響を小さくできると期待できる。その結果得られた PeCDF 濃度変化を非線形回帰モデルにより解析し, PeCDF 濃度との関連について推定した。さらに多重回帰を行うことにより, PeCDF 濃度変化速度に関わる可能性のある, 年齢, 体脂肪割合, 飲酒・喫煙習慣と PeCDF 濃度変化速度の関連も解析した。

研究方法

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⁶⁾。この検診は受診を希望する者が自発的に参加して行われる。認定された油症患者だけでなく、自らを潜在的な患者と見なす「未認定者」も受診することができる。油症検診では希望者から血液サンプルを採取し、血中ダイオキシン濃度を分析している。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⁷⁾。

本解析の対象者は認定患者、未認定者を問わず油症発生以後に出生した2001年から2008年までの全国油症検診受診者で、4回以上血中ダイオキシン類血中濃度が測定され、かつ、身長、体重、飲酒・喫煙習慣について情報が得られた者である。ただし、3名のみはPeCDF時間変動が他の対象者に比べ例外的に大きかったので、解析から除外した。

各個人のPeCDF血中濃度の時間変化は、PeCDF血中濃度対数変換値を測定年に対して直線回帰を行い、その傾きから推定した。様々な要因がダイオキシン類血中濃度の時間変化に関連している事が指摘されているので、本解析ではPeCDF血中濃度変化速度と、各個人の観察期間中の平均PeCDFレベル、年齢、体脂肪割合、喫煙習慣、飲酒習慣との関連を解析した。

各個人の観察期間中のPeCDF血中レベルは対数変換後の測定値の平均値で代表した。1回目の測定値のみを説明変数とすると、平均への回帰(regression to the mean)によりパラメーターの推定値が偏る可能性があるためである。PeCDF血中濃度の時間変化とPeCDF血中レベルとの関連を以下の非線形モデルにあてはめた。

$$y = c + a \cdot e^{b \cdot level} \dots \dots \dots \text{式1}$$

y はPeCDF血中濃度の時間変化、 $level$ は観察期間中のPeCDF血中濃度対数変換値の平均値で、観察データより係数 c 、 a 、 b が推定された。

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

$$y = c + a \cdot e^{b \cdot level} + d_1 x_1 + d_2 x_2 + d_3 x_3 + d_4 x_4 \dots \text{式2}$$

y 、 $level$ 、 c 、 a 、 b は式1と同じである。 x_1 、 x_2 、 x_3 、 x_4 は検討する各項目、 d_1 、 d_2 、 d_3 、 d_4 はそれぞれの係数である。年齢は観察中の平均値を用い、体脂肪割合の推定はGallagherらの方法により求めた⁸⁾。一度でも飲酒、または、喫煙が報告された場合に、飲酒経験、または、喫煙経験ありとし、二値変数として解析した。

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

倫理面に配慮し、データ解析は匿名化済みのデータを用いて行われた。解析用コンピュータ、及び、バックアップ用機器内のデータは暗号化され、アクセスに際してはパスワードを設定するなど、個人情報保護に厳重な配慮がなされた。

結 果

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

各対象者における平均PeCDF血中濃度とPeCDF血中濃度変化速度の関連を図2と表2に示す。PeCDF血中濃度変化速度は対象者により差異があるが、平均するとPeCDF血中濃度変化速度は僅かである。式1の c の推定値より、平均PeCDF血中濃度が低い時にPeCDF血中濃度は男性で1.43%/年の減少、女性で1.03%/年の増加とごく僅かの時間変化と推定された。

男女共に式1の a が負である事から、PeCDF血中濃度が高いほど減少速度が増す傾向が認められた。しかしながら、対象者のうち血中濃度レベル高位5%の者でも、予測された減少率の平均は、男女でそれぞれ、年3.6%、3.7%と僅かな減少であった。これは半減期に換算すると、それぞれ、

表1 患者背景

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

※中央値 (範囲) または人数 (%)

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

項	男性		女性	
	回帰係数	SE	回帰係数	SE
c	-0.006259	0.003656	0.004429	0.002587
a	-3.98×10^{-06}	0.00008	-0.000011	0.000037
b	2.854	7.471	2.523	1.181

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

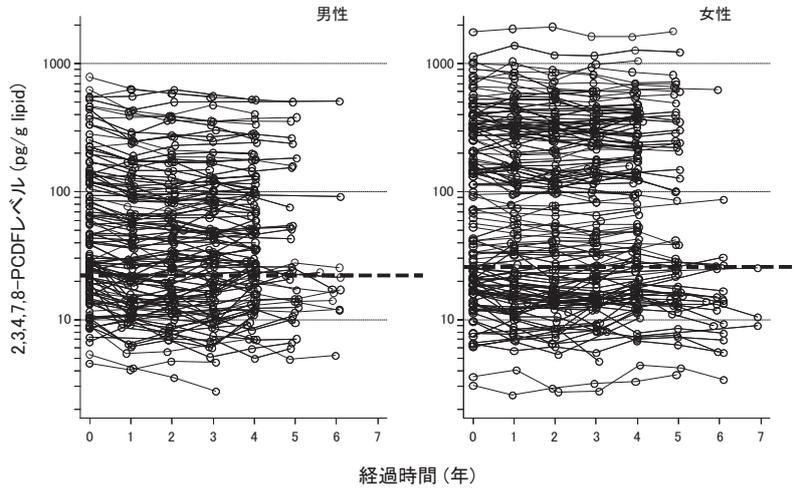


図1 2,3,4,7,8-PCDF 血中濃度の時間変化. 波線は一般住民で報告された値の最大値である.

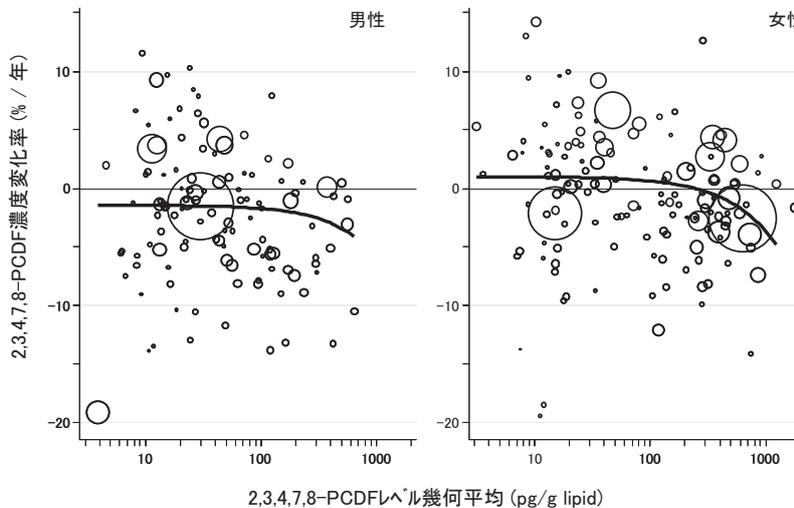


図2 2,3,4,7,8-PCDF 血中濃度の変化率と各対象者の観察期間中の幾何平均 2,3,4,7,8-PCDF 血中濃度との関連. プロット (○) の大きさは減少率一定のモデルへの適合度の高さを示す.

19年と18年に相当する。

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

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

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

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

考 察

今回の解析結果から、全国油症検診受診者において近年の血中 2,3,4,7,8-PCDF 血中濃度の減少傾向は非常に小さい事が分かった。高い血中 PeCDF 濃度の対象者は低 PeCDF 血中濃度の者より PeCDF 血中濃度の減少の程度が大きかったが、それでも年に 4% 程度の減少、半減期に換算して 18 年以上と推定された。

この推定値は、以前のいくつかの研究に比べ低い減少率である。Milbrathら(2009)はダイオキシン類レベルの体内での減少率について総説し、従来の報告では半減期が 0.23 年から 19.6 年まで分布し、大部分が 10 年未満である事を報告している⁴⁾。また、Masuda(2001)は、1982 年から 1998 年の油症患者 5 名の血液中 PeCDF の半減期は 7.7 年であったと報告している⁹⁾。

一方、近年の血中 PeCDF 濃度が比較的低下した油症検診受診者については、Matsumotoら(2009)により血中濃度の半減期が推定されている⁵⁾。彼らは 2001 年から 2006 年までの血中 PeCDF 濃度を解析し、低 PeCDF レベル (50 pg/g lipid 未満) ではほぼ一定か増加傾向、中か

ら高 PeCDF レベル (50 pg/g lipid) 以上では、半減期が 21 年から 44 年と報告している。これは年に 1.6~3.2% の減少に相当する。

徳永(2010)は異なった統計学的手法を用いて解析している¹⁰⁾。これは個々の対象者の減少速度を推定するのではなく、集団全体の減少傾向から減少速度を推定する方法(ランダム効果モデル)を用いている。男性では PeCDF レベルと年齢が減少速度に関連し、低 PeCDF レベル群では減少が見られず、それ以外の群では一部を除いて、年に 3~11% の減少が見られている。女性では PeCDF レベルと体脂肪割合により減少速度が異なり、減少が見られないか増加する群が多く、減少が見られても年に 2% 程度の減少であった。

今回の解析ではこれら従来の解析結果と同様に、近年の血中 2,3,4,7,8-PCDF 血中濃度の減少速度が非常に小さいと推定された。油症検診受診者の大部分は PeCDF 血中濃度が比較的高い油症認定患者である。推定された低い PeCDF 血中濃度の減少速度を考えると、自然経過のみによって油症認定患者の PeCDF 血中濃度が近い将来に一般住民の範囲まで低下する事は期待し難しい。今回の結果は、血中 PeCDF 血中濃度低下を促す療法の臨床試験や油症の症状緩和に関する臨床研究の重要性を示すものである。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金による。

参 考 文 献

- 1) 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.
- 2) Tokunaga S, Iida T, Furue M, on behalf of the Study Group for Yusho (Japan): The concepts of the new criteria for Yusho poisoning. J Derm Sci 1: S95-104, 2005.
- 3) Masuda Y on behalf of the Study Group for Yusho: Behavior and toxic effects of PCBs and PCDFs in Yusho patients for 35 years. J Derm Sci 1: S511-520, 2005.
- 4) Milbrath MO, Wenger Y, Chang CW, Emond C, Garabrant D, Gillespie BW and Jolliet O: Apparent half-lives of dioxins, furans, and

- polychlorinated biphenyls as a function of age, body fat, smoking status, and breast-feeding. *Environ Health Perspect* 117 : 417-425, 2009.
- 5) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Yoshimura T, Mitoma C, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. *Chemosphere* 77 : 658-662, 2009.
 - 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) Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood: improvement of analytical method. *Ind Health*. 41 : 197-204, 2003.
 - 8) Gallagher D, Steven B Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, R Murgatroyd PR Sakamoto Y : Healthy percentage body fat ranges : an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr* 72 : 694-701, 2000.
 - 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) 徳永章二. 2010 : 全国油症検診受診者における2,3,4,7,8-塩化ジベンゾフラン(PCDF)レベルの時間変化. 古江増隆, 赤峰昭文, 佐藤伸一, 山田英之, 吉村健清(編) 油症研究Ⅱ - 治療と研究の最前線 - pp. 79-88, 九州大学出版会, 福岡, 2010.

(Received for publication March 25, 2011)

血中ダイオキシン類の半減期の関係と想定される代謝機構

¹⁾ 東京大学大学院医学系研究科 社会医学専攻

²⁾ 奈良県立医科大学 健康政策医学講座

³⁾ 福岡県保健環境研究所

⁴⁾ 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

⁵⁾ 九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

松本伸哉¹⁾, 赤羽 学²⁾, 神奈川芳行¹⁾, 梶原淳睦³⁾, 戸高 尊⁴⁾, 千葉貴人⁴⁾⁵⁾,
安川史子⁴⁾⁵⁾, 内 博史⁴⁾⁵⁾, 古江増隆⁴⁾⁵⁾, 今村知明²⁾

Relationship between Half-Lives of Blood Dioxins and Possible Metabolic Mechanism

Shinya MATSUMOTO¹⁾, Manabu AKAHANE²⁾, Yoshiyuki KANAGAWA¹⁾, Junboku KAJIWARA³⁾,
Takashi TODAKA⁴⁾, Takahito CHIBA⁴⁾⁵⁾, Fumiko YASUKAWA⁴⁾⁵⁾, Hiroshi UCHI⁴⁾⁵⁾,
Masutaka FURUE⁴⁾⁵⁾ and Tomoaki IMAMURA²⁾

¹⁾ *Division of Social Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo*

²⁾ *Department of Public Health, Health Management and Policy, Nara Medical
University School of Medicine*

³⁾ *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*

⁴⁾ *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University*

⁵⁾ *Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital*

Abstract Blood levels of dioxins in Yusho patients have been measured for 10 years. The purposes of this study were to determine the half-lives of dioxins on the basis of the data obtained from Yusho patients and to compare the half-lives of the compounds. Linear regression analysis was performed using the binary logarithmic value of each dioxin level as the dependent variable and the year of measurement as the independent variable. The linear coefficient obtained from this linear regression analysis was the reciprocal number of the half-life. The relationship between the blood dioxin levels estimated in 2004 and the reciprocal number of half-life was evaluated. Of the studied dioxins, the concentrations of some compounds were strongly correlated with that of 2,3,4,7,8-PeCDF. For 2 such compounds, the correlation coefficient of the reciprocal numbers of half-life were greater than the correlation coefficient of the logarithmic values of the estimated concentrations. Of these 2 compounds, the concentration of 3,3,4,4,5,5-HxCB was at least 50 times less than that of the 2,3,4,7,8-PeCDF in rice oil; however, their current concentrations are equivalent. Patients with high levels of 2,3,4,7,8-PeCDF also showed high levels of 3,3,4,4,5,5-HxCB. Yusho patients may have a disease-specific mechanism to supply 3,3,4,4,5,5-HxCB.

Key words : Yusho, Dioxins, Half-life, 2,3,4,7,8-PeCDF, Metabolic mechanism

目 的

近年、PeCDFを含むダイオキシン類の測定技術が発達したことにより¹⁾²⁾、通常の血液検査に必要な血液量で、血中のダイオキシン類の定量が

可能となった^{3)~6)}。油症検診におけるダイオキシン類の測定開始から10年が経過し²⁾、検診結果を用いた各患者の半減期の推定が可能になった。本研究では、まず油症患者に対して測定した2,3,4,7,8-PeCDF濃度の変化を元に、2,3,4,7,

8-PeCDF の半減期を推定し⁴⁾⁵⁾、さらに他のダイオキシン類との関係を明らかにすることを目的とした。

研究方法

1. 対象データ

2001年から2008年までの油症検診において、ダイオキシン類の血中濃度を4回以上測定した患者267名を対象とした。

対象患者の内、2004年の2,3,4,7,8-PeCDF 推定濃度が50pg/g lipid以上の患者126名、50pg/g未滿の患者141名及び全体267名に対して、2,3,4,7,8-PeCDFと、以下に示すダイオキシン類間で濃度対数と半減期逆数の関係を調査した。

2,3,7,8-TCDD

1,2,3,7,8-PeCDD

1,2,3,6,7,8-HxCDD

1,2,3,6,7,8-HxCDF

1,2,3,4,6,7,8-HpCDF

3,3,4,4,5-PeCB(126)

3,3,4,4-TCB(77)

3,4,4,5-TCB(81)

3,3,4,4,5,5-HxCB(169)

2. 想定モデル

血液脂質中のダイオキシン類濃度に対して2を底とする対数に変換した値を従属変数とし、測定年を独立変数として、以下に示す関数を用いて、線形回帰分析を行った。

$$\log_2 C_{\text{year}} = a \cdot \text{year} + b$$

これによって得られた傾きの逆数が半減期を示す。例えば、傾きが-1の場合、1年で従属変数の値が1減少し、PeCDF濃度が半分になるため、半減期は1年となる。傾きが-0.1の場合は、10年で従属変数の値が1減少し、PeCDF濃度が半分になるため、半減期は10年である。

結果

1. 2,3,4,7,8-PeCDF と 2,3,7,8-TCDD の濃度及び半減期逆数の関係

図1に2,3,4,7,8-PeCDFと2,3,7,8-TCDDの濃度と半減期逆数を示す。2,3,4,7,8-PeCDFと2,3,7,8-TCDDの濃度及び半減期逆数の間に関係はみられない。PeCDF濃度が低い群におい

ては、濃度が比例するグループが存在した。

2. 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,7,8-PeCDD の濃度及び半減期逆数の関係

図2に2,3,4,7,8-PeCDFと1,2,3,7,8-PeCDDの濃度と半減期逆数を示す。濃度では強い相関がみられた。特に高濃度では、2,3,4,7,8-PeCDFと1,2,3,7,8-PeCDDの濃度及び半減期逆数の間に関係がみられた。

3. 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDD の濃度及び半減期逆数の関係

図3に2,3,4,7,8-PeCDFと1,2,3,6,7,8-HxCDDの濃度と半減期逆数を示す。半減期逆数と濃度は強い相関がみられた。半減期逆数の相関係数が高く、強い関係がみられた。

4. 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDF の濃度及び半減期逆数の関係

図4に2,3,4,7,8-PeCDFと1,2,3,6,7,8-HxCDFの濃度と半減期逆数を示す。半減期逆数と濃度は強い相関がみられた。濃度の相関係数が高く、強い関係がみられた。

5. 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF の濃度及び半減期逆数の関係

図5に2,3,4,7,8-PeCDFと1,2,3,4,6,7,8-HpCDFの濃度と半減期逆数を示す。濃度の半減期逆数に相関はみられなかった。

6. 2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4,5-PeCB (126) の濃度及び半減期逆数の関係

図6に2,3,4,7,8-PeCDFと3,3,4,4,5-PeCBの濃度と半減期逆数を示す。PeCDF濃度50未滿の半減期濃度において、強い相関がみられた。

7. 2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4-TCB (77) の濃度及び半減期逆数の関係

図7に2,3,4,7,8-PeCDFと3,3,4,4-TCBの濃度と半減期逆数を示す。濃度と半減期逆数双方において、相関がみられなかった。

8. 2,3,4,7,8-PeCDF と 3,4,4,5-TCB (81) の濃度及び半減期逆数の関係

図8に2,3,4,7,8-PeCDFと3,4,4,5-TCBの濃度と半減期逆数を示す。多くの対象者が測定限界以下であり、濃度と半減期逆数を求めることができなかった。

9. 2,3,4,7,8-PeCDFと3,3,4,4,5,5-HxCB(169)の濃度及び半減期逆数の関係

図9に2,3,4,7,8-PeCDFと3,3,4,4,5,5-HxCBの濃度と半減期逆数を示す。濃度、半減期逆数において相関がみられた。PeCDF濃度50以上の患者では、濃度よりも半減期逆数で強い相関がみられた。

10. 異性体と2,3,4,7,8-PeCDFとの半減期逆数と濃度対数の相関係数

表1に、各化合物と2,3,4,7,8-PeCDFの間の濃度と半減期逆数の相関係数を示す。2,3,4,7,8-PeCDF濃度が50pg/g lipid以上の患者では、自然暴露の影響が少なく、油症特有の状況が存在していると考えられる。50 pg/g lipid以上の患者では、1,2,3,6,7,8-HxCDDと3,3,4,4,5,5-HxCB(169)に対して、濃度よりも半減期逆数の相関係数が高かった。

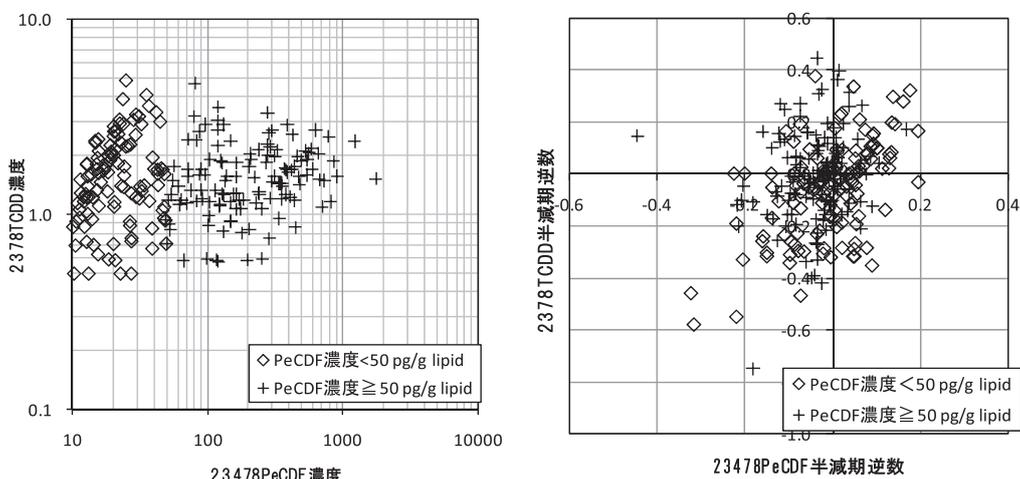


図1 2,3,4,7,8-PeCDFと2,3,7,8-TCDDの濃度及び半減期逆数の散布図

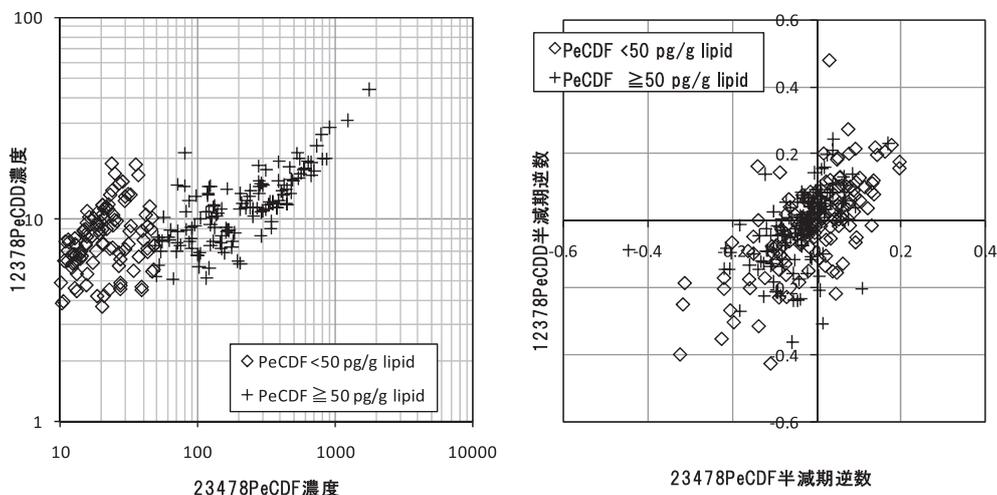


図2 2,3,4,7,8-PeCDFと1,2,3,7,8-PeCDDの濃度及び半減期逆数の散布図

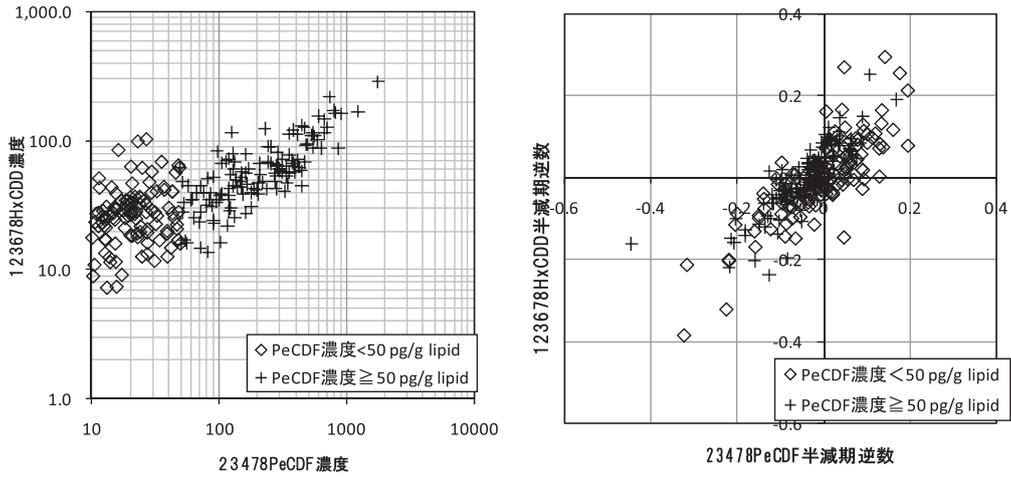


図3 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDD の濃度及び半減期逆数の散布図

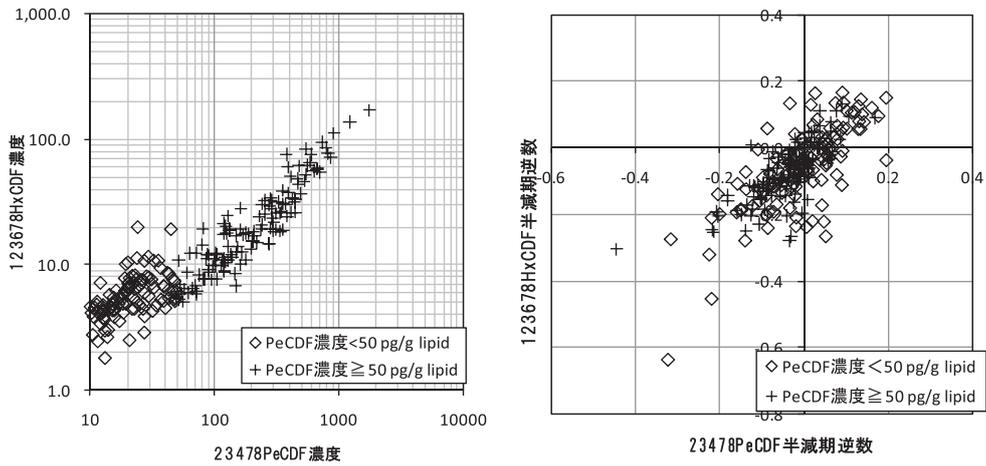


図4 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,6,7,8-HxCDF の濃度及び半減期逆数の散布図

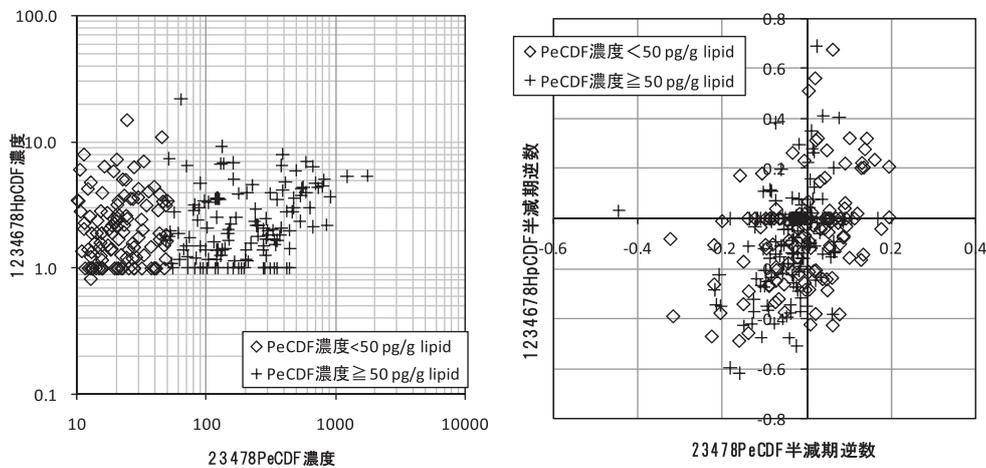


図5 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF の濃度及び半減期逆数の散布図

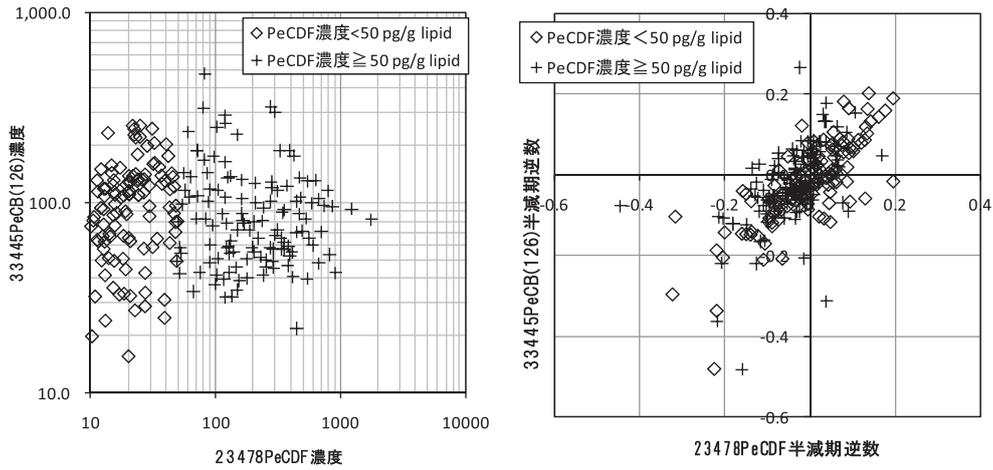


図6 2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4,5-PeCB (126) の濃度及び半減期逆数の散布図

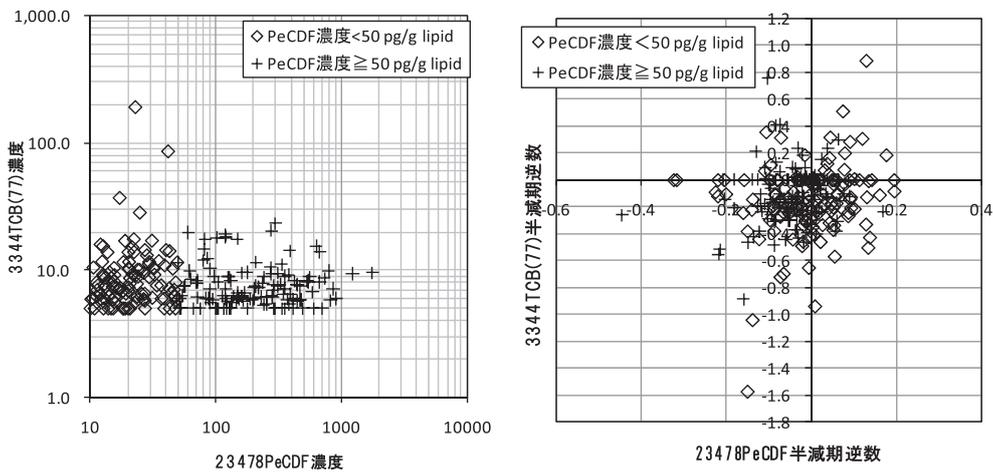


図7 2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4-TCB (77) の濃度及び半減期逆数の散布図

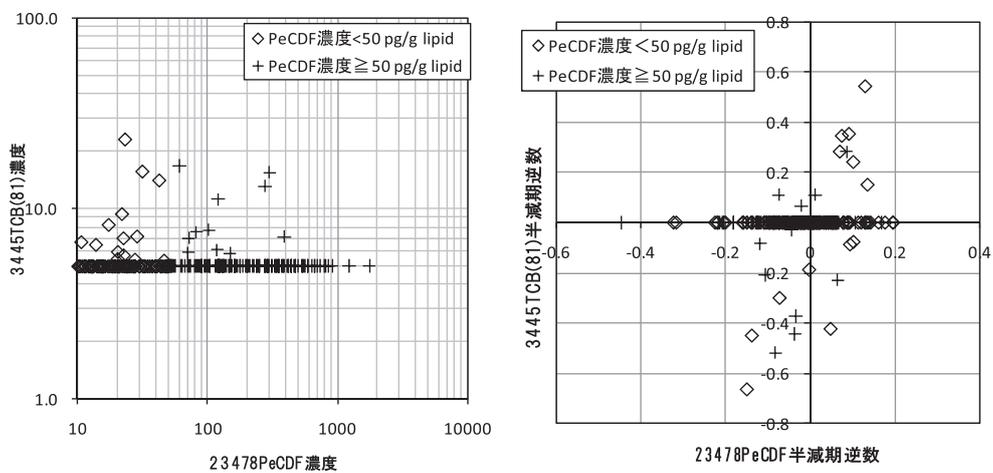


図8 2,3,4,7,8-PeCDF と 3,4,4,5-TCB (81) の濃度及び半減期逆数の散布図

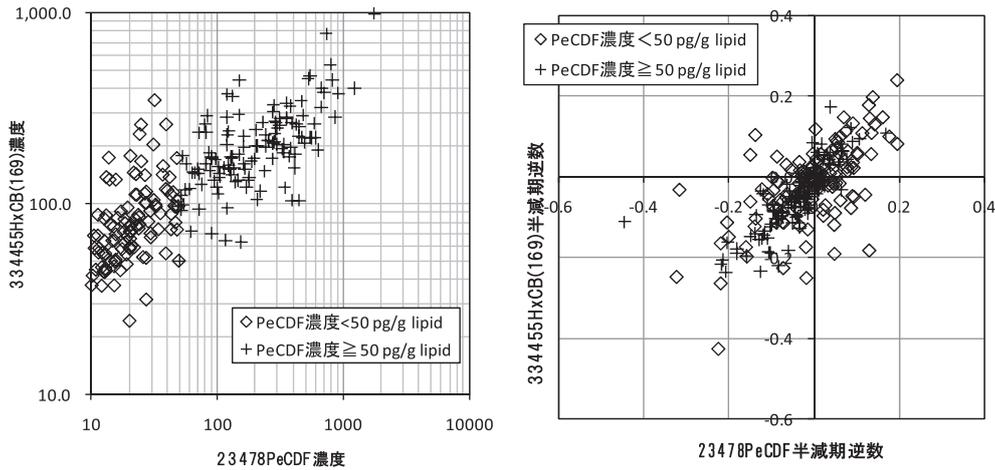


図9 2,3,4,7,8-PeCDF と 3,3,4,4,5,5-HxCB (169) の濃度及び半減期逆数の散布図

表1 異性体と PeCDF との半減期逆数と濃度対数の相関係数

	全体		50pg/g lipids 以上		50pg/g lipids 未満	
	半減期逆数	濃度対数	半減期逆数	濃度対数	半減期逆数	濃度対数
2,3,7,8-TCDD	0.323724	0.333197	0.166016	0.209353	0.491317	0.577686
1,2,3,7,8-PeCDD	0.609921	0.740159	0.484223	0.749113	0.683515	0.683347
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.801094	0.775253	0.822897	0.781942	0.814205	0.47738
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.707825	0.928768	0.751917	0.921392	0.687944	0.775899
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.354433	0.19303	0.325643	0.246103	0.362951	0.127495
3,3,4,4,5-PeCB(126)	0.645941	0.24978	0.529414	-0.111237	0.73886	0.630155
3,3,4,4-TCB(77)	0.131169	-0.011579	0.185365	-0.005612	0.124518	0.222403
3,4,4,5-TCB(81)	0.174939	0.013509	0.0682	-0.108215	0.222308	0.15803
3,3,4,4,5,5-HxCB(169)	0.687296	0.846915	0.792251	0.644195	0.619631	0.780047

考 察

半減期は濃度の変化であり、半減期と濃度の関係が存在する。二つの化合物の間で、半減期と濃度の二つの相関係数が高い場合には、化合物の間で何らかの関係がある可能性があるものと推察される。濃度と半減期逆数で関係があるため、高い相関係数を有する側が原因であることが疑われる。

今回分析した化合物の内、半減期逆数と濃度の相関係数を比較した場合、1,2,3,6,7,8-HxCDD と 3,3,4,4,5,5-HxCB (169) の二つの化合物が濃度の相関係数よりも半減期逆数の相関係数が高い値を示している。このことから、半減期が原因であり、濃度が結果である可能性が考えられる。また、半減期逆数の散布図をみると、単に比例しているだけではなく、同じ値を示しているとみることが可能である。

以上のことから、次の状況にあると考えられる。

- (1) 半減期 (逆数) が同じである
- (2) 初期の暴露量は大きな差がある。
- (3) 現在の濃度は大きな差がない。
- (4) 現在の濃度が油症患者特有で濃度として高い

油症の原因となったライスオイル中の PCDD, PCDF, PCB 異性体の濃度 (表 2) から、1,2,3,6,7,8-HxCDD と 3,3,4,4,5,5-HxCB のライスオイル中の濃度は、2,3,4,7,8-PeCDF の濃度との

表2 ライスオイル中の PCDD, PCDF, PCB 異性体の濃度 (出典：油症研究 30 年の歩み 51 ページ)

	濃度 (ppb)	TEQ (ppb)
1,2,3,6,7,8-HxCDD	40	4
2,3,4,7,8-PeCDF	1350	675
3,3,4,4,5,5-HxCB	27	0.27

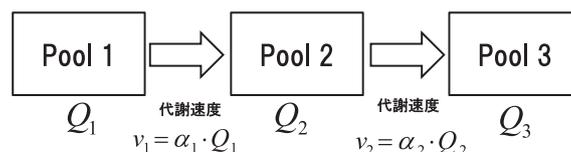
間では、33分の1、50分の1の開きが存在していた⁷⁾。これに対し、現在の濃度の比は、1,2,3,6,7,8-HxCDDは、2,3,4,7,8-PeCDFに対して、5分の1程度の濃度であった。3,3,4,4,5,5-HxCBの濃度は、2,3,4,7,8-PeCDFの濃度に対して、1倍前後でほぼ同程度の濃度であった。先に挙げた(3)の現在の濃度に大きな差がないことに対しては、3,3,4,4,5,5-HxCBの方が強く満たしていると考えられる。初期の暴露量が異なっている化合物では、半減期が同一であれば、それらの間の存在量の比は維持される。つまり、現在の存在量の比も同一になる。しかし、現在の存在量の比が同じレベルであった場合、減少割合が異なっていた時期が存在し、その後に減少割合が一致するようになったものと考えられる。つまり、初期に減少割合が異なり、その後に半減期を一致させるような機構が存在したと考えられる。その一つの可能性として、半減期を一致させる機構として、油症患者特有の3,3,4,4,5,5-HxCBの供給機構が考えられる。つまり、2,3,4,7,8-PeCDFと3,3,4,4,5,5-HxCB間に代謝上の関係がある可能性がある。

他の可能性として、ある二つの化合物間の半減期がほぼ一致している場合に、それらが非常に似た排泄メカニズムを共有している可能性が考えられる。本研究では、2,3,4,7,8-PeCDFの半減期逆数に対して、1,2,3,6,7,8-HxCDDの半減期逆数の相関係数が0.80と高かった。初期の暴露量の比が、33:1 (PeCDF:HxCDD)であったものが現在は5:1程度となっているが、これは、2,3,4,7,8-PeCDFの体内濃度が極端に高値である期間は、両化合物が拮抗し2,3,4,7,8-PeCDFが優先的に排泄メカニズムを利用して減少した結果、初期の暴露量の比が保たれず、時間経過とともに現在の濃度比になった可能性もあるかもしれない。

これと同様に、3,3,4,4,5,5-HxCBと2,3,4,7,8-PeCDFの間の半減期逆数の係数も0.69と高く、排泄メカニズムを共有している可能性は考えられるが、先に述べたように3,3,4,4,5,5-HxCBの現在の濃度は、2,3,4,7,8-PeCDFとほぼ同一のレベルであることから、3,3,4,4,5,5-HxCBに関しては、2,3,4,7,8-PeCDFとの間に代謝上の関係がある可能性の方が高いと考えられる。

図10に示すような代謝関係が存在する場合で、律速段階と次の段階で代謝速度に大きな差がない場合には、律速段階が次の段階の供給源となり、律速段階の半減期により規定される。図11は、 $a_1 = 3\%$ 、 $a_2 = 18\%$ 、初期濃度 $Pool1 = 10000$ 、 $Pool2 = 1$ の場合のシミュレーション結果を示しているが、 a_1 が a_2 よりも小さいため、前の段階が律速段階となっている。律速段階の後には、初期は濃度が低く、後段の代謝量はすくない。このため、 $Pool2$ の濃度は、濃度比が一定になるまで上昇し、その後、同じ割合で減少する。そのため、半減期が一致することになる。図12は、 $a_1 = 3\%$ 、 $a_2 = 6\%$ 、初期濃度 $Pool1 = 10000$ 、 $Pool2 = 1$ の場合のシミュレーション結果を示しているが、この場合には、同じ濃度まで上昇し、その後同じ濃度、同じ半減期で減少している。図13は $a_1 = 3\%$ 、 $a_2 = 18\%$ 、初期濃度 $Pool1=1000$ 、 $Pool2=10000$ の場合のシミュレーション結果を示しているが、初期においては、 $Pool2$ の濃度が高いが、濃度比が一定になるまで減少し、その後は、同じ半減期で減少している。このように、律速段階と比較して、その本来の半減期の差が小さい場合には、律速段階前後の物質は同様の半減期で減少する。

2,3,4,7,8-PeCDFと3,3,4,4,5,5-HxCBの関係は、同一の代謝経路上に存在する可能性があると考えられる。



$$\frac{dQ_1}{dt} = -\alpha_1 \cdot Q_1 \quad \frac{dQ_2}{dt} = \alpha_1 \cdot Q_1 - \alpha_2 \cdot Q_2 \quad \frac{dQ_3}{dt} = \alpha_2 \cdot Q_2$$

図10 連続した代謝関係

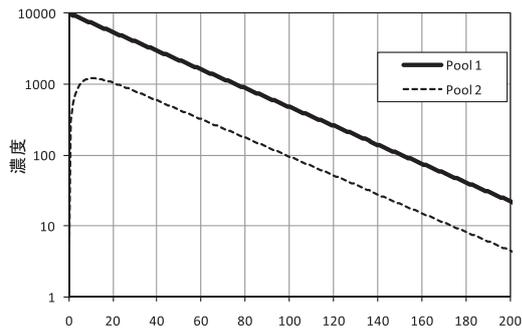


図 11 連続した代謝関係を経路におけるシミュレーション ($a_1 = 3\%$, $a_2 = 18\%$, 初期濃度 Pool1 = 10000, Pool2 = 1 の場合)

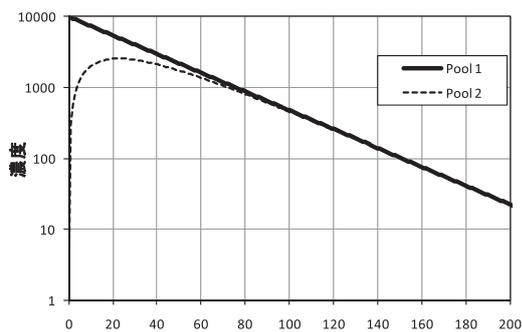


図 12 連続した代謝関係を経路におけるシミュレーション ($a_1 = 3\%$, $a_2 = 6\%$, 初期濃度 Pool1 = 10000, Pool2 = 1 の場合)

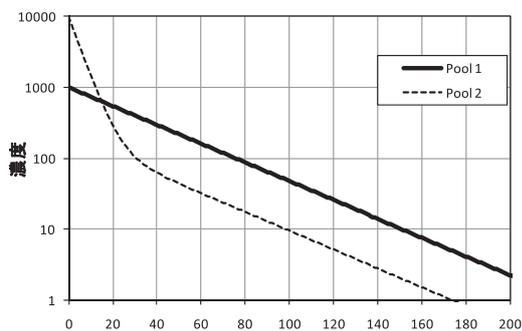


図 13 連続した代謝関係を経路におけるシミュレーション ($a_1 = 3\%$, $a_2 = 18\%$, 初期濃度 Pool1 = 1000, Pool2 = 10000 の場合)

まとめ

2,3,4,7,8-PeCDF とダイオキシン類のいくつかの異性体と、半減期が一致するという関係が見出された。半減期が一致していることは、同一の代謝機構上に存在することや、同一の代謝機構を共有していることなど、何らかの機構が介在しているものと考えられる。

本研究では、2,3,4,7,8-PeCDF と他のダイオキシン類の半減期関係を調査し、それらの関係を説明可能な機構の例を示した。しかし、単一の関係であり、提示した機構が有力な方式であると

の証拠にはならない。今後は、他のダイオキシン類同士の関係を調査し、同様の関係をみつけだし、関係のあった異性体同士の構造式を比較することにより、構造式の類似性等を見つけ出すことなどを行なう必要があると考えられる。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金によるものである。ここに記して謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 豊田正武, 内部博泰, 柳 俊彦, 河野洋一, 堀就英, 飯田隆雄: 日本における市販食品中の PCDDs, PCDFs 及び CoplanarPCBs 含有量食事系経路の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCB の摂取量, 日本食品衛生学会誌 40, 98-110, 1999.
- 2) 飯田隆雄, 戸高 尊, 平川博仙, 飛石和夫, 松枝隆彦, 堀 就英, 中川礼子, 古江増隆: 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001 年), 福岡医学雑誌 94: 126-135, 2003.
- 3) Kanagawa Y and Imamura T: Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood levels of PCDFs in patients with Yusho, J Dermatol. Sci. Suppl 1: 85-93, 2005.
- 4) Shinya Matsumoto, Manabu Akahane, Yoshiyuki Kanagawa, Soichi Koike, Takesumi Yoshimura, Chikage Mitoma, Satoko Shibata, Hiroshi Uchi, Masutaka Furue, Tomoaki Imamura: Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. Chemosphere Volume 77, Issue 5, October 2009, Pages 658-662.
- 5) 赤羽 学, 松本伸哉, 神奈川芳行, 梶原淳睦, 戸高 尊, 平川博仙, 小池創一, 古江増隆, 今村知明: 油症患者における PeCDF 半減期の推定および二つの再吸収機構を考慮した排泄シミュレーション, 福岡医学雑誌 100: 172-178, 2009.
- 6) 神奈川芳行, 松本伸哉, 赤羽学, 小池創一, 吉村健清, 内博史, 古江増隆, 今村知明: 2001 年度～2004 年度に血中 PeCDF 値を測定したカネミ油症認定患者の血液検査等の集計結果とその関係に関する研究, 福岡医学雑誌 100: 166-171, 2009.
- 7) 増田義人: 油症を起こした原因化学物質 (第 4 章). 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆 編. 油症研究 30 年の歩み, pp47-74, 九州大学出版, 福岡, 2000 年.

(Received for publication March 8, 2011)

油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と 血清 IgE 値に関する研究 第2報

¹⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

内 博 史¹⁾, 安 川 史 子¹⁾, 古 江 増 隆¹⁾²⁾

Prevalence of Atopic Dermatitis and Serum IgE of Yusho Patients Born before 1967

Hiroshi UCHI¹⁾, Fumiko YASUKAWA¹⁾ and Masutaka FURUE¹⁾²⁾

¹⁾Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka Japan

²⁾Department of Dermatology, Faculty of Medical Sciences,
Kyushu University, Fukuoka, Japan

Abstract Dioxins may have an impact on the human immunological system, which would increase the risk to develop allergic diseases, such as atopic dermatitis. In order to determine the lifetime prevalence of atopic dermatitis in Yusho patients, a questionnaire-based survey was conducted in 2008. One thousand and seventy-one out of 1430 certified yusho patients who were born before Yusho accident answered the questionnaires, and the prevalence of atopic dermatitis in Yusho patients was 5.5%. We also measured serum IgE in 515 Yusho patients who attended annual medical check-ups from 2007 to 2009 and in 172 control subjects. Serum levels of IgE in Yusho patients were 250.7 ± 663.4 IU/ml, whereas those in control subjects were 265.0 ± 602.0 IU/ml. There was no significant difference in serum levels of IgE between Yusho patients and control subjects. In addition, no significant correlation was observed between serum levels of IgE and blood levels of dioxins in Yusho patients.

Key words : Yusho, Atopic dermatitis, IgE

はじめに

油症発生から40年が経過し、発症早期に認められた典型的な皮膚科所見、眼科所見を有する患者は減少しているが、発癌性や次世代への影響など慢性毒性への懸念は依然強い。ダイオキシン類の慢性毒性の一つとして、免疫系への影響があげられ、近年のアレルギー性疾患の増加とダイオキシン類による環境汚染との関連が議論されることがある。本研究では、経口的に高濃度のダイオキシン類に暴露された油症患者における、アトピー性皮膚炎有病率および血清IgE値について調査し、血中ダイオキシン類濃度との相関について検討した。

方 法

<アンケート調査>

平成20年度に全生存油症認定患者1420名に対して厚生労働省による健康実態調査が行われた。調査への同意が得られた1331名にアンケート用紙が郵送され、1131名から回答を得た。油症発生以前に出生した1071名(平均年齢 64.3 ± 14.0)について検討を行った。アトピー性皮膚炎についてはこれまでに診断されたことがあるか、および診断された時期を尋ね、アトピー性皮膚炎の診断歴のある患者の割合を生涯有病率とした。

<非特異的IgE, 特異的IgE測定>

油症発生以前に出生し平成19年度から21年度

に油症検診を受診した認定患者の中から同意を得られた515名(平均年齢 65.5 ± 12.5)、明らかなダイオキシン曝露歴のない健常者172名(平均年齢 63.1 ± 11.8)を対象に採血を行い、血清中の非特異的IgEおよびヤケヒョウヒダニ、カンジダ、スギ、卵白特異的IgEを測定し、平均値をt検定により比較した。また血中ダイオキシン類濃度(1,2,3,4,5-PCDD, 1,2,3,6,7,8-HCDD, 1,2,3,7,8,9-HCDD, 2,3,4,6,7,8-HCDD, OCDD, 2,3,7,8-TCDF, 2,3,4,7,8-PCDF, 1,2,3,4,7,8-HCDF, 1,2,3,6,7,8-HCDF, 3,3',4,4',5-PCB, 3,3',4,4',5,5'-HCB, Total-PCDDs-TEQ, Total-PCDFs-TEQ, Total-Co-PCBs-TEQ, Total-TEQ)との相関を回帰分析により検討した。

結 果

1071名のうち男性は516名、平均年齢は 62.7 ± 13.4 歳、女性は555名、平均年齢は 65.7 ± 14.5 歳であった。1071名のうち59名(5.5%)がアトピー性皮膚炎と診断されたことがあると回答した。年齢・性別による油症患者におけるアトピー性皮膚炎生涯有病率を表1に示す。女性全体では7.0%、男性全体では3.9%、60歳未満では女性で9.6%、男性で4.9%、60歳以上で女性5.2%、男性2.9%にアトピー性皮膚炎の診断歴があった。年齢別では若年群の、性別では女性の有病率が高い傾向があった。アトピー性皮膚炎の診断歴があると回答した59名のうち3名が油症発生以前に発症、51名が油症発生以後に発症、3名が発症時期不明と回答した。

血清IgEを測定した油症患者515名のうち男性は244名(平均年齢 65.2 ± 13.0)、女性は271名(平均年齢 65.7 ± 11.9)、健常者172名のうち男性70名(平均年齢 61.5 ± 10.9)、女性102名(平均年齢 64.2 ± 12.3)。油症患者と健常者の血中ダイオキシン類濃度を表2に示す。油症患者の血中ダイオキシン類濃度は、健常者より有意に高

値であった。また油症患者では女性の血中ダイオキシン類濃度が男性より有意に高値であった。血清IgE値の比較では、表3に示すように非特異的IgE値の平均は油症患者で 250.7 ± 663.4 IU/ml、健常者で 265.0 ± 602.0 IU/mlと有意差を認めなかった。男女別、あるいは60歳未満と60歳以上での比較でも油症患者と健常者との間で有意差は認めなかった。特異的IgE値の比較でもヤケヒョウヒダニ、スギ、カンジダ、卵白いずれも油症患者と健常者の間に有意差を認めなかった。男女別、あるいは60歳未満と60歳以上での比較でも油症患者と健常者との間で有意差は認めなかったが、油症患者間での比較でスギIgEが、健常者間での比較でヤケヒョウヒダニIgE、スギIgEが60歳以上に比べて60歳未満で有意に高値であった。また油症患者、健常者とも血中ダイオキシン類濃度と血清IgE値の間に相関を認めなかった(表4)。

考 察

ダイオキシン類は生体内に長期にわたり残留するため、発癌性や次世代への影響、免疫系への影響などの慢性毒性が懸念されている。アトピー性皮膚炎の発症には、遺伝的要因と環境要因の双方が関与しているとされ、近年の発症率の増加にダイオキシン類をはじめとする環境汚染物質が関与しているとする説もあるが、未だ仮説の域を出ない。代表的なダイオキシン類である2,3,4,8-tetra-CDD (TCDD)をアトピー性皮膚炎のモデルマウスであるNC/Ngaマウスに投与すると皮膚病変が増悪したとする報告¹⁾や、TCDDがB細胞からのIgE産生を増強したとする報告²⁾がある一方、TCDDがovalbuminで感作されたNC/NgaマウスのIgE産生を抑制したとする報告³⁾や、ダイオキシン類の細胞質内受容体であるaryl hydrocarbon receptor (AhR)をナイーブT細胞に強制発現させるとTh1細胞に分化したという報告⁴⁾が

表1 油症患者のアトピー性皮膚炎生涯有病率

年齢	全体			アトピー			有病率 (%)		
	男性	女性	計	男性	女性	計	男性	女性	計
<60	243	230	473	12	22	34	4.9	9.6	7.2
>60	273	325	598	8	17	25	2.9	5.2	4.2
計	516	555	1071	20	39	59	3.9	7.0	5.5

表2 油症患者と健常者の血中ダイオキシン類濃度の比較

油症	ダイオキシン類 pg/g lipid	全体 (n=515)	男性 (n=244)	女性 (n=271)	p (男性 vs 女性)
	23478PCDF	130.9 ± 184.5	71.5 ± 96.9	184.3 ± 224.2	3.60E-13
	123478HCDF	33.9 ± 62.7	15.8 ± 24.4	50.2 ± 79.8	6.40E-11
	123678HCDF	14.4 ± 19.2	9.2 ± 9.4	19.0 ± 23.9	1.20E-09
	total PCDF TEQ	70.8 ± 100.0	38.8 ± 51.6	99.6 ± 122.0	4.80E-13
	total PCDD TEQ	17.2 ± 9.8	14.4 ± 7.2	19.6 ± 11.1	3.70E-10
	total CoPCB TEQ	11.4 ± 8.8	11.8 ± 9.9	11.1 ± 7.6	0.38
	total TEQ	99.4 ± 109.4	65.0 ± 59.7	130.3 ± 132.4	1.30E-12
健常者	ダイオキシン類 pg/g lipid	全体 (n=172)	男性 (n=70)	女性 (n=102)	P (男性 vs 女性)
	23478PCDF	17.6 ± 8.6	17.3 ± 8.7	17.7 ± 8.6	0.77
	123478HCDF	3.8 ± 2.6	3.4 ± 2.7	4.1 ± 2.6	0.13
	123678HCDF	4.6 ± 2.8	4.2 ± 2.8	4.8 ± 2.8	0.17
	total PCDF TEQ	10.0 ± 4.8	9.8 ± 4.7	10.1 ± 4.8	0.69
	total PCDD TEQ	12.7 ± 5.3	11.8 ± 4.8	13.3 ± 5.6	0.06
	total CoPCB TEQ	11.3 ± 8.1	11.0 ± 7.9	11.5 ± 8.3	0.66
	total TEQ	34.0 ± 16.3	32.5 ± 15.6	34.9 ± 16.7	0.34
p (油症 vs 健常者)	23478PCDF	1.40E-37	7.20E-16	1.30E-27	
	123478HCDF	5.60E-25	1.80E-13	1.10E-18	
	123678HCDF	1.40E-26	5.30E-12	4.30E-19	
	total PCDF TEQ	6.20E-37	6.20E-16	4.20E-17	
	total PCDD TEQ	1.50E-13	4.10E-04	2.50E-12	
	total CoPCB TEQ	0.88	0.48	0.64	
	total TEQ	1.10E-34	3.10E-13	6.80E-26	

表3 油症患者と健常者の血清 IgE 値の比較

油症		全体 (n=515)	男性 (n=244)	女性 (n=271)	p (男性 vs 女性)
	総 IgE	250.7 ± 663.4	279.8 ± 559.1	224.5 ± 745.0	0.34
	ダニ	2.0 ± 8.1	2.6 ± 9.8	1.5 ± 6.1	0.16
	スギ	3.3 ± 11.1	3.4 ± 11.6	3.4 ± 11.6	0.88
	カンジダ	0.50 ± 1.3	0.58 ± 1.8	0.42 ± 0.62	0.19
	ランパク	0.35 ± 0.06	0.34 ± 0.02	0.35 ± 0.07	0.25
健常者		全体 (n=172)	男性 (n=70)	女性 (n=102)	p (男性 vs 女性)
	総 IgE	265.0 ± 602.0	372.4 ± 799.7	191.4 ± 404.2	0.08
	ダニ	2.9 ± 8.8	3.8 ± 11.3	2.3 ± 6.6	0.31
	スギ	4.9 ± 13.3	2.7 ± 5.1	6.5 ± 16.6	0.03
	カンジダ	0.54 ± 1.1	0.67 ± 1.5	0.44 ± 0.69	0.23
	ランパク	0.35 ± 0.04	0.35 ± 0.05	0.34 ± 0.04	0.59
p (油症 vs 健常者)	総 IgE	0.79	0.55	0.58	
	ダニ	0.23	0.94	0.3	
	スギ	0.16	0.84	0.09	
	カンジダ	0.73	0.69	0.82	
	ランパク	0.92	0.34	54	

単位は総 IgE (IU/ml), 特異的 IgE (AU/ml)

表4 油症患者における各ダイオキシン類とIgE値との相関

	12378PCDD	123678HCDD	123789HCDD	1234678HCDD	OCDD
非特異的 IgE	0.09	0.06	0.04	-0.02	-0.02
ヤケヒョウヒダニ特異 IgE	-0.12	-0.02	-0.1	0.01	0.02
スギ特異 IgE	-0.07	-0.01	0.11	0.01	0.002
カンジダ特異 IgE	-0.02	-0.02	-0.06	-0.07	-0.07
卵白特異 IgE	-0.01	-0.05	0.01	0.002	0.002
	2378TCDF	23478PCDF	123478HCDF	123678HCDF	33445PCB
非特異的 IgE	0.01	0.07	0.02	0.01	0.04
ヤケヒョウヒダニ特異 IgE	-0.17	-0.07	-0.03	-0.08	-0.12
スギ特異 IgE	0.08	-0.16	-0.1	-0.07	-0.11
カンジダ特異 IgE	0.03	-0.02	-0.05	-0.04	-0.003
卵白特異 IgE	0.005	-0.01	-0.05	-0.05	-0.01
	334455HCB	total PCDDs TEQ	total PCDFs TEQ	total Coplanar PCBs TEQ	Total TEQ
非特異的 IgE	0.19	0.07	0.06	0.05	0.07
ヤケヒョウヒダニ特異 IgE	-0.12	-0.11	-0.08	-0.12	-0.12
スギ特異 IgE	-0.18	-0.06	-0.16	-0.11	-0.12
カンジダ特異 IgE	0.15	-0.04	-0.03	0.01	-0.02
卵白特異 IgE	0.06	-0.03	-0.02	-0.01	-0.02

ある。また大阪府で行われた疫学調査によると、ダイオキシンの環境への放出源とされる焼却炉からの距離と小学生のアトピー性皮膚炎有病率との間に相関を認めなかった⁵⁾。

今回の厚生労働省による全国調査では1071名の油症発生以前に出生した認定者が参加し59名(5.5%)がアトピー性皮膚炎の診断歴があると回答した。我々は以前同様のアンケート調査を行い、638名の認定者のうち56名(8.8%)がアトピー性皮膚炎と診断されたことがあると報告した⁶⁾。今回の調査では1968年以降に出生した直接汚染油を摂取していない油症患者60名は、直接摂取した患者と条件が異なると考え検討から除外した。また前回の調査に参加しなかった80代以上の認定者がより多く含まれている。この年代では一般にアトピー性皮膚炎有病者が非常に少ないため、前回調査に比べ生涯有病率が低くなったと考えられる。今回の生涯有病率調査では、1071名の油症認定患者のうち59名(5.5%)がアトピー性皮膚炎と診断されたことがあると回答した。過去に報告された日本での健常成人におけるアトピー性皮膚炎有病率調査では、アンケート調査による生涯有病率調査で平均2.9%⁷⁾、皮膚科医による検診によるもので平均6.9%⁸⁾であった。調査の方法がそれぞれ異なるため直接の比較は不可能である

が、今回の検討と大差ないと考えられる。ただし、比較的若年でダイオキシン類に曝露した60歳未満の女性群では9.6%と比較的高率であり、ダイオキシン類がアトピー性皮膚炎発症に何らかの影響を及ぼしている可能性は否定できないと思われた。一方、アレルギー性疾患で高値を示すことが多い血清IgE値は、前回少数例で測定した報告と同様、非特異的IgE、特異的IgEともに油症患者と健常者の間で有意差を認めなかった。

今回の検討では、1968年以降に出生した油症患者を除外した。これはダイオキシン類を経口的に直接摂取した場合と経胎盤的、あるいは経母乳的にダイオキシン類に曝露した場合で、生体に引き起こされる反応が異なると考えられるためである。今後油症認定の有無にかかわらず、油症患者から出生した児の検討を行うことで、さらにダイオキシン類の慢性毒性に関する知見が集積されると思われる。

結 論

ダイオキシン類を直接摂取した油症患者で、明らかにアトピー性皮膚炎有病率が増加しているというデータは得られなかった。血清IgE値と血中ダイオキシン値との相関は認められなかった。

参 考 文 献

- 1) Ito T, Inoue K, Nohara K, Tohyama C and Fujimaki H : TCDD exposure exacerbates atopic dermatitis-related inflammation in NC/Nga mice. *Toxicol Lett* 177 : 31-37, 2008.
- 2) Takenaka H, Zhang K, Diaz-Sanchez D, Tsien A and Saxon A : Enhanced human IgE production results from exposure to the aromatic hydrocarbons from diesel exhaust : direct effects on B-cell IgE production. *J Allergy Clin Immunol* 95 : 103-115, 1995.
- 3) Fujimaki H, Nohara K, Kobayashi T, Suzuki K, Eguchi-Kasai K, Tsukumo S, Kijima M and Tohyama C : Effect of a single oral dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on immune function in male NC/Nga mice. *Toxicol Sci* 66 : 117-124, 2002.
- 4) Negishi T, Kato Y, Ooneda O, Mimura J, Takada T, Mochizuki H, Yamamoto, M, Fujii-Kuriyama Y and Furusako S : Effects of aryl hydrocarbon receptor signaling on the modulation of TH1/TH2 balance. *J Immunol* 175 : 7348-7356, 2005.
- 5) Miyake Y, Yura A, Misaki H, Ikeda Y, Usui T, Iki M and Shimizu T : Relationship between distance of schools from the nearest municipal waste incineration plant and child health in Japan. *Eur J Epidemiol* 20 : 1023-1029, 2005.
- 6) 内博史, 古江増隆. 油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と血清 IgE 値に関する研究. *福岡医誌* 100 : 127-130, 2009.
- 7) Muto T, Hsieh SD, Sakurai Y, Yoshinaga H, Suto H, Okumura K and Ogawa H : Prevalence of atopic dermatitis in Japanese adults. *Br J Dermatol* 148 : 117-121, 2003.
- 8) Saeki H, Tsunemi Y, Fujita H, Kagami S, Sasaki K, Ohmatsu H, Watanabe A and Tamaki K : Prevalence of atopic dermatitis determined by clinical examination in Japanese adults. *J Dermatol* 33 : 817-819, 2006.

(Received for publication March 8, 2011)

油症認定患者における血清ケモカイン濃度に関する研究

¹⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

内 博 史¹⁾, 安 川 史 子¹⁾, 古 江 増 隆¹⁾²⁾

Chemokine Profile of Yusho Patients

Hiroshi UCHI¹⁾, Fumiko YASUKAWA¹⁾ and Masutaka FURUE¹⁾²⁾

¹⁾Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka Japan

²⁾Department of Dermatology, Faculty of Medical Sciences,
Kyushu University, Fukuoka, Japan

Abstract Dioxins may have an impact on the human immunological system, which would increase the risk to develop allergic diseases, such as atopic dermatitis. In the present study, we measured serum levels of Th1- and Th2-favored chemokines in 233 Yusho patients who attended annual medical check-ups from 2006 to 2009 and in 97 control subjects. Serum levels of CCL5, CCL17, and CCL27 in Yusho patients were significantly lower than those in control subjects. In addition, serum levels of some chemokines have weak correlations with blood levels of dioxins in either Yusho patients or control subjects.

Key words : Yusho, Dioxins, Chemokines

はじめに

ダイオキシン類の慢性毒性の一つとして免疫系への影響があげられ、近年のアレルギー性疾患の増加とダイオキシン類による環境汚染との関連が議論されることがある。本研究では、現在でも高い血中ダイオキシン類濃度を有する油症患者を対象に、Th1, Th2環境で高値を示すケモカインを中心に各種血清ケモカイン濃度を測定し、ダイオキシン類の影響について検討した。

方 法

平成18年度から21年度に福岡県油症検診を受診し、かつ1967年以前に出生した油症患者233名(女性132名, 男性101名, 平均年齢65.8 ± 13.0), 明らかなダイオキシン曝露歴のない健常者97名(女性65名, 男性32名, 平均年齢63.9 ± 11.3)について文書による同意を得て, 血清ケモカイン濃度(MCP-1/CCL2, RANTES/CCL5, TARC/CCL17, MDC/CCL22, CTACK/CCL27,

IL-8/CXCL8, Mig/CXCL9, IP10/CXCL10)をELISA法で測定し, 血中ダイオキシン類濃度(1, 2, 3, 4, 5-PCDD, 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDD, 1, 2, 3, 7, 8, 9-HCDD, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HCDD, OCDD, 2, 3, 7, 8-TCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PCDF, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF, 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF, 3, 3', 4, 4', 5-PCB, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-HCB, Total PCDDs TEQ, Total PCDFs TEQ, Total Coplanar PCBs TEQ, Total TEQ)との相関を検討した。

結 果

油症患者の血中ダイオキシン類濃度は, 健常者より有意に高値であった。また油症患者において女性の血中ダイオキシン類濃度は, 男性より有意に高値であった(表1)。血清ケモカイン濃度の比較ではCCL5, CCL17, CCL27で油症患者が健常者より有意に低値であった。(CCL5: 40803 ± 22089 pg/ml vs 59282 ± 31313 pg/ml, CCL17: 304.5 ± 205.7 pg/ml vs 384.9 ± 278.0 pg/ml, CCL27: 387.8 ± 122.6 pg/ml vs 443.1 ± 155.0

表1 油症患者と健常者の血中ダイオキシン類濃度の比較

油症	ダイオキシン類 pg/g lipid	全体 (n=233)	男性 (n=101)	女性 (n=132)	p (男性 vs 女性)
	23478PCDF	168.5 ± 249.7	78.1 ± 107.6	237.6 ± 300.8	6.80E-08
	123478HCDF	49.5 ± 87.9	20.7 ± 34.3	71.4 ± 108.0	1.10E-06
	123678HCDF	18.7 ± 25.2	10.7 ± 12.7	24.9 ± 30.2	2.50E-06
	total PCDF TEQ	91.6 ± 135.7	42.7 ± 58.2	129.0 ± 163.7	7.80E-08
	total PCDD TEQ	18.3 ± 11.5	13.0 ± 6.2	22.4 ± 12.9	8.80E-12
	total CoPCB TEQ	9.1 ± 5.7	8.2 ± 5.2	9.8 ± 6.1	0.04
	total TEQ	118.9 ± 146.9	63.9 ± 65.2	161.0 ± 175.7	2.40E-08
健常者	ダイオキシン類 pg/g lipid	全体 (n=97)	男性 (n=32)	女性 (n=65)	p (男性 vs 女性)
	23478PCDF	15.7 ± 9.1	17.3 ± 8.7	17.7 ± 8.6	0.55
	123478HCDF	4.1 ± 3.0	3.5 ± 2.3	4.3 ± 3.3	0.19
	123678HCDF	4.5 ± 2.7	4.1 ± 2.6	4.8 ± 2.8	0.23
	total PCDF TEQ	9.1 ± 5.1	8.6 ± 4.8	9.3 ± 5.2	0.5
	total PCDD TEQ	13.2 ± 6.6	12.3 ± 7.3	13.6 ± 6.3	0.4
	total CoPCB TEQ	9.2 ± 6.3	9.5 ± 7.1	9.1 ± 6.0	0.77
	total TEQ	31.5 ± 16.4	30.5 ± 17.8	32.0 ± 15.7	0.67
p (油症 vs 健常者)	23478PCDF	9.10E-18	6.20E-08	4.60E-14	
	123478HCDF	1.30E-13	2.30E-06	6.00E-10	
	123678HCDF	2.30E-15	2.70E-06	5.00E-12	
	total PCDF TEQ	1.30E-17	6.40E-08	6.40E-14	
	total PCDD TEQ	8.40E-07	0.64	1.40E-09	
	total CoPCB TEQ	0.85	0.34	0.47	
	total TEQ	8.80E-17	8.40E-06	6.50E-14	

表2 油症患者と健常者の血清ケモカイン濃度 (pg/ml) の比較

	CCL2	CCL5	CCL17	CCL22
油症	405.4 ± 493.5	40803 ± 22090	304.5 ± 205.7	685.1 ± 309.6
健常者	364.5 ± 275.2	59283 ± 31314	384.9 ± 228.0	705.9 ± 282.3
p	0.34	4.70E-7	0.012	0.55
油症女性	379.9 ± 402.7	44880 ± 24294	302.2 ± 211.5	698.6 ± 342.2
油症男性	438.8 ± 592.2	35475 ± 17558	309.3 ± 199.4	667.4 ± 261.5
p	0.73	0.001	0.85	0.63
健常者女性	357.7 ± 298.4	59470 ± 32484	352.5 ± 264.0	702.7 ± 306.2
健常者男性	378.3 ± 224.6	58902 ± 29289	450.5 ± 297.9	712.4 ± 230.6
p	0.06	0.12	0.93	0.32
	CCL27	CXCL8	CXCL9	CXCL10
油症	387.9 ± 122.6	1027.3 ± 3324.0	152.3 ± 131.9	124.6 ± 91.2
健常者	443.1 ± 155.0	554.8 ± 1111.0	159.5 ± 139.0	121.5 ± 124.1
p	0.002	0.054	0.67	0.83
油症女性	380.6 ± 123.8	1190.7 ± 4028.4	155.8 ± 117.9	133.4 ± 96.9
油症男性	397.3 ± 120.9	805.4 ± 2010.5	147.7 ± 148.6	113.1 ± 82.3
p	0.13	0.34	0.72	0.12
健常者女性	419.3 ± 129.7	460.3 ± 914.5	149.2 ± 134.2	118.1 ± 113.0
健常者男性	491.3 ± 189.9	746.7 ± 230.6	180.3 ± 148.4	128.5 ± 145.9
p	0.86	0.31	0.32	0.73

表3 各ダイオキシン類と血清ケモカイン濃度との相関

油症										
CXCL9	T Co-PCB TEQ	Total TEQ	23478PCDF	12378PCDD	33445PCB	T PCDF TEQ	T PCDD TEQ	123678HCDF		
CC	0.27	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25	0.25	0.22		
CXCL10	33445PCB									
CC	0.21									
健常者										
CCL2	334455HCB									
	0.23									
CCL5	Total TEQ	123678HCDF	T PCDD TEQ	12378PCDD	123789HCDD	T Co-PCB TEQ	33445PCB	T PCDF TEQ		
	-0.37	-0.36	-0.35	-0.34	-0.33	-0.32	-0.32	-0.31		
	123678HCDD	23478PCDF	334455HCB	123478HCDF	OCDD					
	-0.31	-0.3	-0.29	-0.28	-0.23					
CCL17	33445PCB	T Co-PCB TEQ	Total TEQ	23478PCDF	T PCDF TEQ	12378PCDD	334455HCB	T PCDD TEQ		
	-0.33	-0.33	-0.32	-0.32	-0.32	-0.26	-0.25	-0.23		
	123478HCDF	123678HCDF								
	-0.22	-0.2								
CCL22	33445PCB	T Co- PCB TEQ								
	-0.21	-0.21								
CXCL9	334455HCB	123678HCDD	T PCDD TEQ	12378PCDD	Total TEQ					
	0.32	0.26	0.25	0.25	0.22					
CXCL10	OCDD	123678HCDD	123789HCDD							
	0.26	0.26	0.22							

相関係数の絶対値が0.2以上あるものを抽出した。

pg/ml)。また性差による比較では、油症患者の CCL5 のみ男性が女性より有意に低値であった (35474 ± 17558 pg/ml vs 44879 ± 24293 pg/ml) (表2)。また各ケモカイン濃度と血中ダイオキシン類濃度、血液学的検査値、生化学的検査値との相関を検討したところ、油症患者では CXCL9、CXCL10 のみ一部のダイオキシン類と弱い正の相関を認めた。一方健常者では CCL5、CCL17、CCL22 と一部のダイオキシン類で弱い負の相関を、CCL2、CXCL9、CXCL10 と弱い正の相関を認めた (表3)。

考 察

ダイオキシン類は生体内に長期にわたり残留するため、発癌性や次世代への影響、免疫系への影響などの慢性毒性が懸念されている。アトピー性皮膚炎の発症には、遺伝的要因と環境要因の双方が関与しているとされ、近年の発症率の増加にダイオキシン類をはじめとする環境汚染物質が関与しているとする説もあるが、未だ仮説の域を出ない。ケモカインは濃度勾配によって特定の白血球

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

今回の報告では CCL5、CCL17、CCL27 の血清濃度は油症患者が健常者より有意に低値であった。また油症患者の CCL5 濃度は男性が女性より有意に低値であった。血清ケモカイン濃度とダイオキシン類濃度との相関では、健常者の CCL5 濃度が検討した全てのダイオキシン類に関する項目と弱いながらも負の相関を示した。また健常者の CCL17 濃度も多くのダイオキシン類項目と負の相関を示した。しかし油症患者の CCL5、CCL17 とダイオキシン類濃度との間に相関は認めなかった。一方、CXCL9、CXCL10 濃度は油症患者、健

常者とも一部のダイオキシン類と弱い正の相関を認めた。健常者の血中ダイオキシン類濃度は、代謝、排泄される量と食物などから摂取される量が概ね均衡していると考えられるのに対し、油症患者の血中ダイオキシン類濃度は過去の高濃度の曝露を反映していると考えられる。油症患者では、油症発症早期に一部のCCL5, CCL17産生細胞が非可逆的に障害されている可能性があると考えられる。

我々は以前油症患者と健常者との間ではIgE産生にも差が認められないことを示している⁶⁾。ダイオキシン類がアトピー性皮膚炎の発症に影響を及ぼしているという仮説を肯定するデータは今回も得られなかった。今後は、今回症例数が少ないため検討に含めなかった1968年以降に生まれた油症患者、および油症患者の児についても広く検討し、全貌の解明につなげることが望まれる。

結 論

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

参 考 文 献

- 1) Hijnen D, De Bruin-Weller M, Oosting B, Lebre C, De Jong E, Bruijnzeel-Koomen C and Knol E: Serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC) and cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK) levels in allergic diseases: TARC and CTACK are disease-specific markers for atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 113: 334-340, 2004.
- 2) Kaburagi Y, Shimada Y, Nagaoka T, Hasegawa M, Takchara M and Sat S: Enhanced production of CC-chemokines (RANTES, MCP-1, MIP-1alpha, MIP-1beta, and eotaxin) in patients with atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 293: 350-355, 2001.
- 3) Narbutt J, Lesiak A, Sysa-Jedrzejowska A, Zakrzewski M, Bogaczewicz J, Stelmach I and Kuna P: The imbalance in serum concentration of Th-1- and Th-2-derived chemokines as one of the factors involved in pathogenesis of atopic dermatitis. *Mediators Inflamm* 2009: 269541, 2009.
- 4) Rebourcet D, Odet F, Vérot A, Combe E, Meugnier E, Pesenti S, Leduque P, Déchaud H, Magre S and Le Magueresse-Battistoni B: The effects of an in utero exposure to 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin on male reproductive function: identification of Ccl5 as a potential marker. *Int J Androl* 33: 413-424, 2010.
- 5) Vogel CF, Nishimura N, Sciallo E, Wong P, Li W and Matsumura F: Modulation of the chemokines KC and MCP-1 by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in mice. *Arch Biochem Biophys* 461: 169-175, 2007.
- 6) 内博史, 古江増隆. 油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と血清IgE値に関する研究. *福岡医誌* 100: 127-130, 2009.

(Received for publication March 8, 2011)

胎児性油症原因物質の時系列的濃度変化 —PCDDs と PCDFs—

¹⁾九州大学大学院医学研究院 保健学部門 環境分子疫学研究室

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾福岡県保健環境研究所 保健科学部 生活化学科

⁴⁾福岡県保健環境研究所

長山 淳哉¹⁾, 戸高 尊²⁾, 平川 博仙³⁾,
堀 就英³⁾, 梶原 淳睦³⁾, 吉村 健清⁴⁾

Time Serial Changes in the Concentrations of the Etiological Agents of Fetal Yusho — PCDDs and PCDFs —

Junya NAGAYAMA¹⁾, Takashi TODAKA²⁾, Hironori HIRAKAWA³⁾, Tsuguhide HORI³⁾,
Jumboku KAJIWARA³⁾ and Takesumi YOSHIMURA⁴⁾

¹⁾Laboratory of Environmental Molecular Epidemiology, School of Health Sciences,
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

²⁾Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

³⁾Division of Food and Drug Hygiene, Department of Health Science,
Fukuoka Institute of Health and Environmental Science

⁴⁾Fukuoka Institute of Health and Environmental Science

Abstract We determined polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) in 6 preserved umbilical cords of fetal Yusho patients and in 11 preserved umbilical cords of Yusho suspected persons who were born to mothers with Yusho from 1970 to 2002, which were Yusho group. As a control, we also analyzed PCDFs and PCDDs in 15 preserved umbilical cords of babies who were born to healthy mothers, which was healthy group, in the same period of time. As a result, 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran and 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran, true causal agents of fetal Yusho, were only determined in the umbilical cords of fetal Yusho patients, except for one umbilical cords of Yusho suspected persons. Decreasing rate in concentrations of PCDFs and PCDDs seemed to greater in Yusho group than in healthy group during this period of time. Therefore, we considered due to high exposure to PCDFs some drug metabolizing enzymes such as aryl hydrocarbon hydroxylase were induced and the excretion of PCDFs and PCDDs were enhanced from the bodies of Yusho group. In order to clarify this hypothesis, further more detail researches are required.

Key words : Fetal Yusho, Umbilical cords, PCDDs, PCDFs

はじめに

カネミ油症（油症）の原因物質はポリ塩化ビフェニル（PCBs）と考えられていた¹⁾。しかし、その後の研究により、ポリ塩化ダイベンゾフラン（PCDFs）が原因物質であることが解明され

た^{2)~10)}。このような有害化学物質への感受性が最も高いのは発生・分化や成長の著しい受精卵から胎児の時期である。最近の研究でも、出生前、つまり胎児期にバックグラウンドレベルのポリ塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン（PCDDs）、PCDFs やダイオキシン様 PCBs に曝露すると、視床下部

一下垂体一性腺系に影響が認められている¹¹⁾。当然のことながら、胎児性油症の原因物質も PCDFs であると考えられていたが、つい最近まで、そのことを証明することができなかった。しかしながら、我々は臍帯を保存するというわが国特有の習慣により、このことを証明することができた¹²⁾。

この研究では 1972 年前後、1986 年前後と 1997 年前後に油症の母親から出生した胎児性油症患者と未認定者およびそれぞれの時期に健康な母親から出生した健常者の保存臍帯について、PCDDs と PCDFs 濃度の時系列的変遷を比較・検討することにより、胎児性油症に関わる両化学物質の残留特性を解明する。

研究方法

1. 保存臍帯に関する情報

1970 年～1973 年に油症の母親から出生した胎児性油症患者（男性 4 名と女性 2 名）および 1966 年～1975 年に健康な母親から出生した健常者（男性 2 名と女性 3 名）の保存臍帯は、それぞれの平均西暦年が 1972 年であったので、1972 年の検体とした。また、1981 年～1992 年に油症の母親から出生した未認定者（男性 4 名と女性 3 名）および 1980 年～1989 年に健康な母親から出生した健常者（男性 6 名と女性 2 名）の保存臍帯は、それぞれ平均西暦年が 1986 年であったので、1986 年の検体とした。さらに、1995 年～2002 年に油症の母親から出生した未認定者（男性 4 名）および 1993 年と 1996 年に健康な母親から出生した健常者（男性 2 名）の保存臍帯は、それぞれの平均西暦年が 1998 年と 1995 年であったので、両者を平均して 1997 年の検体とした。そして、各年代の検体について油症の母親から出生したグループを油症群とし、健康な母親から出生したグループを健常群とした。

2. PCDDs と PCDFs の測定

保存臍帯の表面に付着した汚れをアセトンで洗浄・除去後、乳鉢にて微粉とした。これに¹³C ラベル標識した 17 種類の 2,3,7,8 位塩素置換体 PCDDs と PCDFs 内部標準同族体を添加後、アセトン・ヘキサン溶媒系による高速溶媒抽出器 (ASE) により、PCDDs と PCDFs を抽出した。

この抽出物を硫酸処理後、硝酸銀シリカゲルカラムおよび活性炭カラムで精製した。活性炭カラムの第 2 画分（トルエン画分）を減圧濃縮・乾固後アセトンに溶解し、溶媒除去大量試料注入装置 (SCLV) を装着した高分解能 GC/MS により測定した¹²⁾¹³⁾。

3. 解析方法

各年代における油症群および健常群の PCDDs と PCDFs 同族体濃度の統計学的有意性は Student *t* 検定により、検討した。

研究結果および考察

Table 1 に 1966 年～1975 年、Table 2 に 1980 年～1992 年そして Table 3 には 1993 年～2002 年に出生した油症群および健常群の臍帯に残留する PCDDs と PCDFs の分析結果を示す。

Table 1 の油症群はいずれも胎児性油症患者である¹²⁾。これら 6 名の胎児性油症患者のうち 1,2,3,7,8,9-六塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン (HxCDD) が検出されたのは 1 名のみで、その濃度は 9.6 pg/g であった。OCDD は健常群でやや高濃度であった。PCDDs 濃度では両群間に有意差はなかった。PCDFs は胎児性油症患者でのみ検出され、健常者では検出されなかった。しかも胎児性油症患者の場合、極めて毒性の高い 2,3,4,7,8-五塩化ダイベンゾフラン (PenCDF) と 1,2,3,4,7,8-六塩化ダイベンゾフラン (HxCDF) が同程度の高濃度で検出された。

Table 2 は今から 19 年～31 年前に出生した未認定者と健常者の臍帯中濃度である。PCDDs の分析結果は次のようであった。7 名の未認定者のうち、1,2,3,4,6,7,8-七塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン (HpCDD) が検出されたのは 1 名のみで、その濃度は 19 pg/g であった。OCDD は未認定者 7 名中 2 名、健常者 8 名中 1 名で検出限界以下であり、健常群のほうが 2.4 倍高濃度であった。1,2,3,6,7,8-HxCDD は健常者 8 名中 1 名で検出され、その濃度は 15 pg/g である。PCDDs 濃度は健常群が油症群よりも 3.8 倍も高かった。次は PCDFs の分析結果である。PCDFs が検出されたのは健常群と油症群それぞれ 1 名ずつであった。健常群では 2,3,7,8-四塩化ダイベンゾフラン (TCDF) が検出され、その濃度は 13 pg/g であっ

た。また油症群では胎児性油症患者で最も高濃度であった 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,7,8-HxCDF がそれぞれ 13 pg/g, 9.1 pg/g 検出された。結果として、油症群が健常群よりも 2 倍高濃度となった。それにしても、Table 1 の胎児性油症患者が生まれて 10~24 年で、油症原因物質である PCDFs の未認定者での濃度の低下は相当のものである。

Table 3 は 9 年~18 年前に生まれた未認定者 4 名と健常者 2 名の臍帯中濃度である。PCDDs では未認定者の 1 人で OCDD が検出され、その濃度は 33 pg/g であった。また、健常者の 1 人でも 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と OCDD が検出され、その濃度はそれぞれ 8.2 pg/g と 17 pg/g であった。結果として、PCDDs 濃度は健常群で 13 pg/g, 油症群で 8.1 pg/g となり、健常群が 1.6 倍高かったものの、Table 1 や Table 2 の濃度と比較すると、9 分の 1 ~ 4 分の 1 に低下していた。PCDFs は両群で、いずれの同族体も検出されなかった。

次に、Table 1, Table 2 および Table 3 の分析結果を油症群と健常群について、同族体別・化学

物質別に時系列で示してみる。すなわち、Fig. 1 には、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD と PCDDs の、そして Fig. 2 には 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF と PCDFs の時系列的濃度変化が示されている。これらの図では便宜上、分析年代の変遷が各年代の平均西暦年で表示されている。

1972 年の場合、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD および PCDDs では油症群、健常群ともにほぼ同程度の濃度である。しかし、2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF および PCDFs は油症群にのみ検出されており、胎児性油症患者が胎児期にいかにも高濃度の PCDFs に曝露していたかがわかる。1986 年の場合、PCDDs とその同族体では油症群よりも健常群で高濃度となっているが、標準誤差がとても大きい。これは 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と OCDD がそれぞれ 312 pg/g, 261 pg/g と、桁違いに高濃度の健常者が 1 人いたからである。しかし、この健常者でも PCDFs は検出されなかった。2,3,7,8-TCDF が検出されたのは別の健常者であった。1,2,3,4,6,7,8-HpCDD と OCDD が高濃度であった健常者は、

Table 1 Concentrations of PCDD and PCDF congeners in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies with fetal Yusho born in 1966 to 1975

Compound	Concentration*, pg/g dry weight		B/A
	Healthy Baby (A)	Baby with Fetal Yusho (B)	
PCDDs			
2,3,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,4,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,6,7,8-	ND	9.2 ± 8.3	-
1,2,3,7,8,9-	ND	1.6 ± 3.9	-
1,2,3,4,6,7,8-	11.5 ± 8.6	16.6 ± 12.2	1.4
OCDD	106 ± 115	96.3 ± 82.4	0.9
Total	117 ± 122	124 ± 88	1.1
PCDFs			
2,3,7,8-	ND	7.3 ± 9.9	-
1,2,3,7,8-	ND	ND	-
2,3,4,7,8-	ND	27.4 ± 12.0	-
1,2,3,4,7,8-	ND	29.4 ± 13.0	-
1,2,3,6,7,8-	ND	2.2 ± 3.6	-
2,3,4,6,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8,9-	ND	ND	-
1,2,3,4,6,7,8-	ND	6.3 ± 7.2	-
1,2,3,4,7,8,9-	ND	ND	-
OCDF	ND	ND	-
Total	ND	73 ± 28	-

*: Mean ± SD

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

Table 2 Concentrations of PCDD and PCDF congeners in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies born to mothers with Yusho born in 1980 to 1992

Compound	Concentration*, pg/g dry weight		B/A
	Healthy Baby (A)	Baby born to Mother with Yusho (B)	
PCDDs			
2,3,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,4,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,6,7,8-	1.9 ± 5.3	ND	-
1,2,3,7,8,9-	ND	ND	-
1,2,3,4,6,7,8-	48.1 ± 108	2.7 ± 7.2	0.06
OCDD	70.2 ± 83.2	28.9 ± 40.1	0.41
Total	120 ± 194	31.6 ± 47.0	0.26
PCDFs			
2,3,7,8-	1.6 ± 4.5	ND	-
1,2,3,7,8-	ND	ND	-
2,3,4,7,8-	ND	1.9 ± 5.1	-
1,2,3,4,7,8-	ND	1.3 ± 3.4	-
1,2,3,6,7,8-	ND	ND	-
2,3,4,6,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8,9-	ND	ND	-
1,2,3,4,6,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,4,7,8,9-	ND	ND	-
OCDF	ND	ND	-
Total	1.6 ± 4.5	3.2 ± 8.5	2.0

*: Mean ± SD

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

Table 3 Concentrations of PCDD and PCDF congeners in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies born to mothers with Yusho born in 1993 to 2002

Compound	Concentration*, pg/g dry weight		B/A
	Healthy Baby (A)	Baby born to Mother with Yusho (B)	
PCDDs			
2,3,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,4,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,6,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8,9-	ND	ND	-
1,2,3,4,6,7,8-	4.1 ± 5.8	ND	-
OCDD	8.6 ± 12	8.1 ± 16	0.94
Total	13 ± 18	8.1 ± 16	0.62
PCDFs			
2,3,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8-	ND	ND	-
2,3,4,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,4,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,6,7,8-	ND	ND	-
2,3,4,6,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,7,8,9-	ND	ND	-
1,2,3,4,6,7,8-	ND	ND	-
1,2,3,4,7,8,9-	ND	ND	-
OCDF	ND	ND	-
Total	ND	ND	-

*: Mean ± SD

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

そのために 2,3,7,8-四塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン (TCDD) 換算 (TEQ) 濃度も高く, 4.7 pg-TEQ/g であった. 健常者の臍帯では通常 1 pg-TEQ/g 以上になることはないので, 胎児期に何か特別な曝露があった可能性が示唆される. しかし, この異常に高濃度の 1 人を除いても, 1,2,

3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD および PCDDs の濃度は健常者のほうがそれぞれ 3.9 倍, 1.5 倍, 1.7 倍高かった.

これらの図から PCDDs にしても PCDFs にしても, 油症群のほうが, 健常群よりも時系列的濃度低下が大きいように思える. このような傾向は

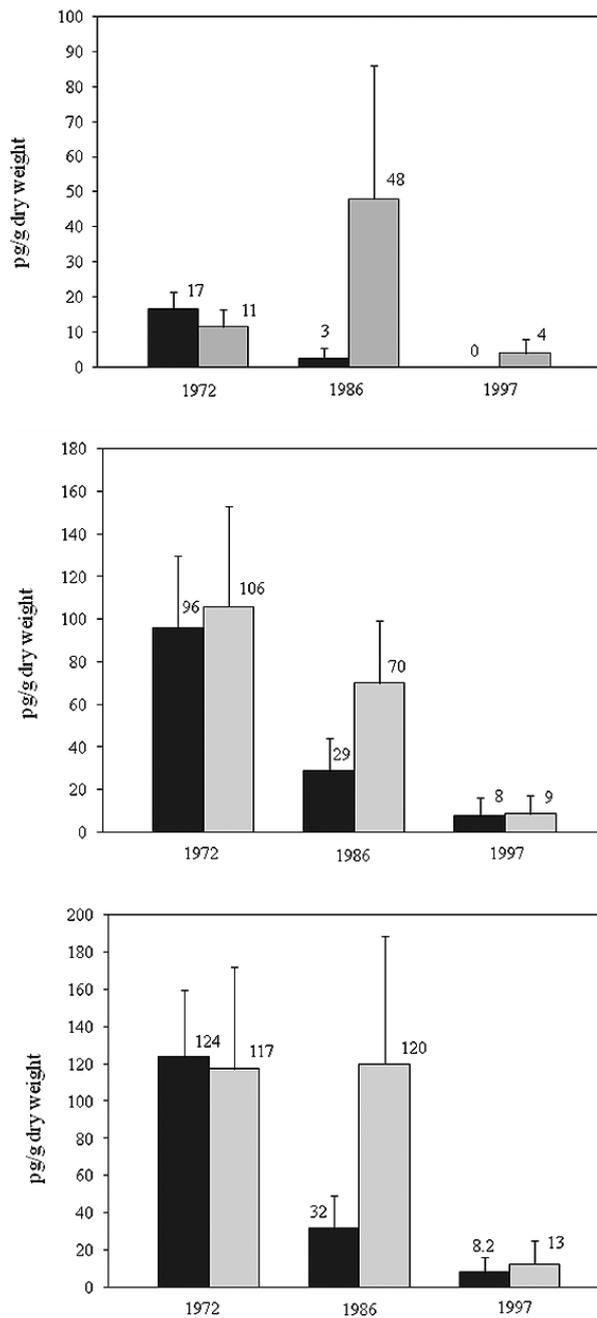


Fig. 1 Time serial changes in concentrations of 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD (upper), OCDD (middle) and PCDDs (lower).
 ■ : Yusho group, □ : Healthy group.
 Each bar indicates the mean ± SEM. 0 : Less than the detection limit of 0.02 pg/g dry weight.

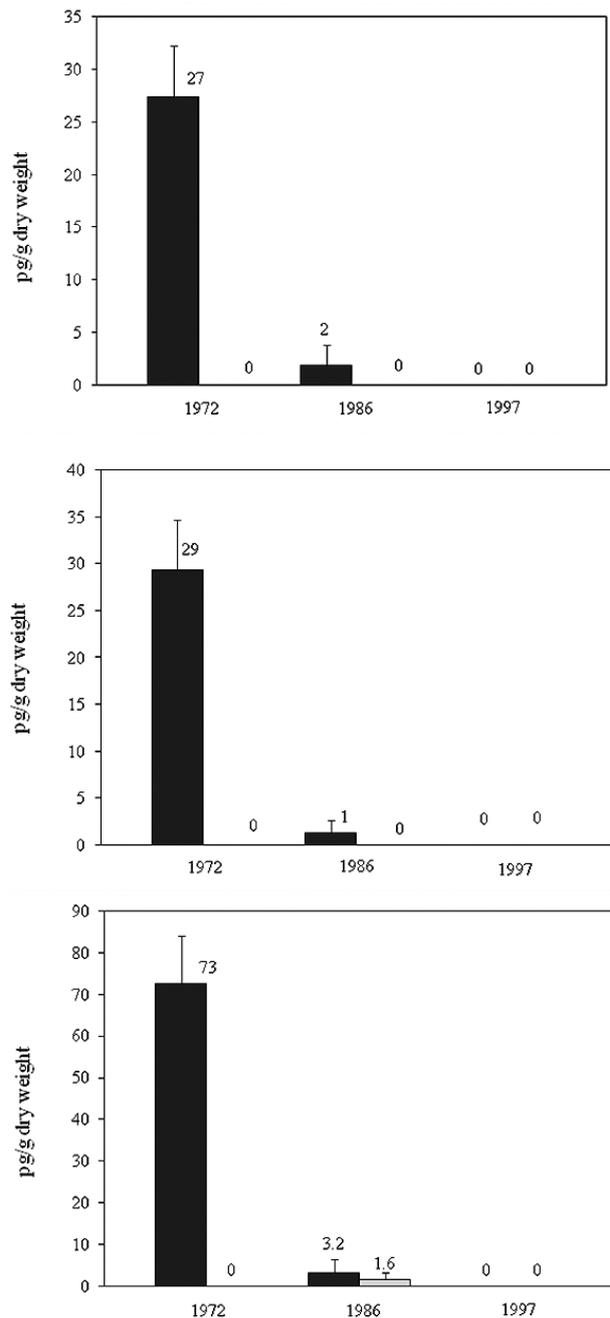


Fig. 2 Time serial changes in concentrations of 2,3,4,7,8-PenCDF (upper), 1,2,3,4,7,8-HxCDF (middle) and PCDFs (lower).
 ■ : Yusho group, □ : Healthy group.
 Each bar indicates the mean ± SEM. 0 : Less than the detection limit of 0.02 pg/g dry weight.

ダイオキシン様 PCBs と PCBs でも認められる¹⁴⁾。この原因の一つとして、母体や胎児の薬物代謝酵素活性が、高濃度の PCDFs により誘導的に高められ、有害化学物質の体外への排泄が促進された可能性がある。PCDFs は動物よりも人間の細胞で薬物代謝酵素の一つである芳香族炭化水素水酸化酵素 (AHH) 誘導活性が高い¹⁵⁾¹⁶⁾。油症の原因物質である 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,7,8-HxCDF の人リンパ球細胞での AHH 誘導活性は、ダイオキシン類の中で最高毒性を示す 2,3,7,8-TCDD のそれと同程度であり¹⁶⁾、人への毒性も極めて高い可能性がある。これらの結果を検証し、信頼性の高い結論を得るために、分析検体数を増やすなど、さらなる研究が求められる。

総 括

1966 年～2002 年、つまりこの 36 年間に油症の母親から出生した胎児性油症患者 (6 名) と未認定者 (11 名) (以上、油症群) および健康な母親から出生した健常者 (15 名) (健常群) の保存臍帯に残留する PCDDs と PCDFs 濃度を時系列的に比較・検討することにより、胎児性油症関連物質の残留特性の解明を試みた。その結果、胎児性油症の原因物質である 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,7,8-HxCDF は胎児性油症患者と未認定者の 1 人以外のいずれの臍帯からも検出されず、胎児性油症患者が胎児期にいかに高濃度の 2,3,4,7,8-PeCDF と 1,2,3,4,7,8-HxCDF に曝露していたかということが示された。また、これらの胎児性油症原因物質や PCDDs の減少率は油症群のほうが健常群よりも高く、油症群では高濃度の PCDFs により、AHH などの薬物代謝酵素活性が誘導的に高まり、これら有害化学物質の体外への排泄が促進された可能性が示唆された。

参 考 文 献

- 1) Kuratsune M, Yoshimura T, Matsuzaka J and Yamaguchi A : Epidemiological 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) 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.
- 3) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and "Yusho oil". *Bull. Environ. Contam. Toxicol. (U.S.)* 15 : 9-13, 1976.
- 4) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'Yusho'. *Food Cosmet. Toxicol.* 15 : 195-198, 1977.
- 5) Kashimoto T, Miyata H, Kunita S, Tung T-C, Hus S-T, Chang K-J, Tang S-Y et al. : Role of polychlorinated dibenzofurans in Yusho (PCB Poisoning). *Arch. Environ. Health* 36 : 321-326, 1981.
- 6) 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.
- 7) Miyata H, Fukushima S, Kashimoto T and Kunita N : PCBs, PCQs and PCDFs in tissues of Yusho and Yu-Cheng patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 67-72, 1985.
- 8) Kashimoto T, Miyata H, Fukushima S, Kunita N, Ohi G and Tung T-C : PCBs, PCQs and PCDFs in blood of Yusho and Yu-Cheng patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 73-78, 1985.
- 9) Kunita N, Hori S, Obana H, Otake T, Nishimura H, Kashimoto T and Ikegami N : Biological effect of PCBs, PCQs and PCDFs present in the oil causing Yusho and Yu-Cheng. *Environ. Health Perspect.* 59 : 79-84, 1985.
- 10) Kunita N, Kashimoto T, Miyata H, Fukushima S, Hori S and Obana H : Causal agents of Yusho. *Am. J. Ind. Med.* 5 : 45-58, 1984.
- 11) Cao O, Winneke G, Wilhelm M, Wittsiepe J, Lemm F, Furst P et al. : Environmental exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls reduce levels of gonadal hormones in newborns: results from the Duisburg cohort study. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 211 : 30-39, 2008.
- 12) Nagayama J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Yoshimura T and Furue M : Polychlorinated dibenzofurans as a causal agent of fetal Yusho. *Chemosphere* 80 : 513-518, 2010.
- 13) Nagayama J, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yoshimura T and Furue M : Evaluation on toxic contribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs determined in the preserved umbilical cords of Yusho patients. *Organohal. Comp.* 70 : 410-413, 2008.
- 14) 長山淳哉, 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 梶原淳睦,

- 吉村健清：胎児性油症関連物質の時系列的濃度変化—ダイオキシン様 PCBs と PCBs—。福岡医誌 印刷中。
- 15) Nagayama J, Kuroki H, Masuda Y, Handa S and Kuratsune M : Genetically mediated induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in mice by polychlorinated dibenzofuran isomers and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Arch. Toxicol. 56 : 226-229, 1985.
- 16) Nagayama J, Kiyohara C, Masuda Y and Kuratsune M : Genetically mediated induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in human lymphoblastoid cells by polychlorinated dibenzofuran isomers and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Arch. Toxicol. 56 : 230-235, 1985.

(Received for publication March 10, 2011)

胎児性油症関連物質の時系列的濃度変化

—ダイオキシン様 PCBs と PCBs—

¹⁾九州大学大学院医学研究院 保健学部門 環境分子疫学研究室

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾福岡県保健環境研究所 保健科学部 生活化学科

⁴⁾福岡県保健環境研究所

長山 淳哉¹⁾, 戸高 尊²⁾, 平川 博仙³⁾,
堀 就英³⁾, 梶原 淳睦³⁾, 吉村 健清⁴⁾

Time Serial Changes in the Concentrations of the Related Agents to Fetal Yusho

— Dioxin-like PCBs and PCBs —

Junya NAGAYAMA¹⁾, Takashi TODAKA²⁾, Hironori HIRAKAWA³⁾, Tsuguhide HORI³⁾,
Jumboku KAJIWARA³⁾ and Takesumi YOSHIMURA⁴⁾

¹⁾Laboratory of Environmental Molecular Epidemiology, School of Health Sciences,
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

²⁾Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

³⁾Division of Food and Drug Hygiene, Department of Health Science,
Fukuoka Institute of Health and Environmental Science

⁴⁾Fukuoka Institute of Health and Environmental Science

Abstract We determined dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) and PCBs in 6 preserved umbilical cords of fetal Yusho patients and in 11 preserved umbilical cords of Yusho suspected persons who were born to mothers with Yusho from 1970 to 2002, which were Yusho group. As a control, we also analyzed dioxin-like PCBs and PCBs in 15 preserved umbilical cords of babies who were born to healthy mothers, which was healthy group, in the same period of time. As a result, concentrations of three dioxin-like PCBs, that is, #156, #157 and #189 which were 6 to 20 times higher in fetal Yusho patients than in healthy babies were still 4 to 6 times greater in Yusho group than in healthy group about 20 years after the outbreak of Yusho, but could not recognize this characteristic anymore about 30 years after the outbreak. Decreasing rate in concentrations of dioxin-like PCBs and PCBs seemed to higher in Yusho group than in healthy group during this period of time. Therefore, we considered due to heavy exposure to PCDFs some drug metabolizing enzymes such as aryl hydrocarbon hydroxylase were induced and excretion of the related agents to fetal Yusho were enhanced from the bodies of Yusho group. In order to clarify this hypothesis, further more detail studies are needed.

Key words : Fetal Yusho, Umbilical cords, Dioxin-like PCBs, PCBs

はじめに

1968年に福岡県、長崎県を中心として西日本一帯で発生したカネミ油症（油症）中毒事件からすでに43年が経過しようとしている。当初、この中毒事件の原因物質はポリ塩化ビフェニル

(PCBs)と考えられていた¹⁾。しかし、その後の研究により、ポリ塩化ダイベンゾフラン(PCDFs)が原因物質であることが解明された^{2)~10)}。当然のことながら胎児性油症の原因物質もPCBsではなくて、PCDFsと考えられるが、つい最近まで、そのことを証明することができな

かった。ところが、わが国では出生時に臍帯を保存しておくという世界の他の国々にはない慣習がある。このわが国特有の慣習により、我々は40年前後も前に油症の母親から生まれた胎児性油症患者の臍帯の化学分析を行うことにより、胎児性油症の原因物質も PCDFs であることが証明できた¹¹⁾。油症および胎児性油症のほとんどの毒性は PCDFs によっているが、その他の毒性物質として、ポリ塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン (PCDDs)、ダイオキシン様 PCBs および PCBs の関与も考えられている。

この研究では1972年前後、1986年前後と1997年前後に油症の母親から出生した胎児性油症患者と未認定者およびそれぞれの時期に健康な母親から出生した健常者の保存臍帯について、ダイオキシン様 PCBs と PCBs 濃度の時系列的変遷を比較・検討することにより、胎児性油症に関わる両化学物質の残留特性を解明する。

研究方法

1. 保存臍帯に関する情報

1970年～1973年に油症の母親から出生した胎児性油症患者(男性4名と女性2名)および1966年～1975年に健康な母親から出生した健常者(男性2名と女性3名)の保存臍帯は、それぞれの平均西暦年が1972年であったので、1972年の検体とした。また、1981年～1992年に油症の母親から出生した未認定者(男性4名と女性3名)および1980年～1989年に健康な母親から出生した健常者(男性6名と女性2名)の保存臍帯は、それぞれ平均西暦年が1986年であったので、1986年の検体とした。さらに、1995年～2002年に油症の母親から出生した未認定者(男性4名)および1993年と1996年に健康な母親から出生した健常者(男性2名)の保存臍帯は、それぞれの平均西暦年が1998年と1995年であったので、両者を平均して1997年の検体とした。そして、各年代の検体について油症の母親から出生したグループを油症群とし、健康な母親から出生したグループを健常群とした。

2. ダイオキシン様 PCBs および PCBs の測定

保存臍帯の表面に付着した汚れをアセトンで洗浄・除去後、乳鉢にて微粉とした。これに¹³Cラ

ベル標識した12種類のダイオキシン様 PCBs 同族体および3～10塩素置換体21種類の PCBs 同族体を内部標準として添加後、アセトン・ヘキサン溶媒系による高速溶媒抽出器(ASE)により、ダイオキシン様 PCBs と PCBs を抽出した。この抽出物を硫酸処理後、硝酸銀シリカゲルカラムおよび活性炭カラムで精製した。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・乾固後アセトンに溶解し、GPC精製後溶媒除去大量試料注入装置(SCLV)を装着した高分解能GC/MSにより測定した^{11)～13)}。

3. 解析方法

各年代における油症群および健常群のダイオキシン様 PCBs 同族体と PCBs 濃度の統計学的有意性は Student *t* 検定により、検討した。

研究結果および考察

Table 1 に1966年～1975年、Table 2 に1980年～1992年そして Table 3 には1993年～2002年に出生した油症群および健常群の臍帯に残留するダイオキシン様 PCBs と PCBs の分析結果を示す。

Table 1 の油症群はいずれも胎児性油症患者である¹¹⁾。胎児性油症患者でも健常者でも、ダイオキシン様 PCBs のうち、3,3',4,4',5-五塩化ビフェニル(pentaCB)(#126)と3,3',4,4',5,5'-六塩化ビフェニル(hexaCB)(#169)は検出されなかった。胎児性油症患者のほうが、健常者よりもダイオキシン様 PCBs も PCBs も高濃度であるが、特に、2,3,3',4,4',5-hexaCB(#156)、2,3,3',4,4',5'-hexaCB(#157)および2,3,3',4,4',5,5'-七塩化ビフェニル(heptaCB)(#189)は6倍から20倍も高濃度であった。これらのダイオキシン様 PCBs は胎児性油症患者だけでなく、現在の油症患者の血中濃度でも健常者よりも5倍前後高濃度であり¹⁴⁾、油症に特徴的なダイオキシン様 PCBs と考えられる。油症患者は PCBs により1,000 ppm という高濃度に汚染されたライスオイルを多量に摂取したにもかかわらず²⁾、PCBs の濃度は健常者よりも1.9倍高いだけであった。同様の傾向は油症患者の臓器や脂肪組織でも認められており⁴⁾、摂取量が健常者よりも何百倍も多かったにもかかわらず、油症患者や胎児性油症患者の体内濃度は高くないことがここでも示された。この

ことから、多量のPCBsの場合、消化管での吸収率が極めて低下すると考えられる。

Table 2は今から19年～31年前に出生した未認定者と健常者の臍帯中濃度である。Table 1で検出されなかった#126と#169はここでも検出されていない。これらに加えて、胎児性油症患者では健常者よりも3.7倍高濃度であった3,3',4,4'-四塩化ビフェニル(tetraCB)(#77)も未認定者では検出されなかった。3,4,4',5-tetraCB(#81)は胎児性油症患者では健常者よりも2.5倍高濃度であったのに、未認定者では健常者の7分の1に低下している。それでも胎児性油症患者で極めて高濃度であった#156, #157, #189はまだ、健常者よりも4～6倍濃度が高く、ダイオキシン様PCBsへの胎児期曝露の特徴が残っている。油症中毒事件が1968年に発生後これらの未認定者は13年～24年後に生まれている。20年経って生まれても、胎児期曝露の特徴は維持されていると考えられる。PCBs濃度は両群でほぼ同程度になっており、胎児性油症患者の濃度からの減少率は健常者よりも2倍ほど高いことになる。

Table 3は9年～18年前に出生した未認定者と健常者の臍帯中濃度である。これまで検出されな

かった#126と#169に加えて、健常者では#77と#81が、そして未認定者では#81が検出されなかった。しかし、#77は未認定者の1人から検出され、その濃度は40 pg/gであった。モノオルソダイオキシン様PCBsでは、いずれの同族体でも健常者のほうが未認定者よりも10%～70%高濃度であり、Table 1やTable 2の結果から考えると、未認定者での濃度低下が極めて顕著である。しかし、PCBsについては未認定者のほうが2.4倍高濃度になっている。これは80882 pg/gと、他の3人よりも桁違いに濃度の高い未認定者がいたため、これを除いた平均濃度は3578 pg/gとなり、健常者のおよそ3分の1の濃度に低下すると、その減少率はダイオキシン様PCBsについて得られたものと矛盾しなくなる。

次に、Table 1, Table 2, Table 3の分析結果を油症群と健常群について、同族体別・化学物質別に時系列で示してみる。まず、Fig. 1に胎児性油症および油症に特徴的なダイオキシン様PCBsである#156, #157, #189の時系列的濃度変化を示す。油症群ではいずれの同族体においても、時系列的に急速に濃度が低下し、1997年には1972年の濃度の3%～15%になっている。ところが、健

Table 1 Concentrations of dioxin-like PCB congeners and PCBs in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies with fetal Yusho born in 1966 to 1975

Compound	Concentration*, pg/g dry weight		B/A
	Healthy Baby (A)	Baby with Fetal Yusho (B)	
Dioxin-like PCBs			
3,3',4,4'-(#77)	8.7 ± 19.5	32.3 ± 36.5	3.7
3,4,4',5-(#81)	197 ± 237	499 ± 490	2.5
3,3',4,4',5-(#126)	ND	ND	—
3,3',4,4',5,5'-(#169)	ND	ND	—
2,3,3',4,4'-(#105)	528 ± 357	1110 ± 722	2.1
2,3,4,4',5-(#114)	43.4 ± 24.6	161 ± 70.7 ^{b=0.006}	3.7
2,3',4,4',5-(#118)	1032 ± 611	1949 ± 1152	1.9
2',3,4,4',5-(#123)	29.3 ± 18.2	42.0 ± 30.0	1.4
2,3,3',4,4',5-(#156)	101 ± 62.2	642 ± 302 ^{b=0.005}	6.4
2,3,3',4,4',5'-(#157)	23.2 ± 13.4	344 ± 444 ^{b=0.14}	15
2,3',4,4',5,5'-(#167)	39.0 ± 28.4	103 ± 43.6 ^{b=0.02}	2.6
2,3,3',4,4',5,5'-(#189)	3.1 ± 1.8	60.6 ± 32.0 ^{b=0.007}	20
Total	2004 ± 1270	4944 ± 2710	2.5
PCBs	53176 ± 26276	100628 ± 49025 ^{b=0.09}	1.9

*: Mean ± SD

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

Table 2 Concentrations of dioxin-like PCB congeners and PCBs in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies born to mothers with Yusho born in 1980 to 1992

Compound	Concentration*, pg/g dry weight		B/A
	Healthy Baby (A)	Baby born to Mother with Yusho (B)	
Dioxin-like PCBs			
3,3',4,4'-(#77)	2.2 ± 6.3	ND	-
3,4,4',5'-(#81)	36.3 ± 103	5.5 ± 14.6	0.15
3,3',4,4',5'-(#126)	ND	ND	-
3,3',4,4',5,5'-(#169)	ND	ND	-
2,3,3',4,4'-(#105)	110 ± 111	89.2 ± 110	0.81
2,3,4,4',5'-(#114)	11.1 ± 14.4	24.3 ± 31.1	2.2
2,3',4,4',5'-(#118)	234 ± 213	301 ± 140	1.3
2',3,4,4',5'-(#123)	6.8 ± 7.8	6.8 ± 7.5	1.0
2,3,3',4,4',5'-(#156)	34.0 ± 23.0	158 ± 175 ^{b=0.11}	4.6
2,3,3',4,4',5'-(#157)	8.5 ± 7.0	49.5 ± 58.8 ^{b=0.12}	5.8
2,3',4,4',5,5'-(#167)	16.3 ± 11.5	16.7 ± 14.6	1.0
2,3,3',4,4',5,5'-(#189)	4.6 ± 1.8	19.0 ± 17.5 ^{b=0.07}	4.1
Total	463 ± 489	671 ± 620	1.4
PCBs	15571 ± 23983	14145 ± 19820	0.91

* : Mean ± SD

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

Table 3 Concentrations of dioxin-like PCB congeners and PCBs in the preserved umbilical cords of healthy babies and babies born to mothers with Yusho born in 1993 to 2002

Compound	Concentration*, pg/g dry weight		B/A
	Healthy Baby (A)	Baby born to Mother with Yusho (B)	
Dioxin-like PCBs			
3,3',4,4'-(#77)	ND	9.9 ± 20	-
3,4,4',5'-(#81)	ND	ND	-
3,3',4,4',5'-(#126)	ND	ND	-
3,3',4,4',5,5'-(#169)	ND	ND	-
2,3,3',4,4'-(#105)	56 ± 3.8	33 ± 21	0.59
2,3,4,4',5'-(#114)	10 ± 7.1	6.0 ± 6.9	0.60
2,3',4,4',5'-(#118)	170 ± 16	74 ± 55	0.44
2',3,4,4',5'-(#123)	3.4 ± 0.8	3.0 ± 2.0	0.88
2,3,3',4,4',5'-(#156)	46 ± 14	34 ± 30	0.74
2,3,3',4,4',5'-(#157)	16 ± 17	9.5 ± 11	0.59
2,3',4,4',5,5'-(#167)	20 ± 6.6	5.4 ± 2.7	0.27
2,3,3',4,4',5,5'-(#189)	14 ± 8.0	9.3 ± 11	0.66
Total	335 ± 42	184 ± 104	0.55
PCBs	9691 ± 1676	22904 ± 38726	2.4

* : Mean ± SD

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

常群ではこのような急激な濃度の低下は認められない。#156と#157では1997年の濃度のほうが1986年の時よりもやや上昇し、それぞれ1972年の濃度の46%と70%になっている。また、#189では時系列的に濃度が上昇し、1997年には1972年の濃度の4.5倍になっている。そして、Table 3で示したように、1997年にはいずれのダイオキシン様PCBsについても、健常群のほうが油症群よりも高濃度となる。

このような傾向は胎児性油症や油症に特徴的ではないダイオキシン様PCBsについても認められるのであろうか。ここで、そのようなダイオキシン様PCBsである#118、#123、#167について時系列的濃度変化をFig. 2に示す。この図から明らかかなように、油症群ではいずれのダイオキシン様PCBsもFig. 1の時と同様の急激な濃度の低下が認められ、1997年の濃度は1972年の濃度の4%~7%になっている。一方、健常群でも濃度は下がっているが、#118と#123は1972年当時のそれぞれ16%と12%に留まっており、#167では50%しか低下していない。このような傾向はFig. 3に示したダイオキシン様PCBsについても同様であり、1997年にはやはり、健常群のほうが油症群よりも1.8倍高濃度となっている。

以上のような油症群における急激な濃度低下はPCDDsとPCDFsについても認められている¹⁵⁾。この原因の一つとして、母体や胎児の薬物代謝酵素活性が、高濃度のPCDFsにより誘導的に高められ、これら有害化学物質の体外への排泄が促進された可能性がある。PCDFsは動物よりも人間の細胞で薬物代謝酵素の一つである芳香族炭化水素水酸化酵素(AHH)誘導活性が高い¹⁶⁾¹⁷⁾。油症原因物質である2,3,4,7,8-五塩化ダイベンゾフラン(PenCDF)と1,2,3,4,7,8-六塩化ダイベンゾフラン(HxCDF)の人リンパ球細胞でのAHH誘導活性はダイオキシン類の中で最高毒性を示す2,3,7,8-四塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン(TCDD)のそれと同程度であり¹⁷⁾、人への毒性も2,3,7,8-TCDD同様に極めて高い可能性がある。これらの結果を検証し、信頼性の高い結論を得るために、分析検体数を増やすなど、さらなる研究が求められている。

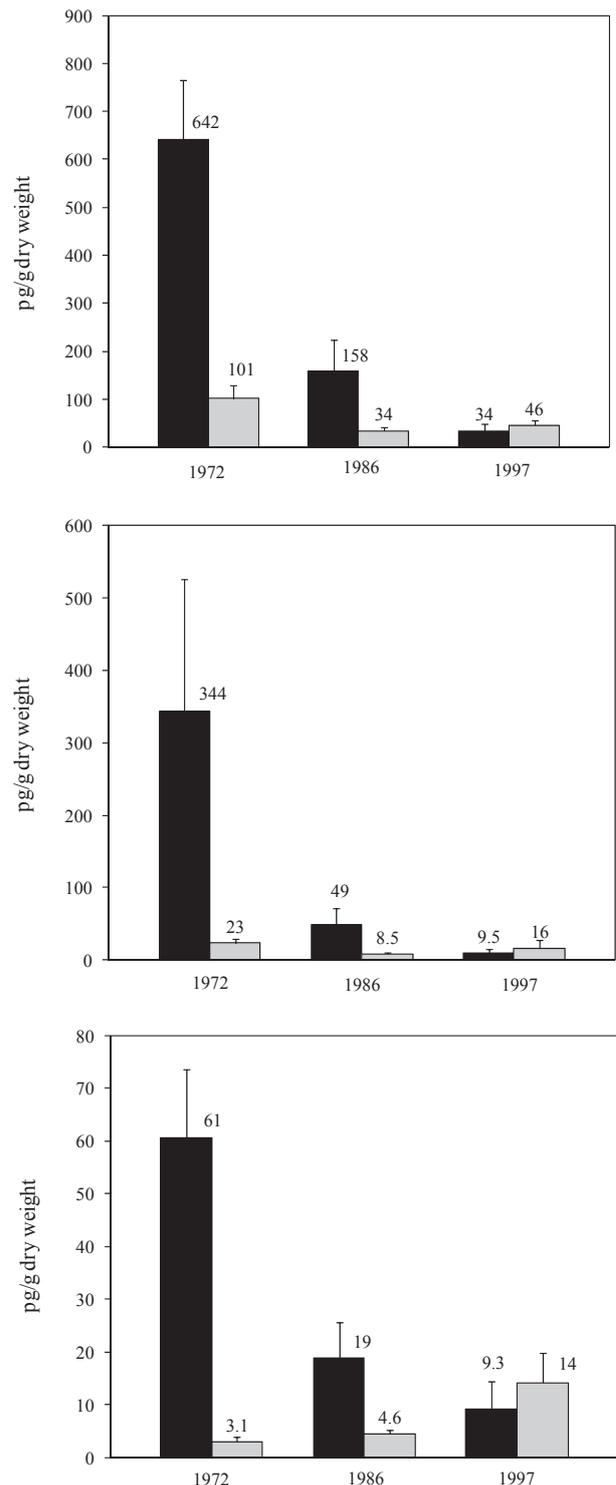


Fig. 1 Time serial changes in concentrations of 2,3,3',4,4',5-hexaCB (#156)(upper), 2,3,3',4,4',5'-hexaCB (#157)(middle) and 2,3,3',4,4',5,5'-heptaCB (#189)(lower).

■ : Yusho group, □ : Healthy group.
Each bar represents the mean \pm SEM.

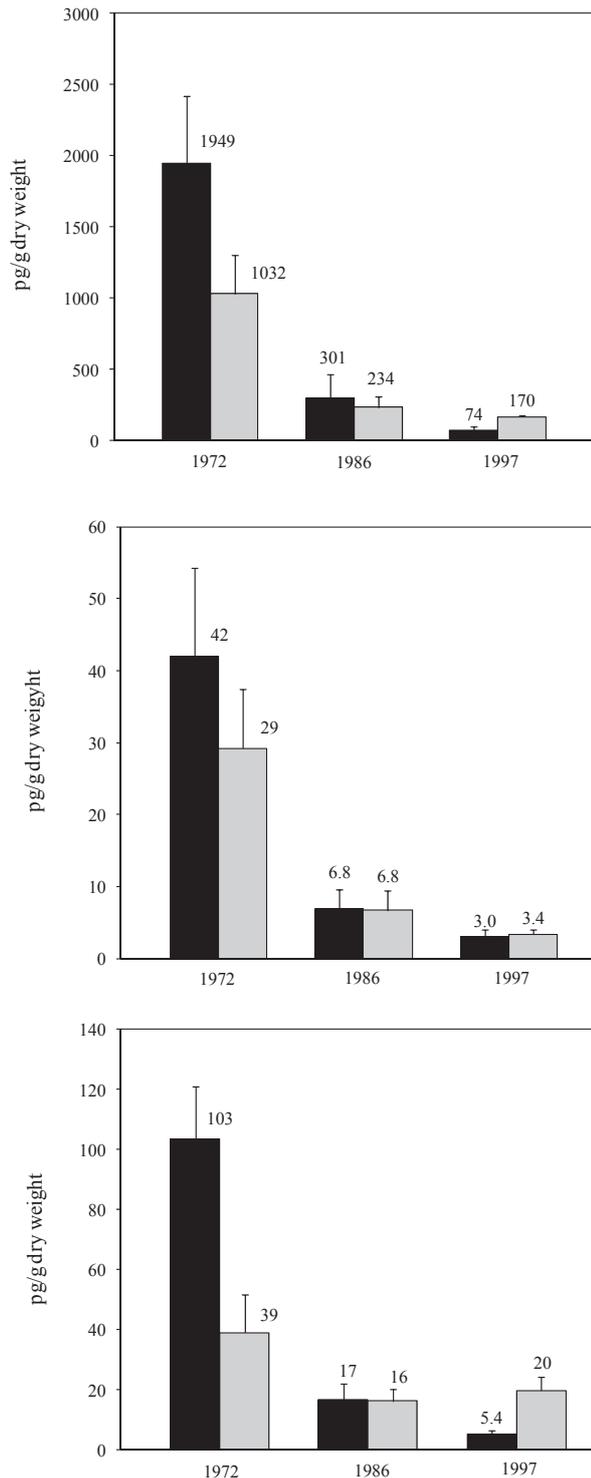


Fig. 2 Time serial changes in concentrations of 2,3',4,4',5-pentaCB (#118) (upper), 2',3,4,4',5-pentaCB (#123) (middle) and 2,3',4,4',5,5'-hexaCB (#167) (lower).
 ■ : Yusho group, □ : Healthy group.
 Each bar represents the mean ± SEM.

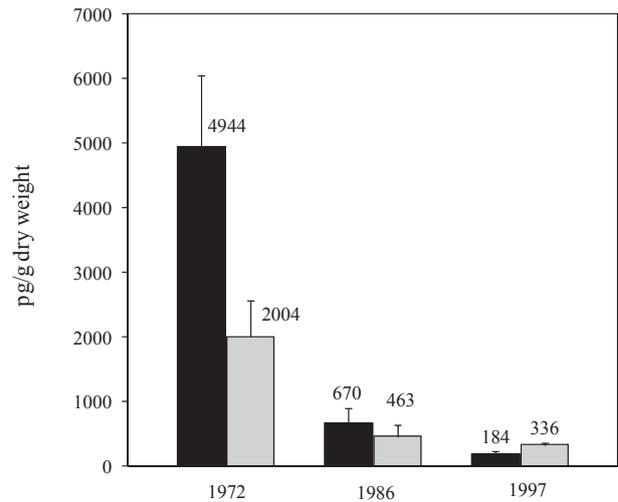


Fig. 3 Time serial changes in concentrations of dioxin-like PCBs.
 ■ : Yusho group, □ : Healthy group.
 Each bar represents the mean ± SEM.

総 括

1966年～2002年、つまりこの36年間に油症の母親から生まれた胎児性油症患者（6名）と未認定者（11名）（以上、油症群）および健康な母親から出生した健常者（15名）（健常群）の保存臍帯に残留するダイオキシン様PCBsとPCBs濃度を時系列的に比較・検討することにより、胎児性油症関連物質の残留特性の解明を試みた。その結果、胎児性油症患者で極めて高濃度であったダイオキシン様PCBs #156, #157 および #189 は事件発生後20年ではその特性が認められるが、30年には最早認められなかった。また、これらの胎児性油症関連物質の減少率は油症群のほうが健常群よりも高く、油症群では高濃度のPCDFsにより、AHHなどの薬物代謝酵素活性が誘導的に高まり、これら有害化学物質の体外への排泄が促進された可能性が示唆された。

参 考 文 献

- 1) Kuratsune M, Yoshimura T, Matsuzaka J and Yamaguchi A : Epidemiological 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) 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.
- 3) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and "Yusho oil". *Bull. Environ. Contam. Toxicol. (U.S.)* 15 : 9-13, 1976.
 - 4) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'Yusho'. *Food Cosmet. Toxicol.* 15 : 195-198, 1977.
 - 5) Kashimoto T, Miyata H, Kunita S, Tung T-C, Hus S-T, Chang K-J, Tang S-Y et al. : Role of polychlorinated dibenzofurann in Yusho (PCB Poisoning). *Arch. Environ. Health* 36 : 321-326, 1981.
 - 6) 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.
 - 7) Miyata H, Fukushima S, Kashimoto T and Kunita N : PCBs, PCQs and PCDFs in tissues of Yusho and Yu-Cheng patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 67-72, 1985.
 - 8) Kashimoto T, Miyata H, Fukushima S, Kunita N, Ohi G and Tung T-C : PCBs, PCQs and PCDFs in blood of Yusho and Yu-Cheng patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 73-78, 1985.
 - 9) Kunita N, Hori S, Obana H, Otake T, Nishimura H, Kashimoto T and Ikegami N : Biological effect of PCBs, PCQs and PCDFs present in the oil causing Yusho and Yu-Cheng. *Environ. Health Perspect.* 59 : 79-84, 1985.
 - 10) Kunita N, Kashimoto T, Miyata H, Fukushima S, Hori S and Obana H : Causal agents of Yusho. *Am. J. Ind. Med.* 5 : 45-58, 1984.
 - 11) Nagayama J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Yoshimura T and Furue M : Polychlorinated dibenzofurans as a causal agent of fetal Yusho. *Chemosphere* 80 : 513-518, 2010.
 - 12) Nagayama J, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yoshimura T and Furue M : Evaluation on toxic contribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs determined in the preserved umbilical cords of Yusho patient. *Organohalo. Comp.* 70 : 410-413, 2008.
 - 13) 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 : ゲル浸透クロマトグラフィ (GPC) 及び高分解能ガスクロマトグラフィ / 高分解能質量分析法 (HRGC/HRMS) による血中 PCB 異性体別分析. *福岡医誌* 96 : 220-226, 2005.
 - 14) 堀就英, 安武大輔, 戸高尊, 平川博仙, 井上英, 梶原淳睦, 中川礼子, 芦塚由紀, 飯田隆雄, 吉村健清 : 福岡県油症検診 (2006 年度) 受診者における血液 PCB 濃度と性状. *福岡医誌* 98 : 176-181, 2007.
 - 15) 長山淳哉, 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 梶原淳睦, 吉村健清 : 胎児性油症原因物質の時系列的濃度変化—PCDDs と PCDFs—. *福岡医誌* 印刷中.
 - 16) Nagayama J, Kuroki H, Masuda Y, Handa S and Kuratsune M : Genetically mediated induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in mice by polychlorinated dibenzofuran isomers and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Arch. Toxicol.* 56 : 226-229, 1985.
 - 17) Nagayama J, Kiyohara C, Masuda Y. and Kuratsune M : Genetically mediated induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in human lymphoblastoid cells by polychlorinated dibenzofuran isomers and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Arch. Toxicol.* 56 : 230-235, 1985.

(Received for publication March 10, 2011)

玄米発酵食品による油症原因物質の体外排泄促進

¹⁾九州大学大学院医学研究院 保健学部門 環境分子疫学研究室

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾福岡県保健環境研究所 保健科学部 生活化学科

⁴⁾北九州生活科学センター

⁵⁾北九州市立医療センター 皮膚科

⁶⁾北九州津屋崎病院 内科

⁷⁾株式会社 玄米酵素

長山 淳哉¹⁾, 戸高 尊²⁾, 平川 博仙³⁾, 梶原 淳睦³⁾, 飯田 隆雄⁴⁾,
柴田 智子⁵⁾, 辻 博⁶⁾, 岩崎 輝明⁷⁾

Promotive Excretion of Causative Agents of Yusho by Fermented Brown Rice with *Aspergillus oryze* in Yusho Patients

Junya NAGAYAMA¹⁾, Takashi TODAKA²⁾, Hironori HIRAKAWA³⁾, Jumboku KAJIWARA³⁾,
Takao IIDA⁴⁾, Satoko SHIBATA⁵⁾, Hiroshi TSUJI⁶⁾ and Teruaki IWASAKI⁷⁾

¹⁾Laboratory of Environmental Molecular Epidemiology, School of Health Sciences,
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

²⁾Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

³⁾Division of Food and Drug Hygiene, Department of Health Science,
Fukuoka Institute of Health and Environmental Science

⁴⁾Kitakyushu Life Science Center

⁵⁾Division of Dermatology, Kitakyushu Municipal Medical Center

⁶⁾Division of Internal Medicine, Kitakyushu-Tsuyazaki Hospital

⁷⁾Genmaikouso Corp.

Abstract Forty two years have passed since the outbreak of Kanemi rice oil poisoning, namely, Yusho in the western Japan. However, even now the Yusho patients have been still suffering from several objective and subjective symptoms. In order to improve or, if possible, to cure such symptoms, the most important therapeutic treatment is considered to actively excrete the causative agents, that is, polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) from the bodies of the patients and to reduce their body burdens. In rats, chlorophyll and dietary fiber have been shown to promote the fecal excretion of PCDFs and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and to reduce their levels in rats. In this study, we have examined whether such kinds of effect are also observed by fermented brown rice with *Aspergillus oryzae* (FBRA) containing 5% spirulina, which is so-called spirulina HI·GENKI, the health food and relatively rich with chlorophyll and dietary fiber, in eighteen Yusho patients. They were divided into two groups, namely group A, ten patients (3 males and 7 females) with the mean age of 67.7 years old and group B, eight patients (4 males and 4 females) with the mean age of 64.1 years old. Among the patients of group A, three patients were especially highly contaminated with PCDFs and we classified them into group A (High). Respective mean concentrations of PCDFs in the blood just before initiating this study were as follows; group A : 145 pg/g lipid, group A (High) : 371 pg/g lipid and group B : 52.1 pg/g lipid. Contamination levels of PCDFs, PCDDs and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in group A (High) were 1.7 to 2.6 times higher than those in group A and 2.4 to 7.1 times higher than those in group B. Accordingly, concentrations of dioxins (PCDFs + PCDDs + dioxin-like PCBs) in the blood of groups A, A (High) and B were, respectively, 194, 458 and 85

pg-TEQ/g lipid. Concentrations of PCBs were also the highest in group A (High) : 1399 ng/g lipid, in group A : 748 ng/g lipid and the lowest in group B : 456 ng/g lipid.

Groups A and A (High) took around 7.0 g of spirulina HI·GENKI after each meal and three times a day for the first one year and for the second one year, they did not take spirulina HI·GENKI anymore. Group B took spirulina HI·GENKI with the same manner as the group A only for the second one year. The concentrations of PCDFs, PCDDs, dioxin-like PCBs and PCBs in the blood were also measured at the end of the first and second year, respectively. Assuming the body fat is also contaminated with these compounds at their concentrations on lipid weight basis in the blood and the content of body fat is 20% of 60 kg body weight, we computed the average amounts in their net excretion from the body of the patients due to spirulina HI·GENKI in the three groups. As a result, in group A (High), 341 ng-TEQ/patient of dioxins was excreted from the body, which was 3.4 times greater than that in group A and 12 times higher than that in group B. Therefore, promotive excretions of causative agents of Yusho were the most effective in group A (High) and we consider spirulina HI·GENKI is more effective from the therapeutic point of view in more highly contaminated Yusho patients.

Key words : Promotive excretion, PCDDs, PCDFs, Fermented brown rice, Yusho

はじめに

カネミ油症（油症）中毒事件が1968年に西日本を中心として発生して以来、43年が経過しようとしている。中毒事件発生当初に油症患者に認められた激しい症状は最近ではほとんどの患者で認められなくなっているが、未だに皮膚の化膿傾向を認める患者も少なからずおり、二極化の傾向にあるとも考えられる。また、種々様々な自覚症状で苦しむ患者も少なくない。

現在でも油症患者は健常者と比較して、油症の原因物質である2,3,4,7,8-五塩化ダイベンゾフラン(2,3,4,7,8-PenCDF)とポリ塩化ダイベンゾフラン(PCDFs)の平均濃度は約10倍も高い¹⁾。したがって、油症患者の臨床症状や自覚症状を根本的に改善・治療する唯一最重要課題は油症原因物質の体内への吸収を抑制し、体外への排泄を促進し、できるかぎり体内汚染レベルを低下させることである。

動物実験により、食物繊維と葉緑素にはPCDFsおよびポリ塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン(PCDDs)の消化管での吸収と再吸収を抑制することにより、体外への排泄を促進することが認められている^{2)~7)}。これにより、体内汚染レベルが低下するとともに、特に油症原因物質として重要な2,3,4,7,8-PenCDFの生物学的半減期が2分の1以下に短縮させられた⁶⁾。このような動物実験の結果より、我々は食物繊維と葉緑素を多量に含有する玄米発酵食品ハイ・ゲンキ(スピルリナ

入)によるダイオキシン類の体外排泄促進について健常な日本人を対象とした研究結果をすでに報告している^{8)~11)}。また、実際に油症患者を対象としたハイ・ゲンキ(スピルリナ入)によるPCDFsの体外排泄促進についても発表している^{12)~14)}。しかし、前回の論文では、ダイオキシン類の毒性当量(TEQ)濃度の算出に際し、WHOが1998年に公表した2,3,7,8-四塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン(TCDD)毒性当量係数(TEF)を用いていた¹⁴⁾。今回はWHOが2005年に再評価したダイオキシン類の2,3,7,8-TCDD TEF¹⁵⁾を用いて算出したTEQ濃度による解析結果である。

研究方法

1. 玄米発酵食品ハイ・ゲンキ(スピルリナ入)

ハイ・ゲンキとは玄米に胚芽と糠を混合後、蒸したものを *Aspergillus oryzae* で発酵させた健康食品で、(株)玄米酵素(本社:札幌市)が1977年より製造・販売しており、これまでに10万人以上の人々が食している。葉緑素を含有するハイ・ゲンキ(スピルリナ入)は1984年より同社から製造・販売されている。ハイ・ゲンキ(スピルリナ入)に含有される食物繊維、葉緑素および栄養成分については前報を参照してほしい¹⁴⁾。

2. 対象者と採血

対象者と採血方法も前報同様である¹⁴⁾。最初の1年間ハイ・ゲンキ(スピルリナ入)を摂取す

る A グループは 10 名 (男性 3 名, 女性 7 名) で平均年齢が 67.7 歳であり, 次の 1 年間摂取する B グループは 8 名 (男性 4 名, 女性 4 名) で平均年齢は 64.1 歳である.

上記の両グループについて, 研究を開始する前の 2003 年 4 月, 1 人の患者につき, 1 週間以内に 2 回の採血を行った. 2003 年 5 月より A グループの患者は毎食後 3 袋 1 日 3 回ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) を摂取した. この間, B グループの患者は通常の食事を摂る. 研究開始からおよそ 1 年が経過する 2004 年 4 月, 1 人の患者につき 1 週間以内に 2 回の採血を行った. さらに, 2004 年 5 月より, 今度は B グループの患者が, 毎食後 3 袋 1 日 3 回ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) を摂取し, A グループの患者は通常の食事を摂る. 研究開始からおよそ 2 年が経過する 2005 年 4 月, 1 人の患者につき 1 週間以内に 2 回の採血を行った.

3. ダイオキシン類と PCBs の測定

血液約 5g 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 ¹³C ラベル標識した 2, 3, 7, 8 位塩素置換体 PCDDs と PCDFs 17 種類, ¹³C ラベル標識したダイオキシン様 PCBs 12 種類および 3~10 塩素置換体 PCBs 21 種類を添加後, アセトン・ヘキサン溶媒系による高速溶媒抽出器 (ASE) により, ダイオキシン類 (PCDDs + PCDFs + ダイオキシン様 PCBs) と PCBs を抽出した. この抽出物を硫酸処理後, 硝酸銀シリカゲルカラムおよび活性炭カラムで精製した. 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・乾固後アセトンに溶解し, GPC 精製後溶媒除去大量試料注入装置 (SCLV) を装着した高分解能 GC/MS により, ダイオキシン様 PCBs と PCBs を測定した¹⁶⁾. また, 活性炭カラムの第 2 画分 (トルエン画分) を減圧濃縮・乾固後アセトンに溶解し, SCLV を装着した高分解能 GC/MS により, PCDDs と PCDFs を測定した^{17)~19)}.

各時期において, 1 人につき 1 週間以内に 2 回採血した血液検体のダイオキシン類および PCBs 濃度を平均して, それぞれの時期における各患者の化学物質濃度とした.

4. 解析方法

A グループと B グループについて, それぞれ研究開始前, 研究開始 1 年後および 2 年後の血中ダイオキシン類および PCBs の濃度変化の有意性は対応のある場合の Student t 検定により, 検討した.

研究結果および考察

Fig. 1 に A グループと B グループの血中ダイオキシン類 TEQ 濃度の分布を示す. A グループでは*印の付いた 3 名の TEQ 濃度が特に高かったため, これら 3 名を A (高) グループとして, 別途解析した. また, A グループというのはこれら 3 名を含む A グループ全員の解析結果である.

Table 1 に A グループ, A (高) グループおよび B グループの血中ダイオキシン類 TEQ 濃度を示す. まず, ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) 摂取前の濃度を比較する. PCDFs については A グループは B グループよりも 2.8 倍, そして A (高) グループは A グループよりも 2.6 倍高濃度であった. このような傾向は PCDDs およびダイオキシン様 PCBs でも同様であった. その結果, Table 2 に示すように, ダイオキシン類濃度でも, A グループは B グループよりも 2.3 倍高く, A (高) グループは, A グループよりも 2.4 倍高かった. また, PCBs の場合は, A グループは B グループよりも 1.6 倍, そして A (高) グループは, A グループよりも 1.9 倍高濃度であった.

次に, Table 1 と Table 2 により, 各グループに

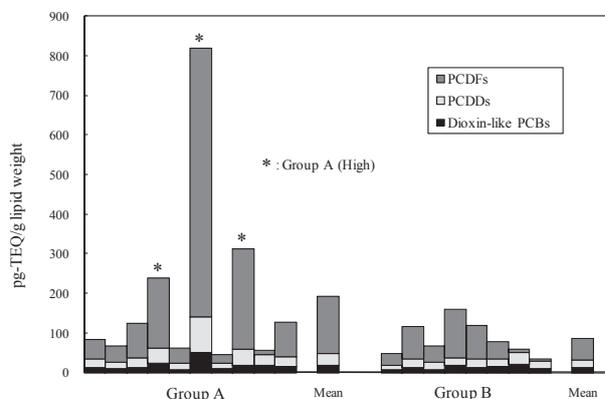


Fig. 1 Initial concentrations of dioxins (PCDFs, PCDDs and dioxin-like PCBs) in the blood of groups A and B of Yusho patients

ついて、ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）摂取の効果の評価する。たとえばAグループの場合、ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取すると、摂取前よりもPCDDsとPCDFs濃度が低下し、摂取を中止すると、より高濃度となる傾向が認められた。この傾向はA（高）グループで特に顕著であり、摂取1年後にはPCDDsとPCDFsの血中濃度が摂取前よりも有意に低下している。Bグループでは研究開始1年後のPCDDsとPCDFs濃度よりも、1年間ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取した2年後の濃度のほうが低かった。PCBsでは状況は少し相違しており、Aグループではハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取しないと、摂取後よりも血中濃度が有意に上昇している。つま

り、摂取中は血中濃度の上昇が低く抑えられていることが示唆される。このことはBグループでも認められた。

以上のように血中濃度が増えるということは、動的平衡状態にある体内濃度、ひいては体内負荷量も同様の変動をしているということである。すると、これらの脂肪重量当りの濃度で体全体に存在する脂肪が汚染されていることになる。体重を60kg、体脂肪率を20%とすると、体脂肪量は12kgになる。Table 1とTable 2の脂肪重量当りの濃度にもとづいて、体脂肪中に存在するダイオキシン類とPCBsの体内負荷量を算出すると、Table 3とTable 4のようになる。

ダイオキシン類およびPCBsの体内負荷量の変

Table 1 Effects of Spirulina HI・GENKI on changes in concentrations of PCDFs, PCDDs and dioxin-like PCBs in the blood of Yusho patients

Compound	Concentration (Mean ± SD), pg-TEQ/g lipid weight		
	Initial	End of 1st year	End of 2nd year
PCDFs			
Group : A	145 ± 203	142 ± 198	144 ± 202
A (High)	371 ± 272	356 ± 273 ^{b=0.06}	361 ± 284
B	52.1 ± 40.6	53.5 ± 41.7	53.1 ± 42.3
PCDDs			
Group : A	31.0 ± 22.8	30.5 ± 21.4	31.2 ± 22.4
A (High)	56.7 ± 28.8	53.6 ± 28.1 ^{b=0.03}	55.4 ± 29.7 ^{b=0.07}
B	19.9 ± 5.4	19.9 ± 4.3	19.7 ± 4.3
Dioxin-like PCBs			
Group : A	17.6 ± 12.2	17.9 ± 11.6	19.4 ± 13.4 ^{b=0.07}
A (High)	30.3 ± 16.7	30.0 ± 16.4	33.3 ± 18.7
B	12.7 ± 4.4	13.3 ± 3.8	13.5 ± 5.0

Table 2 Effects of Spirulina HI・GENKI on changes in concentrations of dioxins and PCBs in the blood of Yusho patients

Compound	Concentration (Mean ± SD)		
	Initial	End of 1st year	End of 2nd year
Dioxins * (pg-TEQ/g lipid weight)			
Group : A	194 ± 237	190 ± 230	195 ± 237
A (High)	458 ± 317	439 ± 317 ^{b=0.06}	449 ± 332
B	84.7 ± 42.8	86.7 ± 45.8	86.3 ± 47.1
PCBs (ng/g lipid weight)			
Group : A	748 ± 595	766 ± 578	857 ± 648 ^{b=0.006, p=0.02}
A (High)	1399 ± 779	1389 ± 778	1548 ± 826 ^{b=0.08, p=0.04}
B	456 ± 118	497 ± 98.6 ^{b=0.05}	513 ± 118 ^{b=0.006}

* : PCDFs + PCDDs + Dioxin-like PCBs

Table 3 Effects of Spirulina HI·GENKI on changes in body burdens of PCDFs, PCDDs and dioxin-like PCBs in Yusho patients

Compound	Body Burden, ng-TEQ/60kg body weight		
	Initial	End of 1st year	End of 2nd year
PCDFs			
Group : A	1739	1700	1732
A (High)	4447	4268	4329
B	625	643	637
PCDDs			
Group : A	372	366	374
A (High)	681	643	664
B	239	238	236
Dioxin-like PCBs			
Group : A	211	214	233
A (High)	363	360	400
B	152	159	162

Table 4 Effects of Spirulina HI·GENKI on changes in body burdens of dioxins and PCBs in Yusho patients

Compound	Body Burden		
	Initial	End of 1st year	End of 2nd year
Dioxins (ng-TEQ/60kg body weight)			
Group : A	2322	2281	2338
A (High)	5491	5272	5393
B	1016	1040	1036
PCBs (μg /60kg body weight)			
Group : A	8972	9192	10279
A (High)	16787	16668	18581
B	5466	5960	6162

化は当然のことながら、血中濃度での変化と同様である。これはハイ・ゲンキ（スピルリナ入）の摂取により、これらの化学物質の腸管での吸収と再吸収が抑制され、体外への排泄が促進された結果と考えられる。

各グループのPCDFs、ダイオキシン類およびPCBsの体内負荷量の変化をハイ・ゲンキ（スピルリナ入）の摂取状況と合わせて図示すると、それぞれ Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4 となる。Fig. 4 のPCBsの場合、A（高）グループではハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取すると体内負荷量が119 μg 減少するが、AグループとBグループではこの摂取により、体内負荷量の増加が低く抑えられている。A（高）グループでは摂取しないと1913 μg 増加するので、ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）の体内負荷量抑制効果は全体として2032 μg とい

うことになり、AグループおよびBグループの867 μg と292 μg よりも、それぞれ2.3倍、7.0倍大きいことになる。Fig. 2とFig. 3のPCDFsとダイオキシン類でもハイ・ゲンキ（スピルリナ入）の体内負荷量抑制効果はA（高）グループで際立っている。たとえばPCDFsの場合、239 ng-TEQであるのに対し、Aグループでは69.8 ng-TEQ、Bグループでは22.6 ng-TEQで、A（高）グループの方がそれぞれ3.4倍、10.6倍高い効果が認められる。ダイオキシン類ではA（高）グループが341 ng-TEQ、Aグループが99.1 ng-TEQ、Bグループが28.5 ng-TEQだから、A（高）グループが他のグループよりもそれぞれ3.4倍、12.0倍効果的であった。

この治療研究で、油症患者が摂取した葉緑素と食物繊維の量はPCDFsとPCDDsの再吸収抑制

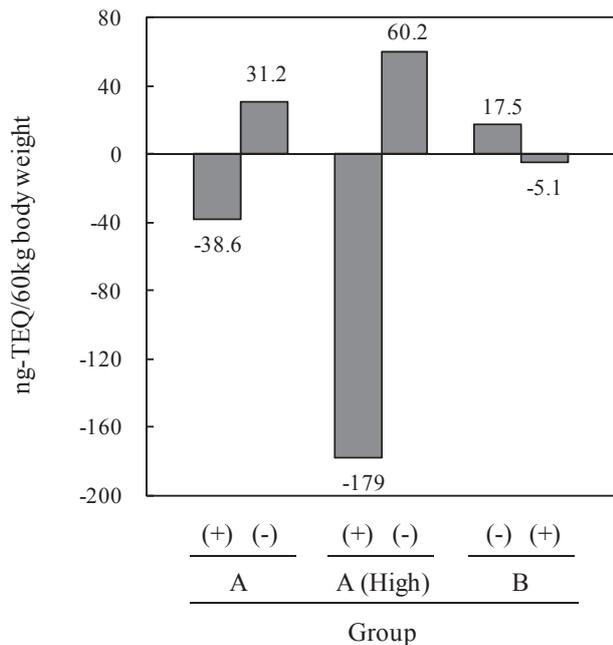


Fig. 2 Effects of Spirulina HI·GENKI ((+) : intake, (-) : non-intake) on changes of the body burdens of PCDFs in Yusho patients

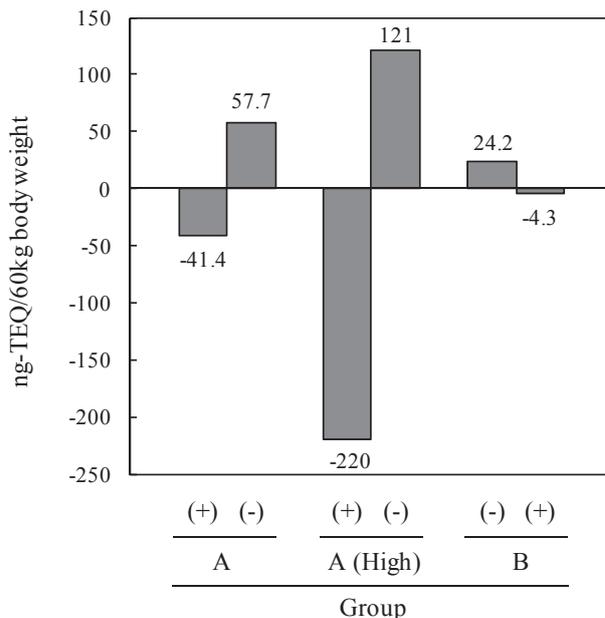


Fig. 3 Effects of Spirulina HI·GENKI ((+) : intake, (-) : non-intake) on changes of the body burdens of dioxins in Yusho patients

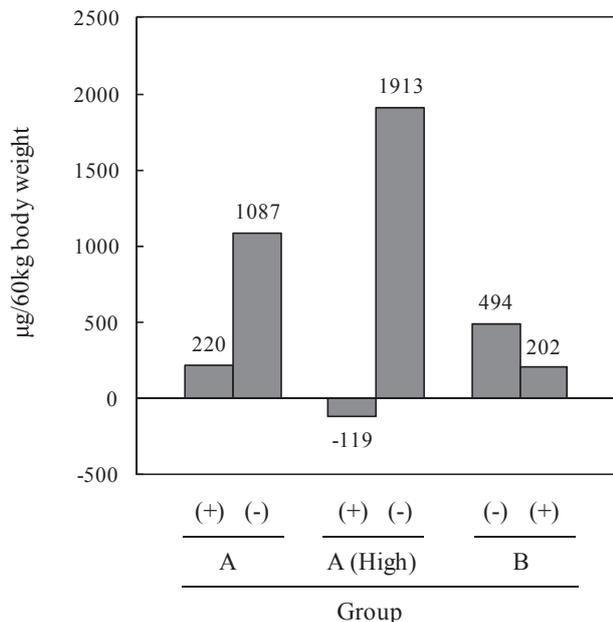


Fig. 4 Effects of Spirulina HI·GENKI ((+) : intake, (-) : non-intake) on changes of the body burdens of PCBs in Yusho patients

濃度で汚染されている患者ほどその効果が大きかったため、そのような患者へはより効果的な治療になるであろう。

総 括

油症中毒事件発生から43年が経過しようとしているが、油症患者は現在でも種々様々な臨床症状と自覚症状に苦しんでいる。その根本的な治療には原因物質であるPCDFs等を積極的に体外へ排泄し、体内レベルを低下させることが最も重要である。これまで我々は食物繊維と葉緑素を比較的多量に含む健康食品ハイ・ゲンキ(スピルリナ入)が健常者や油症患者からPCDFsやPCDDsを積極的に体外へ排泄することを報告してきた。今回の研究では油症患者の中でもPCDFsにより特に高濃度に汚染されている患者に対して、その排泄効果が顕著であることが認められ、そのような患者への治療により効果的であると考えられた。

参 考 文 献

1) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimura T and Furue M : Dioxin concentration in the blood of patients collected during medical check-up for

効果を示した動物実験で、動物の体重を60kgと仮定すると、その時のそれらの最少摂取量よりもやや多い¹⁴⁾。ということで、油症患者でもダイオキシン類の吸収と再吸収の抑制による体外への排泄促進に効果があったと考えられる。しかも、高

- Yusho in 2004-2005. *Fukuoka Acta Med.* 98 : 222-231, 2007.
- 2) 森田邦正, 松枝隆彦, 飯田隆雄: ラットにおける Polychlorinated Dibenzop-dioxins の糞中排泄に対する食物繊維の効果. *衛生化学* 43 : 35-41, 1997.
 - 3) 森田邦正, 松枝隆彦, 飯田隆雄: ラットにおける Polychlorinated Dibenzop-dioxins の糞中排泄に対するクロレラ, スピルリナ及びクロロフィリンの効果. *衛生化学* 43 : 42-47, 1997.
 - 4) Morita K, Matsueda T, Iida T and Hasegawa T : *Chlorella accelerates dioxin excretion in rats.* *J. Nutr.* 129 : 1731-1736, 1999.
 - 5) Morita K, Ogata M and Hasegawa T : Chlorophyll derived from *Chlorella* inhibits dioxin absorption from the gastrointestinal tract and accelerates dioxin excretion in rats. *Environ Health Perspect.* 109 : 289-294, 2001.
 - 6) Morita K and Tobiishi K : Increasing effect of nori on the fecal excretion of dioxin by rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66 : 2306-2313, 2002.
 - 7) Morita K and Nakano T : Seaweed accelerates the excretion of dioxin stored in rats. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 910-917, 2002.
 - 8) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H and Iwasaki T : Decrease in blood levels of dioxins after the one year intake of FBRA in Japanese. *Organohal. Comp.* 52 : 293-296, 2001.
 - 9) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H and Iwasaki T : Decrease in blood levels and body burdens of highly toxic dioxin congeners after one year intake of FBRA in Japanese. *Organohal. Comp.* 55 : 327-330, 2002.
 - 10) 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.
 - 11) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H and Iwasaki T : Promotive excretion of causative agents of Yusho by one year intake of FBRA in Japanese people. *Fukuoka Acta Med.* 96 : 241-248, 2005.
 - 12) Nagayama J, Hirakawa H, Kajiwara J, Iida T, Todaka T, Uenotsuchi T, Shibata S, Tsuji H and Iwasaki T : Excretion of causative PCDFs congeners of Yusho by one year intake of FBRA in patients with Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 98 : 215-221, 2007.
 - 13) Nagayama J, Hirakawa H, Kajiwara J, Todaka T, Shibata S, Tsuji H and Iwasaki T : Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans by FBRA in patients with Yusho. *Organohal. Comp.* 70 : 1574-1577, 2008.
 - 14) 長山淳哉, 平川博仙, 梶原淳陸, 飯田隆雄, 戸高尊, 上ノ土武, 柴田智子, 辻博, 岩崎輝明: 発酵玄米健康補助食品摂取による油症原因物質の体外排泄促進 - PCDFs と PCDDs の場合 -. *福岡医誌* 100 : 192-199, 2009.
 - 15) Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, DeVito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H et al. : The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicological Sci.* 93 : 223-241, 2006.
 - 16) 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: 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. *福岡医誌* 96 : 220-226, 2005.
 - 17) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol for dioxin analysis of human blood. *Fukuoka Acta Med.* 94 : 148-157, 2003.
 - 18) Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood : Improvement of analytical method. *Ind. Health* 41 : 197-204, 2003.
 - 19) 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 飛石和大, 飯田隆雄: 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. *福岡医誌* 96 : 185-191, 2005.

(Received for publication March 10, 2011)

事件発生時，生後から思春期と成人であった カネミ油症検診者の骨密度の差

¹⁾長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 リハビリテーション科学分野

²⁾長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学専攻

³⁾長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 保健学専攻

吉村 俊朗¹⁾，川崎 涼子¹⁾，中野 治郎¹⁾，柘田 智子²⁾，徳田 昌紘²⁾，
中田 るか²⁾，片岡 英樹¹⁾，佐賀里 昭³⁾，沖田 実¹⁾

Differences in the Bone Mineral Density in Patients with Kanemi Yusho Treated before and after the Age of 18 Years

Toshiro YOSHIMURA¹⁾, Ryoko KAWASAKI¹⁾, Jiro NAKANO¹⁾, Tomoko MASUDA²⁾, Masahiro TOKUDA²⁾,
Ruka NAKATA²⁾, Hideki KATAOKA¹⁾, Akira SAGARI³⁾ and Minoru OKITA¹⁾

¹⁾Unit of Rehabilitation Sciences, Graduate School of Medical Sciences, Nagasaki University

²⁾Unit of Translational medicine, Graduate School of Medical Sciences, Nagasaki University

³⁾Health Sciences, Graduate School of Medical Sciences, Nagasaki University

Abstract This study examined patients with Kanemi Yusho. The patients' height, weight, and bone mineral density were measured. The density of the distal end of the radius was measured using dual energy X-ray absorptiometry and the calcaneum was measured with ultrasound. We also measured urine levels of cross-linked N-telopeptides of type I collagen, serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b, serum bone-specific alkaline phosphatase, serum Ca, serum P and blood PCB level. The patient group that took PCBs when they were 0 to 18 years old (such patients were 42 to 60 years old at the time of the study) showed no correlation between the bone density of the radius and calcaneum in spite of treatment received when they were over 18 years of age (> 60 years of age at the time of the study). The bone mineral density in Kanemi Yusho was not different from the control group. The levels of only serum bone-specific alkaline phosphatase were correlated with the bone mineral density of the radius and calcaneum in patients treated when they were over 18 years of age (currently over 60 years old). PCBs might have had an effect on bone density and bone metabolism.

Key words : Kanemi Yusho, Bone mineral density, NTX, TRACP-5b, PCB

はじめに

PCB やダイオキシンは，骨代謝に影響を及ぼし¹⁾，骨粗鬆症を誘発する可能性が指摘されている。しかし，一定の見解はない²⁾³⁾。長崎県のカネミ油症検診者を対象とした検討では，検診者の30%に骨粗鬆症が認められ，骨量減少群は25%に認められた⁴⁾。しかし，PCB やダイオキシン類が骨粗鬆症を誘発する，もしくは骨代謝に影響を及ぼすかどうか不明である。また，PCB などの骨代謝への影響は人の発育時期でも異なる可能性を考慮し，長崎県カネミ油症検診者をカネミ油症事

件発生時 18 歳以下と 19 歳以上の 2 群に分けて，骨密度と骨代謝の影響を検討した。

対象と方法

血中 PCBs, PCQ 濃度と骨代謝マーカーの関係

2007 年から 2010 年の長崎県カネミ油症検診者のべ 1046 名のうち，下記にあげる骨密度・代謝に関連する項目が測定できた 302 名（男性：173 人，年齢中央値 64 歳（34 歳から 89 歳）；女性：197 人，年齢中央値 73 歳（55 歳から 97 歳））を対象とした。過去 4 年間で複数回受診した同一受診者のデータは，最も近年のものを採用した。また，

血中 PCB, PCQ 濃度についても, 2007 年から 2010 年に測定された最も新しいものを採用した. 検診者の測定項目は下記について行った.

a) カネミ油症発症当時 19 歳以上であった検診者の骨密度について

油症発症当時年齢が 19 歳以上の検診者で 2010 年の検診で 61 歳以上の長崎県カネミ油症検診者: 男性 110 名 (年齢中央値 71 歳, 61 歳から 89 歳), 女性 132 名 (年齢中央値 74 歳, 61 歳から 97 歳) で検討した.

b) カネミ油症発症当時 18 歳以下であった検診者の骨密度について

油症発症当時 0 歳から 18 歳の検診者で 2010 年の検診で 42 歳から 60 歳までの長崎県カネミ油症検診者: 男性 63 名 (年齢中央値 53 歳, 42 歳から 60 歳), 女性 65 名 (年齢中央値 52 歳, 42 歳から 60 歳) で検討した. 検診者の測定項目は下記について行った.

c) 測定項目

1. 身長および体重の測定
2. 骨密度 (BMD) DPX (dual energy X-ray absorptiometry) を用いて, 橈骨遠位端にて測定.
3. 踵骨の骨密度を超音波測定器 (Achilles A-1000 (Lunar 社)) で測定した.
4. 血中の骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)
5. 骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRACP-5b)
6. 尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTX)
7. 血清カルシウム (Ca)
8. 血清リン (P)
9. 血液 PCB 濃度と血液 PCQ 濃度

骨密度などのデータは男性群, 女性群の 2 群に分けて検討し, 油症認定者と非認定者で比較した. 対応のない t 検定で比較し, 有意差は危険率 0.05 未満とした. 採血は通常の検診にて採血する血清を使用し, 採血項目の説明は文書にて行った.

結 果

認定検診者と非認定者で血液 PCB 濃度を比較したが, 42 歳から 60 歳までのグループでも 61 歳以上のグループでも全く差を認めなかった. PCQ 濃度においては, 男女ともに認定検診者で高値を示した (表 1). 42 歳から 60 歳の男性・女性検診者, および 61 歳以上の男性・女性検診者の認定者ともに, 認定者と非認定者で身長に差はなかった (表 2). 骨密度を両群間で比較したが, 男性の前腕骨による骨密度において, 認定検診者が有意に増加していた他は, いずれも差は認めなかった (表 3). また, PCB と PCQ と骨密度の有意な相関は認めなかった. 61 歳以上の男性認定検診者で, BAP は前腕骨骨密度 ($r=-0.48$, $p < 0.01$), 踵骨密度 ($r=-0.47$, $p < 0.01$) と有意な負の相関を認めたが, TRACP-5b, 尿中 NTX に関しては, いずれのグループにおいても骨密度との相関は認めなかった. また, 橈骨骨密度と踵骨骨密度の相関を検討したところ, 61 歳以上の未認定の男女の相関係数はともに $r=0.600$ で, 次に 61 歳以上の認定患者で, 男女ともに相関係数は $r=0.506$ であり, 42 歳から 60 歳の非認定患者の相関係数は $r=0.45$ 前後であり, 42 歳から 60 歳の認定患者では, 男女ともに橈骨骨密度と踵骨骨密度の相関が消失していた (表 4). Ca, P は有意な関係を明らかにできなかった.

考 察

カネミ油症事件発症当時, 0 歳から 18 歳 (現在, 42 歳から 60 歳) であった長崎県カネミ油症検診者, および 19 歳以上 (現在, 61 歳以上) の平均身長には異常を認めなかった. また, 油症発症当時 0 歳から 18 歳であった長崎県カネミ油症検診者は, 橈骨骨密度と踵骨骨密度の相関が喪失していた. 今回測定した骨代謝マーカーは, BAP のみ 61 歳以上の認定検診者で骨密度と負の相関を認めたが, 他の骨代謝マーカーは何ら相関を認めなかった.

一般に身長を決定する要素は遺伝や生活環境要因が関与すると言われている. また, 青年期の成長ホルモンの分泌は, 身長に影響を及ぼす. さらに, 最大骨量の獲得においては, 小児期から青年期, 特に思春期に最大骨量が形成される. この最大骨量を規定するものとして, 遺伝的な内的因

表1 カネミ油症検診者のPCB, PCQ濃度

男性 PCB 血液濃度		男性 PCQ 血液濃度	
42歳から60歳		61歳以上	
認定	1.5 ± 1.3 (n=26)	0.26 ± 0.22 (n=13)	0.32 ± 0.30 (n=49)
非認定	1.5 ± 1.2 (n=32)	0.02 ± 0.05 (n=32)	0.00 ± 0.01 (n=33)
		* 0.00 ± 0.01 (n=33)	
女性 PCB 血液濃度		女性 PCQ 血液濃度	
42歳から60歳		61歳以上	
認定	1.5 ± 1.4 (n=28)	0.26 ± 0.24 (n=13)	0.49 ± 0.44 (n=62)
非認定	1.2 ± 1.2 (n=27)	0.03 ± 0.12 (n=27)	0.04 ± 0.01 (n=39)
		* 0.04 ± 0.01 (n=39)	

*Stastically significant p < 0.05

表3 橈骨骨密度と踵骨骨密度

男性 橈骨骨密度		男性 踵骨骨密度	
42歳から60歳		61歳以上	
認定	0.599 ± 0.065 (n=26)	0.514 ± 0.086 (n=49)	83.5 ± 15.9 (n=46)
非認定	0.562 ± 0.053 (n=34)	0.511 ± 0.098 (n=34)	77.6 ± 17.3 (n=34)
		* 0.511 ± 0.098 (n=34)	
女性 橈骨骨密度		女性 踵骨骨密度	
42歳から60歳		61歳以上	
認定	0.424 ± 0.040 (n=32)	0.311 ± 0.074 (n=85)	82.8 ± 17.9 (n=26)
非認定	0.442 ± 0.068 (n=30)	0.319 ± 0.073 (n=40)	83.0 ± 19.0 (n=27)
		61.2 ± 12.8 (n=39)	

*Stastically significant p < 0.05

子⁵⁾と後天的な環境因子に依存しているといわれる。骨量を規定する因子として、子供では年齢、体重、BMI、初経後年数、運動歴、牛乳摂取量あげられる。運動習慣は成長期における最大骨量 (peak bone mass) の決定に関与して、特に中学生時期の運動習慣がその後の骨量増加に大きく影響していると報告されている⁶⁾。一般に、高齢者に認められる低身長は骨粗鬆症の危険性を示唆し、脊椎骨折の結果生じることなどが報告されているが、その原因の詳細は不明である。

表2 身長と体重

男性 身長		女性 身長	
42歳から60歳		61歳以上	
認定	167.1 ± 5.5 (n=26)	154.8 ± 5.9 (n=32)	149.4 ± 5.4 (n=82)
非認定	167.9 ± 6.2 (n=34)	155.6 ± 6.7 (n=28)	148.4 ± 5.2 (n=41)
男性 体重		女性 体重	
42歳から60歳		61歳以上	
認定	70.8 ± 11.2 (n=26)	54.6 ± 10.4 (n=32)	51.8 ± 10.1 (n=84)
非認定	68.6 ± 10.7 (n=34)	56.7 ± 9.3 (n=28)	53.6 ± 7.8 (n=41)

表4 橈骨骨密度と踵骨骨密度の相関係数と危険率

男性		女性	
42歳から60歳		61歳以上	
認定	r=0.138 p=0.5159	r=0.506 p<0.0001	r=0.506 p<0.0001
非認定	r=0.435 p=0.0121	r=0.600 p<0.0001	r=0.594 p<0.0001

また、橈骨骨密度と踵骨骨密度の相関が、61歳以上の検診者で認められるのに対し、生後から青年期にPCBs等を摂取した検診者では、その相関が認められていない。このことは、PCBやダイオキシン類が骨代謝に及ぼす影響があるとすれば、前腕骨や踵骨で異なる可能性を示唆する。一般に高齢者の骨粗鬆症は骨代謝回転が亢進しているものが6割程度に認められ、骨吸収⁷⁾と骨形成⁸⁾の骨代謝マーカーも上昇している。本研究では、カネミ油症検診者における代謝マーカーの動態を明

らかにすることはできなかった。そして、骨密度も血液 PCB 濃度と血液 PCQ 濃度との相関もなく、これらの関与も明らかに出来なかった。

結 論

カネミ油症発症時、成長期であった検診者群では踵骨と橈骨骨密度の相関がなく、骨の種類により PCB 等の骨への影響が異なる可能性がある。カネミ油症認定者の骨密度には異常がなく、PCB や PCQ との因果関係も明らかではないが、その影響に関しては、今後検討が必要である。

参 考 文 献

- 1) Ramajayam G, Sridhar M, Karthikeyan S, Lavanya R, Veni S, Vignesh RC, Ilangovan R, Djody SS, Gopalakrishnan V, Arunakaran J and Srinivasan N: Effects of Aroclor 1254 on femoral bone metabolism in adult male Wistar rats. *Toxicology*. 241 : 99-105, 2007.
- 2) Côté S, Ayotte P, Dodin S, Blanchet C, Mulvad G, Petersen HS, Gingras S and Dewailly E: Plasma organochlorine concentrations and bone ultrasound measurements : across-sectional study in peri-and postmenopausal Inuit women from Greenland. *Environ Health*. 5 : 33, 2006.
- 3) 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 : 183-95, 2000.
- 4) 吉村俊朗, 中野治郎, 栢田智子, 徳田昌紘, 榊原淳, 片岡英樹, 沖田実: [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 22 集] カネミ油症検診者の骨密度と PCB, PCQ, PCDF, 福岡医誌 10(5) : 136-140, 2009.
- 5) Danielson ME, Cauley JA, Baker CE, Newman AB, Dorman JS, Towers JD, Kuller LH : Familial resemblance of bone mineral density (BMD) and calcaneal ultrasound attenuation : the BMD in mothers and daughters study. *J Bone Miner Res*. 14 : 102-10, 1999.
- 6) O'Gradaigh D, Debiram I, Love S, Richards HK, Compston JE : A prospective study of discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and proximal femur bone densitometry. *Osteoporos Int*. 14(1) : 13-18, 2003.
- 7) Greenspan SL, Dresner-Pollak R, Parker RA, London D and Ferguson L : Diurnal variation of bone mineral turnover in elderly men and women. *Calcif Tissue Int*. 60 : 419-23, 1997.
- 8) 太田博明: 骨代謝マーカーの運用に向けて, 臨床と薬物治療 19 : 963-968, 2000.

(Received for publication March 17, 2011)

福岡県油症検診（2007—2010年度）受診者における 血液中 PCB 濃度と傾向

¹⁾福岡県保健環境研究所

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

堀 就英¹⁾, 安武大輔¹⁾, 芦塚由紀¹⁾, 高橋浩司¹⁾, 梶原淳睦¹⁾,
平田輝昭¹⁾, 内 博史²⁾³⁾, 古江増隆²⁾³⁾

Blood PCB Concentrations and their Tendencies Examined in Fukuoka 2007-2010 Annual Inspections for Yusho

Tsuguhide HORI¹⁾, Daisuke YASUTAKE¹⁾, Yuki ASHIZUKA¹⁾, Koji TAKAHASHI¹⁾, Jumboku KAJIWARA¹⁾,
Teruaki HIRATA¹⁾, Hiroshi UCHI²⁾³⁾ and Masutaka FURUE²⁾³⁾

¹⁾*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Fukuoka, Japan*

²⁾*Department of Dermatology, Faculty of Medical Sciences,*

Kyushu University, Fukuoka, Japan

³⁾*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan*

Abstract We performed PCB congener specific analysis using HRGC/HRMS and determined their concentrations and blood chromatogram classifications in 275 individual blood samples collected during annual Yusho examinations between 2007 and 2010. When both blood total PCB concentrations and blood chromatogram classifications were compared among eleven Yusho patients undergoing examinations between 2007 and 2010, the longitudinal concentrations and classifications in the respective individuals hardly changed over these years. In a subset of persons suspected of Yusho, it was found that the mean total blood concentrations of three index congeners, that is, 2, 3', 4, 4', 5-pentaCB (PCB118), 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexaCB (PCB153), 2, 3, 3', 4, 4', 5-hexaCB (PCB156) and mean blood total PCB concentrations gradually decreased between 2007 and 2010. Mean concentration of PCB118 in blood from persons suspected of Yusho was calculated as 0.035 ng/g in the 2010 examination, which was 36 % lower than the mean value of 0.054 ng/g in the 2007 examination : the concentration of PCB118 showed the highest degree of decrease among the three index congeners. Among persons suspected of Yusho, occupational rates of persons with blood PCB concentrations below one ppb in the entire population increased from approx. 50% in 2007 to approx. 70% in 2010. The lowest concentration of PCB156 in blood of persons suspected of Yusho in 2010 was 0.43 pg/g, which was almost equivalent to the limit of the determination value on HRGC/HRMS, S/N = 10.

Key words : Polychlorinated biphenyls (PCB), Blood, Yusho, Fukuoka

はじめに

油症診断上の指標である「血中 PCB 濃度の性状及び濃度の異常」の判定は、採血試料の化学分析の結果に基づいている。これは血液中 PCB 濃度の総和と 3 種類の指標異性体の濃度組成を一般健常者と比較し PCB の体内残留性の違いを調べるもので、化学的かつ客観的な診断根拠が得られ

る。油症発生後まもなく、血液抽出物を ECD 検出器付きガスクロマトグラフ (ECD/GC) で測定する PCB 分析法が確立され、検査に使用されてきた¹⁾。現在、環境分析の分野では測定技術の進歩によって、ECD/GC よりも高感度・高精度に化学物質を測定できるガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC/MS) 等が広く普及している²⁾。油症診断の血液中 PCB 分析においても新しい測定技術

を適切に取り入れ、診断正確性の向上に繋げることが望まれる。その際には分析精度の向上のみならず過去の PCB 測定結果との連続性も十分に考慮すべきである³⁾。

我々は 2004 年度からキャピラリーカラムを装着した高分解能ガスクロマトグラフ・高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) を用いて、血液中 PCB の異性体別精密定量を行い、測定結果を報告した⁴⁾⁵⁾。今回、同様の方法を用いて 2007 年度から 2010 年度の 4 か年の福岡県油症検診において、油症認定患者と未認定者合わせてのべ 275 名の測定結果が得られた。この結果をもとに油症検診受診者の血液中 PCB 濃度の現状と傾向をまとめ、今後の油症 PCB 分析における課題を考察した。

なお本文中「血液中 PCB 濃度」とは、特に注釈の無い限り、血液中の主要な PCB 同族体の濃度を総和した「Total PCB 濃度」を指す。

実験方法

1. 分析試料

2007 年度から 2010 年度の各年度に実施された福岡県油症一斉検診には、のべ 796 名が受診した。検査の同意を得られた受診者のうち、のべ 275 名について血液中 PCB 測定を実施した。対照血液は、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て分析し、血液中 PCB の性状の解析（パターン解析）に使用した。血液中 PCB の性状が対照血液と明瞭に異なる場合は「A」、対照と区別できない場合「C」、その中間タイプを「B」または「BC」と分類した¹⁾。各検診受診者の年齢は、受診年度の 4 月 1 日現在に揃えて解析に用いた。

2. 分析方法

試薬は既報⁴⁾と同様のものを使用した。10mL 容丸底スピッツ管に血液約 1.5 g を正確に量り取り、¹³C でラベル化された PCB 内部標準物質（3～10 塩素化物 21 種類、ノナン溶液）を各化合物につき 200 pg 相当になるよう正確に添加した。次に 1.5 N 水酸化カリウム/エタノール溶液 3 mL を加え、ボルテックスミキサーを用いてよく混合した。スピッツ管上部に還流冷却管を取り付け、約 90℃ の水浴中で 1 時間加熱還流してアルカリ分解を行った。アルカリ分解後の試料にヘキサン

2 mL を加えて密栓し、ミキサーで攪拌して抽出した。試料を 2500 rpm で 10 分間遠心分離し、上層のヘキサン層を別のスピッツ管に分取し、この抽出操作を繰り返した。合わせたヘキサン層（約 4 mL）を蒸留水 1 mL で 2 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウム約 1 g を詰めたカラムを通過させ乾燥した。次に溶出液を窒素ガス気流で約 2 mL になるまで濃縮し、フロリジルカラムで精製した。フロリジル精製には、和光純薬製のフロリジル PR をパスツールカラムに 0.5 g 充填して作製したもの又は既製のカートリッジカラム（日本ウォーターズ製 Sep-Pak Vac RC (500 mg)）を使用した。最終検液にシリンジスパイクとして¹³C -2,3,3',5,5'-pentaCB (¹³C-PCB111) 溶液を 100 pg 相当量添加し、全量約 40 μL に調製したうちの 1 μL を高分解能ガスクロマトグラフ・高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS, Agilent 6890/Micromass AutoSpec Ultima) に注入して測定した。測定対象化合物の PCB 同族体 68 種類（3～10 塩素化物）並びに機器分析条件は既報⁴⁾と同様であった。

実験結果及び考察

のべ 275 名の血液中 PCB 濃度を測定しパターン解析を実施した。結果の概要を Table 1 に示す。

認定患者については 2007 年度に 48 名の分析を行い、以降は各年 1 名の分析を行った。2007 年度における認定患者の血液分析の結果、9 名が A パターンに、13 名が B パターンに、5 名が BC パターンに、21 名が C パターンに分類された。2007 年から 2002 年度までの 5 年間で遡ってみると、認定患者 48 名のうち 11 名は少なくとも 1 回の受診歴を有していたが、その他は 5 年間の当該期間に受診歴がなかった。この 11 名の血液中 PCB 濃度とパターン判定結果の年次推移（2002 年～2009 年）を Table 2 にまとめた。2007 年以外の検診結果は油症診断データベースより引用して作成した。患者 No.1 ではパターン判定結果が C～BC～B 間で変移していたが、2007 年度以降はいずれも C パターンであった。また患者 No.3 ではパターンが C～BC 間で変移していた。その他の 9 名ではパターン判定結果に変移は認められず、PCB 濃度もほぼ同等のレベルで推移していた。判定結果が変化した場合として、当該患者の血液

Table 1 The number of blood PCB samples analyzed in 2007-2010 annual inspections and classification results

Classification*	Blood PCB pattern	2007	2008	2009	2010	Total
Yusho patient	A	9	1	1	1	12
	B	13	0	0	0	13
	BC	5	0	0	0	5
	C	21	0	0	0	21
	Subtotal	48	1	1	1	51
Yusho-suspected person	A	0	0	2	2	4**
	B	5	2	4	5	16
	BC	0	2	2	0	4
	C	47	50	54	49	200
	Subtotal	52	54	62	56	224
Total number of inspected samples in this study/in Fukuoka prefecture		100	55	63	57	275
		/201	/212	/202	/181	/796

*These classifications were made according to those at the time for each person.

**These four samples were attributed to three persons. The two of them have been registered to Yusho patient by May, 2011.

Table 2 Time trend of total PCB concentrations and blood pattern classifications in eleven Yusho patients.

No.	Gender	Total PCB concentration (ppb)/Pattern classification							
		2002 (H14)	2003 (H15)	2004 (H16)	2005 (H17)	2006 (H18)	2007* (H19)	2008 (H20)	2009 (H21)
1	F	0.84	0.58	0.38	0.75	0.91	0.49	0.45	0.39
		C	C	BC	BC	B	C	C	C
2	F	1.6	1.4	0.93	1.6	1.5	1.0	1.2	0.99
		C	C	C	C	C	C	C	C
3	F	0.25	0.16	0.12	0.17	0.21	0.20	-	-
		C	C	BC	BC	C	C		
4	F	13	11	5.8	12	6.0	6.0	5.7	6.3
		A	A	A	A	A	A	A	A
5	M	1.2	-	-	-	-	0.55	2.0	-
		C					C	C	
6	M	2.2	-	-	-	-	1.8	-	2.2
		B					B		B
7	F	9.2	-	-	-	-	6.8	-	6.4
		A					A		A
8	M	-	2.2	-	-	-	2.2	-	-
			C				C		
9	M	1.6	1.5	-	-	-	0.98	-	-
		B	B				B		
10	M	1.2	-	-	-	-	0.90	0.94	1.1
		B					B	B	B
11	F	1.8	-	-	-	-	1.5	1.4	-
		B					B	B	

*PCB analysis and blood pattern analysis were performed in this study.

中 PCB の性状が判定基準の境界に近く判定結果の変移が起りやすいこと、測定施設（測定機器）ごとの特性や測定時期の違い等の要因が考えられる。2007年度から2010年度における未認定者の血液分析では、2006年と2007年度にAパターン

判定が計4例得られた。これら4例には同じ受診者の重複が含まれ、実質は3名であるが、このうち2名は2011年の5月までに患者に認定されている。毎年度の傾向として、未認定者全体の約90%がCパターンと判定されていた。

2007～2010 年度における未認定者の血液中 PCB 濃度の推移を Table 3 にまとめた。油症診断のパターン判定に用いる 3 つの指標異性体、すなわち 2,3',4,4',5-pentaCB (PCB118), 2,2',4,4',5,5'-hexaCB (PCB153) 及び 2,3,3',4,4',5-hexaCB (PCB156) 並びに Total PCB の各濃度の平均値、最大値、最小値を示した。各濃度はいずれも経年的に低下しており、この傾向は増田らの報告⁶⁾と一致していた。2010 年度の未認定者における PCB118 平均濃度は 0.035 ng/g であり、これは 2007 年度の 0.054 ng/g に比べて 36% 低下し、3 種異性体の中で最も低下率が高かった。また Total PCB 濃度は 2007～2010 年度の間に約 25% の低下が認められた。近年の未認定者個々人の血液中 PCB の性状（パターン）の推移をみると変化はほとんど認められないが⁷⁾、受診者全体の平均 PCB 濃度は僅かずつ減少する傾向が認められた。

Fig. 1 は検診を受診した各未認定者の血液中 PCB 濃度を 6 つの濃度域に分類し、全体に占める人数の割合を年度ごとに比較したものである。合わせて 2007 年度の認定患者の人数分布を示した。この図から明らかなように、血液中 PCB 濃度の低い受診者の割合が年々増加している。血液中 PCB 濃度 1 ppb 未満の未認定受診者割合は 2007

年度に約 50% で、ほぼ 2007 年度の認定患者群と同様の割合であったが、徐々に増大し 2010 年度は約 70% まで増加していた。一方で、比較的濃度の高い 1.5 ppb 以上の未認定受診者は、人数、割合とも減少していた。

受診者から検出される PCB 濃度は低下傾向を辿っているが、Table 3 に示すように PCB156 は 3 種類の PCB 指標異性体の中で最も低濃度であり、2010 年度検診における最低の検出濃度は 0.43 pg/g (血液試料 No.10116) であった。当該血液試料の HRGC/HRMS クロマトグラム (定量用モニターイオン) 及び同じ測定条件下での PCB156 標準品のクロマトグラムを合わせて Fig. 2 に示した。血液中から見いだされたピーク (図中*) は、PCB156 標準品と保持時間が一致し、かつ定性用モニターイオンにおけるピークとの面積比が天然存在比と一致したことで PCB156 と同定された。さらに内部標準物質のピーク面積との相対比から定量値 0.43 pg/g が導かれた。測定結果 0.43 pg/g を筆者らの PCB 測定プロトコルから逆算すると、分析出発重量 1.5 g、測定試料の最終液量 40 µL、HRGC/HRMS への注入量 1 µL より、装置注入量として 16 fg に等しい。これに対して、PCB 標準品 (1 ng/mL) を HRGC/HRMS

Table 3 Concentration trends of PCB118, PCB153, PCB156 and Total PCB in 2007-2010. (ng/g, whole blood weight basis)

		Yusho suspected person				Yusho patient
		2007 (n=52)	2008 (n=54)	2009 (n=62)	2010 (n=56)	2007 (n=48)
PCB118 (peak No.1)	Mean	0.054	0.045	0.039	0.035	0.037
	Max.	0.19	0.16	0.15	0.15	0.10
	Min.	0.0034	0.0026	0.0033	0.0027	0.0040
PCB153 (peak No.2)	Mean	0.21	0.19	0.18	0.16	0.24
	Max.	0.69	0.74	0.42	0.41	1.2
	Min.	0.010	0.010	0.010	0.0094	0.034
PCB156 (peak No.5)	Mean	0.021	0.019	0.016	0.016	0.054
	Max.	0.087	0.096	0.038	0.041	0.061
	Min.	0.00083	0.00067	0.00073	0.00043	0.0029
Total PCB	Mean	1.0	0.89	0.80	0.75	1.3
	Max.	3.3	3.3	2.1	1.9	6.8
	Min.	0.051	0.050	0.048	0.048	0.20
Age	Mean	57.4	54.6	57.1	55.7	58.0
	Max.	89	90	90	91	89
	Min.	9	7	11	9	34

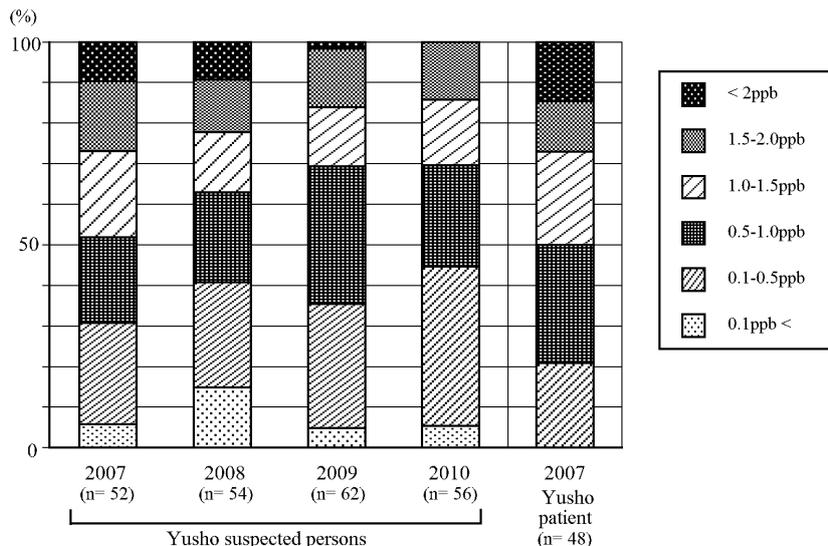


Fig. 1 Change in the distribution of blood total PCB concentrations in Yusho suspected persons through inspections.

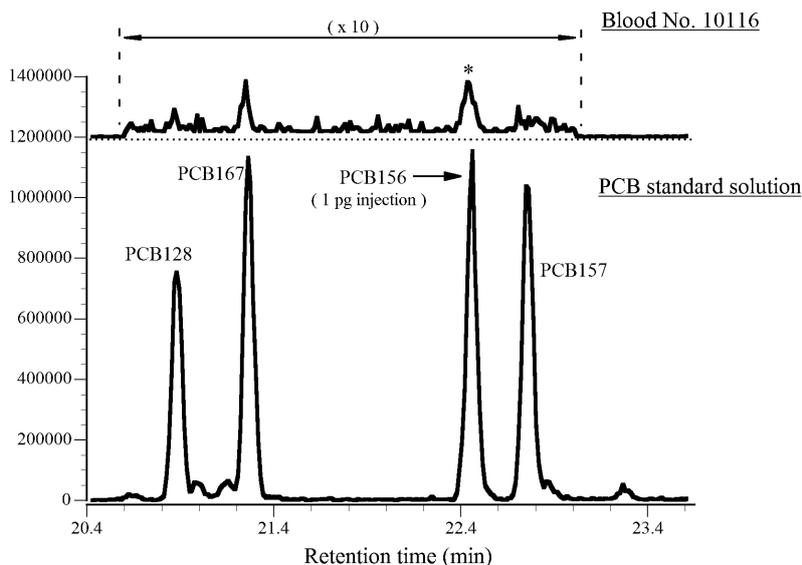


Fig. 2 HRGC/HRMS SIM chromatograms of hexaCBs in extracts from blood sample No.10116 and in standard stock solution.
 * : This peak was identified as PCB156 and its concentration corresponded to 0.43 pg/g as whole blood weight basis.

に注入して求めた装置の最小検出感度は、検出限界値の指標となる S/N=3 で 6 fg、定量限界値の目安である S/N=10 で 20 fg とそれぞれ算出された。すなわち受診者の血液中から抽出され、測定機器に導入された PCB156 の量はほぼ装置定量限界に等しい値であった。検診受診者の血液中 PCB 濃度がさらに低くなると、定量精度が低下しパターン判定の精度に影響を及ぼす可能性がある。油症 PCB 測定を確実に実施するためには、このような

微量の PCB 異性体をいかに精密に定量するかが重要である。

Fig. 3 は 2007 年度から 2010 年度の 4 か年において C パターンと判定された受診者の血液中 PCB 濃度と年齢との関連を示したものである。4 か年の間に複数回の分析例がある受診者は、PCB 濃度、年齢ともに平均値を算出して示した。年齢とともに血液中 PCB 濃度は指数関数的に増大傾向を示し、これは主に食事経由の日常的な

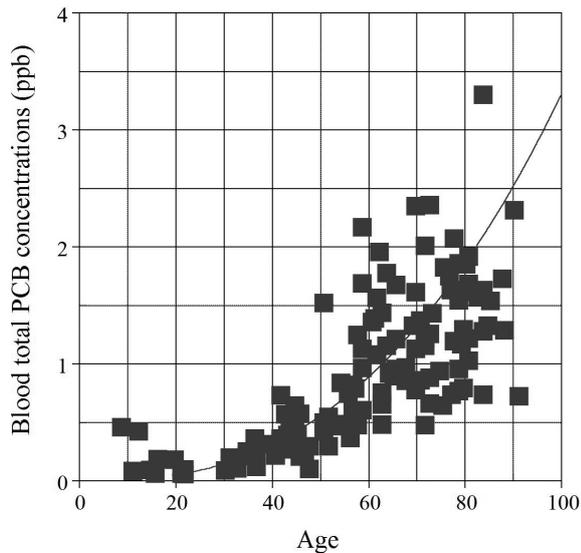


Fig. 3 Relationship between age and total PCB concentrations in blood classification of type C.

PCB の摂取・蓄積によるものである⁸⁾。油症発生後に出生した受診者の多く（年齢層の約 40 才未満）において、血液中 PCB 濃度は 0.5 ppb を下回り、高齢者に比べて確実に低い傾向が認められた。油症原因物質の継世代曝露に対する不安から、今後の検診では若年層の受診者増加が予想される。受診者の血液中 PCB 分析では、低濃度の異性体に対する定量精度を十分に確保して臨まなくてはならない。

総括

2007 年度から 4 年間実施した血液 PCB 測定の結果、受診者全体の血液中濃度は低下傾向が顕著であった。油症診断における PCB パターンの決定には、3 種類の PCB 異性体 (PCB118, PCB153, PCB156) を正確に定量できることが前提である。血液中の PCB 濃度が低く装置の検出感度に満たない場合は、さらなる測定の微量分析化、すなわち何らかの試験法の変更を必要とする。抽出試料量の増大は採血量が限られているため現実的でなく、替わって最終試料液の濃縮率の増大、大量試料注入技術を用いた検出感度増大等が選択肢と考えられる。また PCB 分析は微量化するほど実験

環境や試薬からの汚染の影響を受けやすくなる。従って測定ブランクを低減し、レベルを維持することが重要と考えられる。

謝辞

本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）に負うものである。ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 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のポリ塩化ビフェニール, 福岡医誌 65: 25-27, 1974.
- 2) 松村千里, 鶴川正寛, 中野 武, 江崎達哉, 大橋眞: キャピラリーカラム (HT8-PCB) による PCB 全異性体の溶出順位, 環境化学 12: 855-865, 2002.
- 3) 中川礼子, 中村又善, 平川博仙, 堀 就英, 飯田隆雄: キャピラリーカラム GC/MS による油症患者及び健常者血液中 PCB の分析—パックドカラム ECD/GC 従来法との比較—, 福岡医誌 90: 184-191, 1999.
- 4) 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: 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/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) による血中 PCB 異性体別分析, 福岡医誌 96: 220-226, 2005.
- 5) 堀 就英, 安武大輔, 戸高 尊, 平川博仙, 井上英, 梶原淳睦, 中川礼子, 芦塚由紀, 飯田隆雄, 吉村健清: 福岡県油症検診 (2006 年度) 受診者における血液 PCB 濃度と性状, 福岡医誌 98: 176-181, 2007.
- 6) 増田義人, 吉村健清, 梶原淳睦, Ryan JJ: 油症発生より 38 年間の患者血液中 PCBs, PCDFs の濃度変遷, 福岡医誌 98: 182-195, 2007.
- 7) 古江増隆, 赤峰昭文, 佐藤伸一, 山田英之, 吉村健清: 油症研究 II 治療と研究の最前線, p 14, 九州大学出版会, 福岡, 2010 年.
- 8) 桑原克義, 松本比佐志, 村上保行, 堀伸二郎: 19 年間 (1977 年~1995 年) におけるトータルダイエットスタディー法による大阪在住成人の PCB 及び有機塩素系農薬の 1 日摂取量の推移, 食衛誌 38: 286-295, 1997.

(Received for publication March 17, 2011)

油症認定患者の男女間の血液中ダイオキシン類濃度差

¹⁾福岡県保健環境研究所

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾北九州生活科学センター

⁴⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

梶原 淳睦¹⁾, 戸高 尊²⁾, 平川 博仙¹⁾, 堀 就英¹⁾, 小野塚 大介¹⁾, 高尾 佳子¹⁾,
平田 輝昭¹⁾, 飯田 隆雄³⁾, 内 博史²⁾⁴⁾, 古江 増隆²⁾⁴⁾

The Difference between Male and Female Dioxin Concentrations in the Blood of Yusho Patients

Jumboku KAJIWARA¹⁾, Takashi TODAKA²⁾, Hironori HIRAKAWA¹⁾, Tsuguhide HORI¹⁾,
Daisuke ONOZUKA¹⁾, Yoshiko TAKAO¹⁾, Teruaki HIRATA¹⁾, Takao IIDA³⁾,
Hiroshi UCHI²⁾⁴⁾ and Masutaka FURUE²⁾⁴⁾

¹⁾*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences
39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135*

²⁾*Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582*

³⁾*Kitakyusyu Life Science Center 1-4 Nakabaru-Shin-cho, Tobata-ku, Kitakyusyu 804-0003*

⁴⁾*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582*

Abstract In 1968, the contamination of cooking oil by heat-degraded polychlorinated biphenyls (PCBs) caused a case of mass poisoning, the so-called Yusho incident. The cause of Yusho disease is thought to be ingested toxic substances, including not only PCBs but polychlorinated dibenzofuran (PCDFs) in Kanemi rice oil. Extensive studies have been performed since 1995 by the Yusho study group involving follow-up surveys of human blood concentrations of the casual compounds in Yusho patients as well as clinical trials of the acceleration of the excretion of these compounds in Yusho patients. We have previously measured dioxin concentrations in the blood of 649 Yusho patients in annual medical examinations from 2001 to 2009. We determined that the concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, and 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) in the blood of Yusho patients were more than twice as high levels to as those of normal controls. In this study, we compared the concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, and 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) in the blood of male Yusho patients with those of female Yusho patients. As a result, it was found that the mean concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, and 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) in female Yusho patients were 2.9, 3.7, 2.4, and 1.3 times higher, respectively, than those of male Yusho patients.

Key words : Yusho, Dioxin, Blood, PCDFs

はじめに

1968年に発生した油症事件はポリ塩化ビフェニール (PCB) 及びダイオキシン類による人体汚

染事例であり、事件後40年以上経過した現在も油症認定患者の体内には高濃度のPCB及びダイオキシン類が残留している。全国油症治療研究班では油症認定患者を対象に治療と追跡調査のため

に毎年全国で油症一斉検診を行っており、毎年72～300名の油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。油症一斉検診で2001年から2009年までの9年間に血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の検体総数は1,678件であり、実数は649名であった。この649名の油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を2004年に対照群として採取した福岡県内の60歳以上の127名の一般人の血液中ダイオキシン類濃度と比較し、油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の特徴を性別、10歳毎の年齢群別に解析した。

実験方法

1. 分析試料

全国油症一斉検診で血液中ダイオキシン類分析希望者からヘパリン入り真空採血管を用い血液を採取し、ダイオキシン類濃度測定まで冷蔵保存した。2001年度から2009年度までの9年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者の検体総数は1,678名分であるが複数回受診した油症認定患者が存在するため実数は649名であった。内訳は男性312名、女性337名であり、2009年時点での平均年齢は67.0歳(32-98歳)であった。血液中ダイオキシン類濃度は、経年変化を解析したところ短期間ではほとんど変化しなかった¹⁾ので、1度しか測定していない場合はその濃度を、複数回測定している場合は最後に測定した濃度(最新の濃度)をその油症認定患者の血液中ダイオキシン濃度とし、性別、10歳毎の年齢群別に解析した。

2. ダイオキシン類分析方法

ダイオキシン類濃度はポリ塩化ジベンゾダイオキシン(PCDD)7種、ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)10種、ノンオルソPCB4種の21異性体について測定した。分析方法は既報の血液中ダイオキシン類分析法^{2)~4)}に準じて行った。すなわち、血液5gを凍結乾燥した後、内標準を添加し高速溶媒抽出器(ASE)でダイオキシン類を抽出した。さらに、硫酸処理した後、硝酸銀シリカゲルカラム及び活性炭カラムを直結して精製した。ダイオキシン画分を濃縮し、溶媒除去大量試料注入装置(SCLV)を装着した高分解能GC/MSで測定した。

ダイオキシン類の毒性等価量(TEQ)の計算にはWHOが1998年に発表した毒性等価係数(TEF:WHO-98)及び2005年に発表した毒性等価係数(TEF:WHO-05)を用いて計算し、検出限界以下の異性体は検出限界値の1/2をその濃度として計算した。

(倫理面への配慮)

血液中ダイオキシン類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究成果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は存在しない。また、本研究は「福岡県保健環境研究所疫学研究倫理審査委員会要綱」に基づき、審査を受け承認されたものである(受付番号第21-3号(1)平成22年5月10日承認)。

実験結果と考察

1. 油症認定患者の血液中ダイオキシン類の男女別濃度

2001年から毎年、全国油症一斉検診で希望者の血液中ダイオキシン類濃度を測定し報告してきた^{5)~8)}。この間、各年に報告した油症認定患者のTotal TEQ(WHO-98)の平均値は61-180 pg-TEQ/g lipidであり、今回解析した2001年から2009年に油症一斉検診を受診した油症認定患者649名のTotal TEQ(WHO-98)の平均値は100 pg-TEQ/g lipid、TEF(WHO-05)で計算したTotal TEQ(WHO-05)の平均値は79 pg-TEQ/g lipidであった。2001年から2009年の各年のTotal TEQ(WHO-98)の測定値に対し、2001年から2009年の油症認定患者を集計して計算したTotal TEQ(WHO-98)はほぼ9年間の平均値を示し、各年の報告値から大きく逸脱するものではなかった。表1に2001年から2009年に油症一斉検診を受診した油症認定患者649名及び2004年に福岡県で実施した一般住民の男女別血液中ダイオキシン類濃度を示した。油症認定患者(男性、女性)の平均Total TEQ(WHO-05)はそれぞれ51、100 pg/g lipidであった。対照群の一般住民(男性、女性)のTotal TEQ(WHO-05)はそれぞれ34、36 pg/g lipidであり、油症認定患者のTotal TEQ(WHO-05)は一般住民より男性で約1.5倍高く、女性では約2.9倍高かった。ま

表1 油症認定患者及び一般住民の男女別血液中ダイオキシン類濃度

Congeners	油症認定患者 (2001-2009年)								一般住民 (2004年)							
	男性 (N=312)				女性 (N=337)				男性 (N=51)				女性 (N=76)			
	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.4	0.8	ND	4.4	1.8	1.1	ND	8.6	1.8	0.9	ND	4.0	2.0	0.8	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	8.0	4.0	ND	22	12	6.5	1.2	43	8.4	3.4	3.2	19	9.3	3.3	3.3	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.6	1.7	ND	12	3.2	2.0	ND	15	3.3	1.7	ND	7.6	3.7	2.1	ND	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	33	23.9	3.9	150	54	44.3	6.5	310	26	10.1	7.3	47	29	11.4	13	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.0	2.7	ND	24	5.3	3.8	ND	31	3.7	2.0	ND	9.1	5.1	3.1	ND	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	49	32.9	ND	290	52	32.7	ND	320	65	35.9	17.6	170	88	63.8	22	470
OCDD	710	424.9	150	3900	810	615.2	180.9	7900	1100	676.1	181.2	3300	1300	1066.8	370	7600
Total PCDD	810	466.9	180	4300	940	658.3	244.0	8300	1200	724.3	214.4	3600	1500	1139.4	430	8200
2,3,7,8-TCDF	1.7	3.2	ND	48	2.3	2.2	ND	14	1.1	0.9	ND	4.5	0.8	0.6	ND	2.9
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	1.9	ND	27	1.2	1.2	ND	7.6	0.8	0.7	ND	4.6	0.6	0.4	ND	2.7
2,3,4,7,8-PeCDF	68	93.7	3.0	560	200	251.0	2.9	1800	16	6.5	6.0	36	18	6.5	7.5	37
1,2,3,4,7,8-HxCDF	15	25.4	ND	200	57	89.4	ND	580	4.7	2.3	ND	13	5.2	3.0	ND	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	8.9	9.5	ND	77	21	26.3	ND	180	5.6	2.6	ND	14	5.7	2.6	ND	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.7	ND	8.0	1.2	0.9	ND	9.8	1.4	0.9	ND	5.2	1.2	0.6	ND	4.9
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.4	2.7	ND	26	3.8	15.4	ND	280	2.4	2.4	ND	13	2.0	1.8	ND	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND				1.0	0.2	ND	3.7	ND				ND			
OCDF	ND				2.5	7.6	ND	140	ND				2.2	1.8	ND	18
Total PCDF	100	127.1	12	800	300.0	364.0	13.0	2600	36	13.8	15	86	38	13.3	18	82
3,4,4',5'-TCB (#81)	5.8	3.9	ND	37	5.3	1.8	ND	24	5.8	3.0	ND	24	5.4	1.7	ND	14
3,3',4,4'-TCB (#77)	9.0	18.6	ND	290	7.8	10.4	ND	150	8.6	5.4	ND	31	8.3	4.4	ND	21
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	95	88.7	ND	590	90	61.7	ND	430	120	83.6	17	360	110	78.9	26	520
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	140	100.8	10.4	640	180	140.7	12	1100	69	27.4	32	160	60	26.3	16	190
Total Non-ortho PCBs	250	175.7	27.2	1100	280	165.5	36	1200	200	108.4	59	520	190	104.5	64	740
Total	1200	613.6	313	4500	1500	865.4	400	8600	1400	796.1	290	3900	1700	1175.6	550	8500
◆【WHO-98】◆																
T PCDDs-TEQ	14	6.9	2.7	37	20	11.6	3.0	80	14	5.6	5.0	29	16	5.7	6.0	34
T PCDFs-TEQ	37	50.1	2.0	300	110	136.5	1.9	970	9.5	3.8	3.5	22	10	3.7	4.7	21
T Non-ortho PCBs-TEQ	11	9.5	0.6	62	11	6.6	1.2	44	12	8.5	2.0	38	12	8.1	2.9	54
Total TEQ (WHO-98)	62	58.0	5.8	330	140	147.8	6.4		36	16.5	12	83	38	15.5	15	100
◆【WHO-05】◆																
T PCDDs-05-TEQ	14	6.9	2.8	38	20	11.7	3.1	80	14	5.7	5.1	30	16	5.8	6.2	35
T PCDFs-05-TEQ	23	31.3	1.4	190	69	86.3	1.4	610	6.2	2.5	2.3	14	6.8	2.4	3.1	14
T Non-ortho PCBs-05-TEQ	14	10.9	0.9	67	14	8.1	1.8	46	14	8.9	2.6	40	13	8.5	3.5	58
Total -TEQ (WHO-05)	51	41.4	5.5	240	100	100.1	6.2	730	34	15.9	11	80	36	15.0	14	98
Lipid (%)	0.33	0.05	0.20	0.53	0.34	0.05	0.23	0.64	0.32	0.05	0.22	0.49	0.33	0.05	0.24	0.47
Age (years)	65.9	14.7	32	95	67.9	13.6	37	98	68.1	5.0	60	79	68.0	5.7	60	86

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

た、油症認定患者の男女間で比較すると女性は男性の約2倍高濃度であった。血液中ダイオキシン類化合物の種類別に見ると一般住民と比べ油症認定患者の血液中濃度が2倍以上高い化合物は、2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) の4化合物であった。この内、一般住民と比較して最も濃度が高い血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度は油症診断基準⁹⁾に採用されている。更に、これらの4化合物の油症認定患者女性の血液中濃度は油症認定患者男性のそれぞれ2.9, 3.7, 2.4及び1.3倍高い濃度であった。一方、一般住民では男女間の血液中ダイオキシン類濃度の差は小さく、油症認定患者でも一般住民との濃度差の小さい化合物では男女間の濃度差も小さかった。従って、一般住民と比べ油症認定患者の血液中高濃度の4化合物は油症認定患者の男性より女性の血液中濃度が高い傾向にあることがわかった。

2. 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) の男女、年齢群別の血液中濃度

油症認定患者の血液中濃度が高かった2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) の4化合物について表2に男女別各年齢群の血液中濃度を示した。年齢群別では4化合物とも40歳代までの血液中濃度は一般人とほぼ同程度であるが、50歳代以上の年齢群の血液中濃度の平均値が特に高く、多くの場合70歳代が最高値を示している。2009年に50歳代以上の年齢群は1968年の油症事件発生時に9歳以上で汚染食用油を多く摂取したと推定される。4化合物とも男女別では女性の方が各年齢群とも血液中濃度の平均値、中央値および最大値が高い。しかし、39歳未満及び40歳代では男女間の濃度差は比較的小さく50歳代以上の年齢群で血液中濃度が高くなると共に男女間の濃度差が大きく広がっている。従って、油

表2 油症認定患者の性別、年代別血液中2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)濃度の分布

2,3,4,7,8-PeCDF										
	女性 (n=337)					男性 (n=312)				
	人数	Mean	SD	Min	Max	人数	Mean	SD	Min	Max
39歳以下	4	22	21	11	53	9	7.2	3.8	3.0	13
40歳代	39	21	21	2.9	110	47	16	13	3.8	85
50歳代	55	120	158	6.1	900	54	41	53	3.4	280
60歳代	65	200	254	9.7	1400	57	60	82	5.5	510
70歳代	97	270	258	9.2	1800	79	110	120	6.5	560
80歳以上	77	280	293	16	1200	66	93	100	7.6	520
合計	337	150	122	16	53	312	68	94	3.0	560

(pg/g lipid)

1,2,3,4,7,8-HxCDF										
	女性 (n=337)					男性 (n=312)				
	人数	Mean	SD	Min	Max	人数	Mean	SD	Min	Max
39歳以下	4	7.4	5.1	3.2	14	9	1.7	1.0	ND	3.2
40歳代	39	4.9	4.6	ND	25	47	4.1	4.0	ND	20
50歳代	55	25	41	ND	260	54	9.7	15	ND	93
60歳代	65	54	93	2.1	550	57	13	17	ND	100
70歳代	97	80	97	ND	580	79	25	38	ND	200
80歳以上	77	83	107	3.4	480	66	21	24	ND	130
合計	337	42	47	ND	580	312	12	14	ND	200

(pg/g lipid)

1,2,3,6,7,8-HxCDF										
	女性 (n=337)					男性 (n=312)				
	人数	Mean	SD	Min	Max	人数	Mean	SD	Min	Max
39歳以下	4	6.8	3.8	3.6	12	9	2.0	1.0	ND	3.5
40歳代	39	3.9	2.2	ND	13	47	3.8	1.9	ND	10
50歳代	55	11	13	ND	80	54	7.0	7.5	ND	48
60歳代	65	21	28	2.2	180	57	7.9	6.7	ND	38
70歳代	97	28	28	2.2	170	79	13	13	ND	77
80歳以上	77	29	31	4.7	130	66	11	8.8	ND	46
合計	337	17	13	ND	180	312	7.4	4.6	ND	77

(pg/g lipid)

3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)										
	女性 (n=337)					男性 (n=312)				
	人数	Mean	SD	Min	Max	人数	Mean	SD	Min	Max
39歳以下	4	46	18	34	73	9	27	12	10	43
40歳代	39	52	29	12	130	47	64	53	20	360
50歳代	55	140	117	21	620	54	130	80	24	440
60歳代	65	180	122	37	520	57	140	97	24	420
70歳代	97	220	155	33	1100	79	190	111	36	540
80歳以上	77	220	141	47	770	66	170	94	36	640
合計	337	180	141	12	1100	312	140	101	10	640

(pg/g lipid)

症事件で汚染食用油を多く摂取したことで血液中ダイオキシン類濃度が高くなると共に男女間の濃度差も広がったことが推察される。油症認定患者の血液中ダイオキシン類の測定は2000年以降であり、油症事件の発生から32年以上経過していた。事件発生時のダイオキシン類摂取量とその後血液でダイオキシン類濃度の推移が不明であるため男女間の濃度差が大きい原因は不明であるが、女性の方が汚染食用油の摂取量が多かったと推察されること、あるいは女性の方が一般に体脂肪率が高くダイオキシン類を蓄え易い傾向にあるなどが要因として考えられる。

総 括

油症一斉検診で2001年から2009年までの9年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者は649名であった。油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を性別、年齢群別に集計し解

析した結果、油症認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)の4化合物濃度は男女とも50歳代以上の高年齢で高く、女性の方が男性より各年齢群で高い濃度を示した。油症認定患者は油症事件で汚染食用油を摂取したことで2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)の血液中濃度が高くなったことが推察され、女性の方が男性に比べ4化合物の血液中濃度が高い原因は、油症原因の食用油の摂取量が女性の方が多いと推察されること、あるいは女性の方が一般に体脂肪率が高くダイオキシン類を蓄え易い傾向にあることなどの要因が考えられる。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金によるものである。ここに記して謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori H, Inoue S, Tobiishi K, Nakagawa R, Onozuka D, Takao Y, Yoshimura T, and Furue M : Time trend of concentrations of dioxin like PCBs, PCDFs, AND PCDDs in blood of Yusho patients. Organohalogen Compounds, 69, 91-93, 2007.
- 2) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New Protocol of Dioxin Analysis in Human Blood. Fukuoka Igaku Zasshi 94 : 148-157, 2003.
- 3) 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 飛石和夫, 飯田隆雄 : 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, 福岡医誌 96 : 185-191, 2005.
- 4) 堀 就英, 飛石和夫, 芦塚由紀, 中川礼子, 戸高尊, 平川博仙, 飯田隆雄 : 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/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) による血中 PCB 異性体別分析, 福岡医誌 96 : 220-226, 2005.
- 5) 飯田隆雄, 戸高 尊, 平川博仙, : 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001年), 福岡医学雑誌 94(5), 126-135, 2003.
- 6) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T : Follow-up Survey of Dioxins Concentrations in the Blood of Yusho Patients in 2002-2003. Fukuoka Igaku Zasshi 96, 249-258, 2005.
- 7) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Iida T and Furue M : Concentrations of polychlorin-

- ated debenzo-p-dioxions, polychlorinated dibenzofurant, and non-ortho and mono-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. *Chemosphere* 66, 1983-1989, 2007.
- 8) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimura T and Furue M : Dioxin Concentration in Blood of Patients Collected during Medical Check-up for Yusho in 2004-2005. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 98, 222-230, 2007.
- 9) 徳永章二, 飯田隆雄, 古江増隆: 統計学的アプローチによる新油症診断基準の概念. *福岡医誌* 96 : 135-145, 2005.

(Received for publication March 17, 2011)

高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた異径キャピラリーカラムによる血液中ポリ塩化クアテルフェニルの迅速測定

¹⁾福岡県保健環境研究所

²⁾北九州生活科学センター

³⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

⁴⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

安武大輔¹⁾, 芦塚由紀¹⁾, 堀 就英¹⁾, 黒川陽一¹⁾, 梶原淳睦¹⁾, 平田輝昭¹⁾, 石黒靖尚²⁾, 飯田隆雄²⁾, 内 博史³⁾⁴⁾, 古江増隆³⁾⁴⁾

The Rapid Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Blood Using Different Diameter Capillary Column with the High-Resolution Gas Chromatograph High-Resolution Mass Spectrometer

Daisuke YASUTAKE¹⁾, Yuki ASHIZUKA¹⁾, Tsuguhide HORI¹⁾, Youichi KUROKAWA¹⁾, Jumboku KAJIWARA¹⁾, Teruaki HIRATA¹⁾, Yasuhisa ISHIGURO²⁾, Takao IIDA²⁾, Hiroshi UCHI³⁾⁴⁾ and Masutaka FURUE³⁾⁴⁾

¹⁾*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Fukuoka, Japan*

²⁾*Kitakyushu Life Science Center, Fukuoka, Japan*

³⁾*Department of Dermatology, Faculty of Medical Science, Kyusyu University, Fukuoka, Japan*

⁴⁾*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyusyu University Hospital, Fukuoka, Japan*

Abstract The polychlorinated quaterphenyl (PCQ) concentrations in blood are important discriminative parameters in yusho patient.

In this study, a rapid analytical method for PCQ using different diameter capillary column (rapid-Rtx65TG) with high-resolution gas chromatograph high-resolution mass spectrometer (HRGC/HRMS) instead of the gas chromatograph electron capture detector (ECD/GC) was developed. Using different diameter capillary columns, the analysis time of the HRGC/HRMS was drastically shortened, and the detection sensitivity was improved.

In the rapid-Rtx65TG column, a small-bore capillary column (length 1m, I.D. 0.1mm) was connected with the inlet side of the GC, and behind that column, a large-bore capillary column (length 15mm, I.D. 0.53mm) for octadecachloroquaterphenyl (ODCQ) analysis was connected. In the HRGC/HRMS measurement of ODCQ by the rapid-Rtx65TG column, the minimum limit of detection for the apparatus was 0.4 pg, and the minimum limit of determination for the blood was 0.008 ppb.

On ECD/GC in the conventional method and HRGC/HRMS in this study, the PCQ concentration in blood including yusho patients and yusho suspected persons was almost equivalent.

Key words : Yusho, PCQ, Blood, HRGC/HRMS

はじめに

ポリ塩化クアテルフェニル (PCQ) は、油症認定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¹⁾、ポリ塩化ジベ

ンゾフラン (PCDF) と同様に、ポリ塩化ビフェニル (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と考えられる¹⁾²⁾。PCQ は、動物実験により PCDF に比べて酵素誘導能、肝肥大、胸腺萎縮、体重増加抑制などの毒性は弱

いと考えられている。PCQは、健常者の血液中ではほとんど検出されないが（平均で0.02ppb以下）³⁾、油症認定患者の血液には健常者に見られない高濃度のPCQが検出されている⁴⁾。そのため、血液中PCQ濃度は1981年に油症の診断基準に追加され、現在も油症に特徴的かつ有用な基準の一つとなっている。その基準では、血液中PCQ濃度は0.1ppb以上が「高い濃度」とされ、0.02ppb以下が「通常みられる濃度」、0.03~0.09ppbが「境界領域濃度」とされている。

PCQの分析法は前田らにより⁵⁾、PCQの完全塩素化物である十八塩素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、飯田らによりキャピラリーカラムを用いた高感度な分析法が開発された⁶⁾。また、芦塚らは、分析の小スケール化を行うことによって、分析操作を簡易化及び迅速化した方法を報告している⁷⁾。

ECD/GCは、最新のガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)に比べ、機器の感度変動が大きく不安定である。また、ECDは、原理上、機器内に放射性物質、⁶³Niを内蔵しているため、機器維持管理及び測定者の健康維持管理が不可欠である。さらに、近年、PCB、PCDF及びハロゲン化有機化合物等の微量分析の測定機器が、ECD/GCからGC/MSへ移行しており、ECDの老朽化が進んでいる。今回は、これらの問題を解決するために、ECD/GCの代わりに高分解能GC/MS(HRGC/HRMS)を用いた二種類の異径キャピラリーカラムによるPCQの高速分析について検討し、ECD/GCの測定結果と比較・検証する。

材料及び実験方法

1. 血液試料

油症検診で、39名（認定患者14名、未認定者25名）の受診者血液についてPCQの分析を行った。

2. 標準液

PCQ標準液：PCQ標準液(10ng/mL)を完全塩素化して、PCQ濃度で5ng/mLに相当するODCQ標準溶液を調整した。この標準溶液から、0.2~50ng/mLの検量線溶液をn-ノナンで調整

し、内標準物質として1ng/mLの14塩素化-*o*-ターフェニル(*o*-TDCT)を添加した。

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℃で3時間活性化させ、アルミナはメルク社製のAluminiumoxid(70~230mesh)を130℃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、測定条件

ECD/GC測定では、Hewlett-Packard社HP5890A(⁶³Ni-ECD)を用いた。ECD/GCの使用カラム及びGC条件をTable 1に示す。また、ECDの検出器温度は350℃とした。HRGC/HRMS測定では、HRGCはAgilent社HP6890Nを、HRMSはWaters社AutoSpec Premierを用いた。HRGC/HRMSの使用カラム及びGC条件をTable 1に示す。また、HRMSの測定条件をTable 2に示す。

5. 分析方法

血液は、既報にしたがって処理した⁷⁾。分析フローをFig.1に示す。ECD/GC測定では、最終検液を0.2mLのヘキサン溶液とした。HRGC/HRMS測定では、内標準物質として25pgの*o*-TDCTを添加し、25μLのノナン溶液とした。

結果及び考察

1. ODCQ測定のキャピラリーカラムの検討

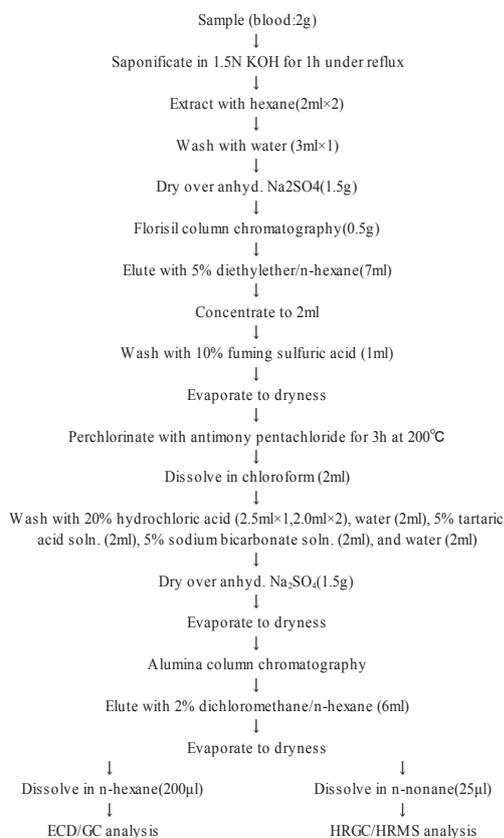
6種類の異性体を含むODCQ混合標準溶液をHRGC/HRMSで測定し、Table 3に示す9種類の化学結合性シリカキャピラリーカラムについてODCQsの分離を検討した。ODCQ測定では、50ng/mlのODCQs標準溶液を1μl注入し、GC温度は80℃で1分間保持し、1分間あたり40℃で昇温、310℃で保持された。Table 3に示すように、7種類が(5%フェニル)-メチルポリシロキ

Table 1 Measurement condition of the gas chromatograph in ECD/GC and HRGC/HRMS

ECD/GC		HRGC/HRMS
Column type	Quadrex 007-65HT (Length 25m, I.D. 0.25mm, Thickness 0.1 μ m)	1st : Deactivated Silica Column (Length 1m, I.D.0.1mm) 2nd : Restek Rtx65TG (Length 15m, I.D.0.53mm, Thickness 0.1 μ m) 3rd : Deactivated Silica Column (Length 1m, I.D.0.32mm)
Injector temperature		300 $^{\circ}$ C
Injection method		Splitless
Injection volume		4 μ l
He	Head Pressure 25 psi	Flow rate 1.5ml/min
Column temperature	80 $^{\circ}$ C(1min) \rightarrow 30 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 320 $^{\circ}$ C(45min)	130 $^{\circ}$ C(1min) \rightarrow 120 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 360 $^{\circ}$ C(12.08min)

Table 2 The measurement condition of the mass spectrometer for OCDQ

Ionization Mode	EI	
Electron Energy	35 eV	
Ion Source Temperature	270 $^{\circ}$ C	
Ionization Current	650 μ A	
Transfer Temperature	280 $^{\circ}$ C	
Resolution	5000	
Selected Ion Monitoring by	Quantification	925.4275
Lockmass Mode	Confirmation	927.4246

**Fig. 1** Flow diagram for the determination of polychlorinated quaterphenyl (PCQ) in blood

サンを液相としたキャピラリーカラムであり、製造元、長さ、内径、膜厚等を検討した。また、(5% フェニル) -メチルポリシロキサン系の液相のほか、100% ジメチルポリシロキサンや (65% フェニル) -メチルポリシロキサンなどの液相による違いを検討した。6種類の ODCQ を各キャピラリーカラムで測定したマスクロマトグラムを Fig. 2 に示す。DB5 では、長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1 μ m のキャピラリーカラムを基準にして、長さ、内径、膜厚を変更した。その結果、膜厚が 0.25 μ m と厚くなると ODCQ のピークの出現が遅くなった。また、長さや内径の比較では、キャピラリーカラムの長さが短いほど、内径が太いほど、ODCQ のピークの出現が早く、ピーク数が 5 つから 4 つに減少し、分離度が低下した。液相が (5% フェニル) -メチルポリシロキサン系で長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1 μ m のキャピラリーカラムにおいて製造元の異なるすべてのキャピラリーカラムでは、6種類の ODCQ が 5 つのピークに分離した。また、100% メチルポリシロキサンや (65% フェニル) -ジメチルポリシロキサンの液相においては、ピークのパターンは異なるが、

Table 3 List of evaluated capillary columns

Capillary Column	Length	Inner Diameter	Film Thickness	Stationary phase	Temperature limit	Manufacturer
DB1	30m	0.32mm	0.1 μ m	100% Dimethylpolysiloxane	340 $^{\circ}$ C	Agilent
DB5	15m	0.32mm	0.1 μ m	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	325 $^{\circ}$ C	Agilent
DB5	30m	0.25mm	0.1 μ m	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	325 $^{\circ}$ C	Agilent
DB5	30m	0.32mm	0.1 μ m	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	325 $^{\circ}$ C	Agilent
DB5	30m	0.25mm	0.25 μ m	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	325 $^{\circ}$ C	Agilent
ENV5MS	30m	0.25mm	0.1 μ m	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	360 $^{\circ}$ C	Kanto
VF5ht	30m	0.25mm	0.1 μ m	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	370 $^{\circ}$ C	Varian
SLB5MS	30m	0.25mm	0.1 μ m	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	340 $^{\circ}$ C	Supelco
007-65ht	25m	0.25mm	0.1 μ m	(65%-phenyl)-methyl polysiloxane	400 $^{\circ}$ C	Quadrex

4つのピークに分離することが分かった。さらに、キャピラリーカラムの最高使用可能な温度が高いほど、短時間でODCQが溶出されることが確認された。したがって、ODCQ測定で使用するキャピラリーカラムには、高温使用可能で、膜厚が薄く、今回検討したすべてのタイプの液相が有効であることが分かった。

2. ODCQ用 rapid-Rtx65TG カラムの検討

EDC/GCにおけるODCQのガスクロマトグラムでは、各ピークのピーク幅は約1分で非常にブロードであり、測定時間は60分で、非常に長い。近年、PCBの測定技術の一つとして、2種類の異径のキャピラリーカラムを用いてPCB測定時間を10分の1に短縮することが可能となっている⁸⁾。具体的には、この異径のキャピラリーカラムは、GCの注入口側に内径0.1mm長さ1mの内径の小さい不活性シリカキャピラリーカラムを接続し、次に、内径0.53mmの内径の大きい分析用カラムを接続している。これによりMSの真空状態が利用可能となり、分析用カラムの分離状態を生かしたまま、高速分析が可能となる。

上記のように、長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.1 μ mの(5%フェニル)-メチルポリシロキサン系キャピラリーカラムがODCQ測定に有効であったが、最高使用可能温度が低く、膜厚0.1 μ mで内径0.53mmのキャピラリーカラムが市販されていない。また、最高使用温度が高いVF5htやQuadrex007-65htの内径0.53mmのキャピラリーカラム及びVF5MSの同質品で内径0.53mmのキャピラリーカラムは、市販されていない。そこで、Quadrex007-65htと同品質であるRestek社製RTX-65TG(長さ15m、内径0.53mm、膜厚

0.1 μ m、最高使用温度370 $^{\circ}$ C)を分析用カラムとして使用した。今回は、注入口側に内径0.1mm長さ1mの不活性シリカキャピラリーカラムを、次に、内径0.53mm長さ15mのRtx-65TGを、次に内径0.32mm長さ1mの不活性シリカキャピラリーカラムを接続し、これをODCQ用Rapid-Rtx65TGカラムとした。尚、分析用カラムが内径0.53mmと大きくGCとMSの間のトランスファーラインに導入できないため、分析用カラムRtx-65TGに内径0.32mm長さ1mの不活性シリカキャピラリーカラムを接続した。

HRGC/HRMSを用いてQuadrex 007-65ht(長さ25m、内径0.25mm、膜厚0.1 μ m)とODCQ用rapid-Rtx65TGカラムでODCQを測定した結果をFig. 3に示す。尚、ODCQ測定では、50ng/mlのODCQs標準溶液を1 μ l注入し、GC温度は80 $^{\circ}$ Cで1分間保持し、1分間あたり40 $^{\circ}$ Cで昇温、340 $^{\circ}$ Cで42.5分間保持された。Fig. 3に示すように、Quadrex 007-65htにおけるODCQのマスキロマトグラムでは、ピーク幅が1分と長く、低濃度領域ではノイズに対するシグナルの比が小さくなり、検出感度も低いと考えられる。rapid-Rtx65TGにおけるODCQのマスキロマトグラムでは、ODCQの溶出時間は早く、ピーク幅も小さくノイズに対するシグナルの比も大きくなり、検出感度も向上すると考えられ、rapid-Rtx65TGの有効性が確認された。次に、rapid-Rtx65TGによるGC条件の最適化を行った。

Table 1の条件に従って、Quadrex 007-65htを用いてECD/GCでODCQsを測定したガスクロマトグラムとODCQ用rapid-Rtx65TGを用いてHRGC/HRMSでODCQsを測定したマスキロマトグラムをFig. 4に示す。Quadrex 007-65htを

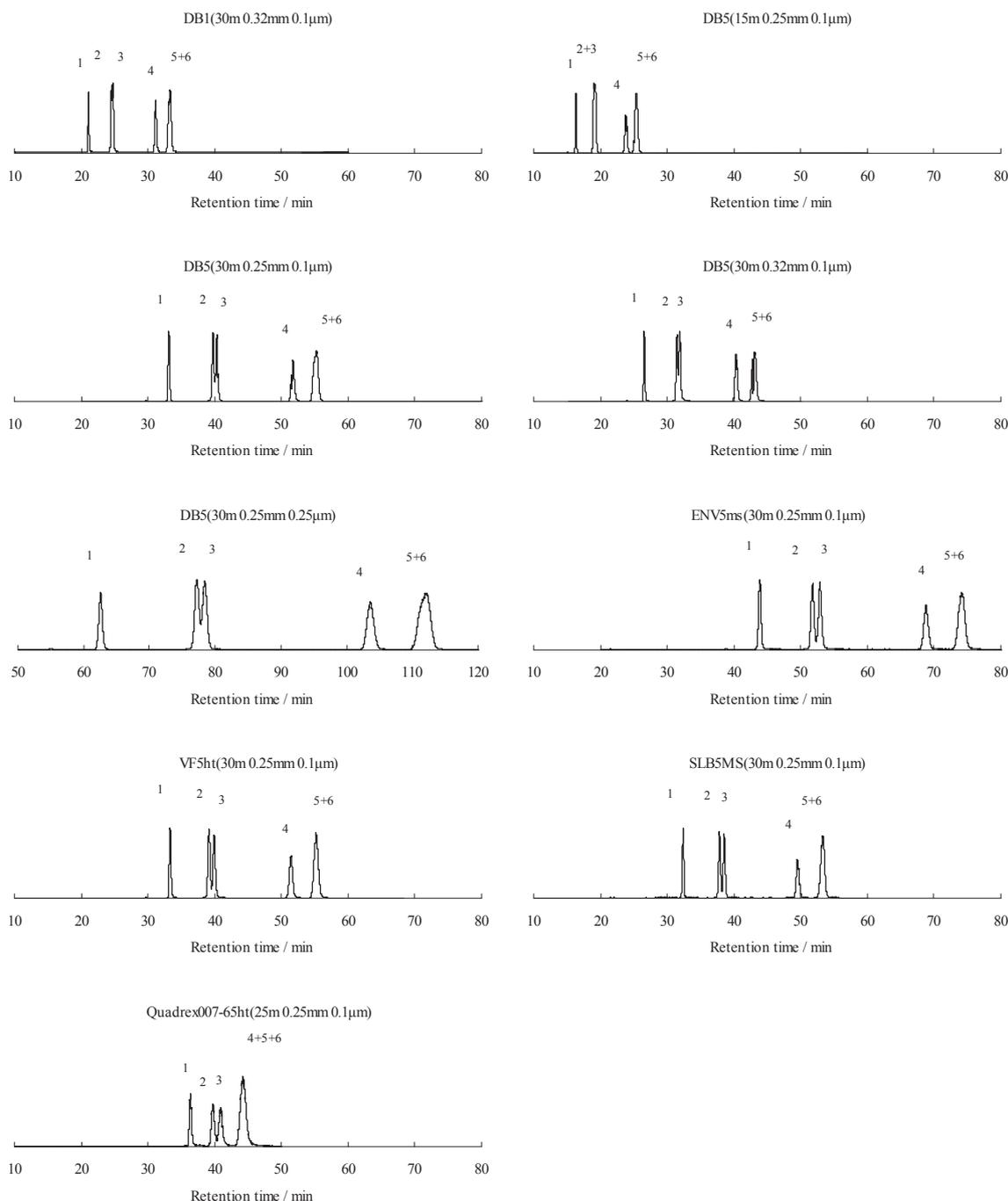


Fig. 2 Mass chromatogram of six types of ODCQs on nine different capillary columns
 Peak1 : 2,2'-ODCQ, Peak2 : 2,3'-ODCQ, Peak3 : 2,4'-ODCQ, Peak4 : 4,4'-ODCQ, Peak5 : 3,3'-ODCQ,
 Peak6 : 3,4'-ODCQ.

用いた ECD/GC では、約 41 分に 2,2'-ODCQ の最初のピークが、約 52 分に 3,4'-ODCQ の最後のピークが検出された。ODCQ 用 rapid-Rtx65TG を用いた HRGC/HRMS では、約 6.6 分に 2,2'-ODCQ の最初のピークが検出され、約 7.4 分に最後のピークが検出された。ODCQ 用 rapid-Rtx65TG の利用により、ピークの変換を損なうことなく、HRGC/HRMS における ODCQ 測

定時間を ECD/GC に比べて約 7 倍に短縮できた。

3. 検量線及び検出限界

HPLC や GC (GC/MS を含む) などの機器分析では、内標準物質を用いる内標準法を適用できれば、一般的に測定精度が向上すると考えられる。ECD/GC ではクロマトグラム上で重なり合うと想定される内標準物質が、本法では、検出器に高

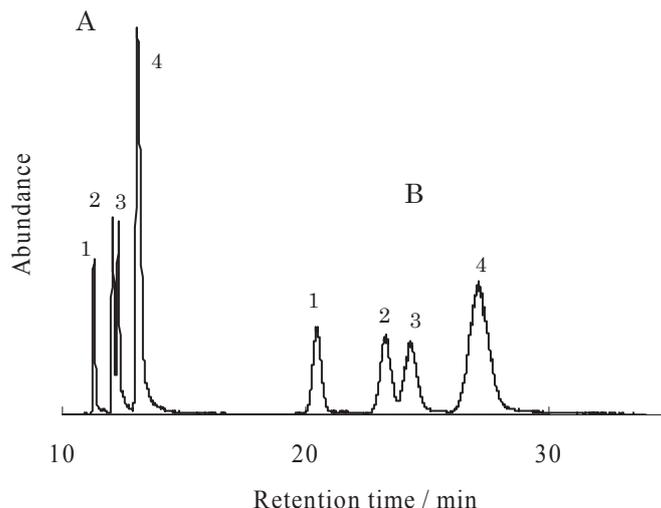


Fig. 3 Mass chromatograms of six types of ODCQs by the HRGC/HRMS with quadrex 007-65ht capillary column and rapid-Rtx65TG capillary column
Peak1 : 2, 2'-ODCQ, Peak2 : 2, 3'-ODCQ, Peak3 : 2, 4'-ODCQ, Peak4 : 4, 4'-ODCQ + 3, 3'-ODCQ + 3, 4'-ODCQ. A) The mass chromatogram with rapid-Rtx65TG capillary column ; B) The mass chromatogram with the Quadrex 007-65ht capillary column

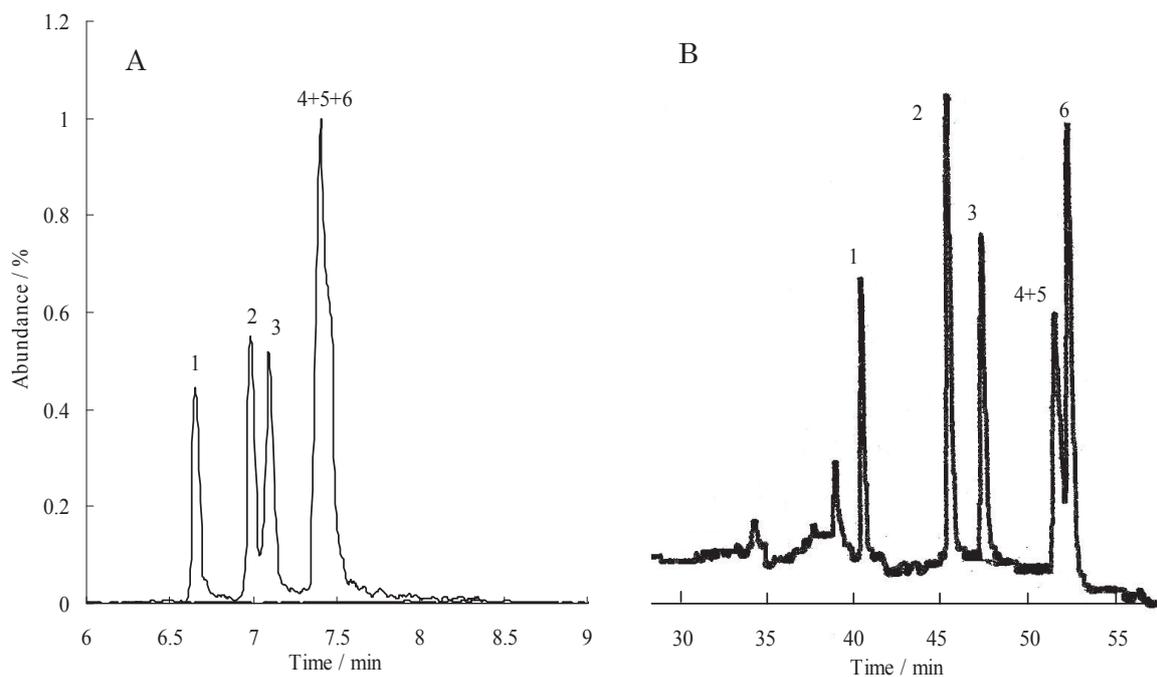


Fig. 4 The HRGC/HRMS chromatogram and the ECD/GC chromatogram of six types of octadecachloro-qtaterphenyls (ODCQs)
Peak1 : 2, 2'-ODCQ, Peak2 : 2, 3'-ODCQ, Peak3 : 2, 4'-ODCQ, Peak4 : 4, 4'-ODCQ, Peak5 : 3, 3'-ODCQ, Peak6 : 3, 4'-ODCQ. A) The HRGC/HRMS chromatogram with the OCDQ rapid-Rtx65TG capillary column ; B) The ECD/GC chromatogram with the Quadrex 007-65ht capillary column

分解能質量分析計を用いているため、ODCQに ^{13}C を導入した化合物を内標準物質とすることで、内標準法として機能すると考えられる。しかし、 ^{13}C を導入したODCQは市販品ではなく、非

常に高額である。内標準法の有効性を検討するため、今回は、*o*-TDCTを内標準物質としてODCQ標準溶液に添加し、検量線を作成し、検出下限を求めた。検量線は、0.5ng/mlの内標準物質を含

む ODCQ 標準液 (PCQ 濃度として, 0.2, 0.5, 2, 5, 20 及び 50 ng/ml) をそれぞれ 4 μ l ずつ GC に注入し, それぞれのピーク面積から絶対検量線法と内標準法で作成した。また, 検出下限値は, 0.5ng/ml の内標準物質を含む ODCQ 標準液 (PCQ 濃度として 0.2pg/mL) を 6 回繰り返し測定し, 同様に, 絶対検量線法と内標準法で求めた。Fig. 5 に絶対検量線法と内標準法で作成した検量線を示す。Fig. 5 に示すように, 検量線は, 両者とも PCQ 濃度として 0.8~200ng/ml の範囲で原点を通る良好な直線であり, 絶対検量線法では相関係数は 0.988, 内標準法では相関係数は 0.998 であった。また, 装置の検出下限は両方法とも 0.4 pg であり, 本測定法における血液中の PCQ の検出下限は, 絶対検量線法では 0.003ppb, 内標準法では 0.002ppb で, 両方法に大きな差はなかった。しかし, 本測定法では, 最終測定検液の量が 25 μ l と微量であるため, 絶対検量線法では濃度の制御や溶液の管理が困難である。したがって, ODCQ 測定では, 内標準法が有効であり, ^{13}C の導入された ODCQ もしくはその類縁化合物の合成が不可欠であると考えられる。

4. HRGC/HRMS による血液中 PCQ 測定の検証 (既存法である EDC/GC による ODCQ 測定との比較)

油症認定患者及び未認定患者の血液試料, 39 検体について, Fig.1 の方法に従って ECD/GC 用試

料と HRGC/HRMS 用試料に調製し, 各分析機器で PCQ を測定した。尚, 本検証において, HRGC/HRMS 測定では, 血液中に TDCT が存在することから, PCQ の定量には絶対検量線法を用いた。その検証結果について, 両測定法における測定結果の比較を Fig. 6 に示す。Fig. 6 に示すように, HRGC/HRMS での PCQ 測定結果は, ECD/GC での測定結果とほぼ同等であり, 高い相関を示した。Fig. 6 において低濃度領域は評価しにくいいため, 血液中 PCQ が 0.1ppb 以下 (油症の診断基準において血液中 PCQ が 0.1ppb 以上の場合, 「高い濃度」と定義されている) の個別の測定結果を Table 4 に示す。Table 4 に示すように, ECD/GC では PCQ が未検出であった血液試料が, HRGC/HRMS では PCQ が検出され, より低濃度の血液試料についても PCQ の検出が可能となった。さらに, PCQ を内標準法で定量すれば, 測定精度も向上すると考えられる。

総 括

二種類の異径のキャピラリーカラム (GC の注入側) に内径の小さいキャピラリーカラム (内径 0.1mm, 長さ 1m), 次に, 内径の大きい分析用キャピラリーカラム (内径 0.53mm, 長さ 15m) を用いることで機器分析時間の大幅な短縮と検出感度の向上が確認された。HRGC/HRMS と異径キャピラリーカラムの組み合わせにより, 装置の検出下限値は 0.4pg, 血液試料における PCQ の

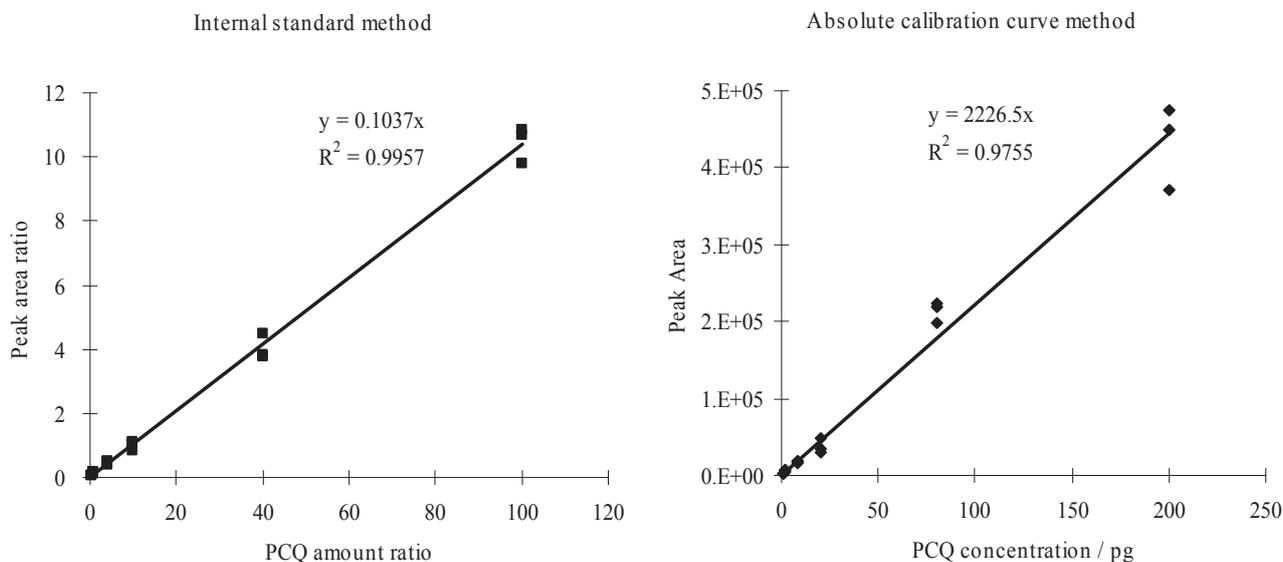


Fig. 5 The calibration curve of PCQ for the HRGC/HRMS measurement

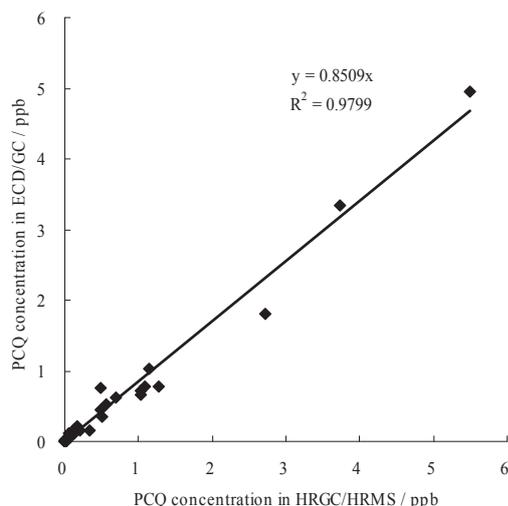


Fig. 6 The comparison of PCQ concentration in blood by ECD/GC and PCQ concentration in blood by HRGC/HRMS

Table 4 The comparison of PCQ in blood by ECD/GC and PCQ in blood by HRGC/HRMS in low concentration region.

PCQ (ppb) in ECD/GC	PCQ (ppb) in HRGC/HRMS
0.048	0.031
0.025	0.020
0.03	0.045
0.05	0.083
0.02	0.028
0.02	0.019
0.07	0.051
N.D.	0.004
N.D.	0.007
N.D.	0.01
N.D.	0.003
N.D.	0.004
N.D.	0.005
N.D.	0.004
N.D.	0.005
N.D.	0.002
N.D.	0.001
N.D.	0.004
N.D.	0.001
N.D.	0.004

定量下限値は、0.008ppbであった。健常者の血液中PCQ濃度は平均で0.02ppb以下と結論づけられており、目標定量下限値である0.02ppbを達

成することができた。従来法であるECD/GC測定と本研究のHRGC/HRMS測定では、油症認定患者及び健常者を含む血液中PCQ濃度は、両方法ともほぼ同等の結果であった。本研究では、HRGC/HRMS測定において絶対検量線法を用いたが、内標準物質（ ^{13}C を導入したODCQもしくはその類縁化合物）を合成し、内標準法を採用すれば、PCQのECD/GCによる測定よりHRGC/HRMSによる測定の方が測定精度も向上すると考えられる。

謝 辞

本研究は平成22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。

参 考 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) 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.
- 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) 前田浩一郎, 榎本 隆: 大阪府立公衆衛生研究所報告 食品衛生編, 9, 89, 1978.
- 6) 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.
- 7) 芦塚由紀, 中川礼子, 平川博仙, 堀 就英, 飯田隆雄: 油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析, 福岡医誌 96: 227-231, 2005.
- 8) J D Zeeuw, J Peene, H G Jansen and X Lou: A simple way to speed up separations by GC-MS using short 0.53mm columns and vacuum outlet conditions. *J. High Resol. Chromatogr.* 23: 677-680, 2000.

(Received for publication March 17, 2011)

Measurement Method for Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls in the Blood of Yusho Patients by Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry

Kazuhiro TOBISHI¹⁾, Takashi TODAKA²⁾, Hironori HIRAKAWA¹⁾, Tsuguhide HORI¹⁾,
Jumboku KAJIWARA¹⁾, Teruaki HIRATA¹⁾, Takao IDA³⁾,
Hiroshi UCHI²⁾⁴⁾ and Masutaka FURUE²⁾⁴⁾

¹⁾*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences
39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135*

²⁾*Department of Dermatology Graduate School of Medical Science, Kyushu University
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582*

³⁾*Kitakyusyu Life Science Center 1-4 Nakabaru-Shin-cho, Tobata-ku, Kitakyusyu 804-0003*

⁴⁾*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582*

Abstract Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) are formed as major metabolites of PCBs by cytochrome P450 enzyme-mediated oxidation. It has been reported that their total concentration in serum samples of Yusho patients ranged from 390 to 1300 pg/g.

We developed a measurement method for OH-PCBs in blood samples by LC/MS/MS. This method is effective at determining the concentrations of PCDDs, PCDFs, Co-PCBs and OH-PCBs from the same sample without special treatment of the sample.

The concentration of OH-PCBs in the blood of Yusho patients was examined using this method. The major OH-PCB metabolites were 4-OH-CB187 (54–906 pg/g-wet), 4-OH-CB146 + 3-OH-CB153 (32–527 pg/g-wet), 4-OH-CB109 (ND–229 pg/g-wet) and 4'-OH-CB172 (ND–143 pg/g-wet). The total OH-PCBs ranged from 95 to 1740 pg/g-wet.

Key words : Yusho, Blood, OH-PCB, LC/MS/MS

Introduction

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are one of the persistent and bioaccumulative chemicals. Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) are well known as metabolites of PCBs formed by the cytochrome P450 enzyme-mediated oxidation of PCBs. Enomoto et al.¹⁾ investigated the concentrations of OH-PCBs in the Japanese human blood plasma reporting that the major congeners and levels were 4-OH-CB109 10–230 pg/g-wet, 4-OH-CB146 13–340 pg/g-wet and 4-OH-CB187 12–110 pg/g-wet. Linderholm et al.²⁾ reported that the highest OH-PCB metabolite in serum samples from 9 Yusho patients was 4-OH-CB187 followed by 4-OH-CB146,

4-OH-CB109 and 4'-OH-CB120; further, that the total of 6 OH-PCB metabolites ranged between 390 and 1300 pg/g serum with a mean value of 780 pg/g serum.

Sakiyama et al.³⁾ reported that OH-PCBs were derivatized with dimethyl sulfate, and the methoxylated PCBs were determined using HRGC/HRMS. Matsumoto et al.⁴⁾ reported that methylation by trimethylsilyldiazomethane was an effective derivatization method. On the other hand, R.J. Letcher et al.⁵⁾ determined the concentrations of OH-PCBs in the plasma of Canadian polar bears using a liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) technique.

We previously developed an analytical method

for measuring the concentrations of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in human blood samples⁶⁾. Here, we modify this method for determination of OH-PCBs in human blood samples using LC/MS/MS with an electrospray ionization interface in a negative ion and selective reaction monitoring mode. This method is effective at determining the concentrations of PCDDs, PCDFs, Co-PCBs and OH-PCBs from the same sample, and does not need a special treatment such as derivatization.

Materials and Methods

1. Chemicals and reagents

OH-PCBs standards were purchased from Wellington Laboratories, Inc. (ON, Canada) and Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (MA, US). These OH-PCBs standards are listed in Table 1. Each 1 mg/L standard solution was prepared by dilution with acetonitrile. Labeled standards of OH-[¹³C₁₂]-PCBs, as internal standards, are listed in Table 2. Acetonitrile, methanol, formic acid and ultra pure water of LC/MS grade were purchased from Wako Pure Chemical Industries (Japan). A cartridge of Envi-18 (500mg / 6mL

tube) was purchased from Sigma-Aldrich, Inc. (MO, US).

2. Sample preparation

The blood samples examined in this study were collected from 27 Yusho patients from whom informed consent was obtained. Each 5g blood sample was loaded into an extraction cell filled with Isolute. After freeze-drying, OH-[¹³C₁₂]-PCBs, [¹³C₁₂]-PCDDs, [¹³C₁₂]-PCDFs and [¹³C₁₂]-Co-PCBs were added as internal standards. Acetone : n-hexane (1 : 4, v/v) was used as the extraction solvent for an accelerated solvent extractor. After the extract was evaporated to near dryness, it was dissolved in n-hexane and treated with sulfuric acid overnight. The separated hexane layer was applied to a silver nitrate / silica gel column. The first fraction containing PCDDs, PCDFs and Co-PCBs was eluted with 15mL of n-hexane. OH-PCBs were eluted with 15mL of 50% dichloromethane / n-hexane as the second fraction. The eluate was concentrated to near dryness with a multiple sample concentrator, and dissolved in 2mL of methanol. After the methanol solution was loaded onto an Envi-18 cartridge with 4mL of methanol, the eluate was concentrated under nitrogen flow and transferred to an LC injection vial with 0.2mL of methanol. A flow chart of this method is shown in Fig. 1.

3. LC/MS/MS Measurement

All LC/MS/MS analysis was performed using an Alliance 2695 series high-performance Liquid Chromatograph Separations Module (Waters, US) equipped with Quattro micro API mass spectrometer (Waters, US). An analytical column, CAPCELL PAK C18 MG III, 2.1 mm × 150 mm, 5 μm (SHISEIDO, Japan) was used under a linear gradient solvent condition with the flow rate set at 0.2mL/min. The initial mobile phase was 40 : 60 methanol / 0.1% formic acid in ultra pure water. The injection volume was 10 μL. Detection was performed on a quadrupole analyzer operated in negative electrospray ionization

Table 1 OH-PCBs standards

Compounds	Abbreviations	
4-OH-2,2',4',6',6'-PeCB	4'-OH-CB104	4H104
4-OH-2,3,3',4',5'-PeCB	4'-OH-CB109	4H109
3-OH-2,2',3',4',4',5'-HxCB	3'-OH-CB138	3H138
4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB	4'-OH-CB146	4H146
4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB	4'-OH-CB172	4H172
4-OH-2,2',3,4',5,5',6'-HpCB	4'-OH-CB187	4H187

Table 2 OH-[¹³C₁₂]-PCBs for internal standards

Compounds	Abbreviations	
4-OH-2,3,3',4',5'-PeCB	4'-OH-CB109	M4H109
4-OH-2',3,4',5,5'-PeCB	4'-OH-CB120	M4H120
3-OH-2,2',3',4',4',5'-HxCB	3'-OH-CB138	M3H138
4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB	4'-OH-CB146	M4H146
4-OH-2',3,3',4',5,5'-HxCB	4'-OH-CB159	M4H159
4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB	4'-OH-CB172	M4H172
4-OH-2,2',3,4',5,5',6'-HpCB	4'-OH-CB187	M4H187

Table 3 Analytical conditions for the LC/MS/MS measurement

Flow Rate	0.2 mL/min.	
Injection Volume	10 μ L	
Column Temperature	40 $^{\circ}$ C	
Mobile Phase	0.1% Formic acid : Methanol = 60 : 40 \rightarrow 10 : 90 linear gradient	
Temperature ; Source	120 $^{\circ}$ C	
	Desolvation	350 $^{\circ}$ C
Gas Flow ;	Cone	Nitrogen, 50 L/hr
	Desolvation	Nitrogen, 600 L/hr
Voltage ;	Cone	30-50 V
	Capillary	2.0 kV
Collision	Argon, 15 eV	
Ionization	ESI-Negative	

Table 4 Mass method for the LC/MS/MS measurement

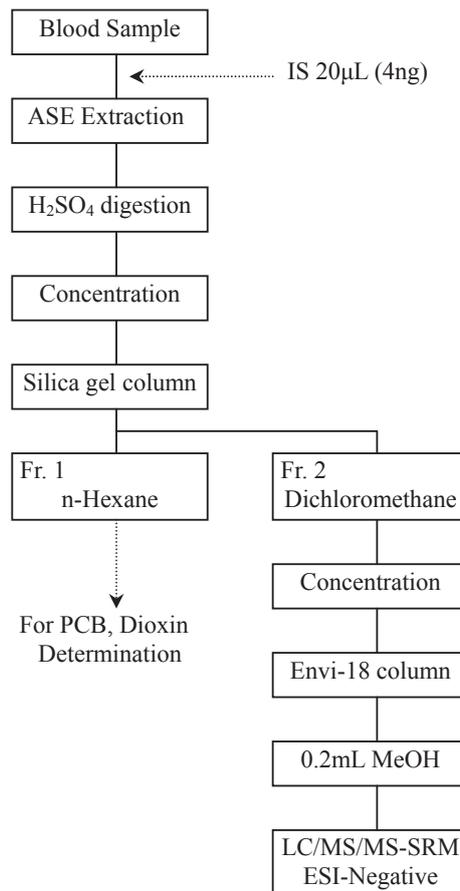
Compounds	Precursor ion \rightarrow product ion	
	m/z	
OH-PeCBs	^{12}C	340.87 \rightarrow 340.87
	^{13}C	352.91 \rightarrow 352.91
OH-HxCBs	^{12}C	374.83 \rightarrow 374.83
	^{13}C	386.87 \rightarrow 386.87
OH-HpCBs	^{12}C	408.79 \rightarrow 408.79
	^{13}C	420.83 \rightarrow 420.83

(ESI-) and in selected reaction monitoring acquisition mode (SRM). Nitrogen was used as the cone and desolvation gas. The potential applied onto the capillary was 2.0 kV. Cone and collision potentials were optimized for each molecule. Argon was used as the collision gas. Other analytical conditions for the LC/MS/MS measurements are summarized in Table 3.

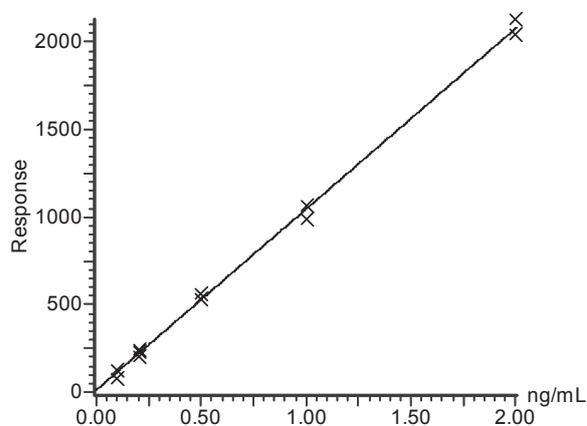
Results and Discussion

1. LC/MS/MS measurements

Fig. 2 shows the calibration curve of 4-OH-CB187, which ranged from 0.1 to 2.0 ng/mL. Fig. 3, 4 and 5 illustrate the LC/MS/MS chromatograms of hydroxylated penta- through hepta-chlorinated biphenyls in SRM mode. The standard solution contains all OH-PCB congeners as shown in Table 1 and 2. $[\text{M}-\text{H}]^-$ ions were

**Fig. 1** Flow chart of the measurement method for OH-PCBs in blood samples

Compound name: HpCB187-4OH
 Correlation coefficient: $r = 0.999005$, $r^2 = 0.998012$
 Calibration curve: $1034.09 * x + 10.969$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: No

**Fig. 2** Calibration curve of 4-OH-CB187 (0.1~2.0ng/mL)

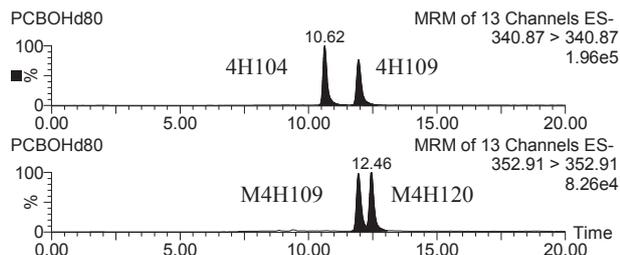


Fig. 3 LC/MS/MS chromatograms of 8 ng/mL OH-PeCB standards

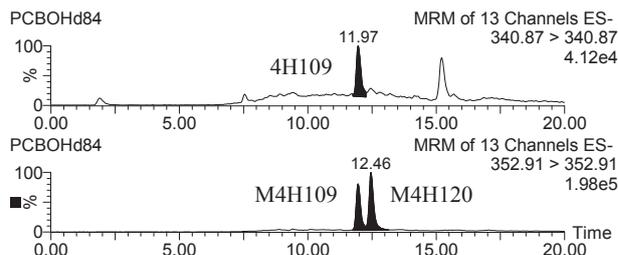


Fig. 6 LC/MS/MS chromatograms of OH-PeCBs in the blood of Yusho patient

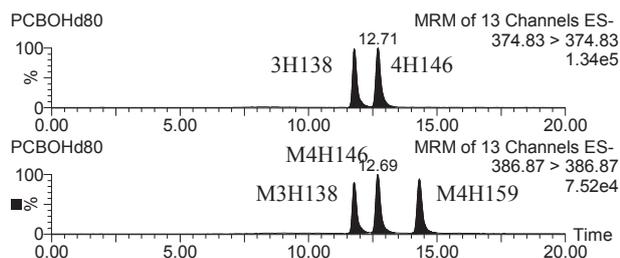


Fig. 4 LC/MS/MS chromatograms of 8 ng/mL OH-HxCB standards

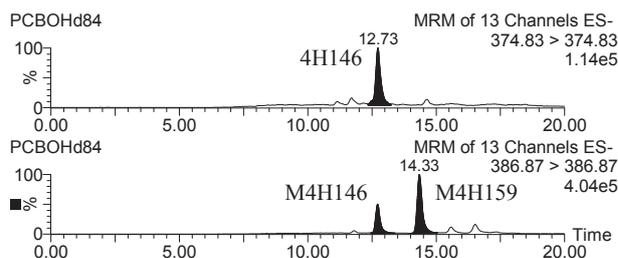


Fig. 7 LC/MS/MS chromatograms of OH-HxCBs in the blood of Yusho patient

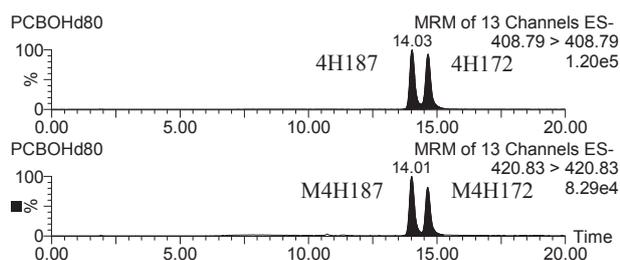


Fig. 5 LC/MS/MS chromatograms of 8 ng/mL OH-HpCB standards

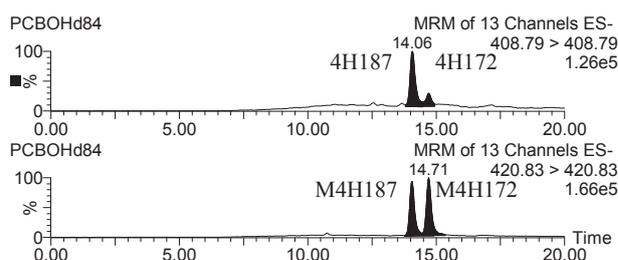


Fig. 8 LC/MS/MS chromatograms of OH-HpCBs in the blood of Yusho patient

observed from each OH-PCBs standard solution in the negative ion mode. Precursor ion and product ion were set with m/z : 340.87 \rightarrow m/z : 340.87 and m/z : 352.91 \rightarrow m/z : 352.91 for the native and ^{13}C -labelled ions, respectively. Other mass methods for the LC/MS/MS measurement are summarized in Table 4.

2. Analysis of OH-PCBs in blood samples

Fig. 6, 7 and 8 show the LC/MS/MS chromatograms of OH-PCBs in one of the blood samples collected. Peaks of 4-OH-CB109, 4-OH-CB146 + 3-OH-CB153, 4-OH-CB187 and 4'-OH-CB172 were detected, but 4-OH-CB146 and 3-OH-CB153 could not be separated in these analytical conditions, while 3'-OH-CB138 could

not be observed because of low recovery. We suspected that 3'-OH-CB138 degrades under sulfuric acid treatment. Concentrations of OH-PCBs in the blood of the 27 Yusho patients are summarized in Table 5. The major OH-PCB metabolite (range) was 4-OH-CB187 (54-906 pg/g-wet) followed by 4-OH-CB146 + 3-OH-CB153 (32-527 pg/g-wet), 4-OH-CB109 (ND-229 pg/g-wet) and 4'-OH-CB172 (ND-143 pg/g-wet). The total of 4 OH-PCBs ranged between 95 and 1740 pg/g-wet with a mean value of 687 pg/g-wet. These results were in good agreement with those reported by Linderholm et al.

In conclusion, we developed measurement method for OH-PCBs in blood by LC/MS/MS.

Table 5 Concentrations of OH-PCBs in blood of Yusho patients (pg/g-wet, n = 27)

Congeners	Mean	Median	Min.	Max.	SD	CV
4-OH-CB109	86	86	ND	229	55.0	0.642
4-OH-CB146 + 3-OH-CB153	215	211	32	527	101	0.470
4-OH-CB187	326	326	54	906	172	0.527
4'-OH-CB172	60	50	ND	143	39.9	0.661
Total OH-PCBs	687	602	95	1740	332	0.483

ND : Not detected, SD : Standard deviation, CV : Coefficient of variation

Developed method was effective at determining the concentrations of PCDDs, PCDFs, Co-PCBs and OH-PCBs from a single blood sample without special treatment.

Acknowledgements

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) Enomoto T, Nishino Y, Matsuda M, Kawano M and Wakimoto T : Hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites (HO-PCBs) in human blood plasma-Development of analytical methods and their residue in Japanese general population-J. Environ. Chem. 16 : 51-59, 2006.
- 2) Linderholm L, Masuda Y, Athanasiadou M and Bergman Å : PCB and PCB metabolites in serum from Yusho patients 37 years after accident. Organohalogen Comp. 69 : 2141-2144, 2007.
- 3) Sakiyama T, Yamamoto A, Kakutani N, Fukuyama J and Okumura T : Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the aquatic environment : Levels and congener profiles in sediments from Osaka, Japan. Organohalogen Comp. 69 : 1380-1383, 2007.
- 4) Matsumoto K, Iseki N, Kameda H, Okumura T, Kashima Y and Shiozaki T : The highly effective methylation method for hydroxylated polychlorinated biphenyls. Organohalogen Comp. 68 : 2442-2445, 2006.
- 5) R J Letcher, H X Li and S G Chu : Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (HO-PCBs) in blood plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem quadrupole mass spectrometry. J. Anal. Toxicology 29 : 2005.
- 6) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol of dioxin analysis in human blood. Fukuoka Igaku Zasshi 94 : 148-157, 2003.

(Received for publication March 23, 2011)

(和文抄録)

液体クロマトグラフ質量分析計による油症認定患者血液中の水酸化ポリ塩化ビフェニルの測定法

¹⁾福岡県保健環境研究所

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾北九州生活科学センター

⁴⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

飛石 和大¹⁾, 戸高 尊²⁾, 平川 博仙¹⁾, 堀 就英¹⁾, 梶原 淳睦¹⁾,
平田 輝昭¹⁾, 飯田 隆雄³⁾, 内 博史²⁾⁴⁾, 古江 増隆²⁾⁴⁾

水酸化ポリ塩化ビフェニル (OH-PCBs) は、人体内における PCB の主要代謝物である。OH-PCBs は体内でチトクローム P450 酵素誘導により PCB から生成され、油症認定患者の血清から 390-1300pg/g の濃度で検出された報告がある。

OH-PCBs の測定法に関し、従来の分析法では複雑な前処理を必要としていたが、測定装置に LC/MS/MS を用いることで、前処理の簡略化を達成した。本法の利点は、従来から測定を行っているダイオキシン類分析用の血液試料から、OH-PCBs を分離することで、OH-PCBs の分析のために新たに血液試料を確保する必要が無いことである。

油症認定患者の血液を用いて、本法に基づいて分析した結果、主要な PCB の代謝物は、4-OH-CB187 (54-906 pg/g-wet), 4-OH-CB146 + 3-OH-CB153 (32-527 pg/g-wet), 4-OH-CB109 (ND-229 pg/g-wet), 4'-OH-CB172 (ND-143 pg/g-wet) であり、その合計は 95-1740 pg/g-wet であった。

ダイオキシン母体曝露が胎児ステロイド産生臓器の 性ステロイドホルモン合成系に及ぼす影響

九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学分野

武田知起, 田浦順樹, 藤井美彩紀, 古賀貴之, 石井祐次, 山田英之

The Effect of Maternal Exposure to Dioxin on Fetal Steroidogenesis in the Steroidogenic Organs

Tomoki TAKEDA, Junki TAURA, Misaki FUJII, Takayuki KOGA, Yuji ISHII and Hideyuki YAMADA

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Abstract 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) exposed to pregnant or lactational mother impairs the reproduction and development of the pups. The defect is a serious problem, because it is caused by TCDD at much lower doses than that needed for acute toxicity in the mother. However, the toxic mechanism underlying the defect remains to be obscure. We have previously revealed that maternal exposure to TCDD (1 µg/kg) causes a reduction in luteinizing hormone in the fetal pituitary, leading to the reduced expression of testicular steroidogenic proteins such as steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) and cytochrome P450 (CYP) 17. In addition, we have provided evidence that such a reduction imprints defects in sexual behaviors at adulthood. In this study, we investigated TCDD effect on fetal steroidogenesis in the extra-gonadal tissues. Even when pregnant Wistar rats at gestational day (GD) 15 were orally treated with TCDD (0.25, 1 or 3 µg/kg), neither expression of StAR nor CYP17 mRNA was affected in the adrenal gland, placenta and hypothalamus of male fetuses (GD20). However, TCDD induced placental StAR (3 µg/kg) and adrenal CYP17 mRNAs (0.25 µg/kg) in female fetuses. Therefore, our study suggests that while TCDD gives damage to male fetal steroidogenesis in a testis-specific manner, the dioxin enhances the steroidogenesis of the fetal adrenal gland and placenta in females. Thus, the mechanism whereby TCDD exerts its endocrine-disrupting properties is considered to differ, at least partially, between male and female fetuses.

Key words : 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD), Cytochrome P450 17, Fetus steroidogenesis, Steroidogenic acute-regulatory protein

はじめに

2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に代表されるダイオキシン類は, 生体に多様な障害を惹起することが知られている。これらは, 高用量曝露により観察される毒性 (消耗症, 発ガンプロモーション作用あるいは肝障害など) と, 妊娠期あるいは授乳期の母親が比較的低用量の曝露を受けた場合に児において認められる毒性 (生殖毒性, 発達毒性, 催奇形成など) に大別される¹⁾²⁾。前者は偶発的な高濃度曝露でも受けない限り発生しにくいと思われるが, 後者は発現に要する曝露量の少なさおよび次世代へ影響を及ぼす

ゆえに問題が大きい。中でも, 生殖毒性は他の毒性と比較してより低用量の曝露により発現することから²⁾, 機構解明や対処法の構築が望まれる。これまでの多くの研究から, ダイオキシン類は抗エストロゲン作用を有することが報告されており, これが生殖毒性発現機構の一端を担うと推定されている^{3)~10)}。具体的には, エストロゲンレセプターシグナルに対する競合的影響³⁾⁵⁾⁸⁾, エストロゲンレセプターの発現低下⁴⁾⁹⁾, エストロゲン合成/分泌低下⁶⁾およびエストロゲン代謝酵素の誘導⁷⁾¹⁰⁾等である。しかし, これらの機構の障害への寄与はよく理解されていない。

当研究室では, 生殖毒性発現機構の解明を目指

し、ラットを用いた解析を行ってきた。これまでに、妊娠ラットへの TCDD 曝露により、胎児脳下垂体において luteinizing hormone (LH) の発現が低下し、これを起点として精巣の steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) 等の性ステロイド合成系タンパク質の発現が低下することを既に報告している¹¹⁾¹²⁾。さらに、TCDD 曝露胎児に LH を補給することで成長後の性行動障害がほぼ改善されることから、本障害の主たる要因が胎児期特異的な LH の低下にあることも実証している¹³⁾。しかし、我々がこれまでに報告している性ステロイド合成系への影響は、主に性腺での検討であり、他の臓器に対する影響は詳細に検討していない。

性腺以外のステロイド産生臓器の一つとしては、糖質コルチコイド、鉱質コルチコイドおよび副腎アンドロゲンを産生する副腎がある。副腎は発生の起源が性腺と同一であり、胎児期には性ステロイド合成系を発現することが知られている^{14)~16)}。また、胎児期の副腎は LH 受容体を発現することから¹⁶⁾、胎児期における LH の低下は、副腎におけるステロイド合成系にも影響する可能性も考えられる。胎児期においては、胎盤も重要なステロイド産生臓器と位置づけられる。ヒトの場合、妊娠後期に主要なエストロゲン産生臓器が卵巣から胎盤に変化し、胎盤機能が母子間の正常なステロイド環境の保持に重要な役割を演じている¹⁷⁾¹⁸⁾。現在のところ、同様の機構がラットにおいても存在するか否かは明確にされていない。しかし、ラット胎盤も progesterone 産生能を有し¹⁹⁾、StAR 等のステロイド合成系タンパク質が発現していることから²⁰⁾²¹⁾、ラット胎盤もステロイド産生臓器としての機能を有することが示唆されている。

ステロイドホルモン制御における胎盤の役割には性差が存在する可能性が高い。胎児ラットの卵巣は LH に対する応答性が微弱であり²²⁾²³⁾、性ステロイド産生能が雄に比較してはるかに低い。しかし、胎児終期における総テストステロン量には大きな性差は認められない²⁴⁾。また、胎児末梢血中の性ステロイドホルモンレベルは雄の方が高いのに対し、臍帯血中においては雌雄差は殆ど認められず、このレベルは雌の末梢血中レベルとほぼ同等である²⁵⁾。これらの矛盾から、雌胎児では胎

盤を介して主要な性ステロイドが供給される一方、雄胎児では胎盤により性ステロイドが代謝されたのち循環血に戻る機構が考えられる。これはヒトで想定されている機構であるが、ラット胎盤も性特異的な機能を通してステロイド調節に関与するものと推定される。

近年、脳で合成されるステロイドホルモンが脳機能に寄与することが明らかとなりつつある。これは、脳内にも StAR などのステロイド合成系タンパク質の発現が認められ、成熟動物脳内ではステロイドレベルが末梢血中のレベルよりも数倍高濃度で存在する等の基礎的報告に基づく^{26)~28)}。胎児脳内の各部位においても高濃度の性ステロイドホルモンが存在し、それらの水準に性差は存在しないとの報告もなされている²⁹⁾。従来は、雌胎児の脳分化にはステロイドホルモン刺激を受けないことが必要と考えられていた訳であり³⁰⁾³¹⁾、学説が変わる可能性が浮上してきている。従って、胎児の脳分化・性分化、特に雌胎児においては脳の局所でも多くのステロイド合成が行われる可能性がある。

前述の通り、これまで我々は TCDD の胎児生殖腺のステロイド合成に及ぼす影響に焦点を当ててきた。しかし、生殖腺以外のステロイド産生組織への影響が TCDD の障害性に寄与する可能性は否定できない。そこで本研究では、胎児ステロイド産生臓器として報告されている副腎、胎盤および脳(視床下部)に着目し、TCDD 母体曝露によるステロイド合成系タンパク質の mRNA 発現変動を解析した。

実験方法

1. 実験材料

TCDD は、AccuStandard 社 (New Haven, CT, USA) より購入した。Corn oil は、味の素株式会社の市販品を購入した。その他の試薬は、実験に適した純度のものを使用した。

2. 動物実験

TCDD は 40 µg/mL acetone 溶液を調製し、使用まで -30°C に保存した。用時に必要量 corn oil と混和したのち、acetone を窒素ガスにて留去し、TCDD が 0.125, 0.5 および 1.5 µg/mL となるように調製した。

Wistar系雌性ラット（7週齢）および雄性ラット（10週齢）は、九動株式会社（熊本市）より購入した。雌と雄ラットを一晩交配し、翌日膈内に精子が確認された場合、妊娠0日目とした。妊娠15日目に、TCDD（0.25, 1あるいは3 $\mu\text{g}/\text{kg}/2$ mL corn oil）を経口投与した。TCDDの投与量は、当研究室のこれまでの成果から胎児精巣においてStAR等の低下が確認されている1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を基準として設定した。また、対照群にはcorn oil（2 mL/kg）を投与した。妊娠20日目に胎児を摘出し、性腺、副腎、胎盤および視床下部を採取した。臓器は、液体窒素にて急速凍結し、使用まで -80°C に保存した。

3. リアルタイム RT-PCR

目的タンパク質のmRNA発現量は、リアルタイム reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて解析した³²⁾。摘出臓器より、RNeasy Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) を用いて、total RNAを抽出した。Total RNAは、DNase I処理 (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) を行いゲノムDNAを除去したのち、PrimeScript RT reagent kit (タカラバイオ株式会社、滋賀市) を用いてcDNAを合成した。リアルタイム PCRは、Fast SYBR Green Master Mix (Life Technologies) を使用し、反応条件は [95 $^{\circ}\text{C}$, 20 sec. - 40 cycle (95 $^{\circ}\text{C}$, 3 sec. - 60 $^{\circ}\text{C}$, 30 sec.)] とした。この反応ののち、増幅産物の特異性を確認するために melting curve [95 $^{\circ}\text{C}$, 15 sec. - 60 $^{\circ}\text{C}$, 1 min. - 60 to 95 $^{\circ}\text{C}$ (0.3 $^{\circ}\text{C}$ ずつ上昇, 各 15 sec.)] を作製した。使用したプライマーは Table 1 に示す。解析には comparative threshold cycle method ($\Delta\Delta\text{CT}$ 法) を用いた。

すなわち、 β -actinを内標準物質とし、目的遺伝子の threshold cycle (Ct) 値を β -actinのCt値から差し引いて ΔCT を算出し、さらに各群の ΔCT と対照群の ΔCT の差($\Delta\Delta\text{CT}$)を求めたのち対照群に対する相対値として比較した。

結 果

まず、母体に処理したTCDDが胎児に移行していることを確認するために、ダイオキシン曝露により鋭敏に誘導されることが知られている遺伝子であるCYP1A1のmRNA発現を解析した。その結果、いずれの臓器においても用量依存的な発現誘導が認められ、母体処理したTCDDは胎児の観察対象組織に移行することが確認された(データ未掲載)。そこで、性ステロイド合成系に対する影響を検討するために、各臓器におけるStARおよびCYP17のmRNA発現変動を解析した。StARは、ステロイドホルモンの原料であるコレステロールをミトコンドリア内へ輸送するタンパク質であり、ステロイドホルモン合成の律速過程として知られている³³⁾。またCYP17は、性ステロイドホルモンの合成に必要な酵素である³⁴⁾。確認のため、TCDD (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 母体曝露による胎児精巣StARおよびCYP17の発現変動も併せて解析した。その結果、既報と同様、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TCDDの母体処理は胎児精巣の両mRNA発現を有意に低下させた (Fig. 1)。

TCDD母体曝露後に副腎、胎盤および視床下部のStAR mRNAの発現変動を検討した結果、雄胎児では0.25, 1および3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のいずれの用量においても有意な変動は認められなかった (Fig. 2)。一方、雌胎児でも、副腎と視床下部では3種の用量で有意な変動は観察されなかったが、胎盤

Table 1 The design of primer sequence for real-time PCR

Target mRNA	Forward (5' → 3') Reverse (5' → 3')	Product size (bp)	Accession No. ^a
StAR	ACACTTTGGGGAGATGCCTG CGTGAGTTTGGTCTTTGAGG	109	U76419
CYP1A1	CCATGACCAGGAAGTATGGG ATGACCTTCTCACTCAGGTG	99	NM_012540
CYP17	GCACAATCCTGAGGTGAAGA CTGATACGCAGCACTTCTCG	135	M31681
β -actin	CACCATGTACCCAGGCATCGC AGCCACCAATCCACACAGAG	122	V01217

^aGenbank accession No. is shown.

では 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 処理により 2 倍程度の誘導が認められた (Fig. 3). CYP17 mRNA の発現変動に関しても同様に解析を行ったところ, 雄胎児ではいずれの臓器においても影響が認められなかった (Fig. 4). しかし, 雌胎児の副腎では最低用量の 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ でのみ誘導が観察された (Fig. 5). 胎盤および視床下部においては影響は認められなかった (Fig. 5).

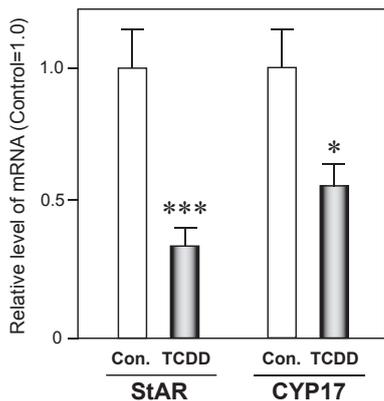


Fig. 1 Reduction in the testicular expression of StAR and CYP17 mRNAs in fetal rats by maternal exposure to TCDD. TCDD was given to pregnant rats (GD15) at a dose of 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (p.o.), and fetal expression of mRNAs indicated was analyzed at GD20. Each bar represents the mean \pm S.E.M. of 6 fetuses which were removed from 6 different dams. Significantly different from control : * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

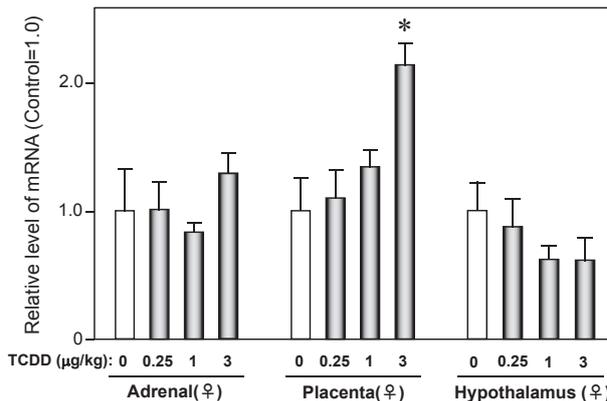


Fig. 3 Effect of TCDD on the expression of StAR mRNA in the non-gonadal steroidogenic tissues of female fetuses. Each bar represents the mean \pm S.E.M. of 3-6 fetuses which were removed from 3-6 different dams. Significantly different from control : * $p < 0.05$.

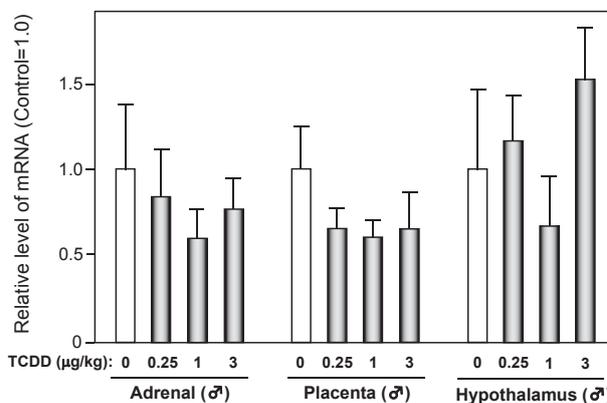


Fig. 4 Absence of the TCDD effect on the expression of CYP17 mRNA in the non-gonadal steroidogenic tissues of male fetuses. Each bar represents the mean \pm S.E.M. of 3-6 fetuses which were removed from 3-6 different dams.

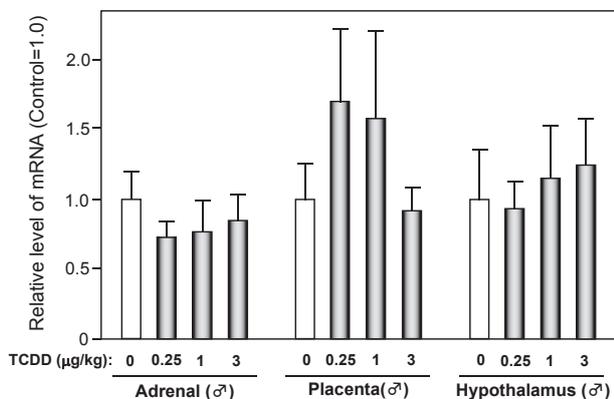


Fig. 2 Absence of the TCDD effect on the expression of StAR mRNA in the non-gonadal steroidogenic tissues of male fetuses. Each bar represents the mean \pm S.E.M. of 3-6 fetuses which were removed from 3-6 different dams.

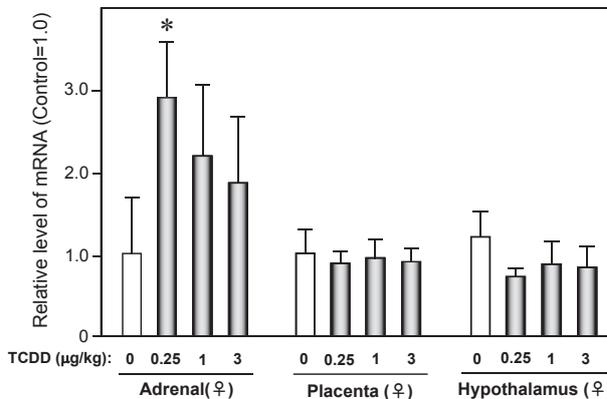


Fig. 5 Effect of TCDD on the expression of CYP17 mRNA in the non-gonadal steroidogenic tissues of female fetuses. Each bar represents the mean \pm S.E.M. of 3-5 fetuses which were removed from 3-5 different dams. Significantly different from control : * $p < 0.05$.

胎児のStARとCYP17 mRNAの基礎発現水準を今回解析対象とした3臓器間で比較した結果をTable 2に示す。副腎では雌雄ともにStARは他の臓器に比較して高いものの、CYP17の発現は非常に低く、胎児期においても性ステロイド産生能は低いことが推定された。一方で、胎盤においては両遺伝子ともに精巣の5~10%程度の発現が認められ、特に雌では、胎盤における発現量が他の臓器に比較すると高値を示した。

考 察

本研究では、性腺以外のステロイド生産臓器である副腎、胎盤および視床下部に着目して、TCDD母体曝露による胎児ステロイド合成系タンパク質の発現変動を解析した。その結果、雄胎児ではいずれの臓器に関しても精巣において観察されるStARおよびCYP17 mRNAの発現低下は認められなかった(Figs. 1, 2 and 4)。却って、胎盤のStARは誘導傾向が認められた(Fig. 2)。このことから、TCDD母体曝露による雄胎児ステロイドホルモン合成系低下は、精巣特異的な現象であることが示唆された。一方、雌胎児に関しては、0.25 µg/kgにおいて副腎CYP17、3 µg/kgにおいて胎盤StARの有意な発現誘導が観察された(Figs. 3 and 5)。このことから、ステロイド合成系に対するTCDDの影響に関しては性差が存在するものと考えられた。副腎におけるCYP17の誘導因子としては、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、アンジオテンシンII、あるいはcorticotropin-releasing hormone (CRH)の直接作用などが報告されている^{35)~37)}。副腎の初代培養系においては、低濃度のTCDD(0.1 pM)によりACTHの合成/分泌量が増大し³⁸⁾、またTCDD

の周産期曝露は児のアンジオテンシンIIに対する応答性を高めることが報告されている³⁹⁾。さらに、サルではTCDD曝露によりCRHの発現が誘導されると言う⁴⁰⁾。これらのうち、ACTHとアンジオテンシンIIに関しては、StAR発現刺激因子としても重要であることが知られているため、これらをCYP17特異的な変動の要因とするのは適切ではないかもしれない。しかし、CRHに関してはCYP17特異的影響を説明する因子の可能性があり、今後、詳細な検討を行う必要がある。胎盤のStARの発現制御に関しては刺激因子等に未だ不明な点が多く、従って、TCDDによる胎盤StARの増加もその機構は不明である。ステロイド合成系の発現を制御する転写因子の種類や働きは臓器間で異なることが報告されており³⁶⁾⁴¹⁾、これに関する基礎的機構の理解を含めて今後の課題と考えられる。ダイオキシン類は細胞質画分に存在する芳香族炭化水素受容体(AhR)に結合し、多くの遺伝子上流に存在するコンセンサス配列[xenobiotic responsive element (XRE)]への結合を介してそれらの遺伝子発現変動を引き起こす⁴²⁾。StARおよびCYP17の遺伝子上流10,000 base pairに関してXREのコア配列(5'-CACGC-3')を検索したところ、StARは3ヶ所(-2,615, -3,260および-6,295)、CYP17には-813に1ヶ所の存在が確認された。従って、TCDDはこれらの配列を介して発現を誘導した可能性も考えられる。雌特異的な変動の原因に関しては不明であるが、ヒト等においては胎盤における雌雄の遺伝子発現状況ならびに役割には違いがあることはすでに理解されており⁴³⁾、性差の面からもアプローチが必要である。

本研究では、StARおよびCYP17の基礎発現量

Table 2 Sex and organ differences in the expression of StAR and CYP17 mRNAs in the steroidogenic tissues of fetal rats.

mRNA	Relative level of mRNAs*			
	Gonad**	Adrenal	Placenta	Hypothalamus
[Male]				
StAR	1.00 ± 0.09	23.8 ± 4.85	0.098 ± 0.028	0.0022 ± 0.0008
CYP17	1.00 ± 0.14	0.00054 ± 0.00021	0.093 ± 0.023	0.000015 ± 0.000007
[Female]				
StAR	0.0079 ± 0.0007	13.8 ± 3.93	0.046 ± 0.012	0.0049 ± 0.0011
CYP17	0.0017 ± 0.0004	0.00027 ± 0.00019	0.049 ± 0.015	0.000018 ± 0.000005

*Each level of mRNA was normalized by β -actin mRNA, and expressed as the relative value to that of the testis (target mRNA/ β -actin = 1.00).

**Testis (male) and ovary (female) were analyzed.

Each value represents the mean ± S.E.M. of 3-6 fetal rats removed from untreated different dams (gestational day 20).

の臓器間比較も行った (Table 2). 副腎では, StAR の発現は高いものの性ステロイド合成に関わる CYP17 の発現は遥かに低値であり, ラット胎児終期でも副腎は糖質/鉱質コルチコイド生産に比重を置く機能を担うものと推定された. 一方, 胎盤では両遺伝子とも比較的の高い水準で発現しており, 雄では精巣の 10%, 雌では 5 % 程度が発現していた. ごく最近, 胎児視床下部が性ステロイド産生臓器として重要な役割を演じるとの研究が発表されている²⁹⁾. しかし, 視床下部での StAR と CYP17 mRNA の発現は精巣の 0.2% 以下であり, 特に後者の発現は痕跡程度である (Table 2). このように, 胎盤における StAR/CYP17 の発現は副腎や視床下部と比較して明らかに高く, これは胎盤が生殖腺と共に重要な性ステロイド産生臓器であることを支持する. 胎盤においては, TCDD による StAR の発現誘導が観察され [雄では増加傾向; 雌では有意な誘導 (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$)], 精巣 StAR とは変化の方向が逆であった. これと関連し, 最近当教室では TCDD 母体曝露が胎児のテストステロン水準に及ぼす影響を解析した. その結果, 胎児精巣のテストステロン含量は TCDD によって対照の 5 % 程度にまで顕著に低下するが, 血液中の水準は対照の 60% 程度までにしか低下しなかった (未発表データ). この理由として, 上記の精巣-胎盤間の TCDD 作用の違いが関与する可能性がある. つまり, 精巣のテストステロン生産能低下が胎盤での産生増加で一部相補されるためとも考えられる. ただ, 精巣の性ステロイド合成系は TCDD 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で障害されるのに, 胎盤合成系の誘導にはより高用量 (雌胎児のデータ) を有する結果となっており, 上記推定の確認のためにはより詳細な解析を要する.

結 論

TCDD 母体曝露による雄胎児ステロイド合成系障害は, 精巣特異的に生じることが明らかとなった. 一方, 胎児の副腎や胎盤においても TCDD の影響 (発現増加ないしその傾向) が観察されたことから, 障害やその機構は臓器によって異なる可能性が示唆された. また, 胎児ステロイド合成系への TCDD 作用には性差があることも示唆された.

謝 辞

本研究の一部は, 厚生労働科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業) (課題番号: H22-食品-指定-001) による.

参 考 文 献

- 1) 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.
- 2) Peterson RE, Theobald HM and Kimmel GL : Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds : cross-species comparisons. *Crit. Rev. Toxicol.* 23 : 283-335, 1993.
- 3) Gallo MA, Hesse EJ, Macdonald GJ and Umbreit TH : Interactive effects of estradiol and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on hepatic cytochrome P-450 and mouse uterus. *Toxicol. Lett.* 32 : 123-132, 1986.
- 4) Romkes M, Piskorska-Pliszczynska J and Safe S : Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on hepatic and uterine estrogen receptor levels in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 87 : 306-314, 1987.
- 5) Kharat I and Saatcioglu F : Antiestrogenic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin are mediated by direct transcriptional interference with the liganded estrogen receptor. *J. Biol. Chem.* 271 : 10533-10537, 1996.
- 6) Moran FM, Conley AJ, Corbin CJ, Enan E, VandeVoort C, Overstreet JW and Lasley BL : 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin decreases estradiol production without altering the enzyme activity of cytochrome P450 aromatase of human luteinized granulosa cells in vitro. *Biol. Reprod.* 62 : 1102-1108, 2000.
- 7) Badawi AF, Cavalieri EL and Rogan EG : Effect of chlorinated hydrocarbons on expression of cytochrome P450 1A1, 1A2 and 1B1 and 2- and 4-hydroxylation of 17 β -estradiol in female Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis* 21 : 1593-1599, 2000.
- 8) Khan S, Barhoumi R, Burghardt R, Liu S, Kim K and Safe S : Molecular mechanism of inhibitory aryl hydrocarbon receptor-estrogen receptor/Sp1 cross talk in breast cancer cells. *Mol. Endocrinol.* 20 : 2199-2214, 2006.
- 9) Ohtake F, Baba A, Takeda I, Okada M, Iwasaki K, Miki H, Takahashi S, Kouzmenko A, Nohara

- K, Chiba T, Fujii-Kuriyama Y and Kato S : Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase. *Nature* 446 : 562-566, 2007.
- 10) Spink DC, Lincoln DW, Dickerman HW and Gierthy JF : 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin causes an extensive alteration of 17beta-estradiol metabolism in MCF-7 breast tumor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87 : 6917-6921, 1990.
 - 11) Mutoh J, Taketoh J, Okamura K, Kagawa T, Ishida T, Ishii Y and Yamada H : Fetal pituitary gonadotropin as an initial target of dioxin in its impairment of cholesterol transportation and steroidogenesis in rats. *Endocrinology* 147 : 927-936, 2006.
 - 12) Taketoh J, Mutoh J, Takeda T, Ogishima T, Takeda S, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Suppression of fetal testicular cytochrome P450 17 by maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin : a mechanism involving an initial effect on gonadotropin synthesis in the pituitary. *Life Sci.* 80 : 1259-1267, 2007.
 - 13) Takeda T, Matsumoto Y, Koga T, Mutoh J, Nishimura Y, Shimazoe T, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Maternal exposure to dioxin disrupts gonadotropin production in fetal rats and imprints defects in sexual behavior. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 329 : 1091-1099, 2009.
 - 14) O'shaughnessy PJ, Baker PJ and Johnston H : Neuroendocrine regulation of leydig cell development. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1061 : 109-119, 2005.
 - 15) Morohashi K : Gonadal and extragonadal functions of Ad4BP/SF-1 : developmental aspects. *Trends Endocrinol. Metab.* 10 : 169-173, 1999.
 - 16) Apaja PM, Aatsinki JT, Rajaniemi HJ and Peta`ja`-Repo UE : Expression of the mature luteinizing hormone receptor in rodent urogenital and adrenal tissues is developmentally regulated at a posttranslational level. *Endocrinology* 146 : 3224-3232, 2005.
 - 17) Strauss III JF, Martinez F and Kiriakidou M : Placental steroid hormone synthesis : unique features and unanswered questions. *Biol. Reprod.* 54 : 303-311, 1996.
 - 18) Sanderson JT : Placental and fetal steroidogenesis. *Methods Mol. Biol.* 550 : 127-136, 2009.
 - 19) Chan SW and Leathem JH : Placental steroidogenesis in the rat : progesterone production by tissue of the basal zone. *Endocrinology* 96 : 298-303, 1975.
 - 20) Wiener M : Rat placental delta-5-3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. I. Changes in activity with dilution and gestational age. *Endocrinology* 94 : 967-973, 1974.
 - 21) Durkee TJ, McLean MP, Hales DB, Payne AH, Waterman MR, Khan I and Gibori G : P450 (17 alpha) and P450SCC gene expression and regulation in the rat placenta. *Endocrinology* 130 : 1309-1317, 1992.
 - 22) Siebers JW, Peters F, Zenzes MT, Schmidtke J and Engel W : Binding of human chorionic gonadotrophin to rat ovary during development. *J. Endocrinol.* 73 : 491-496, 1977.
 - 23) Gangnerau MN, Rouiller V, Duranteau L and Picon R : Development of fetal rat ovaries responsiveness to LH during organ culture. *J. Dev. Physiol.* 16 : 115-123, 1991.
 - 24) Baum MJ, Woutersen PJ and Slob AK : Sex difference in whole-body androgen content in rats on fetal days 18 and 19 without evidence that androgen passes from males to females. *Biol. Reprod.* 44 : 747-751, 1991.
 - 25) Vreeburg JT, Groeneveld JO, Post PE and Ooms MP : Concentrations of testosterone and androsterone in peripheral and umbilical venous plasma of fetal rats. *J. Reprod. Fertil.* 68 : 171-175, 1983.
 - 26) Kimoto T, Tsurugizawa T, Ohta Y, Makino J, Tamura H, Hojo Y, Takata N and Kawato S : Neurosteroid synthesis by cytochrome p450-containing systems localized in the rat brain hippocampal neurons : N-methyl-D-aspartate and calcium-dependent synthesis. *Endocrinology* 142 : 3578-3589, 2001.
 - 27) Holloway CC and Clayton DF : Estrogen synthesis in the male brain triggers development of the avian song control pathway in vitro. *Nat. Neurosci.* 4 : 170-175, 2001.
 - 28) Hojo Y, Hattori TA, Enami T, Furukawa A, Suzuki K, Ishii HT, Mukai H, Morrison JH, Janssen WG, Kominami S, Harada N, Kimoto T and Kawato S : Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101 : 865-870, 2004.
 - 29) Konkle AT and McCarthy MM : Developmental time course of estradiol, testosterone, and dihydrotestosterone levels in discrete regions of male and female rat brain. *Endocrinology* 152 : 223-235, 2011.
 - 30) MacLusky NJ and Naftolin F : Sexual differentiation of the central nervous system. *Science* 211 : 1294-1302, 1981.
 - 31) Bakker J, De Mees C, Douhard Q, Balthazart J,

- Gabant P, Szpirer J and Szpirer C : α -Fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens. *Nat. Neurosci.* 9 : 220-226, 2006.
- 32) Matsumoto Y, Ishida T, Takeda T, Koga T, Fujii M, Ishii Y, Fujimura Y, Miura D, Wariishi H and Yamada H : Maternal exposure to dioxin reduces hypothalamic but not pituitary metabolome in fetal rats : a possible mechanism for a fetus-specific reduction in steroidogenesis. *J. Toxicol. Sci.* 35 : 365-373, 2010.
- 33) Manna PR, Dyson MT and Stocco DM : Regulation of the steroidogenic acute regulatory protein gene expression : present and future perspectives. *Mol. Hum. Reprod.* 15 : 321-333, 2009.
- 34) Payne AH and Youngblood GL : Regulation of expression of steroidogenic enzymes in leydig cells. *Biol. Reprod.* 52 : 217-225, 1995.
- 35) Lebrethon MC, Jaillard C, Defayes G, Begeot M and Saez JM : Human cultured adrenal fasciculata-reticularis cells are targets for angiotensin-II : effects on cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage, cytochrome P450 17 alpha-hydroxylase, and 3 beta-hydroxysteroid-dehydrogenase messenger ribonucleic acid and proteins and on steroidogenic responsiveness to corticotropin and angiotensin-II. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 78 : 1212-1219, 1994.
- 36) LaVoie HA and King SR : Transcriptional regulation of steroidogenic genes : STARD1, CYP11A1 and HSD3B. *Exp. Biol. Med.* 234 : 880-907, 2009.
- 37) Chakravorty A, Mesiano S and Jaffe RB : Corticotropin-releasing hormone stimulates P450 17alpha-hydroxylase/17, 20-lyase in human fetal adrenal cells via protein kinase C. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84 : 3732-3738, 1999.
- 38) Pitt JA, Buckalew AR, House DE and Abbott BD : Adrenocorticotropin (ACTH) and corticosterone secretion by perfused pituitary and adrenal glands from rodents exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Toxicology* 151 : 25-35, 2000.
- 39) Aragon AC, Goens MB, Carbett E and Walker MK : Perinatal 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure sensitizes offspring to angiotensin II-induced hypertension. *Cardiovasc. Toxicol.* 8 : 145-154, 2008.
- 40) Shridhar S, Farley A, Reid RL, Foster WG and Van Vugt DA : The Effect of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin on corticotrophin-releasing hormone, arginine vasopressin, and pro-opiomelanocortin mRNA levels in the hypothalamus of the cynomolgus monkey. *Toxicol. Sci.* 63 : 181-188, 2001.
- 41) Yivgi-Ohana N, Sher N, Melamed-Book N, Eimerl S, Koler M, Manna PR, Stocco DM and Orly J : Transcription of steroidogenic acute regulatory protein in the rodent ovary and placenta : alternative modes of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate dependent and independent regulation. *Endocrinology* 150 : 977-989, 2009.
- 42) Mimura J and Fujii-Kuriyama Y : Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD. *Biochim. Biophys. Acta* 1619 : 263-268, 2003.
- 43) Clifton VL : Review : sex and the human placenta : mediating differential strategies of fetal growth and survival. *Placenta* 31 : S33-S39, 2010.

(Received for publication March 15, 2011)

2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル (CB138) の モルモットにおける *in vivo* 代謝

¹⁾中村学園大学栄養科学部 食品衛生学研究室

²⁾第一薬科大学 分析化学教室

³⁾徳島文理大学香川薬学部 薬物動態学講座

⁴⁾北海道医療大学薬学部 衛生薬学講座

太田千穂¹⁾, 原口浩一²⁾, 加藤善久³⁾,
遠藤哲也⁴⁾, 古賀信幸¹⁾

In Vivo Metabolism of 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl (CB138) in Guinea Pigs

Chiho OHTA¹⁾, Koichi HARAGUCHI²⁾, Yoshihisa KATO³⁾, Tetsuya ENDO⁴⁾ and Nobuyuki KOGA¹⁾

¹⁾*Faculty of Nutritional Sciences, Nakamura Gakuen University,
5-7-1 Befu, Johnan-ku, Fukuoka 814-0198*

²⁾*Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, 22-1
Tamagawa-cho, Minami-ku, Fukuoka 815-8511*

³⁾*Kagawa School of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri
University, 1314-1 Shido, Sanuki, Kagawa 769-2193*

⁴⁾*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido,
1757 Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293*

Abstract Our preceding studies reported using animal liver microsomes that 2, 2', 3, 4, 4', 5'-hexachlorobiphenyl (hexaCB) (CB138), a worldwide and persistent organohalogen pollutant, was metabolized to two major hydroxy (OH)-metabolites, 3'-OH-CB138 (M-3) and 2'-OH-2, 3, 3', 4, 4', 5'-hexaCB (M-4), and two dechlorinated OH-metabolites (M-1 and M-2) in guinea pigs at much faster rate than in rats and hamsters. In this study, the distribution of four CB138 metabolites to the serum and liver 4 days after exposure and their fecal excretion were studied in guinea pigs administered with CB138 intraperitoneally. 3'-OH-CB138 (M-3) was a major metabolite in the liver, serum and feces. M-1 was observed as a minor metabolite in guinea pig feces. In contrast, trace amount of M-2 was present in guinea pig serum. However, 2'-OH-2, 3, 4, 3', 4', 5'-hexaCB (M-4) which was a major metabolite in the *in vitro* system using guinea pig liver microsomes was not found in all tissues and feces tested in this study. On the other hand, the exact chemical structures of M-1 and M-2 were determined to be 6'-OH-2, 3, 3', 4, 4'-pentaCB and 4'-OH-2, 2', 3, 4, 5'-pentaCB, respectively, by comparison of the retention time and mass fragmentation of the synthetic authentic samples in GC-MS. From these results, it is suggested that the metabolism of CB138 in guinea pigs may proceed by three pathways, a direct hydroxylation at 3'-position, and also the formation of 2', 3'- or 3', 4'-epoxide and subsequent dechlorination and that three metabolites show the different mode of distribution and excretion.

Key words : CB138, Metabolism, Guinea pig, PCB

はじめに

ポリ塩素化ビフェニル (PCB) は、周知の通り、

カネミ油症の原因物質¹⁾であるとともに世界的な環境汚染物質²⁾としても有名である。PCB 異性体のうち、2, 2', 3, 4, 4', 5'-hexachlorobiphenyl

(hexaCB) (CB138) は, 2,2',4,4',5,5'-hexaCB (CB153) や 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (heptaCB) (CB180) とともに, 生体への残留性が非常に高い PCB 異性体として知られている。例えば, 海棲哺乳動物の血液や脂肪組織³⁾⁴⁾, ヒト母乳⁵⁾⁶⁾, ヒト血液およびヒト脂肪組織^{5)7)~9)}では, CB153 に次いで高濃度で検出される。一方, ヒト血液中では, これらの PCB 異性体とともに, 4-hydroxy (OH)-2,2',3,4',5,5',6-heptaCB (CB187), 4-OH-2,2',3,4',5,5'-hexaCB (CB146), 4-OH-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl (pentaCB) (CB107) などの PCB 水酸化体が比較的高濃度で検出されている^{10)~14)}。

CB138 の毒性は, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (CB77), 3,3',4,4',5-pentaCB (CB126) および 3,3',4,4',5,5'-hexaCB (CB168) などのダイオキシン類 (コプラナー PCB) に比べはるかに弱いため, 世界保健機関 (WHO) がダイオキシン類の毒性の強さを表わすために提唱している毒性等価係数は設定されていない¹⁵⁾。しかしながら, CB138 は, CB153 と同様にチトクロム P450 を含む肝薬物代謝酵素の強い phenobarbital (PB) 型誘導能を有することから¹⁶⁾, 何らかの生体影響が危惧される。

これまでに CB138 代謝に関する報告はほとんどなかったが, CB138 の代謝物と思われる 3'-OH-CB138 がヒト血中や肝中から検出されるに至り^{11)~14)17)}, 少なくとも代謝を受けることが判明した。また, ヒト肝では 3'-OH-CB138 が特異的に高濃度で分布していることが報告された¹⁸⁾。一方, 当研究室では, CB138 の動物肝ミクロゾームによる *in vitro* 代謝を調べ, 1) ラットでは 1 種類, ハムスターでは 3 種類およびモルモットでは 4 種類の代謝物が生成されること, 2) そのうち主代謝物は 3'-OH-CB138 および 2'-OH-2,3,3',4,4',5'-hexaCB (CB157) であること, 3) モルモットが最も高い代謝活性を有すること, 4) 2 種類の一脱塩素化 OH 体 (OH-pentaCB) も生成されること, さらに, 5) これらの生成は PB 前処理により著しく増加することを明らかにした¹⁹⁾。そこで, 本研究では, これまで不明であった 2 種類の OH-pentaCB の化学構造を明らかにするとともに, CB138 代謝物の生体内運命を明らかにするため, 代謝活性が最も強いモル

モットに CB138 を投与し, 投与後 4 日目の代謝物の血液および肝への分布と 4 日間の糞中への排泄を調べた。

実験方法

1. 実験材料

(1) CB138 および代謝物

CB138 は Cadogan の方法²⁰⁾で合成した。まず, 1,2,3-trichlorobenzene および 2,4,5-trichloroaniline を tetrachloroethylene で溶解し, さらに isoamyl nitrite 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) およびシリカゲルカラム (65 g, Merck) で部分精製した後, 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 カラム (250 × 20 mm i.d., 5 μm, YMC 製); プレカラム, ODS プレカラム (20 mm i.d. × 50 mm, YMC 製); 移動相, acetonitrile; 流速, 4 ml/min; 検出波長, 254 nm。なお, CB138 の純度は電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー (GC-ECD) による検討結果, 最終的に 94.0% 以上であった。

CB138 : MS (EI) *m/z* (relative intensity) 358 (100) [M⁺], 360 (193) [M⁺⁺2], 362 (157) [M⁺+4], 364 (63) [M⁺⁺6], 366 (16) [M⁺⁺8], 323 (32) [M⁺-Cl], 288 (89) [M⁺-Cl₂].

(2) 代謝物の合成

M-1 (メチル化体) の予想代謝物として, 6'-Methoxy (MeO)-2,3,3',4,4'-pentaCB (CB105) を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 3,4-dichloroanisole を合成原料として用い, Cadogan の方法²⁰⁾で行った。なお, 3,4-dichloroanisole は, 3,4-dichlorophenol をアルカリ性条件下, dimethyl sulfate の添加によりメチル化したものを用いた。一方, M-2 (メチル化体) の予想代謝物として, 5'-MeO-CB105 を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 2,3-dichloroanisole を, また 5'-MeO-2,2',3,4,4'-pentaCB (CB85) を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 2,4-dichloroanisole を, さらに 4'-MeO-2,2',3,4,5'-pentaCB (CB87) を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 2,5-dichloroanisole を, 合成原料として用いた。得られた MeO 体は CB138 と同様に, アルミナカラムとシリカゲルカラムを用いて部分

精製した後、HPLCにて精製した。

6'-MeO-CB105 : MS(EI) m/z (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (152) [$M^+ + 2$], 358 (100) [$M^+ + 4$], 360 (34) [$M^+ + 6$], 362 (6) [$M^+ + 8$], 304 (97) [$M^+ - CH_3Cl$], 241 (39) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

5'-MeO-CB105 : MS(EI) m/z (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (148) [$M^+ + 2$], 358 (96) [$M^+ + 4$], 360 (33) [$M^+ + 6$], 362 (4) [$M^+ + 8$], 304 (5) [$M^+ - CH_3Cl$], 311 (31) [$M^+ - COCH_3$], 241 (41) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

5'-MeO-CB85 : MS(EI) m/z (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (154) [$M^+ + 2$], 358 (107) [$M^+ + 4$], 360 (32) [$M^+ + 6$], 362 (6) [$M^+ + 8$], 339 (16) [$M^+ - CH_3$], 311 (29) [$M^+ - COCH_3$], 304 (7) [$M^+ - CH_3Cl$], 241 (37) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

4'-MeO-CB87 : MS(EI) m/z (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (138) [$M^+ + 2$], 358 (118) [$M^+ + 4$], 360 (34) [$M^+ + 6$], 362 (4) [$M^+ + 8$], 339 (17) [$M^+ - CH_3$], 311 (35) [$M^+ - COCH_3$], 241 (46) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

2. 動物の薬物処理

代謝実験は、Hartley系雄性モルモット（体重約300~350g）を5匹用いて行った。実験期間中は、床敷き用ケージにて個別に飼育し、飼料RC4（オリエンタル酵母製）を、水とともに自由に摂取させた。実験室は、温度 $23.0 \pm 0.5^\circ C$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ に保持し、照明は12時間の暗期/明期サイクル（明期：7:00~19:00）とした。CB138はコーン油に溶解し、モルモット1匹あたり10mgを腹腔内に投与した。投与後、糞を2日間ごとに採取するとともに、4日目には頸動脈より全血液を採取することにより屠殺した。血液は血清分離剤（栄研製）で処理し、血清として得た。また、肝は屠殺後直ちに摘出し、生理食塩水で灌流した後、分析まで $-80^\circ C$ に保管した。なお、これらの動物実験は動物実験研究倫理審査委員会の承認を得た上で、「中村学園大学（含む短期大学部）における実験動物のための指針」を遵守し実施した。

3. 代謝物の抽出

(1) 糞中代謝物

糞は $60^\circ C$ で48時間乾燥後、コーヒーミルで粉

砕した。乾燥糞の粉末10gに内部標準物質として2,2',3,3',4,5,5',6,6'-nonachlorobiphenyl (CB208)を添加後、acetone-*n*-hexane (2:1, v/v)で16時間、ソックスレー抽出器で連続抽出した。次に代謝物をメチル化するため、得られた抽出物をchloroformに溶解した。次に、この20分の1を採り、2M水酸化カリウム水溶液2.5mlで懸濁した後、dimethyl sulfateを0.5ml添加し、 $100^\circ C$ で60分間還流した。その後、chloroformで抽出し、濃縮した後、*n*-hexaneに溶解したものをGCサンプルとした。

(2) 血中代謝物

血清0.5mlにCB208を添加し、0.5M硫酸0.25ml添加して酸性にした後、chloroform-methanol (2:1, v/v) 1mlおよび*n*-hexane 3mlの混合溶媒で3回抽出した。また、抽出物はdiazomethaneでメチル化した。

(3) 肝中代謝物

肝臓1gにCB208を添加して、Potter-Elvehjemホモジナイザーを用いてacetone-*n*-hexane (2:1, v/v) 15mlでホモジナイズした。次に、脱水するため、上清は硫酸ナトリウムカラム(12g)にかけた。また残渣は*n*-hexane 10mlで2回ホモジナイズを繰り返した後、前述の硫酸ナトリウムカラムにかけた。得られた抽出物はdiazomethaneでメチル化した。

4. 分析機器

CB138とその代謝物の分析は、GC-ECDおよび質量分析計付GC (GC-MS)により行った。なお、これらの定量は、CB138の検量線を用いてGC-ECDにより行った。GC-ECDの条件は次の通りである。分析機器、ECD付HP5890 Series IIガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard製)；カラム、DB-1フューズドシリカキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm 膜厚, J&W Scientific製)；オープン温度, $230^\circ C$ ；注入口温度, $250^\circ C$ ；検出器温度, $250^\circ C$ ；キャリアーガス, N_2 (1 ml/min)。一方、代謝物の分子量は、GC-MS 2010 (島津製作所製)を用いて、EIモードで測定した。GC-MS分析条件は次の通りである。カラム、DB-1フューズドシリカキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm 膜厚, J&W Scientific製)；オープン温度, $70^\circ C$ (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, 280°C; キャリアーガス, He (1 ml/min).

実験結果

1. 血中代謝物の検索

CB138 投与後4日目のモルモット血中のCB138 およびその代謝物(メチル化体)のGC-ECDクロマトグラムをFig. 1Aに示す. 未変化体のCB138以外に, 2本の代謝物ピークが, それぞれ保持時間15.1分および18.9分に検出された. これらのピークは, 既報¹⁹⁾の代謝物の保持時間との比較から, それぞれOH-pentaCB (M-2) および3'-OH-CB138 (M-3) のメチル化体であることが確認された.

次に, これらの血中濃度を定量した (Table 1). 定量にはCB138の検量線を用いた. その結果, 未変化体の血中濃度は, 0.25 ± 0.05 nmol/ml serumであった. これに対し, 主代謝物のM-3の血中濃度は, 0.18 ± 0.07 nmol/ml serumであり, 未変化体と同程度が検出された. 一方, M-2の血中濃度は, 0.04 ± 0.01 nmol/ml serumとかなり低かった.

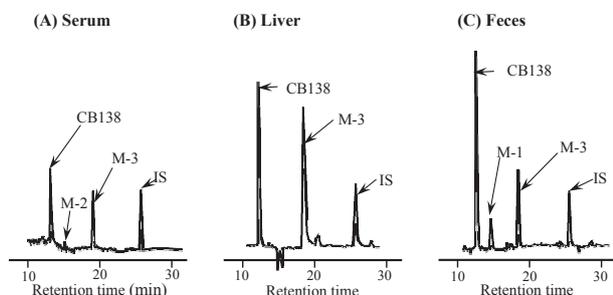


Fig. 1 Gas chromatograms of CB138 and the methylated derivatives of CB138 metabolites detected in the serum (A), liver (B) and feces (C) of guinea pigs injected CB138 intraperitoneally. IS, internal standard (CB208).

Table 1 Distribution of CB138 and its metabolites to the serum and liver 4 days after CB138 injection to guinea pigs

Compound	Serum (nmol/ml serum)	Liver (nmol/g wet wt.)
CB138	0.25 ± 0.05	1.87 ± 0.05
M-1	N.D.	N.D.
M-2	0.04 ± 0.01	N.D.
M-3	0.18 ± 0.07	1.26 ± 0.09
M-4	N.D.	N.D.

N.D., not detected.

Each value represents the mean \pm S.D. of five guinea pigs.

2. 肝中代謝物の検索

CB138 投与後4日目のモルモット肝中のCB138 およびその代謝物(メチル化体)のGC-ECDクロマトグラムをFig. 1Bに示す. CB138以外に, 代謝物として3'-OH-CB138 (M-3) のメチル化体のみが検出された. そこで, 肝中の未変化体およびM-3の定量を試みたところ, 肝中濃度はそれぞれ 1.87 ± 0.35 および 1.26 ± 0.09 nmol/g wet wt.であり, 肝においてもM-3は未変化体に匹敵するほどの高濃度で分布していた (Table 1). なお, モルモット5匹の平均肝湿重量を約17gとして換算すると, 4日目の肝に分布する未変化体とM-3の総量はそれぞれ投与量の0.12%と0.08%に相当していた.

3. 糞中代謝物の検索

Fig. 1Cに, CB138 投与後2日間の糞中の未変化体および代謝物(メチル化体)のGC-ECDクロマトグラムを示す. 未変化体とともに2種類の代謝物ピークが, 保持時間14.9分および18.9分に検出された. なお, これらはGC保持時間から, それぞれ, 既報¹⁹⁾のOH-pentaCB (M-1) および3'-OH-CB138 (M-3) のメチル化体と推定された. 次に, 4日間で糞中へと排泄された未変化体および代謝物 (M-1とM-3)を定量し, 投与後2日間および3~4日間で比較した (Fig. 2).

まず, 未変化体の糞中への総排泄量は, 投与後2日間で76.8 nmol, 3~4日間で31.6 nmolであった. これに対し, M-3の総排泄量は, 投与後2日間で20.8 nmol, 3~4日間で10.0 nmolであった. また, M-1の総排泄量は, 投与後2日間

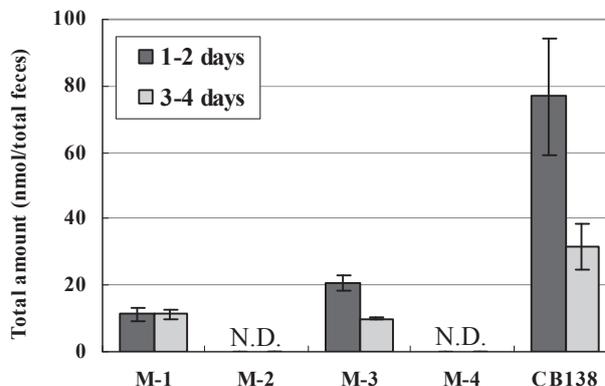


Fig. 2 Fecal excretion of CB138 and its metabolites in guinea pigs injected CB138 intraperitoneally. N.D., not detected.

で 11.3 nmol, 3~4 日間でも 11.3 nmol と変わらなかった。このように, 代謝物 (M-3 および M-1) の排泄量は, 未変化体の半分以下であった。なお, 両代謝物の 4 日間の糞中排泄量は投与量のほんの 0.19% であった (データ未掲載)。

4. 代謝物 M-1 と M-2 の同定

今回 CB138 代謝物として, M-1 および M-2 が微量ながら, それぞれ糞中および血中から検出された。そこで, これらの分子量を確かめるために, 各試料の抽出物を GC-MS に付した。その結果, Table 2 に示すように, M-1 および M-2 のメチル化体はいずれも分子量 354 を有することから, 既報¹⁹⁾と同様に, 塩素が 1 個脱離した MeO-pentaCB であることが確認された。次に, 予想代謝物を合成し, 両代謝物の同定を試みた。

まず, M-1 (メチル化体) のマススペクトルをみると, フラグメントイオン $[M^+-50]$ が強く検出されたことから, M-1 (メチル化体) は 2(2')位に, あるいは 6(6')位に MeO 基を有する pentaCB²¹⁾と推定された。そこで, 予想代謝物として 6'-MeO-2,3,4,4',5'-hexaCB (CB105) を合成し, GC-MS での保持時間およびマスフラグメンテーションを M-1 (メチル化体) と比較した結果, いずれも完全に一致した。以上の結果から, M-1 は 6'-OH-CB105 であると決定された。

一方, M-2 (メチル化体) のマススペクトルで

は, 弱いフラグメントイオン $[M^+-15]$ とともにフラグメントイオン $[M^+-43]$ が比較的強く検出されたことから, 3(3')位あるいは 5(5')位に MeO 基を有する pentaCB²¹⁾と推定された。そこで, 予想代謝物として別途, 5'-MeO-CB105 および 5'-MeO-CB85 を合成し, GC 保持時間を比較した。しかしながら, いずれも M-2 (メチル化体) と保持時間が一致しなかった。次に, 4'-MeO-CB87 を合成し比較したところ, GC-MS での保持時間およびマススペクトルが M-2 (メチル化体) とほぼ完全に一致した。以上の結果から, M-2 は 4'-OH-CB87 であることが明らかになった。

考 察

モルモットによる CB138 の代謝を調べたところ, 肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝系とかなり異なる代謝パターンを示すことが明らかとなった。すなわち, *in vitro* 代謝系では 4 種類の代謝物が生成されたが¹⁹⁾, 今回, *in vivo* 代謝系ではそのうちの 3 種類が検出された。主代謝物は 3'-OH-CB138 (M-3) であり, 血液, 肝および糞のすべてから検出された。他に, 微量ではあるが, 2 種類の OH-pentaCB (M-1, M-2) がそれぞれ糞中と血中から検出された。

本研究では, 上記 2 種類の OH-pentaCB の化学構造が明らかとなった。予想代謝物を合成し, GC-MS で比較したところ, M-1 と M-2 はそれ

Table 2 GC-MS data of CB138 metabolites and synthetic authentic samples

Compound	Molecular weight	Mass spectral data				Retention time (min)
		$[M^+]$	$[M^+-15]$	$[M^+-43]$	$[M^+-50]$	
Serum						
M-2	354	100	18	39	-	13.81
M-3	388	100	7	38	10	15.08
Liver						
M-3	388	100	5	34	8	15.08
Feces						
M-1	354	100	-	-	84	13.75
M-3	388	100	5	33	7	15.08
Standards						
6'-MeO-CB105	354	100	-	-	97	13.75
5'-MeO-CB105	354	100	-	31	5	15.17
5'-MeO-CB85	354	100	16	29	7	13.58
4'-MeO-CB87	354	100	17	35	-	13.81
3'-MeO-CB138 (M-3)*	388	100	8	40	-	15.08
2'-MeO-CB157 (M-4)*	388	100	-	-	155	15.23

-, not detected. *cited from the reference¹⁹⁾.
 CB85 (2,2',3,4,4'-pentaCB); CB87 (2,2',3,4,5'-pentaCB); CB105 (2,3,3',4,4'-pentaCB); CB138 (2,2',3,4,4',5'-hexaCB);
 CB157 (2,3,3',4,4',5'-hexaCB).

それぞれ 6'-OH-CB105 と 4'-OH-CB87 であることが示唆された。この事実から、モルモットでは3つの水酸化経路が同時に進行していることが示唆された。Fig. 3 にモルモットにおける CB138 の推定代謝経路を示した。すなわち 3'-OH-CB138 は主として 3' 位の直接水酸化により、また、6'-OH-CB105 (M-1) と 4'-OH-CB87 (M-2) は 2', 3'-epoxide と 3', 4'-epoxide を中間体とし^{22)~24)}、さらに脱塩素化が起こって生成されたものと考えられる。

生成された3種類の代謝物はそれぞれ異なる分布を示した。CB138 投与後4日目では、主代謝物の 3'-OH-CB138 (M-3) は、血中でも検出されたが、肝で特に高濃度分布していた。この結果は、Guvenius ら¹⁸⁾のヒト肝の報告とよく一致したが、本代謝物がなぜ肝に蓄積しやすいかは不明である。さらに、2種類の OH-pentaCB のうち、4'-OH-CB87 (M-2) は微量ながら血中へと分布し、一方、6'-OH-CB105 (M-1) は容易に糞中へと排泄されることが明らかとなった。これまで血中に残留している PCB 代謝物は、共通して 4-OH-3, 5-dichlorobenzene の構造を有しており、血中の甲状腺ホルモン結合タンパク transthyretin と高い親和性を示すことが知られている²⁵⁾。4'-OH-CB87 (M-2) は、この条件を満たしていることから、transthyretin に結合し血中へ残留しているものと推定される。なお、モルモット肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝系において主代謝物の1つであった 2'-OH-CB157 (M-4) は、今回の *in vivo* 代謝系では、全く検出されなかった。この理由は不明であるが、今回調べた血液、肝および糞以外に特異的に分布しているのかもしれない。あるいは、代謝物が生体高分子と結合しており、抽出されなかったためかもしれない。この点は今後の研究課題である。

今回、腹腔内投与された CB138 は血液、肝だけではなく、糞中にも高濃度で検出された。腹腔から糞への排泄経路は、2つ考えられる。1つは、腹腔内から、血液、肝、さらに胆汁を介して糞中へ排泄される経路である。この場合、CB138 は脂溶性が高いことから小腸で CB138 のほとんどが再吸収されると思われる。もう1つは、小腸上皮細胞からの排出である。吉村と神村²⁶⁾は、カネミ油症の主たる原因物質の1つである 2, 3, 4, 7,

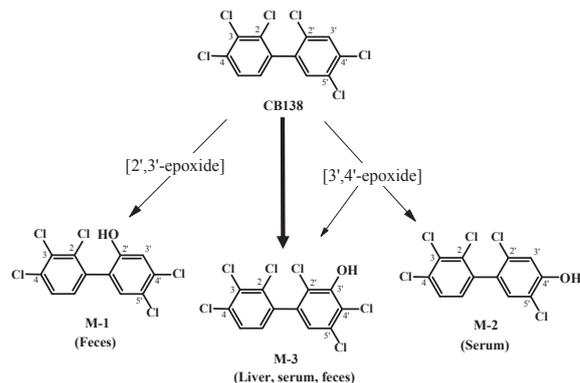


Fig. 3 Postulated metabolic pathways of CB138 in guinea pigs.

8-pentachlorodibenzofuran (pentaCDF) が、ほとんど代謝されることなく、毎日微量ではあるが、胆汁を介さずに、ラット小腸管腔内に排泄されることを報告している。現在、小腸上皮細胞膜に存在するトランスポーターの P 糖タンパク質 (MDR1) が種々の薬物の細胞外への排出を担っていることが知られており²⁷⁾、前述の pentaCDF や本研究の CB138 も MDR1 の基質になっているのかもしれない。

前述のように、ヒト血中では PCB 異性体とともに、代謝物の 4-OH-CB187 や 4-OH-CB146 が検出されている。4-OH-CB146 はヒト血中で2番目に多い PCB 代謝物であるが、もし CB138 が酸化されて、4,5-epoxide 中間体を生成し、さらに 4 位の塩素が 5 位に NIH 転位すると 4-OH-CB146 が生成されることになる²⁸⁾。しかしながら今回、CB138 投与モルモットの血液、肝および糞のいずれからも 4-OH-CB146 は検出されなかったことから、4-OH-CB146 は CB138 からは生成されないことが示唆された。

総括

1. CB138 をモルモットに腹腔内投与し4日目の CB138 代謝物の血液と肝への分布および糞中排泄を調べた。3種類の代謝物 (M-1, M-2, M-3) が検出され、このうち、M-3 (3'-OH-CB138) は血液、肝および糞中のいずれでも最も多く検出された。
2. CB138 投与モルモット血中から、未変化体および 3'-OH-CB138 とともに微量の M-2 が検出された。肝中では未変化体と 3'-OH-CB138 が

- 高濃度で検出された。
3. CB138 投与後 4 日間のモルモット糞中から、未変化体および 3'-OH-CB138 とともに少量の M-1 が検出された。
 4. M-1 および M-2 の予想代謝物を合成し、GC-MS により比較したところ、M-1 と M-2 は、それぞれ 6'-OH-CB105 と 4'-OH-CB87 であることが明らかになった。

以上の結果からモルモットでの CB138 の代謝は 3' 位への直接水酸化が主であること、また、一部は中間体の 2',3'-epoxide と 3',4'-epoxide を経由して脱塩素化が起こること、さらに、これらの代謝物は肝、血液への分布および糞への排泄がそれぞれ異な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（食品の安心・安全確保推進研究事業，H22-食品-指定-001 古賀信幸）および日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究(B)，No. 20404006 原口浩一；基盤研究(C)，No. 20510070 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。

参 考 文 献

- 1) Kuratsune M : Outlines of Yusho, In Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Masuda Y (eds.) : Yusho—a human disaster caused by PCBs and related compounds. pp. 1-46, Kyushu University Press Fukuoka, Japan, 1996.
- 2) Ballschmiter K, Rappe C and Buser HR : Chemical properties, analytical methods and environmental levels of PCBs, PCTs, PCNs and PBBs, In Kimbrough RD and Jensen AA (ed) : Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related products. pp. 47-69, Elsevier, 1989.
- 3) Haraguchi K, Athanasiadou M, Bergman A, Hovander L and Jensen S : PCB and PCB methyl sulfones in selected groups of seals from Swedish waters. *AMBIO* 21 : 546-549, 1992.
- 4) Roots O and Talvari A : Bioaccumulation of toxic chloroorganic compounds and their isomers into the organism of Baltic grey seal. *Chemosphere* 35 : 979-985, 1997.
- 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) Prachar V, Veningerova M, Uhnak J and Kovacicova J : Polychlorinated biphenyls in mother milk and adapted cow's milk. *Chemosphere* 29 : 13-21, 1994.
- 7) Humphrey HE, Gardiner JC, Pandya JR, Sweeney AM, Gasior DM, McCaffrey RJ and Schantz SL : PCB congener profile in the serum of humans consuming Great Lakes fish. *Environ. Health Perspect.* 108 : 167-172, 2000.
- 8) Kannan N, Schulz-Bull DE, Petrick G, Duinker JC, Macht-Hausmann M and Wasserman O : Toxic chlorobiphenyls in adipose tissue and whole blood of an occupationally/accidentally exposed man and the general population. *Arch. Environ. Health* 49 : 375-383, 1994.
- 9) Sonzogni W, Maack L, Gibson T, Degenhardt D, Anderson H and Fiore B : Polychlorinated biphenyl congeners in blood of Wisconsin sport fish consumers. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20 : 56-60, 1991.
- 10) Bergman Å, Klasson-Wehler E and Kuroki H : Selective retention of hydroxylated PCB metabolites in blood. *Environ. Health Perspect.* 102 : 464-469, 1994.
- 11) Fångström B, Athanasiadou N, Grandjean B, Weihe P and Bergman Å : Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ. Health Perspect.* 110 : 895-899, 2002.
- 12) Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J and Norström 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.
- 13) Sjödin A, Hagmar L, Klasson-Wegker E, Björk J and Bergman Å : Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ. Health Perspect.* 108 : 1035-1041, 2000.
- 14) Park JS, Linderholm L, Charles MJ, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Drobná B, Trnovec T, Bergman Å and Herts-Picciotto I : Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites (OH-PCBs) in pregnant women from eastern Slovakia. *Environ. Health Perspect.* 115 : 20-27, 2007.
- 15) van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenk D, Tohyama, C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Walker N and Peterson

- RE : The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci.* 93 : 223-241, 2006.
- 16) 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.
- 17) Hovander L, Malmberg T, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Rahm S, Bergman Å and Klasson-Wehler E : Identification of hydroxylated PCB metabolites and other phenolic halogenated pollutants in human blood plasma. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42 : 105-117, 2002.
- 18) Guvenius DM, Hassanzadeh P, Bergman Å and Noren K : Human prenatal and postnatal exposure to polybrominated biphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, polychlorobiphenyls, and pentachlorophenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 21 : 2264-2269, 2002.
- 19) 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.
- 20) Cadogan JIG : A convenient new method of aromatic arylation. *J. Chem. Soc.* : 4257-4258, 1962.
- 21) Tulp MTM, Olie K and Hutzinger O : Identification of hydroxyhalobiphenyls as their methyl ethers by gas chromatography mass spectrometry. *Biomed. Mass Spectrom.* 4 : 310-316, 1977.
- 22) 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.
- 23) Ohta C, Haraguchi K, Kato Y and Koga N : *In vitro* metabolism of 2,2',3,4',5,5',6- heptachlorobiphenyl (CB187) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. *Xenobiotica* 35 : 319-330, 2005.
- 24) 古賀信幸, 吉村英敏 : PCB と関連化学物質の代謝並びに代謝物の毒性. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編 : 油症研究—30年の歩み—, pp. 93-110, 九州大学出版会福岡, 2000.
- 25) Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman Å and Visser TJ : Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system : mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol. Ind. Health* 14 : 59-84, 1998.
- 26) 吉村英敏, 神村英利 : PCB および PCDF の排泄促進 (動物実験). 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編 : 油症研究—30年の歩み—, pp. 259-271, 九州大学出版会福岡, 2000.
- 27) Sakaeda T, Nakamura T and Okumura K : MDR1 Genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biol. Pharm. Bull.* 25 : 1391-1400, 2002.
- 28) 古賀信幸, 太田千穂 : 高残留性 PCB の代謝と代謝物の毒性. 古江増隆, 赤峰昭文, 山田英之, 吉村健清編 : 油症研究Ⅱ—治療と研究の最前線—, pp. 200-218, 九州大学出版会福岡, 2010.

(Received for publication March 17, 2011)

福岡医学雑誌投稿規定

1. 本誌には原著論文、症例報告、総説、学会報告等を掲載する。
2. 原著論文は、和文の場合は英文抄録、はじめに、実験方法、実験結果、考察、総括または結論、謝辞、文献の順とし、英文の場合は、Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References, の順で記すものとする。ただし、短報の場合は、この区別をつけなくともよい。図、表の標題、説明文は、英文とすることが望ましい。
3. 和文原著には英文の抄録を、欧文原著には和文抄録を付けることとし、それぞれ本誌印刷1ページ以内とする。
4. 和文は現代かなづかい、平がなまじりの横書きとする。外国語は typewriter を使用するか、あるいは block letter で鮮明に記すことが必要である。
5. 数字は算用数字を用い、度量衡の単位は、cm, mm, μm , nm, g, mg, μg , ng, ml, dl, μl , cm^2 など、一般的に用いられる略字を使用する。
6. 原稿の第1ページには、標題、著者の所属（必要あれば指導者名付記）、著者名のみを記し、印刷所要部数を赤で付記する。ランニングタイトルを20字以内（欧文の場合は40文字以内）で鉛筆で付記する。
7. 引用した文献は末尾に一括して番号を付けて記載し、その順序は引用した順とする。著者名は全員併記する。本文の引用箇所には上付きで¹⁾²⁾と記す。なお総説等の場合、重要なものについて5~10程度に○をつけて読者の便宜を図る。記載の形式は次の例による。
 - 1) 雑誌の場合：著者名. 論文表題. 雑誌名. 巻：最初最終頁, 発行年. とする。
原著の first and middle name の省略のピリオドは用いない。
(例) Hatch TP, Miceli M and Silverman JA : Synthesis of protein in host-free reticulate bodies of Chlamydia psittaci and Chlamydia trachomatis. J. Bacteriol. 162 : 938-942, 1985.
(例) 神村英利, 吉村英敏 : 油症原因物質の排泄促進, 福岡医誌 78 : 266-280, 1987.
 - 2) 単行本の場合：著者名. 書名. 第何版. 引用頁, 発行社, 発行地, 発行年。
(例) Bloom W and Fawcett DW : A Textbook of Histology 10th ed. pp. 179-227, Saunders Co. Philadelphia, 1975.
 - 3) 分担執筆の場合：著者名. 章の表題. 編者. 書名. 第何版. 最初最終頁, 発行者. 発行地. 発行年。
(例) Yamada Y : Far-storing cells, In Yamakawa I (ed) : Structure and Function of the Liver. 1st ed. pp. 188-202, Nanzando Tokyo, 1980.
8. 写真原稿は鮮明なものでなければならない。表は1ページに組める大きさであることを要する。
9. 英文原稿については、文法上の誤りが無い正確なものを提出できるよう、原則として native speaker 等による校閲を受けること。
10. 人を対象とした研究については、ヘルシンキ宣言を遵守したものであること、また症例を提示する際（症例報告）は、患者さんのプライバシーの保護やインフォームドコンセントなどに関する倫理的問題に十分配慮されていること。
11. 定期号のほかに補冊を刊行することがある。教室論文集等を補冊とすることの可否は幹事会で決定する。
12. 投稿時には原稿を4部揃えて福岡医学雑誌編集室へ提出する。
13. 本誌に掲載する論文は、2名のレフリーによる査読を原則とし、その採否は編集幹事が決定する。
續 輝久* (基礎放射線医学), 笹栗俊之* (臨床薬理学), 池田典昭* (法医学), 中西洋一* (呼吸器内科学), 前原喜彦* (消化器・総合外科学), 野中和明* (歯・小児口腔医学), 森元 聡* (薬・薬用資源制御学), 中村誠司 (歯・顎顔面腫瘍制御学), 吉開泰信 (生医研・感染制御学), 池松秀之* (原土井病院), 尾形裕也* (医療経営・管理学), 鮎澤純子 (医療経営・管理学), 佐々木雅之* (医保・医用量子線科学), 鳩野洋子 (医保・看護学), 梅村 創 (医保・検査技術科学)

(* : 編集幹事)

本誌に掲載された原著論文、症例報告、総説、学会報告・図版等の著作権は福岡医学会に帰属する。

Copyright, right of publication, right of reproduction and public token of all articles printed and published in the Fukuoka Acta Medica (Fukuoka Igaku Zasshi) lies with the Fukuoka Medical Association.

平成 23 年 4 月 25 日 発行

発行所 福岡 医 学 会

〒 812-8582 福岡市東区馬出3丁目1番1号 (九州大学医学部内)

TEL ダイヤルイン (092) 642-6896

<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/famed/>

(日本出版協会準会員番号 B211042 振替 01750-2-2233)

編集兼発行者 續 輝 久

印刷所 秀巧社印刷株式会社

福岡市南区向野2丁目13-29

To The Next
輝く未来へ。



化血研の血漿分画製剤

生物学的製剤基準 静注用免疫グロブリン製剤 乾燥スルホ化人免疫グロブリン
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

献血ベニロン®-I 静注用500mg
献血ベニロン®-I 静注用1000mg
献血ベニロン®-I 静注用2500mg
献血ベニロン®-I 静注用5000mg

生物学的製剤基準 乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

献血グロブリン注射用2500mg「化血研」

日本薬局方 生物学的製剤基準 人免疫グロブリン
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

ガンマグロブリン筋注 450mg/3mL「化血研」
ガンマグロブリン筋注 1500mg/10mL「化血研」

生物学的製剤基準 乾燥抗破傷風人免疫グロブリン
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

テタノセーラ® 筋注用250単位

生物学的製剤基準 抗HBs人免疫グロブリン
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

パトセーラ® 筋注200単位/mL

生物学的製剤基準 人血清アルブミン
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

献血アルブミン25®「化血研」
献血アルブミン20®「化血研」

生物学的製剤基準 乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

コソファクトF注射用250
コソファクトF注射用500
コソファクトF注射用1000

生物学的製剤基準 乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

JバクトM® 静注用400単位
JバクトM® 静注用800単位
JバクトM® 静注用1600単位

生体組織接着剤
特定生物由来製品 処方せん医薬品[※]

ポルヒール® 組織接着用

生物学的製剤基準 乾燥濃縮人活性化プロテインC
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品[※]

注射用アナクトC® 2,500単位 献血

注) 注意—医師等の処方せんにより使用すること

※ 効能・効果、用法・用量、接種上の注意等につきましては、製品添付文書をご参照下さい。

製造販売

化血研 一般財団法人
化学及血清療法研究所

〒860-8568 熊本市大窪一丁目6番1号

資料請求先：営業管理部学術第1課

2011年3月作成

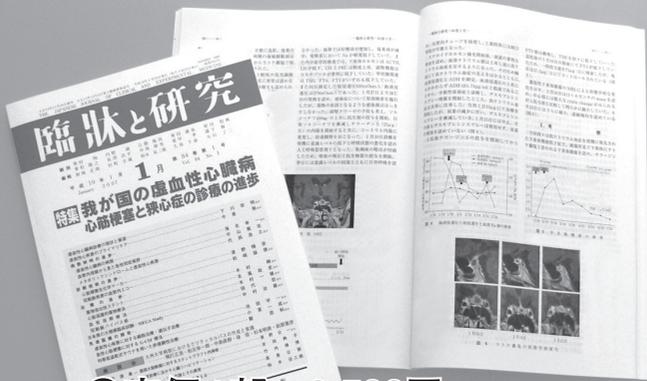
薬価基準収載

月刊総合臨床雑誌

臨床と研究

編集委員

- 久保 千春 (九州大学病院長)
- 杉町 圭蔵 (九州中央病院長)
- 柏木 征三郎 (九州医療センター名誉院長)
- 兼松 隆之 (長崎大学外科教授)
- 大石 了三 (九州大学薬剤部教授)
- 林 純 (九州大学総合診療部教授)
- 橋爪 誠 (九州大学先端医療イノベーションセンター長)



▶ 特集
 ▶ 座談会
 ▶ 臨床講義
 ▶ 治療の実際
 ▶ 私の診療経験から
 ▶ 処方—私の考え方
 ▶ 青ページ
 ▶ 赤ページ

● 定価1部 2,500円 (本体 2,381円・税119円・送料1部140円)
 ● 1カ年 30,000円 (本体28,572円・税1,428円・送料共)

平成 22 年 特集

- 4月号 アンチエイジング医学の進歩
- 5月号 臨床医に有用な超音波 (エコー) 検査
- 6月号 タバコの害と禁煙対策
- 7月号 骨粗鬆症診療の新しい展開
- 8月号 危険な頭痛とめまいの診療
- 9月号 膠原病—新たな治療戦略
- 10月号 進歩した膵炎・膵癌の診療
- 11月号 大動脈瘤診療のめざましい進歩
- 12月号 新型インフルエンザAH1N1の流行を振り返って

平成 23 年 特集

- 1月号 安心・安全なステロイド療法
- 2月号 最新の高血圧薬物療法
- 3月号 なぜ今、メンタルヘルスが問題か
- 4月号 ここまで進んだ先端医療
- 5月号 医療従事者が知っておきたい院内感染対策
- 6月号 進歩した認知症の診療
- 7月号 外来で診る肥満症
- 8月号 外来診療に有用な腫瘍マーカーの知識
- 9月号 心筋梗塞診療の最新情報

口腔の病気と

Oral Diseases and Systemic Health

最新刊

全身の健康

監修

- 福岡歯科学園理事長 田中 健蔵
- 福岡歯科大学長 北村 憲司
- 福岡歯科学園常務理事 本 田 武 司

近年、口腔領域の疾患は、多くの全身疾患 (例えば糖尿病、動脈硬化、心筋梗塞、自己免疫疾患など) と関連することが明らかになり、歯学教育、歯科医療の改善についての社会の切実なニーズを受け、「口腔の病気と全身の健康」の刊行を企画しました。その道の専門家の御協力をいただき、簡潔で理解しやすく、しかも将来の課題を含めて纏めて載ることが出来ました。歯科医師・歯学部学生、医師・医学部学生ならびに一般の方々への御活用を期待しています。

Contents	
1. 歯学から口腔医学へ	14. 高齢者のQOL向上を目指す口腔ケアと誤嚥性肺炎の予防
2. 口腔という臓器の機能	15. 口臭と全身の病気
3. 健康寿命の観点での口腔の健康と全身の健康とのリンク	16. 唾液の働きと唾液腺疾患
4. 口腔内細菌による病気	17. ドライマウスと全身の健康
5. 歯周病と糖尿病	18. 口腔がんと全身の健康
6. 歯周病と狭心症、心筋梗塞	19. 口腔の病気とところこの病
7. 咀嚼・脳機能の賦活化作用	20. 口腔の病変とアレルギー
8. 歯の喪失と認知症	21. 口腔の病気と早産・低体重児出生
9. 認知症への対応	22. 薬と口の病気
10. 不正咬合と全身の病気	23. 口腔内科という考え方
11. 顎関節症と全身の病気	24. 口腔医学の学問体系の確立とその必要性
12. 口腔機能と睡眠	25. 医歯一元論か二元論か
13. 顎顔面の審美と健康	



○ 定価 1,800円 (本体1,714円+税86円) ○ 送料 290円
 ○ 御送金は「郵便振替か現金書留」を御利用ください。



お問い合わせ・申込み先
大道学館出版部

〒812-8582 福岡市東区馬出3丁目1-1九州大学医学部法医学教室内
 TEL・FAX (092) 651-4003
 郵便振替 01780-7-20543番



OD & COOL

【禁忌】(次の患者には投与しないこと)

本剤の成分に対し過敏症の既往歴のある患者

【効能・効果】

アレルギー性鼻炎

蕁麻疹、皮膚疾患に伴う痒痒(湿疹・皮膚炎、痒疹、皮膚痒痒症)

【用法・用量】

通常、成人にはペボタスチンベシル酸塩として1回10mgを1日2回経口投与する。

なお、年齢、症状により適宜増減する。

<用法・用量に関連する使用上の注意>

OD錠5mg、OD錠10mgは口腔内で速やかに崩壊することから唾液のみ(水なし)でも服用可能であるが、口腔粘膜からの吸収により効果発現を期待する製剤ではないため、崩壊後は唾液又は水で飲み込むこと。

【使用上の注意】

1. 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること)

腎機能障害のある患者

(本剤の血中濃度を上昇させることがある。また、高い血中濃度が持続するおそれがあるので、低用量(例えば1回量5mg)から投与するなど慎重に投与し、異常が認められた場合は減量、休薬するなど適切な処置を行う。)

2. 重要な基本的注意

- 1) 眠気を催すことがあるので、本剤投与中の患者には自動車の運転等危険を伴う機械を操作する際には注意させること。【臨床成績】の項を参照
- 2) 長期ステロイド療法を受けている患者で、本剤投与によりステロイドの減量を図る場合には十分な管理下で徐々に行うこと。
- 3) 本剤を季節性の患者に投与する場合は、好発季節を考えて、その直前から投与を開始し、好発季節終了時まで続けることが望ましい。

4) 本剤の使用により効果が認められない場合には、漫然と長期にわたり投与しないように注意すること。

3. 副作用

臨床試験(治験〔普通錠〕):総症例1,446例中、副作用が報告されたのは137例(9.5%)であり、その主なものは、眠気83件(5.7%)、口渇16件(1.1%)、悪心12件(0.8%)、胃痛7件(0.5%)、下痢7件(0.5%)、胃部不快感6件(0.4%)、倦怠感4件(0.3%)、嘔吐4件(0.3%)等であった。また、臨床検査値異常として本剤との因果関係が疑われたものは、総症例1,225例中64例(5.2%)で、主なものは、ALT(GPT)上昇1,209例中25件(2.1%)、尿潜血1,020例中11件(1.1%)、 γ -GTP上昇1,130例中

10件(0.9%)、AST(GOT)上昇1,210例中8件(0.7%)等であった。

使用成績調査〔普通錠〕(承認時～再審査期間終了時):総症例4,453例中、副作用が報告されたのは89例(2.0%)であり、その主なものは、眠気59件(1.3%)等であった。

小児特定使用成績調査〔普通錠〕:小児患者(5歳以上～15歳未満)1,316例中、副作用が報告されたのは14例(1.1%)であり、その主なものは眠気5件(0.4%)、口渇2件(0.2%)、蕁麻疹2件(0.2%)等であった。

副作用が認められた場合には、投与を中止するなど適切な処置を行うこと。

- その他の使用上の注意等については、添付文書をご参照ください。
- 使用上の注意の改訂に十分ご留意ください。

選択的ヒスタミンH₁受容体拮抗・アレルギー性疾患治療剤 薬価基準収載

タリオン[®] 錠5mg・錠10mg
OD錠5mg・OD錠10mg

TALION[®] Tablets 5mg・Tablets 10mg (ペボタスチンベシル酸塩製剤)

TALION[®] OD Tablets 5mg・OD Tablets 10mg (ペボタスチンベシル酸塩口腔内崩壊錠)

【処方せん医薬品】(注意・医師等の処方せんにより使用すること)

提携

宇部興産株式会社



製造販売元(資料請求先)

田辺三菱製薬株式会社

大阪市中央区北浜2-6-18

2009年10月作成

財団法人 恵 愛 団

当財団は、売店・保険薬局・喫茶・駐車整理業務等の各種事業活動をとおして九州大学の医学研究を奨励助成し、九大病院における患者さんの診療、入院等の支援を行い、教職員並びに学生の皆様の学事研修等へ便宜を図り、医学の振興と社会文化の向上に寄与することを目的に明治44年に設立された公益法人です。

現在進められている公益法人制度改革によって、公益財団か一般財団へ移行することになりますが、今後も九大病院への支援を続けると共に、福岡医学会を通じ「医学雑誌」発行に協賛し、医学の振興に寄与したいと思います。



〒812-8582 福岡市東区馬出3丁目1番1号
九州大学病院内
電話(092)642-6853 FAX(092)641-3266