

昭和29年11月5日第三種郵便物認可
昭和56年4月25日（毎月25日発行）
第715号

Vol. 72 No. 4
April 1981

CODEN: FKIZA4
ISSN 0016-254X

FUKUOKA ACTA MEDICA

福岡医学雑誌

第72巻 第4号 (715)

昭和56年4月25日

特 集 号

油 症 と P C B

研 究 報 告 第 8 集

The Eighth Reports of the Study on Yusho and PCB

福岡医誌

Fukuoka Acta med.

油 症 と PCB に 関 す る 研 究

報 告 集 第 8 集

(福岡医学雑誌 第72巻 第4号 昭和56年4月)

目 次

1. 序 言滝 一郎…(131)
2. ポリ塩化ビフェニールの加熱によるポリ塩化ジベンゾフランの生成.....
.....長山 淳哉・倉恒 匡徳・増田 義人…(136)
3. PCB 投与ラット肝臓における過酸化脂質の生成と薬物代謝酵素, グルタチオンペ
ーオキシダーゼ, ビタミンEとの関連.....
.....斎藤 衛郎・池上 幸江・印南 敏・永山スミ子・西出英一…(142)
4. 3, 4, 5, 3', 4'-ペンタクロロビフェニールのモルモットに対する急性毒性, ならびに
肝酵素の誘導作用.....吉村 英敏・和田 郁夫・古賀 信幸・永田 清
山内 葉子・吉原 新一・鎌田 理…(149)
5. サルの PCB 中毒症に関する研究 (第2報)
.....吉村 英敏・吉原 新一・古賀 信幸・河野希世志・永田 清・和田 郁夫
山内 葉子・増田 義人・山領 智子・黒木 広明・原口 浩一・赤木 公博
村井宏一郎・尾前 照雄・藤田 守・山元 寅男・向野 利彦・大西 克尚
廣中 博見・福山 宏・赤峰 昭文・青野 正男…(155)
6. ヒトの血液中におけるポリ塩化ビフェニールおよびポリ塩化クアテルフェニールについ
て.....飯田 隆雄・芥野 岑男・高田 智・中村 周三・高橋 克己・増田 義人…(185)
7. 油症患者における血中 PCQ レベルと PCB パターンの関連について
.....高松 誠・沖 真理子・前田 勝義・樫本 隆…(192)
8. 油症患者と他の PCB 汚染者の残留塩素化合物の相異.....
.....樫本 隆・宮田 秀明・福島 成彦・国田 信治…(198)
9. 油症 (PCB 中毒) 患者における血清ケノデオキシコール酸値
.....奥村 恂・星野 弘弼・熊井 千恵…(205)
10. 油症患者の β_2 -microglobulin と hemoglobin A₁ について
.....原田 寿彦・田中 弘吉・富永 秀敏・加地 正郎…(210)
11. 油症患者の振動覚の検討 …原田 寿彦・富永 秀敏・田中 弘吉・伊藤 久生・加地 正郎…(214)
12. PCB が肺終末細気管支に及ぼす影響に関する電子顕微鏡的研究
.....山元 寅男・和佐野公二郎・今山 修平・藤田 守…(216)
13. 昭和51年度—55年度の年次追跡調査における油症皮膚所見の変化とその他の因子
との相関性旭 正一・利谷 昭治・日野由和夫・幸田 弘…(223)
14. 発病12年後の油症患者の臨床神経学的検討柴崎 浩…(230)
15. 油症患者の骨関節症状とその治療貝原 信紘・香月 一朗・佛淵 孝夫…(235)
16. 油症患者の眼症状 (第5報) 瞼板腺圧迫排出物中 PCB の検出.....
.....向野 利彦・大西 克尚・廣中 博見…(237)
17. 油症患者における口腔内色素沈着の推移.....
.....赤峰 昭文・岸 哲也・橋口 勇・青野 正男…(242)
18. 油症患者の臨床検査所見, とくにリポ蛋白について …赤木 公博・村井宏一郎・志方 建…(245)

The Eighth Reports of the Study on Yusho and PCB

(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 72, No. 4, 1981)

CONTENTS

1. Foreword.....I. Taki ... (131)
2. Formation of Polychlorinated Dibenzofurans by Heating Polychlorinated Biphenyls.....J. Nagayama, M. Kuratsune and Y. Masuda ... (136)
3. Relations between lipid peroxide formation, and mixed function oxidase, glutathione peroxidase and vitamin E in the liver of rats given Polychlorinated Biphenyls (PCB) M. Saito, S. Ikegami, S. Innami, S. Nagayama and E. Nishide ... (142)
4. Acute Toxicity and Inductive Effect on Liver Enzymes of 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl in Guinea PigsH. Yoshimura, I. Wada, N. Koga, K. Nagata, Y. Yamauchi, S. Yoshihara and O. Kamata ... (149)
5. Studies on the Experimental PCB Poisoning in Rhesus and Crab Eating Monkeys (II).....H. Yoshimura, S. Yoshihara, N. Koga, K. Kawano, K. Nagata, I. Wada, Y. Yamauchi, Y. Masuda, T. Yamaro, H. Kuroki, K. Haraguchi, K. Akagi, K. Murai, T. Omae, M. Fujita, T. Yamamoto, T. Kohno, Y. Ohnishi, H. Hironaka, H. Fukuyama, A. Akamine and M. Aono ... (155)
6. Polychlorinated Biphenyls and Polychlorinated Quaterphenyls in Human Blood.....T. Iida, M. Keshino, S. Takata, S. Nakamura, K. Takahashi and Y. Masuda ... (185)
7. Relations Between PCQ Level and PCB Pattern in the Blood of Yusho PatientsM. Takamatsu, M. Oki, K. Maeda and T. Kashimoto ... (192)
8. Differences of Residual Chlorinated Compounds between Yusho Patients and Persons Exposed to PCB.....T. Kashimoto, H. Miyata, S. Fukushima and N. Kunita ... (198)
9. Chenodeoxycholic Acid Level in Serum from Patients with PCB Poisoning M. Okumura, H. Hoshino and C. Kumai ... (205)
10. β_2 -Microglobulin and Hemoglobin A₁ in Patients with Yusho (PCB Poisoning). T. Harada, K. Tanaka, H. Tominaga and M. Kaji ... (210)
11. Study on Vibratory Sensation of Patients with Yusho (PCB Poisoning). T. Harada, H. Tominaga, K. Tanaka, H. Ito and M. Kaji ... (214)
12. An Electron Microscope Study on the PCB-Induced Ultrastructural Changes of the Bronchiolar Epithelium T. Yamamoto, K. Wasano, S. Imayama and M. Fujita ... (216)
13. Dermatological Findings and Their Analyses in the General Examination of Yusho in 1976-1980..... M. Asahi, S. Toshitani, Y. Hino and H. Koda ... (223)
14. Neurological Studies of Patients with Rice Oil Disease 12 Years after the OnsetH. Shibasaki ... (230)
15. Orthopaedic Symptoms and Treatment of the Patients with PCB PoisoningN. Kaibara, I. Katsuki and T. Hotokebuchi ... (235)

16. Polychlorinated Biphenyls in the Tarsal Gland Contents of Yusho Patients
..... T. Kohno, Y. Ohnishi and H. Hironaka ... (237)
17. Alteration in Oral Pigmentations of Patients with Yusho
..... A. Akamine, T. Kishi, I. Hashiguchi and M. Aono ... (242)
18. Laboratory Examination in PCBs Poisoning Patients with Special Reference
to Lipoprotein K. Akagi, K. Murai and T. Shikata ... (245)

序 言

油症治療研究班長, 九州大学医学部
滝 一 郎

Foreword

Ichiro TAKI

*Chief, Study Group for the Therapy of "Yusho", Professor
and Chairman, Department of Obstetrics & Gynecology,
Faculty of Medicine, Kyushu University*

This issue is the 8th Report consisting of collected papers on PCB poisoning (Yusho) written by the members of the Study Group for the Therapy of Yusho, which deal with the results obtained during the period from April 1979 to March 1981.

The total number of the Yusho patients reached 1,696 at the end of 1980. Follow-up examination of the patients has been continued in the last two years in succession to the previous years. It seems that clinical symptoms of the Yusho patients become mild year by year, but still do not wholly disappear and tend to be multiple.

The experimental studies on PCB poisoning in Rhesus monkeys has been advanced. Administration of glutathione and cholestyramine for therapeutic purpose has been known effective. Study on PCDF and PCQ also has been advanced and significance of them in the Yusho patients has been emphasized.

This project of investigation has been supported mainly by the grant from the Ministry of Welfare and partly by the grant from the City of Kitakyushu.

昭和43年6月7日, 九州大学医学部皮膚科で受診した3才女児に, 今日でいう油症の症状が最初に観察されて以来, すでに13年に近い年月が流れている. この間, 油症の原因と病態の追求, 治療法の開発について, 莫大な努力が払われて来た. これ等の成果については, 昭和44年6月以降, 福岡医学会雑誌に特集されている油症研究諸報告により明らかにされている. 今回の報告集第8集は, 前回の報告集第7集(昭和54年4月)に引続き, 昭和55年12月までの研究成果を集録したものである. この間における油症治療研究班員は表1に示すとおりである.

昭和43年10月, 始めて油症研究班が結成され, まもなく同班により油症の診断基準が作成され, 油症診断上の参考となつた. その後, PCBが油症の主原因であることが判明し, その血中濃度ならびにパターンの測定が可能となり, また, 油症の急性症状が次第に軽減し, 慢性症状が主体となつてきたので, これ等を考慮の上, 昭和47年10月には, 従来の油症診断基準が改訂され, さらに, 昭和51年6月に補遺が加えられ, その後の油症診断の参考として用いられた. これ等は, 表2, 表3, 表4に再掲したとおりである.

福岡県における油症患者発生状況, 都道府県別油症患者数, ならびに, 全国油症発生数は, それぞれ表5, 表6, 表7に示すとおりである. 最近においても, 僅かながら油症患者が発生している状況, また, 油症の症状は一般的に軽減しつつあるものの消滅せず, 血中PCBパターンの不変なものが多いことなど, 今回の研究報告集にも一部記載されている事実は, PCBの代謝, 毒性, ひいては油症の病態の複雑さによるものと考えられ, 今後も油症患者の経過を綿密に追跡し, また, 油症発生の発見に努め, 併せて, 油症の治療法の開発に力を尽すべきことを指示しているものと考

表 1. 昭和54年度九大油症治療研究班員

班 長	九 大 医	産 婦 人 科	教 授	滝 一 郎	班 員	九 大 医	整 形 外 科	助 手	貝 原 信 紘
副班長	福 岡 大 医	第 1 内 科	〃	奥 村 恂	〃	九 大 医	歯 科 保 存	教 授	青 野 正 男
副班長	九 大 医	呼 吸 器 科	〃	重 松 信 昭	〃	九 大 医	衛 生 裁 判 化 学	〃	吉 村 英 敏
班 員	〃	公 衆 衛 生	〃	倉 恒 匡 徳	〃	〃	生 理 化 学	〃	加 藤 敬 太 郎
〃	〃	〃	助 教 授	西 住 昌 裕	〃	〃	薬 化 学	助 教 授	佐 伯 清 太 郎
〃	〃	解 剖	教 授	山 元 寅 男	〃	福 岡 大 医	皮 膚 科	教 授	利 谷 昭 治
〃	〃	ウ イ ル ス	〃	森 良 一	〃	〃	〃	助 教 授	旭 正 一
〃	〃	第 2 内 科	〃	尾 前 照 雄	〃	〃	病 理 学	教 授	菊 池 昌 弘
〃	〃	〃	助 手	赤 木 公 博	〃	久 留 米 大 医	第 1 内 科	助 教 授	原 田 寿 彦
〃	〃	神 経 内 科	講 師	柴 崎 浩	〃	〃	小 児 科	教 授	山 下 文 雄
〃	〃	皮 膚 科	教 授	占 部 治 邦	〃	〃	環 境 衛 生	〃	高 松 誠
〃	〃	〃	助 手	日 野 由 和 夫	〃	〃	〃	助 手	井 上 義 人
〃	〃	小 児 科	教 授	合 屋 長 英	〃	第 一 薬 科 大	薬 品 分 析	教 授	増 田 義 人
〃	〃	〃	助 教 授	宮 崎 澄 雄	〃	国 立 栄 養 研 究 所	食 品 科 学 部	部 長	印 南 敏
〃	〃	産 婦 人 科	〃	楠 田 雅 彦	〃	大 阪 府 立 衛 生 研 究 所	〃	課 長	櫻 本 隆
〃	〃	眼 科	助 手	向 野 利 彦	事 務 局	九 大 医	産 婦 人 科	講 師	浜 田 悌 二
〃	〃	耳 鼻 咽 喉 科	〃	朝 隈 真 一 郎	〃	〃	〃	〃	松 山 敏 剛
〃	〃	脳 神 経 病 理	講 師	大 西 晃 生					

表 2. 「油症」診断基準（昭和 43 年）

本基準は、西日本地区を中心に米ぬか油使用に起因すると思われる特異な病像を呈して発症した特定疾病（いわゆる「油症」）に対してのみ適用される。
したがって、食用油使用が発症要因の一部となりうるすべての皮膚疾患に適用されるものではない。
発症参考状況

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

診 断 基 準

症状 上眼瞼の浮腫、眼脂の増加、食思不振、爪の変色、脱毛、両肢の浮腫、嘔気、嘔吐、四肢の脱力感・しびれ感、関節痛、皮膚症状を訴えるものが多い。
特に、眼脂の増加、爪の変色、瘡癤様皮疹は、本症を疑わせる要因となりうる。
また、症状に附随した視力の低下、体重減少等もしばしば認められる。

以下特殊検査に基づかない一般的な本症の所見を述べる。

1. 眼 所 見

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

なお、他の眼疾患との鑑別上分泌物のギムザ染色検査が望ましい。

2. 皮 膚 所 見

角化異常を主とし、次のような種々の所見が認められる。

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

3. 全 身 所 見

- 1) 貧血、肝脾腫は認めないことが多い。しかし発熱、肝機能障害を認めることがある。
- 2) 手足のしびれ、脱力感を訴えるが、著明な麻痺は認めない。深部反射は減弱あるいは消失することがある。
四肢末端の痛覚過敏を時に認める。

上記所見は、典型例においては、その大多数が認められるが、手掌の発汗過多、爪の変色、眼脂の分泌増加、頬骨部の面皰形成、および自覚症のいくらかを綜合して、疑症をもうけることは必要であろう。

表 3. 油症診断基準（昭和47年10月26日改訂）

油症は PCB の急性ないし亜急性の中毒と考えられるが、現在全身症状には、成長抑制、神経内分泌障害、酵素誘導現象、呼吸器系障害、脂質代謝異常などがあり、局所症状には皮膚および粘膜の病変として痤瘡様皮疹と色素沈着、さらに眼症状などがみられる。 1. 発病条件 PCB の混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。 多くの場合家族発生がみられる。 2. 全身症状 1) 自覚症状 ① 全身倦怠感 ② 頭重ないし頭痛 ③ 不定の腹痛 ④ 手足のしびれ感または疼痛 ⑤ 関節部のはれおよび疼痛 ⑥ 咳嗽・喀痰 ⑦ 月経の変化 2) 他覚症状	① 気管支炎様症状 ② 感覚性ニューロパチー ③ 粘液嚢炎 ④ 小児では成長抑制および歯牙異常 ⑤ 新生児の SFD (Small-For-Dates Baby) および全身性色素沈着 3) 検査成績 ① 血液 PCB の性状および濃度の異常 ② 血液中性脂肪の増加 ③ 貧血、リンパ球増多、アルブミン減少 ④ 知覚神経伝導性と副腎皮質機能の低下 3. 皮膚粘膜症状 1) 痤瘡様皮疹 顔面、臀部、その他間擦部などにみられる黒色面皰、痤瘡様皮疹とその化膿傾向 2) 色素沈着 顔面、眼瞼粘膜、歯肉、指趾爪などの色素沈着 3) 眼症状 マイボーム腺肥大と眼脂過多、眼瞼浮腫など
---	---

表 4. 油症診断基準（昭和51年6月14日補遺）

油症の診断基準としては、昭和47年10月26日に改訂された基準があるが、その後の時間の経過とともに症状と所見の変化がみられるので、現時点においては、次のような診断基準によることが妥当と考えられる。 発病条件 PCB の混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。 油症母親を介して児に PCB が移行する場合もある。多くの場合家族発生がみられる。 重要な所見 1. 痤瘡様皮疹 顔面、臀部、そのほか間擦部などにみられる黒色面皰、面皰に炎症所見の加わったもの、および粥状内容物をもつ皮下嚢胞とそれらの化膿傾向。 2. 色素沈着 顔面、眼瞼結膜、指趾爪などの色素沈着（いわゆる“ブラックベビー”をふくむ） 3. マイボーム腺分泌過多	4. 血液 PCB の性状および濃度の異常 参考となる症状と所見 1. 自覚症状 1) 全身倦怠感 2) 頭重ないし頭痛 3) 四肢のパレステジア（異常感覚） 4) 眼脂過多 5) せき、たん 6) 不定の腹痛 7) 月経の変化 2. 他覚的所見 1) 気管支炎所見 2) 爪の変形 3) 粘液嚢炎 4) 血清中性脂肪の増加 5) 血清 γ-GTP 6) 血清ビリルビンの減少 7) 新生児の SFD (Small-For-Dates Baby) 8) 小児では、成長抑制および歯牙異常（永久歯の萌出遅延）
---	--

- 註 1. 以上の発病条件と症状、所見を参考にし、受診者の年齢および時間的経過を考慮のうえ、総合的に診断する。
2. この診断基準は、油症であるか否かについての判断の基準を示したものであつて、必ずしも油症の重症度とは関係ない。
3. 血液 **PCB** の性状と濃度の異常については、地域差職業などを考慮する必要がある。

表 5. 福岡県油症患者発生状況（年次別および累計）

年 次	52年	53年	54年	55年
男	5	4	2	13
女	8	4	7	13
計	13	8	9	26
累 計	737	745	754	780

表 6. 都道府県別油症患者数（昭和 54 年 12 月 31 日現在）

都道府県	患者数	都道府県	患者数	都道府県	患者数	都道府県	患者数
福 島 県	3	愛 知 県	26	岡 山 県	5	熊 本 県	3
茨 城 県	1	三 重 県	1	広 島 県	93	大 分 県	20
埼 玉 県	4	京 都 府	3	山 口 県	49	宮 崎 県	2
千 葉 県	9	大 阪 府	51	愛 媛 県	13	鹿 児 島 県	6
東 京 都	10	兵 庫 県	13	高 知 県	45		
神 奈 川 県	6	奈 良 県	21	福 岡 県	706		
長 野 県	1	鳥 取 県	2	佐 賀 県	21		
岐 阜 県	5	島 根 県	7	長 崎 県	570	合 計	1,696

表 7. 全国油症患者発生数（年次別累計）

年 次	52 年	53 年	54 年
患 者 数	1,665	1,684	1,696

昭和 54 年 12 月 31 日現在

表 8. 油症治療指針（昭和 47 年 10 月 26 日改訂）

1. PCB の排泄促進 現在、油症患者の PCB 濃度はかなり低下しているものと推定されるが、PCB の排泄を促進することが最も重要である。ただ PCB の特性上、適当な排泄促進剤はなお報告されていない。 現在考える PCB の排泄促進法としては (1) 絶 食 (2) 酵素誘導法 (3) 適当な PCB 吸着剤の経口投与 などがあげられている。 ただし、絶食および酵素誘導法については、その適応および実施に慎重な配慮を要する。 2. 対症療法 対症療法としては、種々の解毒剤（たとえば還元型グルタチオン）種々の脂質代謝改善剤などのほ	か、脳神経症状にたいしては鎮痛剤、ビタミンB剤など、呼吸器症状には鎮咳剤などを投与し、また内分泌症状にたいしてはホルモン療法も考えられる。 皮膚症状にたいしては、種々の対症療法が行われているが、症例によつては形成手術も行われる。 その他、眼科、整形外科、歯科保存科においては症状に応じた対症療法が行われる。 3. 合併症の治療 油症患者においては、神経、内分泌障害、酵素誘導などの所見がみられるため種々の合併症を生じやすく、また合併症が重症化する傾向があるので慎重に治療する必要がある。 また、酵素誘導により薬物の分解が促進されており、通常の投与量では治療効果があがらぬことも多い。
---	---

えられる。

PCB の代謝、毒性、合成に関する研究は、ますます多角的に続行され、多大の成果が得られている。さらに、PCB と共に油症患者体内に残留する PCDF、また、他の職業的 PCB 中毒症と

比べて、油症患者により特異的に血中に証明されると考えられる **PCQ** についての研究が附加され、発展しつつある。今回の報告書にも最近の成績が記載されている。この事情に鑑み、昭和 55 年度には **PCQ** 検討委員会が特設され、集中的にその測定や測定値の意義についての見解が統一された。これに従い、血中 **PCQ** の測定が油症の診断上必要であるのでこれを油症診断基準の一項目に加えることについて検討中である。

油症の治療法の開発を特に期待されているサルの **PCB** 中毒症に関する研究も次第に成果をあげつつある。

しかし、油症患者に対し実施でき、その原因物質を急速に代謝、排泄させ得る根本的な治療法には到達していないのが現状である。したがって、表 8 に再掲した油症治療指針（昭和 47 年 10 月 26 日改訂）に、新たに補遺すべき事項は、現時点においては見当らない。サルの **PCB** 中毒実験により還元型グルタチオン、コレスチラミンの効果が期待されることを附言するにとどめる。

本誌に収録した研究成果は、「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」に対する厚生省科学研究費補助金（厚生省昭和54年度 2900万円，昭和55年度 2900万円）ならびに北九州市よりの研究補助費に負うものである。ここに追記して深々なる謝意を表する。

ポリ塩化ビフェニールの加熱による ポリ塩化ジベンゾフランの生成

九州大学医学部公衆衛生学講座

長 山 淳 哉・倉 恒 匡 徳

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人

Formation of Polychlorinated Dibenzofurans by Heating Polychlorinated Biphenyls

Junya NAGAYAMA, Masanori KURATSUNE

*Department of Public Health, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Yoshito MASUDA

*Daiichi College of Pharmaceutical Sciences
Fukuoka, 815, Japan*

Kanechlor-400 (KC-400) and KC-400 mixed with pieces of stainless steel, iron or nickel were heated at 200, 300 or 350°C for several weeks and then analyzed for polychlorinated dibenzofurans (PCDF) by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. In concurrence with the heating experiments at 200°C, the above KC-400 mixtures were weekly added with small amounts of water and heated at 200°C for several weeks.

Concentrations of PCDF in all the treated KC-400 mixtures were slightly decreased by heating at 200°C, except a case that the mixture of KC-400, iron and water was heated for 7 weeks. However, the PCDF concentrations were markedly increased by heating at 300 and/or 350°C. By heating at 300°C for 7 weeks, the PCDF concentrations were increased to 15-37 times higher (240-560ppm) than that of non-treated KC-400 (15 ppm). Heating at 300°C for 7 weeks and 350°C for 4 weeks caused the PCDF concentrations to reach to 40-50 times higher (610-740 ppm). PCDF were effectively formed when KC-400 was heated with the metals especially with iron.

油症はカネクロール (KC) で汚染されたライスオイルを知らずに摂取することにより起った。KC の成分はポリ塩化ビフェニール (PCB) であるので、油症の原因物質は PCB であると事件当時は考えられていた¹⁸⁾。その後、ライスオイルには PCB のほか、ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) およびポリ塩化クオターフェニール (PCQ) が含まれていることが分り¹²⁾¹⁵⁾、油症の原因物質が複雑になってきた。KC 等の PCB 製品の毒性はその中に微量混在している PCDF によつて大きく影響されているとの報告がある⁹⁾¹⁹⁾²⁰⁾。すなわち、PCDF は PCB よりも非常に毒性が強い化合物と考えられている¹⁾³⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁶⁾。また、

PCDF は油症患者体内から比較的高濃度で検出され¹⁶⁾、人体に高い蓄積性を示す。したがつて、ライスオイル中の PCDF は微量であつても、その由来を明らかにしなくてはならない。

油症患者が摂取したライスオイル中の PCDF は約 5 ppm であつた¹⁵⁾。この値は KC に存在する PCDF (約 20 ppm) が KC と共にライスオイルに混入したとして計算した値 0.02 ppm よりも 250 倍高い濃度であつた。PCDF がこのように高濃度になった原因は KC が熱媒体として使用されている間に PCB から PCDF が生成されたためと考えられている。この過程を確かめるためには、PCB を加熱することに

より PCDF が生成されるかどうかを調べればよい。

一方、都市のごみ焼却過程で生じる飛散灰から PCDF が検出されており⁷⁾¹⁷⁾、これはごみに混入していた PCB の加熱により生じたものと考えられている。環境を汚染している PCB も加熱により、毒性が強い PCDF に変化し、人間の健康に影響を及ぼす可能性がある。この意味からも PCB の加熱により PCDF が生成される状態を研究しておく必要がある。

今までに、PCB の加熱による PCDF の生成に関する研究は、いくつかある。これらは、PCB を封管した状態で加熱しており、加熱時間も非常に短い。すなわち、PCB が熱媒体として使用される加熱条件とは異なっている。我々は、KC-400 を試験管にとり、封管せずに、ステンレススチール (Sus 32)、鉄片またはニッケル粒を加え、また、必要により、水を加えて、200~350° で 1~11 週間加熱して、PCB の熱媒体使用に近い条件をつくり、PCDF の生成状態を調べた。

実験方法

1. 溶媒および試薬

1) n-ヘキサンおよびエタノール：残留 PCB 分析用溶媒を使用。

2) 四塩化炭素および二塩化メチレン：試薬特級品をウィットマー分留管をつけて 2 回蒸留したものを使用。

3) 水：イオン交換樹脂で精製した水を前記の n-ヘキサンで 2 回洗浄したものを使用。

4) シリカゲル：ワコーゲル、S-1 を 150°C で 3 時間加熱乾燥したものを使用。

5) アルミナ：カラムクロマトグラフィー用活性アルミナ；300 メッシュ（和光純薬工業）を 150°C で 12 時間加熱、活性化したものを使用。

2. 測定機器

1) ガスクロマトグラフ (ECD-GC)：ベックマン GC 72-5 に電子捕獲型検出器をつけて使用した。カラムは 2% SE-30 をクロモソルブ W AW DMCS (100—120 メッシュ) にコーティングし、ガラスカラム (4 mm×2 m) につめたものを用いた。カラム温度は 200°C で行つた。キャリアガスは純度 99.9995% の窒素ガスを使用し、流速は 30 ml/min とした。

2) ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-MS)：日本電子 D-100 を使用。カラムは ECD-GC において使用したものと同様である。イオン化エネルギーは 25 eV、イオン化電流は 300 μ A であつた。

3. 加熱方法および試料採取

KC-400 を 5 ml ずつ共栓試験管にとり、これにステンレススチール (Sus 32) 片 3 g、鉄片 5 g、またはニッケル粒 5 g を加えたものおよび無添加のものを封管せずに、リービヒ冷却器 (300°C および 350°C での加熱実験時) または空気冷却器 (200°C での加熱実験時) をつけて 200°C あるいは 300°C の金属浴 (ドライブロックバス、モデル AL-1000, Sci-nics corp) で 1 日 8 時間ずつ 7 週間加熱した。加熱 1 週、3 週および 7 週目に冷却器に付着した PCB を n-ヘキサンで加熱反応層に洗い落とし、n-ヘキサン留去後、PCB 100 mg を精秤し試料とした。300°C で 7 週間加熱したものは、350°C でさらに 4 週間加熱実験を継続した。350°C で追加加熱 2 週間目および 4 週間目に同様にして試料を取り出した。200°C での加熱実験ではさらに各実験区に毎週水 1 ml を加えて加熱する実験も行つた。

4. PCB と PCDF との分離方法

PCB を加熱した試料を n-ヘキサンに溶解後、活性アルミナ (5 g) のカラムクロマトグラフィーにかけた。その試料を四塩化メチレン：n-ヘキサン (1：4, v/v) 120 ml および二塩化メチレン：n-ヘキサン (1：4, v/v) 30 ml で順次溶出させた。PCDF は後者のフラクションに溶出されるのでこのフラクションを減圧下で濃縮乾固し、一定量の n-ヘキサンに溶解後 ECD-GC および GC-MS の試料とした。

5. ガスクロマトグラフィーによる PCDF の定量

PCDF 濃度は塩素数およびその置換位置に関係なくガスクロマトグラフ上同一感度を示すものと仮定し、四塩化および五塩化ジベンゾフランを主成分とし六塩化ジベンゾフランを少量含む合成 PCDF¹⁸⁾ を標準物質としてガスクロマトグラフのピークの高さの総和により、各々の実験区の試料について算出した。

結 果

KC-400 に Sus 32 を添加し 300°C で 1, 3 および 7 週間、そしてさらに 350°C で 4 週間加熱した場合の PCDF フラクションのガスクロマトグラフを Fig. 1 に示す。Fig. 1 から分るように、KC-400 の加熱時間および温度の条件が強められるに従つて PCDF フラクションに存在する各ピークの増大、および新たなピークの生成が観察された。すなわち、300°C で加熱した場合 3 週間で三塩化、四塩化、および五塩化ジベンゾフランの各ピークの増大が認められ、7 週間の加熱で三塩化および四塩化ジベンゾフラ

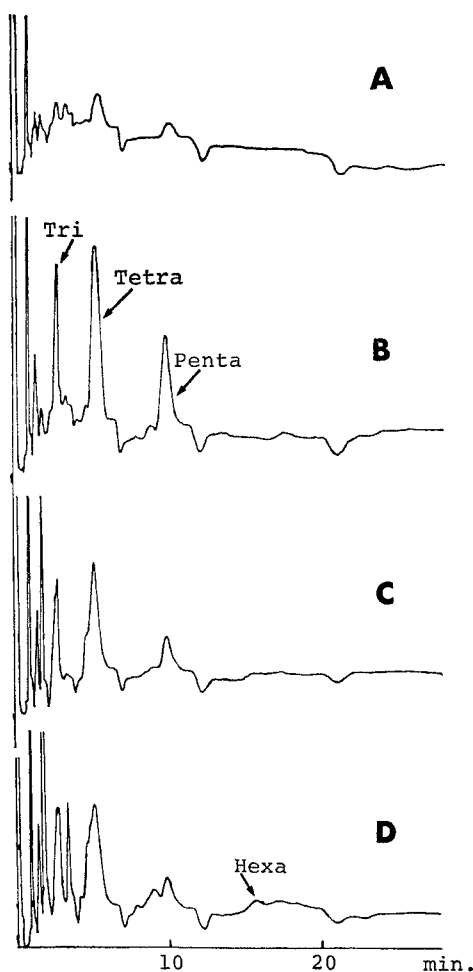


Fig. 1. Gas chromatogram (ECD) of PCDF fraction from heated Kanechlor-400 with Sus 32 for 1 week (A), 3 weeks (B), and 7 weeks (C) at 300°C, and additional 4 weeks at 350°C (D). Each fraction (A-D) was dissolved in 10, 10, 35 and 50ml of n-hexane, respectively, and injected 5 μ l each.

ンの新たなピークの生成が観察された。300°Cで7週間加熱後さらに350°Cで4週間加熱すると、三塩化、四塩化、五塩化および六塩化ジベンゾフランの新たなピークの生成および増加が認められた。このようにPCBを300°Cおよび350°Cで加熱することにより、PCDFが生成されるが、この時、量的増加のみでなく、新たなピークの生成によつて示されるように、質的にも変化が見られた。各実験区のPCDFフラクションの各ピークがPCDFであることはGC-MSを測定することによつて確認した。その一例としてPCDFフラクションの三塩化および四塩化ジベン

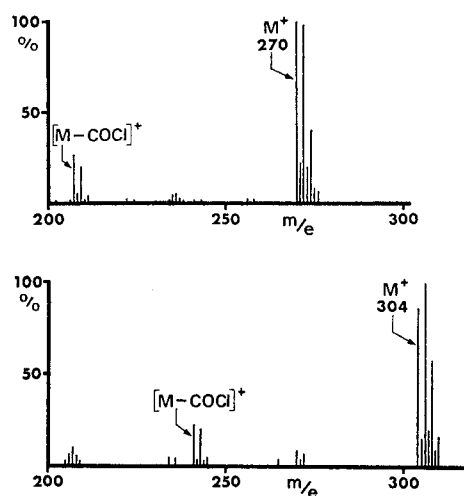


Fig. 2. GC-MS of trichlorodibenzofuran (upper) and tetrachlorodibenzofuran (lower) contained in heated Kanechlor-400 with iron at 300°C for 7 weeks.

ゾフランのマススペクトルをFig. 2に示す。その分子イオン (M^+) の m/e が270および304であること、 $[M-COCl]^+$ の m/e がそれぞれ207および241にあらわれることなどから三塩化および四塩化ジベンゾフランであることを確認した。

KC-400の加熱によるPCDFの生成量をまとめてTable 1に示す。このTableからわかるように200°Cでの加熱実験においては、KC-400に鉄片と水を加えて7週間加熱した場合、PCDF濃度は、無処理の場合のその約2倍に増加している以外、いずれの実験区においても若干減少していた。ガスクロパターンでみるといくつかのピークの消失があり、PCDFが分解しているように考えられた。300°Cでの加熱実験では、いずれの実験区においても加熱時間が長くなるに従つてPCDFの生成が増大した。加熱3週間ではPCDF濃度は無処理の場合のその約3~6倍に増大し、加熱7週間では、15~37倍になった。さらに350°Cで2週間追加加熱すると約20~50倍となり、4週間の追加加熱で40~50倍に達した。鉄片を添加した場合にPCDFの生成が最も大きく、300°C7週間の加熱で560 ppm、さらに350°Cで4週間追加加熱すると740 ppmにまで増大した。KC-400のみの加熱においても300°C7週間の加熱で240 ppmに増加し、さらに350°Cで4週間追加加熱すると630 ppmにまでPCDF濃度が増大した。全体として200°Cでの加熱実験ではPCDF生成に対する各金属

Table 1 PCDF concentrations in Kanechlor-400 after heating with metal

	PCDF concentration (ppm)							
	Heat at 200°C			Heat at 300°C			Heat at 350°C	
	1 wk	3 wk	7 wk	1 wk	3 wk	7 wk	2 wk*	4 wk*
KC-400	9.1	8.4	11	18	50	240	320	630
KC-400+Water	8.2	8.7	11	—	—	—	—	—
KC-400+Sus	9.5	8.2	12	16	70	330	490	610
KC-400+Sus+Water	11	11	12	—	—	—	—	—
KC-400+Ni	12	9.6	10	16	53	220	530	720
KC-400+Ni+Water	10	12	11	—	—	—	—	—
KC-400+Fe	11	11	14	19	87	560	730	740
KC-400+Fe+Water	9.7	11	32	—	—	—	—	—

PCDF concentration in non-treated KC-400: 15 ppm

* additional heating time after heating at 300°C for 7 weeks

および水の影響はみられずむしろ若干減少していた。300°C および 350°C での加熱実験では、いずれの実験区においても加熱時間および温度の条件が強められるに従って PCDF 生成量が増大した。この場合、金属類の存在によつて PCDF 生成は更に増大した。

考 察

PCB の加熱による PCDF の生成に関する最近の報告によると、PCB を 550~650°C の温度範囲で 60 秒間加熱することにより、かなりの PCDF が生成された⁵⁾⁷⁾⁸⁾。それは、PCB の異性体によつては、PCDF が 1000~16000 ppm の濃度にまで達した。また、700°C 以上の温度では、PCB および PCDF はいずれも 99% 以上が分解して消失した。PCB のみでなくクロロベンゼンや 2, 4, 5-トリクロロフェノールの加熱または燃焼によつても PCDF やポリ塩化ジベンゾジオキシン (PCDD) が生成された。クロロベンゼンの場合 620°C で 60 秒間加熱されると、多い場合には PCDF と PCDD がそれぞれ 10,000 ppm および 1,000 ppm 生成された⁸⁾。我々の実験では KC-400 を 200°C で 7 週間加熱した場合では PCDF は生成されず、むしろ若干減少していたが 300°C で 7 週間あるいはさらに 350°C で 4 週間加熱すると PCDF の生成が増大した。その場合の PCDF 濃度は、実験区によつて相違するけれども、300°C で 7 週間加熱すると最高 560 ppm になり、さらに 350°C で 4 週間追加加熱すると最高 740 ppm にまで増大した。以上の PCDF 生成に関する実験を考え合せると、PCB または他の塩素化合物を加熱して、PCDF を生

成させるためには 300~650°C の温度が必要だと考えられる。

よい触媒を用いれば、300°C 以下の温度で PCB から PCDF が生成される可能性もあると考えられるので、本実験のほかに次の加熱実験を行なった。すなわち、KC-500 に塩化第一鉄、塩化第二鉄、過酸化ラウロイルまたは過酸化ベンゾイルを添加し、200°C で 9 時間加熱後、PCDF を分析した。その結果、過酸化ベンゾイル添加の場合、約 400 ppm の塩化タアフェニールが生成された以外、いずれの実験区においても PCDF の生成は見られなかった。また、油症原因オイルに KC-400 あるいは KC-400 と鉄片を添加し、200°C で 4 週間加熱実験を行つたが PCDF の生成は観察されなかった。200°C の加熱では PCB から PCDF が生成される可能性は少ないと考えられる。加熱による PCDF の生成および分解に関するメカニズムは更に追究する必要がある。

最近、カネミ油症原因オイルから PCB 濃度に相当するか、あるいはそれ以上の濃度のポリ塩化クォーターフェニール (PCQ) が検出された¹²⁾。それで、著者らは KC-400 を本論文での加熱実験と同様に加熱して PCQ の生成状態について調べた²²⁾。その実験によると、PCQ の生成率は本実験の PCDF の生成率と比較すると、かなり高い (最高 80,000 ppm) が両化合物とも KC-400 の加熱温度および加熱時間の条件が増強されるに従つて生成率が增加するという点で一致している。このことにより、これら化合物の生成メカニズムを推定すると、PCB が加熱されるときに、新しい結合を分子内でつづつたものが PCDF で

あり、分子間で作ったものが PCQ であると考えられる。

近年、オランダやスイスで一般都市の焼却場および工場加熱装置からの飛散灰から PCDF や PCDD が検出されている⁴⁾⁷⁾¹⁷⁾。とくに、スイスでの分析結果では飛散灰のなかに 0.1~0.3 ppm の PCDF が検出された。この濃度は PCB と同じレベルであり⁷⁾、無視できない。日本でも松山市で大気中から 1 pg/m³ 程度の PCDF が検出されている²⁰⁾。PCB やそれに関連した有機塩素系化合物が工場での作業過程やごみ焼却作業等で 300°C 以上に加熱されるような場合、PCDF や PCDD が生成され、作業環境や一般環境を汚染する原因となる可能性がある。これらの化合物は毒性が非常に強いので、微量であつても、加熱によるこれらの化合物の生成について、今後更に研究する必要がある。

総 括

KC-400 および KC-400 にステンレススチール、鉄またはニッケルの小片を添加し、200°C、300°C および 350°C で数週間加熱後、PCDF 濃度の変化を ECD-GC および GC-MS によつて測定した。200°C での加熱実験では、各々の実験区に毎週水を添加して加熱する実験も同時に行つた。

1) 200°C での加熱実験では、鉄片および水を添加し、7週間加熱を行つた実験区で PCDF が生成され、未処理 KC-400 中の PCDF 濃度 (約 15 ppm) の約 2 倍になつたほかは、いずれの実験区においても PCDF 濃度が若干減少していた。

2) 300°C および 350°C での加熱実験では、いずれの実験区においても、PCDF 濃度が顕著に増加した。300°C で7週間加熱することにより、PCDF 濃度は未処理の場合のその約 15~37 倍 (240~560 ppm) になり、さらに 350°C で4週間追加加熱することにより約 40~50 倍 (610~740 ppm) にまで達した。

3) 300°C および 350°C での加熱実験において、金属の添加とくに鉄片の添加により、PCDF の生成が促進された。

文 献

- 1) 荒木泰典: Chlorinated dibenzofuran および Chlorinated dibenzodioxin の酵素誘導作用。福岡医誌 65: 61-64, 1974.
- 2) Ahling, B., Lindsbog, a., Jansson, B. and Sundström, G.: Formation of Polychlorinated

ted dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans during combustion of 2, 3, 4-T formulation. Chemosphere 8: 461-468, 1977.

3) Bauer, H., Schulz, K. H. and Spiegelberg, U.: Berufliche Vergiftungen bei der Herstellung von Chlorphenol-Verbindungen. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 18: 538-555, 1961.

4) Buser, H. R.: Formation of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and dibenzo-p-dioxins (PCDDs) from the pyrolysis of chlorobenzenes. Chemosphere 6: 415-424, 1979.

5) Buser, H. R., Bosshardt, H-P. and Rappe, C.: Formation of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) from the pyrolysis of PCBs. Chemosphere 1: 109-119, 1978.

6) Buser, H. R., Bosshardt, H-P. and Rappe, C.: Identification of polychlorinated dibenzo-p-dioxin isomers found in fly ash. Chemosphere 2: 165-172, 1978.

7) Buser, H. R., Bosshardt, H-P., Rappe, C. and Lindahl, R.: Identification of polychlorinated dibenzofuran isomers in fly ash and PCB pyrolysis. Chemosphere 5: 419-429, 1978.

8) Buser, H. R. and Rappe, C.: Formation of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) from the pyrolysis of individual PCB isomers. Chemosphere 3: 157-174, 1979.

9) Goldstein, J. A., Hass, J. R., Linko, P. and Harvan, D. J.: 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in commercially available 99% pure polychlorinated biphenyl isomer identified and the inducer of hepatic cytochrome p-448 and aryl hydrocarbon hydroxylase in the rat. Drug Metab. Dispo. 6: 258-264, 1978.

10) Hofmann, H. Th.: Neuere Erfahrungen mit hochtoxischen Chlorkohlenwasserstoffen. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 232: 228-230, 1958.

11) 池田良雄: PCB の毒性。食衛誌 13: 359-367, 1972.

12) Miyata, H., Kashimoto, T. and Kunita, N.: Studies on the compounds related to PCB (V) Detection and determination of unknown organochlorinated compounds in Kanemi rice oil caused the "Yusho". J. Food Hyg. Soc. Japan 19: 364-371, 1978.

13) Morita, M., Nakagawa, J. and Rappe, C.: Polychlorinated dibenzofuran (PCDF) formation from PCB mixture by heat and oxygen. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19: 665, 1978.

14) 長山淳哉, 西住昌裕, 増田義人: マウスにおける塩化ジベンゾフランの亜急性毒性。福岡医誌 70: 109-113, 1979.

15) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Chlorinated dibenzofurans in Kanechors and rice oils used by patients with Yusho.

Fukuoka Acta Med. 66: 593-599, 1975.

16) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with "Yusho". *Fd Cosmet. Toxicol.* 15: 195-198, 1977.

17) Olie, K., Vermeulen, P. L. and Hutzinger, O.: Chlorodibenzo-p-dioxins and chlorodibenzofurans are trace components of fly ash and flue gas of some municipal incinerators in the Netherlands. *Chemosphere* 8: 455-459, 1977.

18) 塚元久雄ほか 33 名: 油症患者が使用したライソオイル中の有毒物質の化学的検索. *福岡医誌* 60: 496-512, 1969.

19) Vos, J. G. and Koeman, J. H.: Comparative toxicologic study with polychlorinated biphenyls in chicken with special reference to

porphyria, edema formation, liver necrosis, and tissue residues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17: 656-668, 1970.

20) Vos, J. G., Koeman, J. H., Van der Maas, H. L., Ten Noever de Brauw, M. C. and de Vos, R. H.: Identification and toxicological evaluation of chlorinated dibenzofuran and chlorinated naphthalene in two commercial polychlorinated biphenyls. *Fd Cosmet. Toxicol.* 8: 625-633, 1970.

21) 脇本忠明, 大橋信之, 立川 涼: 水および大気中のポリ塩化ジベンゾフランの定量法. *日本農芸化学会昭和 55 年度大会講演要旨集* 366, 3L5, 1980.

22) 山領智子, 宮崎徳光, 増田義人, 長山淳哉: ポリ塩化ビフェニールの加熱によるポリ塩化クォーターフェニールの生成. *福岡医誌* 70: 88-92, 1979.

PCB 投与ラット肝臓における過酸化脂質の 生成と薬物代謝酵素, グルタチオンパー オキシダーゼ, ビタミン E との関連*

国立栄養研究所食品科学部

斎藤 衛 郎・池 上 幸 江・印 南 敏

帝京短期大学

永 山 ス ミ 子

日本大学農獣医学部水産学科

西 出 英 一

Relations between lipid peroxide formation, and mixed function oxidase, glutathione peroxidase and vitamin E in the liver of rats given Polychlorinated Biphenyls (PCB)

Morio SAITO, Sachie IKEGAMI and Satoshi INNAMI

*Division of Food Science, National Institute
of Nutrition Tokyo 162, Japan*

Sumiko NAGAYAMA

Teikyo College, Tokyo 151, Japan

Eiichi NISHIDE

*Dept. of Fisheries, College of Agriculture and Veterinary
Medicine, Nihon University, Tokyo 154, Japan*

The present experiments were conducted to find out the relations between lipid peroxide formation, and mixed function oxidase and lipid peroxide scavenger systems in the liver of rats given PCB. Weanling male rats of the Sprague Dawley strain received the experimental diet containing 0.05% of PCB which tetrachloride isomer was dominant for 1, 3, 5 or 7 days. Lipid peroxide levels in the liver were increased significantly by PCB administration on and after 3 days and were elevated as an increase of PCB ingestion. PCB administration enhanced the liver microsomal cytochrome P-450 content and NADPH-cytochrome c reductase activity at day 7. A time lag was observed between lipid peroxide formation, and an induction of cytochrome P-450 and an increase of NADPH-cytochrome c reductase activity. On the other hand, no differences were found in the amounts of liver vitamin E and the substances reactive to 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Glutathione peroxidase activity in the liver was lowered by PCB administration at day 7. The results described here seemed to indicate that the insufficiency of lipid peroxide scavenger system contributed to the higher level of lipid peroxide in the liver of rats given PCB, whereas mixed function oxidase system, especially NADPH-cytochrome c reductase, did not directly participate in the acceleration of lipid peroxidation by PCB.

* PCB の毒性と栄養 (第 15 報), PCB Toxicity and Nutrition XV

著者らは、これまでポリ塩化ビフェニール (PCB) の生体に対する影響について栄養学的側面から一連の研究を行ってきているが、その中でさきに PCB 投与ラット肝臓では過酸化脂質 (LPO) 生成の亢進することを明らかにし、若干の知見を発表した¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。

PCB 投与動物における LPO の生成に関しては、著者らの他に、Combs ら⁵⁾、伊東ら⁶⁾、糸川ら⁷⁾ による報告がみられるが、その生成機構の詳細についてはいまだ十分には解明されていない。一般的に、生体内における脂質過酸化反応には酵素のおよび非酵素的の2通りの反応の存在することが知られている⁸⁾。この中前者はミクロゾームでみられる反応で、NADPH を介して薬物代謝酵素系と共役していると考えられ、とくに NADPH-チトクローム c レダクターゼがその反応に直接関与するとされている⁹⁾。後者はミクロゾームおよびミトコンドリアでみられ、アスコルビン酸と ADP-Fe の両者により促進されることが知られている¹⁰⁾。PCB が薬物代謝酵素を誘導することは既知の事実であることから³⁾⁴⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾、PCB 投与動物では薬物代謝酵素の誘導と脂質過酸化反応の亢進とは何らかの形で関連していることが考えられる。一方、LPO の生成にはそのスカベンジャー系、特に抗酸化作用をもつビタミン E (V.E) や生成した LPO を分解するグルタチオンパーオキシダーゼ (GSHPx) が関連することも知られているが¹⁴⁾、PCB 投与ラット肝臓の LPO 生成増加に対しては、V.E や GSHPx が相対的に不足していることがすでに認められている⁴⁾。

著者ら²⁾ は、すでに PCB 投与ラット肝臓においては、飼料中 0.05% の PCB 濃度で LPO の生成が最も多く、PCB 投与 1 週目以降の LPO 生成の経時変化では 1 週目が最も多いことを報告している。そこで今回は PCB 投与による LPO の生成機構解明の手がかりを得るために、0.05% 濃度の PCB 飼料をラットに投与し、1 週目までの LPO 生成と LPO の生成系と考えられている薬物代謝酵素の誘導および LPO のスカベンジャー系成分を経時的に観察した結果について報告する。

実験方法

Sprague Dawley 系 4 週令の雄ラットを 12 時間明暗交替 (7:00 a.m.~7:00 p.m.) 恒温恒湿の動物室で、6 日間基本飼料 (表 1) で予備飼育後、和光純薬 KK より購入した 4 塩化体を主成分とする PCB を、予め大豆油に溶かして 0.05% となるよう飼料に混合し、1 群 5 匹として 1, 3, 5, 7 日間飼育した。飼

Table 1. Composition of basal diet

Ingredient	Gram per 100 g diet
Sucrose	63.0
Casein	20.0
Soybean oil	9.0
Mineral mixture*	4.0
Vitamin mixture*	0.85
Vitamin oil**	1.0
Choline-HCl	0.15
Cellulose	2.0

* This is identical with A. E. Harper's mixture (J. Nutr., 68, 405 (1959))

** Three hundreds IU of vitamin A, 30 IU of vitamin D₂ and 10 mg of α -tocopheryl acetate were dissolved in soybean oil.

料および水は自由摂取とした。飼育終了後、午前 9 時に断頭屠殺し、肝臓を取り出し、直ちに肝臓の一部につき生理食塩水を用いて血液を還流除去し、八木らの方法¹⁵⁾により過酸化脂質量 (TBA 値) を測定した。また、肝臓の正中葉から前記同様血液を除去したものをチトクローム P-450 (P-450) 含量、NADPH-チトクローム c レダクターゼ (fP₂) 活性および 1, 1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) 値測定用とした。その他の部分は V.E 量とグルタチオンパーオキシダーゼ活性測定用とし、いずれも分析時まで -20°C に保存した。

肝臓ミクロゾームの P-450 含量、fP₂ 活性は大村らの方法¹⁶⁾¹⁷⁾、蛋白質量は Lowry らの方法¹⁸⁾ によつて測定した。また、組織の抗酸化能およびフリーラジカル反応性物質の量を示す DPPH 値 (安定性フリーラジカル DPPH はアルコール溶液中で青色を呈するが、抗酸化性物質を加えると両者が反応して青色が消失する) は、0.1 ml の 10% 肝臓ホモジネートを用い、内山らの方法¹⁹⁾ に準じて測定し、517 nm での吸光度の減少として示した。肝臓の V.E (α -トコフェロール) 量は内部標準として 2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチル-6-ヒドロキシクロマン²⁰⁾ を用い、阿部らの方法²¹⁾²²⁾ を参考にして高速液体クロマトグラフィー (HSLC) により測定した。測定方法の概略を示せば以下の通りである。4% 肝臓ホモジネート (水溶液) 1.0 ml および内部標準のエタノール溶液 (0.45 μ g / ml) 1.0 ml に n-ヘキサン 5.0 ml を加え密栓して 10 分間激しく振り混ぜた後遠心分離 (1000 rpm, 5 min) する。上層の n-ヘキサンをとり、ほぼ同量の水で洗滌後遠心分離 (1000 rpm, 2 min) する。n-ヘ

Table 2. Condition of high-speed liquid chromatography

Instrument	Hitachi 635 Liquid Chromatograph
Column	Hitachi Gel 3011 (2.6 i.d.×500 mm)
Mobile phase	Methanol: <i>n</i> -Hexane (75:25)
Flow rate	1.0 ml/min.
Detector	Hitachi Fluorescence Spectrophotometer 650-10 S (Ex. 298 nm, Em. 325 nm)

Table 3. Effect of PCB on food intake, body weight gain and liver weight in rats

Group	Feeding period (days)	Food intake (g)	Weight gain ¹⁾ (g)	Liver weight per 100 g of body weight (g)
Control	0			6.1±0.5
	1	11.9±0.5 ²⁾	8.0±0.5	6.3±0.1
	3	35.7±1.2	20.0±0.7	6.0±0.1
	5	64.2±3.5	33.7±1.6	6.2±0.2
	7	73.8±2.1	30.1±3.1	5.2±0.2
0.05% PCB	1	11.1±0.2	7.2±0.9	6.4±0.1
	3	37.6±2.5	17.5±1.6	7.7±0.2 ^a
	5	59.0±4.0	24.0±3.3 ^c	7.0±0.1 ^a
	7	96.8±3.2 ^a	42.3±3.2 ^c	8.6±0.2 ^a

1) Mean initial body weight in each group was about 103 g.

2) Mean±S.E. n=5

a Significantly different from the control group, $p<0.01$.c Significantly different from the control group, $p<0.05$.

キサン層をとり、40℃の水浴上でN₂ガスを通じながら溶媒を留去し、残留物を *n*-ヘキサン 50 μ l で溶かし、その 2~10 μ l をカラムに注入して HSLC を行い、得られたクロマトグラフ上の内部標準と V.E (α -トコフェロール) のピークの高さの比を求める。別に、標品の V.E と内部標準を用い、同様の操作により作製した検量線から試料の V.E 量を算出する。HSLC の条件を表 2 に示す。GSHPx 活性は Noguchi らの方法¹⁴⁾ に準じて測定したが、この際、基質の過酸化水素濃度は 4.17 mM から 2.72 mM に下げ、肝臓ホモジネートは 1.67 %濃度のものを用いた。

上記の方法で得た測定値は、成長速度の大きい若年令の動物を用いたこと及び毒性による体重減少などからくる体重の個体差変動を考慮し、体重 100 g 当りの肝重量当りの含量あるいは酵素活性で示した。

実験結果

1. 摂餌量、体重増加量および肝重量

基本飼料および PCB 0.05 % の飼料で 0, 1, 3, 5, 7 日間飼育したときの摂餌量、体重増加量および肝重量を表 3 に示した。飼育 0 日の値は予備飼育終了

時の値である。

摂餌量では、飼育 5 日目までは有意差はなかったが、7 日目で PCB 群が有意に高い値を示した。体重増加量をみると、飼育 3 日目まではコントロール群と PCB 群間に有意差はなかったが、5 日目では PCB 群が有意に低く、7 日目では逆に PCB 群が高い値を示し、飼育期間によるバラツキがみられたが、これらは短期間飼育の影響によるものと思われた。肝重量をみると、飼育 3 日目以降、肝臓の肥大が認められ、PCB の影響の現われていることがわかる。

2. 肝臓における過酸化脂質 (LPO) 生成の経時的変化

飼育 7 日目までの肝臓における LPO 生成の経時的変化をみると (図 1), PCB 投与 3 日目ですでに LPO の生成亢進が認められ、飼育期間が長くなるにつれ、また、PCB 摂取量が増加するにつれ、LPO 生成量の増加がみられた。LPO の生成亢進は肝臓肥大の開始時期と一致している。コントロール群では LPO 生成量にはほとんど経時変化はみられなかった。

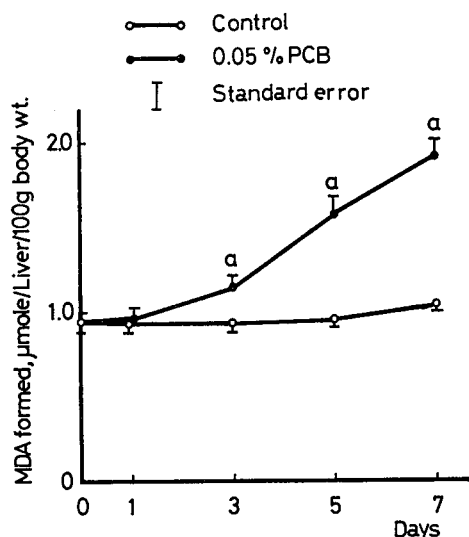
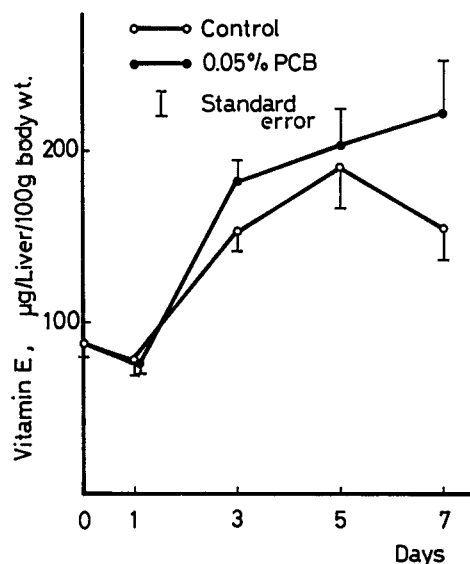
3. 肝臓ミクロソームのチトクローム P-450 (P-450) 含量と NADPH-チトクローム C レダクタ

Table 4. Time course of microsomal cytochrome P-450 content and NADPH-cytochrome c reductase activity in the liver of rats fed diets with and without PCB

Feeding period (days)	0		1		3		5		7	
Group	Control	PCB ¹⁾	Control	PCB	Control	PCB	Control	PCB	Control	PCB
Cytochrome P-450 n mole/liver/100 g body wt.	29.08 ±3.63 ²⁾	—	19.20 ±1.85	16.73 ±2.76	22.45 ±3.62	29.35 ±5.07	17.81 ±2.81	18.98 ±4.16	8.48 ±2.24	24.84 ±1.62 ^a
NADPH-cytochrome c reductase μ mole/min./liver/100 g body wt.	3.83 ±0.33	—	3.13 ±0.30	1.55 ±0.15 ^a	2.53 ±0.47	1.92 ±0.35	1.98 ±0.27	1.63 ±0.38	1.37 ±0.20	2.06 ±0.17 ^c

1) This group contained 0.05 g of PCB per 100 g of diet.

2) Mean ± S.E. n=5

a) Significantly different from the control group, $p < 0.01$.c) Significantly different from the control group, $p < 0.05$.**Fig. 1.** Time course of malondialdehyde formation in the liver of rats fed diets with and without PCBa: Significantly different from the control group, $p < 0.01$.**Fig. 2.** Time course of vitamin E content in the liver of rats fed diets with and without PCB.

ーゼ (fP_2) 活性の経時的変化

薬物代謝系酵素の P-450 含量と fP_2 活性の経時的変化を表 4 に示した。P-450 含量をみると、飼育 5 日目までは両群間に有意差はないが、7 日目で PCB 群が有意に増加し、PCB による P-450 の誘導が認められた。また、 fP_2 活性も P-450 同様、飼育 7 日目で PCB 群が有意に上昇した。P-450 の誘導、 fP_2 活性の上昇は肝臓肥大および LPO 生成亢進の開始時期よりかなり遅れがみられた。なお、コントロール群の P-450 含量および fP_2 活性は飼育期間が長くなるにつれ減少する傾向を示した。

4. 肝臓の V.E 含量、グルタチオンパーオキシダーゼ (GSHPx) 活性および 1, 1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) 値の経時的変化

肝臓の V.E 量 (図 2) は LPO 生成亢進のみられる 3 日目以降、PCB 群で増加の傾向が観察されるが、有意なものではなかった。なお、PCB 群の V.E 量は飼育期間が長くなるにつれ、また、PCB 摂取量の増加に伴い上昇する傾向を示した。GSHPx 活性をみると (図 3)、飼育 5 日目までは両群間に差はみられなかったが、PCB 投与による LPO 生成量の最も多い 7 日目では、PCB 群でその活性は有意に低下した。DPPH 値は (表 5) 全飼育期間を通じて両群間

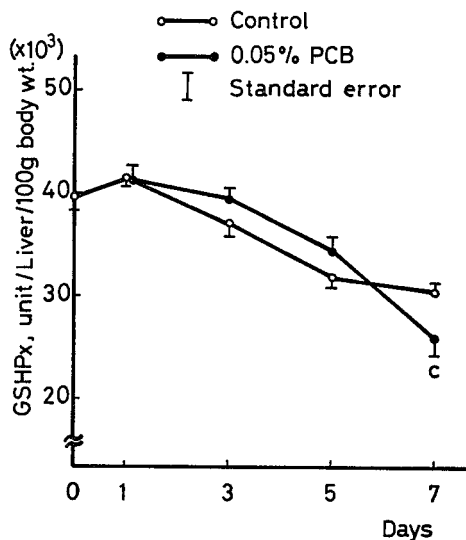


Fig. 3. Time course of glutathione peroxidase activity in the liver of rats fed diets with and without PCB
c: Significantly different from the control group, $p < 0.05$.

Table 5. Comparison of 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl values in the liver of rats fed diets with and without PCB

Group	Feeding period (days)	Decrease in absorbance (517 nm)
Control	0	0.221 ± 0.001 ¹⁾
	1	0.179 ± 0.006
	3	0.168 ± 0.010
	5	0.187 ± 0.000
	7	0.162 ± 0.005
0.05 % PCB	1	0.165 ± 0.008
	3	0.179 ± 0.011
	5	0.178 ± 0.006
	7	0.176 ± 0.006

1) Mean ± S. E. n = 5

に有意差は認められなかった。

考 察

生体試料で測定される LPO 量は、その生成系とスカベンジャーの総決算として現れる。そこで、生体内生成の LPO の生成機構を考えるに際しては、生成系とスカベンジャー系の両面から検討する必要がある。

PCB をラットに投与すると肝臓が肥大し脂肪肝が発現する。これはトリグリセリド、コレステロールの他に磷脂質も増加し²⁾²³⁾²⁴⁾、脂肪酸組成では不飽和脂肪酸の割合の増加することが認められている²³⁾。本実験においても PCB 投与 3 日目以降肝肥大が観察され、脂肪の蓄積に伴う LPO 生成の基質としての不飽和脂肪酸の増加が考えられた。

PCB 投与後短期間における肝臓での経時的な LPO 生成をみると、PCB 投与 3 日目以降 7 日まで、飼育期間が長くなるにつれ、その生成量は有意に増加した。LPO の生成亢進は肝肥大の開始時期と一致していることから、PCB の影響が肝肥大として著明に現れ始める時期に LPO の生成も亢進することが分かる。しかし、既報²⁾のごとく、PCB の投与レベルが高い場合（飼料中 0.1 %）には、飼育期間がより長くなると PCB の毒性が強く現れ、LPO の生成はむしろ抑制される傾向がみられている。

つぎに、薬物代謝酵素系の経時変化を、LPO 生成のそれに対比してみると、P-450 の誘導、fP₂ 活性の上昇はいずれも LPO 生成亢進の開始時期と比較してかなり遅れがみられた。これは、PCB による LPO の生成亢進に対し、薬物代謝酵素系の直接的な関与を疑わしめる結果である。

PCB は肝ミクロゾームの薬物代謝酵素 P-450 により水酸化反応を受け異化されることは良く知られているが、従来、PCB 投与による LPO の生成は、誘導された薬物代謝酵素 P-450 による PCB の代謝（異化）と共役して fP₂ により LPO が生成すると考えられてきた。現に伊藤らはコイにおいてはそうしたメカニズムの存在を示唆している⁹⁾。しかし、本結果からは fP₂ が LPO の生成を亢進しているとは考えにくく、PCB による LPO の生成増加に対して薬物代謝酵素系の直接的な関与は少ないだろうと推測した。他方、肝臓にはアスコルビン酸の関与する非酵素的な LPO の生成も知られている⁸⁾¹⁰⁾。PCB 投与ラットではアスコルビン酸の必要量増大による合成促進が起こっているとされていることから²⁵⁾²⁶⁾、PCB による非酵素的な LPO の生成亢進についても考慮する必要がある。

一方、LPO の生成に関係するスカベンジャー系の経時変化をみると、生体抗酸化剤の V.E 量は、LPO が増加する飼育 3 日目以降、PCB 群で増加の傾向がみられるものの、LPO の生成を抑制するには至らず、V.E 量の相対的な不足が認められた。肝臓の LPO の生成を抑制するためには、さらに多量の

V.E の投与や肝臓への蓄積を必要とするものと思われる、PCB 投与にわたりヒナにおいて LPO の生成抑制のために V.E 必要量の増加を報告している Combs ら²⁷⁾ の結果と一致している。

さらに、肝臓の LPO の生成量を左右する物質としては、生成した LPO を分解する GSHPx が考えられる。GSHPx 活性は飼育5日目までは両群間に有意差はみられず、LPO 量の最も増加する7日目では PCB 群で有意に低い値を示した。このことから、GSHPx も LPO の上昇を抑えるには十分でなく、V.E 量と合わせて LPO のスカベンジャー系の不足が考えられた。

組織の抗酸化能およびフリーラジカル反応性物質の量を示す DPPH 値は全飼育期間を通じて両群間に有意差は認められず、PCB 投与ラット肝臓においては、抗酸化能およびフリーラジカル反応性物質の増加はみられなかった。安定性フリーラジカル DPPH は生体組織のシステイン、グルタチオン、アスコルビン酸、V.E などと反応するが²⁸⁾、本実験において、V.E 量は飼育3日目以降 PCB 群で上昇傾向を示したが DPPH 値に差はみられなかった。また、PCB 投与ラット肝臓ではアスコルビン酸の生合成が高まり、アスコルビン酸量の増加が考えられるが、やはり DPPH 値に差はみられなかった。したがって PCB 投与ラット肝臓では LPO のスカベンジャー系の不足も含め、LPO の生成を抑制するための抗酸化能が低下しているものと思われた。

以上のことから、PCB 投与による LPO の生成増加は、LPO 生成の基質としての不飽和脂肪酸の増加と、LPO の生成に対するスカベンジャー系の不足（抗酸化能の低下）が考えられるが、この他に PCB 投与に伴い脂質過酸化反応を促進するメカニズム、例えばアスコルビン酸の生合成増加に伴う非酵素的反応の亢進など、を考慮する必要がある。PCB による LPO 生成機構の詳細についてはさらに今後の研究課題としたい。

総 括

PCB による肝臓の過酸化脂質生成機構を解明するために、PCB 投与後比較的短期間における肝臓過酸化脂質の生成に関与すると考えられている薬物代謝酵素系と、そのスカベンジャー系の経時的变化を検討した結果を要約すると次の通りである。

1) 肝臓の過酸化脂質量は PCB 投与3日目以降7日目まで、飼育期間が長くなるにつれ生成量は有意に

増加した。

2) 肝臓ミクロゾームのチトクローム P-450 含量、NADPH-チトクローム c レダクターゼ活性は、いずれも PCB 投与7日目に有意に増加したが、過酸化脂質の生成とは時間的にずれがみられた。

3) 肝臓の V.E 量および 1, 1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル値は全飼育期間を通じて両群間に有意差はみられなかった。肝臓のグルタチオンパーオキシダーゼ活性は、PCB による過酸化脂質生成の著しい飼育7日目では、PCB 群でその活性の有意な低下がみられた。

4) 以上の結果から、PCB 投与ラット肝臓における過酸化脂質量の増加は、スカベンジャー系の不足によると考えられた。また、過酸化脂質の生成亢進に対し、薬物代謝酵素系、とくに NADPH-チトクローム c レダクターゼの直接的な関与は少ないものと推測した。

文 献

- 1) 池上幸江, 斎藤衛郎, 鳥山久美子, 印南 敏: PCB, DDT による過酸化脂質の生成について. 過酸化脂質研究 2(1): 58-61, 1978.
- 2) 印南 敏, 小野 悟, 中村敦子, 池上幸江, 永山スミ子, 西出英一: 過酸化脂質の生成に及ぼすポリ塩化ビフェニール (PCB) の影響. 福岡医誌 70: 102-108, 1979.
- 3) 池上幸江, 中村敦子, 小野 悟, 永山スミ子, 印南 敏: 白ネズミ肝臓におけるビタミンA貯留と過酸化脂質の生成におよぼす PCB と BHC の影響. 栄養と食糧 33: 327-333, 1980.
- 4) 池上幸江, 斎藤衛郎, 永山スミ子, 印南 敏, 西出英一: PCB 投与白ネズミ肝臓におけるビタミンA含量と過酸化脂質生成におよぼす飼料ビタミンEレベルの影響. 栄養学雑誌 38: 303-309, 1980.
- 5) Combs, G. F. Jr. and Scott, M. L.: Polychlorinated Biphenylstimulated Selenium deficiency in the chick. Poultry Sci. 54: 1152-1158, 1975.
- 6) 伊東保之, 村岡敏郎: PCB 投与コイ肝臓脂質の過酸化. 農化 54: 263-270, 1980.
- 7) Itokawa, Y., Yagi, N., Kaito, H., Kamohara, K. and Fujiwara, K.: Influence of diet on the induction of hepatic ceroid pigment in rats by Polychlorinated Biphenyls. Toxicol. Appl. Pharmacol. 36: 131-141, 1976.
- 8) Hochstein, P. and Ernster, L.: ADP-activated lipid peroxidation coupled to the reduced TPNH oxidase system of microsomes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 12: 388-394, 1963.
- 9) Pederson, T. C., Buege, J. A. and Aust, S. D.: Microsomal electron transport. The role

- of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-cytochrome c reductase in liver microsomal lipid peroxidation. *J. Biol. Chem.* 248: 7134-7141, 1973.
- 10) Wills, E. D.: Lipid peroxide formation in microsomes. *Biochem. J.* 113: 315-341, 1969.
- 11) Chen, T. S. and Dubois, K. P.: Studies on the enzyme inducing effect of Polychlorinated Biphenyls. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 26: 504-512, 1973.
- 12) 藤田節治, 辻 宏, 加藤敬太郎, 佐伯清太郎, 塚元久雄: Biphenyl Chloride 誘導体のラット肝ミクロゾームに与える影響. *福岡医誌* 62: 30-34, 1971.
- 13) Alvares, A. P. and Kappas, A.: Heterogeneity of cytochrome P-450s induced by polychlorinated biphenyls. *J. Biol. Chem.* 252: 6373-6378, 1977.
- 14) Noguchi, T., Cantor, A. H. and Scott, M. L.: Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. *J. Nutr.* 103: 1502-1511, 1973.
- 15) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358, 1979.
- 16) Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* 239: 2370-2378, 1964.
- 17) Omura, T. and Takesue, S.: A new method for simultaneous purification of cytochrome b₅ and NADPH-cytochrome c reductase from rat liver microsomes. *J. Biochem.* 67: 249-258, 1970.
- 18) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
- 19) 堺 敬一, 鈴木康男, 福沢健治, 内山 充: ビタミンK類縁物質の脂質過酸化反応に対する影響. *ビタミン* 38: 423-426, 1968.
- 20) Smith, L. I., Ungnade, H. E., Hoehn, H. H. and Wawzonek, S.: The chemistry of vitamin E. VI. The addition of dienes to phenols and hydroquinones. *J. Org. Chem.* 4: 311-317, 1939.
- 21) 阿部 皓一, 勝井五一郎: 血清中のトコフェロール同族体の高速液体クロマトグラフィーによる定量. *ビタミン* 49: 259-263, 1975.
- 22) 阿部皓一, 大前雅彦, 勝井五一郎: 肝臓中のトコフェロール同族体の微量迅速定量法. *ビタミン* 50: 453-457, 1976.
- 23) 印南 敏, 中村敦子, 小野 悟, 永山スミ子: PCB 投与動物の成長と脂質代謝に及ぼす飼料脂肪の影響. *栄養学雑誌* 36: 215-224, 1978.
- 24) Kato, N., Tani, T. and Yoshida, A.: Effect of dietary level of protein on liver microsomal drug-metabolizing enzymes, urinary ascorbic acid and lipid metabolism in rats fed PCB-containing diets. *J. Nutr.* 110: 1686-1694, 1980.
- 25) Kato, N., Okada, T., Takenaka, Y. and Yoshida, A.: Ameliorative effect of dietary ascorbic acid on PCB toxicity in guinea pigs. *Nutr. Rep. Intern.* 15: 125-130, 1977.
- 26) Street, J. C. and Chadwick, R. W.: Ascorbic acid requirements and metabolism in relation to organochlorine pesticides. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 258: 132-143, 1975.
- 27) Combs, G. F. Jr. and Scott, M. L.: Polychlorinated Biphenyl-stimulated selenium deficiency in the chick. *Poultry Sci.* 54: 1152-1158, 1975.
- 28) Blois, M. S. and Hansen, W. W.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200, 1958.

3,4,5,3',4'-ペンタクロロビフェニルのモルモット に対する急性毒性, ならびに肝酵素の誘導作用

九州大学薬学部衛生化学・裁判化学教室

吉村 英敏・和田 郁夫・古賀 信幸

永田 清・山内 葉子・吉原 新一*

(* 現広島大学医学部総合薬学科)

九州大学歯学部薬理学教室

鎌 田 理

Acute Toxicity and Inductive Effect on Liver Enzymes of 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl in Guinea Pigs

Hidetoshi YOSHIMURA, Ikuo WADA, Nobuyuki KOGA,
Kiyoshi NAGATA, Yoko YAMAUCHI
and Shin'ichi YOSHIHARA*

Department of Hygienic and Forensic Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan

(* *Present Address: Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima 734*)

Osamu KAMATA

*Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

In the previous study, we found that the potency of acute toxicity of PCBs is well correlated to their 3-methylcholanthrene(MC)-type inducing ability in rats. On the contrary, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) is known to be the most potent inducer of MC-type in rats, but very weak one in guinea pigs, although it exerts a high acute toxicity in both species. The present investigation was, therefore, undertaken in order to learn which is the case in guinea pigs pretreated with 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (PenCB), a typical PCB congener with high MC-type inducing ability in rats. As the results, a high acute toxicity was exhibited in guinea pigs as well as in rats, but the activity of benzo[a]pyrene 3-hydroxylase and DT-diaphorase, which are typical enzymes inducible with MC, increased only a little or insignificantly in the liver of guinea pigs by pretreatment with PenCB, indicating the similarity with TCDD pretreatment.

いわゆる油症の発症機作については、これまで多くの研究がなされてきたが、現在なお不明の点が多く、十分に解明されるには至っていない。むしろ、発症当時原因物質としてポリクロロビフェニル (PCBs) のみが明らかにされていた¹⁾のに対し、最近では、原因食品となった問題の罐入りライスオイル中に、PCBsに加えてポリクロロジベンゾフラン (PCDFs)²⁾、さらにはポリクロロクォーターフェニル (PCQs)³⁾な

どの混入が見出されるに及び、毒性学的にはますます複雑な様相を呈してきた。

著者らは油症発生以来 PCB に関する毒性学的検討を行ってきたが、その過程で、従来肝ミクロゾーム薬物代謝酵素系の強力な誘導剤として知られていた PCB 混合物が、実はその構造によって、誘導の性質を異にするフェノバルビタール (PB) 型と 3-メチルコラントレン (MC) 型の 2 種に大別されることを見

出した⁴⁾。PB型誘導剤の特徴は、上記薬物代謝酵素系の最終酸化酵素であるチトクローム P-450 (P-450)をはじめ、NADPH-P-450還元酵素やチトクローム *b₅* など種々の酵素蛋白の増加をもたらす、結果的に幅広い薬物の代謝を促進する。一方、MC型の方は、P-450とはCO差スペクトルも、また触媒作用も多少異なるチトクローム P-448 (P-448)を誘導するが、他の酵素蛋白の誘導はあまり行わず、その結果アニリンやベンゾ〔a〕ピレンなどの芳香核の水酸化活性を特異的に増加させる⁴⁾⁵⁾。このMC型に属するPCBとしては、3, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニル (TCB)、3, 4, 5, 3', 4'-ペンタクロロビフェニル (PenCB) 及び 3, 4, 5, 3', 4', 5'-ヘキサクロロビフェニル (HCB) が知られている⁴⁾⁵⁾。

きわめて興味あることに、最近ラットを用いた急性毒性実験で、MC型誘導能の強いPCBほど高い毒性を示すことが見出された⁶⁾。この急性毒性の指標としては体重増加の抑制、肝脂質の増加、胸腺や脾臓の萎縮などが用いられた。また、MC型誘導の特徴としては、肝ミクロゾーム酵素のみでなく、肝上清酵素であるDT-ジアホラーゼ (フラビン酵素) の強い誘導もみられるが、この誘導の強さとも上記急性毒性の強さ、特に胸腺の萎縮ときわめてよい相関を示した⁶⁾。これらラットにおけると同様の知見がマウスにおいても認められている⁶⁾。

現在、MC型PCBが如何なる機作で上記のような顕著な毒性的変化をもたらす、やがてはその動物を死に至らしめるかについては明らかではないが、興味ある知見と考えられる。その後の検討から、油症の原因物質として新たに追加されたPCDFsについても、PCBsと同様に、高いMC型誘導能に平行してラットで強い急性毒性が発現することが明らかにされた⁷⁾。2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾフランや2, 3, 4, 7, 8-ペンタクロロジベンゾフランはその典型例で、PCDF中最も強いMC型誘導と高毒性を示す。さらに、これらと類縁の化合物で、きわめて高い毒性を有することが知られている2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ジオキシン (TCDD) も、ラットにおいて超微量で強いDT-ジアホラーゼ活性の増大を含むMC型酵素誘導を示すことが報告されている⁸⁾。一方、モルモットはこのTCDDに対し哺乳動物中特に高い感受性を有し、LD₅₀は0.6 µg/kgといわれる⁹⁾。このような高毒性を示すにもかかわらず、ラットでの知見と異なりモルモットではDT-ジアホラーゼの誘導はほとんど認められていない¹⁰⁾。PCBやPCDF

とポリクロロジベンゾ-*p*-ジオキシン (PCDD)とは単に構造が類似するのみならず、これらによつて発現する毒性及び酵素誘導もよく一致している。従つてTCDDのモルモットに関する上記知見はPCB、PCDFにも敷衍しうる可能性が考えられた。この点を明らかにするため、既知の単一PCBのうち、ラットに対し最も強いMC型誘導と高毒性を示すPenCBを代表として選び、モルモットに対する誘導能と毒性について検討した。

実験方法

1. 実験材料

3, 4, 5, 3', 4'-PenCBは佐伯らの方法¹¹⁾に従つて当研究室で合成した。3-ヒドロキシベンゾ〔a〕ピレンは九州大学医療技術短期大学部木下洋夫教授、またベンツフェタミン塩酸塩は、Vanderbilt大学R. A. Neal教授によりそれぞれ供与されたものを用いた。NADPH, NADP, グルコース-6-リン酸 (ナトリウム塩) とグルコース-6-リン酸脱水素酵素はSigma Chemical Company (米国, St. Louis) により購入した。2, 6-ジクロロフェノールインドフェノール (DCPIP) とジクマロールはそれぞれMerck AG (西ドイツ, Darmstadt), 和光純薬 (株) (大阪) より購入した。

2. 実験動物及び薬物投与

モルモットはHartley系、4~5週令、体重270~320gの雄を1群4匹として対照群、実験群 (0.1 mg/kg 及び 0.5 mg/kg 投与群) の合計3群に分けて使用した。PenCBは0.1 mg、または0.5 mgを食用油 (とうもろこし油) 1 mlに溶かし、腹腔内に上記2用量でそれぞれ1回投与した。なお対照群にはとうもろこし油のみを投与した。

ラットはWistar系、4週令、体重100~110gの雄を1群4匹として対照群、実験群 (0.5 mg/kg) に分けて使用した。PenCBは0.5 mgをとうもろこし油 2 mlに溶かし、腹腔内に1回投与した。対照群にはとうもろこし油のみを投与した。

3. 肝 9000×g 上清の調製法

モルモット、ラット共にPenCB投与後、水、餌は自由に与え4日目一夜を絶食させて5日目に屠殺し、充分放血させた後、肝臓、胸腺、脾臓を摘出し秤量した。肝臓は生理食塩水にて灌流後細片にして、氷冷した0.25 M ショ糖-0.15 M KCl-0.1 mM EDTA-10 mM Tris-HCl (pH 7.5) 溶液中で、テフロンホモジナイザーを用いてホモジナイズし15% ホモジネ

ートとした。

これを $9000 \times g$ で 20 分間遠心し、沈殿をホモジナイザーにとり、同緩衝液 5 ml 中にけん濁させた後、再び $9000 \times g$ で 20 分間遠心し、上清を 1 度目の遠心の上清と合わせて、 $9000 \times g$ 上清とした。なおこの 1 ml が 90 mg 肝臓に相当するよう調製した。

4. 酵素活性等の測定

チトクローム P-450¹²⁾ 及びチトクローム b_5 含量¹³⁾ の測定は常法に従って行つた。ベンツフェタミン-N-脱メチル化活性⁵⁾、ベンゾ[a]ピレン-3-水酸化活性¹⁴⁾ は、それぞれホルムアルデヒド、3-ヒドロキシベンゾ[a]ピレンの生成量を測定し、NADPH-チトクローム P-450 還元酵素活性¹³⁾、DT-ジアホラーゼ活性¹⁵⁾ は、それぞれチトクローム c、DCPIP の還元量を求める常法に従つた。

総脂質量は Folch らの方法¹⁶⁾ により、タンパク質の定量は Lowry らの方法¹⁷⁾ によつた。

結 果

1. 3, 4, 5, 3', 4'-ペンタクロロビフェニル (PenCB) のモルモットにおける体重、臓器重量に及ぼす影響

Fig. 1 に示すように、対照群の体重が徐々に増加しているのに比べ、PenCB 投与群では 1 回目より顕著な体重の減少が見られた。4 日目には対照群で平均 24 g の体重増加がみられるのに対し、0.1 mg/kg 投与群で平均 39 g、さらに 0.5 mg/kg 投与群では平均 84 g の体重減少を示し、これらの体重変化は投与量によく相関した。なお、0.5 mg/kg 投与群の中の 1 匹は、3 日目から TCDD 投与によつて認められている出血を伴った脱腸肝¹⁸⁾ が観察された。特に記録していないが、投与群は対照群に比べ、餌、あるいは水の摂取量に著しい低下が見られた。

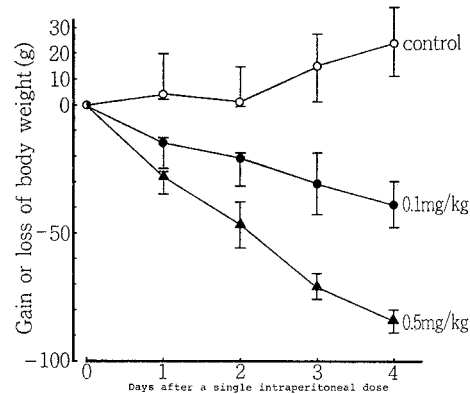


Fig. 1. Effects of a single injection of 3, 4, 5, 3', 4'-pentachlorobiphenyl on daily body weight gain in guinea pigs. Mean body weights at the day 0 were 306 g (control), 292 g (0.1 mg/kg dose) and 288 g (0.5 mg/kg dose), respectively. Each point is the mean $\pm$ S.E. of the values of 4 animals.

PenCB 投与による肝臓、胸腺、脾臓の各重量変化を Table 1 に示す。肝臓は体重当たりについてのみ肥大の傾向を示したが、絶対値ではむしろ萎縮している。胸腺の重量は、絶対値、体重当たりともに投与量に比例した強い減少を示したが、脾臓は 0.5 mg/kg 投与における絶対値でのみ 30 % 程度の弱い萎縮を示した。なお肝臓中の総脂質量は投与群と対照群とで変化なく、また、形態的にも脂肪肝の発現はみられなかった。

2. PenCB のモルモット肝 $9000 \times g$ 上清酵素に及ぼす影響

Table 2 に、モルモット肝 $9000 \times g$ 上清の各酵素活性を示す。チトクローム P-450 は、0.5 mg/kg 投与のとき、対照群の 1.9 倍の増大を示したが、ベンツ

Table 1. Effects of a single injection of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl on organ weights of guinea pigs

Dose (mg/kg)	Liver (g)	Thymus (g)	Spleen (g)
0	10.30 $\pm$ 0.39 (9.78 $\pm$ 0.15)	0.078 $\pm$ 0.015 (0.073 $\pm$ 0.015)	0.477 $\pm$ 0.023 (0.454 $\pm$ 0.019)
0.1	9.04 $\pm$ 0.23* (11.43 $\pm$ 0.33*)	0.044 $\pm$ 0.008* (0.055 $\pm$ 0.008*)	0.479 $\pm$ 0.048 (0.607 $\pm$ 0.068)
0.5	8.09 $\pm$ 0.17* (12.76 $\pm$ 0.21*)	0.016 $\pm$ 0.003* (0.026 $\pm$ 0.006*)	0.336 $\pm$ 0.017* (0.530 $\pm$ 0.031)

Organ weights were measured at the day 5 after the injection. The values are expressed as the mean $\pm$ S. E. of 4 animals, and those in parentheses are organ weights/100 g body weights.

* Significantly different from control, $p < 0.05$

Table 2. Effects of a single injection of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl on activities of liver enzymes in guinea pigs

Dose (mg/kg)	Cyt. P-450 ¹⁾	NADPH-cyt.P-450 ²⁾ reductase	Benzo[a]pyrene ³⁾ 3-hydroxylase	Benzphetamine ⁴⁾ N-demethylase
0	0.273±0.008	3.33±1.29	75.6±3.2	0.305±0.037
0.1	0.487±0.020*	4.58±0.40	146.6±3.9*	0.335±0.091
0.5	0.517±0.043*	4.47±1.17	178.6±14.2*	0.447±0.066

Dose (mg/kg)	Cyt. <i>b</i> ₅ ⁵⁾	DT-diaphorase ⁶⁾	Total lipids ⁷⁾
0	0.128±0.023	0.093±0.010	0.043±0.006
0.1	0.130±0.018	0.157±0.018*	0.047±0.014
0.5	0.114±0.023	0.114±0.012	0.038±0.004

Liver 9000×g supernatant fraction was used as an enzyme source. Values are expressed as the mean±S. E. of 4 experiments.

1) nmoles/mg protein, 2) nmoles of reduced cyt. *c*/mg protein, 3) pmoles of 3-hydroxybenzo[a]pyrene/mg protein, 4) nmoles of formaldehyde/mg protein, 5) nmoles/mg protein, 6) μmoles of reduced DCPIP/mg protein, 7) g/wet liver weight (g)

* Significantly different from control, $p<0.05$

Table 3. Effects of a single injection of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl on organ weights and activities of liver enzymes in rats

Dose (mg/kg)	Thymus (g)	Spleen (g)	Benzo[a]pyrene ¹⁾ 3-hydroxylase	DT-diaphorase ²⁾
0	0.406±0.057	0.503±0.065	72.93±17.04	0.280±0.039
0.5	0.149±0.046*	0.348±0.066*	1729.34±438.37*	2.204±0.238*

Organ weights were measured at the day 5 after a single intraperitoneal injection. Liver 9000×g supernatant fraction was used as an enzyme source. Values are expressed as the mean±S. E. of 4 animals.

1) pmoles of 3-hydroxybenzo[a]pyrene/mg protein/min

2) μmoles of reduced DCPIP/mg protein/min

* Significantly different from control, $p<0.05$

フェタミン-N-脱メチル化活性には有意な変化がみられず、またベンゾ[a]ピレン-3-水酸化活性は2.4倍の誘導に止まった。なお、チトクローム P-450 のCO-差スペクトルの吸収極大値は450nmを示し、PenCB投与のラット肝9000×g上清におけるような短波長側への移動は認められなかった。

一方、DT-ジアホラーゼ活性は0.1mg/kg投与群では、1.7倍程度の誘導を示したものの、0.5mg/kg投与群では有意な活性の増加はみられなかった。

なお、NADPH-チトクローム P-450還元酵素活性及びチトクローム *b*₅含量には、何ら誘導現象はみられなかった。

3. PenCBのラット臓器重量及び肝9000×g上清酵素に及ぼす影響

PenCBのラットに対する作用についてはすでに報告しているが⁴⁾⁵⁾、投与量が今回の実験と異なるの

で、モルモットに対する作用と直接比較するために、あらためて PenCB 0.5mg/kgの用量で1回腹腔内注射し、その影響をみた。結果はTable 3に示すように、0.5mg/kg投与において胸腺、脾臓はそれぞれ36%、69%に萎縮し、ベンゾ[a]ピレン-3-水酸化活性は約24倍、DT-ジアホラーゼ活性は約7.8倍に上昇した。

考 察

今回の実験で、TCDD同様PenCBもモルモットにおいてきわめて強い毒性を示すが、DT-ジアホラーゼの誘導は低用量(0.1mg/kg)でのみ僅かに認められたものの、用量を上げると(0.5mg/kg)かえって変化がみられなかった。水酸化活性もラットにおける20倍もの増加に比べれば、僅かに2倍程度の増加に止まった。

体重の変化を毒性の指標として考えた場合、ラットでは 5 mg/kg の 1 回腹腔内投与で顕著な体重増加の抑制はみられるが、Fig. 1 におけるような激烈なまでの体重の低下はラットではみられず、モルモットにきわめて特徴的といえる。なお、この体重の減少は、餌及び水をほとんど摂取しなくなることも一つの大きな要因であると思われるが、減少の程度は摂取量の減少を上まわり、他の要因も重要と思われる。このことは、低用量と高用量の 2 投与群の摂取量には、対照群と投与群の摂取量のように大差がないにもかかわらず、体重にはかなりの差がみられることから支持される。

一方、胸腺と脾臓の萎縮度をラットとモルモットで比較してみると、Table 2 のように 0.5 mg/kg 投与のモルモットでは胸腺が 20 % に、脾臓は 70 % にそれぞれ萎縮している。一方ラットでは、同じ投与量において、Table 3 のように胸腺が 37 %、脾臓は 69 % になつており、ラットとモルモットとではほぼ同程度の萎縮を示した。胸腺と脾臓の萎縮度はしばしば毒性の指標として用いられるが、上記のようにモルモットとラットとを比較した場合、体重変化の差が著しい割には胸腺、脾臓の萎縮度の差は明確でなかつた。

一方、今回の PenCB 投与による実験では、モルモット肝脂質量の変化や肝酵素の誘導は、ラットと比較してかなり弱いことが明らかになつた。すなわち、PenCB 投与によつて、モルモットでは総脂質は全く変化せず、P-450 は同じ用量で処理したラットの 10 % 程にしか誘導されず、さらに DT-ジアホラーゼはほとんど誘導されていない。なお、モルモットにおいて DT-ジアホラーゼが 0.1 mg/kg 投与でのみ有意な活性の増大を示すことは、Neal らも TCDD において同様な知見を報告している (0.6 µg/kg では誘導されるが 6 µg/kg では誘導されない)¹⁰⁾。

データーは示していないが、肝 105000×g 上清及びミクロゾームの SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動のパターンでも、PenCB 処理によりモルモットはラット程の大きな変化を示さなかつた。このことから、PenCB はモルモットの肝酵素に対しラット程大きな変化を与えていないように思われる。なおラットと異なり、TCDD は光顕レベルではサルは肝臓にもほとんど変化を示さないとわれ、これは体内吸収された TCDD のうち、ラットでは約 40 % が肝臓に分布するのに対し、サルでは 10 % 程度しか分布しないことと関係するのではないかと示唆されているが¹⁸⁾、モルモット肝への TCDD 分布量もあるいはか

なり低いのかもしれない。この点はさらに解明するべきである。ラットにおいて観察された、毒性と DT-ジアホラーゼ活性とのきわめてよい相関性⁵⁾ がモルモットにおいては全く見られないということは、PenCB の急性毒性発現の機構を考える上で重要な知見と思われる。

総 括

PCBs の各種異体性のうち、3-メチルコラントレン (MC) 型の酵素誘導を示すものは、そのベンゾ[a]ピレン水酸化酵素、DT-ジアホラーゼなどの誘導能に相関して、強い急性毒性を示すことがラットについて知られている。一方、2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン (TCDD) は、ラットで既知化合物中最強の MC 型誘導を示し、かつきわめて強い急性毒性を示すが、モルモットに対しては哺乳動物中最高の急性毒性を示すにもかかわらず、DT-ジアホラーゼの誘導を行わない。そこで今回、PCBs のうち最強の MC 型誘導を示す 3, 4, 5, 3', 4'-ペンタクロロビフェニル (PenCB) を用い、モルモットに対する作用を検討した。その結果、PenCB はラットの場合と異なり、モルモットでは TCDD と同様に強い急性毒性を示すにもかかわらず、ベンゾ[a]ピレン水酸化活性の促進はラットの約 1/10 に止まり、DT-ジアホラーゼ活性はほとんど増加させなかつた。

文 献

- 1) 塚元久雄ほか：油症患者が使用したライスオイル中の有毒物質の化学的検索。福岡医誌 60: 496-512, 1969.
- 2) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Chlorinated dibenzofurans in Kanecholors and rice oil used by patients with Yusho. Fukuoka Acta Med. 66: 593-599, 1975.
- 3) Miyata, H., Kashimoto, T. and Kunita, N.: Studies on the compounds related to PCB (V). Detection and determination of unknown organochlorinated compounds in Kanemi rice oil caused the "Yusho". J. Food Hyg. Soc. 19: 364-371, 1978.
- 4) Yoshimura, H., Ozawa, N. and Saeki, S.: Inductive effect of polychlorinated biphenyls mixture and individual isomers on the hepatic microsomal enzymes. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 26: 1215-1221, 1978.
- 5) Yoshimura, H., Yoshihara, S., Ozawa, N. and Miki, M.: Possible correlation between induction modes of hepatic enzymes by PCBs and their toxicity in rats. Ann. N. Y. Acad.

Sci. 320: 179-192, 1979.

6) 吉原新一, 永田 清, 和田郁夫, 吉村英敏: 3-Methylcholanthrene 型 PCB による 毒性発現機作 (1). 第12回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム 要旨集 p. 134-137, 金沢, 1980.

7) Yoshihara, S., Nagata, K., Yoshimura, H., Kuroki, H. and Masuda, Y.: Inductive effect on hepatic enzymes and acute toxicity of individual polychlorinated dibenzofuran congeners in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. accepted, 1981.

8) Beatty, P. and Neal, R. A.: Induction of DT-diaphorase by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). Biochem. Biophys. Res. Commun. 68: 197-204, 1976.

9) Schwetz, B. A., Norris, J. M., Sparschu, G. L., Rowe, V. K., Gehring, P. J., Emerson, J. H. and Gerbig, C. G.: Toxicology of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins. Environ. Health Perspect. 5: 87-99, 1973.

10) Beatty, P. and Neal, R. A.: Factors affecting the induction of DT-diaphorase by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. Biochem. Pharmacol. 27: 505-510, 1978.

11) 佐伯清太郎, 吉原新一, 内野泰治, 吉村英敏: 3, 4, 5, 3', 4'-Pentachlorobiphenyl の合成について. 福岡医誌 70: 85-87, 1979.

12) Matsubara, T., Koike, M., Touchi, A.,

Tochino, Y. and Sugeno, K.: Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. Anal. Biochem. 75: 596-603, 1976.

13) Omura, T. and Sato, R.: CO-binding pigment of liver microsomes. (II) Solubilization, purification, and properties. J. Biol. Chem. 239: 2370-2378, 1964.

14) Nebert, D. W. and Gelboin, H. V.: Substrate inducible microsomal aryl hydroxylase in mammalian cell culture. J. Biol. Chem. 243: 6242-6249, 1968.

15) Ernster, L., Danielson, L. and Ljunggren, M.: DT diaphorase. I. Purification from the soluble fraction of rat liver cytoplasm and properties. Biochem. Biophys. Acta 58: 171-188, 1962.

16) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S.: Isolation and purification of total lipids from tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509, 1957.

17) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275, 1951.

18) McConnell, E. E., Moore, J. A., Hase-man, J. K. and Harris M. W.: The comparative toxicity of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins in mice and guinea pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol. 44: 335-356, 1978.

サルの PCB 中毒症に関する研究 (第2報)

九州大学薬学部衛生化学・裁判化学教室

吉村英敏・吉原新一^{*1}・古賀信幸

河野希世志^{*2}・永田清・和田郁夫

山内葉子

(^{*1} 現広島大学医学部総合薬学科, ^{*2} 現山之内製薬開発研究所)

第一薬科大学物理分析学教室

増田義人・山領智子

黒木広明・原口浩一

九州大学医学部第二内科学教室

赤木公博・村井宏一郎・尾前照雄

九州大学医学部解剖学教室

藤田守・山元寅男

九州大学医学部眼科学教室

向野利彦・大西克尚

福岡市衛生試験所

廣中博見

九州歯科大学口腔病理学教室

福山宏

九州大学歯学部歯科保存学第一教室

赤峰昭文・青野正男

Studies on the Experimental PCB Poisoning in Rhesus and Crab Eating Monkeys. II.

Hidetoshi YOSHIMURA, Shin'ichi YOSHIHARA^{*1},
Nobuyuki KOGA, Kiyoshi KAWANO^{*2}, Kiyoshi NAGATA,
Ikuo WADA and Yoko YAMAUCHI

*Department of Hygienic and Forensic Chemistry,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University,
Fukuoka 812, Japan*

(^{*1} *Present address: Hiroshima University School of Medicine, Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima 734, Japan*)

(^{*2} *Present address: Institute of Research and Development, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo 174, Japan*)

Yoshito MASUDA, Tomoko YAMARYO, Hiroaki KUROKI
and Koichi HARAGUCHI

Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka 815, Japan

Kimihiro AKAGI, Koichiro MURAI and Teruo OMAE
*Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Mamoru FUJITA and Torao YAMAMOTO

*Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Kyushu University,
Fukuoka 812, Japan*

Toshihiko KOHNO and Yoshitaka OHNISHI

*Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Hiromi HIRONAKA

Fukuoka City Hygienic Laboratory, Fukuoka 810, Japan

Hiroshi FUKUYAMA

*Department of Oral Pathology, Kyushu Dental College,
Kitakyushu 803, Japan*

Akifumi AKAMINE and Masao AONO

*Department of Endodontics and Periodontics, Faculty of Dentistry,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

In order to confirm the previous results obtained by the preliminary studies on the experimental PCB poisoning in rhesus monkeys, further long term studies were performed using 12 rhesus and 4 crab eating monkeys, and effects of the treatment with cholestyramine, liquid paraffin and glutathione on their blood and fecal levels of PCBs and on the various disorders induced by chronic administration of PCBs and/or PCDFs were also investigated. Daily doses given were 0.25 and 0.5 mg KC-400/kg, 0.25 mg KC-400 plus 1.25 μ g PCDF/kg, 0.125 mg KC-400 plus 0.625 μ g PCDF, and 0.625 μ g PCDF/kg. The results obtained were as follows, indicating the similarity with the previous ones. Attempts to stimulate PCB excretion from the body with three drugs described above did not, however, afford a definite result as to their effectiveness, and it was considered that further studies are still necessary to obtain a conclusion.

1) In general, PCB and/or PCDF exhibited higher toxicity in rhesus monkeys than in crab eating monkeys. The latter also appeared to show less individual difference of the response than the former. Remarkable loss of hair from the head, neck and arms was observed within 2 months after daily administration of a mixture of 0.25 mg KC-400 plus 1.25 μ g PCDF/kg, but no acne was developed during the experiments, different from the report of Allen, *et al.*

2) It was observed by gas chromatography that the blood PCB concentration increased during the KC-400 feeding period and decreased after stopping of the feeding. The level of blood PCB was relatively low in crab eating monkeys comparing to rhesus monkeys during and after the KC-400 feeding. It was also rather low when PCDF was given together with KC-400 or at separate time. The excretive PCB in feces increased when cholestyramine (CA) was given to the monkey who had low level of PCB in feces, but it did not change when the monkey had relatively high level of PCB. Glutathione (G-SH) and CA+G-SH did not show any effective change of the excretive PCB level in feces.

3) Blood chemical analysis was performed on 10 specimens of rhesus monkeys with PCBs poisoning. It was observed with a trend towards hypoalbuminemia, decreased A/G ratio, hypocholesterolemia, hypertriglyceridemia and anemia under PCBs administration. Lipemia was consistently induced within a month, reached its peak (289-68 mg/dl) and, in spite of taking PCBs of long duration, returned to the previous level two months after the end of the administration.

4) An electron microscope study revealed that in the rhesus monkey received KC-400(0.125 mg/kg/day) plus PCDF (0.625 μ g/kg/day) the biopsied hepatic cells were cha-

racterized by a remarkable proliferation on agranular endoplasmic reticulum in tubular or vesicular form. Glycogen particles did not disappear from the cytoplasm before administration of above chemicals for 6 months, but after 8 months glycogen particles disappeared from the cytoplasm. The lipid droplets devoid of a limiting membrane were observed in the cytoplasmic matrix of hepatic cells after chemicals administration for 4 months. In the monkey received PCDF ($0.625 \mu\text{g/kg/day}$) alone, the change was observed only in the proliferation of agranular endoplasmic reticulum which was somewhat lesser in degree as compared with that of the monkey received KC-400 plus PCDF.

5) Using the homogenates from the same biopsied hepatic cells as those for electron microscope study described above, contents of protein and activities of DT-diaphorase and benzo[a]pyrene 3-hydroxylase (AHH) were measured at 2, 4 and 6 months after daily administration of KC-400 plus PCDF. For the monkey who received PCDF alone, further examinations were made 3.5, 6, 9 and 11 months after stopping the administration at the end of the 7th month. Both enzyme activities increased markedly along with administration of PCB and/or PCDF, while contents of protein decreased in inverse proportion to them. PCDF treatment resulted in the similar increase and decrease for enzyme activities and protein contents, respectively. After discontinuation of the administration, however, contents of protein increased gradually, returning to the normal level after 6 months. DT-diaphorase and AHH activities also showed the normal levels 6 and 9 months, respectively, after the discontinuation.

6) Ocular manifestations of experimental PCB poisoning were studied in rhesus and crab eating monkeys following up 36 months. During the course of the study, PCB concentration in the contents of tarsal glands was periodically measured by gas chromatography.

a) Major ocular manifestations of the PCB poisoning included eye discharge, edema of the eyelid, injection and edema of the conjunctiva, and swelling of the tarsal glands. However, the response to PCB varied in each experimental animal.

b) Rhesus monkeys treated with KC-400 showed apparent swelling of the tarsal glands within two months after the daily administration at doses of 0.25 mg/kg . Exacerbation and remission of the manifestations were observed for more than twenty months after the administration was discontinued. PCB concentration in the tarsal gland contents reached to its peak ten months after the discontinuation and it was constantly about ten times higher than that in the blood.

c) Swelling of the tarsal glands in crab eating monkeys treated with KC-400 at daily doses of 0.5 mg/kg slowly appeared as compared with those in rhesus monkeys. The manifestations seemed to be not so serious, and subsided quickly after the discontinuation. PCB concentration rapidly elevated after the administration and slowly lowered after the discontinuation.

d) Rhesus monkeys intoxicated with PCDF ($0.625 \mu\text{g/kg/day}$) showed less severe signs of ocular changes than those with KC-400 (0.25 mg/kg/day).

e) Additional administration of PCB after a long term discontinuation elevated PCB concentration in the tarsal gland contents again, but no remarkable changes were observed clinically in contrast with those in the initial administration.

f) Effect of drugs such as 1% cholestyramine, liquid paraffin and glutathione on ocular manifestations of PCB poisoning was not definitive.

7) Although definitive effects on monkey gingiva could not be found in these serial experiments, marginal periodontitis and festooning of marginal gingiva occurred clinically. Subclinically benign dyskeratosis was found in the gingival epithelium. Effects of glutathione and cholestyramine on these gingival changes were not definitive.

The useful diagnostic criteria for classifying the pathologic severity in the gingival

biopsy was newly introduced. Benign dyskeratosis of gingival epithelium in this experiment was graded to the following degrees. Grade I: Elongation of rete ridges, Grade II: Dyskeratosis at the apex or middle portion of the ridge and its invasion to the lamina propria, Grade III: Enlargement of the dyskeratotic lesion and dyskeratotic island formation in the propria, and Grade IV: Acantholysis of the dyskeratotic area, kerato-cyst formation in the propria and intraorally excretion of acantholytic mass.

これまで PCB の毒性学的検討は主としてラットなどの小動物を用いて行われてきたが、著者らは数年前、サルを油症モデルとして位置づけるため、カネクロール 400 (KC-400)、あるいはこれにポリクロロジベンゾフラン (PCDF) を加えたものをバナナに添加し、これらを赤毛ザルに長期連続投与して、発現した中毒症状を油症の病像と対比させた。これらの結果についてはすでに予備的研究として報告しているが¹⁾、KC-400 あるいは KC-400+PCDF 投与により発現した異常所見のいくつかは、油症患者の症状に近似し、これらのサルは油症モデルとして充分に利用しうることが明らかにされた。

しかし一方、用いられたサルにはかなりの個体差が観察され、かつ限られた例数の実験でもあつたため、明確な結論を得るには至らなかった。さらに PCB あるいは PCDF の投与量が幾分多過ぎ、そのためサルが比較的短期間に衰弱する傾向がみられた。そこで今回、この予備の実験に引続き、さらに新たなサルを用いて前回より低用量による長期投与を行い、前回現われた症状の再確認を行つた。同時に、これらのサルを油症モデルとして利用し治療法の検討も試みた。

今回治療薬としての可能性を検討したのは、コレステラミン、流動パラフィンおよびグルタチオンの3種で、以下に述べる知見が今回の実験を行つた基盤となつている。まず、コレステラミンは胆汁酸に親和性をもつアニオン交換樹脂で、元来血清コレステロール低下剤として利用されているが、田中らはラットで本剤が KC-400 の腸管での吸収抑制を行うことを示唆し²⁾、また Cohn らは有機塩素系殺虫剤 chlordane 中毒者に本剤を投与し、その糞中からの排泄増大を確めている³⁾。少量ではあるが、PCB が血中から小腸管腔へ排泄されていることは、吉村らによりラットで認められており⁴⁾、コレステラミンが直接的に、または間接的に、腸管に排泄される PCB の排泄促進を行う可能性が考えられたわけである。

一方、流動パラフィンについては Richter らの報告がある⁵⁾。彼らはラットで 8%流動パラフィンが 2, 4, 6, 2', 4'-ペンタクロロビフェニルの排泄を有意に

促進させると述べている。またグルタチオンもラットにおいて、経口投与した ¹⁴C-PCB (オクタクロロビフェニル混合物) の糞中排泄を促進し、かつ PCB による中毒症状を改善するといわれる⁶⁾。

これらの発症ならびに治療実験は、赤毛ザルの入手困難の事情もあつて、PCB の血中レベルがほぼ実験前の低レベルに回復するまで相当の期間をあけて、同一のサルにつき複数回実施した。また赤毛ザル (12 匹) のほか一部 (4 匹) カニクイザルについても実験を行つた。

実験方法

(吉村英敏, 吉原新一, 古賀信幸, 河野希世志, 永田 清, 和田郁夫, 山内葉子)

1. 実験材料

KC-400 はカネミ倉庫 (株) より収去された未使用のものを用い、PCDF は 1, 2, 7, 8-тетрахлоро体 14%, 2, 3, 7, 8-тетрахлоро体 35%, 1, 2, 4, 7, 8-пентахлоро体 1%, 1, 2, 3, 7, 8-пентахлоро体 49%, およびヘキサクロロ体 1% の混合比⁷⁾ のものを用いた。コレステラミンおよびグルタチオンはそれぞれ Bristol-Mayer (株) および山之内製薬 (株) より供与された。日本薬局方流動パラフィンは、大矢薬品工業 (株) 製品を使用した。

2. 実験動物及び薬物投与

検疫済みの赤毛ザル雌 12 匹 (rhesus monkey, 体重 2.9~5.7 kg, 平均 4.2 kg) およびカニクイザル雌 4 匹 (crab eating monkey, 体重 2.4~2.8 kg, 平均 2.5 kg) を入手し、一定期間餌付、観察を行つたのち、表 1, 2, および図 1, 2 に示すように、充分の期間をおいて 2 度に亘り KC-400 あるいは PCDF を投与し、また各種被検薬による処置を行つた。赤毛ザル No. 26, 27 を対照 (A 群) として両ザルには全期間を通じ KC-400, PCDF の投与は行わなかつた。

サルの飼育は、空調を施した飼育室にて一匹ずつスチール製ケージ中で行い、コレステラミン投与時を除いて、すべてのサルは固型飼料 (船橋農場製サル用、

表 1. 赤毛ザルに対する KC-400 および PCDF 投与経過

サル No.	第 1 次 (1978, 1/23~8/28)				第 2 次 (1979, 11/7~12/25)		第 3 次 (1980, 4/28~7/10)		
	投与日数	総 投 与 量		投与日数	総投与量	投与日数	総 投 与 量		
		KC-400 (mg)	PCDF (μg)				KC-400 (mg)	PCDF (μg)	
B 群	16	175	152			61	82	410	
	17	175	181			61	59	294	
	21	175	227			61	80	399	
	25	175	145			61	60	302	
C 群	19	175	100	43	113				
	20	175	77	43	123				
	22	175*	113						
	24	174*	108						
D 群	18	175		43	95				
	23	175		43	117				

* No. 24 は衰弱により死亡, また No. 22 も衰弱が著しく本実験後, 屠殺した.

表 2. カニクイザルに対する KC-400 および PCDF 投与経過

サル	No.	第 1 次 (1979, 3/7~4/28)		第 2 次 (1980, 4/28~7/10)		
		投 与 日 数	総 投 与 量	投 与 日 数	総 投 与 量	
			KC-400 (mg)		KC-400 (mg)	PCDF (μg)
E 群	28	45	54	61	36	178
	29	45	58	61	40	200
	30	45	59	61	39	195
	31	45	52	61	34	171

200 g/day) により飼育した. コレスチラミン投与は, これを 1% 含有し, かつビタミン A, E および K を通常の倍量強化したオリエンタル製サル用固型飼料を摂取させて行つた. 水は自由に摂取させ, 毎日約 50 g のバナナ, および肝油ドロップ 1 錠 (ビタミン A 1000 I.U., D₂ 100 I.U., C 20 mg) を与えた. KC-400 および PCDF は前報¹⁾に準拠してサラダ油に溶かしバナナに注入して投与した. 投与量は赤毛ザル第 1 次投与実験では B 群: KC-400 0.25 mg/kg/day, C 群: KC-400 0.125 mg/kg/day+PCDF 0.625 μg/kg/day, D 群: PCDF 0.625 μg/kg/day, 第 2 次投与実験では C, D 群: KC-400 0.5 mg/kg/day, 第 3 次投与実験では B 群: KC-400 0.25 mg/kg/day+PCDF 1.25 μg/kg/day, またカニクイザル (E 群) 第 1 次投与実験では KC-400 0.5 mg/kg/day, 第 2 次投与実験では KC-400 0.25 mg/kg/day+PCDF 1.25 μg/kg/day とした. これらの投与日数および投与総量については表 1 および表 2 を参照さ

れたい.

流動パラフィン 0.33 ml/kg/day (ヒト体重 60 kg として 20 ml に相当) を, グルタチオンは 100 mg/body/day (ヒト体重 60 kg として 1~2 g に相当) をそれぞれバナナ中心部に添加して投与した. 処置期間は表 3 および表 4 を参照されたい. なお上記の KC-400, PCDF の投与, および被検薬処置の概要は図 1 および図 2 の下部に一括して示されている.

3. そ の 他

実験開始後ほぼ 1 カ月ごとにケタラール (塩酸ケタミン) 約 50 mg を大腿部に筋注し, 麻酔下に体重を測定し, 真空採血管を用いて股静脈より採血した. また No. 22 および 23 については隔月毎に肝生検を行つた. 糞は 1 日分あて採取し必要に応じ分析に供した.

実 験 結 果

1. 一般的所見 (吉村英敏, 吉原新一, 古賀信幸,

表 3. 赤毛ザルに対する被検薬処置経過

サル No.	第 1 次処置 (1978, 8/29~10/30)		第 2 次処置 (1979, 11/7~1980, 2/25)		第 3 次処置 (1980, 3/11~7/16)		第 4 次処置 (1980, 7/21~10/30)	
	被 検 薬	処置 日数	被 検 薬	処置 日数	被 検 薬	処置 日数	被 検 薬	処置 日数
B 群	16	コレステラミン 62	コレステラミン 111				グルタチオン 102	
	17	流パラ 62	対照(ビタミン強化飼料)				グルタチオン 102	
	21	対照(ビタミン強化飼料)	コレステラミン 111				対照(通常飼料)	
	25	対照(通常飼料)	対照(ビタミン強化飼料)				対照(通常飼料)	
C 群	19	コレステラミン 62			コレステラミン 127			
	20	流パラ 62			コレステラミン 127			
D 群	18				対照(ビタミン強化飼料)			
	23				対照(ビタミン強化飼料)			

表 4. カニクイザルに対する被検薬処置経過

サ ル No.	第 1 次処置 (1979, 7/24~11/30)		第 2 次処置 (1980, 7/21~10/30)	
	被 検 薬	処置日数	被 検 薬	処置日数
E 群	28	コレステラミン 128	グルタチオン+コレステラミン 102	
	29	コレステラミン 128	グルタチオン+コレステラミン 102	
	30	対照(ビタミン強化飼料)	対照(ビタミン強化飼料)	
	31	対照(ビタミン強化飼料)	対照(ビタミン強化飼料)	

河野希世志, 永田 清, 和田郁夫, 山内葉子)

赤毛ザルにおける KC-400, あるいは PCDF の第 1 次投与実験では前回¹⁾ にくらべ 1 回の投与量が半分であったためか, 全例が PCB により高感受性といわれる雌であるにもかかわらず, 脱毛など外見上の変化も容易に惹起せず体重の減少も認められなかった。ただ C 群 (KC-400+PCDF 投与群) のうち No. 24 が投与開始後 5 カ月頃から急速に体重の減少をきたし, 投与 6 カ月で死亡し, また No. 22 も同じ頃より体重を減少して衰弱が目立つた (この時点で屠殺)。これは表 1 に示されるように, KC-400, PCDF の総投与量が C 群中両者において他より幾分高値であったことと関係するのかもしれない。

脱毛は赤毛ザル第 3 次投与 (B 群) やカニクイザル (E 群) 第 2 次投与実験中顕著に認められるようになり, 投与量が同レベルであれば, KC-400 のみでなく PCDF の添加が特に寄与しているように考えられた。これら脱毛の著しいサル (B 群, E 群) に対して行つたグルタチオン処置 (B 群), あるいはグルタチオン+コレステラミン処置 (E 群) は, 脱毛に関する限り未処置のそれぞれの対照にくらべて回復が早い傾向がみられ有効と判断された。体重については上記の特例を除けば, 脱毛の著しいものも含めて実験期間中特に

顕著な変化はなかった。

前回の実験と同じく¹⁾, Allen らの報告のようなアクネ形成⁸⁾ は認められなかった。カニクイザルは赤毛ザルにくらべ, PCB あるいは PCDF に対する反応が全般的に低いように見受けられた。

2. 血液およびふん中の PCB (増田義人, 山領智子, 黒木広明, 原口浩一)

(1) 材料と分析方法

a) 血液

血液約 3 ml を採取し, 前報¹⁾ と同様に処理した。

b) ふん

1 日間に排泄した糞 (1~100 g) を集め, エタノールを加えて, 分析するまで保存した。この糞を含むエタノール溶液 (50~200 ml) をフラスコにとり, 水酸化ナトリウム (2~20 g) を加え, 水浴上で 2 時間加熱し, アルカリ分解した。冷後, フラスコを傾斜して, エタノール溶液をとり, これに精製水をエタノールの倍量加えて希釈して, n-ヘキサン 60 ml で 3 回抽出した。n-ヘキサン抽出液を合し, 精製水で洗浄したのち, 無水硫酸ナトリウムで乾燥した。この n-ヘキサン溶液をろ斗上のシリカゲル (ワコーゲル S-1, 1 g) の層でろ過し, KD 濃縮器で濃縮した。濃縮液は血液の場合と同様にシリカゲルのカラムクロマト

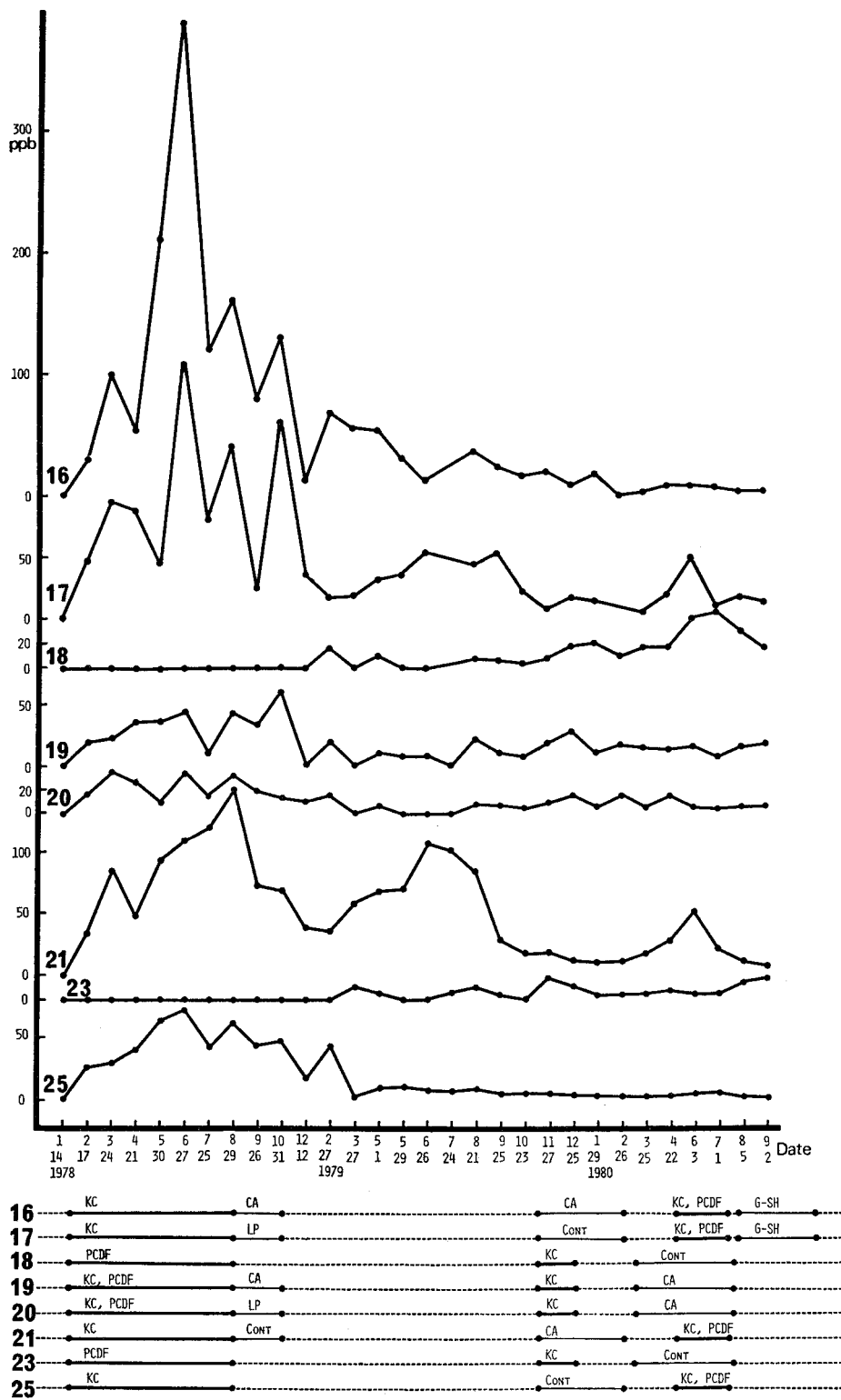


図 1. 赤毛ザルにおける実験経過および血中 PCB 濃度
: 通常餌, CA: コレステラミン処置, LP: 流動パラフィン処置,
 G-SH: グルタチオン処置, CONT: 対照 (ビタミン強化餌)

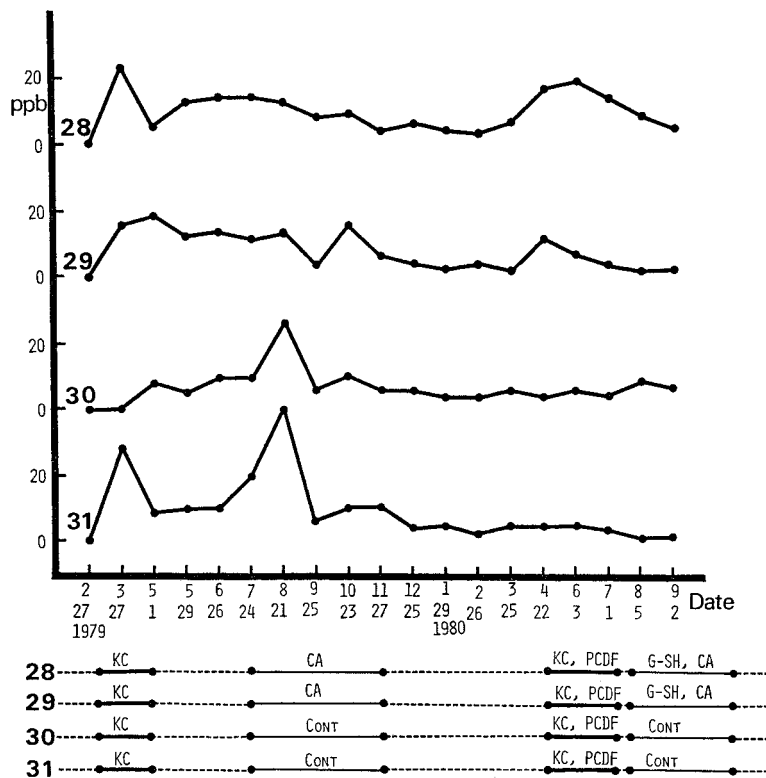


図 2. カニクイザルにおける実験経過および血中 PCB 濃度

.....: 通常餌, CA: コレスチラミン処置, G-SH: グルタチオン処置,
CONT: 対照 (ビタミン強化餌)

グラフィーで処理した。

c) ガスクロマトグラフィーによる分析

処理した試料溶液をガスクロマトグラフ (島津 GC-4 BM 電子捕獲型検出器付, 5% SE-30 ガラスカラム使用) に注入し, ガスクロマトグラムのピーク高の和による方法で総 PCB を定量した。また, 4 種類の PCB 異性体 (2, 5, 3', 4'-tetra-CB, 2, 4, 5, 3', 4'-penta-CB, 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexa-CB および 2, 3, 4, 2', 4', 5'-hexa-CB) については, それぞれのピークの面積を対応する標品のピーク面積と比較して定量した。

(2) 結果と考察

a) 血中 PCB

サルに KC-400 または KC-400+PCDF を与えた期間, 薬剤投与の期間および普通餌で飼育した期間を図 1 および図 2 の下部に示しそれに対応する時期のそれぞれのサルの血中 PCB 濃度の変化を図 1 および図 2 の上部に示す。KC-400 を与えると血中 PCB 濃度がだんだんと上昇するのは, 予備的研究³⁾の場合と

同様であり, 第 1 次投与実験において, 投与開始後 5 カ月前後で最高に達した。赤毛ザルでは, 体重当たり同量の KC-400 を与えた場合においても, 血中 PCB 濃度が 400 ppb 近くになるサル (No. 16) もあれば 70 ppb にまでしか上らないサル (No. 25) もあり, サルによる個体差が見られた。カニクイザル (No. 28, 29, 30, 31) では KC-400 投与後 (第 1 次投与実験) の血中 PCB 濃度は, 40 ppb 以下で, いずれも赤毛ザルのそれよりもかなり低かった。これは, カニクイザルに対する KC-400 の体重当たり投与量が赤毛ザルのその 2 倍であるが, その投与期間が約 1/4 であること, すなわち, 体重当たり PCB 総投与量が 1/2 であることが一つの原因と考えられる。しかし, 投与後 1~2 カ月の時点でも, 赤毛ザルの方が高値を示しており, このことからサルの種類によつて PCB の体内蓄積性が異なり, 血中 PCB 濃度に差が生じること, すなわち, カニクイザルは赤毛ザルよりも PCB の蓄積性が小さいことがその主たる理由であると考えられる。

KC-400 と PCDF を同時に投与したサル (No. 19, 20) の血中 PCB 濃度は 50 ppb 以下であり, KC-400 のみを同じ期間投与したサル (No. 16, 17, 21, 25) のそれ (最高 70~400 ppb) よりもかなり低かった。これは KC-400 と PCDF を同時投与したサルに対する体重当りの KC-400 投与量が, KC-400 を単独投与したサルに対するその 1/2 であること, および PCDF を同時に投与したことにより酵素誘導作用がより強められたことが原因であろうと考えられる。PCDF のみを投与したサル (No. 18, 23) の血中 PCB 濃度は当然のことながら非常に低く, PCB が検出されなかつたか, わずかの濃度を示すのみであった。

この実験に使われたサルは 1 回目の KC-400 または PCDF 投与終了後 12~20 カ月たつて, 再度 KC-400 または PCDF の投与を受けている。2 回目投与の場合, 血中 PCB 濃度は予期したほど上昇せず, 1 回目投与の場合の濃度上昇よりもかなり低い状態で終っている (図 1, 2)。1 回目および 2 回目投与において KC-400 の体重当り投与量および投与期間が異なるために, 2 回目投与の場合の KC-400 の総投与量が 1 回目のその 1/2~1/3 であることが一つの理由である。しかし, この割合を考え合せても, 2 回目投与の場合の血中 PCB 濃度は上昇していない。これは 1 回目に投与された PCB の酵素誘導作用で PCB の代謝が促進された状態が保たれ, 2 回目投与の場合の血中 PCB 濃度があまり上らなかつたものと考えられるが, いずれのサルの場合も 1 回目または 2 回目投与の時に PCDF の投与もうけているので, PCDF による強い酵素誘導作用のために血中 PCB 濃度が上らなかつたとも考えられる。

図 1 および図 2 のように, KC-400 または KC-400 +PCDF を与えたサルにコレステラミン (CA), 流動パラフィン (LP) またはグルタチオン (G-SH) を投与し, その期間前後の血中 PCB 濃度の変化を調べたが, これらの薬剤投与による血中 PCB 濃度の変動があつたとは観察できなかつた。これはこれら薬剤によつて血中 PCB 濃度の変化をもたらす効果が見られなかつたためか, また, 薬剤による血中 PCB 濃度の変化が, KC-400 投与後における血中 PCB 濃度の変動の中にかくれて見えなかつたためであろう。

KC-400 投与後のガスクロマトグラムピークパターンの変化はだいたい前報¹⁾と同様であつた。すなわち, KC-400 投与中の血中 PCB は KC-400 のガスクロマトグラムに近い形を示し, 比較的保持時間が小さ

いピークも割合に多く見られたが, 投与中止後はこれらのピークはだんだん減少し, 保持時間の大きいピークが割合に増大した。異性体では, 2, 5, 3', 4'-tetra-CB のピークは KC-400 投与期間中は割合に大きく見られるが, 投与中止後だんだん減少した。2, 4, 5, 3', 4'-penta-CB および 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexa-CB のピークは常に大きなピークで見られるが, 投与中止後時間がたつに従つてこれらが主体のピークとなつて残つた。

b) 糞中の PCB

CA または G-SH 投与期間前後のサルの糞 1 日排泄量を集め, その中の PCB を分析した。糞中の PCB 濃度および PCB の 1 日排泄量を表 5 に示す。PCB 排泄量が少ない時に CA を投与した第 2 次処置の赤毛ザル (No. 16, 21) においては, CA 投与前にくらべて投与期間中は糞中 PCB 濃度および排泄量が 10 倍以上に増加しており, CA により糞中 PCB の排泄が促進された可能性がある。しかし, コントロールのサル (No. 17) においても, 濃度においては数倍程度の増加がみられるので更に実験をして確かめる必要がある。PCB 排泄量が比較的に大きい状態 (第 3 次処置) の赤毛ザル (No. 19, 20) に CA を投与した場合, 投与前後で糞中 PCB 濃度および量に前記のような差が見られず, コントロールのサル (No. 18, 23) の PCB 排泄状態と同様の推移を示した。これらのサルについては CA 投与による影響よりも, サルの個体による糞中 PCB 濃度の違いが見られた。すなわち, No. 20, 23 のサルは糞中 PCB 濃度が比較的小さく, No. 18, 19 のサルは比較的大きい。G-SH を投与した第 4 次処置の赤毛ザル (No. 16, 17) とこれに対するコントロールのサル (No. 21, 25) を比較した場合, また, カニクイザルの第 2 次処置における CA と G-SH を投与したサル (No. 28, 29) とこれに対するコントロールのサル (No. 30, 31) を比較した場合, いずれも, 薬剤を投与したことによる PCB 排泄状態の変化は見られず, サル個体による PCB 排泄量および濃度の違いが観察された。また, それぞれのサルについては, 時間が経過するにつれて PCB 排泄量および濃度が減少する状態が見られた。

(3) 小 括

サルに KC-400 または KC-400+PCDF を投与して, 血液中の PCB 濃度を測定した。また, PCB を蓄積させたサルに CA, LP または G-SH を投与し, 血中 PCB 濃度ならびに, 糞中 PCB 濃度および

表 5. サルふん中への PCBs の排泄濃度および排泄量

サル No.	PCBs の濃度 (ppb) および量 (μ g)*													
	試料採取日 (月/日)													
	1979 11/6	11/14	1980 3/7	3/11	3/18	3/25	4/22	7/12	7/16	8/5	9/2	9/30	11/1	11/8
No. 16	0.15 ^a (0.013)	13 ^b (0.29)						52 ^a (2.3)	31 ^a (1.6)	14 ^d (1.5)	22 ^d (1.7)	10 ^d (0.6)	16 ^e (0.5)	31 ^e (0.2)
No. 17	29 (1.7)	89 (0.7)						170 ^a (9.4)	120 ^a (6.9)	160 ^d (5.3)	96 ^d (3.4)	38 ^d (1.3)	53 ^e (1.4)	52 ^e (1.8)
No. 18		27 (1.4)	250 (3.9)	330 (7.4)	250 (8.3)	250 (9.0)	280 (8.3)	240 (7.2)	110 (0.8)					
No. 19		75 (0.5)	330 ^a (5.9)	330 ^a (8.8)	170 ^b (3.9)	340 ^b (6.8)	180 ^b (3.0)	240 ^c (7.2)	42 ^c (0.4)					
No. 20		210 (12)	80 ^a (7.0)	94 ^a (5.2)	25 ^b (0.8)	110 ^b (5.9)	64 ^b (3.7)	26 ^c (1.8)	25 ^c (0.6)					
No. 21	0.26 ^a (0.011)	6.4 ^b (0.15)						120 (4.8)	150 (9.9)	59 (4.9)	48 (2.5)	41 (1.0)	48 (1.1)	36 (1.3)
No. 23		43 (3.3)	69 (5.5)	45 (3.8)	57 (3.4)	51 (4.4)	45 (1.9)	43 (1.7)	39 (2.1)					
No. 25	ND	13 (0.49)						24 (0.7)	16 (0.7)	19 (1.1)	11 (0.4)	6 (0.2)	10 (0.4)	8 (0.3)
No. 28								98 ^a (4.0)	76 ^a (4.3)	29 ^f (0.8)	28 ^f (0.7)	22 ^f (0.3)	22 ^g (0.7)	21 ^g (0.7)
No. 29								64 ^a (0.04)	50 ^a (1.2)	140 ^f (0.4)	25 ^f (0.5)	11 ^f (0.3)	17 ^g (0.2)	19 ^g (0.2)
No. 30								130 (1.4)	90 (4.7)	72 (1.1)	43 (1.3)	32 (0.03)	32 (0.6)	40 (0.7)
No. 31								38 (0.4)	36 (1.4)	34 (0.8)	23 (0.4)	14 (0.2)	16 (0.3)	17 (0.5)

* () 内数値は PCB の糞中 1 日排泄量 (μ g)。

ふんの 1 日排泄量は 37.3 $\pm$ 22.2 g (平均値 $\pm$ SD)。

ふんの 1 日排泄量が極端に少なかったのは No. 29 の 7/12 と 8/5 および No. 30 の 9/30 で、それぞれ 0.6, 2.9 および 1.1 g; 極端に多かったのは No. 16 の 8/5 で 111 g。

a: CA あるいは G-SH 処置前。 b: CA 処置中。 c: CA 処置後。 d: G-SH 処置中。

e: G-SH 処置後。 f: CA+G-SH 処置中。 g: CA+G-SH 処置後。

ND: <0.1 ppb。

量を調べた。

a) 血中 PCB 濃度は KC-400 を投与した時期に上昇し、投与を中止するとだんだんと減少した。その上昇の程度はサルの個体により違っていた。

b) カニクイザルは赤毛ザルにくらべて、血中 PCB 濃度の上昇は小さかった。

c) KC-400 および PCDF を再度投与した場合、血中 PCB 濃度の上昇は 1 回目投与の場合よりも低かった。

d) PCDF を単独または KC-400 と同時に投与したサルについては血中 PCB 濃度があまり上昇せず、PCDF の強い酵素誘導作用によるものと考えられた。

e) 糞中 PCB 濃度が低い状態のサルに CA を投与すると、糞中 PCB 濃度および量が增大したが、糞中 PCB 濃度が高い状態のサルに CA を投与した

場合はそのような変化は見られなかった。

f) G-SH または CA と G-SH を投与した場合には、薬剤投与したことによる PCB 排泄状態の変化は見られなかった。

g) PCB 排泄に関してもサルの個体による差が見られ、糞中 PCB 濃度の高いサルおよび低いサルがあった。

3. 実験的 PCB 中毒サルの血液生化学的所見 (赤木公博, 村井宏一郎, 尾前照雄)

(1) 材料および方法

赤毛ザル第 1 次投与実験のものについて検討した。すなわち、赤毛ザルは投与した PCB の種類および投与量により次の四群に分けられた。①コントロール群 (PCB 投与をしなかった No. 26, 27), ②KC-400 投与群 (KC-400 を 0.25 mg/kg/日, 175 日間投与

した No. 16, 17, 21, 25), ③KC-400+PCDF 投与群 (KC-400 を 0.125 mg/kg/日 および PCDF を 0.625 μ g/kg/日, 175 日間投与した No. 19, 20, 22, 24), ④PCDF 投与群 (PCDF を 0.625 μ g/kg/日, 175 日投与した No. 18, 23) である。採血は赤毛ザルの股静脈より行い, コントロール採血は各群の PCB 投与開始前 1 カ月と直前に 2 回行った (計 12 匹, 23 回採血)。各群の PCB または PCDF 投与後の採血はほぼ毎月 1 回行われたが, 本実験では投与中止 1 カ月前と直後の 2 回の検査値について検討を行った (KC-400 投与群: 計 4 匹, 8 回採血。KC-400+PCDF 投与群: 計 4 匹, 7 回採血。PCDF 投与群: 計 2 匹, 4 回採血)。血液生化学検査 26 項目および血液検査 4 項目は日本医学研究所 (JML) 一九州におい

て Auto Chemist (Sweden AGA 社)⁹⁾ を用い測定された。

治療として 1% コレスチラミンおよび流動パラフィン (0.33 ml/kg/日) を 62 日間投与した。

(2) 結 果

各群の血液生化学および血液検査項目の平均値 ($\pm$ SD) を表 6 に示した。PCB 投与により, ④血清蛋白, とくにアルブミン値および A/G 比の低下, ⑥コレステロール値の低下および中性脂肪 (TG) 値の上昇, ⑩血色素, 赤血球数の減少が認められた。

次に血清 TG 値について, PCB 投与中, 投与後コレステラミン, 流動パラフィン治療中およびその後の経過を図 3 に示した。PCB の投与をうけた群では投与中明らかな TG の上昇が認められたが, 個体差

表 6. KC-400 あるいは PCDF 投与サルの血液生化学的検査結果

	Control	KC-400	KC-400+PCDF	PCDF
検査血清数	(23)	(8)	(7)	(4)
T. Bilirubin (mg/dl)	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1
GOT (U)	26.8 $\pm$ 5.4	33.8 $\pm$ 11.1	26.6 $\pm$ 6.1	25.3 $\pm$ 3.9
GPT (U)	27.0 $\pm$ 14.2	37.8 $\pm$ 30.7	20.0 $\pm$ 8.3	25.3 $\pm$ 5.0
T. Protein (g/dl)	7.7 $\pm$ 0.4	6.9 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 0.2
Albumin (g/dl)	4.3 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.3
A/G ratio	1.3 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.1
ZTT	0.9 $\pm$ 0.7	1.7 $\pm$ 0.8	2.4 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 0.4
TTT	0.7 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.1
ALP (U)	17.1 $\pm$ 12.0	19.4 $\pm$ 13.7	11.6 $\pm$ 10.8	15.9 $\pm$ 1.8
LAP (U)	313.6 $\pm$ 185.0	190.0 $\pm$ 35.1	184.5 $\pm$ 51.2	202.8 $\pm$ 13.7
γ -GTP (mU/ml)	40.2 $\pm$ 10.2	34.1 $\pm$ 6.6	26.1 $\pm$ 5.8	25.8 $\pm$ 2.9
LDH (U)	495.0 $\pm$ 170.4	481.4 $\pm$ 155.9	367.3 $\pm$ 100.2	300.5 $\pm$ 58.5
Amylase (U)	250.0 $\pm$ 37.2	272.2 $\pm$ 52.6	303.8 $\pm$ 35.7	348.0 $\pm$ 17.1
Glucose (mg/dl)	85.2 $\pm$ 26.8	66.3 $\pm$ 18.6	80.4 $\pm$ 22.1	73.8 $\pm$ 11.2
Cholesterol (mg/dl)	170.0 $\pm$ 22.2	111.3 $\pm$ 20.5	95.6 $\pm$ 11.9	111.8 $\pm$ 8.9
T. G (mg/dl)	65.5 $\pm$ 18.1	80.0 $\pm$ 26.2	115.0 $\pm$ 42.3	60.3 $\pm$ 18.8
β -Lp (U)	3.1 $\pm$ 1.8	2.6 $\pm$ 0.6	2.6 $\pm$ 0.8	1.7 $\pm$ 0.2
BUN (mg/dl)	16.5 $\pm$ 2.9	20.0 $\pm$ 3.7	20.3 $\pm$ 3.4	20.0 $\pm$ 1.9
Creatinine (mg/dl)	0.7 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.1
Uric acid (mg/dl)	0.4 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.1
Na (mEq/L)	146.0 $\pm$ 7.0	146.0 $\pm$ 1.8	144.0 $\pm$ 1.9	147.0 $\pm$ 0.4
K (mEq/L)	3.9 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.1
Ca (mg/dl)	10.1 $\pm$ 0.3	9.8 $\pm$ 0.5	9.3 $\pm$ 0.5	10.0 $\pm$ 0.2
P (mg/dl)	4.5 $\pm$ 1.4	3.5 $\pm$ 0.5	3.3 $\pm$ 1.3	3.3 $\pm$ 0.3
Hb (g/dl)	13.1 $\pm$ 1.4	11.3 $\pm$ 0.8	9.5 $\pm$ 1.4	10.0 $\pm$ 0.5
RBC ($\times 10^4$ /mm ³)	537.6 $\pm$ 61.0	454.3 $\pm$ 40.9	413.8 $\pm$ 50.0	402.8 $\pm$ 18.6
WBC ($\times 10^2$ /mm ³)	78.4 $\pm$ 20.7	74.1 $\pm$ 13.8	65.8 $\pm$ 31.5	61.0 $\pm$ 11.0
Ht (%)	37.2 $\pm$ 4.1	33.1 $\pm$ 2.1	27.4 $\pm$ 4.2	29.1 $\pm$ 1.4

数値は平均値 $\pm$ S. D.

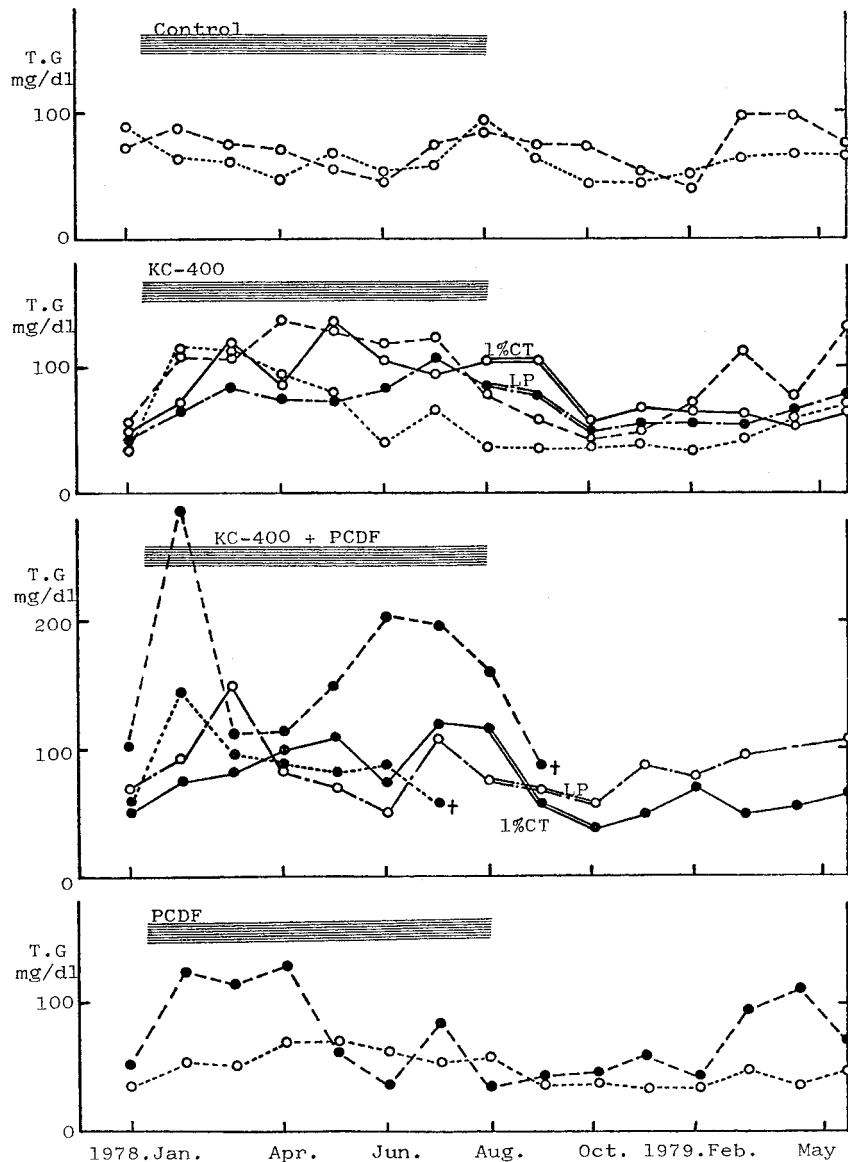


図 3. KC-400 あるいは PCDF 投与サルの血清トリグリセリド値の変動経過

○—○ 1%CT: 1%コレステラミン投与
 ○—○ LP: 流動パラフィン投与
 ●: 体重減少サル, ○: 体重増加サル

が見られた。KC-400+PCDF 群では 2 匹が投与終了前後に死亡、または衰弱により屠殺したが、一匹に著明な TG の高値が観察された。

治療の目的で PCB 投与中止後、コレステラミンおよび流動パラフィンを投与した。治療したサルの匹数が少ないがその投与により血清 TG 値 (図 3) および他の血液生化学検査値にも改善傾向が認められた。

(3) 考 察

赤毛ザルに PCB を投与し、血液生化学検査 26 項目、血液検査 4 項目の変動を観察した。さらにコレステラミンおよび流動パラフィンを 2 匹づつに投与し、その治療効果を見た。各群のサルの匹数が少なくかつ個体差が大きいので、本実験からのみでは十分な結論とはなし得ないが、PCB 投与により蛋白および脂質

代謝異常、貧血が認められた。これらは、Barsotti ら⁸⁾ および著者ら¹⁾ が先に報告した成績とほぼ一致した結果である。今回の実験でも血清 TG 値の上昇が明らかに認められた。しかし、その変化は約 6 カ月間にわたる長期の PCB 摂取にもかかわらず投与中止後 2 カ月以内に低下し、油症患者で 5~6 年間高いレベルにあった¹⁰⁾ のとは著しく異なつた動きを示した。一方、PCB 投与サルでは 10 匹中 5 匹にわずかではあるが体重減少が認められた (データ省略)。この体重減少は、相対的な食餌の摂取不足に起因するものと考えられるが、投与中に血清 TG が著増し死亡した 1 匹を除けば体重低下群の方でより TG レベルが高いとは必ずしもいえなかつた (図 3)。この結果からは摂食量と無関係に PCB それ自体が脂質代謝異常を惹起している可能性も示唆された。今後さらに、油症サルで血清リポ蛋白の分析および末梢におけるその利用状態を検討することが高脂血症を治療する上にも必要であると考えられる。

コレステラミンおよび流動パラフィンによる治療効果を血液生化学検査値を marker にして見たが、その有効性を測定するには余りにも匹数が少なくまた投与期間も短いので、今後さらに検討する必要がある。

4. KC-400+PCDF および PCDF のサル肝細胞に及ぼす影響に関する電子顕微鏡的研究 (藤田 守, 山元寅男)

(1) はじめに

前回のサルの実験¹⁾ では、各個体を屠殺しながら試料を採取し、電子顕微鏡学的に検索を行つたので、同一個体についての経時的な観察はしなかつた。サルには著しい個体差があり、油症の症状とも必ずしも一致せず、また投与前の肝細胞が形態学的に正常であつたか否かの疑問も残り、さらに、同一個体における投与期間中の形態的変化が検索出来ないままであつた。今後、疾患モデルとして治療法の研究に用いる場合に、生化学的検査だけでなく、形態的な検査によつて、投与実験開始前の状態および投与期間中における障害の程度が把握されたうえで、治療法の実験がなされれば、より効果が明確になると思われる。そこで今回の実験では、サルに KC-400+PCDF および PCDF を連続投与した同一個体について経時的に肝生検を行い、肝細胞の微細構造の変化を電子顕微鏡学的に検索した。

(2) 材料と方法

KC-400+PCDF 混合投与 (No. 22) および PC-

DF 単独投与 (No. 23) のサルより投与前 1 週間、および投与後 2, 4, 6, 8 カ月に肝生検をそれぞれ行つた。また対照として投与開始 1 週間前に生検を行つた。ただし No. 22 のサルは投与後 8 カ月で衰弱著しく屠殺した。

採取した肝組織は、0.1 M カコジル酸緩衝液で pH 7.4 に調整された 3%グルタルアルデヒドで 2 時間固定し、同じ緩衝液で調整された 1%オスミウム酸で 2 時間、後固定を行つた。エタノール系列で脱水後、エポキシ樹脂に包埋し、電顕用超薄切片を作製し、鉛染色を施して、JEM-100 B 型電子顕微鏡で観察した。

(3) 結果

a) 投与開始 1 週間前

肝細胞の核、粗面小胞体、滑面小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ装置などの細胞小器官は、なんらの変化も示していなかつた (図 4)。

b) KC-400+PCDF 投与例

投与 2 カ月では、肝細胞内の粗面小胞体は、層板配列が乱れ、小胞体腔が拡大し、滑面小胞体は、小胞状を呈し、わずかながら増殖しているという印象を受けた。ライソゾーム、自家食胞および小胞膜に包まれた小脂肪滴は認められたが、グリコーゲン顆粒およびミトコンドリアの形態的变化は見られなかつた (図 5)。

投与 4 カ月では、特徴ある所見として、肝小葉の辺縁帯から中間帯にかけての肝細胞の細胞質に、境界膜が見られない粗大な脂肪滴がかなり出現しているのが観察された (図 6)。小管状および小胞状の滑面小胞体が異常に増殖し、その間にはグリコーゲン顆粒が散在して分布していた。それらは、投与 2 カ月よりも増加しているような印象を受けた。また、クリスタの変形したミトコンドリアも観察された。

投与 6 カ月では、投与 4 カ月で観察された粗大な脂肪滴は、減少して、ほとんど見られなかつたが、増殖した小管状および小胞状の滑面小胞体とびまん性に分布しているグリコーゲン顆粒が細胞質の大部分を占め、滑面小胞体腔内には電子密度の低い物質が認められた (図 7)。

投与 8 カ月では、特徴ある所見として、滑面小胞体がさらに増殖し細胞質の大部分を占めると同時にグリコーゲン顆粒の著しい減少および消失が見られた (図 8)。滑面小胞体腔の電子密度の低い物質は、6 カ月程著明ではなかつた。輪状を呈している粗面小胞体と境界膜のない中程度の大きさの脂肪滴がわずかながら観察された。

c) PCDF 単独投与例

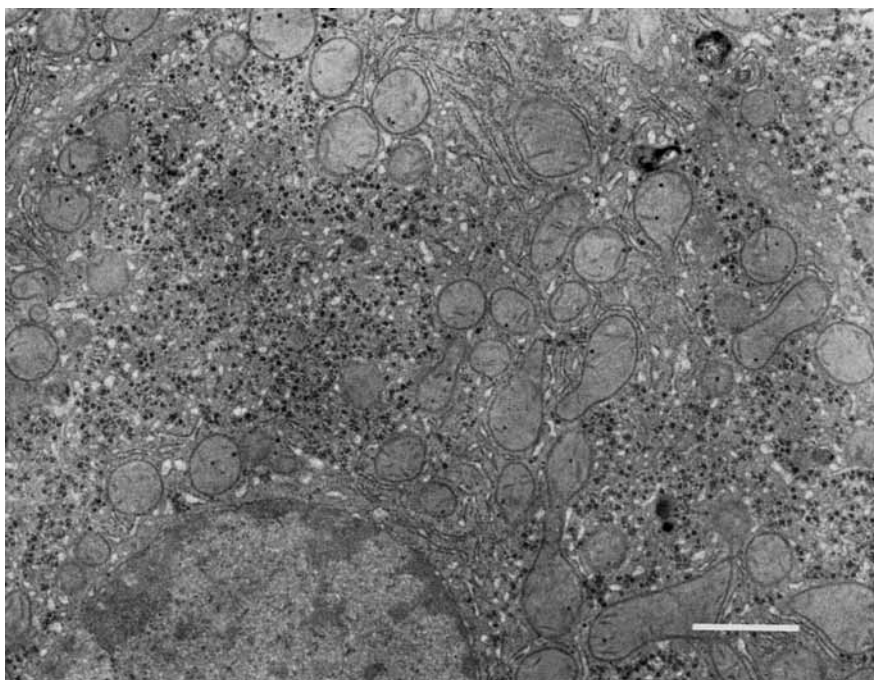


図 4. 投与開始 1 週間前の肝細胞電顕像 (サル No. 22). 核, 粗面小胞体, 滑面小胞体, ミトコンドリアなど全く正常像である. (スケールは全て 1 μm)

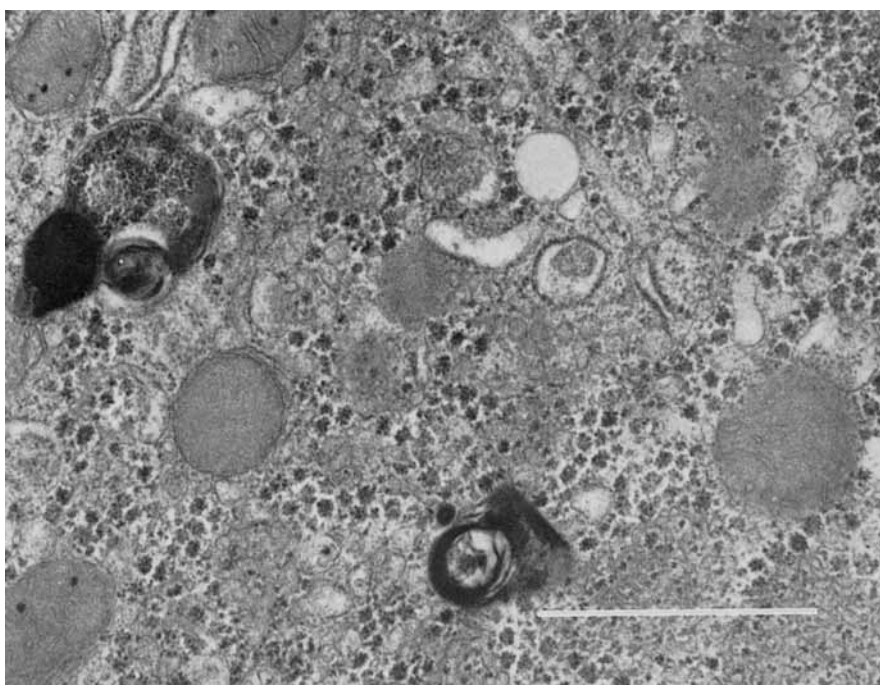


図 5. KC-400+PCDF 混合投与 2 カ月の肝細胞像 (サル No. 22). ライソゾーム, 自家食胞, 小胞膜に包まれた小脂肪滴が見られる.

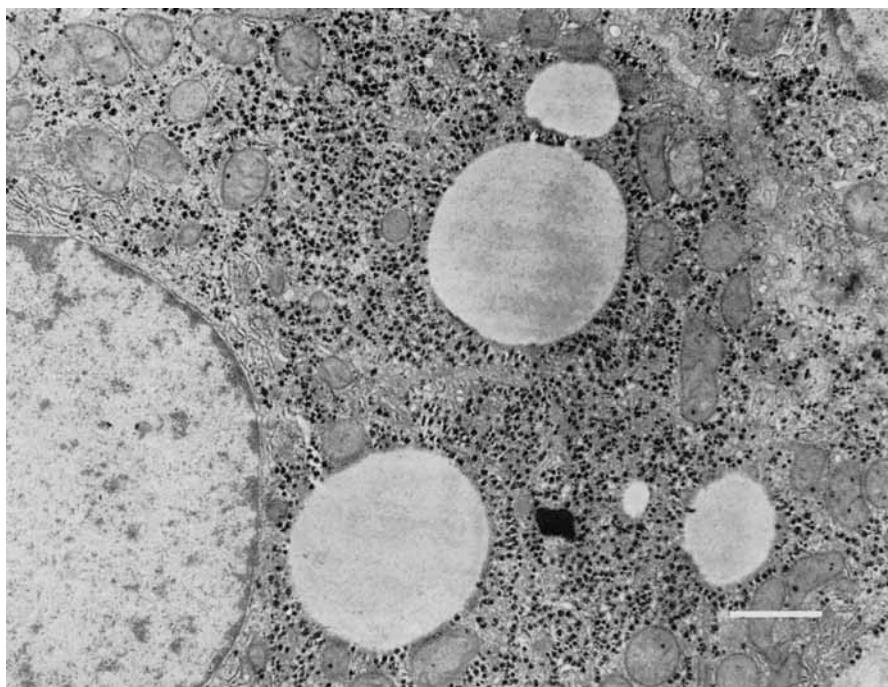


図 6. KC-400+PCDF 混合投与 4 カ月の肝細胞像 (サル No. 22). 限界膜のない粗大な脂肪滴が出現している.

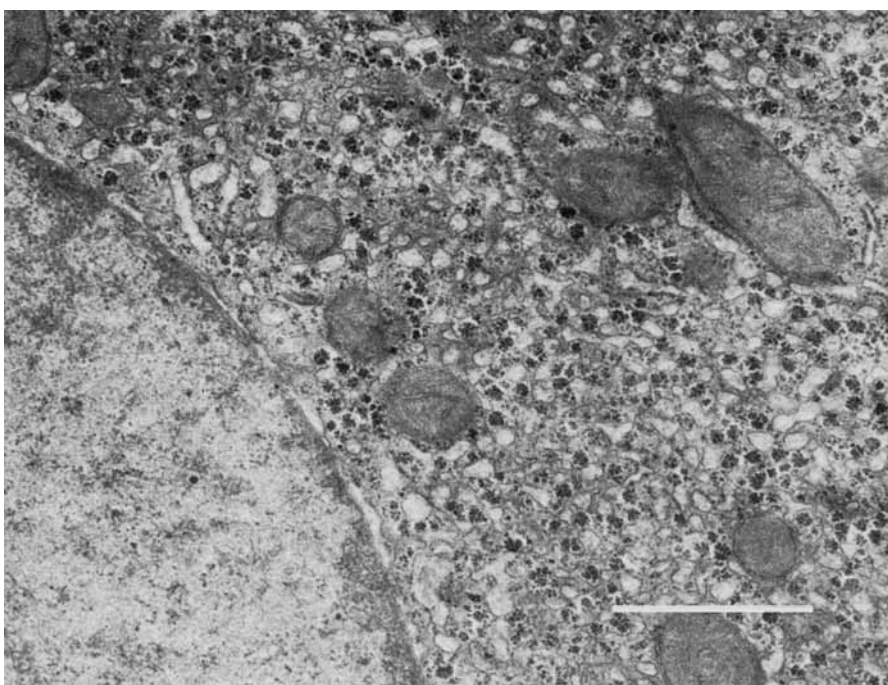


図 7. KC-400+PCDF 混合投与 6 カ月の肝細胞像 (サル No. 22). 滑面小胞体が増殖し, グリコーゲン顆粒は散在している.

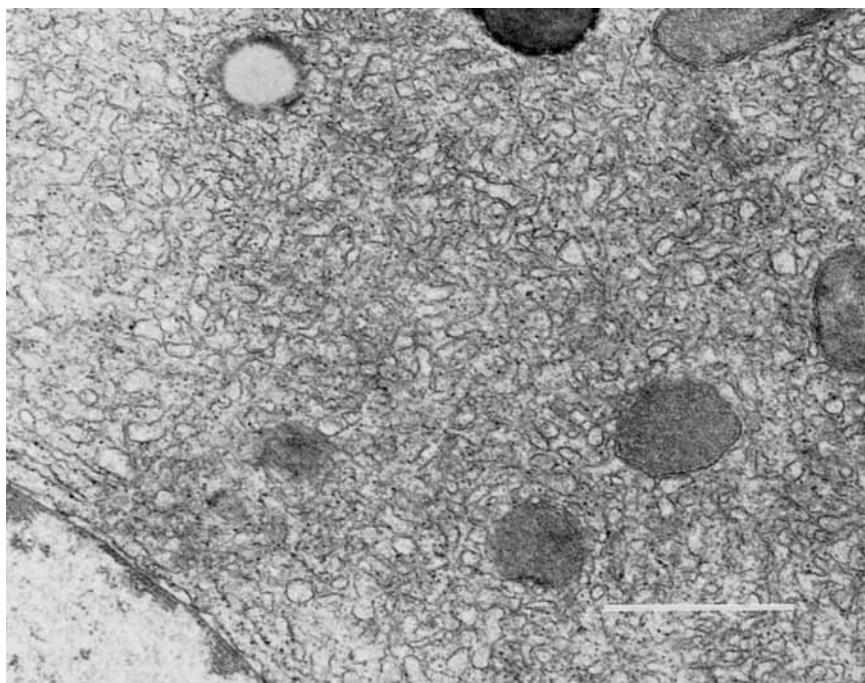


図 8. KC-400+PCDF 混合投与 8 カ月の肝細胞像 (サル No. 22). 滑面小胞体が増殖し, グリコーゲン顆粒は消失している.

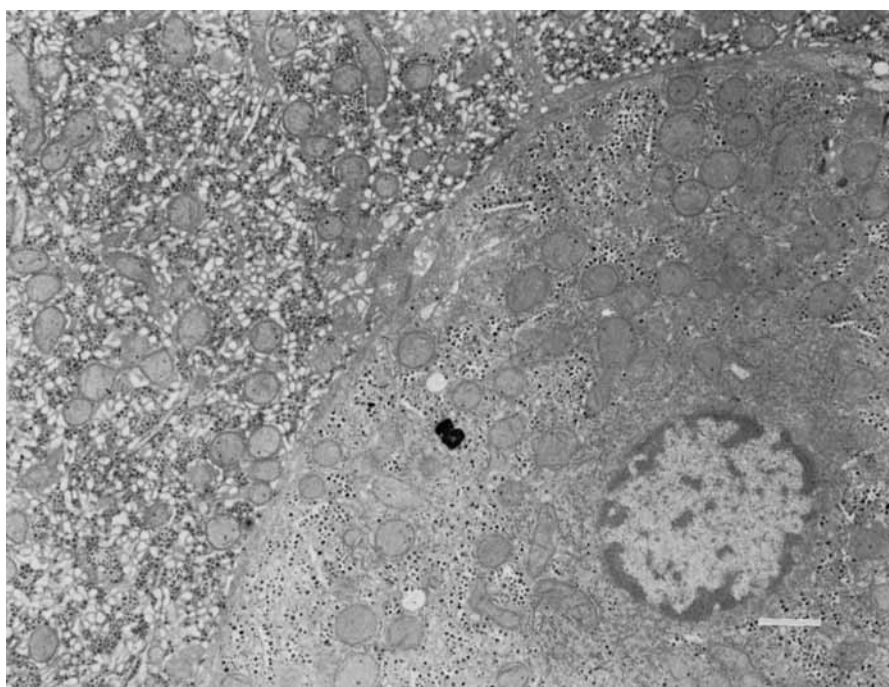


図 9. PCDF 単独投与 2 カ月の肝細胞像 (No. 23). 細胞小器官の変化が著明な細胞と, そうでない細胞が見られる.

投与 2 カ月では、同一肝小葉内で、しかも隣接している肝細胞どうしで、細胞内小器管の微細構造に著しい変化が認められる細胞と、そうでない細胞が見られた。変化の著しい細胞では、粗面小胞体腔は拡大し、小管状および小胞状滑面小胞体は増殖し、小胞体腔には電子密度の低い物質が認められた。良く発達したゴルジ装置や小胞膜に包まれた小脂肪滴やグリコーゲン顆粒なども観察された (図 9)。

投与 4 カ月では、肝小葉の大部分の肝細胞に変化が見られた。粗面小胞体の層板配列がかなり乱れて輪状を呈しているのも見られ、さらに、小管状および小胞状滑面小胞体は、大部分の肝細胞で増殖が認められた。グリコーゲン顆粒は、小集塊をなし、細胞質のところどころに、グリコーゲン野を形成していた。小胞膜で包まれた小脂肪滴は観察されるが KC-400 + PCDF 混合投与例の 4 カ月でかなり出現した限界膜をもたない粗大な脂肪滴は認められなかった。

投与 6 カ月では、増殖した滑面小胞体は見られたが、投与 4 カ月よりもむしろ、粗面小胞体の変化やグリコーゲン顆粒の蓄積が少くない印象を受けた。

(4) 考 察

これまでも、カネクロールのような PCB が肝細胞の滑面小胞体を増殖^{11) 12) 13) 14)}、薬物代謝酵素の誘導を起こすことはよく知られている^{15) 16)}。また、KC-400 と PCDF の混合投与を行ったサルの実験においても同様の所見が報告されている¹⁾。今回のサルの観察において、KC-400 と PCDF および PCDF 単独投与例において、肝細胞滑面小胞体の増殖が見られるのは当然といえよう。ただ、今回の実験において、KC-400 と PCDF 投与例では、投与 2 カ月で滑面小胞体が増殖傾向を示し、投与 4、6、8 カ月と、時間の経過と共に異常に増殖しているが、一方 PCDF 単独投与例では、2 カ月目で、滑面小胞体が増殖している細胞と、形態的に変化が見られない細胞とが観察されたという事実は、PCDF 単独投与では、KC-400 と PCDF 混合投与に比し、薬物代謝酵素誘導能が弱いことを意味する。次に興味のあることは、KC-400 投与実験例や脂溶性薬物投与実験例において、滑面小胞体が増殖する場合には、グリコーゲン顆粒の減少または消失するのが^{13) 17)} 普通であるが、今回の実験で見られるように、KC-400 と PCDF 混合投与例の 8 カ月のみでグリコーゲン顆粒の消失が見られたが、それ以前の時期では、減少の傾向が認められず、細胞質全域にびまん性に分布していた。これに対し、PCDF 単独投与例では、グリコーゲン顆粒は小集塊をなし、

細胞質のところどころに、グリコーゲン野を形成していた。両者の分布状態の違う理由は、検討を要するが、KC-400 と PCDF 混合投与例が油症患者の肝生検像¹⁸⁾ における滑面小胞体の増殖にもかかわらずグリコーゲン顆粒がびまん性に細胞質に分布していた所見に類似し、はなはだ興味深い。恐らく PCDF と KC-400 混合投与あるいは PCDF の単独投与では、滑面小胞体の増殖が、KC-400 単独投与に比し緩徐に起こることと関係があるように思われる。しかし詳細は今後の研究に委ねねばならない。

しかし、KC-400 + PCDF 投与の 4 カ月および 6 カ月例では、滑面小胞体の増殖とグリコーゲン顆粒の分布の状態など、ヒトの油症患者の肝生検像と類似しているが、4 カ月の肝細胞の細胞質は、粗大な脂肪滴がかなり出現しており、この点ヒトの所見と異なっている。このような脂肪滴の出現は、マウスに KC-400 の連続投与を行った実験や¹⁹⁾、ラットに PCB の五塩化物の投与実験を行った例に観察されている²⁰⁾。今回の実験では、投与 6 カ月、8 カ月では、脂肪滴はほとんど消失しており、したがって、投与 4 カ月例での脂肪滴の増加は一時的現象と考えられる。なぜ、投与 4 カ月で脂肪滴が出現したのか、その理由は明らかでないが、肝細胞における脂肪代謝系が投与 4 カ月で異常を示し、以後、肝細胞が脂肪代謝系に関し適応現象を示してくることを示唆する。

KC-400 と PCDF 投与例における各時期の肝細胞微細構造の変化と、PCDF 単独投与例のそれとを比較すると、前者の例において肝細胞の障害が強いことは明らかで、このことは、KC-400 と PCDF の相乗効果あるいは作用のあることを意味するものであろう。

(5) 小 括

サルに KC-400 + PCDF および PCDF を連続投与し、同一個体から経時的に肝生検を行い、肝細胞の微細構造の変化を電子顕微鏡で検索した。

KC-400 + PCDF 投与例および PCDF 投与例の各時期の肝細胞で滑面小胞体の増殖が認められた。

KC-400 + PCDF 投与例の 4 カ月で、限界膜をもたない粗大な脂肪滴が一時的に出現した。8 カ月では、グリコーゲン顆粒の減少および消失が見られた。連続投与期間中の各時期で肝細胞の微細構造に変化の差異が認められた。

PCDF 投与例の 2 カ月で、滑面小胞体が増殖している細胞と形態的な変化が認められない細胞とが観察された。各時期において、粗大な脂肪滴の増加やグリ

コーゲン 顆粒の減少 および 消失は、認められなかつた。

以上の結果から、KC-400+PCDF 投与例がPCDF 単独投与例よりも薬物代謝酵素の誘導作用が強いことが示唆された。

5. (KC-400+PCDF) および PCDF のサル肝蛋白量および肝酵素活性に及ぼす影響 (吉原新一, 河野希世志, 吉村英敏)

(1) 材料および方法

a) 動物および前処理

赤毛ザル No. 22 (初期体重 5.3 kg) および No. 23 (初期体重 4.5 kg) に、それぞれ KC-400 0.125 mg/kg/day+PCDF 0.625 μ g/kg/day, および PCDF 0.625 μ g/kg/day を連続 7 カ月間投与し、その投与前 1 週間、および投与開始後大よそ 2, 4, 6 カ月において、ケタラル麻酔下に肝生検を行い、前章の電子顕微鏡的検討に用いられた残りの試料数 mg を用いて以下の生化学的検討を行った。ただし No. 22 は 8 カ月 (投与中止後 1 カ月) において衰弱が著しく、また No. 23 は 4 および 8 カ月 (投与中止後 1 カ月) の試料が微量で、いずれも検討を行わなかつた。さらに、No. 23 については、7 カ月で PCDF の投与を中止した後も、その後 3.5, 6, 9, 11 カ月経過時点で肝生検を行った。

b) 肝ホモジネートの調製

得られた肝試料数 mg を正確に秤量後、適量の 1.15% KCl を加えて Potter-Elvehjem 型ガラスーテフロンホモナイザーを用いて 0.5% ホモジネートを調製した。

c) 肝ホモジネート蛋白量の測定

0.5% 肝ホモジネートの 5 倍希釈液 0.2 ml につき常法²¹⁾に従って蛋白量を測定した。なお標準蛋白にはウシ血清アルブミンを用い、測定はすべて 2 回行い、平均値を求めた。

d) Benzo(a)pyrene 3-hydroxylase(AHH) 活性の測定

3 mM MgCl₂, 100 mM HEPES (pH 7.4), 0.36 mM NADPH, 80 μ M benzo(a)pyrene (40 μ l のメタノール溶液として), および 0.4 ml の 0.5% 肝ホモジネート (約 150 μ g の蛋白量) からなる最終容量 1 ml の反応液につき、37°C, 10 分間好氣的にインキュベーションを行った。生成した 3-hydroxy-benzo(a)pyrene の定量は既報²²⁾に従い蛍光々度法により行った。

e) DT-ジアホラーゼ活性の測定

酵素液として 0.1 ml の 0.5% 肝ホモジネートを用いた以外は、既報²²⁾と同様に行った。

(2) 結果および考察

KC-400+PCDF あるいは PCDF を連続投与開始後、ほぼ隔月に得られた肝試料につき測定した肝蛋白量, AHH 活性および DT-ジアホラーゼ活性を、それぞれ図 10 および 図 11 に示す。これまでラットで PCB²²⁾ や PCDF²³⁾ の特性として明らかにされているように、これらの連続投与により No. 22, No. 23 の両ザルいずれも DT-ジアホラーゼおよび AHH 活

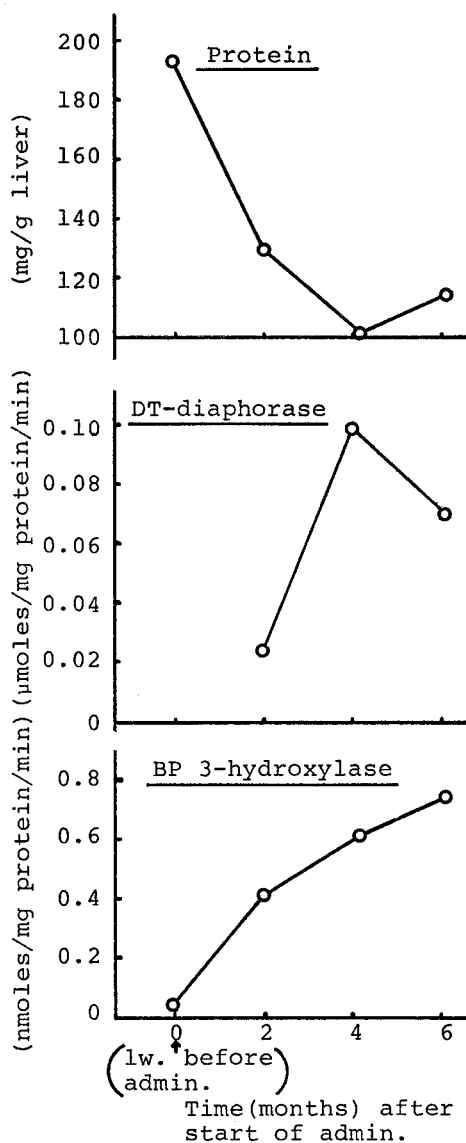


図10. KC-400+PCDF 連続投与の影響 (サル No. 22).

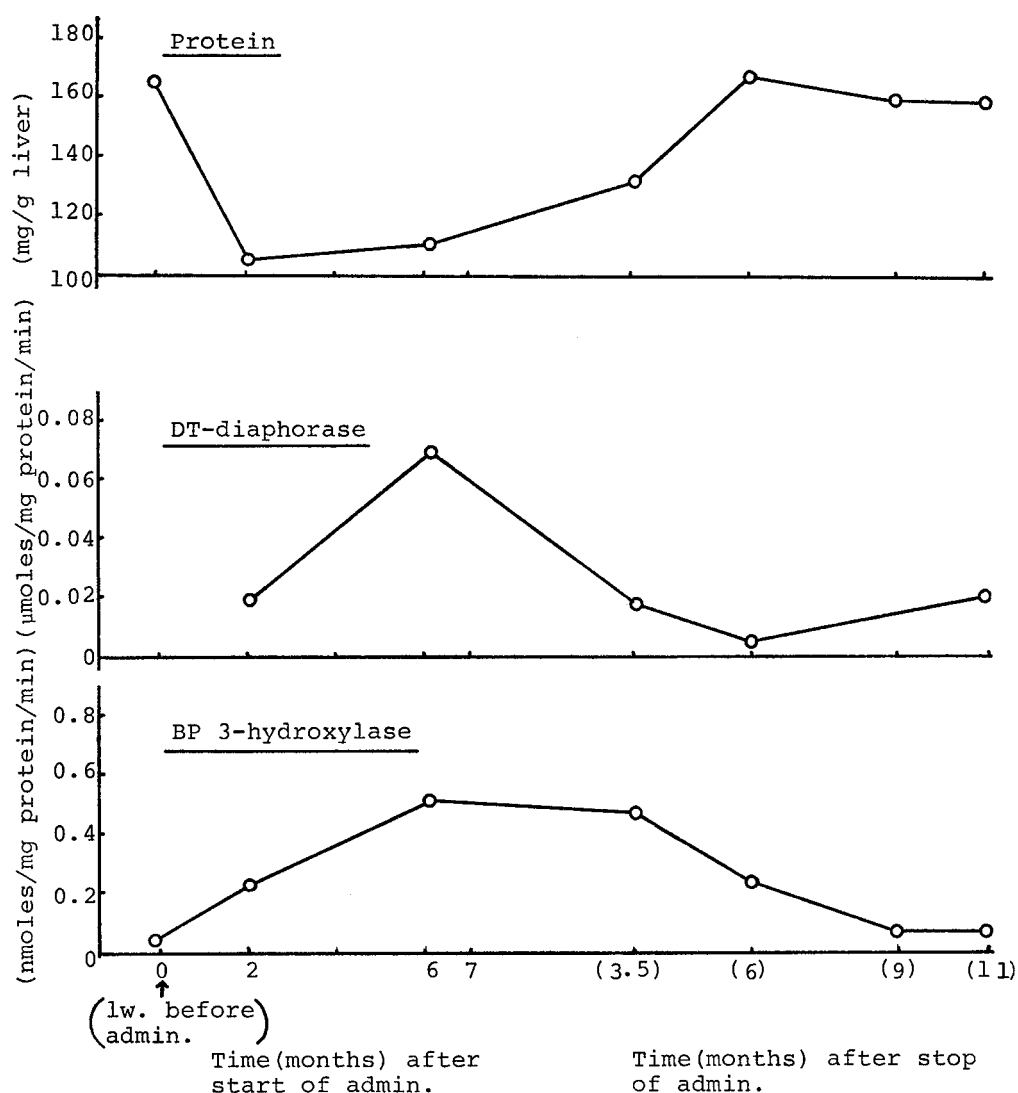


図 11. PCDF 連続投与の影響 (サル No. 23).

性が著しく増加した。DT-ジアホラーゼ活性は投与前の測定値がないので、投与により何倍に増加したかは不明であるが、AHH 活性は投与前にくらべ投与中は最高 10 倍内至それ以上に増加した。これに対し肝蛋白量の方は、上記酵素の誘導にはほぼ反比例して減少しきわめて対蹠的であつた。この肝蛋白量の減少は、前章 3 で述べた KC-400, PCDF 投与における血清アルブミン値の低下と関連すると思われる。しかし結論的にはさらに検討が必要であらう。

図 11 から明らかなように、PCDF を投与し強い酵素誘導と蛋白量の減少を惹起したサルも、PCDF の投与を中止すると蛋白量は徐々に投与前の状態にもど

り、中止後 6 カ月ではほぼ正常値に戻つた。このサル (No. 23) についての正常値が不明で正確にはわからないが、DT-ジアホラーゼ活性も同様の傾向と思われた。一方、AHH 活性は投与中止後 6 カ月では依然として誘導レベルにあり、9 カ月ではほぼ投与前のレベルまで低下した。以上のような肝蛋白量や肝酵素活性の推移は PCDF の肝蓄積量を反映すると考えられ、きわめて興味深い。

6. 実験的 PCB 中毒サルの眼症状と腺板腺圧迫排出物中の PCB 濃度の推移 (向野利彦, 大西克尚, 廣中博見)

(1) はじめに

PCB を中心とした毒性物質の摂取に起因する油症の眼症状は瞼板腺肥大、眼脂過多、眼瞼浮腫、結膜色素沈着などが記載された²⁴⁾。そして前報¹⁾に記したように、実験的 PCB 中毒サルおよび油症患者剖検例の眼瞼の組織学的検討により、油症患者の特徴的な眼所見は顕著な瞼板腺角化嚢胞の形成であることを示した。

今回、PCB 中毒サルにおいて治療薬の効果をみるために、瞼板腺所見を中心に眼症状の推移を長期にわたり観察した。またサルの眼瞼を圧迫して瞼板腺角化嚢胞の内容物を圧出し、PCB の定量を行い、その推移をみた。

(2) 方法

a) 臨床観察

月 1 回全麻下に眼脂過多、眼瞼浮腫、瞼結膜充血・浮腫、瞼板腺腫大等について眼瞼を反転して観察し、その後眼瞼を圧迫して瞼板腺角化嚢胞内容物の排出を試みた。また、必要に応じて写真撮影を行い、瞼板腺を生検して組織学的所見を確認した。

b) 瞼板腺圧迫排出物中の PCB の定量

眼瞼を圧迫すると、PCB 中毒症を発症しているサルでは、瞼板腺内容物が開口部より白色チーズ状に排出されることがあり、それを硝子棒で採取した。この試料は重量測定後、n-ヘキサン 100 μ l に溶解し、ミ

クロカラム (長さ 5 cm, 内径 2 mm) によるシリカゲルクロマトグラフィーを行い、その後電子捕獲型検出器 (ECD) 付きガスクロマトグラフィーを行った。PCB の定量は標準試料に KC-500+600 (1:1) を用い、ガスクロマトグラムのピーク高の和による方法を用いた²⁵⁾。

(3) 結果

実験動物は赤毛ザル 12 匹、カニクイザル 4 匹を用いたが、種差がみられたので分けて記載する。また治療薬の投与による影響は、PCB 投与に対する反応に相当な個体差がみられたため、群として判定することは困難であった。PCB の投与は全動物に長期の投与中止期間をおいて 2 回行い、1 回目を第 1 次投与、2 回目を C、D 群は第 2 次、B 群は第 3 次投与と称した (表 1, 図 12 参照)。また第 1 次投与開始後の経過月数 (M) のみとくに注記せず行った (例: 第 1 次投与開始 2 カ月を “2 M” と記す)。

a) 赤毛ザル群

赤毛ザル 12 匹の臨床観察は第 1 次投与開始後 2 カ月 (2 M) より 36 M まで行なった。また瞼板腺圧迫排出物の PCB 定量は 11 M より始め、可能な限り試料を採取して推移を追求めた。

イ) 対照群 (A 群: No. 26, 27)

この赤毛ザル 2 匹はともに当初より著しい結膜色素

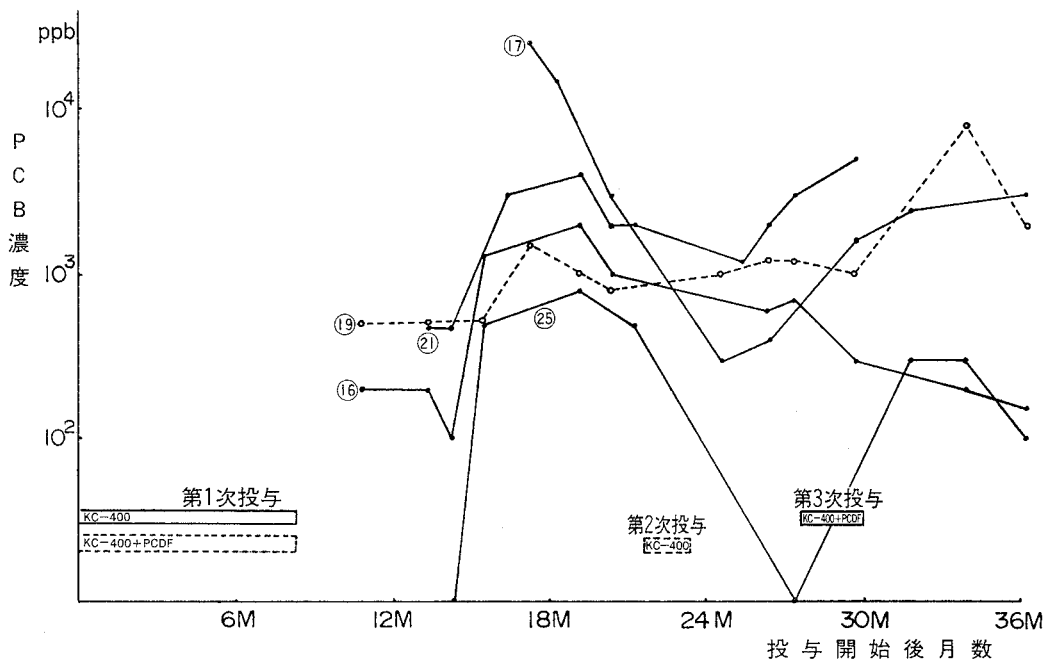


図 12 赤毛ザルの瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度の推移 (各曲線の番号はサル No.)

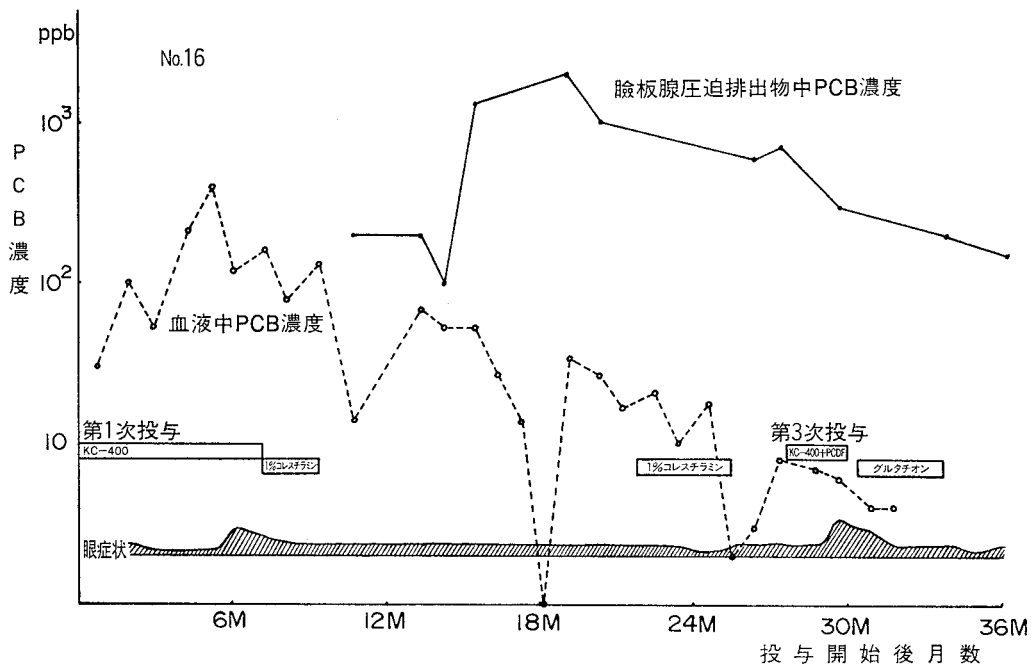


図 13 赤毛ザル No. 16 (第1次 KC-400 投与群) の全経過

沈着を認め、全経過中 PCB 投与は全く行わなかったにもかかわらず、しばしば眼脂、結膜充血の所見を呈した。しかし、瞼板腺腫大や瞼板腺内容物の排出はみられず、生検にても瞼板腺角化嚢胞形成は認められなかった。

ロ) 第1次 (KC-400) および第3次 (KC-400+PCDF) 投与群 (B群: No. 16, 17, 21, 25)

第1次投与開始後 2M には、全例に瞼板腺腫大の所見を認めたが、結膜充血、浮腫等は明らかでなかった。6M 頃より瞼板腺腫大はさらに顕著となり、眼脂、結膜充血、浮腫、瞼板腺内容物の排出などがみられるようになった。投与中止後も臨床所見は増悪・寛解を繰り返し、第3次投与開始前まで継続した。

第3次投与は 28M (休止期間 20 カ月) から KC-400+PCDF 混合物で行った。投与開始 1~2 カ月頃に、眼脂、眼瞼浮腫、結膜充血・浮腫の顕著化とともに、瞼板腺腫大は中等度から重度のものとなった。そして第3次投与中止後 2~3 カ月には、瞼板腺腫大以外の所見はかなり軽快した。

本群サルは全て瞼板腺圧迫排出物の採取を頻回に行うことができたので、その PCB 濃度の測定結果を 11M より経時的に図示した (図 12, 実線)。投与期間および中止後 3 カ月間の測定は行っていないが、18M 頃に全例ピークを示す一定の傾向がみられた。しか

しこの時期に臨床症状の増悪はみられなかった。また第3次投与による瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度の再上昇は、No. 16 を除きすべて認められたが、26M 頃にみられる上昇傾向と重なったようであった。

なお No. 16 について観察期間中の処置、瞼板腺所見を中心とした眼症状、瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度を、血液中 PCB 濃度 (増田) とともに、図 13 に一括して示した。瞼板腺排出物中 PCB 濃度は血液中に比べて約 10 倍高く、血液中 PCB 濃度が漸減していくにもかかわらず再上昇することがあった。

ハ) 第1次 KC-400+PCDF 混合物投与群 (C群: No. 19, 20, 22, 24), 第1次 PCDF 投与群 (D群: No. 18, 23) および第2次 KC-400 投与群 (C, D 群: No. 19, 20; 18, 23)

第1次 KC-400+PCDF 混合物投与群 (C群) では、結膜充血・浮腫などの所見が先行し、瞼板腺腫大は投与開始後 6M より出現し、KC-400 投与群 (B群) に比べて遅い傾向がみられた。

しかし No. 22 は瞼板腺腫大が 2M にみられ、急速に増強、眼脂、眼瞼浮腫が著しく、6M に瞼板腺内容物の排出が認められた。その後瞼板腺は急速に瘢痕化し、腫大は消失したが、眼瞼浮腫は顕著であった。そして 8M に頻死となり、屠殺し解剖に付した。また、7M に死亡した No. 24 も瞼板腺腫大は早期よ

りみられ、眼瞼および結膜浮腫が顕著であつた。

生存した 2 匹のうち No. 19 は瞼板腺腫大を中心に眼症状は長く継続し、頻回に多量の圧迫排出物を得ることができた。ところが No. 20 は瞼板腺腫大はすみやかに軽快したが、9 M 頃から眼脂、眼瞼浮腫、結膜充血・浮腫が顕著となり再増悪し、11 M まで続いた。その後眼症状は急速に軽快し、悪化はほとんどみられなかつた。

第 1 次 PCDF 投与群 (D 群) は、混合物投与群 (C 群) に比べて眼症状の発現はさらに遅く軽度であつた。3 M に充血がみられ、瞼板腺腫大、結膜浮腫が 6 M に発現した。また投与中止後急速に症状は軽減し、ほとんど油症の所見はみられなくなつた。

C 群、D 群の第 2 次投与は、22 M (第 1 次投与中止後 15 カ月目) から KC-400 を投与した。No. 19 は顕著な眼症状の増悪をみた。No. 18, No. 23 は軽度の所見を呈したが、No. 20 は明らかな眼症状を認めなかつた。

C 群、D 群では瞼板腺内容物の圧迫排出は No. 19 以外では継続してみられず、眼症状が最も重度となつたときに短期間みられたのみであつた。PCB の定量は No. 19 と第 2 次投与後の No. 18 の一時期にのみ行うことができた。No. 19 の PCB 濃度は図 12 に破線で示したが、12 M よりほぼ一定しており、第 2 次投与により軽度の上昇傾向がみられた。

C 群および D 群は、KC-400 投与群 (B 群) に比べ、眼症状の個体差が大きかつた。

b) カニクイザル

カニクイザル 4 匹 (No. 28, 29, 30, 31) の第 1 次投与は一日体重当り赤毛ザル第 1 次投与の倍量の KC-400 を短期間 (53 日間一実質投与日数 45 日) 投与した。その後 12 カ月間観察して KC-400+PCDF 混合物を第 2 次投与した。

カニクイザル群は赤毛ザル群に比べ、血液中 PCB 濃度の上昇が極めて軽度であることが指摘された (増田) が、眼症状も同様であつた。臨床所見は No. 28 のみ投与開始 20 日後の第 1 回観察時、軽度の瞼板腺腫大がみられ、瞼板腺圧迫排出物の PCB 定量が可能であつたが、他のサルはすべて眼症状がみられなかつた。ようやく 2 M に全例瞼板腺腫大が軽度から中等度認められるようになった。そして第 1 次投与終了後の観察期間には瞼板腺腫大が軽度認められるか、あるいは眼

症状をほとんど呈さない期間が続いた。第 2 次投与を開始した頃から瞼板腺腫大は顕著となり、眼瞼浮腫、結膜浮腫を呈するようになった。投与中止後、6 カ月間観察したが、眼症状は増悪、寛解をくり返して減じた。

カニクイザル群の瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度の推移は図 14 に示した。第 1 次 PCB 投与開始後 1～3 カ月以内に PCB 濃度の上昇がみられるが、その後は減じた。第 2 次投与により No. 30 にのみ上昇傾向がみられたが、No. 28 にみられるように 12 M 頃の上昇傾向もあつたのかもしれない。

c) 治療薬投与の効果

今回のサルの実験の主目的は 1% コレスチラミン、流動パラフィン、グルタチオン等の油症治療に有効性が期待される薬剤の効果判定であつた。各群において投与群と対照群を分けてその効果判定を試みたが、PCB の生体内動態の未解明、同一方法の投与によつても症状発現に個体差がみられることなどにより実験群としての判定は不可能であつた。しかし、個々のサルにみられた印象を記した。

イ) 1% コレスチラミンは赤毛ザル No. 16, No. 19 のように比較的早期に投与すると眼症状発現が増強されるようであつた。しかしカニクイザル群では明らかでなかつた。

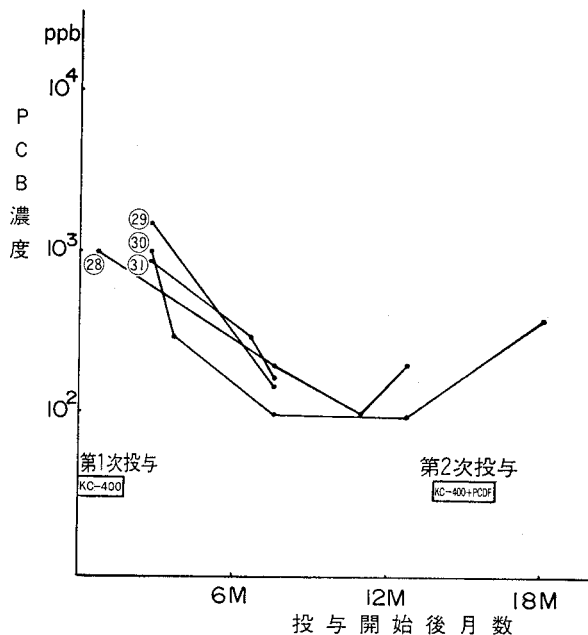


図 14 カニクイザルの瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度の推移 (各曲線の番号はサル No.)

ロ) 流動パラフィンはずかに No. 17, 20 に一時投与したが, 眼症状に変化はみられなかった。

ハ) グルタチオンは赤毛ザル第 3 次, カニクイザル第 2 次 (KC-400+PCDF) 投与後に投与したが, No. 16, No. 28 に関して症状の軽快がみられた。しかし, No. 21, No. 31 の対照群にも同様の傾向を認めた。

(4) 考 察

PCB の生体内動態は未解明の点が多く, 眼症状をおこす主因が瞼板腺角化嚢胞の形成にあることは明らかとなつた¹⁾が, PCB の瞼板腺に対する作用機序は不明である。しかし今回, PCB 中毒サルの瞼板腺内容物から血液中と比べて高濃度の PCB を繰り返し検出できたことは, 確実に PCB が瞼板腺に集まっていること, そのために瞼板腺が角化嚢胞を生じること, しかも PCB は角化嚢胞内容物中に排出されることなどを示して興味深い。

血液中 PCB 濃度は PCB 投与中止後徐々に低下していく (増田) が, 瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度の推移は血液とは異なり一様な低下は示さなかった。これは試料採取方法の違いにもよると考えられる。つまり瞼板腺に集まってくる PCB はそこに蓄積されて, 瞼板腺に変性を生じ, 角化嚢胞の内容物として排出されて初めて測定の試料となると考えられ, 蓄積という段階を要すると思われる。これは組織所見¹⁾でみられた瞼板腺角化嚢胞の形成過程からも推定される。すなわち PCB は瞼板腺に蓄積・濃縮されると考えられる。

臨床症状に関しては, 今回の実験から, PCB 摂取後比較的早期から眼症状を生じ, しかも長期間にわたり症状が継続することが明らかとなつた。しかも眼症状は一定せず増悪・寛解を繰り返しつつ軽減する例が多くみられたことは, PCB の瞼板腺への蓄積, 角化嚢胞の形成, そして内容物の蓄積という過程が大きく影響していると考えられた。

また PCB の追加投与が期待されるほど眼症状, 瞼板腺内容物中 PCB 濃度に影響を及ぼさなかったことは興味深いことであつた。さらにカニクイザルが赤毛ザルに比べて眼症状が出現しにくいという種差も認められた。

今回の薬剤投与による治療効果判定に関しては, 十分な回答は眼症状からも得られなかった。その主な原因は, PCB に対するサルの反応に大きな個体差があることにあつた。しかし眼症状が瞼板腺角化嚢胞の形成, 内容物の排出により惹き起こされると考えれば,

No. 16, 19 にみられた 1% コレスチラミンによる症状増悪は, PCB 排出が促進されたためとも考えられ, 有効であつたことになる。グルタチオンに関しては逆のことが考えられる。この点の判断は, 瞼板腺を生体からの PCB の排出路のひとつと考えるかという点にかかわってくる。結論としては, 印象による判断ではあるが, 1% コレスチラミン, グルタチオンは眼症状に何らかの影響を及ぼした可能性があつた。

(5) 小 括

赤毛ザルおよびカニクイザルに (KC-400, KC-400+PCDF, PCDF) を投与して, 眼症状, 瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度の推移を長期間にわたり観察・測定した。

a) KC-400 を投与した赤毛ザルは, 早期から眼症状は発現し, 投与中止後も長期間継続したが, 眼症状の増悪・寛解がしばしばみられた。また個体による症状の差がみられた。瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度は血液中の約 10 倍の高値を示し, 投与中止後 10 カ月頃に全例ピークがみられた。

b) KC-400 を投与したカニクイザルは, 赤毛ザルに比べて眼症状の発現が遅く, 軽症で, しかも投与中止後比較的すみやかに症状は軽減した。瞼板腺圧迫排出物中 PCB 濃度は投与開始後ただちに上昇, 投与中止にて下降した。

c) KC-400+PCDF, PCDF を投与した赤毛ザル (第 1 次投与) にも眼症状の発現はみられたが, PCDF 単独投与群はより軽症であつた。

d) PCB の追加投与による眼症状の増悪がみられたが, 第 1 次投与より軽度であることがわかつた。しかし PCB 濃度は再上昇がみられた。

e) 1% コレスチラミン, 流動パラフィン, グルタチオンの治療効果の判定は個体差が大きく困難であつた。

7. 実験的 PCB 中毒サルにおける口腔所見について (福山 宏, 赤峰昭文, 青野正男)

(1) はじめに

前回の予備的研究の目的は, ヒト油症の所見がサルの実験で再現されるかにあつた。この実験における口腔所見は, 臨床的には歯肉出血をともなつた歯肉炎や歯周炎の症状が示された。Subclinical には上皮組織に選択的に影響を与え, 過角化症や小さい角質嚢胞を多発させたり, 固有層内で角質融解を起こすことなどが観察された。さらにエナメル上皮の扁平化など, エナメル質の石灰化をはじめ, 歯根の変形や萌出との関係も考察した¹⁾。

今度の実験は KC-400 または KC-400+PCDF を投与後、蓄積した PCB の排泄促進を期し、コレステラミンやグルタチオンを投与した。

(2) 材料と方法

被検総数は表 7 の如く 5 匹である。赤毛ザル 3 匹、カニクイザル 2 匹ですべて雌である。実験に供したサルは、口腔内が比較的清潔で、歯列や歯式に異常のないものを選択した。観察は月 1 回として、口腔診査、口腔内写真撮影、特に上顎前歯部の辺縁歯周組織破壊の指標として、pocket depth の測定を行つた。種々の処置をみはからつて表 7 に示す時期において、図 15 に示す部位から菱形に歯肉を採取した。常法に従い、6 μm の連続パラフィン切片をつくり、ヘマトキシリン-エオシン染色で鏡検した。

実験群としては、表 7 に示すように、No. 16, No.

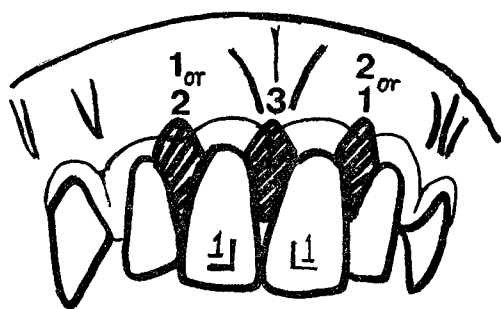


図 15. Biopsy の採取部位 (上顎前歯部)。数字は Biopsy の時期と相対する。

21 の赤毛ザル、および No. 28, No. 31 のカニクイザルを用いた。No. 16 と No. 28 には KC-400 長期投与後コレステラミン処置を行い、さらに 2 度目に KC-400+PCDF の投与を行つた後、グルタチオンあるいはグルタチオン+コレステラミン処置を行つた。No. 21 と No. 31 にはコレステラミン、グルタチオンのいずれの処置も行わず、これら治療薬の効果をみる対照とした。なお投与薬物の投与期間、投与量については表 1～4 を参照されたい。

KC-400, PCDF の投与を行わない対照として No. 27 の赤毛ザルを用いた。

(3) 実験結果

a) 肉眼的所見

No. 16: 歯面に歯垢・歯石の沈着と、付着歯肉にかけて歯周炎症状を示している。とくに歯間乳頭部歯肉の炎症が著しい。しかし各処置後、それらの変化は肉眼的には不明瞭である。ポケットの深さは約 1～1.5 mm 深くなるがグルタチオン処置で 1～2 mm 変化する部位もある。

No. 21: KC-400+PCDF 投与により、歯面に沈着した歯垢・歯石の量に大きな変化は認められないが、festoon 様に辺縁歯肉部から付着歯肉にかけて歯肉の腫脹をみる。その後の変化は不明瞭である。ポケットの深さは 0.5～1 mm 程処置により深くなる部位もあるが、3|13 を除くと正常の深さに回復する。

No. 27 (対照): 歯垢・歯石の沈着様式や量も他の群と比較して大差ない。歯間乳頭部歯肉の炎症性増殖

表 7. 実験経過と生検所見

サル番号	性別	種族	投与方法および Biopsy の時期			Biopsy 所見 (score)		
			1	2	3 回目	1	2	3 回目
16	F	RH	K 4 → CA → K 4 + PD → G-SH →			(1～2)	(2～3)	(0～1)
21	F	RH	K 4 → CA → K 4 + PD →			(2～3)	(3～4)	(1～2)
27	F	RH	対照 →			(0～2)	(0～2)	(0～2)
28	F	CE	K 4 → CA → K 4 + PD → G-SH + CA →			(1～3)	(2～4)	(1～2)
31	F	CE	K 4 → K 4 + PD →			(1)	(1～3)	(1～2)

略記号説明
 F : 雌
 RH : 赤毛ザル
 CE : カニクイザル
 K 4 : KC-400
 PD : PCDF

G-SH : グルタチオン
 CA : 1 % コレステラミン
 — : 継続投与
 : 投与中止経過観察

Grade: Normal → Score (0)
 I → (1)
 II { Slight → (2)
 Severe → (3)
 III → (4)
 IV → (5)

所見に, festoon 様歯肉の腫大が 2/2 にわたって著しく認められる。

ポケットの深さは観察期間内で 1 mm を上下し, 正常ないしやや病的なポケットの深さを呈していた。

No. 28: 他の群に比べ歯面への歯垢・歯石の沈着は著しく, 黄褐色に唇面歯冠の 1/2 を着色させている。歯周炎所見が継続し, festoon 様所見が明瞭化したり, 歯肉出血も認める。グルタチオンとコレステラミン投与後は, 歯肉出血は減少するが, その他の症状は著変を認めない。ポケットの深さは, KC-400+PCDF 投与により 0.5~3 mm の範囲でポケットの深下を認めるが, グルタチオンとコレステラミン投与により 0.5~3 mm の変化(回復)も認められる。

No. 31: 歯面への歯垢・歯石の沈着は, 他の群と大差なく, 主として辺縁部の歯肉炎が認められた。1/1 の festoon 様腫大が認められる。KC-400+PCDF 投与により, 歯肉色が白濁を帯び, 観察期, 後半には 2/2 の歯間乳頭部の炎症が著しくなった。ポケットの深さは KC-400+PCDF 投与により, 0.5~1 mm 程深くなるが, 逆に 0.5 mm 浅くなり正常に復する部位がある。しかし著しい変化はみられなかった。

b) 歯肉生検所見

予備的研究¹⁾の結果とをあわせ, 歯肉上皮の benign dyskeratosis を起こす過程と固有層への侵入所見より, その dyskeratosis の程度に Grade を付けて分類を試みた(図 16)。

Grade I は rete ridges の伸長と網眼形成(図 17), Grade II は rete ridges の先端や途中に dyskeratosis をともなうもの(図 18, 19)。Grade III は上皮内に幅広く dyskeratosis を認め, skin の毛根部類似構造や, 周囲の有棘細胞との間に acantholysis が起こり, また玉ネギ状角質球を形成したり(図 20, 21), 固有層内で keratocystic 変化を示すもの(図 22)。Grade IV は dyskeratosis 部の acantholysis と固有層内の keratocyst 形成と keratocyst 内容物の口腔内への排泄がみられる重篤な変化を示すもの。このような criteria を定めた。また Grade の各々をスコア化し, 正常所見を (0), Grade I を (1), Grade II を Slight と Severe にわけ, 各々

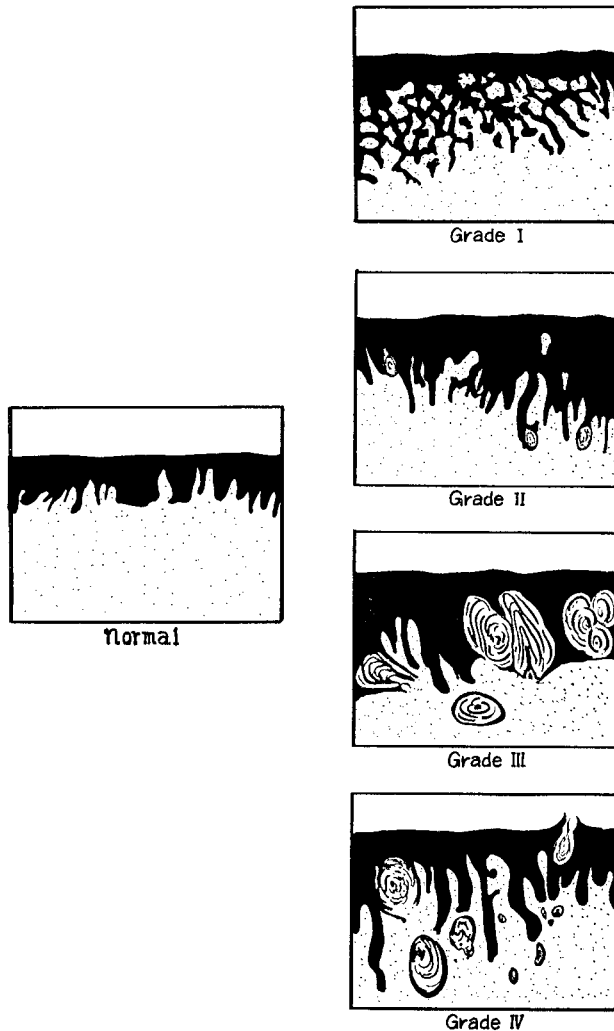


図 16. 歯肉上皮の PCB 投与で示す反応による重症度の分類

(2), (3) とした。Grade III を (4), Grade IV を (5) として, 歯肉の生検所見を評価し, 結果を示したものが表 7 である。

表 7 のように PCB に対する赤毛ザルとカニクイザルの感受性は Biopsy を含めた観察結果から差を求めることは困難である。PCB の自然排泄群と比べれば, グルタチオン投与群がスコアは低く, その効果はありそうにも思われるが, コレステラミンではその役割はほとんど有効か否かは不明である。結論として自然排泄群との劇的な差は見出し得なかった。今回の実験で興味深かったのは No. 27 の control 群にも軽度ながら dyskeratosis が認められ, 観察期間の後半の第 3 回目の生検所見は, 初回よりも Severe であ

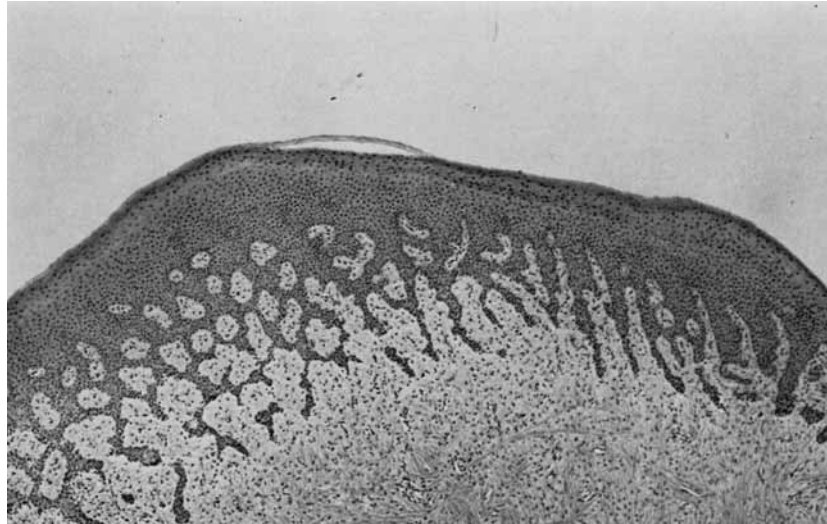


図 17



図 18

白矢印は **Dyskeratosis** を示す。

図 20 は、この部の強拡大。

つた。

(4) 考 察

KC-400 や **PCDF** が歯肉へ如何なる影響を及ぼすかに関する研究はこれまで極めて少ない。例えば油症の症状たる口腔内色素沈着の発現機構は、ほとんど未解決のままである。しかもそれらが生体に如何なる影響を与えるのかの診断基準もない。一つの疾患でその重症度を決定する際、通常自覚症状と他覚症状並びに臨床検査結果から、より客観的に判読して分類されて

いる。しかし油症にいたつては部分症状を中心にして分類されてはいるが²⁶⁾²⁷⁾、全身症状としての重症度は今日未だ分類されるに至っていない。

近年、眼科領域でも眼症状と血中 **PCB** 濃度が相関する²⁸⁾ と発表されて以来、とくにマイボーム腺の変化を病理組織学的に分類し、油症の重症度を評価する試みがなされつつある¹⁾。そこで著者らは口腔領域とくに歯肉粘膜上皮の **PCB** に対する反応について、図 16 に示すような **Grade** に分類が可能かを試みた。そ

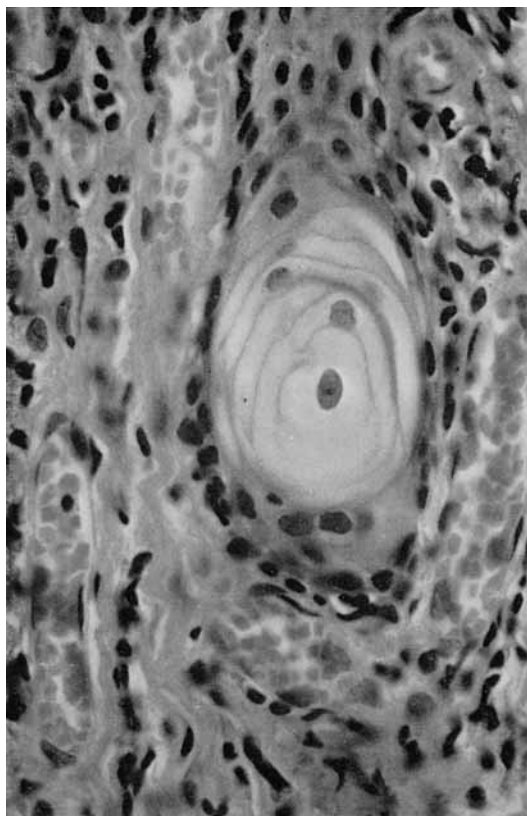


図 19

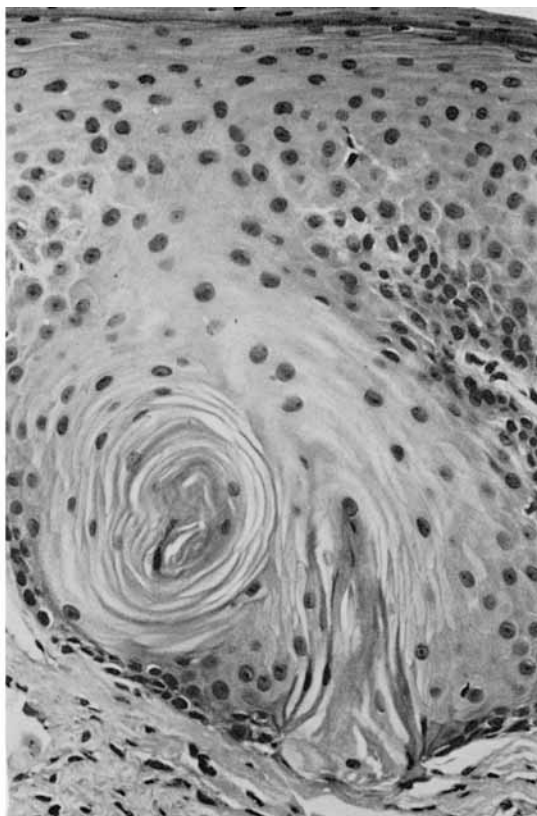


図 20

の結果、対照サルを含め僅か 5 例であるが歯肉の上皮の組織的变化が、血中 PCB 濃度の変動 (図 1, 2) に同調する印象を得た。

油症患者歯肉の Biopsy 所見についてはすでに筆者らにより報告されているが²⁹⁾、この所見は今回の分類 Grade II, Score (2~3) に相当する所見であった。

この分類が口腔粘膜のすべてに適用出来るか否かについては、著者らはまだ十分なものと考えていない。口腔粘膜はその機能によつて咀嚼、裏層、特殊粘膜の 3 群に区別され³⁰⁾³¹⁾、部位によつて上皮の構造 (例えば rete ridge の長さ、太さや数、角化の状態など) が、ヒトと同様にサルも異なっている³²⁾。したがつて、普遍化をするためには、実験動物の口腔粘膜に histometric analysis を行つて加味する必要があると考えている。上皮の反応様式は、PCB の粘膜面からの吸収経路³³⁾ における問題、排泄組織としての potency を含め、更に二次的刺激の modify 等を十分に考慮した分類の作成が望まれる。

今回の研究から早急に結論を出すことは控えるべき

で、グルタチオンとコレスチラミンの真の効果を追求するにはなお今後の研究に俟たねばならない。

(5) 小 括

今回の研究では、グルタチオンやコレスチラミンの効果については明確な所見は得られなかつた。歯肉の生検所見の評価にあたつて、組織変化の重症度を知る目的で独自の分類法を創案した。

この評価基準は組織変化の重症度を知るための一つの試みとして評価できる。

(6) 謝辞

稿を終るにあたり、本研究に協力いただいた九州歯科大学口腔病理学教室員一同に謝意を表します。

総 括

前回の予備的研究¹⁾に引き続き、サルを用いて PCB および PCDF の長期投与による毒性学的検討を行うと共に、今回新たにコレスチラミン、流動パラフィンおよびグルタチオンの 3 薬物について、治療薬としての可能性を検討した。前回の研究から、サルの

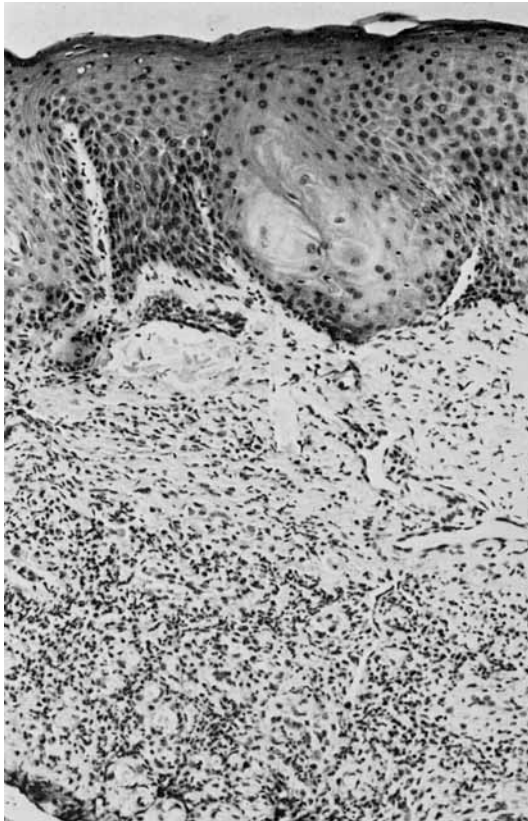


図 21

個体差が予想以上に著しく、結果を平均値として比較することに無理があることがわかったので、今回は可能な限り各個体について、PCB や PCDF 投与前後の変動、あるいは被検薬による処置の前後における変動を追求し、判定に資することとした。また、発症並びに治療効果の指標としては、体重、脱毛など一般的所見をはじめ、糞中、血中、および陰板腺圧迫排出物中 PCB レベル、血液生化学的所見、肝生検、眼科および歯科領域における臨床的所見などを用いた。

その結果、前回得られた発症に関する予備的結論、たとえば脱毛、陰板腺腫大などの外見的所見に加え、血清アルブミンの低下、トリグリセリドの上昇、貧血などの血液生化学的所見、さらには生検による肝細胞の微細構造の変化、陰板腺角化嚢胞の形成、歯肉上皮の過角化などを再確認した。そのほか、新たに歯肉上皮の生検において dyskeratosis の程度による分類がなされ、組織変化の重症度を知る興味ある試みも行われた。肝生検においても同一個体における PCB、PCDF の暴露に応じた電顕的、生化学的変化が観察



図 22

白矢印は keratocystic な箇所を示す。

され治療効果の有用な指標となることが結論された。また全体的に、KC-400 や PCDF の単独投与にくらべると、同レベルの投与量では KC-400+PCDF の混合投与の方が発症程度が強かった。

個体差については今回でも同様で、特に赤毛ザルはその入手難もあつて得られた 12 匹の体重に大きな差があり、年令的にもかなりの幅があるものと推定され、それだけに個体差もきわめて大きく群として取扱うことが困難であつた。この大きな個体差は血中 PCB の推移(図 1)からも明らかである。カニクイザルは今回はじめて使用したが、赤毛ザルにくらべて全般的に発症に対する反応が弱いと結論された。この原因については現在不明であるが、PCB の血中レベルがカニクイザルの方でより低いことから考えると、その代謝、排泄がより強く行われるのか、あるいは腸管吸収が特に低いものと推定される。この点も結論とするにはさらに追求さるべきである。一般的には、赤毛ザルにくらべカニクイザルの方が体重もほぼ一定で、個体差もより少いように見受けられ、今後は後者

による検討がより有効ではないかと考えられた。

各実験において述べられているように、今回の治療薬の検討は予備的研究に止まり、明確な結論を得るに至らなかった。体中の PCB 蓄積量を反映し最も定量的に中毒レベルを評価し得ると考えられた血中 PCB レベルも、大よその傾向を知ることは可能とはいいながら、細かく治療効果を追求するには、他の要因による変動が大きく、あまりよい指標とはならなかった。これに対し糞中への PCB 排泄は、微量とはいいながら体外への排泄ということでより直接的に評価しうるものと考えられる。しかし、今回の 3 被検薬については、一定条件下でごく限られた例数についてしか検討されておらず、結論とするには不十分である。

上記被検薬のうち、コレステラミンあるいはグルタチオンの処理により、所見によつては一部に有効な判定もなされたが、すべての所見について有効な例は見出されなかった。これらによる結論的な効果の有無については、なお引き続き検討を行う予定である。

(本研究は厚生省油症治療研究費にもとづき、九州大学油症治療研究班の共同研究の一環として実施されたものである。研究費を支弁された厚生省に対し厚く感謝する。)

文 献

- 1) 吉原新一, ほか: サルの PCB 中毒症に関する予備的研究. 福岡医誌 70: 135-171, 1979.
- 2) Tanaka, K. and Araki, Y.: Inhibitory effect of cholestyramine on the intestinal absorption of PCB. *Fukuoka Acta Med.* 65: 53-57, 1974.
- 3) Cohn, W. J., Boylan, J. J., Blanke, R. V., Fariss, M. W., Howell, J. R. and Guzelian, P. S.: Treatment of chlordecone (Kepone) toxicity with cholestyramine. Results of a controlled clinical trial. *New Eng. J. Med.* 298: 243-248, 1978.
- 4) Yoshimura, H. and Yamamoto, H.: A novel route of excretion of 2, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 13: 681-688, 1975.
- 5) Richter, E., Lay, J. P., Klein, W., Korte, F.: Paraffin-stimulated excretion of 2, 4, 6, 2', 4'-pentachlorobiphenyl-¹⁴C in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 50: 17-23, 1979.
- 6) 錦織浩治, 佐野健治, 佐渡卓朗: ラットにおける PCB 中毒と glutathione の影響について. 生化学 46: 651, 1974.
- 7) Kuroki, H., Masuda, Y., Yoshihara, S. and Yoshimura, H.: Accumulation of polychlorinated dibenzofurans in the livers of monkeys and rats. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 18: 387-392, 1980.
- 8) Barsotti, D. A., Marlar, R. J. and Allen, J. R.: Reproductive dysfunction in rhesus monkeys exposed to low levels of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1248). *Fd. Cosmet. Toxicol.* 14: 99-103, 1976.
- 9) 奥田 清: 多チャンネル化学分析装置-AGA Auto chemist. 総合臨床 21: 623-631, 1972.
- 10) 奥村 恂, 山中正義, 中牟田澄子, 鷗沢春生: 油症 (PCB 中毒) 患者における血清トリグリセライドの 6 年間の推移. 福岡医誌 66: 620-623, 1975.
- 11) 西原英徳, 山元寅男: 塩化ビフェニル (PCB) と肝滑面小胞体に関する電子顕微鏡的研究. 福岡医誌 63: 352-359, 1972.
- 12) Nishizumi, M.: Light and electron microscope study of chlorobiphenyl poisoning. *Arch. Environ. Health* 21: 620-632, 1970.
- 13) 山元寅男: 塩化ビフェニルと肝細胞滑面小胞体. 細胞生物学シンポジウム 21: 87-97, 1970.
- 14) 山元寅男: 小胞体 endoplasmic reticulum の構造と機能. 肝滑面小胞体 (解毒その他). 第 18 回日本医学会総会会誌 315-318, 1971.
- 15) Araki, Y. and Tanaka, K.: A simple screening method of enzyme-inducing agents of PCB type. 福岡医誌 65: 47-52, 1974.
- 16) 藤田節治, 辻 宏, 加藤敬太郎, 佐伯 清太郎, 塚元久雄: Biphenyl chloride 誘導体のラット肝ミクロゾームに与える影響. 福岡医誌 62: 30-34, 1971.
- 17) Jones, A. L. and Fawcett, D. W.: Hypertrophy of the agranular endoplasmic reticulum in hamster liver induced by phenobarbital (with review on the functions of this organelle in liver). *J. Histochem. Cytochem.* 14: 215-232, 1966.
- 18) 平山千里, 入佐俊武, 山元寅男: 油症患者肝臓の形態学的所見. 福岡医誌 60: 455-461, 1969.
- 19) 山元寅男, 西嶋壮夫, 今山修平, 藤田 守: PCB が肝臓, 肺, 末梢神経に及ぼす影響に関する電子顕微鏡的研究. 福岡医誌 70: 121-134, 1979.
- 20) Yamamoto, H., Yoshimura, H., Fujita, M. and Yamamoto, T.: Metabolic and toxicologic evaluation of 2, 3, 4, 3', 4'-pentachlorobiphenyl in rats and mice. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 24: 2168-2174, 1976.
- 21) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
- 22) Yoshimura, H., Yoshihara, S., Ozawa, N. and Miki, M.: Possible correlation between induction modes of hepatic enzymes by PCBs and their toxicity in rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 320: 179-192, 1979.

- 23) Yoshihara, S., Kawano, K., Nagata, K., Yoshimura, H., Kuroki, H. and Masuda, Y.: Toxicological assessment of PCDF. I. Relationship between inductive effects in hepatic enzymes and toxicities of pure PCDF congeners retained in Yusho patients. *J. Pharm. Dyn.* 3(4): S-5, 1980.
- 24) 生井 浩, 杉 健児, 宇賀茂三: 油症患者の眼症状 および 油症患者結膜の電子顕微鏡組織学的所見. 福岡医誌 60: 432-439, 1969.
- 25) 川城 巖, ほか: PCB の分析方法に関する研究. 食品衛生研究 22: 238-251, 1972.
- 26) 旭 正一, 幸田 弘, 利谷昭治: 昭和 48 年度 49 年度一斉検診における 油症皮膚重症度の変動と新しい皮膚重症度評価試案. 福岡医誌 66: 629-634, 1975.
- 27) 五島応安, 樋口謙太郎: 油症の皮膚科学的症候論. 福岡医誌 60: 409-431, 1969.
- 28) 大西克尚, 吉村健清: 油症検診受診者の血中 PCB と眼症状との関連について. 福岡医誌 68: 123-127, 1977.
- 29) 福山 宏, ほか: 油症患者における口腔病変の推移. 福岡医誌 70: 187-198, 1979.
- 30) Bhaskar, S. N.: Oral mucous membrane in Orban's oral histology and embryology. 8th ed. pp. 253-301, C. V. Mosby Comp., U. S. A., 1976.
- 31) Squier, C. A., Johnson, N. W. and Hopps, R. M.: Human oral mucosa. Black Well Scientific Pub, England, 1976.
- 32) Fleisch, L., Cleaton-Jones, P. and Austin, J. C.: Oral mucosa of the vervet monkey. *J. Period. Res.* 15: 444-452, 1980.
- 33) 鶴田 寛: 経皮吸収の機構について. 産業中毒に関連して. 医学のあゆみ 116: 71-79, 1981.

ヒトの血液中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

福岡県衛生公害センター

飯田 隆雄・芥野 岑男・高田 智

中村 周三・高橋 克己

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人

Polychlorinated Biphenyls and Polychlorinated Quaterphenyls in Human Blood

Takeo IIDA, Mineo KESHINO, Satoshi TAKATA,
Shuzo NAKAMURA and Katsumi TAKAHASHI

*Fukuoka Environmental Research Center, Mukaisano,
Dazaifu-machi, Chikushi-gun, Fukuoka, 818-01, Japan*

Yoshito MASUDA

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

The blood samples of 64 Yusho patients and 23 ordinary persons were analyzed for PCB and PCQ by gas chromatography. The results are as follows:

(1) The patients were classified into three types, i.e. A, B and C types, according to the peak pattern of PCB on the gas chromatogram in the manner of Masuda et al.. The average values of the PCB concentrations in the three types were 9.6, 4.7 and 2.6 ppb, respectively, and that of the ordinary persons was 2.9 ppb.

(2) The average value of the PCQ concentrations of the patients was 2.9 ppb in the A type, 2.0 ppb in the B type and 0.02 ppb in the C type, respectively.

On the other hand, that of the ordinary persons was 0.02 ppb.

In type A, it was 145 times higher than the ordinary persons and in type B it was 100 times higher, but the C type was similar to that of the ordinary persons.

It is concluded that the PCQ concentrations are closely related to the PCB concentrations and patterns in the blood.

The above findings suggest that the PCQ concentrations are a useful index to both the diagnosis of PCB poisoning and the follow-up survey of Yusho patients.

緒 言

最近、油症原因油のなかにポリ塩化ビフェニル (PCB)¹³⁾ やポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF)¹¹⁾ のほかに、ポリ塩化クアテルフェニル (PCQ) が PCB の 0.9~3.5 倍の高濃度で存在していることが報告されている⁹⁾¹⁰⁾。また、樫本らは油症発生後 10 年以上経過した現在も PCQ が油症患者の血液および臓器中に残留しており、特に、PCQ は健常者の血液では検出

されないことから、油症原因油を摂取したか否かの判定に有効であると報告している⁶⁾⁷⁾。

しかし、PCQ は PCB と比べて非常に低濃度ではあるが健常者の臓器からも見い出されているため⁹⁾、健常者の血液中にも PCQ が含有されている可能性が考えられる。したがって、健常者の血液中の PCQ 濃度を明らかにすることは血液中の PCQ 濃度を油症診断基準の一つとして採用する上において重要であると考えられる。

そこで、樫本の分析方法⁹⁾に準じて、健常者の血液についての分析の検討を行ったところ、その一部の試料からPCQを検出することができた。また油症検診受診者の血液についてもPCQの分析を行った。さらに、健常者および油症検診受診者の血液中PCB濃度も測定した。

その結果、いくつかの知見を得たのでご報告する。

材料および実験方法

1. 血 液

血液は、上腕部肘静脈からヘパリン入真空採血管中に10ml採取し、分析するまで冷蔵庫で保存。

(1) 油症検診受診者(受診者)血液: 1979年8月、11月および12月に、福岡県に在住する64名を対象とした。

(2) 健常者血液: 1979年8月および1980年6月に、福岡県に在住する23名を対象とした。

2. 試 薬

(1) ヘキサン: 和光純薬製残留農薬試験用300を1回蒸留。

(2) 水: 精製水をヘキサンで洗浄。

(3) ポリ塩化ビフェニル(PCB)標準品: カネクロール(KC-500 および KC-600)。

(4) ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)標準原液: 大阪府立公衆衛生研究所食品化学課長樫本隆博士から供与されたもの。

(5) 18塩化クアテルフェニル(ODCQ)標準溶液: PCQ標準溶液を完全塩素化して調製。

(6) シリカゲル: 和光純薬製ワコーゲルS-1を篩過し、その100メッシュ以下を取り、130°で4時間活性化。

(7) フロリジル: フロリジン製カラムクロマトグラフィー用(60~100メッシュ)を130°で16時間活性化し、標準品でPCBおよびPCQの分離状態を確認して用いた。

(8) アルミナ: メルク製カラムクロマトグラフィー用(中性、活性度I, 70~130メッシュ)を130°で16時間活性化。

(9) その他の試薬は残留農薬試験用, PCB用または試薬特級を用いた。

3. ガスクロマトグラフィー(GC)の装置および測定条件

(1) PCB: 装置は⁶³Niの電子捕獲型検出器(⁶³Ni-ECO)付島津GC-6A型を用い、以下の測定条件で使用した。カラムは2%SE-30をクロモソルブ

WAW DMCS(80~100メッシュ)にコーティングし、ガラスカラム(2m×3mm i.d.)に充填したものをを用い、カラム温度を215°に保った。

(2) PCQ および ODCQ: 装置は⁶³Ni-ECD付柳本G-800型を用い、以下の測定条件で使用した。カラムは1%OV-210をガスクロムQ(100~120メッシュ)にコーティングし、ガラスカラム(1m×2mm i.d.)に充填したものをを用い、カラム温度を260°に保った。

4. 標準溶液および検量線の作成

(1) PCB: KC-500 および KC-600 を同量ずつとり、ヘキサンをを用いて100μg/mlのPCB標準原液を調製した。この標準原液をヘキサンで0.02~0.1μg/mlになるように希釈して、標準溶液とした。検量線は標準溶液をガスクロマトグラフに注入し、p,p'-DDEより保持時間の長いピーク高の総和から作成した。

(2) PCQ: 樫本隆博士から供与されたPCQ標準原液(1μg/ml)をヘキサンで0.04~0.1μg/mlになるように希釈して、標準溶液を調製した。検量線は、標準溶液をガスクロマトグラフに注入し、ピーク高から作成した。

(3) ODCQ: 水10mlに0.1μg/mlのPCQ標準溶液を加え、PCQの全分析操作(6.(2)a)~e)を参照)を行い、PCQで0.02μg/mlに相当するODCQ標準原液を調製した。この標準原液をヘキサンで希釈し、PCQ濃度で0.01μg/mlおよび0.004μg/mlに相当するODCQ標準溶液を調製した。検量線は、標準原液および標準溶液をガスクロマトグラフに注入し、3つのピーク面積の総和から作成した。

5. フロリジルの活性度の検定

内径10mmのクロマト管にフロリジル10gを湿式で充填し、カラムの上端にPCBとPCQの標準溶液をのせ、ヘキサン80mlおよび5%エチルエーテル・ヘキサン80mlを用いて溶出させ、それぞれの画分について溶出液を10mlずつ分取し、PCBは4.(1)の検量線で、また、PCQは4.(2)の検量線を用いてそれぞれの定量を行い、分離状態および回収率を調べた。

6. 分析方法

(1) シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いた血液中PCBの分析(シリカゲルカラム法): 増田らの方法⁹⁾に従ってPCBを分析した。すなわち、血液10gにエタノール20mlと水酸化カリウム4gを加え、1時間加熱還流し、アルカリ分解した。冷後、ヘ

キサン 20 ml ずつ 3 回抽出し、ヘキサン抽出液を合し、水 50 ml ずつ 3 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。内径 10 mm のクロマト管にシリカゲル 2 g を湿式で充填し、これにヘキサン抽出液を注入し、さらに、ヘキサン 100 ml で溶出させた。溶出液をクデルナ・ダニッシュ型 (KD) 濃縮器で約 5 ml とし、さらに、減圧下デシケーター中で 1 ml まで濃縮した。これに 10 % 発煙硫酸 1 ml を加え、混和後、15 分間 2000 rpm で遠心分離し、上澄液をとり GC 用試験液とした。試験液をガスクロマトグラフに注入し、4. (1) の検量線から PCB 濃度を求めた。

(2) フロリジルカラムクロマトグラフィーを用いた血液中 PCB および PCQ の分析 (フロリジルカラム法): 極本の方法⁸⁾ に準じて次のとおり行つた。

a) アルカリ分解: 血液 10 g について、6. (1) シリカゲルカラム法と同様な方法でアルカリ分解し、得られたヘキサン抽出液を KD 濃縮器で約 5 ml に濃縮した。

b) フロリジルカラムクロマトグラフィーによる PCB と PCQ の分離と精製: 内径 10 mm のクロマト管にフロリジル 10 g を湿式で充填し、このカラムの上端にヘキサン濃縮液をのせ、PCB をヘキサン 80 ml で、また、PCQ を 5 % エチルエーテル・ヘキサン 80 ml で溶出させた。

c) GC による PCB の定量: 6. (2) b) で得られたヘキサン溶出液を 6. (1) シリカゲルカラム法と同様に濃縮し、発煙硫酸を加え、混和後、遠心分離し、その上澄液を GC 用試験液とした。試験液をガスクロマトグラフに注入し、4. (1) の検量線から PCB 濃度を求めた。

d) PCQ の完全塩素化: 6. (2) b) で得られた 5 % エチルエーテル・ヘキサン溶出液を 6. (1) シリカゲルカラム法と同様に、濃縮し、発煙硫酸を加え、混和後、遠心分離し、その上澄液をとり、さらに発煙硫酸層をヘキサン 1 ml ずつ 2 回洗い、洗液は上澄液に合し、アンプル (10 mm×100 mm) に注入し、減圧下デシケーター中で溶媒を完全に留去した。これに五塩化アンチモン 0.5 ml を加え、上端を封管し、200 ~ 210° で 4 時間加熱し、放冷後、開封し、反応物を 20 % 塩酸 10 ml で洗い出した。これをヘキサン 30 ml ずつ 3 回抽出し、抽出液を合し、水 20 ml ずつ 2 回、10 % 炭酸水素ナトリウム 20 ml で 1 回、水 20 ml ずつ 2 回洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、KD 濃縮器で約 5 ml とした。

e) GC による PCQ の定量: 内径 10 mm のクロ

マト管にアルミナ 5 g を湿式で充填し、このカラムの上端に 6. (2) d) で得られた濃縮液をのせ、2 % ジクロロメタン・ヘキサン 30 ml で ODCQ を溶出させ、溶出液を KD 濃縮器で約 5 ml とし、さらに、減圧下デシケーター中で溶媒を完全に留去し、これにヘキサンを加えて 0.05 ~ 5 ml とし、GC 用試験液とした。なお、試薬ブランクの GC 用試験液はヘキサンを加えて 0.05 ml に調製した。試験液をガスクロマトグラフに注入し、4. (3) の検量線から PCQ 濃度を求めた。

結果および考察

1. PCB 分析におけるシリカゲルカラム法とフロリジルカラム法の比較検討

PCB の分析において、カラムクロマトグラフィーは分析試料から PCB を分離、精製する方法として利用され、一般的に、その充填剤として、シリカゲル、フロリジル、アルミナが用いられている¹²⁾。

著者らは、従来から、油症検診時の血液中 PCB の分析はシリカゲルカラム法で行い、数多くのデータを蓄積している⁴⁾⁹⁾。

そこで、シリカゲルカラム法とフロリジルカラム法との 2 つの方法で、受診者 5 名および健康者 5 名の計 10 名の血液中の PCB を分析し、PCB 濃度並びに阿部の方法¹⁾ に従ってガスクロマトグラムのピークパターン (PCB パターン) に差異があるかどうかを検討した。その結果を Table 1 に示す。これから明らかに、2 つの方法で得られた PCB 濃度並びに PCB パターンはともに良く一致しており、従来からのデータと相互に比較可能なことがわかった。

2. フロリジルカラムクロマトグラフィーによる PCB と PCQ の分離および回収率の検討

PCB と PCQ がフロリジルカラムクロマトグラフィーによつて分離されることが報告されている⁸⁾⁹⁾。

そこで、まず、PCB と PCQ との分離および回収率を検討するために、クロマト管の内径およびフロリジルの量が異なるカラムを調製した。すなわち、内径 10 mm のクロマト管にフロリジル 5, 7 および 10 g を、並びに、内径 15 mm のクロマト管にフロリジル 7 および 10 g を湿式で充填した 5 種類のカラムを用いた。これらのカラムの上端に PCB と PCQ の標準溶液をのせ、溶離液としてヘキサンおよび 5 % エチルエーテル・ヘキサン各 80 ml を用いて溶出させた。溶出液は 10 ml ずつ分取し、それぞれの画分について GC で PCB と PCQ を定量した。その結果、5 種

Table 1. Comparison of two analytical methods for the PCB concentrations and PCB peak patterns on gas chromatogram

Group	No.	PCB concentration (ppb)		PCB peak pattern* (%)					
		A	B	1/2		3/2		5/2	
				A	B	A	B	A	B
Yusho patients	1	17.0	15.6	7.2	8.3	85.3	87.5	39.0	39.9
	2	8.8	8.9	5.3	5.8	112.4	109.1	59.4	57.7
	3	14.4	11.8	9.9	8.9	127.4	122.0	58.9	59.5
	4	9.0	9.4	13.5	12.6	110.3	113.2	59.7	56.9
	5	12.3	9.6	31.2	30.1	125.3	121.4	78.0	70.0
Ordinary persons	1	1.9	1.7	45.9	47.2	61.1	60.4	12.5	11.1
	2	3.4	4.1	48.6	49.5	63.4	66.0	14.6	14.6
	3	2.0	1.8	58.3	57.9	57.1	59.2	14.3	14.1
	4	3.6	3.6	47.7	46.3	65.8	67.2	13.2	13.8
	5	2.0	2.4	44.9	43.5	62.2	61.5	13.3	12.9

* 1/2, 3/2 and 5/2 means the relative height of peak 1, peak 3 and peak vs. peak 2 on gas chromatogram of PCB in blood, respectively¹⁾.

A: Analytical method by silicagel column chromatography.

B: Analytical method by Florisil column chromatography.

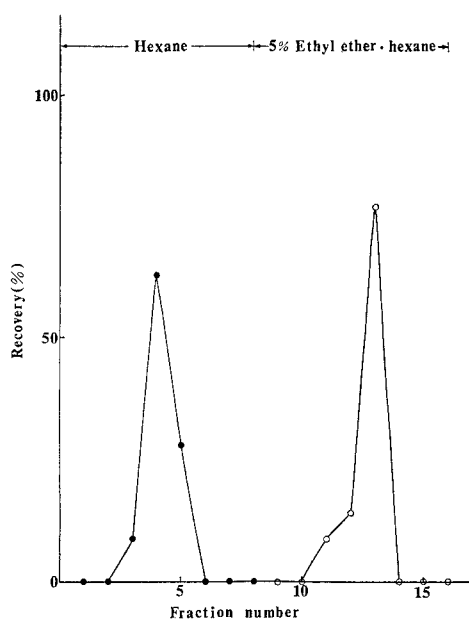


Fig. 1. Elution pattern of PCB and PCQ on Florisil column

—●— PCB (KC-500+KC-600, 1:1)

—○— PCQ (isolated from the KC-400 used as thermotransfer medium)

類のカラムのうち、PCBとPCQの分離および回収率が最も良好であったのは、内径10mmのクロマト管にフロリジル10gを充填したカラムであった。こ

のカラムによるPCBとPCQの溶出パターンをFig. 1に示す。この図から明らかなように、このロットのフロリジルを用いた場合、PCBはヘキサン画分に、また、PCQは5%エチルエーテル・ヘキサン画分に分離され、両者の回収率はいずれも95%以上であった。

しかし、フロリジルの活性は、ロットによつて一定でなく、また、わずかの実験条件の相違によつて、溶出パターンが変動することがわかっている²⁾。そのために、フロリジルは、常にPCBとPCQの分離および回収率を確認して使用した。

3. GCによるPCQ濃度の定量限界値

PCQ標準液、受診者のうち典型的な油症患者および健常者のODCQ並びに試薬ブランクのガスクロマトグラムをFig. 2に示す。これらのうち、油症患者、健常者および試薬ブランクのGC用試験液は、それぞれ、2, 0.05, 0.05 mlである。Fig. 2からわかるように、PCQ標準溶液(A)、油症患者(B)、および健常者(C)では、それぞれ8, 10, 15.5分に共通して3本のピークが認められた。また、試薬ブランク(D)では、ODCQのピークと重なる10.5と16.5分に2本のピークが存在し、これは健常者の血液のような低濃度の場合には妨害となるものと考えられる。

そこで、試薬からの妨害ピークの除去を検討した。

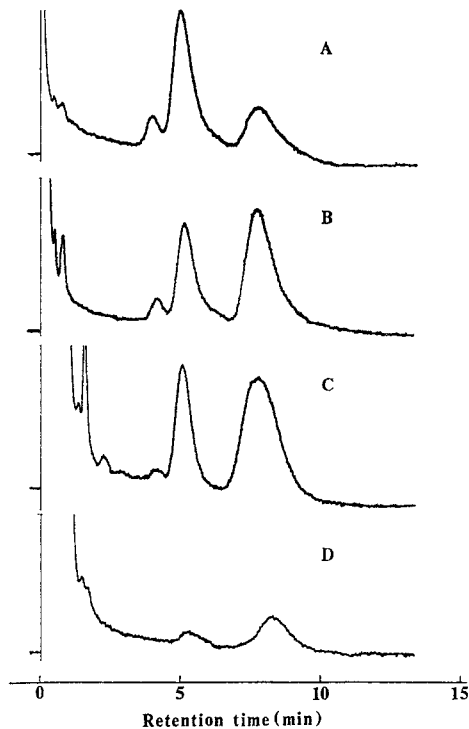


Fig. 2. Gas chromatograms of octadecachloroquaterphenyl (ODCQ) and reagents blank

- A: KC-400 used as a thermotransfer medium
 B: Blood from a typical Yusho patient
 C: Blood from an ordinary person, who is the highest on PCQ concentration
 D: Reagents blank

すなわち、無水硫酸ナトリウムなどをヘキサンで洗浄し、また、フロリジルカラムクロマトグラフィーのPCQ画分の濃縮液について、発煙硫酸で精製した。

その結果、試薬に起因する妨害をある程度減少させることができた。

次に、定量値に与える試薬からの影響を明らかにするため、血液のかわりに水 10 ml を用いて試薬ブランクテストを 6 回繰り返した結果、妨害ピークの面積は PCQ 濃度として 0.00~0.016 ppb の値を示し、平均値は 0.01 ppb に相当した。このことから、定量限界値は試薬ブランクの平均値の 2 倍である 0.02 ppb とした。

4. PCB および PCQ 濃度について

受診者 64 名を、PCB パターンに基づいて¹⁰⁾、A タイプ 31 名、B タイプ 4 名および C タイプ 29 名に分類した。Table 2 に、受診者全体、受診者の A、B、C タイプおよび健常者における血液中 PCB、PCQ の濃度範囲とその平均値を示す。

(1) PCB 濃度：受診者全体および健常者の平均値はそれぞれ 6.1、2.9 ppb で、前者は後者の約 2 倍の値を示した。また A および B タイプの平均値はそれぞれ 9.6、4.7 ppb で、これらは健常者の約 3 倍、約 2 倍であった。一方、C タイプの平均値は健常者と同程度であった。受診者の各タイプと健常者との間で平均値の差の検定を行つたところ、A タイプでは危険率 0.1% 以下で有意な差が認められたが、B および C タイプでは有意な差は認められなかった。

(2) PCQ 濃度：受診者全体および健常者の平均値はそれぞれ 1.5、0.02 ppb で、前者は後者の 75 倍という高い値を示した。また、A および B タイプの平均値はそれぞれ 2.9、2.0 ppb で、これらは健常者の 145 倍、100 倍であった。一方、C タイプの平均値は健常者と同程度であった。受診者の各タイプと健常者との間で平均値の差の検定を行つたところ、PCB の場合と同様に、A タイプでは危険率 0.1% 以下で有意

Table 2. PCB and PCQ concentrations in the blood of Yusho patients and ordinary persons (ppb)

Group	n	PCB concentration		PCQ concentration		
		Range	Mean $\pm$ SD ^a	Range	Mean $\pm$ SD	
Yusho patients	A + B + C	64	0.7—30	6.1 $\pm$ 5.8	ND ^b —10	1.5 $\pm$ 2.7
	A	31	3 —30	9.6 $\pm$ 6.4 ^c	0.6 —10	2.9 $\pm$ 2.3 ^c
	B	4	0.9—12	4.7 $\pm$ 5.2	0.02 — 7.1	2.0 $\pm$ 3.4
	C	29	0.7— 5	2.6 $\pm$ 1.1	ND — 0.09	0.02 $\pm$ 0.03
Ordinary persons	23	1 — 5	2.9 $\pm$ 1.0	ND — 0.1	0.02 $\pm$ 0.03	

a) Standard deviation.

b) <0.02 .

c) Significantly different from the ordinary persons, $p < 0.001$.

な差が認められたが、BおよびCタイプでは有意な差が認められなかった。なお、Bタイプは健常者の100倍の値を示しながら、有意な差が認められなかったのは、Bタイプの例数が4例と少なく、また濃度のばらつきが大きかったためと考えられる。

(3) PCBとPCQの濃度分布：今回測定した受診者64名および健常者23名の分析値について、PCB濃度を横軸に、PCQ濃度の対数を縦軸にとり、PCBとPCQの関係をFig. 3に示す。この図から明らかなように、健常者と受診者を比較すると、PCBの場合はかなり重なり合っていることがわかる。しかし、PCQの場合、受診者のCタイプは健常者と重なり合っているが、AおよびBタイプの受診者は健常者とはつきりと分離していることがわかった。すなわち、健常者およびCタイプのPCQ濃度はすべて0.1 ppb以下であるのに対して、AおよびBタイプの濃度は、Bタイプの1例を除き、0.3 ppb以上であり、AおよびBタイプは健常者およびCタイプに比較して高い濃度であった。

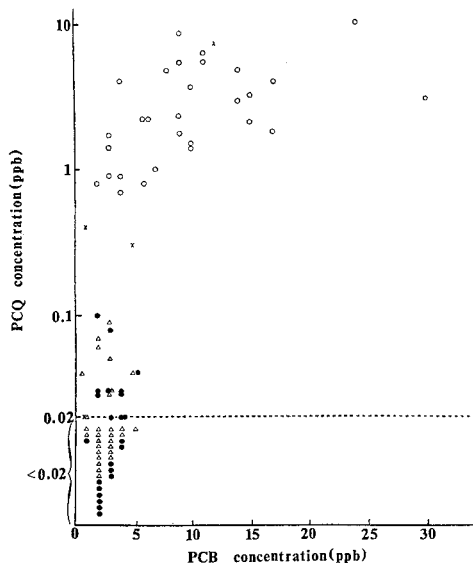


Fig. 3. Distribution of the PCB and PCQ concentrations in the blood

- : A type of Yusho patients
- ×: B type of Yusho patients
- △: C type of Yusho patients
- : Ordinary persons

以上のことから、油症発生以来10年以上経過し、血液中PCBパターンにおいて油症の特異性が失なわれつつある現在、血液中PCQ濃度は現行の油症診断基準を補うものと考えられる。

総 括

油症検診受診者64名および健常者23名の血液についてPCBおよびPCQを分析した。

血液中のPCB濃度の平均値は受診者のA, B, Cタイプでそれぞれ9.6, 4.7, 2.6 ppbであった。一方、健常者では2.9 ppbであった。

血液中のPCQ濃度の平均値は受診者のA, B, Cタイプでそれぞれ2.9, 2.0, 0.02 ppbであった。受診者と健常者の血液中PCQ濃度を比較するとAタイプは健常者の145倍、Bタイプは100倍であり、Cタイプは健常者と同程度の値であった。

以上から、PCQ濃度は血液中PCBパターンによるタイプと密接な関係にあり、血液中のPCQ濃度の分析は、油症の診断および患者の追跡調査に有用であると考えられる。

本研究を実施するにあたり、終始懇切なる御指導並びに発表の機会を与えて下さいました福岡県衛生公害センター猿田南海雄所長に心からお礼申し上げます。

本研究に対し、深い理解を賜わった添田保健所篠原蔵所長並びに当所保健科学部中村幸男部長に心から感謝の意を表します。

また、標準試料を供与していただきました大阪府立公衆衛生研究所食品化学課榎本隆課長並びに本研究に協力された当所上和田幸子専門研究員に心から感謝します。

さらに、血液試料を提供して下さいました福岡県衛生部および当所の職員の方々に感謝します。

なお、本研究は厚生省昭和54年度油症治療研究費の援助を受けて行われたものであり、ここに記して謝意を表します。

文 献

- 1) 阿部純子：油症患者と健常者の血漿中ポリ塩化ビフェニール(PCB)に関する研究。日衛誌, 31: 662-678, 1977.
- 2) 千葉幹雄：“PCB汚染とその分析法,” p. 130-134, ラテイス, 東京, 1973.
- 3) 福島成彦, 宮田秀明, 榎本 隆：人体および魚介類中のPCBの検出。日本食品衛生学会第40回学術講演会, 長野, 1980年10月.
- 4) 飯田隆雄, 篠原志郎：ヒト血液中PCBの性状に関する統計解析について。第22回福岡県公衆衛生学会, 福岡, 1975年5月.
- 5) Kamps, L. R., Trotter, W. J., Young, S. J., Carson, L. J., Roach, J. A. G., Sphon, J. A., Tanner, J. T. and McMahon, B.: Polychlorinated quaterphenyls identified in rice oil associated with Japanese “Yusho” poisoning. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 20: 589-591, 1978.

- 6) 樫本 隆, 宮田秀明, 国田信治: 油症患者中の PCB 関連物質について. 第 38 回日本公衆衛生学会総会, 新潟, 1979 年 10 月.
- 7) 樫本 隆: 油症患者, 健常者および職業的 PCB 汚染者組織中の PCB 関連物質. 全国油症班会議, 福岡, 1979 年 6 月.
- 8) 樫本 隆: 油症患者および健常者血液中の PCB, PCQ 濃度. 全国油症班会議, 福岡, 1979 年 6 月.
- 9) 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.
- 10) Miyata, H., Murakami, Y. and Kashimoto, T.: Investigation on polychlorinated quaterphenyl in Kanemi rice oils caused the "Yusho". J. Food Hyg. Soc., 19: 233-235, 1978.
- 11) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oils used by patients with Yusho. Fukuoka Acta Med., 66: 593-599, 1975.
- 12) 竹下隆三, 武田明治, 土屋悦輝: "環境汚染分析法 9 巻, PCB," 山県登, 大喜多敏一編, p. 80-83, 大日本図書, 東京, 1973.
- 13) 塚元久雄ほか 33 人: 油症患者が使用したライスオイル中の有害物質の化学的検索. 福岡医誌 60: 496-512, 1969.

油症患者における血中 PCQ レベルと PCB パターンの関連について

久留米大学医学部環境衛生学教室

高松 誠・沖 真理子・前田 勝義

大阪府立公衆衛生研究所食品化学課

樫 本 隆

Relations Between PCQ Level and PCB Pattern in the Blood of Yusho Patients

Makoto TAKAMATSU, Mariko OKI
and Katsuyoshi MAEDA

*Department of Environmental Health, Kurume University
School of Medicine, Kurume*

Takashi KASHIMOTO

Osaka Prefectural Institute of Public Health, Osaka

PCB and PCQ levels in the blood of the following subjects were analysed: 1) Yusho subjects in Kyushu who had been compensated or have not been compensated (N=84), 2) ordinary subjects in Kyushu (N=28), and 3) Yusho patients in Taiwan (N=3).

The obtained results are as follows:

1) The Yusho subjects with the PCB pattern of Type A showed statistically high PCB level in comparison with the ordinary subjects.

2) Percentage of the subjects who showed the PCQ level higher than the detection limit (=0.02 ppb) was 100% for the Yusho subjects with the PCB pattern of Type A, 94% for those with Type B, 31% for those with Type C, and 0% for the ordinary subjects. PCQ level seems to accord with the PCB patterns.

3) The Yusho subjects who showed the PCQ level higher than the detection limit were 59 in total, but 14 of them have not been compensated.

4) The Yusho patients in Taiwan showed the high PCB level of 48 to 78 ppb and the PCQ level of 10.2 to 11.8 ppb.

Based on the results, the significances of PCQ level and PCB pattern in tracing the contaminated Kanemi rice oil ingested were discussed.

緒 言

油症患者と健常者の血中 PCB レベルやそのガスクロマトグラムの特徴を検討し、そのパターンの A, B, C 分類の有効性について増田⁵⁾, 高松⁶⁾, らが報告してから 7 年を経た。しかし油症発生後、時がたつにつれ PCB の摂取、代謝、排泄などの関係から血中 PCB 組成に変化がみられ¹⁾⁸⁾, PCB のガスクロマト

グラムによる A, B, C パターンの有効性に問題が生じつつあるのが現状である。

そこで樫本³⁾が油症患者の血中に検出した PCQ が油症患者に特異的なものであるかどうかを明らかにする目的で、著者らは油症原因油摂取地域の長崎県五島を訪れ、健康調査と採血を行った。この血液は大阪府公衆衛生研究所で分析され、一方筑後地区の油症患者と健常者の血液については久留米大学環境衛生学教

室で分析が行われた。この結果より油症原因油摂取の指標としての PCQ の意義について興味ある知見を得た。

さらに著者らは 1979 年に台湾で発生した油症事件の現地を視察し、そこで採血した油症原因油摂取後間もない患者の血液分析結果と現時点における日本の油症患者のそれとの比較検討も行ったので報告する。

対 象 と 方 法

1. 対象

下記の対象から得た血液の分析が行われた。

- a) 福岡県 油症一斉検診の受診者 46 名 (採血: 1979 年 11 月)
- b) 健康者として筑後地区住民 18 名 (採血: 1979 年 11 月)
- c) 長崎県五島で行った油症検診の受診者 38 名 (採血: 1979 年 7 月)
- d) 長崎県五島の健康者 10 名 (採血: 1979 年 7 月)
- e) 台湾省台中の油症患者 3 名 (採血: 1980 年 7 月)

2. PCB および PCQ の分析方法

PCB および PCQ の分析方法は榎本ら⁴⁾の方法によった。

血液約 10 g を試料としてアルカリ分解し、n-ヘキサンで抽出後、130°C で活性化した 6 g のフロリジルのカラムクロマトグラフィーにかけ、n-ヘキサン 60~65 ml を PCB 分画、4%ジエチルエーテル・n-ヘキサン 45 ml を PCQ 分画とした。PCQ 分画は分析感度および精度を高めるために 5 塩化アンチモン 0.5 ml で完全塩素化を行った。さらに clean-up のため 5 g のアルミナのカラムクロマトグラフィーにかけ、2%ジクロロメタン・n-ヘキサン 45~50 ml を ODCQ 分画 (Octadeca-chlorinated Quaterphenyl) とした。PCB および ODCQ 分画は適当量に濃縮した後、ECD 付ガスクロマトグラフ分析に供した。

PCB の定量は対象 a) と b) はカネクロール 500 + 600 (1:1) を標準物質としてピーク高の和による方法により、対象 c)~e) は鶴川ら²⁾の数値化法に基づいて行った。PCQ の定量は ODCQ の 3 つのピークの総面積による検量線法に基づいて行った。

ガスクロマトグラフは ⁶³Ni-ECD 付きの島津 GC-4BM, 島津 GC-6A および Varian Aerograph 2100 を使用した。PCB 分析のカラムには、1.5% SE-30

on Chromosorb WAW DMCS および 2% OV-1 on Gas Chrom Q を 2 m のガラスカラムに充填したものを用い、PCQ 分析には、2% OV-210 on Gas Chrom Q を 38 cm および 50 cm のガラスカラムに充填したものを用いた。

Fig. 3. の GC 条件は下記の通りである。

GC: Varian Aerograph 2100

充填剤: 2%OV-1 on Gas Chrom Q

カラム: 2 m×2 mm glass column

カラム温度: 182°C

検出器温度: 295°C

キャリアーガス: N₂, 40 ml/min

結 果 と 考 察

1. PCB ガスクロマトグラムのパターンと PCB について

筑後地区の PCB 値の分析結果は Table 1 の左側に示した通りである。PCB 値については認定患者 31 名のうち A タイプを示す 11 例は 1.0 から 14.3 ppb の間に分布し、B または C タイプを示す 20 例は 1.1 から 6.1 ppb の間に分布し、両者の間には有意差が認められた ($P < 0.05$)。しかし B または C タイプを示す認定患者と B または C タイプを示す未認定者および健康者の PCB 値はほぼ同じレベルであった。

次に PCQ 値についてみると Table 1 の右側に示したように A タイプを示す者では全例から PCQ が検出され、0.09~5.85 ppb の範囲であった。しかし健康者 18 名の PCQ 値は全例検出限界 (=0.02 ppb) 以下であった。B または C タイプを示す認定患者ではその半数以上に PCQ が検出され、未認定者からも検出されている。

次に健康者を含めた筑後地区の 64 名について PCB パターンと PCQ レベルとの関連を Fig. 1 に示した。A タイプを示す者では PCQ 値が 0.02 ppb 以上の者が 100% であり、B タイプを示す者では 86%、C タイプを示す者では 29%、健康者では 0% であった。

同様に PCB パターンと PCQ レベルとの関連を五島の被検者についてみると Fig. 2 の通りであり、筑後地区と同じ傾向が見られた。筑後地区の結果と五島の結果を合わせると、A タイプの者では 100% の者に、B タイプの者では 94% の者に、C タイプの者では 31% の者に PCQ が認められ、健康者では 28 名全員が検出限界 (=0.02 ppb) 以下であった。

また Fig. 1, 2 について認定患者と未認定者を比

Table 1. PCB and PCQ levels in the blood of Yusho subjects and ordinary subjects in Chikugo district.

Subjects	N	PCB level(ppb)		PCQ level(ppb) and its distribution					
		Range	Mean±S.D.	Range	N.D.	0.02 —0.10	0.11 —1.00	1.00>	
Compensated Yusho subjects	Type A	11	1.0—14.3	6.2±4.9	0.09—5.85	0	1	4	6
	Type B or C	20	1.1—6.1	2.7±1.4	N.D.—0.42	9	5	6	0
Non-compensated Yusho subjects	Type A	0	—	—	—	—	—	—	—
	Type B or C	15	0.9—5.2	2.9±1.3	N.D.—0.63	12	1	2	0
Ordinary subjects	18	2.0—5.8	3.3±1.2	N.D.	18	0	0	0	0

(N.D.: <0.02)

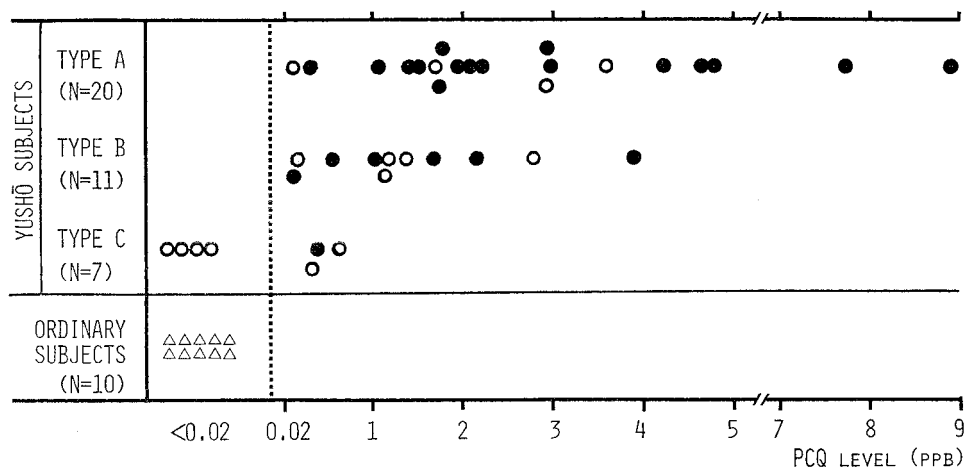


Fig. 1. Relationship between PCB patterns and PCQ level of the subjects in Chikugo district.

Black circle: Compensated Yusho subject
 Open circle: Non-compensated Yusho subject

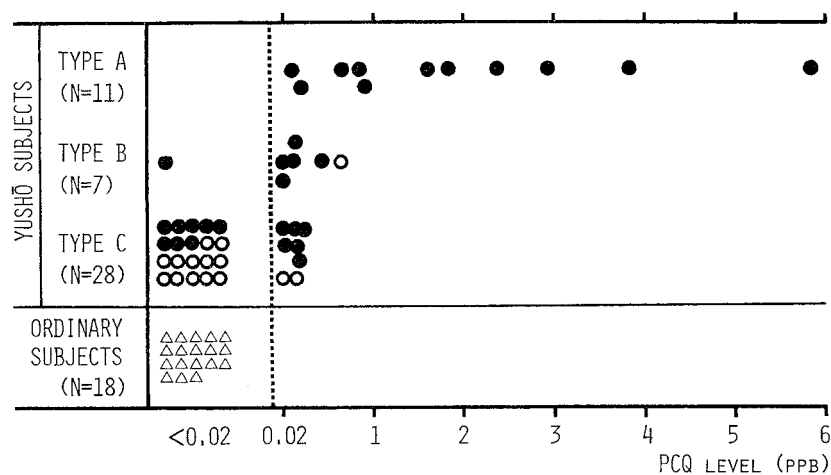


Fig. 2. Relationship between PCB patterns and PCQ level of the subjects in Goto islands.

Black circle: Compensated Yusho subject
 Open circle: Non-compensated Yusho subject

Table 2. PCB and PCQ levels in the blood of the Yusho subjects in three families.

		Age (Yrs.)	Sex	PCB (ppb)	PCB Pattern	PCQ (ppb)	Compensation	Skin symptoms
K. Family	Father	43	M	4.9	A	5.3	+	卅
	Mother	39	F	7.1	A	5.6	+	卅
	1st daughter	16	F	2.7	A	1.7	+	+
	1st son	12	M	2.4	A	0.85	+	+
	Lodger	55	M	8.1	A	5.0	+	+
Y. Family	Father	43	M	1.5	B	0.05	—	—
	Mother	48	F	1.3	C	0.31	+	±
	1st daughter	14	F	0.6	B	0.08	+	±
	2nd daughter	11	F	1.2	B	0.12	+	±
T. Family	Father	45	M	9.6	B	1.08	+	±
	Mother	35	F	1.3	C	0.36	—	+
	1st son	11	M	0.5	C	<0.02	—	±
	2nd son	10	M	1.3	C	<0.02	—	±
	3rd son	9	M	1.8	C	<0.02	—	±
	4th son	7	M	3.0	A	0.15	—	±
	1st daughter	4	F	—	—	—	—	?

Table 3. PCB and PCQ levels in the blood of Yusho patients in Taiwan.

Samples	Sex	Age (yrs.)	PCB level (ppb)	PCQ level(ppb)
1	M	31	78.0	11.8
2	F	23	61.7	10.2
3	F	27	48.0	10.4
(Contaminated rice oil)			(54, 188)	(17, 500)

較すると、五島においては PCQ が検出されているにもかかわらず未認定の者は 34 名中 11 名 (32%) であり、筑後地区の 25 名中 3 名 (12%) に比べ未認定率が高い傾向にある。

2. 油症患者家族についての解析

Table 2 に筑後の K 家族、Y 家族、五島の T 家族の結果を示した。K および Y 家族では全員から PCQ が検出された。K 家族の長男は、昭和 42 年 6 月生まれで、離乳期に油症事件が発生し食餌または母乳を介して暴露をうけたと思われる。Y 家族の二女も昭和 42 年 10 月生まれで、同様の事態にあつたと思われる。T 家族については父親と母親および四男に PCQ が検出された。長男は昭和 42 年 10 月生まれであるが、油症事件当時、母親が母乳を与えるのを中止したため、暴露が最小限にいとめられたため PCQ 値が 0.02 ppb 未満となつたと思われる。二男、三男についても母親は母乳を与えておらず PCQ 値は 0.02 ppb 未満

であつた。四男については昭和 46 年 8 月生まれであり、油症事件後 3 年余を経ており母親が大丈夫と思つて母乳を与えた。四男の分析結果では PCB も A タイプを示し、PCQ を検出している。

T 家族の四人の子供の結果から判断すると、PCQ は母胎内暴露より母乳を通じての暴露の方が問題と思われる。

3. 台湾油症患者の分析結果について

台湾油症患者の PCB と PCQ レベルは Table 3 に示すように現時点での日本の油症患者に比べて高く、また PCB のパターンについては Fig. 3 に示すように日本の油症患者のそれとは異なつていようである。3 例についての解析結果であるため、これらの結果が台湾の油症患者全体の血中 PCB レベルや性状を反映しているとは断言できないが Chen²⁾らの分析と同様な傾向が認められた。

Fig. 3 において日本における PCB の A, B, C

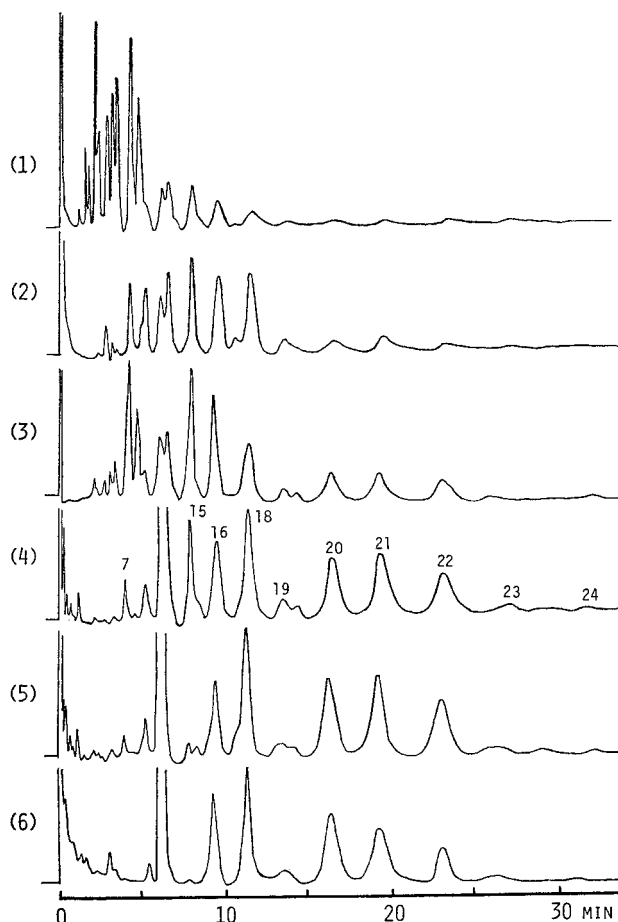


Fig. 3. Gas chromatograms of PCB

- (1): Kanechlor-400.
- (2): Kanechlor-500.
- (3): Extract of the contaminated rice oil in Taiwan.
- (4): Extract of the blood of a female Yusho patient in Taiwan.
- (5): Extract of the blood of a male Yusho patient in Taiwan.
- (6): Extract of the blood of a Yusho patient showing Type A in Japan.

タイプの分類に重要な役割を果たしている peak No. 15 と peak No. 20 についてみると、日本の A タイプの油症患者で特徴的に低い peak No. 15 については、台湾の 2 名の女性患者では高く、1 名の男性患者では低くなっていた。

また A タイプでは特徴的に高い peak No. 20 については、台湾の 3 例とも高くなっていた。全体的傾向として各 peak の CB% (Content of chlorobiphenyl) でみると、日本の油症患者と比べ、特に peak No. 16 が低く逆に peak No. 20 が高くなつ

ていて、6, 7 塩化物の占める割合が大きいようである。

なお台湾の三名の患者の臨床所見は日本の油症患者の初期の所見と比べ、さほど強くはなかった。

これらの結果には台湾の油症患者が摂取した原因油中の PCB などの組成やその濃度の違いと共に、PCB などの摂取、代謝、排泄の動態を考慮した場合油症発生後の分析時期の違いも大きく関与していると思われる⁹⁾¹⁰⁾が、日本の油症患者においても発症の初期の血中 PCB や PCQ レベルはかなり高かったことを示唆する結果である。

台湾油症患者の分析結果から判断すると従来油症の重要な指標として用いられてきた PCB ガスクロマトグラムのパターンによる A, B, C タイプの分類は、発症後 4 年余を経て以後のデータ⁵⁾⁶⁾に基づくものであり、上記の PCB の動態との関連で考えるならば過渡的に有効性を発揮していると思われる。

む す び

認定 および 未認定者を含めた 油症患者 84 名、健常者 28 名および台湾の油症患者 3 名について血中の PCB, PCQ の分析を行い、次の成績を得た。

1) PCQ 値が 0.02 ppb 以上のものは A タイプの者 31 名では 100%, B タイプの者 18 名では 94%, C タイプの者 35 名では 31%, 健常者 28 名では 0% であった。

2) 台湾の 3 名の油症患者の血中 PCB, PCQ レベルは現時点での日本の油症患者より高く、PCB パターンも異なつてい

た。

3) 筑後地区 および 五島で PCQ が検出された者 59 名中未認定者は 14 名であった。

現在、樫本ら⁴⁾により微量ではあるが魚貝類や健常者の臓器中あるいは PCB 熱媒体処理に従事した労働者の血中にも PCQ の存在が確認されており、今後 PCQ の環境汚染や PCB 被暴露者の PCQ 残留について十分考慮しなければならないが、今回の分析結果から血中 PCQ 値は PCB 値およびそのパターンと共に油症原因油摂取の指標として有効であると思わ

れる。

そして今回の調査では PCQ が検出されながら未認定になつている者 14 名が発見されたが、これらの者については油症原因油を摂取した可能性が強い。特に五島の被検者の中に、A タイプを示し、しかも PCQ を検出し、未認定になつている者が 4 名いたことは注目される。油症原因油による健康被害の長期的影響に関しては、事件以後 12 年余を経過したのみであり、現時点では未知の部分が多い。健康者レベル以上に PCQ が検出され、油症原因油を摂取した住民に対しては、たとえ健康障害が確認されていない場合でも、健康被害の長期的影響を明らかにし、かつ対策を講ずるために健康状態の follow up の体制をさらに充実させて行く必要があろう。この意味において油症原因油の tracer として有効性のある PCQ の検出の意義は大きいと思われる。

稿を終るに臨み、血液を提供していただいた油症患者、被検者の皆様に感謝いたします。

文 献

1) 阿部純子：油症患者と健康者の血漿中ポリ塩化ビフェニール (PCB) に関する研究。日衛誌 31:

662-678, 1977.

2) Chen, P. H. et al.: Levels and Gas-Chromatographic Patterns of Polychlorinated Biphenyls in the Blood of Patients after PCB Poisoning in Taiwan. Bull. Environm. Contam. Toxicol, 25, 325-329, 1980.

3) 榎本 隆, 宮田秀明, 国田信治: 油症患者中の PCB 関連物質について。第 38 回日本公衆衛生学会講演集 784, 1979.

4) 榎本 隆: 九州大学油症治療研究班, 油症研究報告 61-68, 1980.

5) 増田義人, 他: 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.

6) 高松 誠, 井上義人, 阿部純子: 血液中 PCB の診断学的意義。福岡医誌 65, 28-31, 1974.

7) 鶴川昌弘, 中村彰夫, 榎本 隆: PCB の数値化方法に関する研究。食衛誌 14, 415-424, 1973.

8) 渡辺 功, 他: 一般人, 油症患者および職業的 PCB 取扱者の血中 PCB 成分析 (第 3 報)。大阪府立公衛研所報 食品衛生編 9, 67-73, 1978.

9) 吉村英敏, 大島美奈子: カネクロール成分のマウスにおける残留性について。福岡医誌 62, 5-11, 1971.

10) 吉村英敏, 他: ^3H -カネクロールのラットにおける体内分析および排泄について。福岡医誌 62, 12-19, 1971.

油症患者と他の PCB 汚染者の残留塩素化合物の相異

大阪府立公衆衛生研究所

樫 本 隆・宮 田 秀 明
福 島 成 彦・国 田 信 治

Differences of Residual Chlorinated Compounds between Yusho Patients and Persons Exposed to PCB

Takashi KASHIMOTO, Hideaki MIYATA,
Shigehiko FUKUSHIMA and Nobuharu KUNITA
Osaka Prefectural Institute of Public Health, Osaka 537, Japan

We previously found large amounts of PCQ, equivalent to 0.9–3.5 times concentration of PCB, being contained in the causative rice oils of Yusho disease which were manufactured on February 5th, 9th and 10th 1968 and dissolved the cause of the heavy contamination with PCQ.

In this study, we established a microanalysis-method for PCB, PCQ and PCDF in the human blood and organs, and analysed the specimens of the healthy persons, patients with Yusho disease and workers occupationally exposed to PCB by using the method.

Consequently, it became clear that all five Yusho patients who had died 1–9 years after the outbreak of Yusho were heavily contaminated with PCB, PCQ and PCDF; namely, their concentrations (mean±S.D.) showed $3,910 \pm 1,640$ ppb of PCB, $1,210 \pm 874$ ppb of PCQ and 3.96 ± 3.25 ppb of PCDF in the fatty tissues of the patients, and 98.9 ± 70.5 ppb of PCB, 84.0 ± 84.1 ppb of PCQ and 19.6 ± 25.7 ppb of PCDF in the livers. It was especially notable result that PCQ and PCDF levels of the organs of the patients were higher by two-three digits and three digits, respectively, than the ones of healthy persons in spite of PCB levels showing only a few times higher.

It was also observed that the three compounds translated into the fetus body through his mother's placenta.

In addition, PCQ was detected in the bloods of 54 among 56 Yusho patients 11 years after their ingestion of the toxic oil, at the detection limit of 0.02 ppb. The PCQ level was 2.0 ± 2.0 (mean±S.D.) ppb.

On the other hand, no PCQ was found in the blood of 69 workers occupationally exposed to fresh Japanese PCB preparations, who had PCB levels more than 7.6 times those of Yusho patients, as well as in the bloods of 60 healthy subjects.

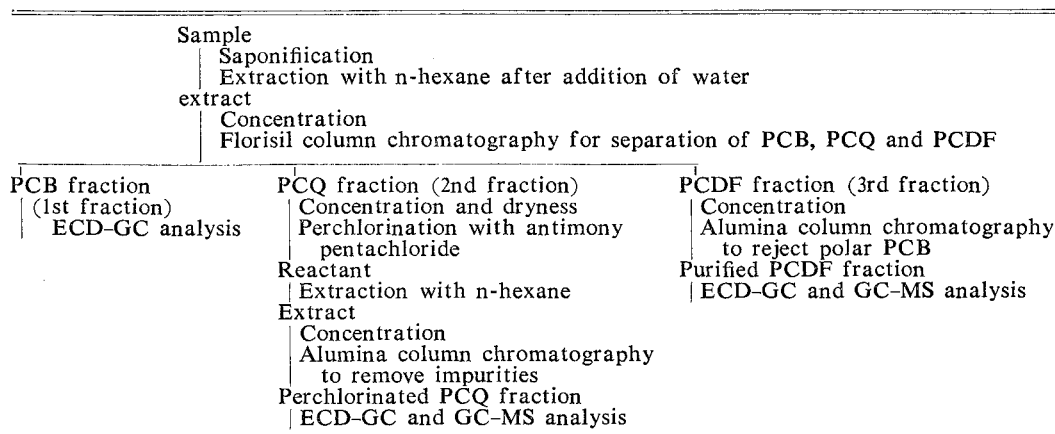
Meanwhile, PCQ was detected in all the bloods of three workers who had handled used PCB.

さきに、油症原因油には 151~983 ppm の PCB 以外に 490~866 ppm の PCQ, 1.90~7.40 ppm の PCDF の存在を明らかにし¹³⁾, 更に、その成因について再現実験を行った¹⁴⁾。その結果、熱媒体として使用していた Kanechlor-400 (KC-400) の中に PCQ, PCDF が生成し、それがライソオイルに漏出した後、

高温減圧の脱臭工程において $PCB > PCDF > PCQ$ の蒸発率の差によつて、主として低塩素の PCB が消失して見かけ上、PCQ, PCDF が濃縮されたものと推察された。

今回、PCB, PCQ, PCDF の微量分離分析法を確立し、高濃度 PCB 接触者、一般的環境汚染を受けた

Scheme 1. Analytical procedure for PCB, PCQ and PCDF in human bloods and tissues



健常者および、高濃度 PCB, PCQ, PCDF を含んだ原因油を摂取した人々の血液・臓器の分析を行い、その差異の究明を行った。

実験方法

1. 試薬

(1) n-ヘキサン、無水硫酸ナトリウム、5 塩化アンチモン：和光純薬工業あるいは片山化学工業社製の PCB 分析用；ジエチルエーテル、塩化メチレン：和光純薬社製の残留農薬用；エタノール、カセイカリ、炭酸水素ナトリウム、塩酸：和光純薬社製特級

(2) アルミナ：メルク社製、中性、活性度 I，含水率を 1% に調整したもの

(3) フロリジル：60~100 メッシュ、130° で一夜活性化したもの

(4) 標準 PCQ：熱媒体使用済カネクロール 400 より、分離精製したもの¹³⁾ を用いた。

(5) 標準 PCDF：和光純薬社製、塩素含量 46.3~56.8%

2. 試料

(1) 油症患者臓器：1969 年から 1977 年にかけて死亡患者〔九大病院 No. 15868 (油症重症度 4)⁸⁾, No. 16634 (重症度 3)⁸⁾, 千鳥橋病院 No. 8⁹⁾, 福岡大学病院 No. AN-77-34¹⁰⁾, AN-77-100¹⁰⁾〕および胎児型油症者 (1968 年 10 月出産, 国立小倉病院 No. 583⁷⁾) の肝臓、脂肪組織あるいは腸管である。

(2) 健常者臓器：事故死あるいは手術を受けた 15 名の肝臓および脂肪組織で、1976~80 年にかけて入手したもの

(3) 油症患者血液：長崎県五島列島、福岡県および

大阪府在住の油症認定患者 56 名の血液を 1979~'80 年に採取した。

(4) 職業的 PCB 汚染者血液：A グループ、コンデンサー製造工場従業員 48 名 (KC-300, KC-500 の充填作業) および塗料製造工場従業員 21 名 (KC-600 と油あるいはロジンの混合作業)；B グループ、再生処理工場従業員 3 名 (熱媒体使用済 PCB などの取扱作業) につき、1979 から 80 年にかけて血液を採取

(5) 健常者血液：長崎県五島列島、福岡県および大阪府在住の健常者 60 名について 1979~'80 年にかけて採取

3. PCB, PCQ および PCDF の分離定量法

分析法の概略は Scheme に示した。すなわち、血液 10 ml をフラスコに入れ、2N KOH エタノール溶液 20 ml を加えたのち、環流冷却器を付して水浴上で、1 時間煮沸する。アルカリ分解後、内容物を分液ロートに移し、さらに水 20 ml で完全に試料を洗いこむ。ついで、n-ヘキサン 30 ml で 2 回抽出を行う。その n-ヘキサン抽出液をあわせ、水 50 ml で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、K.D. 濃縮器で 5 ml 以下に濃縮する。この濃縮試料を湿式法によつてフロリジル (6 g) を充填したカラム (1 cmφ) (上層に無水硫酸ナトリウム 3 g を添加) に流入し、n-ヘキサン 2 ml で 2 回、試験管およびカラム管壁を洗い込み、n-ヘキサン 60 ml (第 1 分画) PCB, 4% ジエチルエーテル・n-ヘキサン 45 ml (第 2 分画) PCQ, ついでアセトン 80 ml (第 3 分画) を用いて極性の強い PCDF を溶出させる。

第 1 分画を適当量に濃縮後、ECD-GC により分析し、著者ら数値化法¹⁶⁾ を用いて PCB を定量した。

Table 1. Recovery of PCB, PCQ and PCDF

Sample	Volume (ml)	PCB			PCQ			PCDF		
		Added amount (ng)	Recovery (%)		Added amount (ng)	Recovery (%)		Added amount (ng)	Recover (%)	
1	10	50	96.5	96.5	40	90.8	91.2	0.5	76.5	77.1
2	10	50	96.5	(mean)	40	91.4	(mean)	0.5	77.6	(mean)
3	10	25	84.8	82.3	2.5	91.5	92.3	0.25	80.3	79.2
4	10	25	80.5	(mean)	2.5	93.1	(mean)	0.25	78.0	(mean)
5	10				0.4	83.0				

PCQ については、5 塩化アンチモンで完全に塩素化したのち、ECD-GC (ECD-GC 条件は Fig. 1 参照) および GC-MS (日本電子社製、JEOL-20KP Gas chromatograph JMS D-300 Mass spectrometer) を使用し、分析は ECD-GC と近似条件で行った。) によつて定量、同定を行つた。すなわち、PCQ 標準溶液 (PCQ 0.1 μ g 相当) および前述した PCQ 分画の濃縮溶液をそれぞれ、直径 1.5 cm、長さ 8 cm のパイレックスガラスアンブルに注入したのち、空気気流中で完全に溶媒を留去する。つぎに 5 塩化アンチモン 0.5 ml を加え、アンブル開口部を溶封したのち、ガスクロオープン中で 200°, 2 時間加熱する。ガラス封管を注意して開き、未反応 5 塩化アンチモンを 6N HCl 10 ml で徐々に分解し、100 ml 分液ロートに移し、n-ヘキサン 30 ml を加えたのち、3 分間振盪する。下層の塩酸層を捨て、上層の n-ヘキサン層を水 20 ml で 2 回、5%炭酸水素ナトリウム溶液 20 ml で 1 回、および水 20 ml で 1 回洗浄し、さらに無水硫酸ナトリウムで脱水したのち、5 ml 以下に濃縮する。次に、この濃縮試料を湿式法でアルミナ (5 g) を充填したカラム (1 cm ϕ) に流入したのち、2% 塩化メチレン・n-ヘキサン混液 30 ml で完全塩素化物 (Octadecachloroquaterphenyl, C₂₄Cl₁₈) を溶出する。

PCQ の定量は、ガスクロマトグラムの完全塩素化物のピークの総面積による検量線法に基づいて行つた。

フロリジルカラムからの第 3 分画 (PCDF 分画) の溶媒を完全に留去したのち、3% 塩化メチレン・n-ヘキサン 3 ml に溶解し、湿式法により充填したアルミナカラム (5 g, 1 cm ϕ , 上層に無水硫酸ナトリウム 3 g) に流入する。n-ヘキサン 2 ml で 2 回、試験管およびカラム管壁を洗い込み、まず、3% 塩化メチレン・n-ヘキサン 70 ml を用いて極性の強い微量 PCB

を除去したのち、20% 塩化メチレン・n-ヘキサン 50 ml により PCDF を溶出させる。PCDF 分画を濃縮したのち、ECD-GC (分析条件は Fig. 2 参照) および GC-MS を用いて定量、同定を行つた。同一塩素原子を有する PCDF は、その置換基の位置にかかわらず、ECD に対して同一感度とみなし、ピーク高さ法により定量した。

4. 添加回収実験

健常者の保存血液、各々 10 ml に油症患者に検出される濃度 (KC-500 25, 5.0 ppb, PCQ 0.04, 0.25, 4.0 ppb, PCDF 0.025, 0.050 ppb) になるように添加した。その試料について、前記分離分析法を用いて分析を行い、回収率を求めた。なお、何れも Blank 値を除いて算出した。

結 果

PCB, PCQ, PCDF 分離定量法による添加回収率は、Table 1 に示すように PCB 80.5~96.5%, PCQ 83.0~93.1%, PCDF 76.5~80.3%の結果を得た。

この定量法によつて血液・肝臓・脂肪組織より分離され、GC-MS によつて完全塩素化された Octadecaquaterphenyl と同定されたガスクロマトグラムが Fig. 1 である。肝臓、脂肪のクロマトグラムは同一人のものであり、油症患者・健常者に共通に認められるパターンである。そして、標準 PCQ の A・B ピークに対して、C ピークが脂肪組織<血液<肝臓の順に高くなる傾向にある。

Fig. 2 は、油症原因油・同一油症患者の肝臓・脂肪組織に含まれる PCDF のガスクロマトグラムである。各ピークは、GC-MS によつてピーク No. 3~7 は、4 Cl-PCDF, No. 8~12 は、5 Cl-PCDF, No. 13~15 は、6 Cl-PCDF であることを同定した。この臓器のクロマトグラム患者共通に認められるパターン

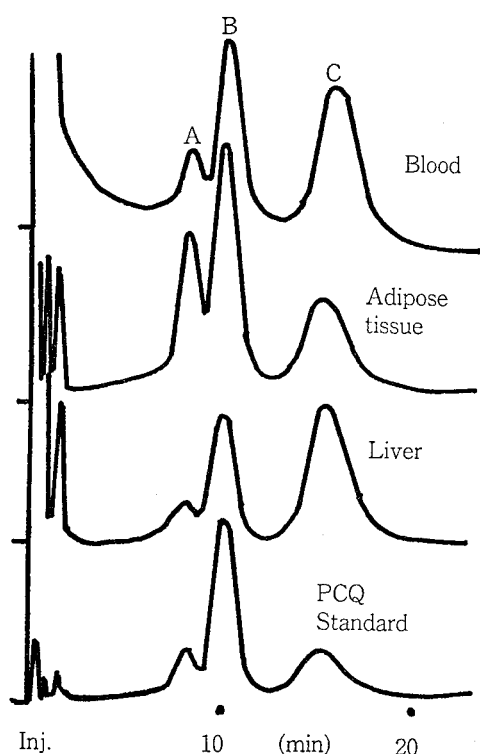


Fig. 1. Gas chromatograms of PCQ fractions from the blood, adipose tissue and liver of the patient with "Yusho" disease after perchlorination

GC analysis was carried out on a Shimadzu GC-6A gas chromatograph machine with ^{63}Ni -ECD. GC conditions showed as follows: column, 50 cm $\times$ 2.6 mm glass column packed with 2% OV-210 on Gas Chrom Q (100/120 mesh); injection, detection and column temps., 280, 280 and 265°C, respectively; carrier gas, N_2 (60 ml/min)

である。

健常者、職業的 PCB 接触者、油症原因油およびそれを摂取した人々の分析例は、すでに一部報告したが⁶⁾、更に、分析件数を加え、平均値で示した結果が Table 2 である。

事件発生 1～9 年間に死亡した患者と健常者 10 名の分析結果を見ると、患者の PCB 濃度は健常者の約 3 倍、そして何れも肝臓より脂肪組織に高い傾向がみられる。PCQ は、PCB 同様、両者共肝臓より脂肪組織に高く、その濃度は健常者の 200～1,000 倍におよんでいる。PCDF は、患者の肝臓 3,000 倍、脂肪組織 200 倍程度、健常者より高く、患者の肝臓には、PCB、PCQ と異なり、脂肪組織の約 5 倍の蓄積が認

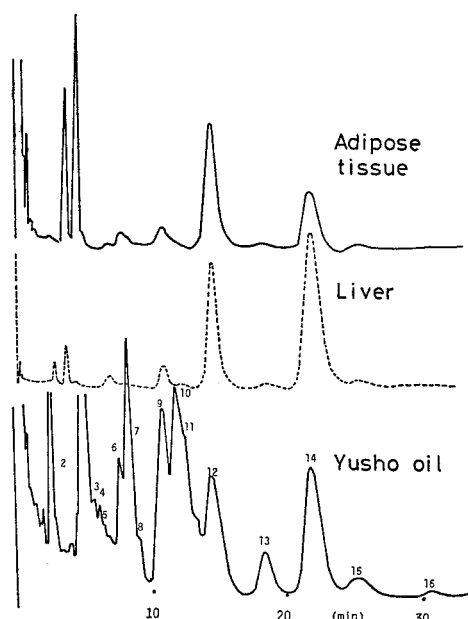


Fig. 2. Gas chromatograms of PCDF fractions from the adipose tissue and liver of a patient with "Yusho" disease, and from a causative oil of the disease

Organs were obtained from a patient who died on July 9th in 1969⁸⁾.

The production date of the oil was February 5th in 1968.

Compound of each peak shown in gas chromatograms was confirmed by GC-MS analysis: peak No. 2, tetrachlorobiphenyl; peak No. 3-7, tetrachlorodibenzofuran; peak No. 8, 9, 11 and 12, pentachlorodibenzofuran; peak No. 13, 14 and 15, hexachlorodibenzofuran.

GC analysis was carried out on a Varian Aerograph 2100 gas chromatograph machine with ^{63}Ni -ECD. GC-conditions showed as follows: column, 2 m $\times$ 2 mm glass column packed with 2% OV-17 on Gas Chrom Q (100/120 mesh); injection, detection and column temps., 255, 320 and 250°C, respectively; carrier gas, N_2 (30 ml/min)

められた。胎児の PCB 濃度は健常者と同程度にかかわらず、PCQ、PCDF 濃度は極めて高い。なお原因油の PCB に対する PCDF 濃度比より患者・胎児の肝臓における濃度比が 20～30 倍高くなっている。

血液試料では、11 年前原因油を摂取した患者 56 名のうち、2 名を除き、平均 2 ppb の PCQ を検出したが、PCDF は検出されなかった。なお、PCB は健常者の約 3 倍検出されている。コンデンサー工場および塗料製造工場に PCB に接触する作業員 (A) 69 名

Table 2. PCB, PCQ and PCDF levels (ppb, mean $\pm$ S.D.) in patients with "Yusho" disease, healthy persons and workers occupationally exposed to PCB, and in toxic oil caused "Yusho" disease

Sample	Period after termination of exposure (year)	No.	Organ	PCB level	PCQ level	PCDF level	PCB/PCQ/PCDF
Patient with "Yusho" disease	11	56	Blood	5.9 $\pm$ 4.4	2.0 $\pm$ 2.0	N.D.*	100 : 34 : <0.17
Worker occupationally exposed to PCB.....A	9	69	"	44.7 $\pm$ 48.7	N.D.**	—	100 : <0.04 : —
Worker occupationally exposed to PCB.....B	9	3	"	19.3 $\pm$ 11.0	0.9 $\pm$ 0.9	—	100 : 5 : —
Healthy subject		60	"	2.0 $\pm$ 1.3	N.D.**	—	100 : <1 : —
Patient with "Yusho" disease	1—9	5	Adipose tissue or Intestine Liver	3,910 $\pm$ 1,640 98.9 $\pm$ 70.5	1,210 $\pm$ 874 84.0 $\pm$ 84.1	3.69 $\pm$ 3.25 19.6 $\pm$ 25.7	100 : 31 : 0.1 100 : 85 : 20
Still-born baby with "Yusho" disease		1	Intestine Liver	29.7 50.5	83.6 393.0	0.4 15.2	100 : 281 : 1 100 : 778 : 30
Healthy subject		10	Adipose tissue Liver	628 $\pm$ 402 35 $\pm$ 18	37 $\pm$ 0.8 0.46 $\pm$ 0.24	— —	100 : 0.2 : — 100 : 1.3 : —
Healthy subject ⁽²⁾		5 4	Adipose tissue Liver	1,014 $\pm$ 405 28 $\pm$ 15	— —	0.019 $\pm$ 0.017 0.006 $\pm$ 0.006	100 : — : 0.002 100 : — : 0.02
"Yusho" oil		3		430,000 $\pm$ 391,000	630,000 $\pm$ 167,000	3,850 $\pm$ 2,510	100 : 147 : 0.9

*: Although 4 of 56 blood samples were analysed, PCDF were not detected in all of them at the detection limit of 0.01 ppb.

**: Detection limit of 0.02 ppb.

***: 10-fetal-month baby delivered on October 14th 1968, by a patient with "Yusho" disease⁽²⁾.

は血中、PCB 濃度が患者の約 8 倍、45 ppb 検出されるにかかわらず、PCQ は検出されなかった。しかし、再生処理工場で PCB の再生処理に従事していた (B) 3 名は、PCB 濃度が高く PCQ も 0.9 ppb 検出された。

考 察

この PCB, PCQ, PCDF 分離定量法は、従来個々に分析していた方法に検討を加えたもので¹³⁾¹⁴⁾、血液 10 ml を用いた添加回収実験の結果からみて、他の試料でも分析試料量を変えることによつて充分実用に耐え得るものと考えられる。

PCQ を完全塩素化したガスクロマトグラムパターンが、Fig. 1 に示すように血液、肝臓、脂肪組織で異なる現象は、ラット⁴⁾、モンキーでも同様に認められる⁵⁾。PCQ が、数十万と推定される同族体異性体があるにかかわらず、理論的に考えられる 6 種の PCQ 骨核が¹³⁾、生体内代謝に左右されて、残留パターンを変えていると考えられる。なお、われわれは魚介類に残留する PCQ パターンが、哺乳動物と全く異なることを観察している¹⁾。このことから、PCQ 骨核が吸収代謝に影響を及ぼしていることが類察される。

油症患者臓器中の PCDF 分析は、すでに長山らが報告している tetra-, penta-, hexa-CDF 構造の PCDF が¹⁵⁾、特異的に人体に残留しやすいように思われる。そして Fig. 2 に示すように、同一人でもクロマトグラムパターンが相違し、PCDF の構造によつて、生体内分布の相異が伺がわれる。

Table 2 の臓器の分析結果は、油症患者に特異的に多量の PCQ, PCDF を示している。また、胎児に明らかに移行し、特に肝臓に極めて高い濃度 PCQ, PCDF が残留している。これは母体が原因油を摂取した直後のためと考えられる。なお、健常者にも微量であるが、PCQ, PCDF が検出され、魚介類にも PCQ が検出されることから¹⁾、すでに環境汚染に及んでいることが明らかになった。

血液の分析結果をみると、11 年前油症原因油を摂取した患者の PCB 濃度は、職業的 PCB 接触者 A グループに比べて、1/8 に過ぎないが、56 名中 54 名に PCQ が検出される。これはコンデンサー工場、塗料製造工場で用いられる PCB が新しく、PCQ 濃度が原因油中の濃度に比べて、極めて低いためと思われる。なお、PCDF 測定は行っていないが、その成因から考えて¹⁴⁾、PCQ が検出されない血液から PCDF は検

出されないであろう。これに対して、B グループは、使用済 PCB あるいは、PCB 熱処理操作に従事し、すでに PCQ が生成したものに接触したためであろう。従つて、血中 PCQ の測定結果は、職歴調査を参考にすれば油症原因油を摂取したか否かの判定に寄与することができよう。

なお、PCB 摂取、接触後の年数が経ているため、10 ml の血液から PCDF は検出されないが、PCQ の成因から考えて¹⁴⁾、PCQ と同時に PCDF の高濃度汚染が推察される。事実、1979 年発生した台湾の油症患者の血液について、台湾大学・東京大学の協力のもとに前記分析法を用いて分析した結果、現在皮膚症状を示す患者全員より PCQ と共に PCDF が検出されて、それが裏付けられた。従つて、台湾油症患者の血液分析は、わが国の油症発生当時の実態を知る上で貴重な資料を提供するであろう (未発表)。

以上の結果、PCB 接触者と油症患者の症状の相異に注目し、PCQ, PCDF の残留実態を解明することが、油症の毒性究明に不可欠なことと考えられる。

総 括

1. PCB, PCQ, PCDF の分離分析法を確立し、この方法を用いて健常者、職業的 PCB 接触者および油症患者の血液臓器の分析を行った。

2. PCQ の生体分布が、PCQ 骨核に影響されられると思われる結果を得た。また、油症患者臓器に tetra-, hexa-CDF の残留を認めた。

3. 油症患者の臓器に特異的に PCQ, PCDF が多く、摂取原因油の PCB に対する濃度比よりも高い濃度比で PCDF が肝臓に残留することを認めた。なお、胎児にも PCQ, PCDF の高濃度移行が認められた。

4. 新しい PCB 製品接触者の血液から PCB が高濃度検出されるが、PCQ は検出されない。これに反して、11 年前原因油を摂取した 56 名の油症患者のうち 2 名を除き PCQ が検出された。なお使用済 PCB の処理に従事していた 3 名から PCQ が検出された。したがつて、油症原因油を摂取したか否かの判定に、血液の PCQ 濃度と職業的背景調査結果が寄与できると考えられる。

稿を終えるにあたり、試料採取ならびに分譲に御協力賜りました久留米大学医学部高松誠教授、九州大学医学部滝一郎教授をはじめ九大油症研究班の諸先生ならびに大阪府立公衆衛生研究所労働衛生部原一郎部長に深く感謝致します。

文 献

- 1) 福島成彦, 宮田秀明, 樫本 隆: 魚介類における PCQ の検出. 食衛誌 投稿中.
- 2) Hara, I., Harada, H., Kimura, S., Endo, T. and Kawano, K.: Follow up health examination in an electric condenser factory after cessation of PCBs usage (1st report) Jpn. J. Ind. Health 16: 365-366, 1974.
- 3) 原 一郎, 平田 衛, 渡辺 功, 薬師寺 積, 高橋光雄, 西谷宣雄: 塗料製造工場における PCB 作業者の健康調査. 大阪府公衛研所報 労働衛生編 17: 11-21, 1979.
- 4) 堀伸二郎, 樫本 隆, 国田信治: ラットにおける PCQ (polychlorinated quaterphenyl) の生体内分布および排泄. 食衛誌 21: 294-300, 1980.
- 5) Hori, S., Obana, H., Kashimoto, T., Otake, T., Nishimura, H., Ikegami, N., Kunita, N. and Uda, H.: Biological effects of PCBs and related polychlorinated compounds on croo monkeys J. Pharmacobio-Dynamics, in press.
- 6) Kashimoto, T., Miyata, H. and Kunita, N.: Presence of polychlorinated quaterphenyls in the tissue of patients with "Yusho" disease. Food Cosmet. Toxicol. in press.
- 7) 菊池昌弘, 橋本美智雄, 宝角 衛, 古賀康八郎, 大吉繁男, 永川政敏: いわゆる油症 (塩化ビフェニール中毒) 死産児の 1 剖検例. 福岡医誌 60: 489-495, 1969.
- 8) 菊池昌弘, 増田義人: PCB 中毒者—いわゆる油症患者の剖検所見について—. 臨床病理 21: 422-428, 1974.
- 9) 菊池昌弘, 栗原憲二, 樋口勝規, 梅田玄勝: 1975年における油症患者の二剖検例: 福岡医誌 68: 156-161, 1977.
- 10) 菊池昌弘, 重松信昭, 梅田玄勝: 発症後9年目に死亡した油症患者の2剖検例. 福岡医誌 70: 135-142, 1979.
- 11) Miyata, H., Nakamura, A. and Kashimoto, T.: Separation and Detection of Polychlorodibenzofurans (PCDF) in Japanese commercial PCBs (Kanechlors) and their heated preparation J. Food Hyg. Soc. Japan 17: 227-230, 1976.
- 12) Miyata, H., Kashimoto, T. and Kunita, N.: Detection and Determination of Polychlorodibenzofurans in normal human tissues and Kanemi rice oils caused "Kanemi Yusho". J. Food Hyg. Soc. Japan 18: 260-265, 1977.
- 13) Miyata, H., Murakami, Y. and Kashimoto, T.: Determination of polychlorinated quaterphenyl (PCQ) in Kanemi rice oil caused the "Yusho" and investigation on the PCQ formation. J. Food Hyg. Soc. Japan 19: 417-424, 1978.
- 14) Miyata, H. and Kashimoto, T.: Investigation on Organochlorinated compounds formed in Kanemi rice oil that caused the "Yusho", J. Food Hyg. Soc. Japan 20: 1-9, 1979.
- 15) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Dtermination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with Yusho. Fd. Cosmet. Toxicol. 15: 195-198, 1977.
- 16) 鶴川昌弘, 中村彰夫, 樫本 隆: PCB の数値化法に関する研究. 食衛誌 14: 415-424, 1973.

油症 (PCB 中毒) 患者における 血清 ケノデオキシコール酸値

福岡大学医学部第一内科学教室 (主任: 奥村 恂教授)

奥村 恂・星野 弘弼・熊井 千恵

Chenodeoxycholic Acid Level in Serum from Patients with PCB Poisoning

Makoto OKUMURA, Hirosuke HOSHINO
and Chie KUMAI

*First Department of Internal Medicine (Director: Prof. M. Okumura),
Fukuoka University Medical School, Fukuoka, Japan.*

Fasting serum levels of conjugated chenodeoxycholic acid (C-CDCA) were measured by radioimmunoassay in 59 patients with PCB poisoning lasting for more than 11 years (group I) and 30 cases with diagnosis of undetermined PCB poisoning (group II). No significant difference of serum C-CDCA levels was observed between I and II groups. Slight elevation of serum C-CDCA was encountered occasionally in both groups, however, no correlation between serum C-CDCA and PCB levels and/or patterns was recognized.

昭和 43 年九州北部に集団発生をみた、いわゆる油症 (PCB 中毒) も発生以来 12 年を経過した。その間に本症患者の中には身体所見や一般検査所見の改善したものも多く、年とともにその病像は捉えにくくなりつつある。一方なかには頑固ないくつかの愁訴を伴うものもあり、血中 PCB 濃度やパターンには依然として摂取 PCB (カネクロール) の特徴を残しているものも多い。

胆汁酸は胆汁や腸管内には高濃度に存在するが、通常血中に存在するものは極めて微量である。最近血中胆汁酸の選択的かつ精密な測定が可能になり、軽微な肝機能異常を知ることができるようになった。油症はその発症当初から特有の肝機能異常はみられなかったし¹⁾、11~12 年を経た今日、胆汁酸測定の臨床的意義に過大の期待をもつことは困難と思われるが、このたび油症の一斉検診受診者について胆汁酸の主成分であるケノデオキシコール酸を測定しえたので、その成績を報告する。

対象ならびに方法

昭和 54 年度および 55 年度に行われた、福岡県油症一斉検診を受診した 15 才以上の成人の油症患者、家

族内発症のある疑診者 (A 群)、家族内発症のみられない疑診者 (B 群) のうち、2 年続けて検索しえた 89 名を対象とした。午前中空腹状態で採血された血清中の、抱合型 ケノデオキシコール酸 (以下 C-CDCA と略) を測定した。測定法はすでに発表した radioimmunoassay (RIA) 法²⁾ を用いた。

成 績

油症患者は 59 名 (男 20 名, 女 39 名) で、年齢は 15 才から 82 才にわたり、平均 51.5 才であった。疑症 A 群は 12 名 (男 4 名, 女 8 名) で、年齢は 22 才より 69 才にわたり、平均 51.8 才であった。疑症 B 群は 18 名 (男 7 名, 女 11 名) で、年齢は 18 才より 71 才にわたり、平均 48.9 才であった。

油症患者 59 名の血清 C-CDCA 値の平均 $\pm$ SD は 54 年度 1.55 ± 1.18 nM/ml, 55 年度 1.68 ± 1.29 nM/ml で、両年の差は有意ではなかった。性別では 54 年度、男 1.51 ± 0.95 , 女 1.57 ± 1.29 nM/ml, 55 年度は男 1.93 ± 1.64 , 女 1.56 ± 1.08 nM/ml で、いずれも正常域にあり、この 4 者の間には有意の差はみられなかった (表 1)。

疑症 A 群 12 名では 54 年度 1.61 ± 1.02 nM/ml, 55

表 1. 油症患者の血清ケノデオキシコール酸値

No.	姓 名	年齢・性	C-CDCA 値 (nM/ml)		No.	姓 名	年齢・性	C-CDCA 値 (nM/ml)	
			昭54年度	昭55年度				昭54年度	昭55年度
1	K. M.	42 M	1.1	2.3	32	K. M.	37 F	2.3	2.2
2	S. M.	36 F	1.2	1.7	33	A. N.	57 F	0.5	0.8
3	K. M.	15 F	1.5	1.4	34	M. S.	48 F	5.3	6.1
4	T. K.	57 M	0.2	1.2	35	E. M.	47 F	0.9	1.1
5	M. K.	45 M	1.5	1.3	36	Y. M.	50 M	2.1	1.9
6	T. K.	41 F	0.1	0.7	37	R. M.	50 M	1.3	1.3
7	K. E.	52 M	3.5	3.4	38	H. M.	53 M	1.4	1.5
8	Y. E.	48 F	1.5	2.2	39	H. T.	55 M	0.6	1.7
9	J. I.	66 M	0.7	0.7	40	A. O.	50 F	4.3	1.6
10	M. M.	27 F	1.3	4.1	41	M. A.	53 F	1.1	0.8
11	K. M.	66 M	0.6	1.6	42	Y. K.	36 F	1.6	0.9
12	T. M.	65 F	1.3	1.9	43	A. K.	67 F	0.7	2.5
13	K. T.	71 M	2.2	0.9	44	T. Y.	50 F	0.8	0.7
14	K. T.	68 F	6.6	1.9	45	M. Y.	16 F	1.1	0.9
15	K. H.	75 M	0.9	0.8	46	T. H.	60 F	1.3	1.4
16	F. K.	56 F	2.4	2.2	47	U. T.	82 M	0.6	1.0
17	S. K.	50 M	2.1	1.3	48	A. T.	65 F	1.3	2.6
18	A. K.	48 F	1.7	0.9	49	S. H.	62 F	0.6	0.6
19	S. S.	32 F	1.3	1.0	50	T. T.	68 M	4.0	1.7
20	T. M.	53 M	1.2	1.3	51	M. T.	64 F	2.4	0.6
21	S. M.	49 F	1.3	2.5	52	A. Y.	37 F	1.2	1.8
22	J. K.	70 M	1.4	1.6	63	A. T.	33 F	0.3	0.6
23	Y. M.	46 F	0.8	0.9	54	H. Y.	48 M	1.3	3.9
24	T. S.	54 F	0.9	0.5	55	N. H.	65 F	3.0	2.4
25	C. H.	59 F	0.8	0.6	56	K. M.	16 F	1.5	1.1
26	C. M.	53 F	1.7	1.3	57	A. M.	51 M	1.4	1.2
27	M. I.	41 F	1.1	0.7	58	T. M.	52 F	0.5	1.8
28	A. K.	62 F	1.3	1.5	59	K. H.	72 F	1.4	2.1
29	F. I.	33 M	2.1	8.0					
30	F. S.	53 F	0.9	0.7					
31	A. I.	72 F	1.4	1.4					
n = 59							51.5 ± 14.4	1.55 ± 1.18	1.68 ± 1.29

年度 2.05 ± 2.11 nM/ml でその差は有意ではなかった。性別では54年度、55年度それぞれ男子 (n=4) は 1.68 ± 1.26 , 3.03 ± 3.66 nM/ml, 女子 (n=8) は 1.58 ± 0.98 , 1.56 ± 0.64 nM/ml で、いずれも有意の差とはいえなかった (表2左欄)。

疑症B群18名では54年度 2.07 ± 2.17 , 55年度 2.45 ± 2.53 nM/ml で両年度は有意の差はみられなかった。性別では54年度、55年度それぞれ男子 (n=7) 3.01 ± 3.24 , 3.26 ± 3.84 , 女子 (n=11) はそれぞれ 1.47 ± 0.83 , 1.94 ± 1.14 nM/ml で、両年度各群間にいずれも有意の差はみられなかった (表2右欄)。

油症患者群59名とA群12名、B群18名との間に

おける54年度および55年度の血清CDCA値について、それぞれその平均値±SDを検討したが、いずれも有意の差はみられなかった。

われわれの健常成人における早朝空腹時血清C-CDCAの値は、すでに発表したように 1.3 ± 0.8 nM/ml ($\bar{M} \pm SD$) であった。したがって、 $\bar{M} + 2SD$ を正常上界とすれば、 3.0 nM/ml 以上は上昇値と考えられる。今回上述の対象例のうち、両年度のどちらかで 3.0 nM/ml を超える値を示したものは、16例であった。16例について他の検査所見のうちで異常所見のみられたものを表示 (表3) した。このうち、両年とも 10 nM/ml を超えたものは1例 (No. 77 非患者

表 2. 疑診例の血清ケノデオキシコール酸値

A. 家族内発症例あり					B. 家族内発症例なし				
No.	姓 名	年齢・性	C-CDCA (nM/ml)		No.	姓 名	年齢・性	C-CDCA (nM/ml)	
			昭54年度	昭55年度				昭54年度	昭55年度
60	H. K.	22 M	3.5	1.6	72	Y. O.	46 M	1.1	2.3
61	T. S.	61 F	3.5	1.6	73	H. O.	42 F	2.2	2.7
62	K. S.	65 M	1.0	8.5	74	T. N.	62 F	2.2	3.3
63	T. M.	46 F	0.7	1.9	75	M. K.	53 M	2.2	1.5
64	A. I.	24 F	1.2	0.8	76	H. A.	58 F	1.9	1.3
65	K. N.	46 F	1.1	2.8	77	I. Y.	66 M	10.1	11.8
66	T. H.	38 F	2.5	1.2	78	M. Y.	18 F	1.0	4.0
67	T. K.	54 M	0.7	1.2	79	N. U.	53 M	2.1	1.8
68	G. S.	69 M	1.5	0.8	80	F. U.	56 F	3.0	1.7
69	F. A.	64 F	1.8	1.0	81	R. K.	52 F	1.4	2.2
70	I. S.	69 F	0.9	1.9	82	M. H.	31 M	2.8	1.8
71	K. I.	63 F	0.9	1.3	83	K. A.	51 F	0.9	1.6
n = 12		51.8 ± 16.6	1.61 ± 1.02	2.05 ± 2.11	84	H. S.	27 M	2.9	3.0
					85	S. S.	54 F	0.5	2.6
					86	K. S.	59 M	0.3	0.6
					87	K. S.	29 F	0.3	0.8
					88	K. K.	52 F	0.9	0.6
					89	Y. S.	71 F	1.9	0.5
					n = 18		48.9 ± 14.3	2.07 ± 2.17	2.45 ± 2.53

家族)のみで、慢性肝障害の存在が疑われた。両年とも 5nM/ml を超えたものは 1 例 (No. 34) で、軽い LDH の上昇が 54 年度にみられている。両年とも 3.0nM/ml を超えたものは 1 例 (No. 7) にみられたが 1 横指大の肝を触知し、わずかに高脂血症気味であった。

16 例のうち、残りの 13 例は 2 年連続測定値のいずれか一方が 3.0nM/ml を超えたものである。この 13 例中 11 例に血清脂質、GOT, LDH, LAP, γ -GPT などの項目のいずれかに軽い上昇を示すものがみられた。No. 54, 62, 84 には肝胆道系酵素の軽度の上昇がみられている。CDCA 値と PCB 濃度あるいはパターンとの相関は明らかでなかった。

考 察

最近、胆汁酸の化学的特性、生理的意義が明らかになるにつれて、その臨床応用が急速に普及してきた。血清胆汁酸値を測定することによって、軽微な肝機能異常を見出そうとする試みもそのひとつである。現在血清胆汁酸の測定について一般的に行われているのは、日常検査として用いられはじめた酵素法による総

胆汁酸の測定³⁾と、まだ一般化してはいないが特定の胆汁酸を選択的に、より精密に測定しようとする RIA 法²⁴⁾などがある。

特定胆汁酸のうち、もつとも敏感に変動するものがケノデオキシコール酸 (CDCA) である。われわれは CDCA を RIA 法で測定しているが、RIA 法では CDCA の遊離型のものも抱合型のものも同時に測り込まれるので、すべて抱合型 conjugated CDCA (以下 C-CDCA) として表わしている。CDCA は胆汁中の胆汁酸成分の中でも主要なものであり、空腹時の血清 C-CDCA の値は、肝障害を鋭敏に反映することはすでに報告したとおりである。血清胆汁酸のうち、とくに CDCA は食事によって、内因性の胆汁酸負荷がかかり、早朝空腹時の数倍ないし 10 倍に上昇することが知られているので²⁾、採血時間は厳密に早朝空腹時に限る必要がある。この点については、今回の採血条件に問題はないものと考えられる。

本研究では、C-CDCA の正常上昇を 3.0nM/ml としたが、昭和 54 年度、55 年度ともに 3.0nM/ml 以上を示したものは症例 7, 34, 77 の 3 例にみられるのみであった。最高値を示したのは、症例 77 の疑診

表 3. 血清ケノデオキシコール酸高値例の血中 PCB その他の所見

No.	姓名	昭 和 54 年 度			昭 和 55 年 度		
		C- CDCA (nM/ ml)	PCB 濃 度とパタ ーン	そ の 他 の 所 見*	C- CDCA (nM/ ml)	PCB 濃 度とパタ ーン	そ の 他 の 所 見
7	K. E.	3.5	2C	肝 1 横指触知	3.4	4C	TG 153mg/dl (35-150)
10	M. M.	1.3	2C	特に異常所見なし	4.1	3C	特に異常所見なし
14	K. T.	6.6	2A	LDH 484 u(190-400) コレステロール 276 mg/dl (99-243)	1.9	3A	コレステロール 280 mg/dl, TG 217 mg/dl, β -LP 801 mg/dl (140-600)
29	F. I.	2.1	2C	右肺下野網状陰影	8.0	2C	TG 182 mg/dl
34	M. S.	5.3	4A	特に異常所見なし	6.1	10A	LDH 443 u
40	A. O.	4.3	2C	不整脈, 甲状腺腫	1.6	2B C	ChE 1873 IU (850-1800)
50	T. T.	4.0	5A	CRP(++)	1.7	9A	TG 228 mg/dl, β -LP 717 mg/dl
54	H. Y.	1.3	4C	GOT 40, LAP 215u(100-210) γ -GTP 98 mu/ml(>50)	3.9	5C	LAP 215 u, γ -GTP 96 mu/ml, LDH 455 u
55	N. H.	3.0	1B C	TG 172 mg/dl	2.4	2B	TTT 5.1 u(>50), 慢性気管枝炎
60	H. K.	3.5	2C	TG 260 mg/dl, LAP 266 u	1.6	2C	コレステロール 245 mg/dl, TG 271 mg/dl, β -LP 753 mg/dl
61	T. S.	3.5	2C	特に異常所見なし	1.6	1C	甲状腺機能低下症の疑あり
62	K. S.	1.0	4C		8.5	3C	GOT 72 u, GPT 46 u, LAP 324 u, γ -GTP 161 mu/ml
74	T. N.	2.2	3C	GOT 49 u, LDH 449 u	3.3	2C	コレステロール 260 mg/dl
77	I. Y.	10.1	5C	GOT 41 u, γ -GTP 99 mu/ ml, TG 255 mg/dl	11.8	5C	GOT 42 u, TTT 5.5, LAP 233, γ -GTP 109, TG 273, β -LP 1070 mg/dl
80	F. U.	3.0	2C	LDH 512 u, コレステロール 289 mg/dl, TG 322 mg/dl, 肥満度 +60%	1.7	2C	LDH 445 u, コレステロール 299mg/dl, β -LP885mg/dl, ChE 2234 IU/l
84	H. S.	2.5	2C	GOT 59, GPT 137, LAP 502 u, γ -GTP 218 mu/ml, TG 219 mg/dl	3.0	2C	GOT 47 u, GPT 46 u, LAP 463 u, γ -GTP 144 mu/ml, LDH 477 u, TG 247 mg/dl

* TG: 血清中性脂肪, β -LP: β -リポ蛋白, ChE: コリンエステラーゼ. 括弧内は正常範囲を示す.

例で, この例は他の所見から慢性肝障害の存在が考えられている. すなわち, 本例の CDCA 上昇は肝障害によるものであろう.

2年連続測定 of のいずれか一方が 3.0nM/ml を越えたものは13例(油症確定の6例と疑診の7例)にみられた. これらは油症確定59例中6例(10%)と疑診30例中7例(23%)で, その頻度からみると

CDCA の軽度の一過性上昇が油症(PCB中毒)に由来するものとは考え難い. さらに油症の原因物質である PCB 濃度とカネクロール残留パターンをみると, 表3の油症例 No. 7 より No. 55 までの9例については, 濃度こそ 5ppb を超えるものは2例であるが, 5例にはいまだに摂取カネクロールに由来するとされる A~B パターンが証明される. したがって油

症 (PCB 中毒) そのものの経過は、かなり安定して極めて緩慢なものであるといえる。このようなことから、2回の測定のうち一方のみの上昇した、上記の13例中油症患者6例の CDCA 値は PCB 中毒の反映とは考え難い。

これら13例中11例は、血清脂質、GOT、LDH、LAP、 γ -GTPなどのいずれかの軽度の変化を伴っている。したがってこれらの CDCA 上昇は、PCB 中毒とは直接関係のない代謝異常、または軽い肝障害の影響と考えるのが妥当であろう。われわれの肝疾患における成績²⁾によると、C-CDCAの平均値は慢性肝炎活動型で22.0 nM/ml、非代償性肝硬変では99.0 nM/mlの値がみられる。肝障害では容易に10.0 nM/ml以上に上昇することを考慮すると、今回の成績のような3.0~6.0 nM/ml程度の値に、特定の臨床的な意義を見出すことは困難のようである。

総 括

昭和54年、55年と連続して福岡県一斉検診を受診した成人油症患者、家族内発症のみられる疑診者(A群)、家族内発症のない疑診者(B群)のうち、計89名について、空腹時血清抱合型ケノデオキシコール酸(C-CDCA)をRIA法で測定した。各群を通して異常高値のみられたものについて血中PCB濃度とそのパターン、診察所見、検査所見などとの関係を調査した。その結果、次のような成績が得られた。

1. 血清 C-CDCA 値の平均値を比較すると、油症患者、疑診A群、疑診B群の間に有意の差はみられず、いずれも正常範囲にあつた。

2. 血清 C-CDCA 値の正常上界を3.0 nM/mlとすると、両年度とも上昇値を示したものは油症群に2名、疑診B群に1名であつた。B群の1名のみが10 nM/mlを越える軽度上昇で、この例は慢性肝障害によるものと判断された。

3. 2年連続測定値のいずれか一方が3.0 nM/mlを越えたものは13例にみられたが、PCB濃度やパターンとの関係はみられなかつた。これらの3.0~6.0 nM/ml程度の軽い異常値に、とくに臨床的意義をもたせることは困難であつた。

文 献

- 1) 奥村 恂, 勝木司馬之助: いわゆる油症(塩化ビフェニール中毒)の臨床的研究、とくに内科的所見について。福岡医誌 60: 440-448, 1969.
- 2) Okumura, M., Hoshino, H. et al.: Radioimmunoassay of conjugated chenodeoxycholic acid in serum from liver diseases. Abstracts of the XI International Congress of Gastroenterology —A.S.N.E.M.G.E.—, p. 319, Hamburg, June 8-13, 1980.
- 3) 大菅俊明, 三田村圭二: 肝疾患と血清胆汁酸。第9回犬山シンポジウム記録。pp. 165-171, 中外医学社, 1979.
- 4) Schalm, S. W., LaRusso, N. F. et al.: 成田清久, 遠藤友一郎(胆汁うつ滞と肝臓。代謝 17: 119-130, 1980.)より引用。
- 5) Simmonds, W. J., Korman, M. G. et al.: Radioimmunoassay of conjugated cholyl bile acids in serum. Gastroenterology 65: 705-711, 1973.

油症患者の β_2 -microglobulin と hemoglobin A₁ について

久留米大学医学部第1内科教室（主任：加地正郎教授）

原 田 寿 彦・田 中 弘 吉
富 永 秀 敏・加 地 正 郎

β_2 -Microglobulin and Hemoglobin A₁ in Patients with Yusho (PCB Poisoning).

Toshihiko HARADA, Kokichi TANAKA,
Hidetoshi TOMINAGA and Masaro KAJI

First Department of Internal Medicine (Director: Prof. M. Kaji),
Kurume University School of Medicine, Kurume 830, Japan.

In patients with Yusho (PCB poisoning), β_2 -microglobulin and hemoglobin A₁ were examined. The mean value of serum β_2 -microglobulin levels was within normal range (1.35 ± 0.30 mg/l), and the mean value of the urinary excretion was 98.35 ± 44.35 μ g/g creatinine.

On the other hand, hemoglobin A₁ levels were within normal range ($7.46 \pm 0.42\%$), but the levels were significantly elevated compared with that in healthy control subjects.

β_2 -microglobulin (以後 β_2 -m と略す) は1968年 Berggard²⁾ らにより分離された分子量11800の低分子蛋白で、尿 β_2 -m は腎尿細管障害をきたす種々の疾患で、血清 β_2 -m は腎糸球体障害をきたす疾患のほかにもリンパ増殖性疾患、悪性腫瘍、自己免疫疾患、肝胆道系疾患などで増加するといわれている。また Hemoglobin A₁ (HbA₁ と略す) は HbA ($\alpha_2\beta_2$) の β 鎖のN端の varin に hexose が schiff 結合した糖蛋白で赤血球の寿命中、徐々に非酵素的 glycosylation により生成される。従つて HbA₁ は一定期間の血糖の平均値を表わすとされておりその測定は糖尿病患者において有用視され普及しつつある。しかし糖尿病に限らず、腓性でも肝性でも内分泌性でも、原因に関係なく、血糖が上昇するような状態が存在すれば HbA₁ は増加するといわれている。

油症患者では皮膚症状、神経症状などがみられ肝障害や腎障害もきたすといわれている。そこでわれわれは最近注目されているこれらの検査、 β_2 -m と HbA₁ を油症患者で測定し検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 対象

対象は昭和55年11月に油症検診を当科にて行なった油症患者13名(表1参照)の中から、 β_2 -m については蛋白尿陽性者2名を除いた11名について、HbA₁ については糖尿病にて治療中の1名を除いた12名について検討した。

2. 検体の採取

尿蛋白定性、血糖、その他生化学検査(BUN, Creatinine (以後 Cr. と略す), GOT, GPT, ALP), 血沈については食前空腹時に採取したが、血清 β_2 -m HbA₁, 尿 β_2 -m および尿 Cr. は随時採取とした。

3. 測定方法

β_2 -m は RIA (β_2 マイクロテスト・シオノギ) により大塚アッセイに依頼し測定した。HbA₁ はイオン交換クロマトグラフィー法 (Trivelli-Gabbay の変法)⁴⁾¹¹⁾ にて相互生物医学研究所(BML)に依頼し測定した。

実 験 成 績

1. β_2 -m について

11例の年齢は29~62才で平均 46.6 ± 10.0 才 (Mean $\pm$ SD 以下同じ) であった。BUN, Cr. も全例正常範囲でありまた GOT, GPT, ALP 等も異常

表 1.

症例	年令	性	血清 β_2 m		尿 β_2 m		尿蛋白	血清 BUN	血清 Cr	尿 Cr	Hb A ₁	血糖	GOT	GPT	ALP	血沈
			mg/l	×100mg/gCr	μg/l	μg/gCr										
1 K. T.	40	F	1.2	1.71	41.2	28.03	—	13	0.7	147	7.5	80	16	9	4.2	13
2 K. Y.	35	F	1.4	2.00	109.0	138.00	—	14	0.7	79	7.2	82	20	21	8.4	7
3 E. S.	47	F	1.8	2.57	153.3	133.30	—	11	0.7	115	7.8	77	16	10	6.8	30
4 E. K.	50	M	1.1	1.38	146.8	118.39	—	8	0.8	124	7.3	93	15	10	7.0	4
5 T. S.	62	F	1.4	2.00	37.0	44.05	—	10	0.7	84	8.0	91	28	22	6.3	8
6 M. K.	41	M	1.2	1.71	103.8	87.97	—	14	0.7	118	7.2	77	17	14	6.0	4
7 K. M.	44	M	1.3	1.63	230.7	122.71	—	12	0.8	188	7.8	78	34	19	5.5	2
8 K. A.	56	F	1.2	2.00	108.5	70.45	—	14	0.6	154	7.0	72	18	12	7.8	8
9 N. S.	51	F	1.1	1.38	25<	178.57<	—	17	0.8	14	7.4	75	26	17	3.5	10
10 S. T.	58	M	2.0	3.33	82.2	76.11	—	13	0.6	108	8.1	76	17	9	8.1	14
11 T. K.	29	F	1.1	1.83	91.0	84.26	—	6	0.6	108	6.8	67	16	13	5.6	30
12 M. S.	35	F	0.9	1.13	64.1	52.11	+	16	0.8	123	7.8	85	19	12	3.3	22
13 I. J.	65	M	2.1	2.10	237.4	484.49	++	19	1.0	49.	15.6	276	15	12	9.7	2
{ N			13	11	11	11		11	11	11	12	12	13	13	13	13
{ Mean			47.15	1.35	1.96	102.59	98.35	12.0	0.70	112.64	7.46	78.91	19.77	13.85	6.32	11.85
{ SD			11.11	0.30	0.56	59.71	44.38	3.1	0.08	45.23	0.42	7.60	5.89	4.49	1.93	9.75

注) M=Male, F=Female, 症例 11 は妊娠中, 症例 13 は糖尿病患者

表 2. 血清 β_2 -microglobulin 値についての諸家の報告

報告者	対象	数	年令 (才)	血清 β_2 m (mg/l) Mean ± SD
Evrin ら ³⁾	正 常 者	男女 58) 61)	17~76	1.59 ± 0.36 1.60 ± 0.36
河合 ら ⁷⁾	"	男女 25 12	22~40 21~38	1.08 ± 0.23 1.00 ± 0.21
金井 ら ⁶⁾	"	男女 140 39	16~56 16~53	1.21 ± 0.39
林 ら ⁵⁾	"	59		1.55 ± 0.38
馬場 ら ¹⁾	"	37		1.71 ± 0.29
著者ら (未発表)	糖 尿 病 {蛋白尿 (-) 群 {持続性蛋白尿群	88 29	31~80 (平均 57)	1.58 ± 0.49 2.24 ± 0.74
著者ら	油 症 患 者	11	29~62 (平均 46.6)	1.35 ± 0.30

値を呈した例はなかった。血沈は症例 3 と 11 が共に 30 mm/h と軽度促進がみられたが、症例 3 は貧血 (RBC 431×10⁴/mm³, 血色素 9.3 g/dl, Ht 31%) があり症例 11 は妊娠中のためと思われた。

血清 β_2 -m は 1.1~2.0 mg/l の範囲にあり全例正常でその平均は 1.35±0.30 mg/l であった。また血清 β_2 -m/血清 Cr.>3.5 の産生過剰が疑われる例もなかった¹⁾。尿 β_2 -m 濃度も全例正常範囲でありその

平均は 102.59±59.71 μg/l, 尿 β_2 -m 濃度を尿 Cr. で補正すると 98.35±44.38 μg/g.Cr. であった。

2. HbA₁ について

臨床的にも糖尿病がはつきりしている症例 13 を除いた 12 例の HbA₁ は 6.8~8.1% の範囲にあり症例 10 が 8.1% とわずかに正常範囲を超えていたが血糖値は全例正常であった。平均 HbA₁ は 7.46±0.42% であり、また血糖値は平均 78.91±7.60 mg/dl であ

表 3. 尿 β_2 -microglobulin 値についての諸家の報告

報告者	対 象	数	年 令 (才)	$\mu\text{g}/\text{日}$ Mean $\pm$ SD	$\mu\text{g}/\text{gCr}$ Mean $\pm$ SD
Evrin ら ³⁾	正 常 者	男 58 女 61	17~76	75 $\pm$ 52	
河 合 ら ⁷⁾	正 常 者	11		57.8 (31.5~100)	
吉 川 ら ¹²⁾	{ 正 常 者 糖尿病 (蛋白尿(-))	20 32	20~72	84 $\pm$ 43 171 $\pm$ 193	
蔀 ら ¹⁰⁾	正 常 者	男 125 女 133	のうち60才未満		約 100
Iesato ら ⁸⁾	正 常 者	10			111 $\pm$ 20
著 者 ら	糖 尿 病 { 蛋白尿 (-) 群 持続性蛋白尿群	88 24	平均 57.	83.7 $\pm$ 70.7* 489.3 $\pm$ 760.0*	91.0 $\pm$ 66.1 712.0 $\pm$ 1452.1
著 者 ら	油 症 患 者	11	29~62		98.35 $\pm$ 44.38

* $\mu\text{g}/\text{h}$ を $\mu\text{g}/24\text{h}$ に換算.

つた.

であつた.

考 察

油症患者の血清 β_2 -m 値は諸家の報告 (表 2 参照) における正常者の値と同様な成績であつた. また最近われわれが検索した (未発表) 糖尿病患者蛋白尿 (-) 群の値よりも低値を示していた. 尿 β_2 -m については 24 時間尿での報告は多いが, Cr. による補正值の報告は余りなされていない. 諸家の報告を表 3 に示したが, Iesato⁸⁾ や 蔀¹⁰⁾ らの報告では正常者の尿 β_2 -m 値は 100 $\mu\text{g}/\text{g.Cr.}$ 前後であり, 油症患者のそれは 98.35 $\pm$ 44.38 $\mu\text{g}/\text{g. Cr.}$ であつた. 彼らとは測定法に多少とも差があると考えられるが, 同一測定法で測定したわれわれの糖尿病患者蛋白尿 (-) 群の尿 β_2 -m 値は 91.0 $\pm$ 66.1 $\mu\text{g}/\text{g.Cr.}$ であり, 油症患者の方がやや高い傾向にあつた. また糖尿病患者持続性蛋白尿群の尿 β_2 -m 値は 712.0 $\pm$ 1452.1 $\mu\text{g}/\text{g. Cr.}$ と著明な高値であつた. 吉川¹²⁾ らは正常者群と糖尿病蛋白尿 (-) 群の尿 β_2 -m 排泄量を検索し, 糖尿病蛋白尿 (-) 群の方が正常者群より尿 β_2 -m 排泄量が多かつたと報告している. われわれも現在正常者の β_2 -m 値について検索中で今後比較検討したいと考えている.

HbA₁ については, 同じく BML の協力で測定した布井らの報告では⁹⁾, 正常者の HbA₁ 値は 6.78 $\pm$ 0.70% (N=60) であり, これに比べると油症患者の HbA₁ 値 7.46 $\pm$ 0.42% (N=12) は正常範囲ながら明らかに高く, 両者をこのまま比べることは問題があるかもしれないが, 一応推計学的にも有意 ($p < 0.01$)

総 括

油症患者において β_2 -m と HbA₁ を測定し次の結果を得た.

- 1) 血清 β_2 -m は 1.35 $\pm$ 0.30 mg/l と正常であつた.
- 2) 尿 β_2 -m は 98.35 $\pm$ 44.38 $\mu\text{g}/\text{g.Cr.}$ であつた.
- 3) HbA₁ は 7.46 $\pm$ 0.42% と正常範囲ながら正常者群に比べ高値を示した.

文 献

- 1) 馬場茂明, 水野信彦, 高瀬重暉: 新しい検査法, β_2 -microglobulin. *Medicina* 17: 530-533, 1980.
- 2) Berggård, I. and Bearn, A. G.: Isolation and properties of a low molecular weight β_2 -globulin occurring in human biological fluids. *J. Biol. Chem.* 243: 4095-4102, 1968.
- 3) Evrin, P.-E. and Wibell, L.: The serum levels and urinary excretion of β_2 -microglobulin in apparently healthy subjects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 29: 69-74, 1972.
- 4) Gabbay, K. H., Hasty, K., Breslow, J. L., Ellison, R. C., Bunn, H. F. and Gallop, P. M.: Glycosylated hemoglobins and long-term blood glucose control in diabetes mellitus. *Metab.* 44: 859-864, 1977.
- 5) 林大三郎, 齊藤 宏, 中根清司: 血中 β_2 -microglobulin 測定の臨床成績. *臨床病理* 23(補): 115, 1975.
- 6) 金井正光, 加登通正, 足立憲昭, 相沢孝夫: β_2 マイクログロブリン. *総合臨牀* 27: 2543-2555,

1978.

7) 河合 忠, 金 衡仁: β_2 -microglobulin 定量の臨床的応用に関する研究, 1. 腎疾患における血清・尿 β_2 -microglobulin の変動. 最新医学 31: 354-363, 1976.

8) Kenji, Iesato, Masafumi, W., Yoko, W. and Shizuo, T.: Renal tubular dysfunction in Minamata disease. *Annals of Internal Med.* 86: 731-737, 1977.

9) 布井清秀, 飯田英紀, 今川英二, 尾前照雄: 正常および糖尿病患者の Hemoglobin A₁, A_{1c}, A_{1a+b}. 臨床と研究 57: 149-153, 1980.

10) 部 幸三, 齊藤 寛, 有川 卓, 塩路隆治, 古山 隆, 吉永 馨: カドミウム環境汚染地域住民の尿中 β_2 -microglobulin 一性差の検討. 医学のあゆみ 106: 720-722, 1978.

11) Trivelli, L. A., Ranney, H. M., and Lai, H. T.: Hemoglobin component in patients with diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 284: 353-357, 1971.

12) 吉川隆一, 大森成二, 羽田勝計, 繁田幸男, 村田貞史, 笹井智令: 糖尿病患者の尿中 beta-2-microglobulin 値について. 糖尿病 22: 621-625, 1979.

油 症 患 者 の 振 動 覚 の 検 討

久留米大学医学部第1内科教室（主任：加地正郎教授）

原 田 寿 彦・冨 永 秀 敏・田 中 弘 吉

伊 藤 久 生・加 地 正 郎

Study on Vibratory Sensation of Patients with Yusho (PCB Poisoning).

Toshihiko HARADA, Hidetoshi TOMINAGA,
Kokichi TANAKA, Hisao ITO and Masaro KAJI.

*First Department of Internal Medicine (Director: Prof. M. Kaji),
Kurume University School of Medicine, Kurume 830, Japan.*

1) Vibratory sensation was measured in the 20 patients with Yusho (PCB Poisoning) and the 31 normal subjects and a decrease in vibratory sensation was observed in the former.

2) Below 40 and above 50 years old patients, a decrease in the vibratory sensation was significant in the patients, and it was not in the patients ranged from 40 to 50 years old.

3) A decrease in the vibratory sensation was seen in the patients of below 50 years old.

昭和43年にPCB中毒が発生し、昭和44年から毎年油症検診がおこなわれているが、受診患者の可成りの例が今だに手足のしびれ感を訴えている。

今回われわれは昭和54年度油症検診受診患者（認定患者）について全例に上肢振動覚を測定し正常対照群と比較検討したので報告する。

測 定 方 法

リオン社製振動覚測定器（AU-02型）を用い、右示指頭で周波数63 Hz, 125 Hz, 250 Hzを用いて振動覚を測定したが、比較検討にあたってはすでに報告した糖尿病患者と同様に250 Hzについておこなつ

た¹⁾。

対象は54年度油症検診受診患者（認定患者）20名、正常対照31名である。又加齢による影響も考慮して年齢による比較検討もおこなつた。

結 果

検査成績は表1の如くであるが、油症患者全体の振動覚の域値は平均値で15.12±10.46 dBに対し、正常対照群では5.40±8.29 dBを示し、 $p<0.001$ で有意差を認めた。50才以上では油症患者19.50±10.72 dBに対し正常対照群10.46±8.42 dBで同様に $p<0.001$ で有意差を認めた。40～50才の油症患者では

表1 油症患者並びに正常対照群の平均振動覚域値

年 令	No of Patients	Mean ratio (± S D)	No of Controls	Mean ratio (± S D)	Significance p
全 年 令	20	15.12±10.46 dB	31	5.40±8.29 dB	<0.001
50 才 以 上	10	19.50±10.72 dB	16	10.46±8.42 dB	<0.05
40 ～ 50 才	5	11.00±11.93 dB	5	1.00±2.85 dB	n. s.
40 才 以 下	5	10.50± 4.80 dB	10	-0.50±3.49 dB	<0.001
50 才 以 下	10	10.75± 8.58 dB	15	0.00±3.27 dB	<0.001

11.00±11.93 dB, 正常対照群 1.00±2.85 dB で有意差を認めなかった。40才以下では油症患者 10.50±4.80 dB に対し正常対照群 -0.50±3.49 dB, $p < 0.001$ で有意差を認めた。

次に油症患者の50才以下をまとめて正常対照群と比較してみると, 油症患者 10.75±8.58 dB, 正常対照群 0.00±3.27 dB, $p < 0.001$ で有意差を認めた。

考 察

今回は油症患者20例について, 手足のしびれ等の有無と関係なく全例振動覚を測定したが, 油症患者全体の成績では正常対照群に比し振動覚の低下が認められた。又年齢別では40才以下, 40~50才, 50才以上に分けて検討したが, 40~50才の症例以外はいずれも振動覚の低下が認められた。しかし40~50才の症例は5例と少なかったので, 50才以下をまとめて比較検討すると, 有意に振動覚の低下が認められた。村井, 黒岩等は油症患者の末梢神経障害について検討し, 感覚神経伝導速度の低下することを認め, 臨床所見と伝導速度測定結果より末梢神経, 主として感覚神経が侵れるとしている²⁾³⁾。われわれの検査成績から

も同様のことが考えられ, 油症患者には Subclinical neuropathy の存在を示唆すると思う。

結 語

1. 油症患者20名, 正常対照31名について振動覚を測定したが, 油症患者に振動覚の低下が認められた。
2. 40才以下, 40~50才, 50才以上と年齢別に比較したが, 油症患者で40~50才以外は有意に振動覚の低下を認めた。
3. 50才以下をまとめて検討したが油症患者で同様に振動覚の低下を認めた。

文 献

- 1) 伊藤久生他: 糖尿病患者の神経伝導速度と振動覚について. 糖尿病 23: 824, 1980.
- 2) 黒岩義五郎, 村井由之, 三田哲司: 油症患者における神経学的所見. 福岡医誌 60: 462-463, 1969.
- 3) Murai, Y. and Kuroiwa, Y.: Peripheral neuropathy in chlorophenyl poisoning. Neurology 21: 1173-1176, 1971.

PCB が肺終末細気管支に及ぼす影響に 関する電子顕微鏡的研究

九州大学医学部解剖学教室（主任：山元寅男教授）

山 元 寅 男・和佐野 公二郎

今 山 修 平・藤 田 守

An Electron Microscope Study on the PCB-Induced Ultra-structural Changes of the Bronchiolar Epithelium

Torao YAMAMOTO, Kojiro WASANO, Shuhei IMAYAMA
and Mamoru FUJITA

*Department of Anatomy (Director: Prof. T. Yamamoto,) Faculty
of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

The ultrastructural changes of the bronchiolar epithelium following administration of PCB (Kanechlor 400) were examined by transmission and scanning electron microscopy. Adult male mice were given orally 0.4 ml of olive oil containing 1% PCB (a dose of 100 mg of PCB per kg body weight) once daily for two weeks. Controls received the same amount of olive oil for the same period as above. For scanning electron microscopy, male mice were administered PCB in the same way as above for 10 days.

Oral administration of PCB causes the Clara cells to produce a remarkable proliferation and dilation of agranular endoplasmic reticulum throughout the apical cytoplasm, but ciliated cells remain unaffected. Even in the Clara cells, other cell constituents than agranular endoplasmic reticulum do not exhibit any structural changes at the ultrastructural level. Any findings indicating necrosis or exfoliation of the epithelial cells can not be observed in the present study.

The study indicates that the Clara cells play an important role in drug metabolism in the lung and PCB administration induces a remarkable proliferation of agranular endoplasmic reticulum in the cytoplasm. It seems that such doses of PCB as used in the present study do not induce severe bronchiolar lesions at least in mice. However, further study must be required to clarify the detailed relationship between dosages of PCB and bronchiolar damages.

油症発症初期に、咳や痰の増加が臨床的に認められ、細気管支炎の慢性像に似た所見を呈することが報告されている⁵⁾。我々は、先の研究報告で、肺胞大型上皮細胞と、終末細気管支の非線毛上皮細胞が PCB 投与により、形態学的反応を示すことを述べた⁷⁾。近年、終末細気管支の非線毛上皮細胞、別名、クララ細胞 (Clara 細胞) は、肺におけるチトクローム P-450 の局在部位であり²⁾⁴⁾、脂溶性薬物の投与に強い形態学的反応を示すことが報告されるようになった¹⁾。

今回、先の予備的観察を基として、PCB 投与とク

ララ細胞の反応動態とを詳細に検討し、PCB と呼吸器症状との関連性を解明するための手がかりを得るために、本研究を行って若干の知見を得たのでここに報告する。

材料および方法

実験には、体重 40 g 前後の雄マウスを用いた。マウス用固型飼料 (オリエンタル酵母株式会社製) と水とで飼育した。実験群としては、PCB (カネクロール 400) を 1% の割合に含むオリーブ油を、1 日 1 回、

0.4 ml (PCB を体重 kg 当り 100 mg 含む) 宛, 14 日間マウスに経口投与した. 対照群としては, PCB を含まないオリーブ油のみ, 同様の投与を行つた. これらのマウスは, ネンブター麻酔下で, 左心室より, カコジル酸ソーダ緩衝液で pH 7.2 に調整した 2.5 %グルタルアルデヒドで灌流固定を行つた. その後, 肺を摘出し, 細切後, 再び同固定液で 2 時間固定した. ついで, 1 %オスミック酸溶液で後固定し, 型のごとく脱水, エポキシ樹脂に包埋, 超薄切片作製後, ウラニールと鉛の二重染色を施し, JEM 100 B 型電子顕微鏡で観察した.

次に, マウスに上記 PCB を含むオリーブ油を, 経口的に 1 日 1 回, 0.4 ml (PCB を体重 kg 当り 100 mg 含む) づつ, 10 日間連続投与後, ネンブター麻酔下で次のような処置を行つた. 頸胸部を開き, 頸部気管から虚脱した肺が胸腔内に再び充満する程度の量の PBS 液 (phosphate buffered saline) 液にて気道粘膜を洗滌した. この洗滌操作を 3 ~ 5 回反復し, ついで, リン酸緩衝液で pH 7.2 に調整した 1.5 %パラフォルムアルデヒドと 2.5 %グルタルアルデヒドを含む固定液を頸部気管から注入した. 左肺を切除し, 細切後, 同じ固定液で 2 時間固定した. 上記緩衝液で洗滌後, グリシンとグルタミン酸ソーダ, オスミック酸で導電染色を行い, アルコールで脱水後, 臨界点乾燥を行つた. 試料は, 肺内気道表面の適当な部位を露出後, 白金蒸着を行い, HSM 430 走査電子顕微鏡で観察した. PCB を投与しない対照マウスの肺も同様にして試料作製し, 走査電子顕微鏡で観察した.

結 果

1. 透過電子顕微鏡所見

オリーブ油のみ投与したマウスの終末細気管支上皮は, 無処置のものと同様の構造を示す. クララ細胞も, 線毛細胞も, 内部構造に変化を認めない. クララ細胞は細長い胞体で, 管腔側表面はドーム状にわずかに突出し, この部の細胞質には, 管状の滑面小胞体が比較的良く発達している (図 1, 2). 滑面小胞体に混在して, わずかの粗面小胞体, および遊離リボソームも見られる. また, 電子密度のやや高い, 直径 400 ~ 600 nm の分泌顆粒, および, クリステの少ない, 基質の豊富なミトコンドリアも胞体上部に多く見られる. ミトコンドリアは, 細胞の核下部にも比較的豊富である. 核の周囲および核より下部の細胞質には, 扁平槽状の粗面小胞体が割合よく発達しており, 滑面小胞体は殆んど見られない (図 1, 2). 層板と

小胞からなるゴルジ装置も核の近傍に見出される.

PCB 投与後の上皮細胞では, 線毛細胞には殆んど変化を認めることはできない. これに対し, クララ細胞では, 核上部の管状滑面小胞体は拡張して円形の小胞化を示し, しかも, 量的に増加している印象を強く与えている. このために, 滑面小胞体の間の細胞質の基質は著しく狭められている (図 3, 4). 滑面小胞体の分布も核の周り, 特に, その側面にまで伸びている. とくに, 滑面小胞体内腔に雲状の不定形物質が少量認められることもある. また, 滑面小胞の著しく拡張したものと考えられる粗大な空胞内に同様の物質が見られることもある (図 4). 対称群で見られた分泌顆粒は, 大きさを減じており, 約 25 nm と, ほぼ半分の大きさのものが多くなる. その他に, 細胞先端部の遊離表面下の細胞質に, 同じく 1 枚の限界膜に包まれた, 直径約 100 nm の小さな, 電子密度著しく高い顆粒が出現している (図 3, 4). ミトコンドリアにはあまり変化が見られない. 細胞の壊死像はほとんど観察されない.

2. 走査電子顕微鏡所見

終末細気管支領域の粘膜表面を見ると, 表面が丸くドーム状に見えるクララ細胞と, やや引込んで, 線毛だけが観察される線毛細胞が区別できる.

対照群では, クララ細胞の胞体が, 管腔側に露出する部分は, 重ね餅状に, 二段の突出部からなっている. 表在部は形が小さく, 比較的表面が滑らかで, その下部はゆるやかな傾斜をもつて全方向に広がる自由表面となつている. 若干の細胞では, 先端の帽状部が萎縮して, 完全な球状を呈さないものもある (図 5).

PCB 投与群でも, 対照群と殆んど変わるところはない. わずかに, クララ細胞先端部の帽状部が, 対照群に比し粗な印象を受ける (図 6). 特に, 帽状部の側面に段丘状のヒダ構造の見られることが多い. その他は, 線毛の形態をはじめ, 上皮細胞には変化を認めることはできない.

考 察

油症発症の初期に, 咳や痰の増加が認められ⁹⁾, 喀痰中に PCB が証明される⁹⁾ に及んで, 気道と PCB との関係が注目されてきた. この点を解明するために行つた先の報告⁷⁾ で, PCB 投与により, マウス大型肺胞上皮細胞に層板小体が増加することを観察し, 喀痰中の PCB は, 層板小体に含まれるものが, 気道中へ小体と共に分泌放出されることに由来することを推定した. この他に, 此の研究において, PCB 投与に

より、肺終末細気管支のクララ細胞（無線毛上皮細胞）に、滑面小胞体の増殖を認めた。その所見から、肺における薬物代謝の場としてのクララ細胞について考察した。

先の研究において⁷⁾、クララ細胞が PCB に反応することから、大量の PCB (100 mg/kg) を 10~14 日間投与した場合のクララ細胞の反応を検索したのが今回の実験である。

PCB を含むオリーブ油を 14 日間投与したマウスで、滑面小胞体の増殖と内腔拡大を認めたが、変性壊死像は観察されなかった。滑面小胞体の増殖は、肝細胞におけると同様に、小胞体膜に局在する薬物代謝酵素の誘導現象を示唆する。これまでに肺には薬物代謝酵素である cytochrome P-450 の存在が知られていたが、どの細胞に局在しているかは不明であった。近年、この酵素が、終末細気管支に豊富に存在するクララ細胞に局在していることが漸く明らかとなってきた²⁾⁴⁾。PCB 投与により、肝細胞の滑面小胞体の増殖が起り、同時に、cytochrome P-450 をはじめとする薬物代謝酵素の活性が上昇することは既に報告した⁶⁾。したがって、PCB 投与により、cytochrome P-450 の局在するクララ細胞において、滑面小胞体の増殖、内腔拡張が見られるという事実は、この細胞が肝細胞同様に、脂溶性薬物の代謝の場としての役割を担っていることを示す。

しかし、既に報告したように、本実験に用いた PCB の半量を 6 日間投与したマウスにおいても、同様の滑面小胞体の増殖が見られたことから⁷⁾、この細胞は、肝細胞における程、PCB の量や投与期間に影響されることなく、機能しつつあるものと思われる。肝臓に対しては、かなり強い障害を惹起するような大量の PCB (100 mg/kg) を 2 週間投与しても、クララ細胞に壊死像が見られないということは非常に興味がある。このことは、超薄切片による観察の結果、壊死しつつあるクララ細胞を見落している可能性もある。

同じ脂溶性薬物である naphthalene¹⁾ や 4-ipomeanol²⁾ を 1 回投与後、かなり早期にクララ細胞の壊死剥離像が見られるという報告がある。この観察は、走査電顕や光学顕微鏡によりなされたものである。これらは、広い範囲にわたり細胞の状態を観察できるのでかなりの利点もある。

我々の研究においても、PCB (100 mg/kg) を 10 日間経口投与したマウスの細気管支粘膜を走査電顕で観察した。その結果、対照群と PCB 投与群の間には

ほとんど差異がなく、壊死剥離しつつあるクララ細胞は認められなかった。しかし、対照群に比し、クララ細胞の先端部帽状突出部の側面にヒダが見られたが、これは、恐らく、増殖拡張した滑面小胞体のために、細胞上部が膨大突出を生じ、標本作製中に、この部からの脱水により、細胞先端部が収縮したために生じたものと考えられる。

このように、PCB の大量を連続 10 日間から 2 週間投与しても、クララ細胞に壊死像は見られない。このことから、肺に於ては、PCB 投与により大型肺胞上皮細胞内の層板小体の増加が起ることから、過剰の PCB は層板小体により未代謝のまま気道内に放出され、クララ細胞にとり込まれる量はある限られたものではなからうかということが推定される。しかし、同じく脂溶性薬物である naphthalene¹⁾ や 4-ipomeanol²⁾ などは 1 回投与後、24 時間以内にクララ細胞の壊死、剥脱が見られていることから、クララ細胞は、薬物の種類により、感受性が異なる可能性もある。今後、広汎な薬物について、この感受性を検討する必要がある。

む す び

PCB の大量 (100 mg/kg 体重)、連続投与が、マウスの細気管支粘膜に及ぼす影響を、透過および走査型電子顕微鏡で観察した。

最も強い変化を受ける細胞は、無線毛上皮細胞、すなわち、クララ細胞で、核上部から核側面の細胞質にわたり、滑面小胞体が増殖し、内腔が拡張していた。このことから、PCB は、クララ細胞に薬物代謝酵素の誘導を起すことが考えられる。しかし、この程度の PCB 投与では変性壊死像はほとんど見られず、著明な器質的粘膜障害を惹起するとは考えられない。線毛細胞はほとんど変化を示さず、PCB の影響はあまり受けないものと思われる。

文 献

- 1) Bank, D. M. H. and R. Harley: Morphology of a naphthalene-induced bronchiolar lesion. *Am. J. Path.*, 86: 559-572, 1977.
- 2) Boyd, M. R.: Evidence for the Clara cell as a site of cytochrome P 450-dependent mixed-function oxidase activity in lung. *Nature*, 269: 713-715, 1977.
- 3) 小嶋 亨: 喀痰および組織中の塩化ビフェニール. *福岡医誌* 62: 25-29, 1971.
- 4) Serabjit-Singh, C. J., Wolf, C. R., Philpot, R. M. and C. G. Plopper: Cytochrome P-

450: Localization in rabbit lung. *Science*, 207: 1469-1470, 1980.

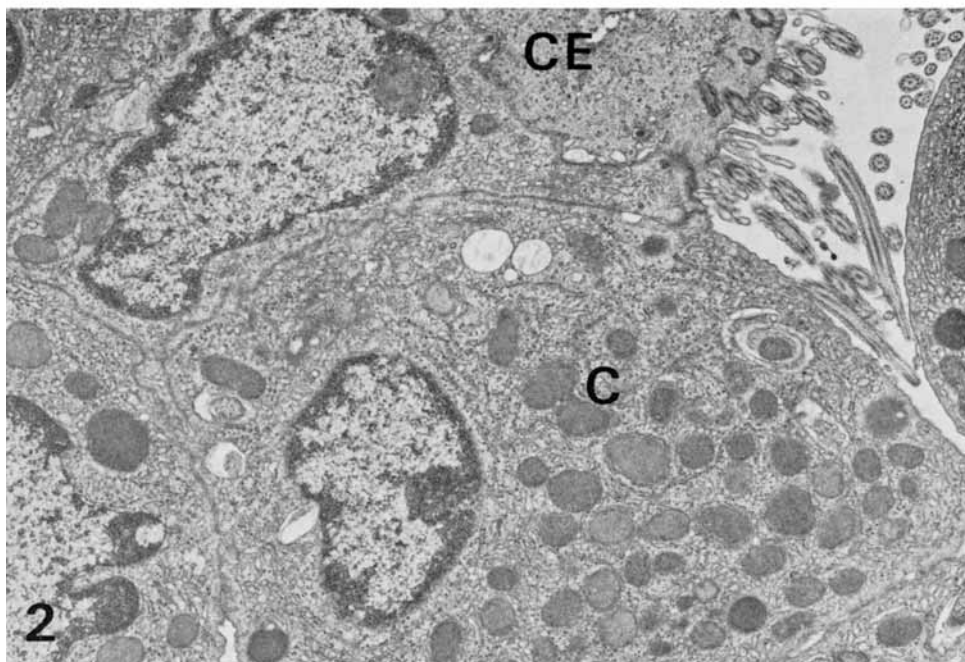
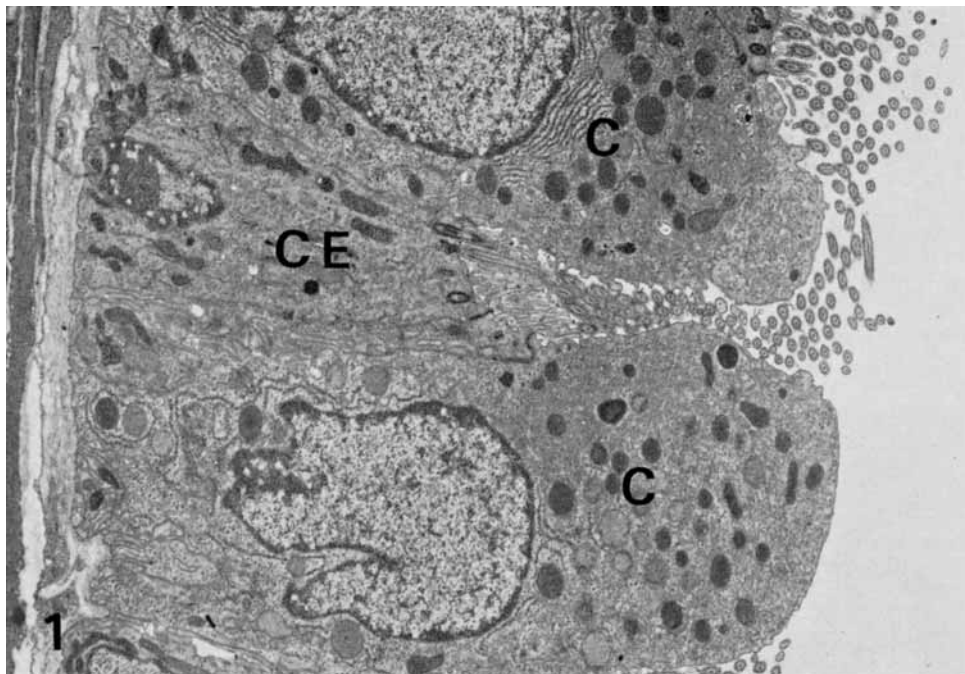
5) 重松信昭, 乗松克政, 石橋凡雄, 吉田 稔, 末次 勲, 河津武俊, 池田東吾, 齊藤玲子, 石丸秀三, 白日高歩, 城戸優光, 江森浩三, 利光 央: 油症における呼吸器障害の臨床的ならびに実験的研究. 福岡医誌 62: 150-156, 1971.

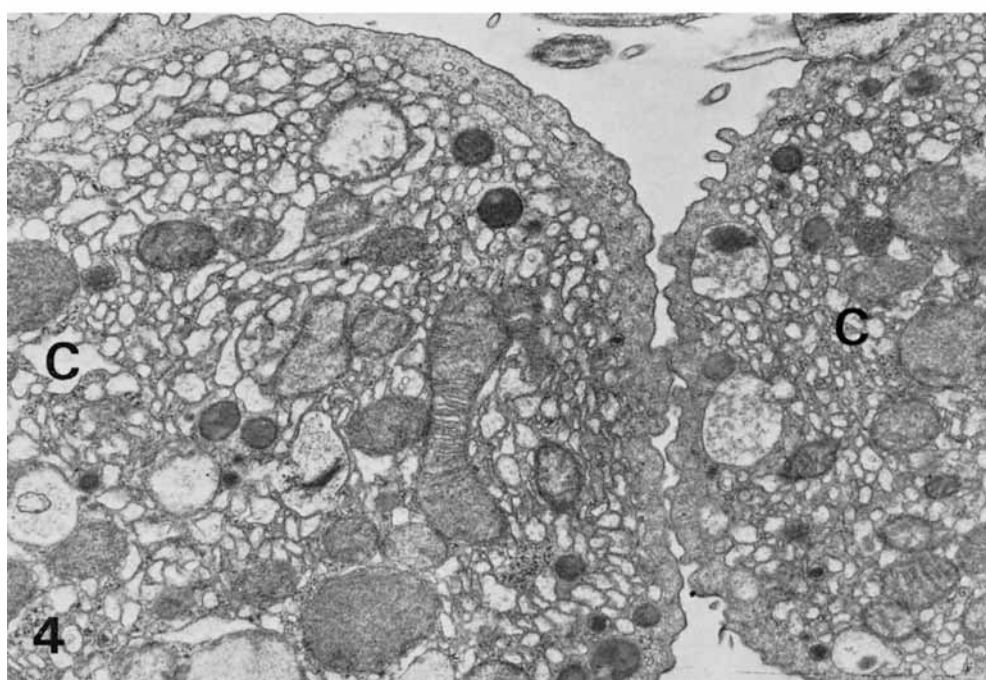
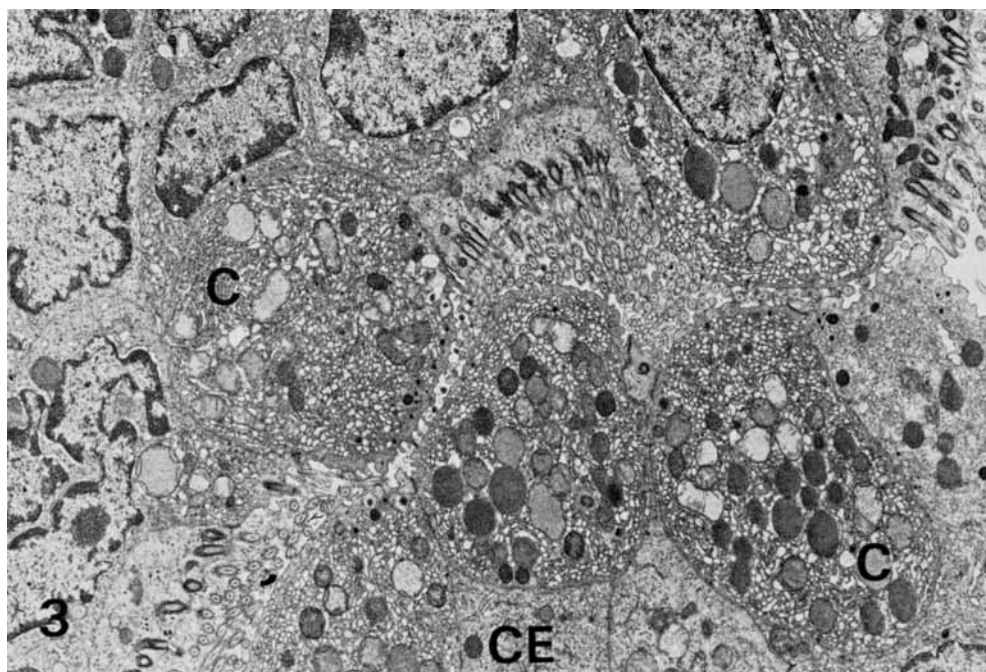
6) 山元寅男: 小胞体 endoplasmic reticulum の構造と機能. 肝滑面小胞体 (解毒その他). 第18回日本医学会総会誌 315-318, 1971.

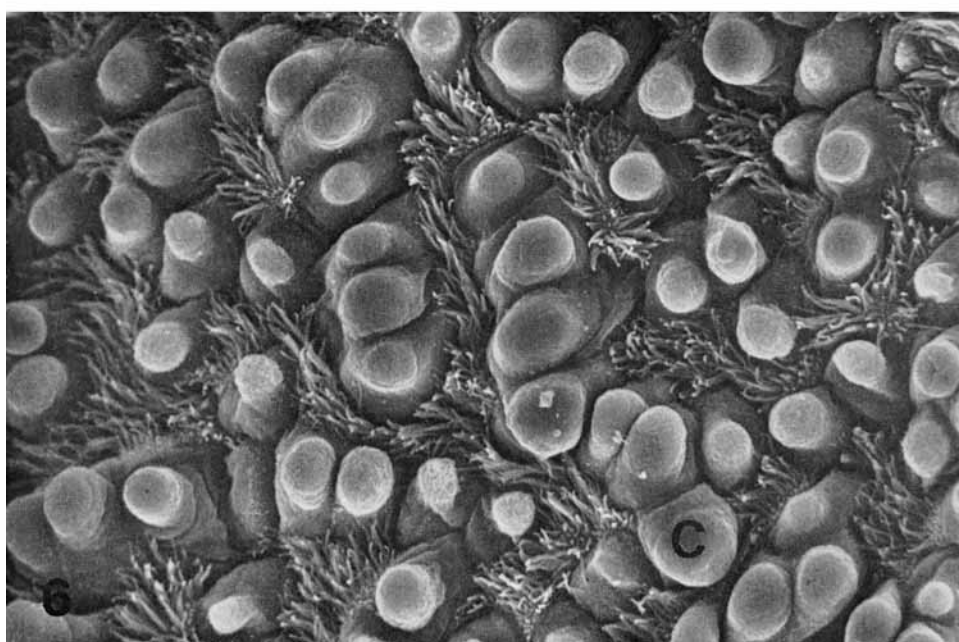
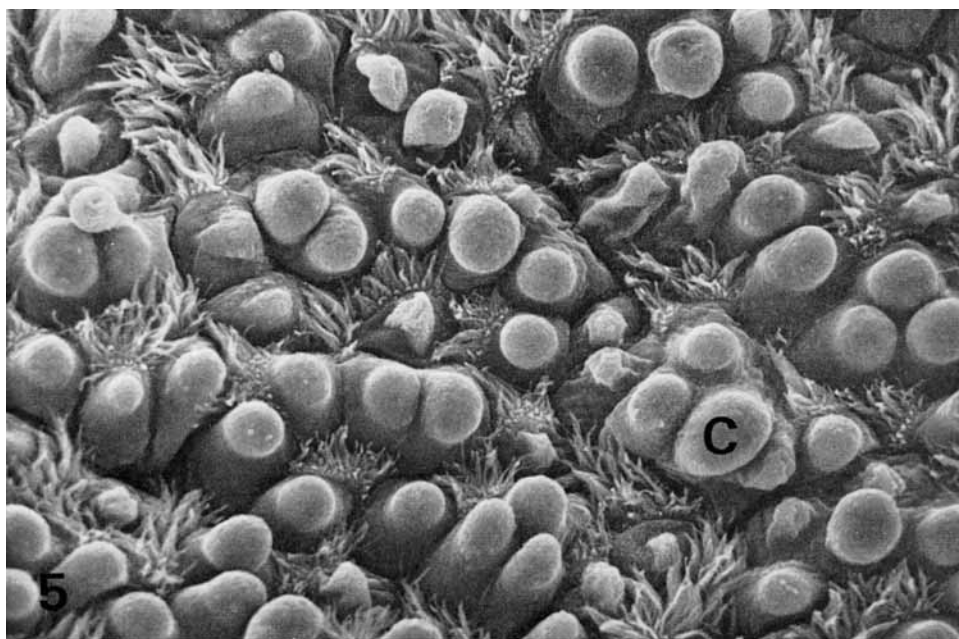
7) 山元寅男, 西嶋壮夫, 今山修平, 藤田 守: PCB が肝臓, 肺, 末梢神経に及ぼす影響に関する電子顕微鏡的研究. 福岡医誌 70: 121-134, 1979.

付 図 説 明

- 図 1. オリーブ油 0.4 ml を 1 日 1 回, 連続 14 日間投与後の終末細気管支上皮. クララ細胞 (C) と線毛細胞 (CE) とが配列している. 7,000 倍
- 図 2. 図 1 と同条件下のクララ細胞 (C) と線毛細胞 (CE) のやや拡大写真. クララ細胞の胞体上部の小胞体分布に注目のこと. 10,000 倍
- 図 3. オリーブ油に PCB (100 mg/kg) を混じて, 図 1 と同条件下の終末細気管支上皮細胞. クララ細胞 (C) の滑面小胞体の増加と内腔拡張が明瞭である. 線毛細胞 (CE) には著変なく, 線毛の形態もほぼ正常である. 7,000 倍
- 図 4. 図 3 と同一条件下のクララ細胞の強拡大写真. クララ細胞 (C) の胞体上部の滑面小胞体の様子がよくわかる. 20,000 倍
- 図 5. 無処置マウスの終末細気管支上皮の走査電顕写真. 帽状の細胞上部突出を示すのがクララ細胞 (C) で, その間に多数の線毛細胞が混在しているのがわかる. 1,400 倍
- 図 6. PCB (100 mg/kg) を 0.4 ml のオリーブ油と共に 10 日間投与されたマウスの終末細気管支上皮の走査電顕写真. クララ細胞 (C) は, わずかに帽状の先端部にヒダ様の構造が現れているほかは, ほとんど対照群のものと差はない. 線毛細胞にも異常を認めない. 1,400 倍







昭和 51 年度—55 年度の年次追跡調査における 油症皮膚所見の変化とその他の因子との相関性

福岡大学医学部皮膚科教室 (主任: 利谷昭治教授)

旭 正 一・利 谷 昭 治

九州大学医学部皮膚科教室 (主任: 占部治邦教授)

日 野 由 和 夫

佐賀大学医学部内科教室皮膚科部門 (主任: 幸田 弘教授)

幸 田 弘

Dermatological Findings and Their Analyses in the General Examination of Yusho in 1976-1980

Masakazu ASAHI, Shoji TOSHITANI

*Department of Dermatology (Director: Prof. S. Toshitani),
Faculty of Medicine, Fukuoka University, Nanakuma 34,
Nishi-ku, Fukuoka 814-01, Japan*

Yuwao HINO

*Department of Dermatology (Director: Prof. H. Urabe),
Faculty of Medicine, Kyushu University, Maidashi 3-1-1,
Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan*

Hiromu KODA

*Department of Internal Medicine, Dermatology Division
(Director: Prof. H. Koda), Saga Medical School,
Nabeshima-cho, Saga 840-01, Japan*

Dermatological findings in the general follow-up examination of Yusho in 1976-1980 were analyzed by means of several statistical methods.

1) The skin severity grading indexes are gradually improving although almost indistinguishably. Definite improvement was noted only in 1980.

2) The new point-count evaluation method for the skin symptoms of Yusho was applied to the examination results. The severity grading points in most patients were found decreasing very slowly year by year.

3) Close correlation was noted between the severity grading indexes and the skin severity points.

4) Gas-chromatography analyses of the PCB in patients' blood demonstrated some definite tendency that each patient shows always same PCB pattern even after the skin symptoms became much better.

5) Concerning the correlation between the blood PCB patterns and the skin severity indexes, the most severe group showed nearly always A or B pattern; C patterns were observed mostly in the relatively low-grading group.

昭和 43 年の油症発生以来, 本年で 14 年目をむかえることになり, 皮膚症状だけに限ってみても, その間にかなりの変化がみられている。これまで数回にわた

って年次検診 (油症認定患者の追跡調査) の結果について報告し, 経年的な変化の分析をおこなっており¹⁾, また 10 年間の総括的な考察もおこなったが²⁾, 年

表 1. 年次別受診者数

年度	51年	52年	53年	54年	55年
男	38	46	54	44	41
女	58	57	73	66	66
計	96	103	127	110	107

次検診の考察は昭和 50 年度までを記載し³⁾、それ以後はまだ報告していない。それ以後の検診が、昭和 51 年度以来すでに 5 回をかぞえるので、今回この最近 5 年間の皮膚症状の変化をまとめ、新しく提案した点数評価法や血中 PCB 分析結果などとの相関性をしらべてみた。

年次検診の受診状況

表 1 に各年度の受診状況を示した。各年度とも実施月日は翌年の 1～2 月で、たとえば昭和 55 年度の検診は、昭和 56 年 1 月末から 2 月にかけておこなわれているので、厳密にいうと多少のずれを生じているが、ここでは公式記録の年次をそのまま示している。また、例年未認定者や新患の受診も相当数あるが、これらの症例は今回の考察からは除外している。すなわち認定患者の受診数が表 1 に示されているわけである。毎年、多少の増減はあるが大体おなじくらいの受診数であり、男子 4 割、女子 6 割くらいの比率になっている。また、ほとんど毎年受診するのは半数程度で、あとの半数は不定期に受診しており、そのため患者群の構成が毎年まったく同じではない。わずかな変動の意義を考察するような場合には、この点を考慮する必要があるが、大体の傾向を推測するには問題はないと考えている。

皮膚重症度の変動

皮膚重症度は、色素沈着・面皰・痤瘡様皮疹を指標として決めているので⁴⁾、近年のように皮膚症状が軽微になってくると、判定が困難な症例が多くなってきた。判定者による個人差も無視できないが、年次検診では少数の担当者のみが診察しているので、ある程度までの客観性は期待できる。0～IV の 5 段階の重症度のほか、各段階の中間段階も設けて判定をおこなった結果を表 2 にまとめて示す。（臨床検査のみの受診例があるため、表 1 の受診者数とは、わずかな相違がある）

これまでの報告と大体おなじような傾向がみられ、毎年それほど大きな変動はないが、徐々に改善（軽症

表 2. 皮膚重症度による分類

重症度	51年	52年	53年	54年	55年
0	25	30	42	38	56
0 I	12	10	17	9	15
I	15	13	16	12	7
I II	4	7	3	5	1
II	10	12	9	15	13
II III	14	11	15	10	6
III	6	14	20	17	7
III IV	1	3	0	2	1
IV	3	2	1	2	1
計	90	102	123	110	107

化）してゆく傾向である。重症例が減少し、軽症例が増加していることは、油症初期と比較すれば、むしろ著明にみとめられるが、表 2 の 5 年間だけでもかなりはつきりと読みとることができる。たとえば重症度 0 の症例についてみると、この 5 年間に 25 例 (27.8 %), 30 例 (29.4 %), 42 例 (34.1 %), 38 例 (34.5 %), 56 例 (52.3 %) と毎年少しづつ増加し、55 年度ではついに過半数を占めるようになっていて、それだけ重症例は減少しているわけである。また重症例でも皮疹の数は大幅に減少している。

油症皮膚症状の点数評価法について

従来の皮膚重症度の基準には定量的な意味がないので、油症が慢性期に移行して皮疹が減少してくると、評価法として少し不満足な点が目立つてくる。われわれはこの点を改善する目的で、新しい点数評価法の試案を発表した⁴⁾。この方法は、従来の重症度判定のもととなつている皮疹を、その数・程度に応じて得点に換算し、総得点で皮疹全体の重症度を示そうという考えかたで作製したもので、とりあげている皮疹の種類や得点のウェイトのつけかたなどにはまだ検討の余地があるが、一応この試案にもとづいて、本法の記載以後の年次検診（すなわち本報で取りあつかっている 5 年間）にあてはめてみた。評価法は表 3 に示すとおりで、得点の分布状況を表 4 にまとめた。表 2 に示した従来の重症度の場合とほぼ同様で、徐々に改善している傾向が明らかに読みとれる。たとえば最も軽症の得点 0—1 点のグループをみると、51 年度の 32 例から 55 年度の 63 例まで、毎年増加している。また試みに全員の平均得点を計算してみると、昭和 51 年度から

表 3. 油症皮疹の点数評価試案⁴⁾

皮 疹	0 点 (—)	1 点 (+)	2 点 (++)	3 点 (+++)	
色素沈着	爪	なし	指趾の一方のみ, うすい 指趾ともにあるがきわ めてうすい	指趾ともにあり, うすい 指趾の一方のみ, かなり 濃い	指趾ともにあり, 濃い
	顔 面	なし	ようやく異常とみとめ られる程度	明らかな色素沈着があ る	高度の色素沈着がある
面 皰	なし	少数が不規則に散在	ある程度数が対称性 に散在	皮疹多数	
痤 瘡 (面皰に炎症を 伴ったもの)	なし	同 上	同 上	同 上	
囊 腫 (面皰がもとに なつて生じた アテローム様 皮疹)	なし	エンドウ大程度のもの が少数	クルミ大までのものが 少数 エンドウ大程度のもの が多数	クルミ大以上 クルミ大までのものが 多数	
化膿傾向 (上記痤瘡や 囊腫がもと になつて化 膿したもの)	なし	時に化膿する (年 2, 3 回くらい)	ややしばしば化膿する (月 1 回くらい)	常時化膿を反覆 多数の化膿巣あり	
マイボーム腺肥大 (圧迫によりチーズ様 眼脂を排出)	なし	やつとみとめる位	やや多い	多 量	

表 4. 皮膚重症度得点数の分布

得 点	51年	52年	53年	54年	55年
0・1	32	32	43	44	63
2・3	24	35	43	29	25
4・5	20	22	13	15	14
6・7	10	7	14	13	2
8・9	3	5	7	6	2
10~13	1	0	2	1	1
14~	1	2	1	2	0
計	91	103	124	110	107

順に 3.12, 3.13, 3.05, 3.10, 1.87 となり, 昭和 55 年度の減少の大きさが目立つ。

次に, この重症度評価点と従来の重症度との相関関係をみるために, 相関図を作製してみた。点数評価の可能なうちでもっとも古い年, すなわち昭和 51 年度のもの (図 1) と, 新しい年として昭和 54 年度のもの (図 2) を示す。(最近年の昭和 55 年度は, 重症度 0 のものが過半数を占め, かたよりが大きすぎるので避けている) 両図ともほとんど同一で, この 2 つの評価法のあいだには密接な相関性があることは, はつき

り断定できそうである。

皮膚重症度と血中 PCB パターンの変動

血中 PCB のパターン分析と定量は, 昭和 48 年度から実施されている。それ以後の変動については, すでに報告したことがあり⁶⁾⁷⁾, 同一症例ではパターンの変化はほとんどないこと, 重症例 (皮膚症状からの判定) では A ないし B パターンであり, C パターンの重症例は少ないことなどの結論を得ている。

この問題を分析するため, 本報告で取りあつかう 5 年間 (ただし昭和 55 年度は, PCB 分析結果がまだ出ていないので省略) と, もっとも古いデータとして昭和 48 年度を加えて, この 5 年間にずっと続けて受診している症例を選び, 皮膚重症度と PCB パターンの判定結果を一覧表にまとめた (表 5)。この 5 年度の受診について 1 回の「欠席」はみとめているが, 受診しない年度が 2 回以上ある症例は除外した。この条件に適合する症例は 55 例で, 毎年の受診数の約半数に相当する。

表が大きくて読みにくいが, すでに報告したように, 同一症例の PCB パターンが固定していることは明瞭で, ほとんど例外がない。皮膚重症度のほうは多

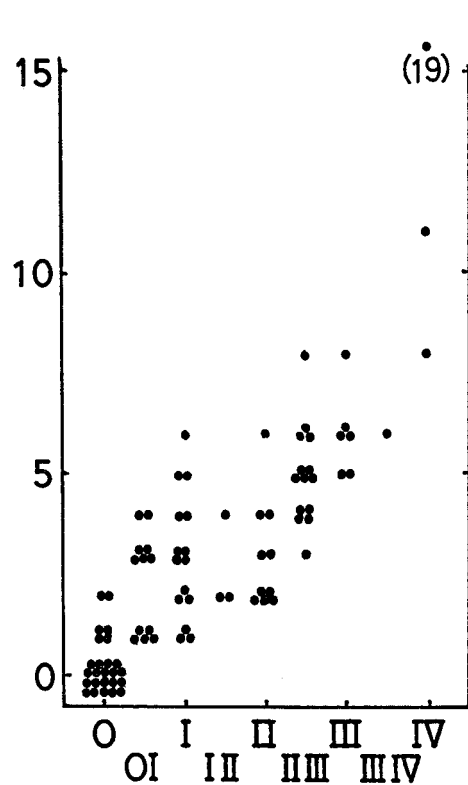


図1. 皮膚重症度と点数評価の相関 (51年度)

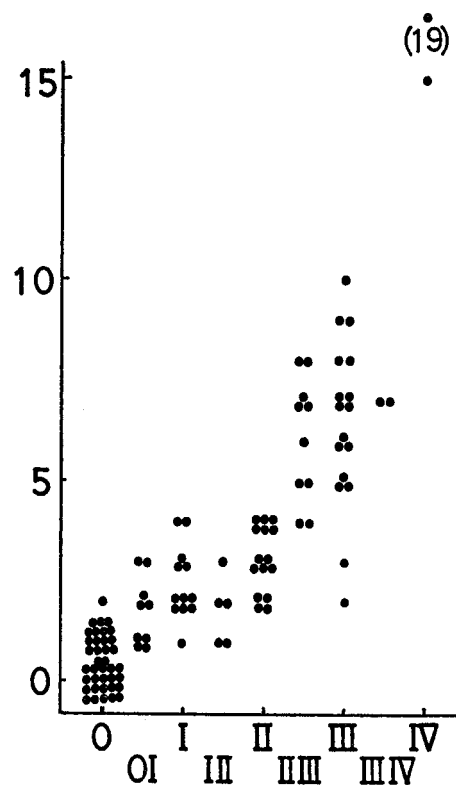


図2. 皮膚重症度と点数評価の相関 (54年度)

表 5. 皮膚重症度と血中 PCB パターンの推移
(各欄の左: 重症度, 右: PCB パターン)

年齢・性別	48 年		51 年		52 年		53 年		54 年	
47 ♂	I	A	0	A	0	A	0	A	—	
46 ♀	III	A	III IV	A	III	A	III	A	III	A
73 ♂	0	A	I	A	0	A	0	A	0	A
47 ♀	III IV	A	II III	A	—	A	I	A	III	A
80 ♂	II	A	0 I	A	0	A	0	A	0	A
63 ♀	II III	A	II III	A	II III	A	0	A	III	A
69 ♂	II	B	I	A	II	A	II	A	—	
62 ♀	III	B	I	A	III	A	III	A	III	A
30 ♂	—	A	III	A	II	A	III	A	—	
46 ♀	II	C	0 I	C	III	C	0	C	—	
14 ♀	III IV	A	II III	A	I	A	0	A	II	A
48 ♂	IV	A	—		III IV	A	III	A	II III	A
44 ♀	IV	A	IV	A	IV	A	IV	A	IV	A
49 ♂	—	A	III	A	III	A	II III	A	II III	A
33 ♀	II	C	0	C	II III	C	II III	C	II	C

年齢・性別	48 年	51 年	52 年	53 年	54 年
55 女	I C	II C	II III C	II III C	II C
65 女	I II A	0 I A	0 I A	0 I A	—
62 女	I A	I A	I A	I A	0 A
51 男	I B	— A	I II A	III A	III A
51 女	IV A	— A	III A	III A	III A
26 男	— A	I A	—	III A	I II A
61 女	I C	0 B	I BC	II III C	—
51 男	I B	0 B	—	0 B	0 A
63 男	0 C	0 I C	I C	I C	I C
62 女	I C	0 I C	0 C	0 C	0 C
48 女	— C	0 B	—	I BC	0 BC
48 男	I A	0 I A	0 A	0 I A	I A
46 女	I A	0 I A	0 A	0 I A	0 I A
55 男	I A	II A	—	III A	II A
43 男	II A	II III A	—	III A	III A
39 女	III IV A	II A	—	II III A	III IV A
16 女	— A	0 A	—	II A	0 A
12 男	— A	0 A	—	0 A	0 A
46 男	III IV B	II A	II III A	III A	—
43 女	0 B	0 A	I A	0 B	—
41 男	— C	II III BC	III IV C	III C	II III C
34 女	— C	I II B	II III BC	0 BC	0 C
11 男	— C	0 B	I II A	0 BC	0 BC
31 男	III BC	—	0 C	0 C	0 C
52 女	0 I B	—	0 I A	I A	I A
25 男	— A	—	0 A	0 A	I II B
66 男	I A	—	I A	I A	II A
57 男	II III B	—	0 B	II III B	I II BC
13 女	— C	—	I II B	0 C	II C
60 女	I C	—	II C	II C	II III C
63 女	—	0 I C	0 C	I BC	0 BC
47 女	—	II III A	I II B	I B	I A
50 男	—	II B	II III BC	II III BC	II III C
55 女	—	0 B	I B	0 I C	I C
48 女	—	0 B	I B	0 C	I C
12 女	—	0 B	0 A	0 BC	0 I B
21 女	—	IV BC	IV A	III C	III IV C
47 女	—	0 I C	0 I C	I C	0 C
48 女	—	I C	0 C	I C	II III C
54 女	—	I C	I C	II III C	III C

少の変動があるが、大体の傾向としては不変ないしやや軽快というところであろう。皮疹が減少・軽快して

も PCB パターンのほうは変化しないため、重症度 0 で A パターンという症例が多くなっている。

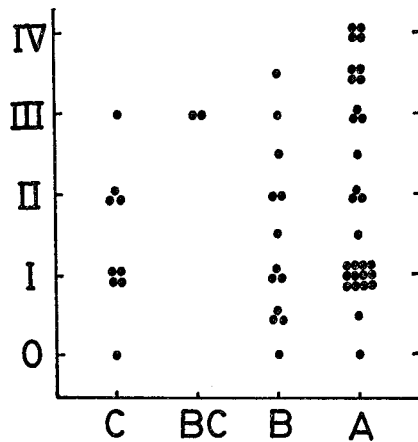


図3. 血中 PCB パターンと皮膚重症度の相関
(48年度)

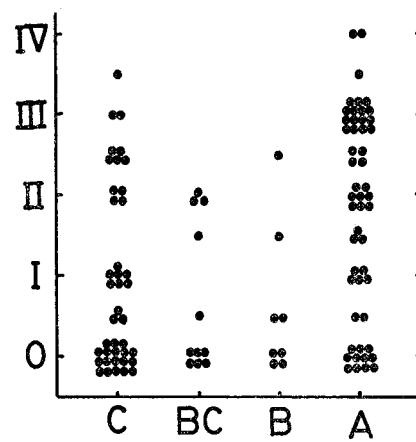


図4. 血中 PCB パターンと皮膚重症度の相関
(54年度)

血中 PCB パターンと皮膚重症度の相関性

皮膚重症度と血中 PCB パターンには、多少の相関性がみられることはすでに報告したが⁶⁾⁷⁾、この2つの因子についても相関図をつくってみた。もつとも古いデータとして昭和48年度(図3)、もつとも新しいデータとして昭和54年度(図4)を選んで示す。いずれのパターンにおいても皮膚重症度は比較的均等に分布しており、相関性は低くて図1・図2のような明らかな相関関係はないが、前に報告した結論すなわち重症者(第IV度)はAまたはBパターンでCパターンがみられない、という事実は、どうやらみとめてよさそうである。前項でのべたように、同一症例ではパターンが変わらずに皮膚重症度のほうは徐々に低下する傾向があるため、図3と図4を比較すると各パターンともに重症度の低い症例が増加し、グラフの下方に集中してゆく傾向がうかがわれる。

考 察

皮膚重症度の変動

皮膚重症度は、はじめの1~2年は改善傾向を示したが、それ以後は不変ないしわずかな改善という状態が続いた⁶⁾。変化が少ないので、毎年みてゆくと不変に近いが、数年おいて比較すれば明らかに改善がみられる、という状態である。ただし、この皮膚重症度は定性的な基準によっているの、皮疹が減少しても消失しないうちは重症度の改善として表現されない。したがって、臨床的印象としては著明な改善があるのに、重症度にはそれが反映されにくい意味があり、重症度から分析した結果よりも実際の改善度のほうが大

きいように思われる。たとえば第III度といえ、初期には痂癬様皮疹(嚢腫形成)が無数にみられる状態であつたが、現在では1~2個みつかうだけという症例が多い。このような不合理な点を改良するために、われわれは点数評価法を工夫した⁹⁾。しかし、この重症度規準によつてみても、徐々に改善傾向はみとめられる。本報告でとりあつかう5年間にもIII、IVグループが減少してO、Iグループが増加する傾向はみられ、ことに重症度0の症例が多くなつてきているのが分る。この5年間では、最新の55年度はとくに著明な改善傾向を示した年度として注目される(表2参照)。

点数評価法について

昭和50年にこの方法を発表して以来、5年間の検診に応用した結果を本報告で検討したが、従来の皮膚重症度と密接な相関関係があること、やはり徐々に減少傾向を示していることが読みとれる。前項と同様に、55年度に著明な減少(改善)がみられ、これは平均点をしらべるという方法でも検証することができた。ただし個人的には例外もあり、必ずしも得点が減少している症例ばかりではない。満点(最重症・21点となる)に近いような症例が依然としてみられることは、油症のなおりにくさを示す事実として注目される。しかし全体的な傾向としては得点は低くなつており、10点をこえる症例は稀で、もつとも最近の昭和55年度では95%が5点以下となつている。

血中 PCB パターンの変動

すでに報告したことと一致して、PCBパターンが変動しにくいことが、表5から確認される。各症例の過去のデータは不明のままで、いわば二重盲検法による判定がおこなわれているという事情を考え合わせる

と、このように例外なく一致しているのは、むしろ驚異的といつてよいほどであり、同一症例はつねに同一パターンを示すという前回の報告を強力に支持している。常識的に考えれば、軽快するにつれてA→B→CというようにPCBパターンも「正常化」してゆくのではないかと思われるが、事実はその予想に反している。表5の中で古いもの(48年度)と新しいもの(54年度)では6年の差があり、その間に皮疹はかなり改善しているが、PCBパターンのほうはまったく変わっていない。

皮膚重症度とPCBパターン

これはあまり明白な相関性に乏しいが、前の報告の結論をほぼ支持する所見であつた。すなわちCパターンの重症例はほとんどなく、Ⅲ・Ⅳ度の重症例はAまたはBパターンである。ただこの法則には例外があるが、おおざっぱな考察としては、重症例はAパターンのほうへ傾きやすいといえる。そして前項でのべたように同一症例のパターンは不変なので、重症例はAパターン(ときにBパターン)ではじまり、皮疹が改善して重症度0となつてもやはりA(またはB)のまま持続している。外見上は治癒したように見えても、このような点からは決して完治していないといふことができる。さらに年月が経過すれば真の治癒(AパターンがCパターンになる)がおこるか否か、今後の検索をつづけたい。

なお血中PCBの分析は、パターン解析のほか定量値も出ているが、すでにのべたことがあるように⁶⁾、近年のように低値となつてからは他の健康対照群と有意差のない範囲内で不規則に変動するのみであり、あまり意味のある考察ができそうにないので、今回の分析からは除外した。

ま と め

昭和51年度から55年度までの5年間の油症一斉検診の結果について、皮膚症状を中心にしてまとめ、考察をおこなつた。

1) 皮膚重症度は、徐々に軽症群が増加して軽快す

る傾向であるが、変化は小さい。ただし最終の昭和55年度は、かなりはつきりした改善傾向がみられた。

2) われわれが昭和50年に提案した新しい点数方式による皮膚の重症度評価法をあてはめ、やはり点数の減少(改善)傾向をみとめた。最終の昭和55年度では、95%の症例が5点以下(満点21点)であつた。

3) この点数評価法は、従来の皮膚重症度ときわめて密接な相関関係を示した。

4) 昭和48年、51～54年の5年間について、ずっと受診している55例の皮膚重症度と血中PCBパターンの変動をしらべた。その結果、各症例のPCBパターンは年月がたつても不変であるというわれわれの報告を再確認した。

5) 皮膚重症度と血中PCBパターンの相関関係はあまり密接でないが、Cパターンの重症例はあまりなく、Ⅲ・Ⅳ度の重症例はほとんどA(ないしB)パターンであるという、以前の報告にほぼ合致した。

文 献

- 1) 利谷昭治, 北村公一: 油症の臨床的観察とくに皮膚所見のその後の経過. 福岡医誌 62: 132-138, 1971.
- 2) 利谷昭治: 昭和46年度一斉検診による油症患者の皮膚所見. 福岡医誌 63: 46-49, 1972.
- 3) 幸田 弘, 旭 正一, 利谷昭治: 昭和47年度一斉検診による油症患者の皮膚所見. 福岡医誌 65: 81-83, 1974.
- 4) 旭 正一, 幸田 弘, 利谷昭治: 昭和48年度, 49年度一斉検診における油症皮膚重症度の変動と新しい皮膚重症度評価試案. 福岡医誌 66: 629-634, 1975.
- 5) 利谷昭治, 旭 正一, 幸田 弘: 昭和50年度一斉検診における油症患者皮膚所見の推移. 福岡医誌 68: 152-155, 1977.
- 6) 旭 正一, 幸田 弘, 占部治邦, 利谷昭治: 油症の皮膚症状10年間の推移. 福岡医誌 70: 172-180, 1979.
- 7) 幸田 弘, 増田義人: 九州大学附属病院油症外来患者の血中PCBと臨床症状との関係. 福岡医誌 66: 624-628, 1975.

発病 12 年後の油症患者の臨床神経学的検討

九州大学医学部脳研・神経内科学教室（主任：黒岩義五郎教授）

柴 崎 浩

Neurological Studies of Patients with Rice Oil Disease 12 Years After the Onset

Hiroshi SHIBASAKI

Department of Neurology, Neurological Institute, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan

Twenty-six patients with Rice Oil Disease, which took place by accidentally ingesting the rice oil contaminated with polychlorinated biphenyl (PCB) in the summer of 1968, were studied from the viewpoint of clinical neurology at the time of the 1980 Annual Physical Examination for the Rice Oil Disease. Fifty-eight percent of patients still complain of headache, severe headache being present in 12 percent. This rate did not differ from that found at the 1973 Annual Physical Examination. Paresthesia in the limbs was complained of by 46 percent of patients, the rate being approximately the same as that reported in 1969. But the impairment of superficial sensation was found only in 8 percent, which is significantly smaller as compared with the rate reported in 1969. Ankle jerk was absent in 15 percent and decreased in 19 percent of patients. This was more frequently found in patients with paresthesia than in those without. Ankle jerk was lost or decreased in a greater proportion of patients in the present series as compared with that from the 1969 report, but the aging factor of the patient population might be responsible for the apparent increase of the abnormality. The presence or absence of headache, limb paresthesia or of ankle jerk was not correlated with either the blood PCB concentration or the pattern of PCB. In a patient who showed a mildly decreased motor nerve conduction velocity (MCV) in the right ulnar nerve in 1968, the repeated study with the same technique in 1980 revealed normal MCV. Nineteen percent of all patients had occasional attacks of colic-like abdominal pain for several years after the onset of the illness, but very few patients have the symptom recently. There was no evidence of autonomic nervous system dysfunction.

緒 言

1968 年夏より polychlorinated biphenyl (PCB) などの混入した食用油による中毒症が西日本を中心に集団発生した。1969 年黒岩ら⁵⁾は、23 名の本症患者を検索し、39%に四肢末端のしびれ感または疼痛を、22%に四肢末端の表在感覚鈍麻を、17%に深部反射の消失または著明な低下を認めた。さらに運動神経伝導速度は正常であつたが、腓腹神経の感覚神経伝導速度が 23 名中 39%において低下していることを認め、感覚神経障害を主体としたニューロパチーが起ることを証明した⁵⁾。また 1971 年永松と黒岩⁷⁾は、本症患者

20 名の脳波を検討したが、異常を認めなかつた。頭痛も油症患者が訴える症状の中で最も多いものの 1 つである。岩下ら³⁾は 1973 年度油症一斉検診の成績に基き、未認定者を含む 208 名中約 60%が頭痛を訴えること、しかし頭痛を訴えるものと訴えないものとの間に平均血中 PCB 濃度の差がないことを報告した。

発病から 12 年を経た今日、なお油症患者の多くが頭痛や四肢末端のしびれ感のような神経症状を訴える。このような訴えを客観的に評価することは非常に困難であるが、今回は 1980 年度油症一斉検診と九大油症外来で著者自ら診察し得た症例について、神経症状の有無を検索するとともに、2、3 の神経学的徴候

(所見)に注目して客観的異常の有無を検討した。また最近の血中 PCB 濃度と各症候との関連を明らかにしようとした。

1973 年までに死亡した油症患者 22 名中、9 名において悪性新生物が死因であつたという¹²⁾。これと PCB との関連はまだ明確ではないが、体内に摂取されたと考えられる時期から長期間たつてから別の疾患が発症し易くなるとすれば、重大な問題である。そこで今回は少数例ではあるが、油症患者に最近発症したと考えられる神経疾患について検討を加えた。

対 象 と 方 法

対象は 1980 年度油症一斉検診または九大油症外来を訪れた油症認定患者のうち、著者が自ら診察した 26 名である。その内訳は男 16 名、女 10 名であり、診察時の年齢は 26 才から 81 才に及び、平均 56 才 (標準偏差 s. d.=13.8 才) である。問診内容に頭痛、腹痛、じんじん感 (paresthesia) を含め、とくにこの 3 点については入念にたずねた。とくに診察時におけるそれらの症状の有無だけではなくて、油症発病当初はあつたが現在は消失しているものについても質問した。診察はまず全身生理学的所見をとり、それから神経学的診察を行つたが、とくに瞳孔と足首反射に重点をおいた。まず瞳孔に注目し、大きさ、非対称、ペンライトによる対光反射を検索した。足首 (アキレス腱) 反射 (ankle jerk) は被検者を仰臥位にして、ハンマーを用いて惹起したが、それで出現しない場合は、被検者に両手指を屈曲させて組み合せ、互いに引っ張り合させる助長法 (Jendrassik 法) を利用して検査した。それでも反射が認められない場合、椅子の上に両膝をつかせた姿勢 (kneeling position) で検査した。それでも反射が全く誘発されない場合を足首反射消失と判定した。

1974 年度から 1979 年度までの油症一斉検診で測定された血中 PCB 濃度のうち、各症例について最も新しい値を用いて、各症候との相関を検討した。

臨床的にニューロパチーがあると考えられた 1 症例で、末梢神経伝導速度を計測し、12 年前発病当初の成績と比較した。尺骨神経の運動神経伝導速度 (motor nerve conduction velocity, MCV) は、手根部および肘部に各 1 対の表面電極をおいて尺骨神経を電気刺激し、小指球筋の誘発筋電図を表面電極で記録して、手根部と肘部の間の距離を誘発筋電図の立ち上り潜時の差で除して求めた。脛骨神経の MCV は、足首 (踝) および膝窩部に表面電極をおいて脛骨神経を

電気刺激し、足指屈筋の誘発筋電図を足底部表面電極によつて記録して、上と同様にして求めた。橈骨神経の感覚神経伝導速度 (sensory nerve conduction velocity, SCV) は、母指に輪状電極を巻き電気刺激し、手根部橈骨神経上に表面電極をおいて誘発活動電位を記録することによつて求めた。腓腹神経の SCV は、足首より 14 cm 近位側の腓腹神経上に表面電極をおいて電気刺激し、踝部の腓腹神経上から表面電極で誘発活動電位を記録して、逆行性に求めた。電気刺激はいずれも持続 0.2 msec の矩形波パルスを用い、刺激強度はいずれも supra-maximal (超最大) とした。

結 果

1) 頭痛

検診時明らかに頭痛が主訴の 1 つになつていものは、26 名中 3 名 (12%) であつた。うち 1 名の頭痛は、1974 年より始まつた持続約 1 日の突発性頭痛であり、片頭痛と考えられた。また検診時主訴にはなつていないが、質問すると軽度頭痛があると訴えるものが 26 名中 12 名 (46%) であつた。また発病当初は頭痛があつたが最近はないというものが 2 名あつた。発病以来頭痛を覚えたことのないものは 26 名中 9 名 (35%) であつた。すなわち検診時に何らかの程度の頭痛を訴えるものは 26 名中 15 名 (58%) であるが、程度の強いものはうち 3 名 (12%) ということになる。検診時の頭痛と血中 PCB の関係をみると (表 1)、頭痛のある群とない群との間に血中 PCB の有意差はなかつた。また PCB パターンにも有意の差違は認められなかつた。

表 1. 1980 年度検診時の頭痛と血中 PCB の関係

	頭		痛	
	なし	問診で あると 答える	主訴	計
症 例 数	11	9	2	22
血中 PCB				
平均値 (ppb)	2.7	3.1	3.5	3.0
s. d. (ppb)	1.6	1.6	0.7	1.5
パターン A	5(45)	4(44)	1(50)	10(45)
B	1(9)	2(22)	0	3(14)
BC	1(9)	1(11)	0	2(9)
C	4(36)	2(22)	1(50)	7(32)

() 内%

表 2. 検診時しびれ感と血中 PCB の関係

	し び れ 感		
	な し	あ り	計
症 例 数	13	9	22
血中 PCB			
平均値 (ppb)	2.9	3.0	3.0
s. d. (ppb)	1.6	1.5	1.5
パターン A	6(46%)	4(44%)	10(45%)
B	2(15)	1(11)	3(14)
BC	1(8)	1(11)	2(9)
C	4(31)	3(33)	7(32)

2) 腹痛

疝痛様の腹痛発作については26名中5名(19%)がそれを訴えた。うち4名は発病当初数年間腹痛発作を経験したが現在はなく、1名のみ現在でも時々あるという。これは持続1時間位の激しい腹痛であるが、悪心、嘔吐や下痢を伴うことはなく、頻度は余り多くない。

3) しびれ感

検診時四肢に何らかのしびれ感(paresthesia)を訴えたものは26名中12名(46%)であつた。その他に1名は以前しびれ感を訴えたが最近はない。発病以来しびれ感を訴えたことのないものは13名(50%)である。しびれ感は大抵の症例では四肢末端のじんじん感であり、実際に感覚鈍麻を自覚することは稀であつた。3名ではしびれ感が非対称であつた。感覚検査では1名で両足に軽度の痛覚鈍麻が認められ、他の1名で触覚刺激に対して不快な異常感覚(dysesthesia)を生じた。検診時のしびれ感の有無と血中 PCB の関係をみると(表2)、しびれ感を訴える群と訴えない群の間に有意な差はなかった。また PCB パターンにも相違は認められなかった。

4) 瞳孔異常

瞳孔は26名中24名(92%)で全く異常を認めなかった。大きさ、形、左右対称性、対光反射いずれも正常であつた。ただ1名でのみ瞳孔の大きさと視力は正常であつたが対光反射が遅鈍であつた。なおこの症例では先天性魚鱗癬があつた。また他の1名では左に Horner 徴候が認められた。

5) 足首反射

足首反射は26名中17名(65%)において安静状態で出現した。亢進しているものは全くなかった。5名(19%)では Jendrassik 法でやつと出現した。そして残りの4名(15%)では、助長法を用いても足

表 3. 慢性油症患者における四肢末端のしびれ感と足首反射の関係

		足 首 反 射			
		正 常	低 下	消 失	計
しびれ感	な し	12	2	0	14
	あ り	5	3	4	12
	計	17	5	4	26

(0.05 < P < 0.06, χ^2 検定)

表 4. 慢性油症患者の年齢と足首反射

年令	20—29	30—39	40—49	50—59	60—69	70—79	80—89	計
足首反射								
正 常	1	3	3	4	5	1	0	17
低 下	0	0	0	3	0	1	1	5
消 失	0	0	0	1	2	1	0	4
計	1	3	3	8	7	3	1	26

(0.07 < P < 0.08, χ^2 検定)

表 5. 足首反射と血中 PCB の関係

	足 首 反 射			
	消 失	低 下	正 常	計
症 例 数	4	3	15	22
血中 PCB				
平均値 (ppb)	2.8	3.0	3.0	3.0
s. d. (ppb)	1.7	1.0	1.6	1.5
パターン A	2(50)	2(67)	6(40)	10(45)
B	0	1(33)	2(13)	3(14)
BC	0	0	2(13)	2(9)
C	2(50)	0	5(33)	7(32)

() 内%

首反射は出現しなかった。3)で検討したしびれ感と足首反射の関係をみると表3のようである。すなわち四肢末端にしびれ感を訴える症例に足首反射が消失または低下するものが多い傾向を示した(0.05 < P < 0.06, χ^2 検定)。26名を年齢別に分け、足首反射と年齢の関係をみると表4のようになる。足首反射の消失または低下は老年者に多い傾向を示すが、推計学的に有意の差はなかった($\chi^2=3.19$, 0.07 < P < 0.08)。足首反射と血中 PCB の関係は表5のようであり、足首反射の消失群、低下群および正常群の間には血中 PCB の有意差はなかった。また PCB パターンにも相違は認められなかった。

6) その他の神経症候

81才男子患者が1980年初めより歩行障害を訴え、神経学的には頸部および両側上肢の固縮、仮面様顔貌、パーキンソン様姿勢と歩行を示し、パーキンソン病と診断された。51才男子症例は1977年より6回失神発作を起した。これは必ずしも起立直後ではなく、電車の中などで立っていて何ら前駆症状なく失神し、うずくまるように倒れ、約1分で回復するようなものであった。間歇期脳波は正常で、突発性異常はなかった。起立性低血圧も証明されなかった。67才男子は、起立直後に一過性の回転性眩暈を覚えるようになったが、神経学的に他覚的異常所見を認めなかった。その他53才女子で、臨床的に頸椎症と考えられる症例があった。

7) 末梢神経伝導速度

51才男子で、四肢末端にじんじん感が強く、刺激に対して dysesthesia を生じ、足首反射が低下している症例において、MCV と SCV を計測した。右尺骨神経の電気刺激では誘発筋電図の振幅 6 mV 以上で正常、末梢運動潜時 (distal latency) 2.4 msec (正常 1.6~4.0 msec), MCV 60.3 m/sec (正常 47~75 m/sec) であった。右脛骨神経の検索では、振幅 7.3 mV で正常、末梢運動潜時 3.6 msec (正常 3.5~6.9 msec), MCV 53.0 m/sec (正常 41~53 m/sec)。右手母指の電気刺激による橈骨神経活動電位は、振幅 8 μ V、立ち上り潜時 2.2 msec、頂点潜時 2.4 msec, SCV 53.6 m/sec で全て正常。右腓腹神経の検索では、活動電位の振幅 9 μ V、立ち上り潜時 2.6 msec、頂点潜時 2.9 msec でいずれも正常であった。なお本例では1968年12月にほぼ同一の方法を用いて検索が行われており、その成績を今回のと比較すると表6のようである。すなわち1968年には右尺骨神経の MCV が軽度低下していたが、今回は全て正常であった。

表 6. 同一油症患者における発病当初と12年後の末梢神経伝導速度 (m/sec)

		1968年 12月	1980年 10月	正常値
MCV	右尺骨神経	46.2	60.3	47<
	右脛骨神経	41.5	53.0	41<
SCV	右橈骨神経	50.9	53.6	49<
	右腓腹神経	53.9	頂点潜時 2.9 msec	<4.0 msec

MCV: 運動神経伝導速度

SCV: 感覚神経伝導速度

考 察

今回の慢性油症患者の臨床神経学的検討は、少数例に基くものではあるが、著者自らが問診、診察を行ったことを特徴とする。その結果発病後12年たった今日でも、神経症状を訴える油症患者が多いことが判明した。頭痛は患者の58%が訴えており(うち程度の強いものは12%であったが)、これは岩下³⁾による1973年度一斉検診の成績に基く頭痛の頻度(約60%)とほぼ等しい。四肢のしびれ感は46%の患者が訴えており、黒岩⁵⁾による発病当初の頻度(39%)と変らない。もちろんここではしびれ感の程度の比較は行えないが、実際診察によつて表在感覚鈍麻または異常感覚が認められたものは今回のシリーズでは2名のみ(8%)であり、これは発病当初の頻度(22%)⁵⁾よりも少ないので、程度も軽くなつていくことが推定される。足首反射については、今回の26名中15%に消失、19%に低下していたが、これは発病当初の深部反射の消失または著明な低下の頻度⁵⁾(17%、ただしこれは足首反射に限らない)よりも多い。しかしながら、足首反射は老年者では消失ないし低下するものが少なくないといわれている。ちなみに1969年の黒岩⁵⁾の23名の油症患者の年齢は7~60才で平均30才であるのに対して、今回の26名の年齢は26~81才で平均56才であり、50才以上の患者が73%を占めた。また今回の油症患者の年齢と足首反射の関係をみると、表4のように足首反射が消失または低下するのは50才以上の患者に限られていた。従つてこの足首反射の消失、低下例の増加は、加齢による変化である可能性が否定できない。

さらに頭痛、四肢のしびれ感、足首反射について、それぞれ血中 PCB 濃度および PCB パターンとの関連を検討したが、各々の症候の有無と PCB の濃度あるいはパターンとは有意の相関を示さなかった。頭痛の有無と PCB の関係については、すでに岩下³⁾が同様の成績を発表している。

以上述べてきたように、発病12年後の油症患者になお末梢神経障害が存在するか否かは非常に難しい問題であるが、少なくとも発病当初は村井⁶⁾による SCV の低下の証明もあり、ニューロパチーが存在したものと考えられる。今回1名ではあるが当初とはほぼ同一方法で末梢神経伝導速度を測定し、前回異常であった尺骨神経の MCV の正常化を認めたことは、末梢神経障害の改善を示唆するものと思われる。神経症候以外では、発病10年後の調査によつて、皮膚症

状¹⁾, 眼症状⁴⁾, 口腔病変²⁾, 各種臨床検査所見⁹⁾¹⁰⁾ がいずれも明らかな改善を示している。

実験的神経障害に関しては, 1971 年小川⁸⁾ はラットにカネクロール 400 を 1 日 0.3~0.5 ml/kg 連続経口投与し, 1 週間目頃から坐骨神経の MCV 低下を認め, 組織学的には節性脱髄の初期像と考えられる所見と大径線維消失の傾向を見出した。しかし大西ら¹¹⁾ はサルにカネクロール 400 を 1 日 0.5 mg/kg を 28~101 日間投与したが, 中枢および末梢神経系に組織病理学的異常所見を認めなかった。

油症患者に疝痛様の腹痛発作が起ることはよくいわれることであるが, その頻度はまだ明らかでない。今回の 26 名中 19 % が発病当初数年間, 持続 1 時間位の激しい腹痛発作を時々来したという。現在もそれを訴える患者は極めて少なく, 1 名のみであった。この腹痛発作の機序は不明であるが, 脊髄嚢や鉛中毒の疝痛に類似した訴えと考えられた。そこで自律神経機能の一環として, 最も簡単に検査できる瞳孔について検討したが, 大部分の患者で異常を認めなかった。また失神発作を呈する患者が 1 名いたが, 起立性低血圧は証明されなかった。今回系統的には調査しなかったが, 発汗異常, 下痢, 便秘などを訴える患者は多くなく, 少なくとも著明な自律神経障害はないものと思われる。

油症患者に他の疾患が合併し易いのではないかという考えは, たとえば剖検例において悪性新生物による死因が一般人口よりも多いことを示唆するような成績¹²⁾ に基づく。神経疾患については, 今回の 26 名中パーキンソン病, 失神, 姿勢性回転性眩暈, 頸椎症各 1 名ずつが見出された。これらはいずれも壮年期以後の人口には稀でない疾患であり, さらに今回の母集団が小さいので, 結論は出せない。

結 語

発病後 12 年目の油症認定患者で, 1980 年度油症一斉検診または九大油症外来で著者が診察した 26 名について, 臨床神経学的に検討を加えた。その結果, 頭痛は 58 % に訴えがあり (うち程度の強いものは 12 %), 1973 年度一斉検診時の頻度と変らなかった。四肢のしびれ感には 46 % にあり, 発病当初と変らなかったが, 表在感覚低下は 8 % のみで, 減少していた。足首反射は 15 % に消失, 19 % に低下しており, 四肢のしびれ感のあるものに多く, 発病当初の頻度より増加しているようであるが, 加齢の影響が否定できなかつ

た。なお頭痛, 四肢のしびれ感, 足首反射の消失, 低下は, 血中 PCB 濃度またはそのパターンとは相関関係を示さなかった。発病当初尺骨神経の運動神経伝導速度が軽度低下していた 1 名で, 12 年後の検索で正常化していた。26 名中 19 % が, 発病当初数年間疝痛様の腹痛発作が生じたことを憶えているが, 現在はほとんどなかった。臨床的に自律神経障害の存在を積極的に示唆する所見は得られなかった。

筋電図学的検査をしていただいた産業医科大学神経内科村井由之教授に深甚の謝意を表す。また恩師黒岩義五郎教授の御指導と御校閲を感謝する。本研究は厚生省油症治療研究費により補助を受けた。

文 献

- 1) 旭 正一, 幸田 弘, 占部治邦, 利谷昭治: 油症の皮膚症状. 10 年間の推移. 福岡医誌 70: 172-180, 1979.
- 2) 福山 宏, 阿南ゆみ子, 赤峰昭文, 青野正男: 油症患者における口腔病変の推移. 福岡医誌 70: 187-198, 1979.
- 3) 岩下 宏, 志田堅四郎, 増田義人: 慢性油症患者における頭痛, 四肢異常感と血中 PCB. 福岡医誌 68: 139-144, 1977.
- 4) 向野利彦, 山名泰生: 油症患者の眼症状 (第 4 報). 発症 10 年後の検討. 福岡医誌 70: 181-186, 1979.
- 5) 黒岩義五郎, 村井由之, 三田哲司: 油症患者における神経学的所見. 福岡医誌 60: 462-463, 1969.
- 6) Murai, Y. and Kuroiwa, Y.: Peripheral neuropathy in chlorobiphenyl poisoning. Neurology, 21: 1173-1176, 1971.
- 7) 永松啓爾, 黒岩義五郎: 油症患者における神経学的所見. その脳波所見について. 福岡医誌 62: 157-158, 1971.
- 8) 小川道子: 塩化ビフェニールによるニューロパチーの電気生理学的ならびに形態学的研究. 福岡医誌 62: 74-78, 1971.
- 9) 奥村 恂, 村井宏一郎, 赤木公博, 山中正義, 尾前照雄: 油症 (PCB 中毒) における臨床検査所見の推移. 福岡医誌 70: 199-207, 1979.
- 10) 奥村 恂, 山中正義, 中牟田澄子: 油症 (PCB 中毒) 患者における血清トリグリセライド値の 10 年間の推移. 福岡医誌 70: 208-210, 1979.
- 11) 大西晃生, 岩下 宏: PCB 投与サルの神経病変. 福岡医誌 70: 150-152, 1979.
- (吉原新一ら: サルの PCB 中毒症に関する予備的研究. 福岡医誌 70: 135-171, 1979 の一部).
- 12) 占部治邦: 序言. 油症と PCB に関する研究報告集, 第 4 集. 福岡医誌 65: 1-4, 1974.

油症患者の骨関節症状とその治療

九州大学医学部整形外科教室（主任：西尾篤人教授）

貝原 信 紘・香 月 一 朗・佛 淵 孝 夫

Orthopaedic Symptoms and Treatment of the Patients with PCB Poisoning

Nobuhiro KAIBARA, Ichiro KATSUKI
and Takao HOTOKEBUCHI

*Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Sixteen patients with chronic PCB poisoning were referred to the Department of Orthopaedic Surgery of Kyushu University Hospital. Out of 16 patients, six showed symptoms or signs of premalleolar bursitis. Three patients showed swelling at the site of tibial tuberosity, these were later proved to be granulomas. Four patients complained of back pain or low back pain and three of them showed radiological signs of spondylosis deformans.

Six patients complained of arthralgia, one of them showed osteoarthritic changes of both knees, one showed Heberden's nodes, and the others revealed no clinical findings.

Of the six patients with premalleolar bursitis, two received aspiration and local corticosteroid injection or anti-inflammatory drugs, and the remainder received no treatment.

昭和43年に発生した、いわゆる油症患者では定型
的な皮膚所見、眼所見のほか内科的徴候、呼吸器症
状、歯科領域の症状など多彩な自覚症状がみられる。
整形外科領域と考えられる骨関節症状についてみる
と、関節部の疼痛あるいは腫脹、足踵の疼痛、腰背部
痛などが報告されている。今回われわれは九州大学医
学部整形外科を受診した油症患者にみられる症状、所
見およびその治療法について検討したので報告する。

対象ならびに方法

毎年実施されている油症一斉検診に整形外科は参加
していないため、九州大学医学部附属病院油症外来を
通して、または独自に九州大学医学部整形外科を受診
した油症患者を対象とした。昭和43年以降現在に至
るまでの全診療録から油症患者に関するものを全て抽
出し、診療録に記載されている事項から症状、所見な
らびに治療法について調査した。

結 果

はじめに油症患者の受診状況についてみると、昭和
44年に3名が受診し、昭和45年6名、昭和47年5
名、昭和48年2名、昭和49年1名の計17名が受診
しているが、昭和50年以降の新患者受診者はない。
記載事項が不備である1名を除いた16名について検
討した。

性別では男性6名、女性10名であり、年齢別には
15才以下5名、膝部の腫脹を訴えた22才男性例を除
く他の10名は36才から70才の中高年齢者であった。

自覚的な訴えで最も多かったのは、関節痛と関節部
の腫脹とともに6名、次いで背部あるいは腰部痛の4
名、関節雑音2名、以下、手足のシビレ、足踵の疼
痛、指がそついていると訴えたもの各1名である。

次に愁訴別にみた他覚所見あるいは整形外科的診断
名を記すと、関節痛を訴えた6名のうち1名は70才
男性で、変形性膝関節症の所見が認められ、1名は52
才女性で、両手指の関節痛を訴えていたがヘバーデン

結節と診断されている。他の4名については、疼痛を訴えた当該関節に他覚所見を認めず、自覚的な訴えのみか、過去に関節痛があつたというものである。関節部の腫脹を訴えた6名のうち、3名には足関節部に粘液囊炎が認められ、残りの3名は膝部とくに脛骨結節部に小指頭大ないし母指頭大で、弾性軟の皮下腫瘤が認められ、後述する如く、いずれも摘出術を受けており肉芽腫と診断されている。このうちの1名には殿部にも同様の腫瘤が認められた。さらに関節部の腫脹をともに訴えなかつた患者の中で3名に、足関節部の粘液囊炎が見い出されている。背部痛あるいは腰痛を訴えた4名のうち、3名に変形性脊椎症の所見があり、他の1名は自覚的な訴えのみで、他覚的には何も異常所見を認めていない。関節雑音を訴えた2名のうち1名については関節造影が施行されているが、異常所見を認めていない。他の1名も、明らかに雑音が認められるが、疼痛もなく、レ線的にも異常所見を認めていない。手足のシビレを訴えた1名は70才男性で、他覚的には著変なく、頸部脊椎症によるものであらうと考えられた。足腫の疼痛を訴えた1名は、踵骨部に圧痛があるが、とくに炎症所見もなく、レ線的にも異常所見を認めていない。指がそつていると訴えた5才男児は、両手指を伸展すると近位指間関節で過伸展し、swan neck になると記載されている。

治療法についてみると、7名が何らかの治療を受けている。前述した如く、脛骨結節部に軟部腫瘤を形成した3名は、いずれも腫瘤摘出術を受け肉芽腫と診断されている。足関節部粘液囊炎と診断された6名のうち、1名は貯溜液を穿刺排液したのちステロイド剤注入を受けており、他の1名は穿刺排液したのち消炎鎮痛剤の投与を受けているが、1回の受診のみであり、その後の経過は不明である。腰痛を訴えた1名と多関節痛を訴えた1名は、いずれも消炎鎮痛剤の投与を受け軽快している。残りの9名は症状が軽かつたためあるいは自覚症状のみで他覚的所見に乏しいため放置されている。

考 察

油症診断基準補遺の中で、参考となる症状と所見の

項に粘液囊炎が記載されているが、九州大学医学部整形外科を受診した油症患者16名中6名と高率に足関節部粘液囊炎が認められた。粘液囊炎とは粘液嚢に機械的な刺激が加わることにより炎症をおこして、粘液嚢水腫をきたしたものであり、これが持続すれば粘液嚢壁の肥厚をきたすものである。足関節部の粘液囊炎は正坐という生活様式を身につけた日本人、とくに中年以降の女性に、しばしば認められる疾患で、事実、当科を受診して足関節部粘液囊炎と診断された6名も、すべて38才から55才までの女性である。治療法については、結果の項で述べた如く、穿刺排液のうち、ステロイド剤の注入を行ない、消炎鎮痛剤の投与が行なわれているが、これは日常の診療でしばしば用いられる治療法である。脛骨結節部の肉芽腫が3名に認められ、いずれも摘出術を受けているが、このような部位に肉芽腫が発生するという事実は、成書にも記載がなく、有意の所見と考えられる。しかし、いずれも詳細な組織学的検索がなされておらず、油症との直接的関係を明らかにすることは困難であつた。腰痛と多関節痛を訴えた2名に消炎鎮痛剤が投与され症状の軽快をみているが、いずれも単なる対症療法であり特筆すべきものではない。

ま と め

昭和44年から昭和49年までに九州大学医学部整形外科を受診した油症患者16名の骨関節症状、所見および治療法について報告した。

文 献

- 1) 天児民和改編：神中整形外科。南山堂1975。
- 2) 旭 正一，幸田 弘，占部治邦，利谷昭治：油症の皮膚症状，10年間の推移。福岡医誌 70：172-180，1979。
- 3) 五島応安，樋口謙太郎：油症（塩化ビフェニール中毒症）皮膚科学的症候論。福岡医誌 60：409-428，1969。
- 4) 名倉重雄，天児民和，水町四郎編：臨床整形外科全書，第6巻。金原出版1965。
- 5) 杉山浩太郎：油症とPCBに関する研究報告第6集。序言。福岡医誌 68：93-95，1977。

油症患者の眼症状(第5報)

瞼板腺圧迫排出物中 PCB の検出

九州大学医学部眼科学教室

向 野 利 彦・大 西 克 尚

福岡市衛生試験所

廣 中 博 見

Polychlorinated Biphenyls in the Tarsal Gland
Contents of Yusho Patients

Toshihiko K. KOHNO and Yoshitaka OHNISHI

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan

Hiromi HIRONAKA

Fukuoka City Hygienic Laboratory, Fukuoka 810, Japan

In 50 out of 87 Yusho patients, contents in tarsal glands were squeezed from the eyelid, and 19 samples were obtained to analyze for polychlorinated biphenyls (PCB) by gas chromatography. PCB was detected in 13 samples.

油症患者にみられる眼症状のうち、主要な他覚的所見は瞼板腺分泌亢進と結膜の異常色素沈着であると、当初は記載された¹⁾。その後サルの実験的 PCB 中毒症および油症患者剖検例の眼瞼を組織学的に検討した結果、瞼板腺角化嚢胞の形成とその内容物の排出が、臨床的に瞼板腺分泌亢進と認められたと考えられるに到った²⁾¹¹⁾。しかし油症を起こしたライスオイル中に含まれたポリ塩化ビフェニール (PCB) を中心とした原因物質⁷⁾が瞼板腺角化嚢胞を生じる機序は不明であり、油症患者の瞼板腺から PCB などを検出した報告もみられない。

油症は発症からすでに10数年経過したにもかかわらず、油症患者の眼瞼を圧迫すると瞼板腺内容物の排出がみられる。今回、その排出物を対象に PCB の検出を試みた。その結果十分な量の排出物を得られた症例では、PCB 濃度とパターンが把握できたので報告する。これは PCB を中心とした油症の原因物質が、依然として瞼板腺に病変を惹起していることを示唆するものであり、また慢性化して不鮮明となつた油症の眼症状²⁾を再検討するうえで重要な知見と考えられる。

表 1. 年令別・性別患者数

	0— 10	11— 20	21— 30	31— 40	41— 50	51— 60	61— 70	71—	計
男	2	2	0	3	8	9	6	3	33
女	0	1	3	8	14	14	10	4	54
計	2	3	3	11	22	23	16	7	87

対象および方法

1980年11月～12月に行われた昭和55年度油症患者一斉検診(追跡調査)において、福岡市および北九州市で行われた検診を受けた油症認定患者87名を対象とした。その年令別、性別患者数は表1に示した。

検診は眼脂過多、眼瞼浮腫、眼瞼・結膜色素沈着、瞼板腺嚢胞形成、瞼板腺白色チーズ様物質排出の5項目について、問診と前眼部検査を行い、明らかに油症と関係あるものを(+)、疑わしいが他疾患による可能性を否定できないものを(±)として記載した。とくに瞼板腺の所見に関しては、他に瞼板腺の不規則配列、消失・癰痕化など認められた所見を付記するようにした。また眼瞼圧迫により排出される瞼板腺内容物

表 2. 眼 症 状

年 令		0—10		11—20		21—30		31—40		41—50		51—60		61—70		71—		計
		男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	
眼 脂 過 多	+					1	6	1	6	3	6	4	5			2		30
	±			2	1	2	2	1	2	6	7	5	5	2	3	2	1	43
	—	2						1		2	1	1	3		2	1	1	14
眼 瞼 浮 腫	+									1				1				2
	±											2	1	1	1	1	3	9
	—	2		2	1	3	8	7	14	7	13	5	8			2	1	76
眼瞼・結膜色素沈着	+			1				1	6	6	6	5	6	4	2	1	1	33
	±	2			1	1	2	6	6	2	6	4	5	1	7	1	2	40
	—			1		2	2		2		2		3	1	1	1	1	14
瞼板腺嚢胞形成	+						1	4	3	1		2				1		12
	±								2	1	2	1	1			1		8
	—	2		2	1	3	7	4	9	7	12	3	9	3	2	3	2	67
瞼板腺白色チーズ様物排出	+							2	4	3	4		2					15
	±					1	1	1				1	1		1			7
	—	2		2	1	2	7	5	10	6	10	5	7	2	4			65

はその色調・性状を記載し、硝子棒にて採取した。

硝子棒にて採取できた瞼板腺圧迫排出物は重量測定後、N-ヘキサシ 100 μ l に溶解し、ミクロカラム（長さ 5 cm, 内径 2 mm）によるシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、その後電子捕獲型検出器（ECD）付きガスクロマトグラフィーを行った。

PCB の定量は、標準試料に KC 500+600（1:1）を用い、ガスクロマトグラムのピーク高の和による方法で行った⁴⁾。またパターンは血液と同様に、油症患者に特有のパターンを A、それに近いものを B および一般人と見分けのつきにくいものを C とした⁸⁾⁹⁾。

結 果

眼脂過多、眼瞼浮腫、眼瞼・結膜色素沈着、瞼板腺嚢胞形成、瞼板腺白色チーズ様物排出の各項目の判定結果は表 2 に示した。

瞼板腺嚢胞形成に関しては油症急性期には大部分の瞼板腺に一樣に生じたが、現在では瞼板腺の一部にみられるのが普通であり、他の瞼板腺疾患と区別はかなり困難であった。またその他の瞼板腺所見としては不規則配列 45 例（52%）、消失・癰痕化 34 例（39%）などの軽微な所見が、特に 40 代以降の患者に多くみられた。

眼瞼圧迫により瞼板腺から排出されたものが白色チーズ状を呈した例は 15 例（17%）、白色粥状あるい

は乳び状を呈した例は 7 例（8%）みられた。その他、眼瞼圧迫により黄色油状物を排出した例もかなりみられ、何らかの瞼板腺排出物を呈した例は 50 例（57%）にも達した。また同一症例の片眼には白色チーズ状、他眼には白色粥状あるいは黄色油状物がみられた例や、同一眼に混在することもある。

瞼板腺圧迫排出物がみられた 50 例のうち、その採取が可能であったのは 19 例であった。この 19 例の圧迫排出物の色調・性状、重量、PCB パターン・濃度は、各症例の臨床所見およびその血液 PCB の測定結果とともに表 3 に示した。

今回瞼板腺圧迫排出物から PCB を検出できたのは 13 例であった。しかし、症例 6、7 は前回の検診時（昭和 54 年度）採取した排出物から PCB をすでに検出できていたので、その結果を表 3 に付記した。

また症例 8 の瞼板腺圧迫排出物中、血液中の PCB 測定の結果を図 1 に例示した。両検体の PCB のパターンはよく一致していた。

考 察

油症の原因物質と考えられた PCB は、油症患者の皮下脂肪¹⁰⁾、胎盤¹⁰⁾、胎児¹⁰⁾、喀痰⁵⁾、脂肪組織⁵⁾⁶⁾などにその存在が証明された。さらに油症患者剖検例の各組織中の PCB も定量されて⁸⁾、その PCB パターンの特徴は血液中 PCB にも見られ⁹⁾、診断の一つ

表 3. 眼板腺圧迫排出物採取例

症 例	No	年齢	性	眼 脂 過 多	眼 瞼 浮 腫	眼 瞼・結 膜・色素 沈着	眼 板 腺 囊 胞 形 成	他の眼板 腺所見	眼板腺圧迫排出物				血 液	
									色 性	重 量 (mg)	PCB パ タ ー ン	PCB 濃 度 (ppb)	PCB パ タ ー ン	PCB 濃 度 (ppb)
	1	15	F	±	—	±	—	+	黄 色 油 状	0.4	A	600	A	7
	2	25	F	+	—	—	—		白 色 粥 状	0.1		30	A	7
	3	48	M	±	—	±	+	+	白色チーズ状	0.05		nd	C	3
	4	50	M	±	—	+	—	+	白色チーズ状	0.3	A	400	A	10
	5	42	F	±	—	±	—	+	黄 色 油 状	1.0	A	70	A	7
	6*	45	F	+	—	+	—	+	白色チーズ状	0.05	nd (A, 100)		A	29
	7*	47	F	+	—	+	—	+	白色チーズ状	0.05	nd (A, 20)		A	7
	8	47	F	+	—	+	+		白色チーズ状	2.1	A	400	A	10
	9	51	M	+	—	+	—	+	白色チーズ状	0.3		20	A	4
	10	59	M	±	—	±	—	+	白色チーズ状	0.2	C	150	C	3
	11	59	M	+	—	+	+	+	白色チーズ状	0.2		nd	C	2
	12	52	F	+	—	±	—	+	白色チーズ状	0.25	A	200	A	12
	13	53	F	+	—	+	±		白色チーズ状	0.25	A	40	A	6
	14	57	F	±	—	±	—	+	白色チーズ状	0.18	A	60	A	8
	15	68	M	+	—	±	—	+	黄 色 油 状	0.15		nd	BC	2
	16	70	M	+	±	+	—	+	白 色 粥 状	0.3	B	130	BC	2
	17	64	F	—	—	±	—	+	白色チーズ状	0.05		nd	B	2
	18	64	F	+	±	+	—		白色チーズ状	0.9	C	20	B	2
	19	81	M	—	±	—	—	+	白色乳び状	1.0	A	30	A	8

注. nd: PCB 検出できず。
カッコ内はその結果を付記。

* 印は前回（昭和 54 年度）検診時 PCB 検出できた症例。
症例 2, 症例 9 は PCB パターン判定できず。

の指標として使われている。

しかし、油症において眼症状が重要な臨床所見であるにもかかわらず、眼組織や眼脂からの PCB の検出は行われていなかった。

今回 PCB を検出できた眼板腺圧迫排出物は、以前の組織学的研究⁹⁾¹¹⁾ から油症の眼板腺病変の本態と考えられた眼板腺角化囊胞の内容物に相当すると考えられる。つまり油症にみられる眼板腺角化囊胞の形成には、PCB を中心とした油症の原因物質が直接の成因となつていると考えてよい。

今回の眼板腺圧迫排出物中 PCB の検出結果（表 3）を排出物の色調・性状によりまとめてみると表 4 のようになる。白色チーズ状排出物を示した例からの検出率は 53%，白色粥状あるいは乳び状例から 43%，黄色油状例から 7%であった。これは眼板腺圧迫

表 4. 眼板腺圧迫排出物の色調・性状と PCB 検出例

色調・性状	症例数 採取例		PCB 検出例	検 出 率
	N		P	$\frac{P}{N}$
白色チーズ状	15	13	8(10)	53%(67%)
白色粥状あるいは乳び状	7	3	3	43%
黄 色 油 状	28	3	2	7%
	50	19	13(15)	26%(33%)

注. () 内は前回検診時 PCB を検出できた 2 例（症例 6, 7）を加えた数

排出物が白色を呈するとき、PCB を検出できる可能性が極めて高いことを示している。さらに白色チーズ状例で PCB を検出できなかった例の内 2 例は前回検

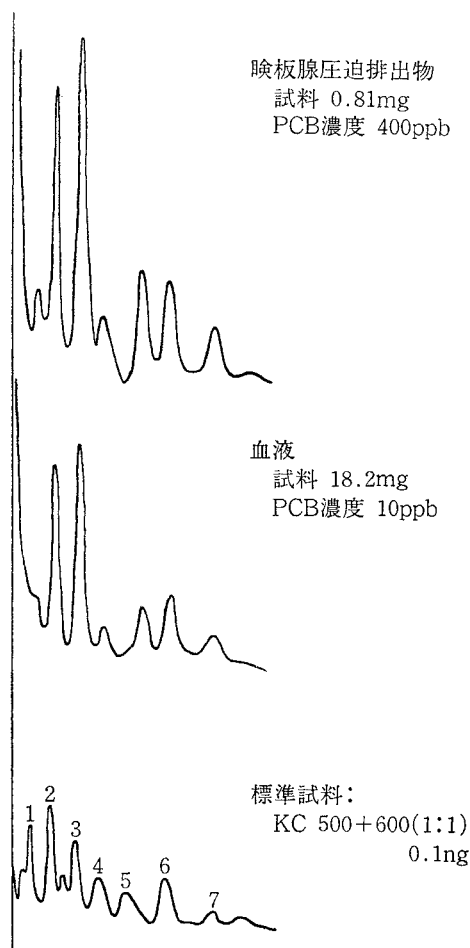


図1. 症例8の涙板腺圧迫排出物、血液、および標準試料のPCBガスクロマトグラム

診時の排出物ではPCBが検出できている（この2例を加えると検出率67%）。排出物採取量が極めて少量であったため、今回は検出できなかったと考えられる。白色チーズ状排出物を呈する例ではくり返し検出を試みることににより、PCBの検出率はさらに上昇すると思われる。

他方、涙板腺圧迫排出物が白色チーズ状を呈さなかった症例——白色粥状を呈した症例2, 16, 白色乳び状を呈した症例19, 黄色油状を呈した症例1, 5——においても、PCBを検出できたことは興味深い。これは眼瞼圧迫により排出される涙板腺内容物を十分な量採取できればPCBを検出する可能性があることを示している。さらに今後の検討を要するが、涙板腺排出物が白色チーズ状でなくても油症と診断できる可能性を示唆している。

油症は昭和43年の発症より12年以上を経過し、当初の病像とは著しく変わってきている。眼症状も軽快し、極めて軽微な所見を呈するのみとなつている²⁾。しかし、涙板腺圧迫排出物中のPCB濃度は血液中的のおよそ10倍を示し、涙板腺にPCBが集まり易いこととともに、依然として涙板腺に何らかの病変を生ぜしめていることを示唆している。今後はPCBが涙板腺に病変を生ずる機序をさらに追求するとともに、PCBが涙板腺圧迫排出物から検出できた例を中心に、慢性化した油症の眼症状の再検討が必要であろう。

結 語

昭和55年度油症患者の一斉検診（追跡調査）の結果と、その際行つた涙板腺圧迫排出物からのPCBの検出結果を報告した。

1. 検診を受診した油症患者87名中涙板腺圧迫排出物陽性例50例（57%）、その内採取できた例19例（採取率38%）、PCB検出例13例（検出率26%）であつた。

2. 涙板腺圧迫排出物が白色チーズ状を呈した例にPCBの検出例は多かつたが、白色粥状、乳び状、あるいは黄色油状を呈した例にもPCBを検出できた。

3. 涙板腺排出物に高濃度のPCBが検出できたことは、油症の涙板腺病変発症機序の解明および涙板腺病変の診断的重要性に関して今後の追求の可能性を示した。

文 献

- 1) 生井 浩, 杉 健児, 宇賀茂三: 油症患者の眼症状および油症患者結膜の電子顕微鏡組織学的所見. 福岡医誌 60: 432-439, 1969.
- 2) 向野利彦, 山名泰生: 油症患者の眼症状（第4報）. 福岡医誌 70: 181-186, 1979.
- 3) 向野利彦, 大西克尚, 石橋達朗: 実験的PCBサルにおける涙板腺（マイボーム腺）の病理組織学的研究. 臨床眼科 33: 1119-1125, 1979.
- 4) 川城 巖・他: PCBの分析方法に関する研究. 食品衛生研究 22: 238-251, 1972.
- 5) 小嶋 亨: 喀痰および組織中の塩化ビフェニール. 福岡医誌 62: 25-29, 1971.
- 6) 菊池昌弘・他: いわゆる油症患者の2剖検例. 福岡医誌 62: 89-103, 1971.
- 7) 増田義人, 倉垣匡徳: 油症を起こしたライソオイル中の毒性物質. 福岡医誌 70: 229-237, 1979.
- 8) 増田義人, 香川梨絵, 倉垣匡徳: 油症患者および一般人体内のポリ塩化ビフェニール. 福岡医誌 65: 17-24, 1974.
- 9) 増田義人・他: 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.

10) 塚元久雄・他：油症患者が使用した ライスオイル中の有毒物質の化学的検索．福岡医誌 60：496-

512, 1969.

11) 吉原新一・他：サルの **PCB** 中毒症に関する予備的研究．福岡医誌 70：135-171, 1979.

油症患者における口腔内色素沈着の推移

九州大学歯学部歯科保存学第一教室（主任：青野正男教授）

赤 峰 昭 文・岸 哲 也
橋 口 勇・青 野 正 男

Alteration in Oral Pigmentations of Patients with Yusho

Akifumi AKAMINE, Tetsuya KISHI,
Isamu HASHIGUCHI and Masao AONO

First Department of Conservative Dentistry, Faculty of
Dentistry, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan

Oral pigmentations were studied on 88 patients with Yusho in the 1980 examination. The following results were obtained.

- 1) The oral pigmentations gradually decreased year by year. Especially, the pigmentation in the lip was remarkably decreased.
- 2) There were some relations between the degree of pigmentation in the gingiva and the chromascan data.
- 3) In the present study we could not elucidate a clear relation between the chromascan data and the blood PCB levels.

昭和43年に油症が発生して以来、口腔領域においては特に色素沈着の発現が注目されてきた¹⁾²⁾³⁾。この色素沈着に関してはその後も福山ら⁴⁾⁵⁾が経年的変化や血中PCB濃度と性状との関連性について追求している。

今回は昭和55年度一斉検診での油症患者の色素沈着の実態報告と、新しく導入した色彩工学的感知器であるクロマスキンの試用と測定結果について検討を加えた。

対 象

昭和55年度一斉検診を受診した油症認定患者88名の一斉検診のカルテ、口腔写真およびクロマキン測定値を資料として用いた。

結 果

油症患者における口腔領域での有色素沈着を男女別、年齢別に分けると表1の通りであった。それによると油症患者88名のうち56名(64%)に色素沈着が認められた。また男女数は同数で年齢的には40代から50代にかけてが高い値を示した。

また、口腔領域における色素沈着の発現率を表2に

表1. 油症患者の口腔領域における色素沈着

年 齢	有 色 素 沈 着		無 色 素 沈 着	
	男	女	男	女
0 — 9	2	0	0	0
10 — 19	2	1	0	0
20 — 29	0	1	0	2
30 — 39	3	4	0	4
40 — 49	7	9	1	2
50 — 59	8	10	4	7
60 — 69	3	2	3	6
70 以 上	3	1	0	3
計	28名	28名	8名	24名

示した。部位別には歯肉(58%)、頬粘膜(17%)、口唇(8%)の順に多くみられた。歯肉では特に前歯の顔面側と附着歯肉部に多く発現していた。また程度としては(+)が66%で最も多く、続いて(++)が30%であった。

つぎに色素沈着の程度とクロマキン値との関係を表3に示した。上下歯肉とも程度が(+)→(++)になるに従ってクロマキン値は減少する傾向を示し

表 2. 油症患者の口腔領域における色素沈着の発現率

年度 部位	昭和47年	昭和52年	昭和55年
歯 肉	107例 (72%)	65例 (64%)	51例 (58%)
口 唇	63例 (43%)	47例 (47%)	7例 (8%)
頬 粘 膜	13例 (9%)	19例 (19%)	15例 (17%)
患者総数	148名	101名	88名

表 3. 色素沈着の程度とクロマスキアン平均値

程 度	(十)			(廿)			(卅)		
部位	赤	緑	青	赤	緑	青	赤	緑	青
上顎歯肉	174	113	94	164	101	82	105	56	45
下顎歯肉	165	91	74	126	62	49	—		

た。しかしながら上顎と下顎とではそれぞれの段階での平均値はかなり異なっていた。

考 察

油症発生以来 10 年間の油症患者における色素沈着の経年的推移については先の報告⁵⁾において述べたので今回はその後の油症検診での色素沈着の推移と新しく導入したクロマスキヤンの測定結果との関連性について追求した。

今回の検索は昭和 55 年度一斉検診の油症患者 88 名をもとに検討した。

まず油症患者の口腔粘膜色素沈着の頻度についてであるが、この油症患者 88 名のうち 56 名 (64%) に色素沈着が認められ、年齢的には 40 代から 50 代にかけて高い頻度を示したが、これらの結果はこれまでの報告とほぼ一致している⁵⁾⁷⁾。

つぎに口腔領域の部位別での発現率は歯肉部が 58% と最も高い値を示したが、経年的には徐々に減少した傾向を示していた。頬粘膜は 52 年とほぼ同じ率で発現し、あまり変化はみられなかった。口唇での発現率は 52 年の 47% から 8% と顕著な減少を示していた。これは受診した油症患者の相違、あるいは検者の判定基準の相違などを考慮してもかなりの減少と考えられる。総体的レベルでは色素沈着が軽減しているが、このように口唇が他の口腔粘膜部位と比較して著しい減少を示したことを明らきざしと考えてよいのか、または PCB 特有の排泄と蓄積の一時的な周期現象の結果で再び発現してくるのかは今後の follow up で明確になるものと思われる。

さて、色素沈着の消長についてはその性状、色調、分布について詳細かつ普遍化のできるシステムを考慮する必要がある。そこで歯肉の色調を光の三原色を使って測定するクロマスキヤンを用いて色素沈着の数値化を試みた⁷⁾。測定部位は最も色素沈着の頻度が高い歯肉部にクロマスキヤンを適用した。

色素沈着の程度とクロマスキアン平均値との関係は表 3 に示したように判定の程度が大きくなるに従ってクロマスキアン値は反対に減少していく傾向を示した。このように両者の間には関連が認められたが、一方では上顎歯肉と下顎歯肉でのそれぞれの段階での値はかなり異なっていた。従って今回のデータのみで断定するには早急であり、今後更にデータを加えて検討したい。

また口腔領域での色素沈着と血中 PCB 濃度との関係は、福山⁹⁾の報告では必ずしも同調して推移していないと述べている。しかしながら現時点では詳細に比較検討できなかったが、将来、色素沈着の推移と共にこのクロマスキアン値と血中 PCB 濃度およびパターンとの関連性も追求していきたいと考えている。

結 論

昭和 55 年度の油症検診での口腔内色素沈着についての実態報告およびクロマスキヤンの測定結果との関連性について追求した。

- 1) 口腔領域の色素沈着の発現は経年的に減少しつつあり、特に口唇での減少は著しかった。
- 2) 歯肉部での色素沈着の程度とクロマスキアン値との間には相関関係が認められた。
- 3) 血中 PCB および性状とクロマスキアン値とは詳細に比較検討できなかった。今後、データを加えて関連性を追求してゆきたい。

文 献

- 1) 青野正男, 有吉正一, 岡田 宏: いわゆる油症 (Yusho). 歯界展望 33: 391-403, 1969.
- 2) 青野正男, 岡田 宏: 油症患者の口腔所見について. 福岡医誌 60: 468-470, 1969.
- 3) 青野正男, 福山 宏: 油症 PCB 中毒研究の現状. 歯界展望 52: 1003-1016, 1978.
- 4) 福山 宏, 日高雄一, 佐野 茂, 青野正男: 油症患者の血中 PCB と口腔内色素沈着の関係について. 福岡医誌 68: 128-132, 1977.
- 5) 福山 宏, 阿南ゆみ子, 赤峰昭文, 青野正男: 油症患者における口腔病変の推移. 福岡医誌 70: 187-198, 1979.
- 6) 西田尚道, 目 岩男, 橋本幸一, 弥源治晋,

吉田 皓, 丸山剛郎, 下総高次: 歯肉に関する測色学的研究, 第2報. 正常歯肉について. 補綴誌 19: 251-260, 1975.

7) 六反田 篤, ほか: 油症患者の口腔診査について. 1. 色素沈着. 九州歯会誌 30: 107-129, 1976.

油症患者の臨床検査所見, とくにリポ蛋白について

九州大学医学部第二内科教室 (主任: 尾前照雄教授)

赤木 公博・村井宏一郎・志方 建

Laboratory Examination in PCBs Poisoning Patients with Special Reference to Lipoprotein

Kimihiro AKAGI, Koichiro MURAI
and Tathuru SHIKATA

*Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan.*

Blood chemical analysis was performed on 110 sera of patients with PCBs poisoning. Serum concentration of triglyceride was elevated ranging from 156 to 555 mg/dl in 26 cases (23.6%) of these patients. The electrophoresis of lipoprotein of these sera revealed increase of chylomicron indicating that the elevated triglyceride was of exogenous origin, while increment of pre- β lipoprotein reported in previous study was still suggested in 60% of the patients with hypertriglyceremia.

High activity of serum alkaline RNase was found in 15 cases (13.6%) of total patients, but no other definite findings were observed in this study.

油症発症時, 臨床検査値の異常として軽度の貧血, 白血球増多, 微熱, 赤血球沈降速度の亢進, 脂質代謝異常, 血清蛋白の低下および血清酵素異常等がみられたと報告されている¹⁾. その後, これらの所見も年月の経過と共に徐々に改善し, 現在その特徴が消褪して来ている²⁾. また, 奥村ら³⁾ は本症の基本的代謝異常の一つである脂質代謝にも明らかな改善がみられたと述べている. それにもかかわらず, 1979年度一斉検診を受診した患者の約24%に依然として高トリグリセライド血症 (高TG血症) がみられた. この発生機序を解明することは現在の油症の病態を把握し, 治療する上にも必要であると考え. 今回は油症の血液生化学検査値の推移を検討し, とくにリポ蛋白を分析して現在みられている脂質代謝異常に関して若干の考察を加えたので報告する.

対象ならびに方法

対象は1979年11月の油症一斉検診を受けた油症患者110例 (女性66例, 男性44例) および同時に油症疑いにて検診された63例 (女性40例, 男性23例) である. 採血は原則として早朝空腹時に肘静脈より行われた.

血液生化学検査 および血液検査は日本医学研究所 (JML)—九州において Auto Chemist (Sweden AGA 社) を用い測定された⁴⁾. 磷脂質は内藤らの方法⁵⁾, リポ蛋白の分析はセルロースアセテート膜を用いた電気泳動法にて行つた⁶⁾. 血清アルカリ性 RNA 分解酵素 (RNase) 活性の測定はすでに報告した方法⁷⁾ によつた.

結 果

1979年11月油症検診を受けた患者110例の臨床検査値を1968年10月油症発症当時にみられた異常項目¹⁾を主体に比較し, その平均値 ($\pm$ SD) を表1に示した. 以前より明らかな異常がみられなかつた尿素窒素および電解質値の他に, すべての項目で正常化が見られた. 個々の症例では貧血が8例 (7.2%) に, 白血球増多3例 (2.7%), 赤血球沈降速度の亢進9例 (8.1%), 低アルブミン血症2例 (1.8%), GOT 上昇1例 (0.9%), GPT 上昇4例 (3.6%) に認められたがいずれも極めて軽度の異常であつた. 血清アルカリフォスファターゼは全例正常範囲にあつた. しかし, 血清RNase活性は15例 (13.6%) に明らかな上昇が認められた. 一方, 血清脂質では, 26例 (23.6%)

Table 1. Laboratory data of patients with PCBs poisoning (I).

Item (units)	1968. 10(18)*		1979. 11(110)
	severe (9)	moderate (9)	
RBC ($\times 10^4$)	382 $\pm$ 30	422 $\pm$ 24	446 $\pm$ 49
WBC ($\times 10^3$)	10.3 $\pm$ 2.8	8.5 $\pm$ 5.1	6.0 $\pm$ 1.4
ESR (mm/hr)	27 $\pm$ 27	10 $\pm$ 10	14 $\pm$ 15
T. Prot. (g/dl)	6.8 $\pm$ 0.7	6.9 $\pm$ 0.2	7.5 $\pm$ 0.4
Albumin (g/dl)	3.9 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.3
GOT (units)	23 $\pm$ 7.7	27 $\pm$ 22.9	21 $\pm$ 6.0
GPT (units)	23 $\pm$ 11.9	28 $\pm$ 20.8	14 $\pm$ 9.4
ALP (units)	14.9 $\pm$ 9.3	8.7 $\pm$ 2.3	6.3 $\pm$ 3.2
RNase (units)	—	—	15.9 $\pm$ 6.3
BUN (mg/dl)	12 $\pm$ 2.1	10 $\pm$ 1.1	14 $\pm$ 3.6
Na ⁺ (mEq/L)	142 $\pm$ 1.9	142 $\pm$ 2.2	140 $\pm$ 2.4
K ⁺ (mEq/L)	4.2 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 3.6
TG (mg/dl)	181 $\pm$ 88	197 $\pm$ 109	124 $\pm$ 66
T. Chol. (mg/dl)	167 $\pm$ 47	168 $\pm$ 22	188 $\pm$ 37
β -LP (mg/dl)	—	—	6.7 $\pm$ 1.5

* Number of case

Table 2. Laboratory data of patients with PCBs poisoning (II)

Case	Age	Sex	TG*	T. Chol.**	P-Lp***	Lipoprotein (%)			β -Lp	
			(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	Chylomicron	β +pre- β	α	(units)	
1	S. H.	48	F	169	205	143	2.2	64.2	33.6	7.5
2	T. Y.	48	F	156	193	175	21.9	66.6	11.5	7.4
3	T. Y.	12	F	160	138	151	25.8	50.0	24.2	5.7
4	H. U.	21	F	164	252	125	25.0	61.6	13.4	8.8
5	M. K.	25	F	222	185	—	—	—	—	7.5
6	T. O.	62	F	199	316	—	—	—	—	9.9
7	S. S.	42	F	168	196	342	12.4	61.8	25.8	7.5
8	Y. T.	56	F	220	254	—	—	—	—	8.8
9	N. H.	62	F	172	189	220	18.9	65.8	15.3	7.9
10	K. M.	51	F	195	225	176	27.6	59.8	12.6	8.6
11	T. M.	51	F	238	245	208	29.6	65.7	4.7	11.4
12	S. M.	47	F	207	163	174	32.7	50.3	17.0	7.4
13	M. T.	62	F	174	168	174	30.7	51.0	18.3	7.1
14	K. M.	13	F	197	195	326	17.6	53.0	29.3	7.3
15	K. H.	70	F	168	193	334	19.8	60.8	19.4	6.9
16	A. K.	46	F	191	179	116	18.4	57.8	23.9	8.1
17	F. K.	54	F	202	212	164	15.2	66.0	18.8	8.4
18	S. U.	79	M	194	214	186	25.2	62.8	12.0	8.9
19	A. M.	49	M	185	175	256	13.3	58.7	28.2	7.5
20	H. M.	51	M	214	212	178	31.7	54.2	14.1	7.7
21	M. S.	53	M	169	196	240	25.5	50.7	23.8	7.2
22	T. M.	50	M	198	245	247	31.0	55.5	13.5	8.8
23	K. M.	40	M	227	195	231	30.3	52.2	17.4	8.8
24	J. I.	64	M	165	209	300	22.9	59.6	17.4	8.7
25	S. K.	48	M	350	252	289	22.8	66.1	11.1	11.7
26	Y. M.	48	M	555	202	—	—	—	—	13.2

* Triglycerides (normal range; 35—150 mg/dl), ** total cholesterol (99—243 mg/dl),
 *** phospholipid (150—250 mg/dl). Analysis of lipoprotein; chylomicron (0—4.9%),
 β -lipoprotein (2—11 units).

%) に高TG血症がみられ、これは現在みられる最も頻度の高い異常所見であつた。血清コレステロールは11例(10.0%)に上昇傾向があり、この中でTGとコレステロールがともに高値を示す症例が6例(5.4%)に認められた(表2)。 β リポ蛋白は3例(2.7%)に軽度増加がみられた。

次に、高TG血症を呈した26例中22例について、その成因を明らかにするためリポ蛋白を分析した(表2)。その結果、21例(95.5%)でカイロミクロンの増加が認められた。さらに $\beta + \text{pre-}\beta/\alpha$ 比は 3.9 ± 2.6 (平均値 $\pm$ SD)で14例(63.6%)で β および $\text{pre-}\beta$ リポ蛋白の増加が示唆された。しかし、 β リポ蛋白の増加が3例のみにしか認められなかつたことから、この変化は主に $\text{pre-}\beta$ リポ蛋白の増加であろうと考えられた。

油症検診にて同時に採血された患者以外の63例のうち高TG血症は13例(20.6%)にみられた。その中の11例でリポ蛋白を分析するとカイロミクロンの増加が8例(72.7%)に、 $\beta + \text{pre-}\beta/\alpha$ 比は 2.9 ± 1.6 (平均値 $\pm$ SD)で5例(45.5%)に異常上昇がみられた。 β リポ蛋白は2例で増加していた。

高TG血症を示した油症患者の $\beta + \text{pre-}\beta/\alpha$ 比を β リポ蛋白の異常を示さない20例のみについて図1に示した。つまり、これらの症例のその比は主に $\text{pre-}\beta$ リポ蛋白の変化を示していると考えられる。この $\beta + \text{pre-}\beta/\alpha$ 比の平均値は 3.3 ± 1.2 ($\pm$ SD)と高値を示し、12例(60%)に異常が認められた。一方、患者以外で β リポ蛋白が正常で高TG血症を示す9症例の $\beta + \text{pre-}\beta/\alpha$ 比は 2.2 ± 0.8 ($\pm$ SD)で、3例(33.3%)に $\text{pre-}\beta$ リポ蛋白の増加が示唆された。また、この $\beta + \text{pre-}\beta/\alpha$ の比は患者で有意に高かつた($p > 0.01$)。

考 察

PCB中毒症の内科的異常に関して、1969年奥村ら¹⁾による詳細な報告がみられる。一方、油症実験動物でも油症患者と非常に類似した蛋白および脂質代謝異常、貧血等の変化が観察されている²⁾。しかし、これらの血液および血液生化学検査値もこの数年間に明らかな改善がみられている³⁾。1979年11月の油症検診で得られた臨床検査でも、血中脂質の変化を除き、わずかの症例で異常を認めたがその程度はごく軽度であつた。しかし、血清RNase活性は13.5%の症例で高値を示し、依然として蛋白代謝の異常(異化作用の亢進)が存在している¹⁰⁾可能性が示唆された。

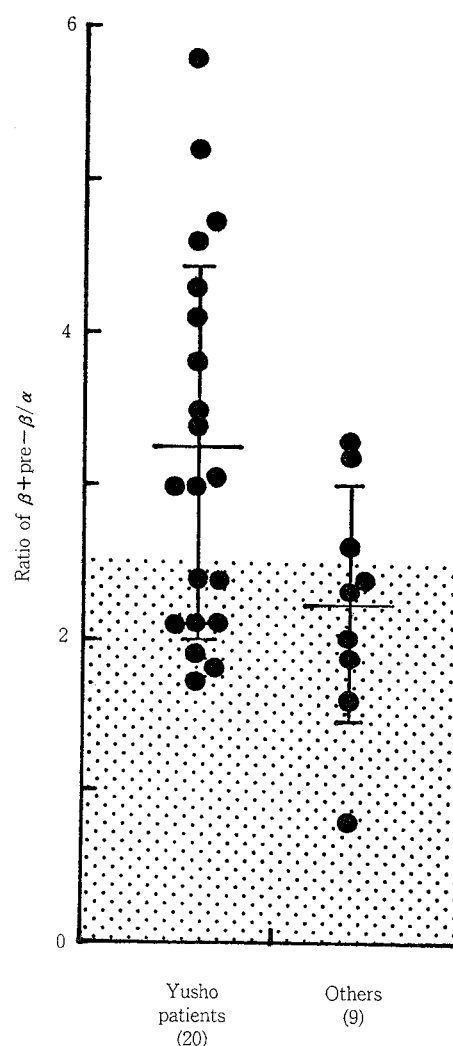


Fig. 1. $\beta + \text{pre-}\beta/\alpha$ ratio of lipoprotein in patients with PCBs poisoning (Yusho) and in others who not diagnosed as Yusho.

Shaded area shows normal ratio (< 2.5).

本症における血中脂質の異常は、発症当時主に血清TGの増加であつた。2症例でなされたリポ蛋白の分析では $\text{pre-}\beta$ 分画の著増が認められたことから、油症にみられた高グリセライド血症は脂肪組織などの内因性TGを取り込む組織に何らかの異常が生じ、その結果内因性TGが血中に残つて、TG値の上昇を来したものと解釈されている¹¹⁾。この高TG血症が油症患者では長期間観察され、女性においては発症後6年目頃より、男性では6年を過ぎて低下し10年後の1978年では大部分の症例で正常範囲への下降がみら

れている⁹⁾。しかし、今回の検診では依然として23.6%に高TG血症が認められた。油症ザルにおいてはPCB投与期間中にTGの上昇がみられるも中止すると2カ月以内にもとのレベルに低下し⁸⁾、油症患者の高TG血症とは明らかに異つた変化が観察されている。患者で長期間持続する高TG血症が、発症当時と同じ性質の変化であるかどうかは明らかにされていない。そこでリポ蛋白の分析を試みたところ、現在見られるTGの上昇はカイロミクロンの増加による、つまり外因性TGの上昇であることが明らかになった。この変化は発症時にpre- β リポ蛋白が著増していたのとは異なるので、単なる食餌性因子によるものか、あるいはPCB中毒性の慢性変化なのか検討しておく必要がある。一方、pre- β リポ蛋白が現在どの様に改善されているかを、 β リポ蛋白が正常で高TG血症を示す症例の β +pre- β / α 比でみると、油症患者においてその比の有意の上昇が認められた(Fig. 1)。このことから、現在もなお、pre- β リポ蛋白の増加している症例がある可能性が示唆された。しかし今後、採血の条件を一定にして再検討する必要があると思われる。

血清TGと動脈硬化との直接の関係は証明されていない¹²⁾けれども、油症において長期間TGの異常を呈する患者が見られているので今後とも経過観察する必要がある。

総 括

1979年11月油症一斉検診を受診した油症患者110例を対象にその臨床検査所見につき検討した。

1) 血中脂質の異常は主にトリグリセライドの上昇であり、患者の23.6%に認められ、リポ蛋白分析によりその変化はカイロミクロンの著増によると考えられた。また、pre- β リポ蛋白の増加の示唆される例が高トリグリセライド血症の約60%に見られた。

2) 血清RNase活性の上昇が13.5%に認められたが、その他の血液および生化学検査で異常を呈する

例は少なかった。

文 献

- 1) 奥村 恂, 勝木司馬之助: いわゆる油症(塩化ビフェニール中毒)の臨床的研究. とくに内科的所見について. 福岡医誌 60: 440-448, 1969.
- 2) 奥村 恂, 村井宏一郎, 赤木公博, 山中正義, 尾前照雄: 油症(PCB中毒)における臨床検査所見の推移. 福岡医誌 70: 199-207, 1979.
- 3) 奥村 恂, 山中正義, 中牟田澄子: 油症(PCB中毒)患者における血清トリグリセライド値の10年間の推移. 福岡医誌 70: 208-210, 1979.
- 4) 奥田 清: 多チャンネル化学分析装置—AGA Auto Chemist. 総合臨床 21: 623-631, 1972.
- 5) 内藤周生: 病的状態に於ける脂質代謝の研究特に肝疾患を中心とした観察. 東京医学雑誌 64: 277-337, 1956.
- 6) Dangerfield, W. G. and Smith, E. B.: An investigation of serum lipids and lipoproteins by paper electrophoresis. J. Clin. Pathol. 8: 132-139, 1955.
- 7) Akagi, K., Murai, K., Hirao, N. and Yamanaka, M.: Purification and properties of alkaline ribonuclease from human serum. Biochem. Biophys. Acta 442: 368-378, 1976.
- 8) 吉村英雄ほか: サルのPCB中毒症に関する研究. 福岡医誌 72: 155-184.
- 9) Barsotti, D. A., Marlar, R. J. and Allen, J. R.: Reproductive dysfunction in rhesus monkeys exposed to low levels of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1248). Food Cosmet. Toxicol. 14: 99-103, 1976.
- 10) 赤木公博, 村井宏一郎, 志方 建, 山中正義, 尾前照雄: 油症(塩化ビフェニール中毒症)患者における血清Ribonucleaseについて. 福岡医誌 70: 211-214, 1979.
- 11) 鷗沢春生, 伊東靖夫, 納富昭光, 勝木司馬之助: 塩化ビフェニールによる高グリセライド血症. 福岡医誌 60: 449-454, 1969.
- 12) 福井 巖, 高野圭以, 清水龍男, 正木清孝, 高畑 譲二: トリグリセライド. 日本臨床 453: 134-148, 1980.