

昭和29年11月5日第三種郵便物認可
昭和58年5月25日（毎月25日発行）
第740号

Vol. 74 No. 5
May 1983

CODEN: FKIZA4
ISSN 0016-254X

FUKUOKA ACTA MEDICA

福岡医学雑誌

第74巻 第5号 (740)

昭和58年5月25日

特 集 号

油 症 と P C B

研 究 報 告 第 9 集

The Ninth 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 9 集

(福岡医学雑誌 第74巻 第5号 昭和58年5月)

目 次

1. 序 言.....吉村 英敏...(189)
2. クアテルフェニル, ポリ塩化クアテルフェニルおよび十八塩化クアテルフェニルの
合成.....高田 智・毛利 隆美・飯田 隆雄・中村 周三・高橋 克巳・増田 義人...(193)
3. ^{14}C -2, 3, 4, 7, 8-Pentachlorodibenzofuran の合成深作 昇・長谷川 賢
黒木 広明・増田 義人・古賀 信幸・吉村 英敏...(202)
4. 2, 5, 2', 5'-Tetrachloro-4-Methylthiobiphenyl の合成.....佐伯清太郎・石黒 靖尚...(206)
5. 3-Methylcholanthrene 型 PCB による 肝酵素 誘導と毒性発現について.....吉原 新一
永田 清・和田 郁夫・古賀 信幸・吉村 英敏...(209)
6. 3-Methylcholanthrene 型 PCB 前処理ラットにおける 4-Nitroquinoline N-oxide
の還元活性上昇について.....吉村 英敏・古賀 信幸・和田 郁夫
外間由美子・黒木 淳...(217)
7. PCB 投与ラット肝臓における過酸化 脂質生成への薬物代謝酵素系およびアスコル
ビン酸の関与 (英文)斉藤 衛郎・池上 幸江・西山 英一・印南 敏...(222)
8. PCB 中毒サルの肝臓における PCDF 蓄積及び 酵素誘導作用.....黒木 広明・増田 義人
古賀 信幸・吉村 英敏...(234)
9. 実験的 PCB 中毒 サルの臓器透明標本による マイボーム腺の 観察.....大西 克尚
向野 利彦・石橋 達朗・篠田 泰治...(240)
10. 実験的 PCB 中毒サルにおける 歯肉上皮の微細構造について.....橋口 勇・赤峰 昭文
中野 嗣久・青野 正男・福山 宏...(246)
11. 台湾 PCB 中毒患者血液およびその原因一油中の PCBs, PCQs および PCDFs
解析.....榎本 隆・宮田 秀明・福島 成彦・国田 信治・大井 玄・董 大成...(255)
12. 油症患者のポルフィリン代謝異常の予備的検討.....石本 進士...(269)
13. 油症 (PCB 中毒) 患者における血中 PCB 濃度と血圧との関係.....赤木 公博
辻 博・梶原 英二・村井宏一郎・志方 建・奥村 恂・増田 義人...(272)
14. 昭和 55 年度~57 年度の年次検診における油症皮膚症状の変化旭 正一
占部 治邦・利谷 昭治...(276)
15. 油症患児の成長・二次性徴発現.....林 真夫・山下 文雄...(280)
16. 油症患者における口腔内色素沈着の経年的変化.....赤峰 昭文・橋口 勇・岸 哲也
古川 猛士・青野 正男...(284)
17. 油症患者と職業的 PCB 汚染者の血中 PCB・PCQ と健康状態について.....高松 誠
沖 真理子・前田 勝義・井上 義人・平山 八郎・吉塚 敬子・神田 恵...(289)
18. 福岡県における油症検診データの統計解析.....片岡恭一郎・大久保彰人・篠原 志郎
高橋 克巳・増田 義人...(296)

The Ninth Reports of the Study on Yusho and PCB

(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 74, No. 5, 1983)

CONTENTS

1. ForewordH. Yoshimura ... (189)
2. Synthesis of Quaterphenyls, Polychlorinated Quaterphenyls and Octadecachloroquaterphenyls S. Takata,
T. Mohri, T. Iida, S. Nakamura, K. Takahashi and Y. Masuda ... (193)
3. Synthesis of ^{14}C -2,3,4,7,8-PentachlorodibenzofuranN. Fukasaku,
M. Hasegawa, H. Kuroki, Y. Masuda, N. Koga and H. Yoshimura ... (202)
4. The synthesis of 2,5,2',5'-Tetrachloro-4-Methylthiobiphenyl.....
.....S. Saeki and Y. Ishiguro ... (206)
5. Studies on Induction of Liver Enzymes and Toxicity Caused by Pretreatment with 3-Methylcholanthrene-type PCBs.....
S. Yoshihara, K. Nagata, I. Wada, N. Koga and H. Yoshimura ... (209)
6. Enhancement of Reduction Activity of 4-Nitroquinoline N-oxide in Rats Pretreated with 3-Methylcholanthrene-Type PCB.....
.....H. Yoshimura, N. Koga, I. Wada, Y. Hokama and J. Kuroki ... (217)
7. Relevances of Mixed Function Oxidase System and Ascorbic Acid to the Lipid Peroxide Formation in the Liver of Rats Given Polychlorinated Biphenyls (PCB)
.....M. Saito, S. Ikegami, E. Nishiide and S. Innami ... (222)
8. Accumulation of PCDFs and Enzyme Induction in the Liver of Monkeys which were Poisoned by PCBs.....
..... H. Kuroki, Y. Masuda, N. Koga and H. Yoshimura ... (234)
9. Macroscopic Observation of Monkey Meibomian Glands Treated with Polychlorinated Biphenyls.....
..... Y. Ohnishi, T. Kohno, T. Ishibashi and Y. Shinoda ... (240)
10. Ultrastructural Changes in the Gingival Epithelium on the Experimental PCB Poisoning in the Crab Eating Monkeys.....I. Hashiguchi,
.....A. Akamine, T. Nakano, M. Aono and H. Fukuyama ... (246)
11. Study on PCBs, PCQs and PCDFs in the Blood of Taiwanese Patients with PCB Poisoning and in the Causal Cooking Rice Bran Oil.....
..... T. Kashimoto,
H. Miyata, S. Fukushima, N. Kunita, G. Ohi and T.-C. Tung ... (255)
12. Preliminary Studies on Porphyrin Metabolism of Patients with Yusho (PCB Poisoning).....S. Ishimoto ... (269)
13. Association of Blood Pressure and PCB Levels in Patients with Polychlorinated Biphenyl (PCB) Poisoning.....K. Akagi, H. Tsuji,
E. Kajiwara, K. Murai, T. Shikata, M. Okumura and Y. Masuda ... (272)
14. Dermatological Findings in the General Examination of Yusho in 1980-1982.....M. Asahi, H. Urabe and S. Toshihara ... (276)
15. The Growth and Sexual Maturation of Patients with PCB Poisoning
.....M. Hayashi and F. Yamashita ... (280)
16. Alteration in Oral Pigmentations of Patients with Yusho.....
A. Akamine, I. Hashiguchi, T. Kishi, T. Furukawa and M. Aono ... (284)
17. PCBs and PCQs in the Blood of Yusho Patients and Workers Occupa-

tionally Exposed to PCBs and their Health Status	
.....M. Takamatsu, M. Oki,	
K. Maeda, Y. Inoue, H. Hirayama, K. Yoshizuka and M. Kanda ...	(289)
18. Statistical Analysis of the Annual Examination Data for Yusho in Fu-	
kuoka.....	
K. Kataoka, A. Ohkubo, S. Shinohara, K. Takahashi and Y. Masuda ...	(296)

序 言

油症治療研究班長，九州大学薬学部教授

吉 村 英 敏

Foreward

Hidetoshi YOSHIMURA

Chief, Study Group for the Therapy of Yusho, and Professor,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University,
Fukuoka 812, Japan

This is the 9th report consisting of collected papers on PCB poisoning (Yusho) written by the members of the Study Group for the Therapy of Yusho. This report deals with the results obtained within a period from April 1981 to February 1983, in succession to the 8th report published in April 1981 (Fukuoka Acta Medica, Vol. 72, No. 4).

In this foreward, newly added diagnosis standard for Yusho by the Study Group in 1981 and the total numbers of the Yusho patients at the end of 1980, 1981 and 1982, were described. Comments on causal agents for Yusho were also reviewed shortly.

The work published in this issue has been supported mainly by the grant from the Ministry of Welfare and partly by the grant from the City of Kitakyushu.

早くも油症研究報告第9集を発行する運びとなつた。本報告集は昭和56年4月発行の第8集に引続き現在（昭和58年2月）に至る約2年間の研究成果を収載したものである。なおこの間の油症治療研究班員は表1に示す通りで、いくつかの研究室において人事移動による若干の変動はみられるが、第8集収載のそれと基本的には同一である。

表 1. 昭和56, 57年度九大油症治療研究班員

班 長	九大薬	衛生化学裁判化学	教 授	吉村 英敏	班 員	九 大 医	脳 神 經 病 理	講 師	大西 晃生
班 員	九大医	解 剖	”	山元 寅男	”	九 大 歯	齒 科 保 存	教 授	青野 正男
”	”	ウ イ ル ス	”	森 良一	”	九 大 薬	衛生化学裁判化学	”	吉村 英敏
”	”	公 衆 衛 生	”	倉恒 匡徳	”	”	生 理 化 学	”	加藤敬太郎
”	”	第 2 内 科	”	尾前 照雄	”	”	薬 化 学	助教授	佐伯清太郎
”	”	”	助 手	赤木 公博	”	福 岡 大 医	第 1 内 科	教 授	奥村 恂
”	”	神 經 内 科	”	石本 進士	”	”	皮 膚 科	”	利谷 昭治
”	”	呼 吸 器 科	教 授	重松 信昭	”	”	病 理	”	菊池 昌弘
”	”	産 科 婦 人 科	助教授	楠田 雅彦	”	久留米大医	第 1 内 科	助教授	原田 寿彦
”	”	小 児 科	教 授	合屋 長英	”	”	小 児 科	教 授	山下 文雄
”	”	”	助教授	宮崎 澄雄	”	”	環 境 衛 生	”	高松 誠
”	”	整 形 外 科	助 手	貝原 信紘	”	”	”	助 手	沖 真理子
”	”	皮 膚 科	教 授	占部 治邦	”	第 一 薬 大	物 理 分 析	教 授	増田 義人
”	”	”	助教授	旭 正一	”	国立栄養研	食 品 科 学 部	部 長	印南 敏
”	”	眼 科	講 師	大西 克尚	”	大阪府公衆衛生研	食 品 衛 生 部	”	樫本 隆
”	”	耳 鼻 咽 喉 科	助 手	朝隈真一郎	事務局	九 大 薬	衛生化学裁判化学	助 手	古賀 信幸

昭和43年夏、いわゆる油症が西日本一帯に発生してよりすでに15年近くを経過したが、残念ながら現在なお根本的治療法の確立には至っていない。しかし、この15年来の諸研究により、病因論的には多くの知見が集積し、その発症機作についてもかなりのことが明らかにされてきた。すなわち油症発生の当初、いち早く原因食品としてカネミライスオイルに疑いがもたれ、その中に大量のPCB（カネクロール400）の混入が明らかにされるに及んで、PCBが油症の原因物質として一挙に注目を浴びた。引続いての化学的研究、すなわち患者の皮下脂肪、皮脂、胎盤、あるいは死産児の各種組織についてのガスクロマトグラフィー分析により、独特のPCBパターンが検出され、上記推定は強力な支持をうけた。さらに患者と摂取ライスオイルなどに関する疫学的調査結果、および臨床的諸知見が加えられ、ここに油症がPCBによる亜急性中毒症であることが結論された。

当時はPCBが環境汚染物質としてもようやく認識され出した頃で、このこととも相俟つて、油症とPCBは一体となり急速に世界的関心をよぶこととなつた。そのような背景において、機器分析にも年々一層の進歩がみられるにつれ、かつて報告されたPCB濃度についての矛盾が再検討されたのはむしろ当然の成り行きであつた。かくして、原因食品としての典型的ライスオイル中には、PCBの2量体 polychlorinated quaterphenyl (PCQ) がPCB とほぼ等濃度（約1000 ppm）で混入していたことが明らかにされ、また微量（約5 ppm）であるとはいえ、平均的にはPCBの数百倍の毒性を有するという polychlorinated dibenzofuran (PCDF) の存在も確認された。

PCQの毒性についてはなお充分の知見が得られるまでには至っていないが、現在までの研究成果からすれば、PCQにあまり強い毒性はなさそうである。今回その合成研究も報告されているので、近い将来これに対する結論も得られるであろう。しかし、PCQが注目された理由は、むしろ油症に対する診断学的意義にあつた。

すなわち、典型的油症患者の血中PCBパターンには独自のものがあるとはいえ、今やその濃度には一般健常者との間に差はみられず、両者の区別はかなり困難となつている。これに対しPCQは、目下のところPCBのような広範な環境汚染がないため、原因ライスオイルの摂取の有無を判定する上に、きわめて有用な化合物と考えられた。事実、患者以外では0.03 ppb以上の血中レベルを示すことは少ないことが見出され、昭和56年6月には表2に示すような診断基準への追加がなされた。

前述したように、原因ライスオイル中には低濃度ながらPCDFの存在が明らかにされたが、その後死亡患者の各種組織、また生存患者の血中にもその存在が確認された。PCDFと一口にいても、PCBの場合と同様に塩素置換基の数と位置により毒性には大きな差がみられる。患者体内に残留が認められた2,3,7,8-tetrachloro-, 2,3,4,7,8-pentachloro-あるいは1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuranなどは、ラットでいずれもきわめて高い毒性を示し、その強さは患者に持続する症状との関連を想像させるに充分であつた。ちなみに前2つのPCDFは、ラットに10μg/kgの微量を1回腹腔内注射するだけで有意な毒性を発現することが知られている。その他多くの

表 2. 油症診断基準（昭和56年6月16日追加）油症治療研究班

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

事実から、現在油症原因物質としての主役は、かつて考えられた **PCB** というより、これに混在していた微量の **PCDF** であると考えられるに至った。

このような猛毒化合物に侵される悲惨さの第1は、その体内における高残留性による長期に亘る毒性の発現である。15年の歳月をしてなお患者を苦しめ得る有機化合物があるなど、油症発生以前には想像さえできなかつたことである。さらに悲惨なのは、胎盤や母乳を経由しての胎児や乳幼児の発症である。きわめて少数例とはいえ、原因ライスオイルの摂取を中止して数年後に出産した子供にすら油症の診断がつけられている現実、これら多塩素化芳香族化合物のしたたかさを如実に物語っている。

油症を惹き起こした主たる原因物質が **3-methylcholanthrene** 型 酵素誘導を示す特定の **PCDF** 異性体であると考えられる現在においても、これらの体外への排出促進を効果的に、かつ安全に行

表 3. 年次別、都道府県別油症患者数

年 次			昭 和 55 年 末	昭 和 56 年 末	昭 和 57 年 末
都道府県名					
北 海 道			0	2	0
福 島 県			3	0	0
茨 城 県			1	1	1
埼 玉 県			4	5	5
千 葉 県			10	13	17
東 京 都			8	8	6
神 奈 川 県			6	6	11
長 野 県			1	1	1
岐 阜 県			3	4	2
愛 知 県			21	29	26
三 重 県			2	1	2
京 都 府			3	2	2
大 阪 府			62	58	64
兵 庫 県			14	15	15
奈 良 県			19	20	23
鳥 取 県			2	2	2
島 根 県			7	7	8
岡 山 県			5	5	4
広 島 県			99	102	108
山 口 県			51	52	48
愛 媛 県			13	13	10
徳 島 県			0	0	3
高 知 県			45	47	47
福 岡 県			739	754	766
佐 賀 県			21	21	22
長 崎 県			560	571	560
熊 本 県			3	3	4
大 分 県			18	19	21
宮 崎 県			2	2	0
鹿 児 島 県			7	7	9
沖 縄 県			0	0	1
計			1,729	1,770	1,788

いう方法はまだ開発されていない。病因論的にも、ラット肺細気管支に高濃度に見出される **PCB** の含硫代謝物（メチルスルホン体など）と患者にみられる慢性気管支炎様症状との関連など明らかにすべき問題もお多く残されている。これらの解明には今後一層の努力が傾注されるべきことはいうまでもない。

表 3 に昭和 55, 56 および 57 年末における各都道府県別の患者数を一括して示す。今回は **PCQ** 血中濃度を参考とする新たな診断基準の追加が行われたこともあり、患者総数はこの数年においても漸増がみられた。また患者の他県への移動があるので、各都道府県での年次別患者数にも幾分の変動がみられる。これらの患者については今後も引続いて注意深い病像の追跡が必要であろう。

油症の発生は全世界に対し多塩素化芳香族炭化水素の恐しさを如実に示したもので、再びこのような中毒事故が起こることは夢想だにしないことであつた。それにもかかわらず、1979 年台湾においてきわめて残念にも全く同様の中毒事故が発生している。この発見、対策には図らずもこの油症治療研究が役立つこととなつた。一方、油症発生当時より格段に進歩した現在の技術により、発生初期の台湾油症について新たな解析も行われ、これらの知見は逆にわが国の油症治療研究にもフィードバックされている。油症研究報告第 9 集をまとめるに当たり、両油症患者の治癒の早からんことを念じて止まない。

本誌に収載した研究成果は、「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」に対する昭和 56 年度および昭和 57 年度厚生省科学研究費補助金ならびに同年度の北九州市よりの研究補助金に負うものである。ここに深甚なる謝意を表する。

クアテルフェニル, ポリ塩化クアテルフェニル および十八塩化クアテルフェニルの合成

福岡県衛生公害センター

高田 智・毛利隆美・飯田隆雄

中村周三・高橋克巳

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人

Synthesis of Quaterphenyls, Polychlorinated Quaterphenyls and Octadecachloroquaterphenyls

Satoshi TAKATA, Takami MOHRI, Takao IIDA,
Shuzo NAKAMURA and Katsumi TAKAHASHI

*Fukuoka Environmental Research Center, 39, Mukaeda,
Mukaizano, Dazaifu-shi, Fukuoka, 818-01, Japan*

Yoshito MASUDA

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

Six skeletal structures of polychlorinated quaterphenyls (PCQs) are theoretically formed by dimerization of polychlorinated biphenyls. They are polychlorinated *o*-quaterphenyl, 2,3'-diphenylbiphenyl, 2,4'-diphenylbiphenyl, *m*-quaterphenyl, 3,4'-diphenylbiphenyl and *p*-quaterphenyl. We synthesized six quaterphenyl isomers, six skeletal different PCQs and six octadecachloroquaterphenyl (ODCQ) isomers by the following methods. (1) *o*-Quaterphenyl, 2,4'-diphenylbiphenyl, *m*-quaterphenyl and *p*-quaterphenyl were prepared by Ullmann reaction. 2,3'-Diphenylbiphenyl and 3,4'-diphenylbiphenyl were by the method of Woods *et al.* (2) PCQs were respectively prepared by introducing chlorine gas into the chloroform solutions of six quaterphenyls in the presence of iodine catalyst. (3) ODCQs were prepared by perchlorination of quaterphenyls or PCQs. ODC-*o*-quaterphenyl, -2,3'-diphenylbiphenyl and -2,4'-diphenylbiphenyl were from corresponding PCQs. The other ODCQs were from corresponding quaterphenyls.

PCQs in the rice oil of Yusho incident showed three peaks on the gas chromatogram after they were perchlorinated to ODCQs. In comparison with retention times of the synthesized ODCQs, the three peaks on the gas chromatogram were assigned to ODC-*o*-quaterphenyl for the first peak, ODC-2,3'-diphenylbiphenyl and -2,4'-diphenylbiphenyl for the second peak and ODC-*m*-quaterphenyl, -3,4'-diphenylbiphenyl and -*p*-quaterphenyl for the third peak in order of retention time.

油症原因油にはポリ塩化ビフェニル(PCB)以外に、ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)が存在していることが明らかにされた⁵⁾¹⁰⁾。また、血液中のPCQ濃度は、一般健常者の場合、油症患者に比較して非常に低い⁴⁾⁷⁾か又は検出限界値(0.02 ng/g)以下であることか

ら⁴⁾⁷⁾、油症診断基準の一つとして採用されている。この血液中のPCQ分析方法は、血液をアルカリ分解後、ヘキサン抽出し、フロリジルカラムクロマトグラフィーを行つて得られるPCQ画分を五塩化アンチモンと反応させ、PCQを十八塩化クアテルフェニル

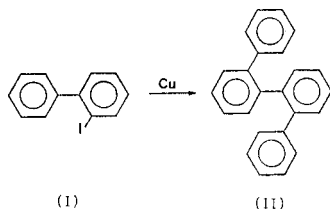
(ODCQ)とし、これをガスクロマトグラフ (GC) に注入し、定量する方法である⁴⁾⁶⁾。一方、PCQ は PCB の二量体であり¹⁵⁾、その基本骨格であるクアテルフェニルには6種の構造異性体、すなわち *o*-クアテルフェニル、2,3'-ジフェニルビフェニル、2,4'-ジフェニルビフェニル、*m*-クアテルフェニル、3,4'-ジフェニルビフェニルおよび *p*-クアテルフェニルが考えられる。

しかしながら、前述の分析方法においては、ガスクロマトグラム上には3つのピークしか現われない。そこで6種の ODCQ はそれぞれガスクロマトグラム上のどのピークに帰属されるかを明らかにするため、ODCQ の合成を試みた。また、油症原因油中の PCQ の塩素含有量は45.5%という報告⁸⁾があり、これから計算すると PCQ の塩素数は約7個となる。そこで6種のクアテルフェニルから塩素数約7個に近い PCQ を合成し、併せてそれらの完全塩素化の反応条件の検討も行った。

実験方法

1. クアテルフェニルの合成

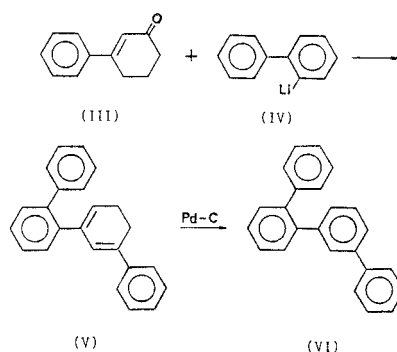
(1) *o*-クアテルフェニル (II)¹¹⁾



2-ヨードジフェニル (I) 2 g と銅粉 2.5 g とを混合し、260°C で20分間加熱し、冷却後、熱ベンゼン 75 ml で抽出し、溶媒を留去、残渣をエタノールから再結晶して、mp 118–119°C (文献値: 118–119°C¹¹⁾, 118.5°C³⁾)を示す無色プリズム晶 (II) を 0.8 g (73%) 得た。マススペクトル (MS) m/e : 306 (M^+ , 100), 229 [$(M^+ - C_6H_5)$, 27]。赤外スペクトル (IR) $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 700, 745, 1455, 1600。

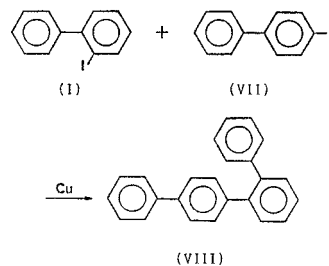
(2) 2,3'-ジフェニルビフェニル (VI)¹³⁾

リチウム 0.5 g と 2-ブロモビフェニル 9 g とをエーテル 125 ml に溶かし、2-ビフェニルリチウム (IV) を生成し、この溶液に 3-フェニル-4'-シクロヘキサノン (III) 4 g をエーテル 75 ml に溶かしたものに加え、この混合物を室温に5時間放置した。この反応液にエタノールを加え、未反応のリチウムを分解し、冷5%硫酸を加え有機物が留出しなくなるまで



水蒸気蒸留を行った。残渣をエーテルで抽出し、水、炭酸水素ナトリウム溶液、水の順に洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、エーテルを留去し、中間体の 1-フェニル-3-(2-ビフェニル)-シクロヘキサジエン-1,3 溶 (V) の結晶を得た。これに *p*-シメン 7 ml を加えてかし、5%パラジウム-炭素 0.5 g を加え、4時間還流した。冷後、ベンゼン 5 ml を加えてろ過、ろ液を留去し、エタノールを加えて結晶化、これをベンゼン・エタノールから再結晶して、mp 90–90.5°C (文献値: 91.8°C³⁾, 90–90.5°C¹³⁾)を示す無色プリズム晶 (VI) を 5.2 g (71%) 得た。MS m/e : 306 (M^+ , 100), 229 [$(M^+ - C_6H_5)$, 12]。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 700, 750, 1465, 1600。

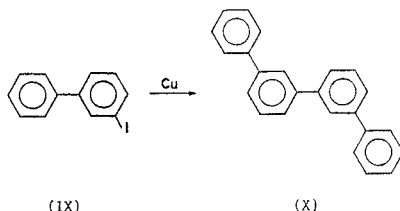
(3) 2,4'-ジフェニルビフェニル (VIII)



(I) 4 g, 4-ヨードジフェニル (VII) 5 g および銅粉 10 g を混合し、260°C で30分間加熱し、冷却後、熱ベンゼン 150 ml で抽出し、室温まで冷却し、ろ過、ろ液を濃縮、アルミナカラムクロマトグラフィーによつて精製し、50%石油エーテル・ベンゼン溶出部より (II) と (VIII) との混合物を得た。この混合物をエタノールから結晶化させると (II) は大きなピラミッド晶であり、(VIII) は長い針状晶であつた。この混合液をよく振り混ぜ、別のフラスコに移すと、長い針状晶は別のフラスコに移った。この結晶化の操作を20回繰り返して、石油エーテルから再結晶して、mp 119–120°C (文献値: 120–120.5°C²⁾, 119.7°C³⁾)を示す

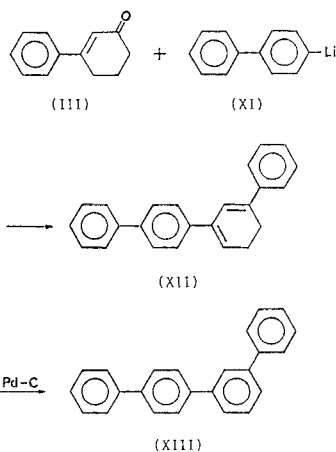
無色プリズム晶 (VIII) を 0.9 g (20 %) 得た. MS m/e : 306 (M^+ , 100), 229 [$(M^+-C_6H_5)$, 12]. IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 700, 740, 1460, 1595.

(4) *m*-クアテルフェニル (X)¹⁾



3-ヨードジフェニル (IX) 8.6 g と銅粉とを混合し, 250°C で 5 時間加熱し, 冷却後, 熱ベンゼン 200 ml で抽出, 溶媒を留去後, 残渣をアルミナカラムクロマトグラフィーによつて精製し, 15 % エーテル・ヘキサン溶出部をエタノールから再結晶して, mp 85–86°C (文献値: 85–86°C¹⁾, 89.1°C³⁾) を示す無色針状晶 (X) を 2.8 g (60 %) 得た. MS m/e : 306 (M^+ , 100), 153 [$(M^+-C_6H_5C_6H_4)$, 15]. IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 700, 760, 1470, 1600.

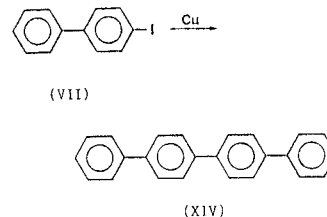
(5) 3,4'-ジフェニルビフェニル (XIII)¹⁴⁾



(VI) の合成と同様にして 4-ブロモビフェニル 9 g から 4-ビフェニルリチウム (XI) を生成し, これに (III) 4 g を加え, 反応させ, 1-フェニル-3-(4-ビフェニル)-シクロヘキサジエン-1,3 (XII) を 6 g 得た. (XII) 2 g に *p*-シメン 15 ml を加えて溶かし, 5 % パラジウム-炭素 0.5 g を加え, 4 時間激しく還流した. 冷却後, ベンゼンを加え, ろ過, ろ液を留去し, エタノールを加えて結晶化, アルミナカラムクロマトグラフィーによつて精製し, 50 % ベンゼン・ヘキサン溶出部をベンゼン・エタノールから再結晶して, mp

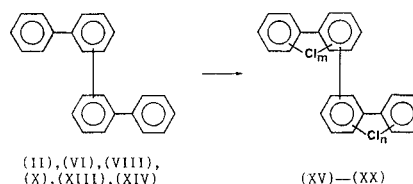
166–167°C (文献値: 167.1°C³⁾, 166°C¹⁴⁾) を示す無色プリズム晶 (XIII) を 0.5 g (25 %) を得た. MS m/e : 306 (M^+ , 100), 153 [$(M^+-C_6H_5C_6H_4)$, 20]. IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 705, 760, 1600.

(6) *p*-クアテルフェニル (XIV)¹⁾



(VII) 4 g と銅粉 4 g とを混合し, 260°C で 20 分間加熱し, (I) と同様に処理し, 残渣をキシレンから再結晶して, mp 318°C (文献値: 308°C¹⁾, 318–319°C³⁾) を示す無色鱗片晶 (XIV) を 1.2 g (40 %) 得た. MS m/e : 306 (M^+ , 100), 153 [$(M^+-C_6H_5C_6H_4)$, 20]. IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 750, 685, 1480, 1575.

2. PCQ の合成



(1) PCQ の一般的な合成法

クアテルフェニルをクロロホルムに溶解又は懸濁させ, ヨウ素を少量加え, かきまぜた後, 塩素ガスを導入した. 溶液の色が濃紫色から黄色に変ったとき, 反応温度を徐々に上げ還流した. クアテルフェニルの塩素化の進行状況は 1 時間ごとに反応溶液を少量とり, 水素炎イオン化検出器 (FID) 付 GC でガスクロマトグラムのパターンの変化をみて, 一定時間ごとにガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) によつて確認した. クアテルフェニルの塩素置換数が約 7 個と推定されたとき反応を終了した. なお, 反応溶媒のクロロホルムは還流中に揮散したので, 1 時間ごとに, クロロホルム 10–20 ml を加え, 反応 4 時間以後は 1 時間ごとにヨウ素を少量ずつ加えた. また, 反応中に発生する塩化水素ガスおよび未反応の塩素ガスは 30 % 水酸化ナトリウム溶液に捕集した.

反応終了後, クロロホルム溶液を 1N-水酸化カリウム溶液で洗浄し, クロロホルム層をとり, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を留去後, フロリジカラム

クロマトグラフィーによつて精製し、5%エーテル・ヘキサン溶出部から油状物質を得た。この油状物質を真空ポンプで減圧にし、溶媒を完全に留去して、粉末化した。

(2) 6種のPCQの合成

a) ポリ塩化-*o*-クアテルフェニル (XV): (II) 0.8 g をクロロホルム 150 ml に溶かし、2. (1) の方法で17時間反応し、淡黄色粉末 2.1 g を得た。GC-MS による塩素数は5—10個であつた。

b) ポリ塩化-2,3'-ジフェニルビフェニル (XVI): (VI) 1.0 g をクロロホルム 150 ml に溶かし、2. (1) の方法で22時間反応し、淡黄色粉末 2.2 g を得た。GC-MS による塩素数は5—10個であつた。

c) ポリ塩化-2,4'-ジフェニルビフェニル (XVII): (VIII) 0.5 g をクロロホルム 100 ml に溶かし、2. (1) の方法で20時間反応し、淡黄色粉末 1.2 g を得た。GC-MS による塩素数は5—10個であつた。

d) ポリ塩化-*m*-クアテルフェニル (XVIII): (X) 1.0 g をクロロホルム 150 ml に溶かし、2. (1) の方法で10時間反応し、白色粉末 2.4 g を得た。GC-MS による塩素数は6—9個であつた。

e) ポリ塩化-3,4'-ジフェニルビフェニル (XIX): (XIII) 0.3 g をクロロホルム 80 ml に溶かし、2. (1) の方法で10時間反応し、白色粉末 0.7 g を得た。GC-MS による塩素数は6—9個であつた。

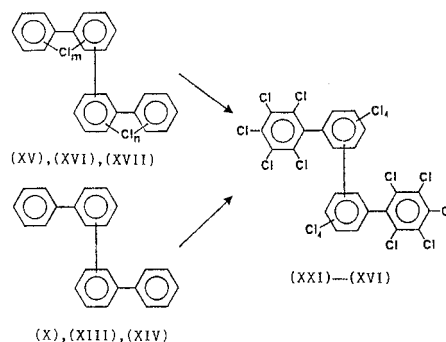
f) ポリ塩化-*p*-クアテルフェニル (XX): (XIV) 0.9 g をクロロホルム 150 ml を加え、懸濁し、2. (1) の方法で反応すると、反応開始後20分で透明な溶液となつた。11時間反応し、白色粉末 1.8 g を得た。GC-MS による塩素数は6—9個であつた。

3. 合成したPCQの完全塩素化条件の検討に用いた方法

PCQの1 μ g/mlのヘキサン溶液を調製し、この1 mlを反応管にとり、減圧デシケター中で溶媒を蒸発乾固し、氷冷しながら五塩化アンチモン 0.5 mlを加え、封管し、加熱反応し、冷却後、反応管を開管し、クロロホルム 2 mlを加え、混和、氷冷しながら6N-塩酸 2.5 mlを少量ずつ注意して加え、混和後、遠心分離した。塩酸層を捨て、塩酸 2 mlを加え同様にした。この操作をもう一度繰り返した後、クロロホルム層を水、10%酒石酸溶液、10%炭酸水素ナトリウム溶液、水の順に2 mlずつで洗い、無水硫酸ナトリウム 1.5 gをつめたガラス管を通し10 mlスピッツ管に移し、反応管を1 mlずつで3回洗い、同様にしてスピッツ管に移した。溶媒を減圧デシケター中で蒸

発乾固し、ベンゼンを加えて正確に5 mlとし、電子捕獲型検出器 (ECD) 付 GC でピーク強度を測定した。

4. ODCQの合成



(1) 十八塩化-*o*-クアテルフェニル (XXI)

反応管に (XV) 60 mg を入れ、五塩化アンチモン 10 ml を加え、封管し、200°C で3時間加熱、冷却後、開管し、氷冷しながら20%塩酸 20 ml を少量ずつ加え、混和、析出した結晶をろ過、結晶を塩酸および水で洗い、乾燥後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによつて精製し、ヘキサン溶出部をベンゼン・リグロインから再結晶して、mp 323°C を示す無色結晶 30 mg を得た。

(2) 十八塩化-2,3'-ジフェニルビフェニル (XXII)

反応管に (XVI) 60 mg を入れ、4. (1) と同様に反応処理し、リグロイン・エタノールから再結晶して、mp 288—289°C を示す無色結晶 44 mg を得た。

(3) 十八塩化-2,4'-ジフェニルビフェニル (XXIII)

反応管に (XVII) 60 mg を入れ、4. (1) と同様に反応処理し、リグロイン・ベンゼンから再結晶して、mp 357°C を示す無色プリズム晶 15 mg を得た。

(4) 十八塩化-*m*-クアテルフェニル (XXIV)

反応管に (X) 100 mg を入れ、4. (1) と同様に反応処理し、ベンゼン・エタノールから再結晶して、mp > 360°C を示す無色プリズム晶 70 mg (23%) を得た。

(5) 十八塩化-3,4'-ジフェニルビフェニル (XXV)

反応管に (XIII) 100 mg を入れ、4. (1) と同様に反応処理し、ベンゼン・エタノールから再結晶して、mp 325—326°C を示す無色結晶 22 mg (7%) を得た。

(6) 十八塩化-*p*-クアテルフェニル (XXVI)

反応管に (XIV) 100 mg を入れ、4. (1) と同様に反応処理、シリカゲルカラムクロマトグラフィーは行

わず、結晶をベンゼンから再結晶して $mp > 360^{\circ}\text{C}$ (文献値¹²⁾: $362\text{--}364^{\circ}\text{C}$) を示す無色結晶 188 mg (63%) を得た。

5. 測定装置および条件

(1) GC

a) クアテルフェニル: FID 付島津 GC-6A を使用した。カラムは 2%OV-17 をガスクロム Q (60-80 メッシュ) にコーティングし、ガラスカラム (3 mm $\times$ 1.5 m) に充填したものをを用い、カラムおよび検出器の温度はそれぞれ 280°C , 350°C であった。また、キャリアガスは高純度窒素を用い、流量は 70 ml/min で、水素および空気の圧力は 1 kg/cm^2 であった。

b) PCQ 合成過程の追跡: 5. (1) a) と同じ装置を使用した。カラムは 1.5%OV-210 をクロモソルブ W AW DMCS (60-80 メッシュ) にコーティングし、ガラスカラム (3 mm $\times$ 1 m) に充填したものをを用い、カラム温度は $180\text{--}260^{\circ}\text{C}$ に昇温し、検出器温度は 300°C であった。キャリアガスは高純度窒素を使用し、流量は 60 ml/min で、水素および空気の圧力は 1 kg/cm^2 であった。

c) PCQ: ^{63}Ni -ECD 付島津 GC-6A を使用した。カラムは 1.5%OV-1 をガスクロム Q (60-80 メッシュ) にコーティングし、ガラスカラム (3 mm $\times$ 2 m) に充填したものをを用い、カラムおよび検出器の温度はそれぞれ 275°C , 300°C であった。キャリアガスに高純度窒素を用い、圧力は 2 kg/cm^2 であった。

d) ODCQ: 5. (1) c) と同じ装置を使用した。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 (3 mm $\times$ 1 m) に充填したものをを用い、カラムおよび検出器の温度はそれぞれ 265°C , 280°C であった。キャリアガスは高純度窒素を用い、圧力は 1.75 kg/cm^2 であった。

(2) GC-MS

GC は日本電子製 JGC-20K, MS は日本電子製 JMS-01 SG-2 を使用した。MS のイオン化エネルギーは 75 eV, イオン化電流は 200 μA であった。

a) クアテルフェニル: GC のカラムは 1% OV-17 をクロモソルブ W AW DMCS にコーティングし、ガラスカラム (2 mm $\times$ 2 m) に充填したものをを用いた。注入部、カラムおよびエンリッチャーの温度はそれぞれ 260°C , 220°C , 290°C であった。キャリアガスはヘリウムを使用した。

b) PCQ: GC 条件は 5. (1) b) と同様であつ

た。また、エンリッチャー温度は 290°C であり、キャリアガスはヘリウムを用いた。

c) ODCQ: GC を使用せず直接測定した。試料加熱温度は 180°C であった。

(3) IR

島津製 IR-420 型を使用した。

結果および考察

1. クアテルフェニルの合成

(II), (VI), (VIII), (X), (XIII) および (XIV) の 6 種のクアテルフェニルはすべて既知化合物であり¹⁾²⁾³⁾¹³⁾¹⁴⁾, これらのうち (II), (X) および (XIV) は市販されているが、著者らは 6 種の異性体とも合成を試みた。

近年 Ibuki ら³⁾ はこれらの 6 種のクアテルフェニルをブロモベンゼンとマグネシウムから臭化フェニルマグネシウムを生成し、これとジヨードフェニルとを反応させて得ている。この方法は原料の合成行程が長いので、実験方法 1. で述べた方法で行った。

(II), (VIII), (X) および (XIV) はヨードジフェニルと銅粉との Ullmann 反応によつて得た。これらのうち (VIII) の合成については実験方法 1. (3) で述べたように副生成物として (II) が 1.1 g (25%) 得られ、(VIII) の 0.9 g (20%) よりも多いため、

(I) よりも (VII) をもつと多く反応に使用することによつて (VIII) の収率も上昇することが予想される。なお、(X) および (XIV) は市販品を購入し、混融試験を行つた結果、融点降下は示さなかつた。

(VI) および (XIII) は Woods ら¹³⁾¹⁴⁾ の方法を参考にして得た。これらのうち (XIII) については文献¹⁴⁾ には収率は記載されていないが、著者らが合成した結果では、副生成物が多く収率が 25% と低かつた。

Fig. 1 に以上合成した 6 種のクアテルフェニルの混合物のガスクロマトグラムを示す。クアテルフェニルの保持時間は (II), (VI), (VIII), (X), (XIII), (XIV) の順になつている。

2. PCQ の合成

6 種の PCQ のうちポリ塩化-*p*-クアテルフェニルはすでに山傾ら¹⁵⁾ が (XIV) をクロロホルムに懸濁し、ヨウ素および鉄粉を触媒として塩素ガスを導入して、塩素数 3-6 個の化合物を合成している。この方法を参考にしてヨウ素のみを触媒として、塩素数約 7 個の PCQ の合成を試みた。塩素化の進行状況の確認は GC-MS によつて行つた。塩素置換反応に要した

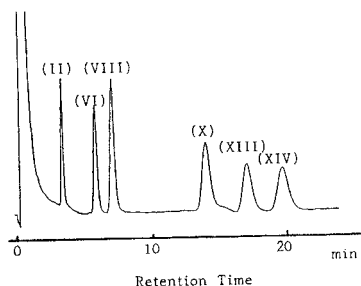


Fig. 1. Gas chromatogram of synthesized quaterphenyl isomers

- (II): *o*-Quaterphenyl.
 (VI): 2,3'-Diphenylbiphenyl.
 (VIII): 2,4'-Diphenylbiphenyl.
 (X): *m*-Quaterphenyl.
 (XIII): 3,4'-Diphenylbiphenyl.
 (XIV): *p*-Quaterphenyl.

時間は (XV)–(XVII) が 17–22 時間, (XVIII)–(XX) が 10–11 時間であり, また GC-MS の結果から塩素数を推定すると, (XV)–(XVII) は 5–10 個, (XVIII)–(XX) は 6–9 個であった. 反応時間の差はクアテルフェニルの異性体の構造の違いによるものと考えられ, また, 塩素数の範囲の差は反応時間および異性体の構造の違いによるものであると考えられる.

Fig. 2 に合成した 6 種の PCQ, それらの混合物および 1968 年 10 月裁判所が押収したカネミ倉庫の熱媒体中の PCQ のガスクロマトグラムを示す. まず合成した PCQ についてピークの形状をみると, (XVI) と (XVII), (XVIII) と (XIX) は互いに以通っている. 次に GC に注入してから PCQ のピークが現われ, ベースラインに戻る時間をみると, (XV): 13 分, (XVI), (XVII): 19 分, (XVIII)–(XX): 30 分である. このように (XV)–(XVII) は (XVIII)–(XX) に比べて早かった. また, 合成した PCQ をそれぞれ等量混合した (A) および使用済み熱媒体 (C) のガスクロマトグラムのピークの形状についてみると, A の場合は大体対称的な山型を示しているが, C の場合は 5 分頃にピークがあり, その後段々と低くなっている. このように A と C を比較すると, A は C に比べて保持時間の遅い部分が多いことがわかる. 更にベースラインに戻る時間についてみると, A および C 両方とも約 30 分であった. なお, Fig. 2 の B については後述する.

Fig. 3 に Fig. 2 の矢印における GC-MS の結果を示す. (XV) についてみると, m/e 544 は塩素数 7 個の七塩化-*o*-クアテルフェニルの分子量で M^+ に

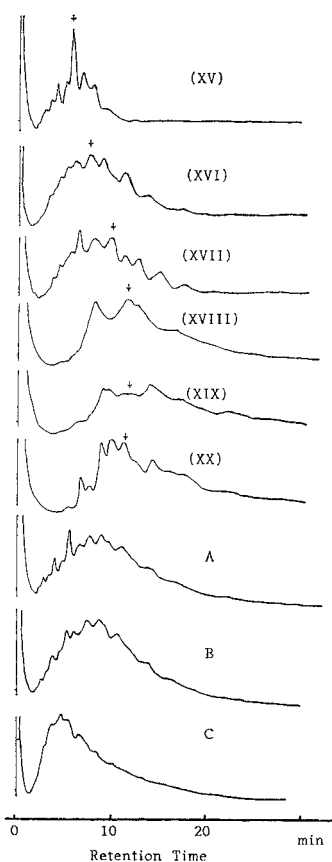


Fig. 2. Gas chromatograms of PCQs prepared from quaterphenyls and isolated from the used thermotransfer medium

- (XV): From *o*-quaterphenyl.
 (XVI): From 2,3'-diphenylbiphenyl.
 (XVII): From 2,4'-diphenylbiphenyl.
 (XVIII): From *m*-quaterphenyl.
 (XIX): From 3,4'-diphenylbiphenyl.
 (XX): From *p*-quaterphenyl.

A: Mixed PCQs (XV : XVI : XVII : XVIII : XIX : XX = 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1).

B: Mixed PCQs (XV : XVI : XVII : XVIII : XIX : XX = 1 : 4.2 : 4.2 : 0.7 : 0.7 : 0.7).

C: From the used thermotransfer medium.

一致し, またその塩素の同位体存在比からも七塩化体であることがわかる. また, m/e 474 (M^+-2Cl) にフラグメントピークがある. その他, m/e 578 に塩素数 8 個の M^+ , m/e 614 に塩素数 9 個の M^++2 もみられる. その他の PCQ のマススペクトルもほぼ (XV) と同じである. (XVI), (XVII) には m/e 646 に塩素数 10 個の M^+ がある.

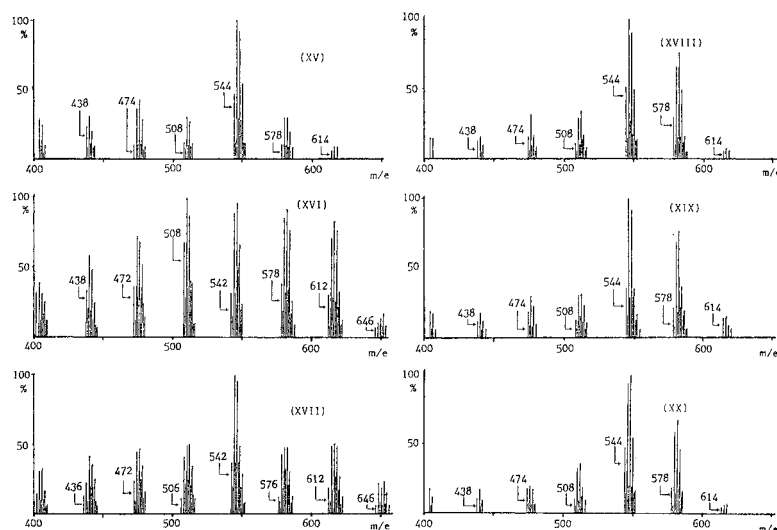


Fig. 3. Mass spectra of synthesized PCQs at the arrow in Fig. 2

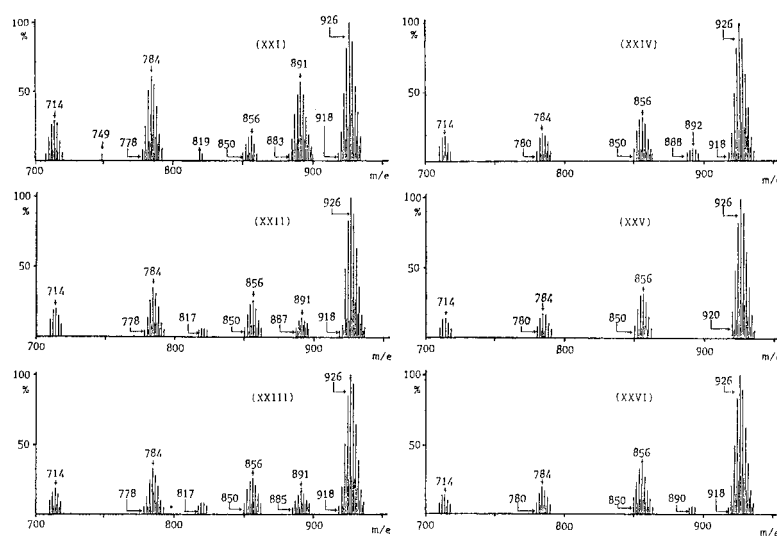


Fig. 4. Mass spectra of synthesized ODCQs

- (XXI): Octadecachloro-*o*-quaterphenyl.
 (XXII): Octadecachloro-2, 3'-diphenylbiphenyl.
 (XXIII): Octadecachloro-2, 4'-diphenylbiphenyl.
 (XXIV): Octadecachloro-*m*-quaterphenyl.
 (XXV): Octadecachloro-3, 4'-diphenylbiphenyl.
 (XXVI): Octadecachloro-*p*-quaterphenyl.

3. PCQ の完全塩素化の検討

合成した PCQ の完全塩素化の反応条件の検討を行った。まず、反応時間を 2 時間に固定し 160–240°C までを 20°C 間隔で 5 段階とり、反応温度の検討を行ったところ、(XV) は 240°C が、その次の PCQ は 220°C が最も良かった。ここで、完全塩素化された

PCQ が分解しないと思われる安全な反応温度 200°C を選び、反応時間の検討を行った。反応時間を 1–5 時間とし、1 時間間隔で 5 段階とつた。その結果、6 種の PCQ とも 3 時間が最も良かった。

以上の結果から、合成した PCQ の完全塩素化は五塩化アンチモンを加えて 200°C で 3 時間反応すると

とが最適であつた。

4. ODCQ の合成

まずクアテルフェニルを原料にして ODCQ の合成を試みた。その結果、クアテルフェニルに五塩化アンチモンを加えた段階で、溶液の色は、(XIII) および (XIV) の場合、それぞれ橙色および黄色、その他のクアテルフェニルの場合、黒褐色を呈していた。また、200°C で3時間加熱後の溶液の色は、(XIV) の場合橙色で、その他の場合黒褐色であつた。これらを後処理し、粗結晶を得た。(XIV) を除いて、この粗結晶について薄層クロマトグラフィーを行うと、すべて ODCQ と思われるスポットはあるが、他の副生成物のスポットが多く、特に (II), (VI) および (VIII) については非常に収率が悪いと思われた。そのため (XXI)―(XXIII) の合成は前に述べた結果を基にしてそれぞれ PCQ から行つた。以上のようにクアテルフェニルから五塩化アンチモンによる ODCQ の合成は (XIV) を除いて、検討の必要があると思われる。なお、(XXVI) は既知化合物である¹²⁾。

Fig. 4 に合成した6種の ODCQ のマスペクトルを示す。いずれのスペクトルも m/e 918 に M^+ 、又は m/e 920 に $M^+ + 2$ のピークがあり、また m/e 926 ($M^+ + 8$) に基準ピークがみられ、更に塩素の同位体存在比からも十八塩化物が生成されていることを示している。(XXIV), (XXV) および (XXVI) は 2Cl, 4Cl, 6Cl が脱離したフラグメントピークがみられるが、(XXI), (XXII) および (XXIII) はこれらの他に Cl, 3Cl が脱離したフラグメントピークもみられる。また、(XXIV) および (XXVI) については m/e 888, m/e 890 にピークがみられることにより十七塩化物が少量混在していることを示している。(XXV) については完全に塩素化されているものと考えられる。

これらの合成した ODCQ および前述の使用済み熱媒体中の ODCQ のガスクロマトグラムを Fig. 5 に示す。まず合成した ODCQ の保持時間は (XXI): 10.0分, (XXII): 12.3分, (XXIII): 12.1分, (XXIV): 18.1分, (XXV): 18.0分, (XXVI): 17.0分で、一方使用済み熱媒体中の ODCQ (A) のそれは第1ピーク: 10.0分, 第2ピーク: 12.2分, 第3ピーク: 18.3分である。以上の結果からかわるわかるように、Aのガスクロマトグラムの第1ピークは (XXI), 第2ピークは (XXII) および (XXIII), 第3ピークは (XXIV), (XXV) および (XXVI) の成分をそれぞれ含んでいる。また前田ら⁹⁾ はこれらの

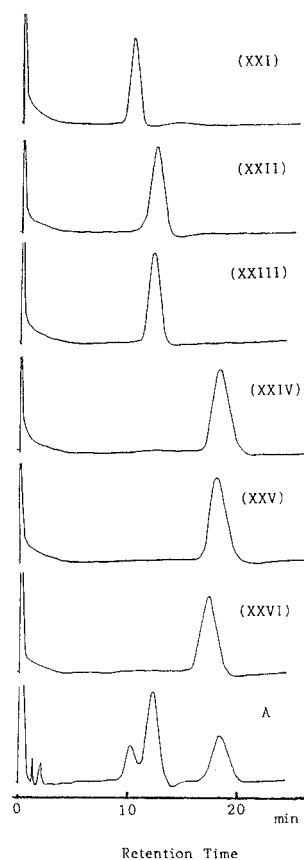


Fig. 5. Gas chromatograms of synthesized ODCQs

(XXI)―(XXVI): Refer to Fig. 4.

A: From the used thermotransfer medium.

なかで (XXIV) および (XXVI) は第3ピークに一致すると報告しており、著者らの結果と同じであつた。

一方、中村¹³⁾は使用済み熱媒体を sodium dihydrobis-(2-methoxyethoxy) aluminate で脱塩素して、熱媒体中に前述の6種のクアテルフェニルが存在することを GC-MS で確認したとしている。

このようなことから、ヒトの血液中の PCQ を完全塩素化して得られるガスクロマトグラム上の3つのピークも前述の成分をそれぞれ含んでいると思われる。

熱媒体からの ODCQ のガスクロマトグラム上の3つのピークの面積比をとり、第2および第3のピークにはそれぞれ前述の ODCQ を等量含むと仮定して、合成した PCQ の混合液を調製し、GC を行つた結果が Fig. 2 の B である。Fig. 2 の B と熱媒体中の PCQ の C と比較すると、C よりも B は保持時間の遅

い部分が多い。この点については、今後検討の必要があると思われる。

総 括

熱媒体中に存在する6種のクアテルフェニルを合成した。すなわち *o*-クアテルフェニル, 2,4'-ジフェニルビフェニル, *m*-クアテルフェニルおよび *p*-クアテルフェニルは Ullmann 反応によつて, 2,3'-ジフェニルビフェニルおよび 3,4'-ジフェニルビフェニルは Woods らの方法によつてそれぞれ合成した。

また, これらのクアテルフェニルから熱媒体中に含まれる PCQ の塩素数とほぼ同じ7個の塩素で置換された PCQ を合成した。合成した PCQ の塩素数を GC-MS から推定すると, ポリ塩化-*o*-クアテルフェニル, ポリ塩化-2,3'-およびポリ塩化-2,4'-ジフェニルビフェニルは5-10個で, ポリ塩化-*m*-クアテルフェニル, ポリ塩化-3,4'-ジフェニルビフェニルおよびポリ塩化-*p*-クアテルフェニルは6-9個であつた。

更に, クアテルフェニル又は PCQ から ODCQ を合成した。すなわち, 十八塩化-*o*-クアテルフェニル, 十八塩化-2,3'-および十八塩化-2,4'-ジフェニルビフェニルは PCQ から, 十八塩化-*m*-クアテルフェニル, 十八塩化-3,4'-ジフェニルビフェニルおよび十八塩化-*p*-クアテルフェニルはクアテルフェニルから, それぞれ合成した。

これら合成した ODCQ の GC の結果から, 熱媒体中およびヒト血液中の PCQ の完全塩素化体のガスクロマトグラム上の3つのピークは, 保持時間の順に, 第1ピークにはポリ塩化-*o*-クアテルフェニル, 第2ピークにはポリ塩化-2,3'-および-2,4'-ジフェニルビフェニル, 第3ピークにはポリ塩化-*m*-クアテルフェニル, ポリ塩化-3,4'-ジフェニルビフェニルおよびポリ塩化-*p*-クアテルフェニルの完全塩素化体をそれぞれ含んでいることを明らかにした。

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った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, 本研究に協力された当所永瀬誠研究員, 竹中重幸技師, 森田邦正研究員に心から感謝します。

なお, 本研究は厚生省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) Bowden, S. T.: Polyphenyls. Part I. The

symmetrical diphenylbiphenyls. J. Chem. Soc. 1111-1114, 1931.

- 2) Hey, D. H., Perkins, M. J. and Williams, G. H.: 2,4'-Diphenylbiphenyl (*o,p*-Quaterphenyl). J. Chem. Soc. 748-750, 1961.

- 3) Ibuki, E., Ozasa, S., Fujioka, Y., Okada, S. and Yanagihara, Y.: Polyphenyl synthesis by means of the Kharash-type Grignard cross-coupling reaction: Chem. Pharm. Bull. 30: 2369-2379, 1982.

- 4) 飯田隆雄, 芥野岑男, 高田 智, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人: 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. 福岡医誌 72: 185-191, 1981.

- 5) Kamps, I. 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) 榎本 隆: 油症患者および健康者血液中の PCB, PCQ 濃度. 全国油症班会議, 福岡, 1979年6月.

- 7) 榎本 隆: 油症患者, 健康者および職業的 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) 榎本 隆: 油症と環境汚染における Polychlorinated Quaterphenyl (PCQ) の挙動. ファルマシア 17: 512-517, 1981.

- 9) 前田浩一郎, 榎本 隆: PCQ 定量法の検討—PCQ の完全塩素化の検討—. 大阪府公衛研所報, 食品衛生編, 9: 89-94, 1978.

- 10) 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.

- 11) 中村周三: 未発表データ.

- 12) Wibaut, J. P., Overhoff, J. and Gratama, K.: Octadecachloroquaterphenyl (perchloroquaterphenyl) and a facile method for the preparation of decachlorobiphenyl (perchlorobiphenyl). Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 59: 298-302, 1940.

- 13) Woods, G. F., Van Artsdale, A. L. and Reed, F. T.: Synthesis and ultraviolet absorption spectra of *m*-substituted benzenes. J. Am. Chem. Soc. 72: 3221-3226, 1950.

- 14) Woods, G. F., and Tucker, I. W.: Synthesis of *m*-diarylbenzenes. J. Am. Chem. Soc. 70: 3340-3342, 1948.

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

^{14}C -2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran の合成

第一化学薬品株式会社

深 作 昇・長谷川 賢

第一薬科大学物理分析学教室

黒 木 広 明・増 田 義 人

九州大学薬学部衛生化学・裁判化学教室

古 賀 信 幸・吉 村 英 敏

Synthesis of ^{14}C -2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran

Noboru FUKASAKU and Masaru HASEGAWA

*Daiichi Pure Chemical Co., Ltd,
Nihonbashi, Chuo-ku, Tokyo 103, Japan*

Hiroaki KUROKI and Yoshito MASUDA

*Daiichi College of Pharmaceutical Sciences
Minami-ku, Fukuoka 815, Japan*

Nobuyuki KOGA and Hidetoshi YOSHIMURA

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

2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran-1,2,3,4,10,11- ^{14}C was synthesized from benzene- ^{14}C (u) via 2,3,4-trichlorophenol- ^{14}C (u), 2-nitro-4,5,2',3',4'-pentachlorodiphenyl ether-1',2',3',4',5',6'- ^{14}C and 2-amino-4,5,2',3',4'-pentachlorodiphenyl ether-1',2',3',4',5',6'- ^{14}C . Radiochemical purity of the synthesized compound was determined to be higher than 99 % by radio thin layer chromatography.

Polychlorinated dibenzofuran (PCDF) は一般的に polychlorinated biphenyl (PCB) と polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin の中間に位置する高毒性化合物で、生体への高蓄積性が知られている。本化合物は各種 PCB 製品あるいは農薬 pentachlorophenol 製品中、さらにはごみ焼却炉における飛散灰などからも検出され¹⁾²⁾⁹⁾、今や世界的環境汚染物質として注目されている¹²⁾。また、油症患者が摂取したライソオイルおよび死亡した患者体内からもこの PCDF が検出され¹⁰⁾、油症の原因物質として PCB よりむしろ PCDF が主な役割を果たしたものと考えられるに至った。すなわち、吉原ら¹³⁾ は塩素数と置換位置がそれぞれ異なる 13 種の PCDF 異性体につき毒

性評価を行ない、このうち、2,3,7,8 位の少なくとも 3 つの位置に塩素置換基を有する PCDF がラットに対し、いわゆる 3-methylcholanthrene 型の強い肝酵素の誘導を示すと共に、体重減少、胸腺萎縮などの強い急性毒性を示すことを明らかにした。特に、2,3,7,8-tetra-CDF および 2,3,4,7,8-penta-CDF は最強の酵素誘導作用および毒性を示した。一方、黒木ら⁷⁾¹¹⁾ は、この 2 つの PCDF を事件後数年して死亡した油症患者体内より検出し、特に、2,3,4,7,8-penta-CDF が肝に高濃度で蓄積されていることを報告した。この 2,3,4,7,8-penta-CDF の肝への驚くべき高蓄積性はサル、ラットにおいても認められている⁸⁾。以上のことから、高毒性かつ肝残留性のきわめて高い

2, 3, 4, 7, 8-penta-CDF は油症の原因に最も寄与が高い物質であると考えられる。これらの研究とは別に、榎本ら⁶⁾ はサルについての実験や台湾油症における知見などから PCDF の油症における関与を指摘している。そこで、本研究では、PCDF による毒性発現機構をさらに深く解明するため、研究上必須の ^{14}C 標識 2, 3, 4, 7, 8-penta-CDF の合成を試みた。ここに、その合成結果について報告する。

実験方法

1. 2, 3, 4-Trichlorophenol- ^{14}C (u) (I) の合成

benzene- ^{14}C (u) を *m*-dinitrobenzene- ^{14}C (u) とした後、Hodgson らの方法⁵⁾ により *m*-nitroaniline- ^{14}C (u), 続いて 5% Pd-C を触媒として水素ガス還元して *m*-chlorophenol- ^{14}C (u) を得た。これより Hodgson らの方法⁵⁾ で (I) を合成した。

2. 2-Nitro-4, 5, 2', 3', 4'-pentachlorodiphenyl ether-1', 2', 3', 4', 5', 6'- ^{14}C (II) の合成

(I) 6 mCi (593 mg, 3.0 mmole) に 1.0 N メタノール性 KOH 3.2 ml を加えて溶解した後、メタノールを減圧留去し、残渣を減圧乾燥した。得られた (I) の K 塩に 2, 4, 5-trichloronitrobenzene (1700 mg, 7.5 mmole) を加えて、120°C で 10 時間撹拌した。反応後、反応混合物を 20 ml の 2N NaOH に注ぎ、エーテル抽出 (30 ml × 3) した。エーテル抽出液を水洗後、 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を留去して、(II) の粗生成物を得た。これをシリカゲルのカラムクロマトグラフィーにかけ、ベンゼンで溶出させた後、その残留物を *n*-ヘキサンで再結晶させ (II) 3.96 mCi (767 mg) を得た。収率 66%。

3. 2-Amino-4, 5, 2', 3', 4'-pentachlorodiphenyl ether-1', 2', 3', 4', 5', 6'- ^{14}C (III) の合成

(II) 3.96 mCi (767 mg, 2.0 mmole) に非標識の

(II) 623 mg (1.62 mmole) を加えた後、25 ml の酢酸に溶解し、鉄粉 1.2 g を徐々に加え、室温にて 10 時間撹拌した。反応後、反応混合物を 80 ml の水に注ぎ、これをエーテルで抽出 (80 ml × 3) した。エーテル抽出液を飽和の炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄後、水洗し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、溶媒を留去すると (III) 3.56 mCi (1,180 mg) を得た。収率 92%。

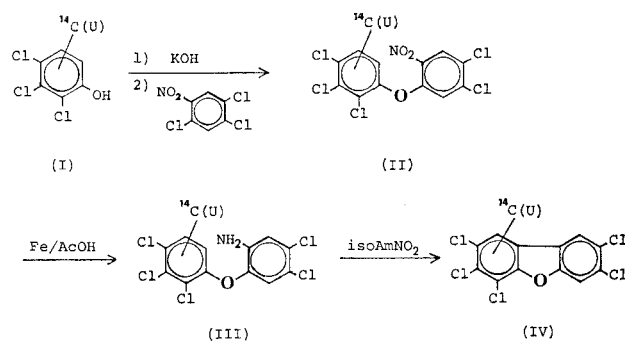
4. 2, 3, 4, 7, 8-Pentachlorodibenzofuran-1, 2, 3, 4, 10, 11- ^{14}C (IV) の合成

(III) 3.56 mCi (1,180 mg, 3.3 mmole) を 15 ml のテトラクロロエチレンに溶解し、室温で撹拌しながら亜硝酸イソアミル 660 mg (5.6 mmole) を加え、1 時間撹拌を続けた。次いで、80°C に加熱し一夜撹拌した。反応後テトラクロロエチレンを留去し、残留物をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーにかけ、*n*-ヘキサン・酢酸エチル (7:1) で溶出させた。溶出液を濃縮乾涸し、得られた粗結晶を冷 *n*-ヘキサンで洗浄して (IV) 130 μCi (40.5 mg) を得た。収率 3.6%。

IV の放射化学的純度は、IV を薄層クロマト板 (E. Merck 社製シリカゲル 7515/0100) にスポットし、3 種類の溶媒系① *n*-ヘキサン、②四塩化炭素、③ *n*-ヘキサン・酢酸エチル (7:1) でそれぞれ展開し、ラジオ薄層クロマトグラフ (Aloka 製 Model 102) で測定した。この標識化合物の放射化学的純度は 99% 以上であつた。また、この化合物の比放射能は 1.1 mCi/mmole 又は 3.21 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ であつた。

結果と考察

Scheme 1 に (IV) の合成経路を示す。この合成原料である (I) は benzene- ^{14}C (u) を出発原料とし、非常に多くの合成過程を経て合成された。それぞれの段階の反応については、標識されていないコール



Scheme 1. Synthetic procedures of 2, 3, 4, 7, 8-penta-CDF- ^{14}C

ドの化合物を用いて、まず実験を行ない、合成された化合物を確認した。確認には薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィーによる分離及び質量スペクトル、赤外線吸収スペクトル、核磁気共鳴スペクトル測定などが行われた。ここで得られたコールドの化合物のデータと同様に合成された標識化合物のそれらのデータを比較し、各段階で合成された標識化合物を確認した。

各反応段階の合成収率はだいたい良好であるが、最後の段階の(IV)を合成する場合の収率が非常に低く3.6%であったのが問題である。この反応はコールドの実験においてもやはり収率が低かった。この段階の合成収率が良くなれば、この合成反応全体が効果的に利用できる、今後この反応収率を上げること検討する必要がある。

Gray ら³⁾は dibenzofuran-¹⁴C (u) の塩素化により 2,3,7,8-及び 1,2,7,8-tetra-CDF-¹⁴C (u) を合成している。その原料の dibenzofuran-¹⁴C (u) を合成する時に、diphenyl ether に酢酸パラジウムを触媒として作用させて閉環を試みたが、コールドの場合は閉環して dibenzofuran を生成するが、標識化合物の場合は重合体できて dibenzofuran-¹⁴C (u) が生成されなかったことを報告している。我々の実験における閉環反応には酢酸パラジウムを使用していないので、そのような問題は起らなかったが、閉環して dibenzofuran 骨格を作る反応の収率はやはり低かつ

た。

合成された(IV)の放射化学的純度はラジオ薄層クロマトグラフィーにより調べられた。3種類の溶媒系のいずれを用いた場合においても Fig. 1 に示すようなクロマトグラムが得られ、1本の大きなピークの他に放射性化合物のピークが認められないので、(IV)の放射化学的純度は99%以上はあるものと考えられる。したがって、(IV)は生物学的及び化学的実験のトレーサーとして十分に利用できる。

総 括

油症の主な原因物質の一つと考えられている 2,3,4,7,8-penta-CDF の ¹⁴C 標識化合物を合成した。benzene-¹⁴C (u) を出発原料とし、2,3,4-trichlorophenol-¹⁴C (u)、2-nitro-4,5,2',3',4'-pentachlorodiphenyl ether-¹⁴C、2-amino-4,5,2',3',4'-pentachlorodiphenyl ether-¹⁴C を順次合成した後、2,3,4,7,8-penta-CDF-¹⁴C を得た。最後の合成反応の収率は低かったが、得られた化合物の放射化学的純度が高いので、トレーサー実験に使用できる。

文 献

- 1) Bowes, G. W., Mulvihill, M. J., Simoneit, B. T., Burlingame, A. L. and Risebrough, R. W.: Identification of chlorinated dibenzofurans in American polychlorinated biphenyls. *Nature* 256: 305-307, 1975.
- 2) Buser, H. R., Bosshardt, H. P., Rappe, C. and Lindahl, R.: Identification of polychlorinated dibenzofuran isomers in fly ash and PCB pyrolysis. *Chemosphere* 7: 419-429, 1978.
- 3) Gray, A. P., McClellan, W. J. and Dipinto, V. W.: Carbon-14-labeled 2,3,7,8- and 1,2,7,8-tetrachlorodibenzofuran. *J. Labelled Compd. and Radiopharm.* 18: 507-519, 1981.
- 4) Hodgson, H. H. and Kershaw, A.: Sulfonation of *m*-chlorophenol and some new halophenols. *J. Chem. Soc.* 1419-1425, 1930.
- 5) Hodgson, H. H. and Ward, E. R.: Reaction of aromatic nitrocompounds with alkaline sulphides. Part II The three dinitrobenzenes. *J. Chem. Soc.* 1316-1317, 1949.
- 6) Kashimoto, T., Miyata, H., Kunita, N., Tung, T. C., Hsu, S. T., Chang, K. J., Tang, S. Y., Ohi, G., Nakagawa, J. and Yamamoto, S.: Role of polychlorinated dibenzofuran in Yusho (PCB poisoning). *Arch. Environ. Health* 36: 321-326, 1981.
- 7) Kuroki, H. and Masuda, Y.: Determination of polychlorinated dibenzofuran isomers retained in patients with Yusho. *Chemosphere*

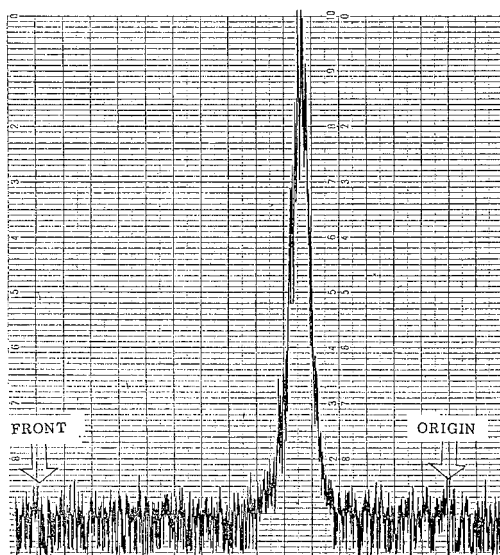


Fig. 1. Radio thin layer chromatogram of synthesized 2,3,4,7,8-penta-CDF-¹⁴C
Solvent: n-hexane

7: 771-777, 1978.

8) Kuroki, H., Masuda, Y., Yoshihara, S. and Yoshimura, H.: Accumulation of polychlorinated dibenzofurans in the livers of monkeys and rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 18: 387-392, 1980.

9) 増田義人, 香川梨絵, 倉恒匡徳: 完全塩素化法による塩化ジベンゾジオキシンおよび塩化ジベンゾフランの定量. *食衛誌* 17: 451-455, 1976.

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

11) Rappe, C., Buser, H. R., Kuroki, H. and

Masuda, Y.: Identification of polychlorinated dibenzofuran (PCDFs) retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 8: 259-266, 1979.

12) Rappe, C., Buser, H. R., Stalling, D., Smith, L. M. and Dougherty, R. C.: Identification of polychlorinated dibenzofurans in environmental samples. *Nature* 292: 524-526, 1981.

13) Yoshihara, S., Nagata, K., Yoshimura, H., Kuroki, H. and Masuda, Y.: Inductive effect on hepatic enzymes and acute toxicity of individual polychlorinated dibenzofuran congeners in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59: 580-588, 1981.

2,5,2',5'-Tetrachloro-4-Methylthiobiphenyl の合成

九州大学薬学部薬化学教室

佐伯 清太郎・石黒 靖 尚*

The Synthesis of 2,5,2',5'-Tetrachloro-4-Methylthiobiphenyl

Seitaro SAEKI and Yasuhisa ISHIGURO

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

The work reported here described the synthesis of 2,5,2',5'-tetrachloro-4-methylthiobiphenyl(VI) by the coupling of *p*-dichlorobenzene with 2,5-dichloro-4-methylthioaniline(V).

The latter compound was prepared from 2,5-dichloroacetanilide(I) through several steps in the good yield. At first, chlorosulfonation of (I) gave the chlorosulfonyl compound(II) and successive reduction with red phosphorus afforded sulfhydryl compound(III). Then, methylation and hydrolysis led to the final product 2,5-dichloro-4-methylthioaniline(V).

1976年、水谷ら¹⁾によりマウス中 PCB の代謝物として methylthiobiphenyl また methanesulfonylbiphenyl がえられ、その後この含硫型代謝物は実験動物以外にもアザラシの体脂肪中²⁾や PCB 取扱者の母乳中³⁾からも検出された。また最近ラットを用いた実験では肺細胞気管支にもこの種の代謝物がしばしば見出されることが示されている⁴⁾。増田ら⁵⁾により油症患者の体中にもその存在が確認され毒性が問題化して来ている。

Methylthiobiphenyl および methanesulfonylbiphenyl の合成に関して水谷ら¹⁾は 2,5-dichloro-4-methylthioaniline および 2,5-dichloro-4-methanesulfonylaniline と *p*-dichlorobenzene の pseudo-Gomberg 反応により合成している。また Bergman⁶⁾は、4-あるいは 4'-にクロロ原子を有する polychlorobiphenyl に sodium methylthiolate を作用させ、4-あるいは 4'-に methylthio 基を導入して methylthio PCB, methanesulfonyl PCB を合成している。

著者らは、標題の化合物を多量に合成する目的で *p*-dichlorobenzene と pseudo-Gomberg 反応を行う 2,5-dichloro-4-methylthioaniline (V) の簡易合成法を発見し、それを用いての 2,5,2',5'-tetrachloro-

4-methylthiobiphenyl の合成に成功したので報告する。

成 績

2,5-Dichloroacetanilide (I) を chlorosulfonic acid 中に加え、攪拌反応後 2,5-dichloro-4-chlorosulfonylaniline (II) 白色柱状晶 mp 142–143°C を 54.9% の収率でうる。(II) を酢酸中、赤リンと沃素にてはげしく還元すると 2,5-dichloro-4-sulfhydrylacetanilide (III) 白色菱状晶 mp 165°C を定量的にうる。ついで (III) を 10% NaOH 溶液にとかし dimethylsulfate にてメチル化し mp 198°C, 白色針状晶, 2,5-dichloro-4-methylthioacetanilide (IV) を 50% の収率でうる。さらに (IV) を苛性カリ水溶液にて加水分解し 2,5-dichloro-4-methylthioaniline (V), mp 98°C, 白色葉状晶, を 68% の収率でえた。ここにえられた (V) を tetrachloroethylene 中 isoamylnitrite で pseudo-Gomberg 反応を行い、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製すると 12% の収率で 2,5,2',5'-tetrachloro-4-methylthiobiphenyl (VI) が白色針状晶, mp 80–81°C でえられた。

* 福岡県太宰府市 福岡県衛生公害センター

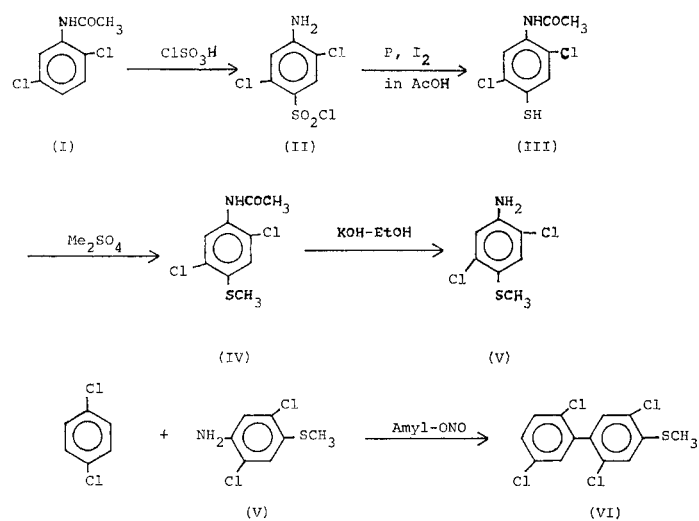


Chart 1.

Table 1. Some Properties of Compounds (II-VI)

Compounds.	Mass. m/e	IR _{max} ^{Nujol} cm ⁻¹	Formula	Analysis (%)		
				Calcd.	(Found)	
				C	H	N
II	259(M ⁺ , 100)	3400, 3500 (NH) 1620 (phenyl)	C ₆ H ₄ Cl ₃ NO ₂ S	27.64	1.54	5.37
	261(M ⁺ +2, 99)			(28.15)	1.59	5.24)
	263(M ⁺ +4, 32)					
III	235(M ⁺ , 100)	3300 (NH) 1675 (amide) 1570 (phenyl)	C ₈ H ₇ Cl ₂ NOS	40.67	2.97	5.93
	237(M ⁺ +2, 68)			(40.67)	2.97	5.93)
	239(M ⁺ +4, 17)					
IV	249(M ⁺ , 100)	3300 (NH) 1680 (amide) 1570 (phenyl)	C ₉ H ₉ Cl ₂ NOS	43.20	3.60	5.60
	251(M ⁺ +2, 67)			(43.61)	3.73	5.45)
	253(M ⁺ +4, 12)					
V	207(M ⁺ , 100)	3300, 3400 (NH) 1630 (phenyl)	C ₇ H ₇ Cl ₂ NS	40.38	3.36	6.73
	209(M ⁺ +2, 64)			(40.33)	3.42	6.68)
	211(M ⁺ +4, 11)					
VI	336(M ⁺ , 100)		C ₁₃ H ₈ Cl ₄ S			
	338(M ⁺ +2, 108)					
	340(M ⁺ +4, 68)					

実験の部

2,5-Dichloro-4-chlorosulfonylaniline (II)

8 ml の chlorosulfonic acid に攪拌下, 2 g の 2,5-dichloroacetanilide を加え 120°C で 1h 攪拌をつづける. 反応後氷水に注ぎ, 結晶析出 (II), 1.4 g (54.9%), mp 142-143°C, (benzene).

2,5-Dichloro-4-sulfhydrylacetanilide (III)

4.26 g 赤リン, 640 mg 沃素を 130 ml の酢酸中に入れ, 還流 16 g の (II) を徐々に加える. 激しい反応が生起する. 2-3h 加熱後, 冷却した後氷水を加え 30 min 還流する. 水を減圧下留去し, ベンゼンで抽出 16 g の (III) をうる, 収率 99%, mp 165°C (MeOH).

2, 5-Dichloro-4-methylthioacetanilide (IV)

400 mg の (Ⅲ) を 6 ml の 10 % NaOH 溶液にとかし、攪拌下 240 mg の dimethylsulfate を加え 1 h 水浴上で加温、反応後、塩化メチレンで抽出、水で洗い乾燥後、溶媒を留去する。

粗 (IV) 200 mg (50 %) を得。メタノールあるいはヘキサンより再結。mp 198°C.

2, 5-Dichloro-4-methylthioaniline (V)

1 g 苛性カリを 2.5 ml の水にとかし、これに 25 ml のエタノールを加え、KOH-EtOH 溶液をつくる。これに 1 g の (IV) を加え、1.5 h 還流し反応後、溶媒を留去し、塩化メチレンで抽出、乾燥後、溶媒を留去すると白色結晶をうる。ヘキサンから再結。

(V) を 600 mg (68.1 %) 得る。mp 98°C.

2, 5, 2', 5'-Tetrachloro-4-methylthiobiphenyl

(VI)

(V) 1 g および *p*-dichlorobenzene 7.5 g (10 mole eq) を tetrachloroethylene 50 ml に溶解し、氷冷攪拌下 isoamylnitrite 2 g (2 mole eq.) を少量ずつ加え約 10 min 氷冷攪拌後 7.5 h 還流時間煮沸する。反応後、減圧下溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付せばヘキサン流出分より (VI) 200 mg (12 %) がえられる。メタノールより再結し、白色針状晶 140 mg がえられる。mp 80-81°C.

2, 5, 2', 5'-tetrachloro-4-methylthiobiphenyl のサンプルを呈供して載きました京都府立大学水谷民雄

教授にあつく感謝いたします。

文 献

- 1) Bergman, Å. and Wachtmeister, C. A.: Synthesis of methylthio- and methylsulfonyl-polychlorobiphenyls via nucleophilic aromatic substitution of certain types of polychlorobiphenyls, *Chemosphere*. 7: 949-956, 1978.
- 2) Bergman, Å., Brandt, I. and Jansson, B.: Accumulation of methylsulfonyl derivative of some bronchial-seeking polychlorinated biphenyls in the respiratory tract of mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 48: 213-220, 1979.
- 3) Haraguchi, K., Kuroki, H. and Masuda, Y.: Sulfur-containing metabolites of polychlorinated biphenyls in patients with Yusho. The 30th annual conference on mass spectrometry and allied topics. Abstract. p. 30. (1982, June, Honolulu).
- 4) Jensen, S. and Lansson, B.: Anthropogenic substances in seal from the Baltic. Methyl sulfone metabolites of PCB and DDE. *Ambio*. 5: 257-260, 1976.
- 5) Mio, T., Sumio, K. and Mizutani, T.: Sulfur-containing metabolites of 2, 5, 2', 5'-tetrachlorobiphenyl, a major component of commercial PCB's. *Chem. Pharm. Bull.* 24: 1958-1960, 1976.
- 6) Yoshida, S. and Nakamura, A.: Studies on a metabolite of PCB (methylsulfone PCB) in mother milk. *J. Food Hygienic Society of Japan*. 18: 387-388, 1977.

3-Methylcholanthrene 型 PCB による 肝酵素誘導と毒性発現について

九州大学薬学部衛生化学裁判化学教室
吉原 新一^{*1}・永田 清・和田 郁夫
古賀 信幸・吉村 英敏

Studies on Induction of Liver Enzymes and Toxicity Caused by Pretreatment with 3-Methylcholanthrene-type PCBs

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

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

Our previous studies have shown that the toxic potency of PCBs and PCDFs in rats was well correlated with their 3-methylcholanthrene(MC)-type inducing ability for the hepatic microsomal mixed function oxidase(MFO) system and cytosolic DT-diaphorase. To test the hypothesis that the MC-type induction produced by PCBs is inseparable from their toxic effects, firstly we compared the inductive effect and the toxicity caused by 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl(PenCB), a most potent MC-type PCB congener, in the AHH nonresponsive DBA/2 mice with those in the responsive C57BL/6 mice. DBA mice exhibited not only a lower responsiveness to the induction of MFO and DT-diaphorase by PenCB but also a lesser sensitivity to the toxicity. On the contrary, C57BL mice showed a higher sensitivity to the induction and toxicity by PenCB. These evidence clearly indicate a close correlation between the toxicity of PenCB and the responsiveness to its MC-type induction.

Secondly, we examined the effects of suppression of the MC-type induction by certain tilorone analogs, an interferon inducer, and 1,3-diamino-2-propanol(DAP), an ornithine decarboxylase inhibitor, on the toxicity of PenCB. The treatments of rats with tilorone analogs, R11002DA and R11567DA, suppressed the induction of MFO but significantly enhanced the induction of DT-diaphorase by PenCB. In these animals, the thymus atrophy produced by PenCB was reinforced. The suppression of the DT-diaphorase induction by the administration of DAP somewhat decreased the spleen atrophy caused by PenCB while the thymus atrophy was not influenced. However, the inhibition of DT-diaphorase by dicoumarol *in vivo* did not affect the toxicity of PenCB at all.

These data suggest that the toxicity of PenCB is possibly associated with the induction process of DT-diaphorase but not with the induced activity of this enzyme per se.

^{*1} 現広島大学医学部総合薬学科

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

3, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl, 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran, あるいは 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin など原型とする一連の類似した平面的構造を示す多塩素化芳香族化合物は, Ah-locus に支配されているといわれる 3-methylcholanthrene (MC) 型酵素誘導作用を示す一方, 体重の増加抑制および胸腺や脾臓の萎縮などの毒性を示すことが知られている. 当教室においては, すでにこれらの毒性学的変化, 特に胸腺の萎縮と肝ミクロゾーム中の benzo[a]pyrene 3 位水酸化活性 (AHH) の上昇度, あるいは可溶画分中の DT-diaphorase の誘導度との相関性について明らかにしてきた¹⁴⁾¹⁵⁾. しかしながらこれら MC 型 PCB および PCDF などが示す毒性の詳細な発現機構および MC 型酵素誘導能と毒性発現が果して密接不可分な関係, 即ち原因と結果という関係にあるのか否かについては, 充分には明らかにされていない. したがって, これらの化合物による毒性発現機構の解明を行う一環として次の実験を試みた.

まず, MC 型酵素誘導現象と毒性発現の因果関係を明らかにする目的で, MC 型誘導剤に対して遺伝的に高感受性を示すマウス (C 57 BL/6 Cr Slc) と, 低感受性を示すマウス (DBA/2 Cr Slc) を使って, 両者における MC 型 PCB による酵素誘導能と毒性発現との関連性を検討した.

次に MC 及び phenobarbital (PB) などによって誘導される酵素活性を抑制することが知られている化合物, 即ち肝ミクロゾームの mixed function oxidase (MFO) の誘導を抑制する tilorone analog および ornithine decarboxylase (ODC) 阻害剤, あるいは DT-diaphorase 活性を阻害する dicoumarol (DC) をラットに投与して, これらの酵素活性の抑制あるいは阻害が, MC 型 PCB によって発現する毒性に如何なる影響を及ぼすかについて検討した.

実験方法

実験に使用した動物は, すべて生後 4 週令の雄性を用いた. C 57 BL/6 Cr Slc, DBA/2 Cr Slc の近交系マウスは, 静岡実験動物研究所から, またラットは Wistar 系ラットを九動 (株) より購入し薬学部動物室にて約 1 週間飼育した後実験に用いた. 原則として 1 群 4 匹とし, 対照群には対応する各溶媒のみを投与した. 酵素活性の測定および毒性の検定については, 既報に従って行なった¹⁵⁾.

1) 近交系マウスを用いた実験: DBA (AHH

nonresponsive) および C 57 BL (AHH responsive) の両近交系マウスに強力な MC 型 PCB である 3, 4, 5, 3', 4'-pentachlorobiphenyl (PenCB) (corn oil 溶液) を種々の用量で腹腔内に 1 回投与し, 投与後 5 日目に酵素活性, 即ち AHH, benzphetamine (BZ) N-demethylase, および DT-diaphorase の活性, 並びに cytochrome P-450 (P-450) の含量を測定した. 毒性の指標としては, 体重の増加, あるいは肝臓, 脾臓, 胸腺の各重量さらには, Folch らの方法¹⁶⁾によって肝総脂質量を測定した. ラットの実験にも同様の方法を用いた. また肝中残留 PenCB の定量については, 抽出した脂質試料溶液を電子捕獲型検出器付 (ECD) ガスクロマトグラフに注入し, そのピーク高により定量した. なおカラムは 3 mm×2.1 m のガラスカラムに 1.5% SE-30 をコーティングした Chromosorb W を充填したものを使用し, カラム温度 230°C, キャリヤーガス N₂(流量 60 ml/min) で行なった.

2) Tilorone analog 処理実験: PenCB 0.5 mg/kg を腹腔内に 1 回投与したラットに tilorone analog である R 11002 DA [3, 6-bis (diethyl amino acetyl) fluorene] および R 11567 DA [2, 8-bis (dimethyl amino acetyl) dibenzofuran] (Aldrich chem. Co.) を PenCB 投与当日および 2 日目に各 66.7 mg/kg (saline 溶液) を腹腔内投与した. PenCB 投与後 5 日目に屠殺し実験に用いた.

3) ODC 阻害剤処理実験: PenCB 投与 12 hr 前から実験期間を通じて市販リンゴジュース (2 倍希釈) に溶かした 50 mM 1, 3-diamino-2-propanol (DAP) を飲用させたラットに 2) の実験と同様に PenCB 0.5 mg/kg を投与し, 5 日目に屠殺し実験に用いた.

4) DC 処理実験: PenCB 1 mg/kg を腹腔内に 1 回投与したラットに 10 mg/kg の DC (corn oil 溶液) を PenCB 投与当日および 2, 3 日目の計 3 回腹腔内投与し, PenCB 投与後 5 日目に屠殺し, 酵素活性の抑制による毒性発現への影響について検討を行なった.

結果および考察

1. 近交系マウスにおける PenCB の酵素誘導作用と毒性について

哺乳動物における MC 型酵素誘導の発現は, 染色体上の特定の locus (Ah-locus) に存在する regulatory gene(s) によって支配されているといわれている¹⁷⁾. この遺伝子は receptor protein の合成を調節

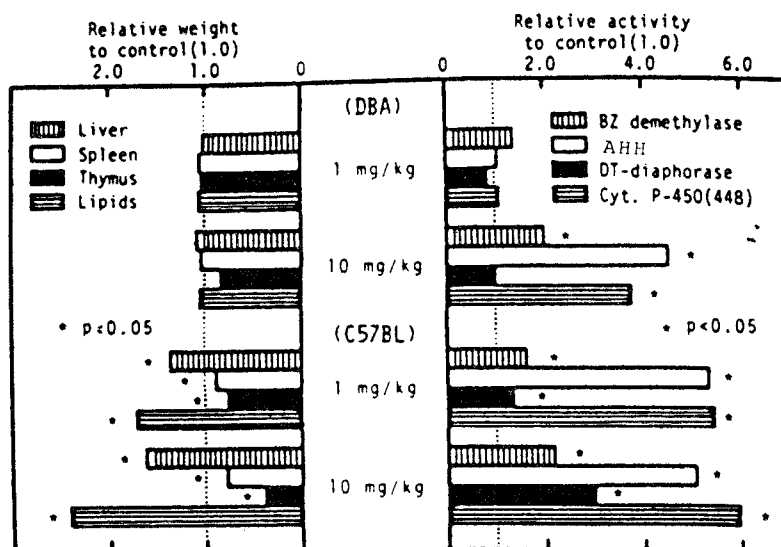


Fig. 1. Effect of Pretreatment with 3, 4, 5, 3', 4'-Pentachlorobiphenyl on Liver Enzyme Activities(right), Organ Weights and Liver Lipid Content(left) in DBA and C57BL Mice

The activities in control(mean±S.D) were: (DBA mice) BZ N-demethylase 9.06 ± 1.76 nmoles HCHO formed/mg protein/15 min, BP 3-hydroxylase 0.044 nmoles 3-OH-BP formed/mg protein/5 min, DT-diaphorase 0.012 μ moles DCPIP reduced/mg protein/min, cytochrome P-450(448) 0.132 ± 0.010 nmoles/mg protein, (C57BL mice) BZ N-demethylase 8.13 ± 0.51 nmoles HCHO formed/mg protein/15 min, BP 3-hydroxylase 0.165 nmoles 3-OH-BP formed/mg protein/5 min, DT-diaphorase 0.019 μ moles DCPIP reduced/mg protein/min, cytochrome P-450(448) 0.128 ± 0.006 nmoles/mg protein.

The weight of organs(g/100 g b.w.) and liver lipids(mg/g liver) in control were: (DBA mice) liver 4.05 ± 0.22 , spleen 0.344 ± 0.047 , thymus 0.123 ± 0.039 , lipids 93.31 ± 5.14 , (C57BL mice) liver 4.28 ± 0.24 , spleen 0.279 ± 0.009 , thymus 0.223 ± 0.019 , lipids 91.83 ± 7.76

しており、常染色体の優性遺伝を示し MC 型誘導剤に対し高い親和性を示す receptor と、突然変異の結果極めて親和性が低くなった receptor の 2 つ heterozygote に分離される⁹⁾。今回このような遺伝的形質を担った近交系マウス、即ち MC 型誘導剤により極めて強い AHH 活性の誘導を示す C57BL マウス (AHH responsive strain) と逆に MC 型誘導を起しにくい DBA マウス (AHH nonresponsive strain) を使って誘導能と毒性発現が MC 型酵素誘導能と密接不可分な関係にあるのならば、遺伝的に MC 型誘導剤に対し感受性の低い DBA マウスは、高い感受性を示す C57BL マウスに比べ PenCB による毒性に抵抗することが考えられる。Fig. 1 に両系マウスに PenCB 1 mg/kg および 10 mg/kg を 1 回腹腔内投与したときの酵素誘導作用および毒性を示した。

予想されたように DBA においては、PenCB 1 mg/kg を投与しても酵素誘導はまったく見られず、同様に毒性の指標にした各臓器重量にも何ら変化は認められない。さらに 10 mg/kg 投与したものは、DT-diaphorase を除いた各酵素の誘導は認められたが、毒性には胸腺の萎縮傾向が認められるのみであった。一方、C57BL については、DBA で酵素誘導および毒性が認められなかった 1 mg/kg の用量で各酵素誘導作用と毒性が認められた。また興味深いことに、ラットにおいては PenCB 処理により BZ N-demethylase 活性は減少したが、今回の近交系マウスを使った実験では有意な誘導が観察された。したがってこれらのマウスにおいては、誘導された P-450 が BZ を触媒しようと考えられる。さらに当教室において行なわれてきたラットを使ったこれまでの研究結果¹⁴⁾¹⁵⁾

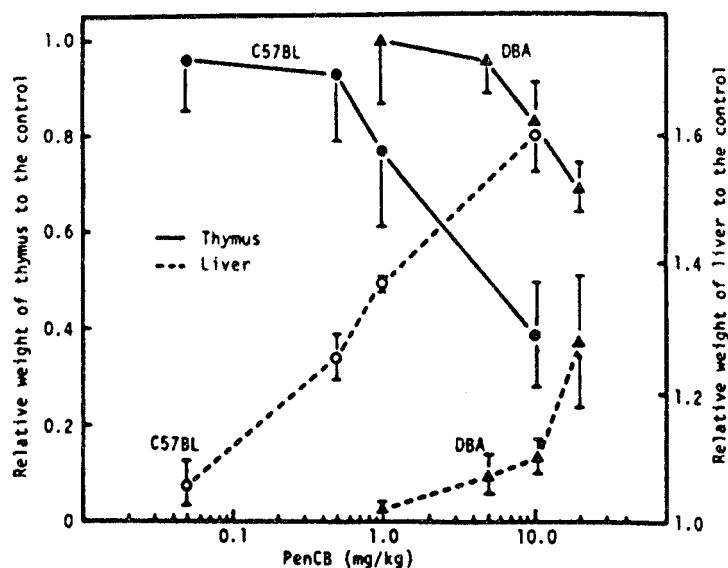


Fig. 2. Dose-response Curves for the Thymus Atrophy and Liver Hypertrophy by 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl (PenCB) in C57BL and DBA Mice

および今回の結果から、PenCB による毒性は、AHH 活性や P-448 量の増大などよりむしろ DT-diaphorase 活性の増大とより密接に関連していることが示唆された。そこでさらにこの点を確認するため、DBA マウスに対しては DT-diaphorase の誘導が期待される高用量 20 mg/kg を、一方 C57BL マウスに対しては DT-diaphorase の誘導が認められないと推定される 0.05 mg/kg をそれぞれ投与した。データは示していないが、DBA マウスに 20mg/kg 投与すると DT-diaphorase は有意に誘導された。また C57BL マウスについては、0.05 mg/kg 処理でなお有意な誘導が認められたが、その誘導能は用量依存的に低下していた。Fig. 2 に PenCB の用量を種々変えて投与した時の肝臓および胸腺の重量変化を示す。

これより明らかなように、PenCB の毒性に対して両系マウスには明らかな差が存在する。特に DBA マウスにおいて DT-diaphorase の誘導が認められた 20 mg/kg 投与群では、有意な胸腺の萎縮および肝臓の肥大が認められた。また C57BL では、DT-diaphorase 誘導の低下に伴い毒性も低下し、0.05 mg/kg 処理においては、毒性は認められなくなっている。このような両系マウスの PenCB に対する感受性の違いは、PenCB の肝臓中における残存量によるものか否かを確認するため、肝に残留している PenCB を肝ホモジネートより抽出し、ECD-ガスクロマトグラフによって定量した。その結果を Table 1 に示す。

Table 1. Concentration of 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl Retained in the Liver of DBA and C57BL Mice 5 Days after the Single ip Injection

	Dose (mg/kg)	Concentration (ppm)	Retained (% of dose)
DBA	5	31.6 ± 2.2	30.1 ± 1.2
	20	153.1 ± 30.3	40.6 ± 8.5
C57BL	0.05	0.9 ± 0.2	72.3 ± 15.7
	0.5	8.3 ± 0.7	85.9 ± 9.1

Each value represents the mean ± SD of 4 mice.

これから、いずれの投与量においても C57BL では投与量の 70~80%，DBA では 30~40%の残留率が認められ、PenCB に対する肝臓の親和性に明らかな系統差が存在することが認められた。

近交系マウスを使つた上記の結果は、PenCB による毒性発現が MC 型誘導作用、特に DT-diaphorase の誘導と密接な関係にあることをさらに強く示唆している。

2. Tilorone analog 処理による影響

上記の結果をさらに明確にするため酵素誘導の抑制あるいは誘導された酵素活性の阻害が、毒性に何らかの変化を与えうるか否かについて検討した。

低分子の合成 interferon (IF) 誘導体である tilo-

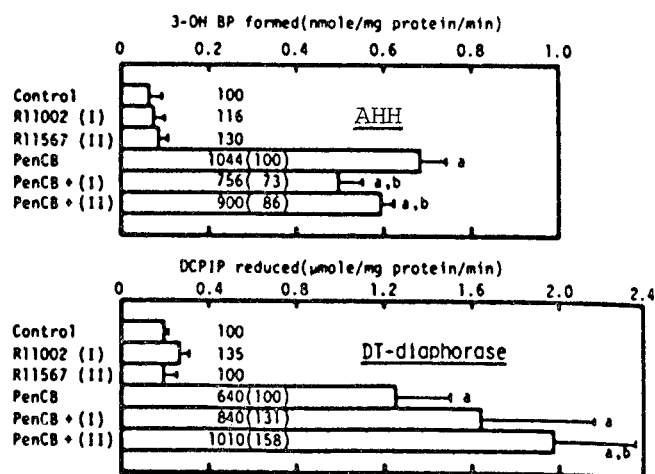


Fig. 3. Effect of the Administration of Tilorone Analogs on AHH (Benzo[a]pyrene hydroxylase) and DT-diaphorase Activities in Liver 9000×g Supernatant from 3, 4, 5, 3', 4'-Pentachlorobiphenyl (PenCB)-treated Rats
 a; Significantly different from the control ($p < 0.05$).
 b; Significantly different from the PenCB-treated ($p < 0.05$).

roneをはじめとする種々の IF 誘導剤には、PB や MC などによる MFO の誘導を抑制する作用があることが知られている¹⁰⁾。そこで tilorone と同様な IF 誘導能を有する類縁化合物である R 11002 DA および R 11567 DA の前処理について検討した。

Fig. 3 の上の図に示すように、PenCB によって誘導される AHH 活性は tilorone analog 併用によって有意に抑制された。またデータは示していないが、P-450 および BZ N-demethylase など PenCB 単独投与に比べ有意に抑制された。しかしながらこれまで毒性とより密接に関連した DT-diaphorase 活性は、Fig. 3 に示すように逆に 30, 60% の有意な増加をもたらすことが認められた。Tilorone は、それ自身 DT-diaphorase の活性測定の前処理である di-chlorophenolindophenol を還元する。一方 DT-diaphorase 活性の特異的阻害剤である DC を反応系に加えると、DT-diaphorase は完全に阻害されるが、tilorone による還元反応は阻害されないことがわかっている。今回の tilorone analog 処理では、DC 存在下、DT-diaphorase は完全に阻害されるので DT-diaphorase の tilorone analog による活性増加には、tilorone 自身による直接的還元に関与はないことが判明した。一方、毒性については、Fig. 4 に胸腺および脾臓の重量を示している。胸腺においては、

DT-diaphorase の誘導の増加に伴って強い胸腺の萎縮が認められた。

データは示さなかったが、PenCB と tilorone analog を併用した群においては、他の群に比べ体重の増加抑制も認められた。これら tilorone analog による MFO の誘導抑制あるいは今回明らかとなった DT-diaphorase の誘導増加がどのような機構によるものかは現在明らかではないが¹¹⁾、少なくとも PenCB が示す毒性は MFO (AHH) に対する誘導作用よりは、むしろ DT-diaphorase に対する誘導作用とより密接に関連するというこれまでの結果が支持された。

3. ODC 阻害剤処理による影響

MFO 誘導剤による酵素誘導の過程には、再生肝や癌化など活発な細胞増殖時に見られる polyamine の増加が伴うことが知られている¹²⁾。一般にこの polyamine は、酵素誘導に必要な遺伝子の活性化に重要な役割を果たしているといわ

れ¹³⁾、しかもこの polyamine 合成の律速酵素である ODC 活性が、MC 型誘導剤によつて誘導され、この誘導も先に述べた Ah-locus によつて調節されていることが近年報告されている⁹⁾。また Raunio らはこの ODC を DAP で阻害すると PB や Clophen C (ドイツの PCB 製品) などによる MFO の誘導を抑制することを報告している¹⁴⁾。そこで ODC 阻害剤である DAP 処理が、PenCB の酵素誘導作用および毒性に如何なる影響を与えるかについて検討を行った。その AHH および DT-diaphorase の誘導を Fig. 5 に示す。

AHH に対する影響は、今回の 9000×g 上清レベルではむしろやや増大する傾向が認められた。一方 PenCB 処理により有意に抑制されることが明らかとなった。また毒性に関しては、Fig. 6 に示すように DAP 単独投与により、多少脾臓および胸腺とも萎縮する傾向が認められるが、PenCB と併用することにより、その萎縮作用は各々単独投与時に見られた萎縮度の相加的なものでなく、むしろ脾臓においては萎縮の軽減傾向が見られた。

Hommes らは、BP 処理したラットに細胞分裂阻害剤を投与した実験より、DT-diaphorase の誘導には細胞分裂が必要であり、AHH 活性の誘導には細胞分裂は無関係であることを報告している⁹⁾。Fig. 5 の

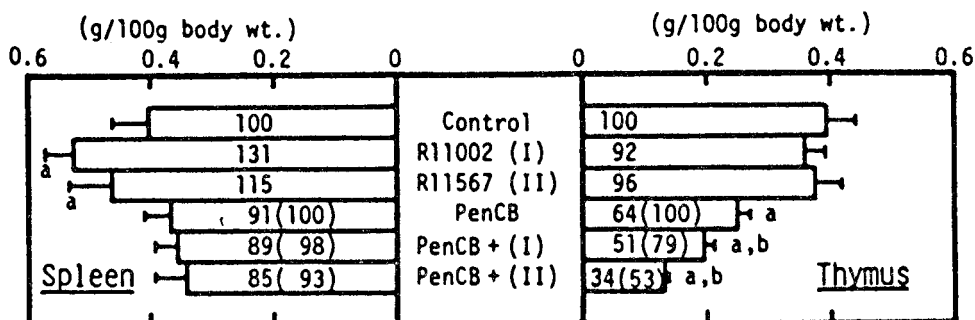


Fig. 4. Effect of the Administration of Tilorone Analogs on the Atrophies of Spleen and Thymus Produced by 3, 4, 5, 3', 4'-Pentachlorobiphenyl (PenCB) in Rats

a ; Significantly different from the control ($p < 0.05$).

b ; Significantly different from the PenCB-treated ($p < 0.05$).

DAP 処理による変動も、あるいは DAP による細胞分裂阻害に起因するかもしれない。実際データは示していないが DAP 投与群では、未処理、PenCB 処理とも肝重量が約 15 % 程減少していた。

4. DC 処理による影響

今までの結果より、PenCB の毒性発現に DT-diaphorase の誘導現象が、何らかの形で関与していることが推察される。Benson らは、TCDD を始めとして一連の DT-diaphorase を強く誘導する化合物が、同時にある種の発癌物質や毒物による毒性を軽減する作用を持つことを考え、このことから DT-diaphorase がこれらの毒性を抑えるのではないかと推論している¹¹。また Schor らも MC や BP による毒性が DC 処理により強められることから DT-diaphorase には、これらによる necrogenic action を抑える作用があるのではないかと推論している¹²。そこで DC 処理による DT-diaphorase の活性阻害が、PenCB の毒性に及ぼす影響について検討した。その結果を Table II に示す。

酵素活性についてみると、PenCB 単独処理に比べ併用したものは、BZ N-demethylase の増加および AHH 活性の抑制が認められる。特に DC によって活性が阻害される DT-diaphorase は、その活性が約 40 % まで低下した。一方、PenCB の毒性の指標である胸腺および脾臓の萎縮に対しては、何ら影響は認め

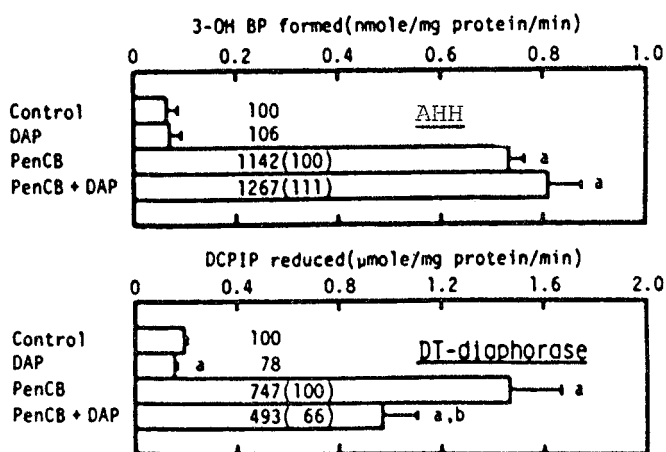


Fig. 5. Effect of the Administration of 1, 3-Diamino-2-propanol (DAP) on AHH (Benzo[a]pyrene hydroxylase) and DT-diaphorase Activities in Liver 9000×g Supernatant from 3, 4, 5, 3', 4'-Pentachlorobiphenyl (PenCB)-treated Rats

a ; Significantly different from the control ($p < 0.05$).

b ; Significantly different from the PenCB-treated ($p < 0.05$).

られなかった。これらの結果は、PenCB による毒性発現が、誘導された DT-diaphorase の活性そのものに起因するのではないことを示唆している。しかし、本実験は DT-diaphorase 活性の一時的な阻害に対する影響をみたものであり、誘導剤が作用する長期間にわたっての阻害実験ではないので結果的ではない。

総括

今回行った近交系マウスを使った実験および tilorone analog を使用した酵素誘導抑制の実験より

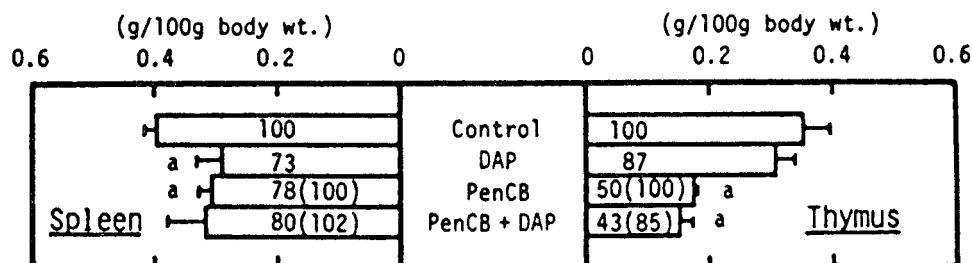


Fig. 6. Effect of the Administration of 1,3-Diamino-2-propanol(DAP) on the Atrophies of Spleen and Thymus Produced by 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl(PenCB) in Rats
a ; Significantly different from the control ($p < 0.05$).

Table II. Effect of the Administration of Dicoumarol(DC) on the Toxicity and Induction Profile of 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl (PenCB) in Rats

Measurement	Control	DC	(I) PenCB	(II) PenCB+DC	(II)/(I)
Spleen ^{a)}	0.382 ± 0.028 (1.00)	0.409 ± 0.028 (1.07)	0.298 ± 0.031 (0.78) ^{e)}	0.288 ± 0.019 (0.75) ^{e)}	0.97
Thymus ^{a)}	0.386 ± 0.023 (1.00)	0.312 ± 0.064 (0.81)	0.128 ± 0.028 (0.33) ^{e)}	0.135 ± 0.022 (0.35) ^{e)}	1.05
Cyt. P-450 ^{b)}	0.130 ± 0.008 (1.00)	0.126 ± 0.007 (0.97)	0.264 ± 0.030 (2.03) ^{e)}	0.292 ± 0.042 (2.25) ^{e)}	1.11
BZ demethylase ^{c)}	0.929 ± 0.103 (1.00)	1.190 ± 0.179 (1.28) ^{e)}	0.344 ± 0.047 (0.37) ^{e)}	0.437 ± 0.054 (0.47) ^{e)}	1.27 ^{f)}
AHH ^{d)}	0.008 ± 0.001 (1.00)	0.014 ± 0.001 (1.71) ^{e)}	0.240 ± 0.037 (29.9) ^{e)}	0.173 ± 0.024 (21.6) ^{e)}	0.72 ^{f)}
DT-diaphorase ^{d)}	0.192 ± 0.057 (1.00)	0.091 ± 0.012 (0.47) ^{e)}	1.086 ± 0.341 (5.66) ^{e)}	0.455 ± 0.064 (2.37) ^{e)}	0.42 ^{f)}

a) g/100 g of body wt. b) nmoles/mg protein of liver 9000 × g sup.

c) nmoles metabolized/min/mg protein of liver 9000 × g sup.

d) μmoles DCPIP reduced/min/mg protein of liver 9000 × g sup.

e) Significantly different from the control ($p < 0.05$).

f) Significantly different from the PenCB-treated ($p < 0.05$).

Each value represents the mean ± SD of 4 rats and that in parenthesis represents the relative value to the control.

MC 型 PCB である PenCB の毒性発現は、DT-diaphorase の誘導を伴う MC 型酵素誘導現象と密接な関係にあることが明らかとなった。しかしながら DT-diaphorase 活性を *in vivo* で 2 つの異なる過程で阻害した実験、即ち ODC の阻害剤である DAP, あるいは DT-diaphorase 活性の阻害剤である DC を使った実験から、胸腺や脾臓の萎縮などの毒性に本酵素自体は直接的には関与していないことが示唆された。

今回の実験の結果にみられた AHH と DT-diaphorase の被誘導性の差は、両者ともその誘導が Ah-

locus で調節はされているが、その誘導の過程には更に異なる調節が働いていると考えられる。実際、Kumaki らによると MC 型誘導剤による DT-diaphorase の誘導を制御する遺伝子が 2 つ存在するという⁶⁾。また先にも述べたように、Hommes らは BP 処理新生ラットの肝における DT-diaphorase の誘導は、AHH とは異なり細胞分裂の特定の時期 (G_1 期) にある細胞でしか起きないと報告しているが⁹⁾、これらのことは MC 型 polychlorinated biphenyl, polychlorinated dibenzofuran および polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin など一連の類似した平面的

構造を示す化合物の毒性発現機作と DT-diaphorase 誘導現象との関連性を解明していく上で極めて興味ある知見であると思われる。

文 献

- 1) Benson, A. H., Hunkeler, M. J. and Talalay, P.: Increase of NAD(P)H: quinone reductase by dietary antioxidants: Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity. 77: 5216-5200, 1980.
- 2) Byus, C. V., Costa, M., Sipes, I. G., Brodie, B. B. and Russell, D. H.: Activation of 3': 5'-cyclic AMP-dependent protein kinase and induction of ornithine decarboxylase as early events in induction of mixed function oxygenases. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 73: 1241-1245, 1976.
- 3) Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509, 1957.
- 4) Gielen, J. E., Goujon, F. M. and Nebert, D. W.: Genetic regulation of aryl hydrocarbon hydroxylase induction. II. Simple mendelian expression in mouse tissue *in vivo*. J. Biol. Chem. 247: 1125-1137, 1972.
- 5) Hommes, F. A., Havinga, H. and Everts, R. S.: Induction of DT-diaphorase by Benzo[a]pyrene in rat liver. Relation to the cell cycle. Arch. Biochem. Biophys. 197: 236-243, 1979.
- 6) Kumaki, K., Jensen, N. M., Shire, J. G. and Nebert, D. W.: Genetic differences in induction of cytosol reduced-NAD(P): menadione oxidoreductase and microsomal aryl hydrocarbon hydroxylase in the mouse. J. Biol. Chem. 252: 157-165, 1977.
- 7) Mannering, G. J., Renton, K. W., Azhary, R. and Deloria, L. B.: Effects of interferon-inducing agents on hepatic cytochrome P-450 drug metabolizing system. Ann. N. Y. Acad. Sci. 350: 314-331, 1980.
- 8) Nebert, D. W., Gielen, J. E. and Goujon, F. M.: Genetic expression of aryl hydrocarbon hydroxylase induction. III. Changes in the binding of n-octylamine to cytochrome P-450. Mol. Pharmacol. 8: 651-666, 1972.
- 9) Nebert, D. W., Jensen, N. M., Perry, J. M. and Oka, T.: Association between ornithine decarboxylase induction and Ah-locus in mice treated with polycyclic aromatic compounds. J. Biol. Chem. 255: 6836-6842, 1980.
- 10) Renton, K. W., Keyler, D. E. and Mannering, G. J.: Suppression of the inductive effects of phenobarbital and hepatic cytochrome P-450-linked monooxygenase system by the interferon inducers, poly rI-rC and tilorone. Biochem. Biophys. Res. Commun. 88: 1017-1023, 1979.
- 11) Raunio, H. and Pelkonen, O.: The inhibition of induction of microsomal monooxygenase activity by 1,3-diamino-2-propanol, an inhibitor of ornithine decarboxylase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 91: 658-664, 1979.
- 12) Schor, N. A., Boh, E. and Burke, V. T.: Carcinogens and dicoumarol: Opposite effects on rat liver NAD(P)H dehydrogenation. Enzyme 23: 217-224, 1978.
- 13) Tabor, C. W. and Tabor, H.: 1,4-Diaminobutane (putrescine), spermidine and spermine. Ann. Rev. Biochem. 45: 285-306, 1976.
- 14) Yoshihara, S., Nagata, K., Yoshimura, H., Kuroki, H. and Masuda, Y.: Inductive effect on hepatic enzyme and acute toxicity of individual polychlorinated dibenzofuran congeners in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 59: 580-588, 1981.
- 15) Yoshimura, H., Yoshihara, S., Ozawa, N. and Miki, M.: Possible correlation between induction modes of hepatic enzyme by PCBs and their toxicity in rats. Ann. N. Y. Acad. Sci. 320: 172-192, 1979.

3-Methylcholanthrene 型 PCB 前処理ラットにおける 4-Nitroquinoline N-oxide の還元活性上昇について

九州大学薬学部衛生化学裁判化学教室

吉村 英敏・古賀 信幸・和田 郁夫

外間由美子・黒木 淳

Enhancement of Reduction Activity of 4-Nitroquinoline N-oxide in Rats Pretreated with 3-Methylcholanthrene- Type PCB

Hidetoshi YOSHIMURA, Nobuyuki KOGA, Ikuo WADA
Yumiko HOKAMA and Jun KUROKI

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

Previously we reported that 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl(PenCB), which is a potent 3-methylcholanthrene(MC)-type inducer, showed strong acute toxicity in rats and that the toxic potency was well correlated with the inducing ability for the hepatic microsomal mixed function oxidases and cytosolic DT-diaphorase. On the other hand, it is known that DT-diaphorase reduces 4-nitroquinoline N-oxide (4NQO), a well-known precarcinogen, to a proximate carcinogen, 4-hydroxylaminoquinoline N-oxide(4HAQO). We therefore examined whether or not reduction activity of 4NQO is also enhanced along with increase of DT-diaphorase activity in various organs of Wistar rats pretreated with PenCB(1.0 mg/kg). As the results, both activities of DT-diaphorase and 4NQO reduction were found to be increased about 10 folds after pretreatment with PenCB, as compared with control. Such an enhancement of reduction activity of 4NQO by pretreatment with PenCB was also observed to various extent in other organs such as skin, small intestine, lung and kidney.

These results suggest that such a marked increase of DT-diaphorase activity together with strong induction of microsomal enzymes after pretreatment with MC-type PCBs and its related compounds may play an important role in the appearance of the toxicities of certain xenobiotics, due to the enhancement of their metabolic activation.

Polychlorinated biphenyl (PCB), および polychlorinated dibenzofuran (PCDF)は、いわゆる油症の原因物質であると共に、世界的環境汚染物質としても知られている。これらのうち、3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl, および 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran を原型とする一連の類似した構造を有する多塩素化芳香族化合物は、ラットにおいて肝ミクロゾームの benzo[a]pyrene 3-hydroxylase (AHH), および細胞質の DT-diaphorase, aldehyde dehydrogenase などの活性を顕著に上昇させる 3-me-

thylcholanthrene (MC) 型の誘導を行う¹²⁾¹⁴⁾¹⁾。一方、これらの変化と相関して胸腺や脾臓の萎縮、脂肪肝の生成、あるいは体重の減少といった急性毒性を呈することが明らかにされている¹²⁾¹⁴⁾。これらの酵素誘導は、生体において毒性学的に2つの意味を持つと考えられる。その一つは直接的な影響である。すなわち、AHH で代表される肝ミクロゾームの mixed function oxidase (MFO) の活性上昇は単に薬物代謝を促進するのみならず、ステロイドなどの内性基質の代謝活性をも異常に上昇させ、生体の恒常性を乱

す可能性があるのである¹³⁾。事実、油症においては、月経不順や性欲減退といった内分泌異常が高頻度に現われている⁶⁾。その第二は間接的影響である。体内において毒性代謝物を生成するような薬物は、上記のような高い MFO 活性によつて、より強い毒性を発現するであろう。細胞質のキノン還元酵素として知られる DT-diaphorase の活性上昇においても同様のことが考えられる。本酵素の生理的意義については現在よくわかつてはいないが、MC 処理の場合、本酵素は全細胞質タンパクの 0.6% にも達すること⁷⁾ などから、何らかの中間代謝を介し、生体内の恒常性を乱す可能性が十分に推察される。一方、強力な発ガン物質として著名な 4-nitroquinoline N-oxide (4NQO) はラットの肝臓、肺臓、筋肉、皮膚のホモジネートにより、4-hydroxylaminoquinoline N-oxide (4HAQO)、4-aminoquinoline N-oxide (4AQO) に還元されることが報告されており¹⁰⁾、中間に生成する 4HAQO が proximate carcinogen である⁹⁾ と信じられている。この 4NQO の 4HAQO への還元には DT-diaphorase が関与しているといわれており、今回、MC 型 PCB による 4NQO の還元活性の各臓器での変化を調べ、これら多塩素化芳香族化合物の毒性発現機構の一端を明らかにせんとした。

MC 型 PCB の代表としては、著者らがはじめて合成しその性質を明らかにした 3,4,5,3',4'-penta-chlorobiphenyl (PenCB) を今回も利用した。この PCB は現在知られている PCB 異性体中最高の MC 型誘導能と急性毒性を示す¹⁴⁾ が、いわゆる市販の PCB 製品中には存在しない。しかし、その毒性学的諸性質は油症原因物質として最も強く寄与したと考えられる 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) などと近似しており¹²⁾、油症の発症機作解明の有用なモデル化合物として意義づけられている。

実験方法

1. 実験材料

3,4,5,3',4'-PenCB は佐伯ら⁹⁾の方法に従つて当教室で合成した。また、4NQO、4HAQO ならびに 4AQO は九州大学薬学部 佐伯清太郎助教授より提供された。2,6-ジクロロフェノールインドフェノール (DCPIP)、ジクマロールおよび NADPH はそれぞれ Merck AG (西ドイツ, Darmstadt), 和光純薬(株) (大阪), Sigma Chemical Company (米国, St. Louis) より購入した。

2. 実験動物および薬物投与

生後 4 週令の Wistar 系雄性ラット (体重 100~110 g) を一群 4 匹として対照群, PenCB 投与群に分けて使用した。PenCB は 1 mg/kg を、対照群にはサラダ油のみをそれぞれ腹腔内 1 回投与した。

3. 酵素溶液の調製

PenCB 投与後、水、餌は自由に与え、4 日目の一夜を絶食させた後 5 日目に屠殺した。充分放血した後、肝臓、肺臓、小腸、心臓、脾臓および皮膚を摘出し細片にして、氷冷した 0.25 M ショ糖-0.1 mM EDTA-10 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.5) 中でテフロンホモジナイザーを用いてホモナイズし、20% ホモジネートとした。なお、肝臓は生理食塩水にて灌流し、小腸は内容物をガラスによりすり出し軽く洗浄し、また皮膚は毛を剃り落とした後、腹部の約 2 cm² を切り取り行なつた。これを、9000×g、20 分間遠心し、以下この上清を酵素溶液として使用した。

4. 酵素活性の測定

DT-diaphorase 活性は Ernster ら⁹⁾の変法により、0.08 mM DCPIP、0.15 mM NADPH、0.33 mM KCN および 50 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.5) に各臓器の 9000×g 上清 (2~10 μl) を加え、25°C でインキュベートし、600 nm における DCPIP の吸光度の減少の初速度により測定した。4NQO 還元活性は杉村ら¹¹⁾の方法に従い、0.8 mM 4NQO、0.15 mM NADPH、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に 9000×g 上清 (2~10 μl) を加え、30°C での 340 nm の吸光度の減少の初速度により求めた。なお、阻害剤ジクマロールは 0.1 mM の濃度を使用した。

タンパク質の定量は Lowry ら⁸⁾の方法によつた。

結 果

1. 肝 9000×g 上清による 4NQO の代謝産物

4NQO を対照ラット肝 9000×g 上清 (タンパク量約 400 μg) とともに、37°C 1 分間インキュベートした後、酢酸エチルで抽出し、さらに TLC を行ない、4NQO の代謝産物の同定を行なつた。Fig. 1 に示すように、R_f 値 0.66 に代謝物のスポットが得られ、4HAQO のスポットと一致した。なお、4AQO は検出されなかつた。一方、著しい DT-diaphorase 活性の増加が認められる PenCB 処理ラット肝 9000×g 上清の場合には当然のことながら 4HAQO の生成が増加するが、対照ラットと同様に 4AQO の生成は認められなかつた。

2. PenCB 処理ラットの肝臓、肺臓および皮膚における 4NQO 還元活性と DT-diaphorase 活性

の変動

4NQO の代表的発ガン部位である皮膚、肺臓、肝臓の 9000×g 上清の DT-diaphorase 活性 (DCPIP 還元活性) と 4NQO 還元活性におよぼす PenCB の影響を調べた。Table 1 にその結果を示す。DT-diaphorase 活性は PenCB 処理により肝臓、肺臓、皮膚でそれぞれ 10.5 倍、2.8 倍、5.2 倍と著しく増加した。また 4NQO 還元活性も肝臓で 8.6 倍、肺臓で 2.8 倍、皮膚で 2.2 倍に増加し DT-diaphorase 活性とほぼ同様の上昇率を示すことが明らかになった。なお、各臓器 9000×g 上清の 4NQO 還元活性は DT-diaphorase の阻害剤であるジクマロールの添加により完全に阻害された。

つぎに、Table 1 の結果をより詳細に検討するため、DCPIP 還元活性と 4NQO 還元活性との相関を調べた。Fig. 2 に示すように、各臓器における相関係数は肝臓、肺臓、皮膚でそれぞれ $r=0.945$, 0.995 , 0.882 といずれも高い相関が認められた。また、両者の還元活性の比はこれら 3 種の臓器ではほぼ一定していた。

3. その他の臓器での DCPIP および 4NQO 還元活性

DT-diaphorase 活性は様々の臓器で検出されている。そこで他の臓器についても PenCB 処理による DT-diaphorase 活性と 4NQO 還元活性の変化を調べた。その結果を Table 2 に示す。未処理の場合の小腸、心臓、腎臓および脾臓の DCPIP 還元活性は腎臓を除き、前述の皮膚と同じく肝臓の 1/10 程度の活性しかなかった。しかしながら、PenCB 処理により心臓、腎臓、脾臓でも 1~2 倍の誘導が見られ、小腸においては約 5.4 倍もの誘導を示した。一方、4-

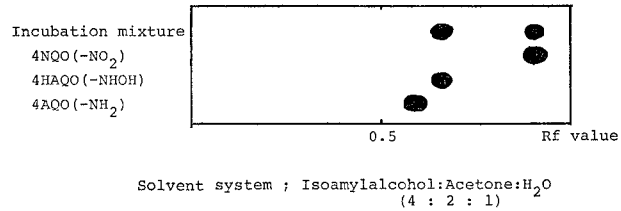


Fig. 1. Thin-layer chromatograms of reductive product of 4NQO with rat liver 9000×g supernatant

Table 1. Activities of DT-diaphorase and 4NQO reductase in 9000×g supernatant of the liver, lung and skin of rats

Tissue		DCPIP ^{a)}	4NQO ^{b)}
Liver	Control	0.652±0.038	0.381±0.026
	PenCB	6.830±0.801	3.281±0.513
Lung	Control	0.311±0.052	0.162±0.029
	PenCB	0.879±0.087	0.457±0.052
Skin	Control	0.060±0.008	0.132±0.016
	PenCB	0.309±0.038	0.285±0.037

a) μ moles DCPIP red./min/mg protein

b) μ moles NADPH oxid./min/mg protein

Each values represent the mean $\pm$ S.D. of four rats.

NQO 還元活性は小腸で約 9.1 倍と DCPIP 還元活性を上まわったものの全体としては DT-diaphorase 活性の増加とほぼ平行することが判明した。

考 察

DT-diaphorase 活性は MC 型 PCB により、肝臓以外でも小腸、肺臓、皮膚あるいは腎臓などにおいても大小の差はあれ誘導されることが明らかになっ

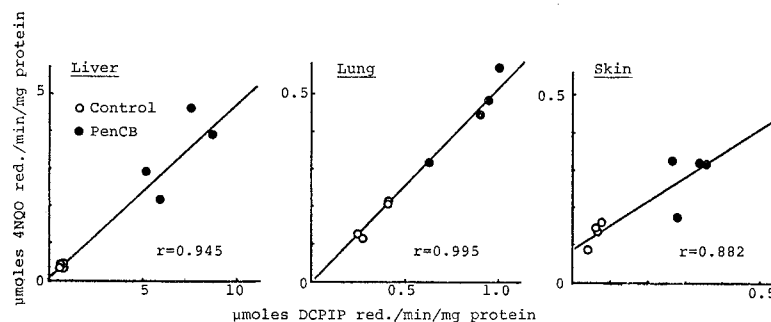


Fig. 2. Correlation between activities of DT-diaphorase and 4NQO reductase

Table 2. Activities of DT-diaphorase and 4NQO Reductase in 9000×g supernatant of rat small intestine, heart, kidney and spleen

	Small Intestine		Heart		Kidney		Spleen	
	DCPIP ^{a)}	4NQO ^{b)}	DCPIP	4NQO	DCPIP	4NQO	DCPIP	4NQO
Control	0.080	0.021	0.045	0.021	0.155	0.043	0.074	0.031
PenCB	0.435	0.191	0.052	0.029	0.307	0.112	0.096	0.043

a) μ moles DCPIP red./min/mg protein

b) μ moles NADPH oxid./min/mg protein

Values are activities of the organs combined from four rats.

た。この PenCB による誘導効果はコントロールレベルの活性が肺臓、腎臓、その他がそれぞれ肝臓の 50%, 25%, 10% 前後であるのに対し、最大の肝臓に続き小腸、皮膚、肺臓、その他の臓器の順になり、小腸および皮膚における活性増加が目立つた。しかし、DCPIP と 4NQO の還元活性の上昇率は各臓器ではば一定していた。各臓器の DT-diaphorase がそれぞれ異なる分子種か否かについてはさらに検討が必要と考えられる。最近、Höjeberg らはラット肝 DT-diaphorase について免疫化学的検討を加え、基質特異性の異なる少なくとも 3 種の DT-diaphorase が可溶性画分に存在するだけでなく、ミクロソーム、ミトコンドリアの両画分にも 2~3 種存在する⁷⁾と報告している。このように肝臓に限つても多数の分子種が存在することを考えると、各組織においては肝 DT-diaphorase と性質を異にする分子種が存在する可能性も否定できない。一方、未処理ラット肝可溶性 DT-diaphorase と PenCB により誘導された DT-diaphorase に関しては、当教室で精製を行ない、分子量、FAD 含量、基質特異性、アミノ酸含量、免疫化学的性質などが完全に一致することから全く同じ酵素タンパクであることを明らかにしている⁵⁾。

以上の結果より、4NQO のラットにおける還元 DT-diaphorase が関与することを再確認するとともに、MC 型 PCB が 4NQO の proximate carcinogen である 4HAQO への還元を促進することにより、その発ガン性を増強する可能性が示唆された。

前述したように、今回用いた PenCB は現在油症の主たる原因物質と考えられている PenCDF などのモデル化合物として使用した。本研究では示さなかったが、PenCDF についても各臓器の DT-diaphorase 活性と 4NQO 還元活性を調べ、今回の PenCB とほぼ同様な強さの誘導が惹起することを確認している。今回の実験は in vitro で行つたものであり、実際に in vivo で DT-diaphorase を著しく誘導する多塩素

化芳香族炭化水素が 4NQO の発ガンを促進するかといった点についてはなお多くの因子が関与するため推論の域をでない。現在、当教室ではラットに PenCB と 4NQO を併用投与し、この点を検討中である。

総 括

著者らはこれまで、強力な 3-methylcholanthrene 型誘導能を示す 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (Pen-CB) は強い急性毒性を示すとともに、この毒性の強さが肝ミクロゾームの mixed function oxidase および肝可溶性酵素の DT-diaphorase の誘導の強さによく相関していることを明らかにした。一方、DT-diaphorase は 4NQO を proximate carcinogen である 4HAQO に還元することが知られている。

そこで、PenCB 処理ラットの各臓器において DT-diaphorase の誘導にともなう 4NQO 還元活性の変動について調べた。

その結果、DT-diaphorase 活性および 4NQO 還元活性は肝臓において、いずれも未処理に比べ PenCB (1 mg/kg) 処理で約 10 倍に上昇した。また、皮膚、小腸、肺臓、腎臓でも活性増加が認められた。

以上の結果から、DT-diaphorase を強く誘導する多塩素化芳香族炭化水素は 4NQO の発ガン性を促進する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Deitrich, R. A., Bludeau, P., Stock, T. and Roper, M.: Induction of different rat liver supernatant aldehyde dehydrogenases by phenobarbital and tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. J. Biol. Chem. 252: 6169-6176, 1977.
- 2) Endo, H. and Kume, F.: Comparative studies on the biological action of 4-nitroquinoline 1-oxide and its related compound, 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide. Gann. 54: 443-453, 1963.
- 3) 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.
- 4) Höjeberg, B., Blomberg, K., Stenberg, S. and Lind, C.: Biospecific adsorption of hepatic DT-diaphorase on immobilized dicoumarol. I. Purification of cytosolic DT-diaphorase from control and 3-methylcholanthrene-treated rats. *Arch. Biochem. Biophys.* 207: 205-216, 1981.
- 5) 外間由美子, 和田郁夫, 古賀信幸, 吉村英敏: 3, 4, 5, 3', 4'-Pentachlorobiphenyl 誘導 DT-diaphorase の酵素化学的検討および異物代謝における役割. 第103回日本薬学会年会講演要旨集. (東京), 1983.
- 6) Kuratsune, M., Yoshimura, T., Matsuzaka, J. and Yamaguchi, A.: Epidemiologic study on Yusho, a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. *Environ. Health Perspec.* 1: 119-128, 1972.
- 7) Lind, C. and Höjeberg, B.: Biospecific adsorption of hepatic DT-diaphorase on immobilized dicoumarol. II. Purification of mitochondrial and microsomal DT-diaphorase from 3-methylcholanthrene-treated rats. *Arch. Biochem. Biophys.* 207: 217-224, 1981.
- 8) 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.
- 9) 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, 1975.
- 10) Sugimura, T., Okabe, K. and Endo, H.: The metabolism of 4-nitroquinoline 1-oxide. I. Conversion of 4-nitroquinoline 1-oxide to 4-aminoquinoline 1-oxide by rat liver enzymes. *Gann.* 56: 489-501, 1965.
- 11) Sugimura, T., Okabe, K. and Nagao, M.: The metabolism of 4-nitroquinoline 1-oxide, a carcinogen. III. An enzyme catalyzing the conversion of 4-nitroquinoline 1-oxide to 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in rat liver and hepatomas. *Cancer Res.* 26: 1717-1721, 1966.
- 12) Yoshihara, S., Nagata, K., Yoshimura, H., Kuroki, H. and Masuda, Y.: Induction effect on hepatic enzymes and acute toxicity of individual polychlorinated dibenzofuran congeners in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59: 580-588, 1981.
- 13) Yoshihara, S., Nagata, K., Wada, I., Yoshimura, H., Kuroki, H. and Masuda, Y.: A unique change of steroid metabolism in rat liver microsomes induced with highly toxic polychlorinated biphenyl (PCB) and polychlorinated dibenzofuran (PCDF). *J. Pharm. Dyn.* 5: 994-1004, 1982.
- 14) 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.

Relevances of Mixed Function Oxidase System and Ascorbic Acid to the Lipid Peroxide Formation in the Liver of Rats Given Polychlorinated Biphenyls (PCB)¹⁾

Morio SAITO²⁾, Sachie Ikegami, Eiichi NISHIDE* and Satoshi INNAMI

*Division of Food Science, The National Institute of Nutrition,
23-1, Toyama 1-chome, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan*

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

ABSTRACT The present studies were conducted to characterize the mechanism of lipid peroxide formation, especially the relevances of mixed function oxidase system and ascorbic acid to the initiation of lipid peroxidation, in the liver of rats given polychlorinated biphenyls (PCB).

First, rats were given a 0.05 % PCB diet for 1, 3, 5 and 7 days, and time courses of liver ascorbic acid content and endogenous lipid peroxide levels in whole homogenate, mitochondria and microsomes in the liver were determined. Liver microsomal aminopyrine N-demethylation and aniline hydroxylation activities, cytochrome P-450 content, and NADPH-cytochrome c reductase activity were also determined. A significant increase in the liver and liver microsomal lipid peroxide levels was observed on day 7 in the PCB group although no significant change was recognized till on day 5 in both the control and PCB groups. In the liver mitochondria lipid peroxide was retained at high level on and after the 1st day of PCB feeding. A significant acceleration of liver ascorbic acid biosynthesis was also observed on and after the 1st day of PCB feeding, indicating a concurrence of rises in mitochondrial lipid peroxide formation and ascorbic acid biosynthesis. Therefore, it was suggested that ascorbic acid initiated mitochondrial lipid peroxidation in the liver of rats given PCB. On the other hand, significant increases in the liver microsomal aminopyrine N-demethylation and aniline hydroxylation activities, and cytochrome P-450 content were recognized on and after the 1st day of PCB feeding. No significant change was observed in NADPH-cytochrome c reductase activity till on day 3 in both the control and PCB groups but the activity increased significantly on and after the 5th day of PCB feeding. A time lag was present between the increases in PCB-induced liver microsomal lipid peroxide formation and NADPH-cytochrome c reductase activity, and the former was followed by enough increase in the latter.

Second, the effect of PCB on lipid peroxide formation *in vitro* in liver microsomes prepared from the normal rats was examined. When ADP and Fe⁺⁺, the catalysts of lipid peroxidation, were added to the reaction mixture consisted of microsomes, NADPH and PCB, no significant promotion of lipid peroxidation by PCB was shown. However, PCB enhanced the lipid peroxide formation till 30 minutes by eliminations of ADP and Fe⁺⁺ from the *in vitro* system but a longer time of incubation over 30 minutes resulted in the decrease in lipid peroxide formation, demonstrating that NADPH-cytochrome c reductase initiated the liver microsomal lipid peroxidation along with a concomitant catabolism of PCB by mixed function oxidase system. The decrease in lipid peroxide formation by the longer time of incubation would be ascribed to a decline in the NADPH-cytochrome c reductase activity caused by lipid peroxide produced during the incubation.

1) Polychlorinated biphenyls toxicity and nutrition, XVII.

2) To whom all correspondence should be addressed.

Abbreviation used: PCB, polychlorinated biphenyls

Introduction

Previous studies, in our group (4,6,17,18) and in others (2,7,8,9), have shown that animals ingested polychlorinated biphenyls (PCB) exhibit increased lipid peroxide formation in the liver. However, the detailed mechanism of it has remained unclear so far.

Our previous papers showed that the increment in liver lipid peroxide formation caused by PCB was partly due to the increase in polyunsaturated fatty acids, substrate for lipid peroxide, attended with fatty liver (5), and to the insufficiency of lipid peroxide scavengers, such as vitamin E and glutathione peroxidase (17,18). Combs et al. (2), Ito et al. (7) and Itokawa et al. (8) also reported the similar results as to the deficiency of lipid peroxide scavengers. Due to an insufficiency of the scavengers, a promotion of propagation of lipid peroxidation occurs in the liver of animals ingested PCB, and the liver lipid peroxide level results in an increase. Therefore, it is important to know what sorts of reaction system or systems are involved in the initiation of liver lipid peroxidation caused by PCB.

It is well known that NADPH-dependent flavoenzyme, NADPH-cytochrome c reductase, catalyzes an initiation of liver microsomal lipid peroxidation *in vitro* (19). As PCB induce microsomal mixed function oxidases containing cytochrome P-450 and NADPH-cytochrome c reductase in the liver of animals (1), it might be assumed that NADPH-cytochrome c reductase is responsible for the initiation of PCB-induced lipid peroxidation. It is also shown that ascorbic acid stimulates an initiation of liver mitochondrial and microsomal lipid peroxidation *in vitro* (3, 21). In addition, ascorbic acid-promoted induction of mixed function oxidases is known (23). Since ascorbic acid biosynthesis is elevated in the liver of rats given PCB through an increase in requirement of ascorbic acid (11), it might be presumed that ascorbic acid is associated with the initiation of PCB-induced lipid peroxidation.

In our previous paper (17) which examined the time courses of lipid peroxide formation, levels of lipid peroxide scavengers, and activities of mixed function oxidases in the liver of rats fed PCB, it was found that the increment in liver lipid peroxide formation caused by PCB was due to the insufficiency of lipid peroxide scavengers, and that a time lag was present between the lipid peroxide formation and induction of mixed function oxidases. The present studies, through tracing a time course of liver lipid peroxide formation, were carried out to find out whether mixed function oxidase, particularly NADPH-cytochrome c reductase, and/or ascorbic acid would be involved in the initiation of PCB-induced liver lipid peroxidation of rats. Moreover, liver microsomal lipid peroxide formation *in vitro* in coexistence of PCB was studied to clarify the association of mixed function oxidase with the lipid peroxidation.

Materials and Methods

Male rats of the Sprague-Dawley strain were used throughout the study. The rats were housed individually in wire cages in an animal laboratory kept at constant temperature and humidity, and a 12 hour light-dark cycle.

In the first experiment, rats of four weeks of age weighing an average of 70 g were used. The composition of a basal diet (16) was shown in Table 1. After being fed on a basal diet for six days, the basal diet and experimental diet containing PCB at the level of 0.05 % were given to rats for 1, 3, 5 and 7 days. Food and water were supplied *ad libitum* throughout the experiment. On the last day of the experiment, the rats were sacrificed by decapitation and the livers were quickly removed and weighed. The left lobe of the liver was immediately perfused with ice-cold isotonic saline

via the portal vein and the amounts of endogenous lipid peroxide formed in the liver, liver mitochondria and microsomes were determined by the method of Ohkawa et al. (13) using thiobarbituric acid (TBA) reaction and expressed in terms of malondialdehyde (MDA) formed. Liver mitochondria and microsomes were prepared as follows. The perfused liver was homogenized with nine volumes of ice-cold isotonic 0.15 M potassium chloride solution. After centrifuging the homogenate at $700\times g$ for 10 minutes in a refrigerated centrifuge, the resultant supernatant was recentrifuged at $10,000\times g$ for 15 minutes to prepare mitochondrial pellets. The microsomes were sedimented from the $10,000\times g$ supernatant by centrifugation at $78,000\times g$ for 90 minutes. The mitochondrial and microsomal pellets were resuspended in the potassium chloride solution. Other part of the liver was stored at -20°C until analysis.

Determinations of activities of aminopyrine N-demethylation (20), aniline hydroxylation (20) and NADPH-cytochrome c reductase (15), and content of cytochrome P-450 (14) in the liver microsomes were carried out. For those determinations, the liver microsomes were prepared by centrifugation as described above using 0.15 M potassium chloride solution containing 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.4). The resultant microsomal pellets were suspended in 0.15 M potassium chloride solution containing 0.025 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) for the aminopyrine N-demethylation and aniline hydroxylation, and in 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) containing 20 % glycerol for the NADPH-cytochrome c reductase and cytochrome P-450. Liver ascorbic acid was assayed by the method of Zannoni et al. (22), and protein by the method of Lowry et al. (12).

In the second experiment, the effect of PCB on a lipid peroxide formation *in vitro* in liver microsomes was investigated. Four rats of seven to eight weeks of age weighing an average of 220 g were fed on a commercial stock diet and liver microsomes were prepared from the rats using 0.15 M potassium chloride solution containing 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) as described in the first experiment. The resultant microsomal pellets were suspended in the same solution. The reaction

Table 1. Composition of basal diet

Ingredient	%
Casein	20.0
dl-Methionine	0.3
Cornstarch	15.0
Sucrose	48.0
Cellulose	2.0
AIN Mineral mix.*	3.5
AIN Vitamin mix.**	1.0
Choline bitartrate	0.2
Soybean oil	10.0

* J. Nutr., 107, 1340 (1977)

** This contains 400 IU of retinyl acetate (VA), 5.0 mg (5.0 IU) of dl- α -tocopheryl acetate (VE) and other essential vitamins.

systems were composed of the microsomal suspension (3–4 mg of protein), 0.5 mM NADPH, 0.2 ml of PCB (10^{-8} – 10^{-3} M) ethanol solution or its solvent, 0.15 M KCl, and 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) in a total volume of 2.0 ml. In some experiments, 0.3 or 1.0 mM ADP and 6 or 12 μ M FeSO₄ were added to the reaction systems. The concentrations are all shown as final concentrations. Incubations were carried out at 37°C and incubation time was described in the tables. After the incubation, the reaction was stopped on ice and lipid peroxide formed during incubation was immediately determined by the same method as described in the first experiment.

The PCB used in this experiment were purchased from Wako Pure Chemical Industries Ltd. They consisted of a mixture of the isomer, the dominant component of which was tetrachloride. NADPH (Type I), cytochrome c (Type III, from horse heart) and ADP (Grade IX, from equine muscle) were purchased from Sigma Chemical Co. 2-thiobarbituric acid was purchased from Merck & Co. Other reagents used in this experiment were of analytical grade.

Student's *t* test was used to determine significant differences between treatment means.

Results

1. Time course of endogenous lipid peroxide level, ascorbic acid content and mixed function oxidase activity in the liver

The rats were given the experimental diet containing 0.05 % PCB for 1, 3, 5 and 7 days. Changes in food intake, body weight gain and liver weight are shown in Table 2. A significant enlargement of the liver was observed on and after the 3rd day of PCB feeding and the enlargement was attributable to the PCB toxicity.

Table 2. Food intake, body weight gain and liver weight in rats fed diets with and without PCB for 1, 3, 5 and 7 days¹⁾

Feeding period (days)	0	1	3	5	7
Group	Control	Control	PCB	Control	PCB
Number of animals	6	5	5	5	6
Food intake (g)	—	14.0 ±0.7 ²⁾	13.6 ±0.9	42.7 ±1.3	39.4 ±2.1
Body weight gain (g)	—	9.8 ±0.9	8.0 ±0.9	27.3 ±1.6	21.1 ±1.0 ^a
Liver weight per 100 g of body weight (g)	5.7 ±0.4	6.0 ±0.2	6.6 ±0.2	6.5 ±0.1	8.2 ±0.2 ^a

1) PCB were added to the basal diet at the level of 0.05 %.

2) Mean ± SEM

Significantly different from the respective control values, a = $p < 0.01$, c = $p < 0.05$.

Table 3 demonstrates the time courses of lipid peroxide contents in the liver, liver mitochondria and microsomes, and ascorbic acid content in the liver. The

Table 3. Time courses of lipid peroxide formation in the liver, liver mitochondria and microsomes, and ascorbic acid content in the liver of rats fed diets with and without PCB for 1, 3, 5 and 7 days¹⁾.

Feeding period (days)	0		1		3		5		7	
Group	Control	Control	P C B	Control	P C B	Control	P C B	Control	P C B	
TBA value Whole homogenate (μ mole MDA/g liver)	0.129 $\pm$ 0.010 ²⁾	0.133 $\pm$ 0.011	0.132 $\pm$ 0.004	0.117 $\pm$ 0.003	0.117 $\pm$ 0.003	0.106 $\pm$ 0.007	0.106 $\pm$ 0.003	0.090 $\pm$ 0.008	0.113 $\pm$ 0.005 ^c	
(n mole MDA/ mg protein)	1.60 $\pm$ 0.09	1.58 $\pm$ 0.14	1.69 $\pm$ 0.07	1.41 $\pm$ 0.04	1.40 $\pm$ 0.02	1.31 $\pm$ 0.08	1.31 $\pm$ 0.05	1.18 $\pm$ 0.10	1.49 $\pm$ 0.06 ^c	
Mitochondria (n mole MDA/ mg protein)	1.55 $\pm$ 0.11	1.28 $\pm$ 0.08	1.58 $\pm$ 0.09 ^c	1.42 $\pm$ 0.03	1.61 $\pm$ 0.11	1.17 $\pm$ 0.08	1.55 $\pm$ 0.19	1.18 $\pm$ 0.05	1.50 $\pm$ 0.03 ^a	
Microsomes (n mole MDA/ mg protein)	1.29 $\pm$ 0.09	1.57 $\pm$ 0.10	1.49 $\pm$ 0.07	1.13 $\pm$ 0.08	0.98 $\pm$ 0.07	0.88 $\pm$ 0.07	0.90 $\pm$ 0.07	1.12 $\pm$ 0.04	1.45 $\pm$ 0.10 ^b	
Ascorbic acid content (mg/g liver)	0.29 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.03 ^a	0.21 $\pm$ 0.01	0.44 $\pm$ 0.02 ^a	0.26 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.01 ^a	0.23 $\pm$ 0.02	0.45 $\pm$ 0.03 ^a	

1) PCB were added to the basal diet at the level of 0.05 %.

2) Mean $\pm$ SEM

Significantly different from the respective control values, a = $p < 0.01$, b = $p < 0.02$, c = $p < 0.05$.

liver and liver microsomal lipid peroxide contents showed similar time courses, and the contents significantly increased on day 7 in the PCB group though no significant change was recognized till on day 5 in both the control and PCB groups. On the other hand, the liver mitochondrial lipid peroxide was retained at high level on and after the 1st day of PCB feeding. However, no gradual increase was observed as period of PCB feeding was prolonged. Liver ascorbic acid biosynthesis was significantly accelerated on and after the 1st day of PCB feeding, indicating a concurrence of rises in the mitochondrial lipid peroxide formation and liver ascorbic acid biosynthesis. The liver ascorbic acid level in the PCB group was almost maintained in plateau on and after the 3rd day of PCB feeding.

Table 4 shows the time courses of activities of liver microsomal mixed function oxidases. Significant increases in the liver microsomal aminopyrine N-demethylation and aniline hydroxylation activities, and cytochrome P-450 content were observed on and after the 1st day of PCB feeding. These values gradually increases as period of PCB feeding is prolonged. NADPH-cytochrome c reductase activity significantly ascended on and after the 5th day of PCB feeding though no change was observed in the activity until on day 3 in both the control and PCB groups. Therefore, the liver microsomal drug-metabolizing activities were directly correlated with the cytochrome P-450 content and no correlation with the NADPH-cytochrome c reductase activity was noticed. As shown in Tables 3 and 4, the elevation of NADPH-cytochrome c reductase activity preceded the beginning of increase in lipid peroxide formation in the liver microsomes of rats given PCB.

2. Effect of PCB on lipid peroxide formation in vitro in liver microsomes

Liver microsomes were prepared from rats fed on a commercial stock diet

Table 4. Time courses of aminopyrine N-demethylation, aniline hydroxylation and NADPH-cytochrome c reductase activities, and cytochrome P-450 content in the liver microsomes of rats fed diets with and without PCB for 1, 3, 5 and 7 days¹⁾.

Feeding period (days)	0	1		3		5		7	
Group	Control	Con- trol	P C B	Con- trol	P C B	Con- trol	P C B	Con- trol	P C B
Aminopyrine N-demethylation (n mole formaldehyde formed/mg protein per min.)	6.95 ±0.41 ²⁾	7.04 ±0.16	8.59 ±0.45 ^b	6.08 ±0.19	7.96 ±0.42 ^a	6.68 ±0.40	9.53 ±0.51 ^a	7.60 ±0.19	10.86 ±0.35 ^a
Aniline hydroxylation (n mole p-aminophenol formed/mg protein per min.)	0.46 ±0.02	0.42 ±0.01	0.87 ±0.07 ^a	0.43 ±0.01	0.91 ±0.04 ^a	0.49 ±0.04	1.31 ±0.09 ^a	0.46 ±0.03	1.21 ±0.08 ^a
Cytochrome P-450 (n mole/mg protein)	0.26 ±0.04	0.25 ±0.02	0.36 ±0.02 ^a	0.30 ±0.02	0.39 ±0.03 ^c	0.28 ±0.03	0.56 ±0.02 ^a	0.27 ±0.02	0.76 ±0.01 ^a
NADPH-cytochrome c reductase (n mole cytochrome c reduced/mg protein per min.)	33.28 ±1.00	38.61 ±4.54	29.20 ±1.48	40.68 ±1.93	34.64 ±2.28	36.57 ±1.41	49.57 ±2.34 ^a	40.80 ±2.73	62.71 ±3.94 ^a

1) PCB were added to the basal diet at the level of 0.05 %.

2) Mean±SEM

Significantly different from the respective control values, a = $p < 0.01$, b = $p < 0.02$, c = $p < 0.05$.

Table 5. Effect of incubation time on lipid peroxide formation *in vitro* in the presence of PCB in liver microsomes of rats given a commercial diet without PCB¹⁾.

PCB (M)	Incubation time (min.)	TBA value (n mole MDA/mg protein)
Nil	5	64.54±2.39 ²⁾
1×10 ⁻⁷		67.60±2.18
Nil	10	71.44±0.98
1×10 ⁻⁷		69.10±2.99
Nil	20	69.67±1.89
1×10 ⁻⁷		69.72±1.97

1) The reaction mixture consisted of liver microsomes (3-4 mg of protein), 0.5 mM NADPH, 12 μ M ferrous sulfate, 1 mM ADP, 0.2 ml of PCB ethanol solution or its solvent, 0.15 M KCl, and 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) in a total volume of 2.0 ml was incubated at 37°C.

2) Mean±SEM of four experiments

without PCB and the effects of PCB and both ADP and Fe⁺⁺, the catalysts of lipid peroxidation, were examined on lipid peroxide formation *in vitro*.

The effect of incubation time was examined on lipid peroxide formation under the constant concentrations of PCB, ADP and Fe⁺⁺ (Table 5). The lipid peroxide level almost reached to maximum in 5 minutes irrespective of the addition of PCB to the *in vitro* system and no significant effect of PCB was noticed. Subsequently, to distinguish the effect of PCB, the concentrations of both ADP and Fe⁺⁺ were lowered and the lipid peroxide formation was examined with constant incubation time and varying concentrations of PCB (Table 6). The results were similar to those shown in Table 5, and no promotion of lipid peroxide formation by PCB was observed though the values obtained were not so high as those shown in Table 5. It may be presumed that the lipid peroxide formation precedes more

Table 6. Effect of PCB concentration on lipid peroxide formation *in vitro* in liver microsomes of rats given a commercial diet without PCB¹⁾.

PCB (M)	TBA value (n mole MDA/mg protein)
Nil	10.40 ± 1.63 ²⁾
1 × 10 ⁻⁸	9.99 ± 2.01
1 × 10 ⁻⁷	10.76 ± 1.97
1 × 10 ⁻⁶	10.96 ± 1.64
1 × 10 ⁻⁵	10.68 ± 1.57
1 × 10 ⁻⁴	10.03 ± 1.49
1 × 10 ⁻³	9.16 ± 1.08

1) The reaction mixture consisted of liver microsomes (3–4 mg of protein), 0.5 mM NADPH, 6 μ M ferrous sulfate, 0.3 mM ADP, 0.2 ml of PCB ethanol solution or its solvent, 0.15 M KCl, and 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) in a total volume of 2.0 ml was incubated at 37°C for 15 min.

2) Mean ± SEM of four experiments

Table 7. Effect of PCB concentration on lipid peroxide formation *in vitro* in liver microsomes of rats given a commercial diet without PCB¹⁾.

PCB (M)	TBA value (n mole MDA/mg protein)	%
Nil	2.27 ± 0.17 ²⁾	100.0
1 × 10 ⁻⁸	2.61 ± 0.17	114.7
1 × 10 ⁻⁷	2.49 ± 0.10	109.6
1 × 10 ⁻⁶	2.64 ± 0.07	116.1

1) The reaction mixture consisted of liver microsomes (3–4 mg of protein), 0.5 mM NADPH, 0.2 ml of PCB ethanol solution or its solvent, 0.15 M KCl, and 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) in a total volume of 2.0 ml was incubated at 37°C for 15 min.

2) Mean ± SEM of four experiments

Table 8. Effect of incubation time on lipid peroxide formation *in vitro* in the presence of PCB in liver microsomes of rats given a commercial diet without PCB¹⁾.

PCB (M)	Incubation time (min.)	TBA value (n mole MDA/mg protein)	%
Nil	30	2.34 ± 0.04 ²⁾	100.0
1 × 10 ⁻⁶	30	3.29 ± 0.10 ^a	140.0
Nil	45	2.82 ± 0.15	100.0
1 × 10 ⁻⁶	45	2.23 ± 0.05 ^b	79.0
Nil	60	3.04 ± 0.18	100.0
1 × 10 ⁻⁶	60	2.64 ± 0.08	86.6

1) The experimental conditions were as described for Table 7 except for incubation time.

2) Mean ± SEM of four experiments

Significantly different from the respective control values, a = $p < 0.01$, b = $p < 0.02$.

preferential than the metabolism (catabolism) of PCB under the coexistence of PCB with the stimulators, ADP and Fe⁺⁺, of lipid peroxidation in the *in vitro* system. Therefore, the ADP and Fe⁺⁺ were removed from the *in vitro* system and the reaction was performed under the condition to promote the drug metabolism (catabolism of PCB). As shown in Table 7, a tendency of increase in lipid peroxide formation was observed at the concentration of 1 × 10⁻⁶ M of PCB though no significant difference was recognized for 15 minutes of incubation. So, the lipid peroxide formation was examined at 1 × 10⁻⁶ M of PCB with varying times of incubation (Table 8). In the absence of PCB in the *in vitro* system, the lipid peroxide formation increased as the time of incubation is prolonged. However, in the presence of PCB in the system, the lipid peroxide level significantly increased for 30 minutes of incubation but the level decreased in longer time of incubation.

In these cases, the lipid peroxide levels are very little as compared with those incubated under the presence of stimulators, ADP and Fe^{++} , of lipid peroxidation.

Discussion

The present studies were conducted to find out the mechanism of lipid peroxide formation, especially the relevances of mixed function oxidase system and ascorbic acid to the initiation of lipid peroxidation, in the liver of rats given PCB.

In the first experiment, time courses of endogenous lipid peroxide level, ascorbic acid content and mixed function oxidases activities were investigated in the liver of rats given PCB.

A significant acceleration of the liver ascorbic acid biosynthesis was observed on and after the 1st day of PCB feeding to rats through an increase in requirement of ascorbic acid (Table 3). The liver mitochondrial lipid peroxide formation also increased on and after the 1st day of PCB feeding, indicating a concurrence of rises in the mitochondrial lipid peroxide formation and liver ascorbic acid biosynthesis. Therefore, it was suggested that ascorbic acid initiated the mitochondrial lipid peroxidation in the liver of rats given PCB. Ascorbic acid may promote the lipid peroxidation owing to the rapid enhancement of ascorbic acid biosynthesis by PCB. However, no gradual increase in the liver mitochondrial lipid peroxide formation was observed as period of PCB feeding was prolonged, showing that lipid peroxide scavengers would suppress an autocatalytic chain reactions of lipid peroxidation. The liver ascorbic acid level in the PCB group was almost maintained in plateau on and after the 3rd day of PCB feeding. This indicates that accelerations of biosynthesis and excretion of ascorbic acid concur due to a upper limit of storage capacity of the acid in the liver. Kato et al. (11) also reported the similar results.

As shown in Table 4, significant increase in the liver microsomal aminopyrine N-demethylation and aniline hydroxylation activities were already observed on the 1st day of PCB feeding, demonstrating that an acceleration of drug metabolism was occurring. The cytochrome P-450 content showed similar increase to those activities and direct correlations were noticed among them. The NADPH-cytochrome c reductase activity significantly ascended on and after the 5th day of PCB feeding though no change was observed in the activity until on day 3 in both the control and PCB groups. Ascorbic acid-promoted induction of mixed function oxidases is known (23). A concurrence of rises in the drug metabolism activity and ascorbic acid biosynthesis was also recognized in this study. Therefore, it may be thought that the enhancement of PCB-stimulated ascorbic acid biosynthesis accelerates the increase in drug metabolism activity, leading to an increase in excretion of PCB.

As shown in Table 3, the liver microsomal lipid peroxide formation significantly increased on the 7th day of PCB feeding and it was guessed, therefore, that NADPH-cytochrome c reductase was involved in the initiation of PCB-induced liver microsomal lipid peroxidation. However, a time lag was present between the increases in PCB-induced liver microsomal lipid peroxide formation and NADPH-

cytochrome c reductase activity, and the former was followed by enough increase in the latter. This time lag may be considered to be due to a suppression of the lipid peroxide formation by lipid peroxide scavengers in microsomes.

A rapid liver enlargement attended with fatty liver is caused in rats given PCB (17). In this study as well, the tendency of liver enlargement was already observed on day 1 of PCB feeding and the marked enlargement was noticed on and after the 3rd day of PCB feeding (Table 2). Though the liver mitochondrial lipid peroxide level increased on the 1st day of PCB feeding, the liver (whole homogenate) lipid peroxide level increased on day 7, at which the microsomal lipid peroxide increased (Table 3). Therefore, it was thought that the increase in mitochondrial lipid peroxide formation was masked till on day 7 permentation due to the PCB-induced marked liver enlargement.

In our previous paper (17), the time courses of liver microsomal NADPH-cytochrome c reductase activity and cytochrome P-450 were measured under nearly the same experimental conditions as this study. When the values of the activity and the content were expressed as per liver weight per 100 g of body weight of rats, no significant increases were noticed till on the 7th day of PCB feeding. However, similar results to this study were obtained when those values were expressed as per mg of liver microsomal protein. Discrepancy between the values per liver per 100 g of body weight and those per mg of protein may be explained by a dilution due to a rapid enlargement of the liver in a short period. In addition, in the same paper (17) the liver lipid peroxide level was also expressed as per liver weight per 100 g of body weight. Similar results to this study was obtained when the value was expressed as per 1 g of liver.

From the results obtained in the first experiment, it was presumed that NADPH-cytochrome c reductase was involved in the initiation of PCB-induced liver microsomal lipid peroxidation. In the second experiment, therefore, in order to find out further the involvement of NADPH-cytochrome c reductase in the PCB-induced liver microsomal lipid peroxidation, lipid peroxide formation *in vitro* in the presence of PCB was investigated in liver microsomes prepared from the normal rats.

It is well known that ADP and Fe^{++} play an important role as catalyst upon the initiation of liver microsomal lipid peroxidation (19). The addition of relatively high levels of ADP and Fe^{++} to the *in vitro* system resulted in an almost maximal lipid peroxide formation in a short time of incubation irrespective of the addition of PCB to the system, and no significant effect of PCB was noticed (Table 5). Furthermore, when the concentrations of both ADP and Fe^{++} were lowered, no promotion of lipid peroxide formation by PCB was also observed (Table 6). Therefore, it may be presumed that the lipid peroxidation precedes more preferential than the catabolism of PCB under the coexistence of PCB with the catalyst of lipid peroxidation in the *in vitro* system. Alternatively, Svingen et al. (19) reported that NADPH-cytochrome c reductase catalyzed liver microsomal NADPH-dependent lipid peroxidation by converting ADP-Fe^{+++} to ADP-Fe^{++} . It seems, therefore, that catabolism of PCB does not associate with lipid peroxide formation because of the use of Fe^{++} instead of Fe^{+++} in this experiment. Subse-

quently, the ADP and Fe^{++} were removed from the *in vitro* system to carry out the reaction under the condition to promote the catabolism of PCB (Tables 7 and 8). The promotion of lipid peroxide formation was observed at the concentration of 1×10^{-6} M of PCB when incubated for 30 minutes, though the lipid peroxide levels were very little as compared with those incubated under the presence of catalyst of lipid peroxidation. In this condition, it is conceivable that endogenous Fe^{++} and trace amount of ADP contained in microsomes are utilized to catalyze the lipid peroxidation. Therefore, NADPH-cytochrome c reductase was presumed to be involved in the liver microsomal lipid peroxidation along with the concomitant catabolism of PCB. However, a longer time of incubation over 30 minutes resulted in the decrease in lipid peroxide formation in the *in vitro* system. This might be ascribed to the matter that lipid peroxide produced during longer time of incubation causes disintegration of liver microsomal membranes and/or directly interacts with NADPH-cytochrome c reductase, and then activity of the membrane-dependent enzyme and lipid peroxide level result in decrease. Kamataki et al. (10) reported that induction of lipid peroxidation led to a sharp decline in the activity of mixed function oxidase system in rat liver microsomes. It is easily conceivable that disintegration of microsomal membranes and/or decrease in NADPH-cytochrome c reductase activity occur when lipid peroxidation is induced by incubation with ADP and Fe^{++} . In this case, as reported by Svingen et al. (19), NADPH-cytochrome c reductase is not required for the initiation of microsomal lipid peroxidation, and rapid lipid peroxidation catalyzed by ADP and Fe^{++} proceeds autocatalytically, leading to higher levels of lipid peroxide formation.

As shown in Table 8, it was observed that PCB promoted NADPH-dependent lipid peroxidation coupled to drug-metabolizing enzyme system in liver microsomes of the normal rats. However, the liver microsomal lipid peroxide formation *in vivo* was followed by enough increase in the microsomal NADPH-cytochrome c reductase activity (Tables 3 and 4). For one thing this may be ascribed to a suppression of the lipid peroxide formation by lipid peroxide scavengers in microsomes, for another this may be ascribed to the matter that lipid peroxide formation in the liver microsomes of rats given PCB is caused secondarily after the promotion of catabolism of PCB through sufficient inductions of cytochrome P-450 and NADPH-cytochrome c reductase. In addition, as shown in Table 8, in the *in vitro* system under the presence of PCB, the liver microsomal lipid peroxide formation decreased as the time of incubation was prolonged. Therefore, it would be conceivable that lipid peroxide formation *in vivo* decreases as the period of PCB feeding is prolonged. In fact, we observed in our previous paper (6) that the liver lipid peroxide level was elevated soon after PCB administration but the level was lowered gradually. This might be explained that the lipid peroxide formed during the earlier period of PCB feeding disintegrates the microsomal membranes and/or interacts with NADPH-cytochrome c reductase, and then the lipid peroxide level gradually decreases due to the reduction in the activity of NADPH-cytochrome c reductase. Itokawa et al. (9) reported an increased formation of ceroid pigment in the liver of rats given PCB. Therefore, an alternative mechanism may be possible that as the PCB-induced lipid peroxide formation in-

creases in the liver, the lipid peroxide reacts with protein, resulting in an increased formation of ceroid pigment and decreased level of lipid peroxide. Further investigations into those possibilities will be required.

References

- 1) Alvares, A. P. and Kappas, A.: Heterogeneity of cytochrome P-450s induced by polychlorinated biphenyls. *J. Biol. Chem.* 252: 6373-6378, 1977.
- 2) Combs, G. F., Jr. and Scott, M. L.: Polychlorinated biphenyl-stimulated selenium deficiency in the chick. *Poultry Sci.* 54: 1152-1158, 1975.
- 3) 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.
- 4) Innami, S., Ikegami, S., Saito, M., Nakamura, A. and Nagayama, S.: Lack of responsibility of lipid peroxidation for reduction of vitamin A in the liver of rats given polychlorinated biphenyls. *Nutr. Rep. Int.* 25: 931-940, 1982.
- 5) Innami, S., Nakamura, A., Ono, S. and Nagayama, S.: Effects of dietary lipids on growth and lipid metabolism in rats given polychlorinated biphenyls. *Jpn. J. Nutr.* 36: 215-224, 1978.
- 6) Innami, S., Ono, S., Nakamura, A., Ikegami, S., Nagayama, S. and Nishide, E.: Effect of polychlorinated biphenyls (PCB) on lipid peroxide formation in rats. *Fukuoka Acta Medica* 70: 102-108, 1979.
- 7) Ito, Y. and Murata, T.: Lipid peroxidation in the hepatopancreas of carp by PCB-treatment. *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* 54: 263-270, 1980.
- 8) Itokawa, Y.: Experimental studies on PCB intoxication. *Nihon Ishikai Zatsushi* 74: 399-414, 1975.
- 9) 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.
- 10) Kamataki, T. and Kitagawa, H.: Effects of lipid peroxidation on activities of drug-metabolizing enzymes in liver microsomes of rats. *Biochem. Pharmacol.* 22: 3199-3207, 1973.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358, 1979.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 107: 1340-1348, 1977.
- 17) Saito, M., Ikegami, S., Innami, S., Nagayama, S. and Nishide, E.: Relations between lipid peroxide formation, and mixed function oxidase, glutathione peroxidase and vitamin E in the liver of rats given polychlorinated biphenyls (PCB). *Fukuoka Acta Medica* 72: 142-148, 1981.
- 18) Saito, M., Ikegami, S., Ito, Y. and Innami, S.: Influence of dietary antioxidants on polychlorinated biphenyls (PCB)-induced hepatic lipid peroxide formation and vitamin A reduction in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 28: 455-466, 1982.
- 19) Svingen, B. A., Buege, J. A., O'Neal, F. O. and Aust, S. D.: The mechanism of NADPH-dependent lipid peroxidation. The propagation of lipid peroxidation. *J. Biol. Chem.* 254: 5892-5899, 1979.
- 20) Takahata, E.: *Seikagaku Jitsuken Koza*. 12: 443-453, Tokyo, Kagaku Dojin 1976.

- 21) Wills, E. D.: Lipid peroxide formation in microsomes. *Biochem. J.* 113: 315-341, 1969.
22) Zannoni, V., Lynch, M., Goldstein, S. and Sato, P.: A rapid micromethod for the determination of ascorbic acid in plasma and tissues. *Biochem. Med.* 11: 41-48, 1974.
23) Zannoni, V. G. and Sato, P. H.: The effect of certain vitamin deficiencies on hepatic drug metabolism. *Fed. Proc.* 35: 2464-2469, 1976.

(和文抄録)

PCB 投与ラット肝臓における過酸化脂質生成への 薬物代謝酵素系およびアスコルビン酸の関与

国立栄養研究所食品科学部

斎藤 衛 郎・池上 幸 江
西出 英 一*・印南 敏

本研究は PCB 投与ラット肝臓における過酸化脂質生成亢進機序のうち、とくに、脂質過酸化の *initiation* に対する薬物代謝酵素系およびアスコルビン酸の関与を明らかにする目的で行った。

最初に、0.05% の PCB 飼料をラットに 1, 3, 5, 7 日間投与し、肝臓のアスコルビン酸量、肝臓ホールホモジェネートおよび肝臓ミトコンドリアとミクロゾームの内因性過酸化脂質量さらに肝臓ミクロゾームのアミノピリンN-脱メチル化、アニリン水酸化の各活性、チトクローム P-450 含量、NADPH-チトクローム c リダクターゼ活性の経時的变化を測定した。肝臓および肝臓ミクロゾームの過酸化脂質量は PCB 投与 5 日目までは両群間に有意差はないが、7 日目に PCB 群で有意に増加していた。ミトコンドリアでは PCB 投与 1 日目で降対照群と比べて増加していた。肝臓のアスコルビン酸に PCB 投与 1 日目で降有意な生合成の亢進が認められ、ミトコンドリアにおける過酸化脂質生成亢進の開始と経時的に一致した。このことから、ミトコンドリアにおける脂質過酸化の *initiation* にアスコルビン酸の関与が推測された。一方、肝臓ミクロゾームのアミノピリンN-脱メチル化、アニリン水酸化の各活性およびチトクローム P-450 含量は PCB 投与 1 日目で降 PCB 群で有意な上昇を示した。

NADPH-チトクローム c リダクターゼ活性は PCB 投与 3 日目までは活性の上昇は認めなかったが、5 日目以降有意な上昇を示した。肝臓ミクロゾームにおける過酸化脂質の増加と NADPH-チトクローム c リダクターゼ活性の上昇との間には *time lag* が存在し、本酵素の活性が十分上昇した後に過酸化脂質の生成が起きていた。

第 2 に、正常ラット肝臓より取り出したミクロゾームにおける *in vitro* での過酸化脂質の生成に対する PCB の影響について検討した。ミクロゾームおよび NADPH と PCB の存在する反応系に脂質過酸化の触媒の ADP と Fe^{++} を添加した時には、PCB による脂質過酸化の促進は認められなかった。反応系から ADP と Fe^{++} を抜いて反応させると、30 分までは過酸化脂質の生成が増加したが、それ以後は過酸化脂質の生成が逆に低下した。これらの結果から、肝臓ミクロゾームにおいては、PCB の異化と共役して NADPH-チトクローム c リダクターゼが脂質過酸化反応の *initiation* に関与していることが推測された。反応時間が長くなると過酸化脂質の生成が低下したのは、反応中に生成した過酸化脂質が NADPH-チトクローム c リダクターゼ活性の低下をもたらしたためではないかと推察される。

* 日大農獣医学部・水産学科

PCB 中毒サルの肝臓における PCDF 蓄積 及び酵素誘導作用

第一薬科大学物理分析学教室

黒木 広明・増田 義人

九州大学薬学部衛生化学・裁判化学教室

古賀 信幸・吉村 英敏

Accumulation of PCDFs and Enzyme Induction in the Liver of Monkeys which were Poisoned by PCBs

Hiroaki KUROKI and Yoshito MASUDA

Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka 815, Japan

Nobuyuki KOGA and Hidetoshi YOSHIMURA

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

The livers of monkeys which were poisoned by Kanechlor 400 and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and then treated with cholestyramine, liquid paraffin or glutathione were analyzed for PCDF isomers by gas chromatography and mass fragmentography and examined for induced activities of benzo[a]pyrene 3-hydroxylase, benzphetamine N-demethylase and DT-diaphorase. 1,2,3,4,7,8-Hexa-CDF was most accumulative in the liver of monkey among the eight PCDF isomers tested. Almost all the enzyme activities were enhanced in the livers of these animals, indicating mixed type induction of liver microsomal drug metabolizing enzyme systems was caused in the monkeys.

サルにポリ塩化ビフェニル (PCB) 及びポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) を投与すると、油症患者の症状に類似した症状を示すことが前回までの報告⁶⁾⁸⁾に示されている。その第1回目のサルの PCB 中毒症に関する実験⁶⁾において、PCDF が肝臓に割合多く蓄積され、PCDF の異性体により蓄積の状態が異なること¹⁾、また、PCB 及び PCDF の投与により、肝臓における薬物代謝酵素活性は増加され、フェノバルビタール (PB) 型と 3-メチルコランソレン (MC) 型との混合型の誘導を示すことが知られた⁹⁾。第2回目のサルの PCB 中毒症に関する実験⁹⁾においては、サルにカネクロール 400 (KC-400)、あるいはこれに PCDF を加えて、前回より低用量で長期間投与した後、治療実験のために、コレステラミン、流動パラフィン及びグルタチオンによる処理が行なわれた。この第2回目の実験に用いられたサル、すなわち、PCB 中毒実験を開始してから長期間 (約 2~3 年) 経過し

たサルの肝臓における PCDF 異性体の蓄積性及び酵素誘導作用について調べたので報告する。

実験方法

1. 実験材料

PCDF はジベンゾフランを塩素化して合成した混合物¹⁾を用いた。その混合比は、1,2,7,8-テトラクロロ体 (TCDF) 14%, 2,3,7,8-TCDF 35%, 1,2,4,7,8-ペンタクロロ体 (PenCDF) 1%, 1,2,3,7,8-PenCDF 48%, 1,2,6,7,8-PenCDF 1%, 2,3,4,7,8-PenCDF 1%, 1,2,3,4,7,8-ヘキサクロロ体 (HCDF) 1%, 及び 1,2,3,6,7,8-HCDF 0.5% である。

2. 実験動物、薬物投与及び肝酵素活性等の測定

赤毛ザル (5 匹) 及びカニクイザル (4 匹) は“サルの PCB 中毒症に関する研究 (第2報)”⁸⁾において使用されたサルであり、油症研究報告集第8集 P. 29

表1～表4のような処理が施こされている。すなわち、赤毛ザル (No. 16, 17, 21, 25) については KC-400 を175日、日祭日を除く毎日連続投与し、約2年3カ月後、さらに KC-400 及び PCDF を61日間同様に連続投与した。また、カニクイザル (No. 28, 29, 30, 31) についても赤毛ザル同様に KC-400 を45日間連続投与し、約1年2カ月経過した後、さらに KC-400 と PCDF を61日間連続投与した。このうち、赤毛ザルの No. 16, 17 については、最終投与後10日目から治療薬としてグルタチオンを、カニクイザルの No. 28, 29 についても同じく、グルタチオンとコレステラミンを約3カ月間与えた。

サルの屠殺は PCB 及び PCDF の最終投与後6カ月目に行ない、肝臓を採取し、PCB, PCDF 分析及び各酵素活性等測定のための試料とした。サル肝 9000×g 上清は、前報⁷⁾に従い調製し、以下この上清を用いて前報⁷⁾に従い、チトクローム P-450 量、ベンツフェタミン (BZ) N-脱メチル酵素活性、ベンゾ [a] ピレン (BP) 3-水酸化酵素活性及び DT-ジアホラーゼ活性を測定し、PCB 処理による酵素誘導を未処理サル (No. 26) の値をもとに比較した。

3. 試料処理方法

PCB の分析は前報²³⁾に従い、肝臓約 3-5g を用いて処理した。

PCDF は既報¹⁾の PCDF 分析法に従って行なった。すなわち、剖検時に採取した肝臓の約 10-20g を用いてアルカリ分解及びシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ワコーゲル S-1, 2g) に付し、n-ヘキサン約 120ml で溶出した。このヘキサン溶液を一定量まで濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフィー (Woelm 社アルミナ, 2.5g) に付し、n-ヘキサン・二塩化メチレン (49:1) 30ml 及び n-ヘキサン・二塩化メチレン (4:1) 30ml で順次溶出させた。前者の分画には PCB が、後者の分画には PCDF がそれぞれ溶出される。これらの分画をそれぞれ濃縮し、ECD-GC あるいはマスフラグメントグラフィーの試料とした。

4. ガスクロマトグラフィー (ECD-GC)

PCB の分析には島津 GC-4BM (電子捕獲型検出器付) を使用し、カラムには 5% SE-30 (3mm×2m) のガラスカラムを用いた。注入口、カラム及び検出器の温度はそれぞれ 260, 200, 及び 260°C で行なった。PCDF の分析は島津 GC-5A 及び GC-7AG (いずれも電子捕獲型検出器付) を使用した。GC-5A のカラムには、1.5% OV-17 あるいは 1.5

Apiezon L を Chromosorb W AW DMCS (60~80 メッシュ) にコーティングし、ガラスカラム (3mm×5m) に充てんしたものを用いた。注入口、カラム及び検出器の温度は、それぞれ 250, 230, 及び 280°C で行なった。キャリアーガスは純度 99.999% の窒素ガスを使用し、流速は 30ml/min とした。GC-7AG のカラムにはフューズドシリカキャピラリーカラム OV-101 (0.2mm×50m) を用い、注入口、カラム及び検出器の温度は、それぞれ 300, 250, 300°C で行なった。キャリアーガス及びメイクアップガスには、純度 99.999% の窒素を使用し、流速はそれぞれ 0.5ml/min 及び 30ml/min とした。スプリット比は 1:3.4 で行なった。試料はソルベントカット試料導入装置を用いて、ソルベントを自然蒸発させた後、カラムに導入した。

5. ガスクロマトグラフィーによる PCB および PCDF の定量

PCB の定量はピーク高の総和による方法で総 PCB として定量した。

各 PCDF 異性体の定量はガスクロマトグラフのピーク面積を、対応する PCDF 標品の面積と比較することにより行なった。

6. マスフラグメントグラフィー (MF)

日本電子 D-100 ガスクロマトグラフ-質量分析計を使用した。カラムには、1.5% Apiezon L を Chromosorb W AW DMCS (80-100 メッシュ) にコーティングし、ガラスカラム (2mm×2m) に充てんしたものを用いた。

モニターイオンとして、分子イオン (M^+) 及び (M^++2) イオンを用いた。すなわち、五塩化ジベンゾフランの検索には m/e 338, 340 を、六塩化ジベンゾフランの検索には、 m/e 372, 374 を用いた。注入口、カラム及びエンリッチャー温度は、五塩化ジベンゾフランの場合、270, 240 及び 250°C で、六塩化ジベンゾフランの場合、270, 255 及び 250°C で行なった。キャリアーガスにはヘリウムガスを用いた。イオン化エネルギーは 25eV, イオン化電流は 300 μ A であった。

結 果

赤毛ザルの肝臓から得られた PCDF 分画について、五塩化及び六塩化ジベンゾフランの検索を、それぞれの分子イオン (M^+) 及び (M^++2) イオンに相当する m/e 338, 340 及び m/e 372, 374 を用いた MF により行なった。Fig. 1 に m/e 340 及び 374

におけるマスフラグメントグラムを示す。マスフラグメントグラム (Fig. 1) の4つのピークの保持時間 (t_R) は、それぞれ、1, 2, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF, 及び 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF の t_R と一致した。また、 m/e 338 及び 372 におけるマスフラグメントグラムも、それぞれ、 m/e 340 及び 374 を用いたマスフラグメントグラム (Fig. 1) と同様の結果を与えた。

Fig. 2 に、投与した PCDF 混合物及びカニクイザル (No. 29) の肝臓から得られた PCDF 分画の 50 m OV-101 キャピラリーカラムで分析したガスクロマトグラムを示す。主なピークの同定は PCDF 標品の t_R と比較して行なった。Fig. 2 に示す PCDF 標品との t_R の一致は、1.5% OV-17, 及び 1.5% Apiezon L カラムを用いた ECD-GC においても確認された。Fig. 2 から明らかなように、投与した PCDF 混合物の主成分である 1, 2, 7, 8-及び 2, 3, 7, 8-TCDF 並びに 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF は、サル肝臓中にほとんど認められない。むしろ副成分である 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF が高い割合で残留していた。他のサルの肝臓から得られた PCDF 分画のガスクロマトグラムも Fig. 2 に示すガスクロマトグラムとほとんど同じであった。

Table 1 に赤毛ザル及びカニクイザルの肝臓中に残留する PCB 及び各 PCDF 異性体について定量した結果を示す。PCB 濃度は赤毛ザルで 35-670 ppb, カニクイザルで 88-620 ppb と個体間の変動がみられた。PCDF はすべてのサル肝臓から検出され、赤毛ザル及びカニクイザルでは、それぞれ、総 PCDF 投与量の 0.01-0.14% 及び 0.02-0.04% が残留していた。各 PCDF 異性体の濃

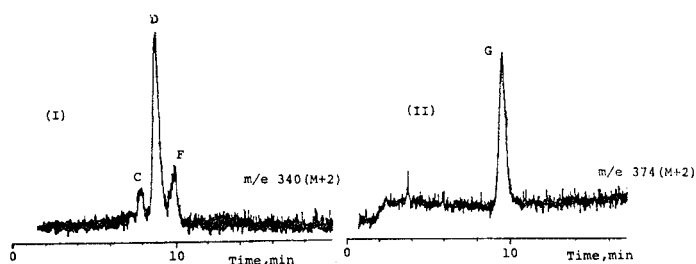


Fig. 1. Mass fragmentograms of PCDF fraction (I) from the liver of monkey No. 17 (m/e 340) and (II) from the liver of monkey No. 25 (m/e 374) on 1.5% Apiezon L column. Peaks, C, D, F and G correspond, respectively, to 1, 2, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF and 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF.

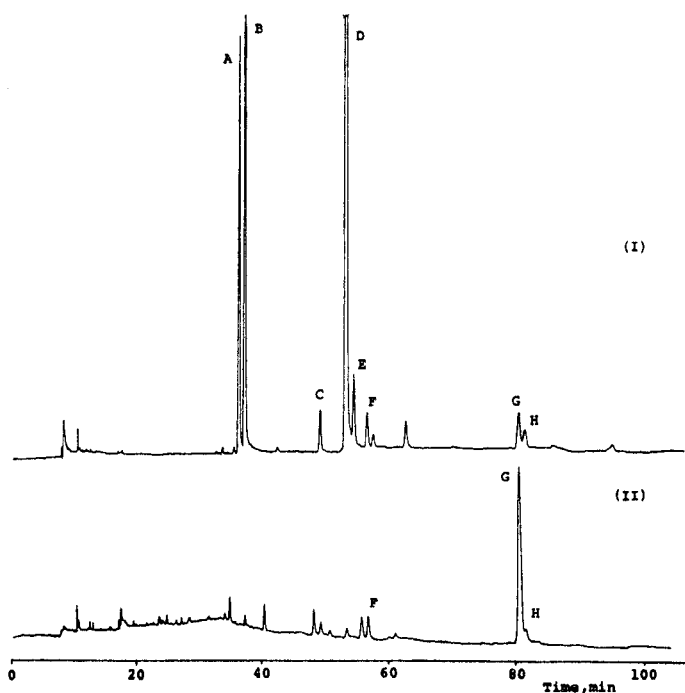


Fig. 2. Gas chromatograms of PCDFs on a 50 m fused silica capillary column coated with OV-101. (I) synthesized PCDF mixture administered to monkeys. (II) PCDF fraction from the liver of a monkey No. 29. Peaks, A, B, C, D, E, F, G and H correspond, respectively, to 1, 2, 7, 8-TCDF, 2, 3, 7, 8-TCDF, 1, 2, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 6, 7, 8-PenCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF and 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF.

度は赤毛ザル及びカニクイザルにおいて、ほぼ同様な傾向が認められる。すなわち、1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF はすべてのサル肝臓中から検出され、しかも残留 PCDF のほとんど大部分の濃度をしめていた (1.5-7.7 ppb)。定量値を、摂取した 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF

Table 1. Concentration of PCBs and PCDF isomers in the liver of monkeys administered PCBs and/or PCDFs

Monkey No.	Liver weight (g)	Concent. of PCBs (ppb)	Concentration of PCDF isomers (ppb)								Total
			A	B	C	D	E	F	G	H	
26 (control)	92	8.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
16	63	51	ND	ND	ND	ND	ND	TR	TR (0.5)	TR	0.7(0.01)
17	73	670	ND	ND	TR	2.1(0.1)	ND	TR	3.4(7)	TR	5.5(0.14)
21	64	670	ND	ND	TR	ND	ND	TR	7.7(12)	TR	7.7(0.12)
25	57	35	ND	ND	TR	ND	ND	ND	2.7(5)	TR	2.7(0.05)
28	27	88	ND	ND	ND	TR	ND	TR	1.5(2)	TR	1.5(0.02)
29	35	95	ND	ND	ND	ND	ND	TR	2.1(3)	TR	2.1(0.04)
30	19	620	ND	ND	ND	ND	ND	TR	3.2(3)	TR	3.2(0.03)
31	17	170	ND	ND	ND	ND	ND	TR	3.4(3)	TR	3.4(0.03)

No. 16~26: Rhesus monkeys, No. 28~31: Crab-eating monkeys

A=1, 2, 7, 8-TCDF B=2, 3, 7, 8-TCDF C=1, 2, 4, 7, 8-PenCDF D=1, 2, 3, 7, 8-PenCDF

E=1, 2, 6, 7, 8-PenCDF F=2, 3, 4, 7, 8-PenCDF G=1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF H=1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF

ND: less than 0.1 ppb TR: 0.1~0.5 ppb

The values in parenthesis are expressed as a percentage of the total intake.

総量に対する割合に換算すれば、赤毛ザル（例外的に低値を示した No. 16 を除く）及びカニクイザルでは、それぞれ 8% 及び 3% に相当した。もう一つの六塩化ジベンゾフラン異性体である 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF もすべてのサルから、1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF の約 1/10 の濃度で検出された (0.1-0.5 ppb)。

一方、四塩化ジベンゾフランでは、投与した PCDF の主成分である 1, 2, 7, 8-TCDF 及び 2, 3, 7, 8-TCDF は両者とも、いずれのサルからも検出されなかった (検出限度 0.1 ppb)。五塩化ジベンゾフランでは、2, 3, 4, 7, 8-PenCDF が赤毛ザル No. 25 を除くすべてのサルから検出され、また、1, 2, 4, 7, 8-PenCDF が赤毛ザル No. 17, No. 21 及び No. 25 から検出されたが、その濃度は、両者ともに、1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF の約 1/10 にすぎなかった (0.1-0.5 ppb)。投与 PCDF の主成分である 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF は赤毛ザル No. 17 においてのみ、1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF に匹敵する濃度で検出され、また、カニクイザル No. 28 にはわずかに残留していたが、他のサルからは検出されなかった。1, 2, 6, 7, 8-PenCDF は、すべてのサルから検出されなかった。

Table 2 に、サル肝臓におけるチトクローム P-450 量、BP 3-水酸化酵素活性、BZ N-脱メチル酵素活性及び DT-ジアホラーゼ活性を示す。赤毛ザルにおいては、PCB 及び PCDF の最終投与後 6 カ月においても、今回検討したほとんどすべての酵素活性の誘導が維持されていた。サル間で個体差はみられるが、

P-450 量は約 1.4 倍に、MC 型誘導能を示す化合物により顕著に誘導される BP 3-水酸化酵素活性と DT-ジアホラーゼ活性は、それぞれ、約 3.3 倍、1.3 倍に誘導された。また、PB 型化合物によつて同じく誘導を示す BZ N-脱メチル酵素活性は、約 3.2 倍に誘導された。なお、P-450 の CO 差スペクトルの極大吸収は 448.5-449 nm であった。カニクイザルについては未処理のものがいないため直接的比較は不可能である。便宜上赤毛ザルの未処理サル (No. 26) と比較すると、P-450 量及び BZ N-脱メチル酵素活性では、赤毛ザルと同程度の誘導が観察されたが、BP 3-水酸化酵素活性は約 2.6 倍と赤毛ザルより低く、DT-ジアホラーゼ活性では逆に、未処理赤毛ザルの比活性の半分の値を示した。この DT-ジアホラーゼ活性が未処理のカニクイザルでは赤毛ザルよりもともと低いのか、どうかについては明らかではない。DT-ジアホラーゼの誘導は、BP 3-水酸化酵素活性のそれに比べ、ラットにおいては PCDF の低用量ではあまり強くないことが知られているが⁵⁾、サルでも同様のことが赤毛ザルで示唆された。

考 察

サル及びラット肝臓中の PCDF の残留性は異性体によつて大きく異なることが明らかにされている^{11,15)}が、今回の実験においても、サル肝臓中の PCDF の残留性は異性体によつて著しい相違が認められた。すなわち、投与した PCDF 混合物中の副成分である

Table 2. Effects of chronic administration of PCBs and/or PCDFs on activities of liver enzymes in monkeys

No.	Cyt. P-450 ¹⁾	Benzo[a]pyrene ²⁾ 3-hydroxylase	Benzphetamine ³⁾ N-demethylase	DT-diaphorase ⁴⁾
26	0.232 (1.0)	50.7 (1.0)	0.088 (1.0)	0.120 (1.0)
16	0.305 (1.32)	188.6 (3.72)	0.294 (3.34)	0.165 (1.38)
17	0.340 (1.47)	126.0 (2.49)	0.226 (2.57)	0.107 (0.89)
21	0.367 (1.58)	219.1 (4.32)	0.264 (3.00)	0.198 (1.65)
25	0.274 (1.18)	129.8 (2.56)	0.353 (4.01)	0.136 (1.13)
28	0.288	132.7	0.310	0.130
29	0.357	131.5	0.311	0.085
30	0.333	125.4	0.184	0.064
31	0.351	137.0	0.298	0.062

No. 16~26: Rhesus monkeys, No. 28~31: Crab-eating monkeys

1) nmoles/mg protein, 2) pmoles/min/mg protein, 3) nmoles/min/mg protein,

4) μ moles/min/mg protein

2, 3, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF 及び 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF の残留性が高く、とりわけ 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF は、残留 PCDF 濃度の大部分をしめており、この化合物の高残留性が顕著であった。1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF は、ラット肝臓中においても残留性が高いことが明らかにされており⁵⁾、動物の肝臓に高い蓄積性を示す PCDF 異性体の一つと考えられる。五塩化ジベンゾフランのうち、1, 2, 4, 7, 8-PenCDF 及び 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF の濃度にサル間で若干の相違がみられるが、これは投与量の違い及び個体差に起因するものと思われる。また、PCDF 濃度と PCB 濃度は、相関係数 $r=0.816$ ($P<0.05$) で、有意な相関関係がみられた。

今回のサル肝臓中における PCDF 残留性の結果は、前回の“サルの PCB 中毒症に関する予備的研究”⁶⁾において用いられたサルの場合とは若干異なつた結果が得られた。すなわち、前回の実験（赤毛ザル 3 匹使用）では残留 PCDF 中、1, 2, 3, 7, 8-PenCDF 及び 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF の濃度が高く、特に、2, 3, 4, 7, 8-PenCDF の高残留性が顕著であった¹⁾のに対し、今回の実験では、1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF が残留 PCDF の大部分であり、1, 2, 3, 7, 8-PenCDF 及び 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF の濃度は、1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF の約 1/10 にすぎなかつた。このような相違の原因として、KC-400+PCDF の投与日数及び投与経過の違いが考えられる。すなわち、前回の場合、サルは投与日数（26~39 日）後、ただちに屠殺されているのに対し、今回のサルでは、投与日数（61 日）後、治療実験

が施こされ、PCB 及び PCDF の最終投与後 6 カ月目に屠殺されている。また、KC-400+PCDF 投与前に、KC-400 単独投与や治療実験が実施されている。このような投与経過の違い、特に今回の実験では、投与中止後、屠殺されるまでの期間が前回より長いいため、1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF の残留が 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF より、より顕著になつたものと考えられる。

1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF は Rappe らにより海ガメやあざらしの脂肪組織から比較的高濃度で、他の PCDF 異性体と共に検出されており⁴⁾、この化合物の高い生体内残留性を反映しているものと考えられる。この化合物はラット肝ミクロゾーム薬物代謝酵素系において、チトクローム P-448 量の増加や芳香族炭化水素水酸化酵素活性及び DT-ジアホラーゼ活性の増大など、MC 型酵素誘導能を示し、胸腺萎縮や肝肥大などの急性毒性も強い⁵⁾。したがって 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF についても今後さらに検討する必要がある。

赤毛ザル肝における薬物代謝酵素誘導に関しては、前回の実験（赤毛ザル 2 匹使用）で、PCB 及び PCDF の連続投与（29~32 日）後、PB 型及び MC 型の混合型の誘導が認められたが⁶⁾、今回の実験でも、投与中止後 6 カ月においても依然として、チトクローム P-450 量の増加や BP 3-水酸化酵素や DT-ジアホラーゼ活性の増大など、PB 型及び MC 型の混合型の誘導が維持されておりきわめて興味深い。

今回、サル肝臓に高濃度で残留していた 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF は、ラット肝において MC 型の酵素誘導を示すことが明らかにされている⁵⁾。したがって以

上のようなサルの肝臓における酵素誘導は、PCDFの肝蓄積量と関連すると考えられるが、最終結論を得るにはさらに検討が必要である。

前報⁸⁾において、赤毛ザルはカニクイザルに較べ一般的に個体差が大きく、また発症に対する反応も赤毛ザルの方が強い傾向がみられることを指摘した。今回のPCDFの肝残留率も赤毛ザルでよりバラつきが大きいながら、カニクイザルより全般的に高い残留率を示し、その症状の強さをよく裏付けている。

総 括

油症研究報告第8集⁹⁾において用いられた赤毛ザル(5匹)及びカニクイザル(4匹)について、KC-400及びPCDFの最終投与後6カ月目の肝臓に残留するPCB及びPCDF濃度並びに肝ミクロゾーム薬物代謝酵素系に及ぼす酵素誘導について検討した。

1) サル肝臓におけるPCB濃度は赤毛ザルで35-670 ppb, カニクイザルで88-620 ppbであり、個体差がみられた。

2) 赤毛ザルでは、総PCDF投与量の0.01-0.14%が肝臓に残留していた。残留PCDFのうち、1,2,3,4,7,8-HCDFが大部分の割合をしめ、サル間で個体差はあるものの、かけはなれて低値を示したNo.16を除けば、投与された1,2,3,4,7,8-HCDFの約8%が残留していた。

3) カニクイザルでは、総PCDF投与量の0.02-0.04%が肝臓に残留していた。赤毛ザルの場合と同様、残留PCDFのうち、1,2,3,4,7,8-HCDFが大部分の割合をしめ、投与された1,2,3,4,7,8-HCDFの約3%が残留していた。

4) 肝残留PCDF濃度に関して、赤毛ザルの方がカニクイザルに較べ個体差が大きかった。またカニクイザルの方がより低い残留率を示し、このことは前報⁸⁾において述べたカニクイザルの発症の弱さを裏付けている。

5) サルの肝臓におけるPCDF濃度は、PCB濃度と正の相関関係が認められた。(r=0.816, P<0.05)

6) 赤毛ザルにおけるPCDFの肝残留性は前回と

異なつた結果が得られたが、その原因として、屠殺されるまでの期間の違いが考えられる。

7) PCB及びPCDF投与中止後、6カ月経過するにもかかわらず、著しい酵素誘導が認められた。

8) 誘導パターンはPB型とMC型との中間型であるが、どちらかといえばPB型に近い。この結果は、投与したPCBにはPB型誘導能を示すPCBの含量が多いことと一致している。

9) カニクイザルに較べ赤毛ザルの方が、酵素活性からみて個体差が大きかった。

10) 治療薬グルタチオンあるいはコレスチラミンの投与は、今回検討した肝におけるPCDF濃度及び酵素誘導能に対して影響を及ぼさなかった。

文 献

- 1) 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.
- 2) 増田義人, 香川梨絵, 倉恒匡徳: 油症患者および一般体内のポリ塩ビフェニール. *福岡医誌* 65: 17-24, 1974.
- 3) 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.
- 4) Rappe, C., Buser, H. R., Stalling, D. L., Smith, L. M. and Dougherty, R. C.: Identification of polychlorinated dibenzofurans in environmental samples. *Nature* 292: 524-526, 1981.
- 5) Yoshihara, S., Nagata, K., Yoshimura, H., Kuroki, H. and Masuda, Y.: Inductive effect on hepatic enzymes and acute toxicity of individual polychlorinated dibenzofuran congeners in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59: 580-588, 1981.
- 6) 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.
- 7) 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: 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. *福岡医誌* 72: 149-154, 1981.
- 8) 吉村英敏, ほか: サルのPCB中毒症に関する研究(第2報). *福岡医誌* 72: 155-184, 1981.

実験的 PCB 中毒サルの眼瞼板透明標本による マイボーム腺の観察

九州大学医学部眼科教室 (指導: 谷口慶晃教授)

大西克尚・向野利彦

石橋達朗・篠田泰治

Macroscopic Observation of Monkey Meibomian Glands treated with Polychlorinated Biphenyls

Yoshitaka OHNISHI, Toshihiko KOHNO,
Tatsuro ISHIBASHI and Yasuharu SHINODA

*Department of Ophthalmology (Director: Prof. Y. Taniguchi),
Faculty of Medicine, Kyushu University*

Meibomian glands in experimental PCB poisoning were studied in rhesus and crab eating monkeys. The glands were macroscopically observed after the treatment with KOH and Sudan III. There were partial disappearances of the glands and enlargements of the ducts in PCB-intoxicated animals.

緒 言

1968 年 PCB (Polychlorinated biphenyls) が混入したカネミラيسオイルの経口摂取により発症した油症の実験モデルとして、われわれは猿を用い、油症患者と同様の各種の変化を発症せしめた⁵⁾⁶⁾。油症患者の眼症状としては、マイボーム腺からの分泌過多、結膜色素沈着と眼瞼浮腫であり²⁾⁷⁾⁹⁾、猿でも同様の変化が観察されたが、結膜の色素沈着に関しては、猿の生理的な色素沈着と鑑別が困難であつた。PCB などの投与を受けた猿のマイボーム腺の変化は、導管上皮の肥厚や過角化、導管の拡張、角化嚢胞形成、腺房の扁平上皮化生、腺房の萎縮などであつた⁵⁾⁸⁾。これらの変化は顕微鏡下に明らかになつたが、マイボーム腺全体の変化、すなわちマイボーム腺の数や形の変化および眼瞼板内での腺のしめる位置など、いわゆる macroscopic な変化はとらえにくかつた。臨床的にマイボーム腺の病変をとらえるためには、この腺の全体像を把握することが重要である。

最近、家兎を用いて生体でマイボーム腺全体の変化を観察する方法が報告されているが、まだ不十分である。そこで今回、眼瞼板の周囲組織を十分切除し、ズダンⅢでマイボーム腺を染色し、水酸化カリウムにて眼瞼板を透明化し¹⁾、肉眼的にマイボーム腺を観察し興味

ある知見を得たので報告する。

材 料 と 方 法

対照群として赤毛ザル雄雌各 1 匹づつの上下眼瞼 3 組、カニクイザル雄 3 匹の上下眼瞼 6 組、計 9 組の上下眼瞼を使用した。また、正常人眼瞼との比較のため男女各 2 人 (52 才男, 脳卒中, 47 才男, 心筋梗塞, 54 才女, 肺ガン, 71 才女, 虚血性心臓病で死亡) の上下眼瞼 8 組を同様に処理した。

眼瞼採取の方法としては内嚢部より切開を始め、上眼瞼を眼窩骨縁に沿つて切除し外嚢部にまで達し、上眼瞼を切り離すことなく下眼瞼も切除し、上下眼瞼を連続して一組とした。眼瞼を洗浄し、10%ホルマリン中に入れた後、皮膚や眼瞼の周囲組織を切除し、ズダンⅢを飽和した 60%アルコール中に 37°C で 2 日間放置した。ズダンⅢを飽和させるために、超音波をかけ、その後、濾紙で濾過した。これによりマイボーム腺は赤色に染色された。次に眼瞼を軽く水洗した後、下記の透明薬液中に 24 時間放置した。透明薬液はグリセリンと 20%水酸化カリウムを等量混合した液で、これにより眼瞼板は透明化した¹⁾。透明化した眼瞼板を双眼実体顕微鏡下に観察し、同時に写真撮影を行った。PCB 投与眼では右眼を透明標本用とし、左眼は型の如くパラフィン包埋し、切片作製後 HE 染色

を行い観察した。

猿に対する PCB 投与法はカネクロール 400 (KC 400) と PCDF とを対象とした。詳細は既報²⁾ の通りであるが略記すると次のようである。KC-400 や PCDF をサラダ油に溶かし、バナナに注入して投与した。赤毛ザルの 4 匹は KC-400 を 0.25 mg/kg/day で 236 日間、PCDF を 1.25 µg/kg/day で 61 日間投与した。カニクイザルのうち 3 匹 (No. 28, 30, 31) は KC-400 を 45 日間、0.5 mg/kg/day で投与した後、KC-400 を 0.25 mg/kg/day に減量し、PCDF 1.25 µg/kg/day を同時に 61 日間追加投与した。残りのカニクイザル 3 匹 (No. 78, 79, 85) はカネミ工場で使用された原因油を蒸留し、低沸点のものを除いた油状のものを 1 mg/kg/day で 24 日間投与したが、この中には PCDF が約 1,500 ppm 含まれていた。

結 果

1. 正常人眼瞼のマイボーム腺

人の眼瞼は猿のものより瞼板周囲組織が厚く、十分除去しないとマイボーム腺の観察がやや困難であった。マイボーム腺の走行状態を広瀬はⅢ型に分類している¹⁾。すなわち第Ⅰ型はマイボーム腺の瞼縁と反対側の先端部が中央側に屈曲したものであり、Ⅱ型はマイボーム腺が全体にわたり真すぐで、各々が平行に走っているもので、Ⅲ型はマイボーム腺の走行が不規則で屈曲したものである。この分類に従ってマイボーム腺を観察したところ、人でも猿でもⅠ型とⅡ型の中間と思われるものもあつたが一応どちらかに分類した。それによると 52 才男性の左右のマイボーム腺がⅡ型に分類され、他の 3 名はⅠ型であつた (図 1)。このマイボーム腺を実体顕微鏡下に双眼で立体的観察すると導管の周囲を全周、腺房が取り囲んでいるのがわかり、又、一部のマイボーム腺が吻合することなく交叉

表 1. 赤毛ザルおよびカニクイザルにおけるマイボーム腺対照群と PCB や PCDF 投与群との比較

サ ル No.	性	右 左	KC-400		PCDF		マイボーム腺数		変化の度		備 考
			投与 日数 (日)	総投 与量 (mg)	投与 日数	総投 与量 (µg)	上 眼 瞼	下 眼 瞼	上 眼 瞼	下 眼 瞼	
対 照 群	赤毛ザル	2 ♂					36	32			上眼瞼中央22本は先細りで長く、腺房もよく認められる
		26 ♀					36	32			上眼瞼中央21本先細り
	カニクイザル										" 19本 "
		100 ♂					31	29			" 16本 "
							32	30			" 18本 "
		101 ♂					33	29			" 15本 "
							35	31			" 17本 "
		103 ♂					41	36			" 24本 "
							37	32			" 21本 "
投 与 群	赤毛ザル	16 ♀	236	234	61	410	39	33	+	+	上眼瞼：先細りが消失し、腺房もわかりにく
		17 ♀	236	240	61	294	36	34	+	+	上眼瞼：先細り部の一部消失
		21 ♀	236	307	61	399	35	35	+	+	下眼瞼：短く太い導管となつている
		25 ♀	236	205	61	302	33	不明	+	+	下眼瞼：各々が太くなりすぎ個々の腺不明
	カニクイザル										
		28 ♀	106	90	61	178	35	30	+	+	上眼瞼：先細り部大部分消失
		30 ♀	106	98	61	195	37	35	+	+	上眼瞼：先細り部一部消失
		31 ♂	106	86	61	171	38	34	+	+	" "
		78 ♂	24	86	24	129	35	33	+	+	
		79 ♂	24	72	24	108	34	29	+	+	
		85 ♂	18	54	18	81	38	36	—	—	PCB 投与中衰弱がひどく屠殺



図1. 54才，女，右眼上眼瞼のマイボーム腺。導管周囲の腺房が明瞭に認められる。ズダンⅢ染色。



図2. 対照群，No.26赤毛ザル右眼上眼瞼のマイボーム腺。中央の先細り部が人よりもより細い。



図3. 対照群，No.103カニクイザル左眼上下眼瞼のマイボーム腺。下眼瞼ではマイボーム腺が短く太いものが一様に並んでいる。



図4. 投与群, No16赤毛ザル上下眼瞼のマイボーム腺。上眼瞼では中央の先細り部が消失し腺房も不明瞭になっている。下眼瞼では瞼縁に近い導管が消失しつつあり, 瞼縁から遠い部分は嚢胞を形成している。

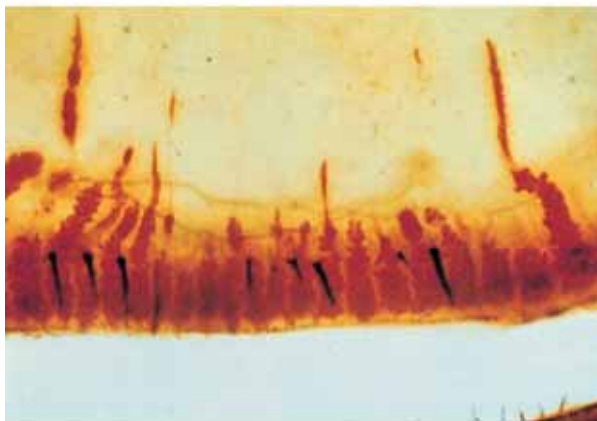


図5. 投与群, No25赤毛ザル右眼上眼瞼のマイボーム腺。中央の先細り部消失や導管の拡張が認められる。



図6. 投与群, No28カニクイザル上眼瞼のマイボーム腺。中央部のマイボーム腺は殆んど消失している。瞼縁に生理的色素沈着が認められる。

表2. 対照群とPCB投与群のサルの上, 下眼瞼の数

		赤毛ザル	カニクイザル
対照群	上眼瞼	36.67±1.15(n=3)	34.8±3.71 (n=6)
	下眼瞼	32.67±1.15(n=3)	31.2±2.64 (n=6)
投与群	上眼瞼	35.75±2.50(n=5)	36.17±1.72(n=6)
	下眼瞼	34.00±0.82(n=4)	32.83±2.79(n=6)

しているのが観察された。

2. 対照群サル眼瞼のマイボーム腺

マイボーム腺の全体像は人の場合と、ほぼ同様であるが、中央の先細り部分が人より細く、瞼縁に近い太い部分と対照的であつた(図2, 3)。この中央の先細り部のマイボーム腺の数を表1に示した。形はI型が上眼瞼6個, 下眼瞼6個, II型は上眼瞼3個, 下眼瞼2個, III型は上眼瞼0個, 下眼瞼1個であつた。

マイボーム腺の数は赤毛ザルの上眼瞼は平均37本であり, カニクイザルは平均35本, 下眼瞼は赤毛ザルで平均33本, カニクイザルで平均31本であつた(表2)。赤毛ザルとカニクイザルのそれぞれの上眼瞼のマイボーム腺の数を統計学的にt検定で比較したが有意差はなく, また下眼瞼同志でも同様であつた。

3. PCB投与群サル眼瞼のマイボーム腺

上眼瞼の変化は, まず中央の先細り部が部分的に消失し, 正常ではギザギザと切れ込みを持つて見える腺房の輪郭が平滑となつた。下眼瞼ではマイボーム腺が太くなつていた。このような軽度の変化を表1では(+)と記載した。次に病変が進行すると上眼瞼では先細り部が消失し, 腺房もさらにわかりにくくなり, 下眼瞼ではマイボーム腺がさらに太くなつていた。これを表1では(++)の変化と記載した(図4, 5, 6)。

PCB投与群のマイボーム腺の数は赤毛ザルの上眼瞼は平均36本, カニクイザルも平均36本, 下眼瞼は赤毛ザルで平均34本, カニクイザルで平均33本であつた(表2)。対照群とPCB投与群のマイボーム腺の数を赤毛ザルとカニクイザルの上下眼瞼でそれぞれt検定で検討したが, PCBを投与することによつてマイボーム腺の数が有意に減少するということとはなかつた。

考 按

油症患者の眼症状のうち眼瞼浮腫は急性期にのみ認められ, 慢性期には結膜色素沈着とマイボーム腺分泌

過多が特徴的である。油症患者やPCB投与猿のマイボーム腺を肉眼的に観察すると各単位毎に紡錘形に腫大, 隆起した所見が認められるが²⁾⁷⁾, マイボーム腺全体を把握することは困難である。これまでにマイボーム腺を肉眼的に詳細に観察した報告は少ない¹⁾。最近, 家兎にエピネフリンを連日点眼し, マイボーム腺の開口部に閉塞が起こるのを生体で観察し transillumination を行うことにより写真撮影に成功しているが³⁾, 十分にマイボーム腺を描出しえたとは言い難かつた。病理組織学的にはPCB投与猿のマイボーム腺の変化をある程度明らかにし得たのであるが²⁾⁸⁾, 臨床的にはマイボーム腺の全体像を把握することが重要である。そこで今回, マイボーム腺の周囲組織を水酸化カリウムで透明化し, ズダンⅢでマイボーム腺を染色し, その全体像を観察することにより臨床像との関連を見る目的で本実験を計画した。生体における観察では眼瞼結膜側に黄色の線として認められ, 内外口部に近づくにつれマイボーム腺は観察しにくくなるが, 透明標本ではマイボーム腺がズダンⅢで赤く染め出され, 全体の数も容易に測定できた。生体では細隙灯顕微鏡を用いても観察しえなかつた腺房も, 透明標本によると対照群では良く認められ, PCB投与群でマイボーム腺中央の先細り部がまず消失していくのが観察され, また腺房が消失していくのがとらえられた。

透明標本と切片標本とを対比すると, 切片標本で観察された初期の変化である導管上皮の肥厚, 過角化は透明標本では観察できなかったが, 進行期に認められた腺房の萎縮や導管の管腔の著明な拡張は透明標本でも特徴的にとらえられた。切片標本でマイボーム腺が萎縮し虚脱していく過程が認められたので, 透明標本でも全く染色されないマイボーム腺が何本か認められ, 全体として腺の数が減少しているのではないかと予想したが, 対照群とPCB投与群とのマイボーム腺の数を統計学的に検討しても, 両者の数に有意差は認められなかつた。すなわち, PCBを投与してもマイボーム腺の一つの単位が, 完全に消失してしまうことはないと思われた。しかし, 投与群の猿の眼瞼が10個と少ないために有意差が出なかつたことも考慮に入れておかなければならない。次にPCBの量とマイボーム腺の変化とに関連があるかどうか, すなわち腺の変化がdose dependentであるかどうかを検討したが, 個体差が大きく不明であつた。

人と猿のマイボーム腺の比較を行つたが今回は人の上下眼瞼は4組しかなかつたので広瀬の論文⁹⁾を参考にした。それによると人の上眼瞼のマイボーム腺の数

は 37.4 ± 5.3 個 ($n=253$) であり、猿よりやや多かったが、下眼瞼は 27.8 ± 3.9 個 ($n=248$) と猿より少なかった。人と猿との違いはマイボーム腺の中央の先細り部が、人では中央から段々と短くなり周囲へ弓状になだらかに移行しているのに対し、猿では先細り部とそうでない部が比較的明瞭に区別される点であった。下眼瞼では人と猿でとくに異つたところは観察されなかった。

次に上眼瞼と下眼瞼のマイボーム腺の差であるが、これは上下の瞼板の違いによるものと思われ、下眼瞼では中央の先細り部がなく、一様に短く太かった。

マイボーム腺の嚢胞は開口部の閉塞が原因であることが多く、それは外傷や手術¹⁰⁾、放射線照射⁴⁾あるいはマイボーム腺癌¹⁰⁾などによることが多い。これらの嚢胞の多くは部分的であり PCB の場合と鑑別できるが、エピネフリン点眼による嚢胞は腺全体に起こるようであり³⁾、PCB の場合と組織所見などで鑑別できない可能性もあり注意を要する。いづれにしても透明標本を作ることができれば、マイボーム腺全体を観察することができ有意義であると思われた。

総 括

正常赤毛ザル 2 匹、正常カニクイザル 3 匹、および PCB や PCDF を投与した赤毛ザル 4 匹、カニクイザル 6 匹の上下眼瞼を切除し、ズダンⅢでマイボーム腺を染色し、水酸化カリウムで瞼板を透明化したのちマイボーム腺を観察した。また人の上下眼瞼 8 組も猿と対比させて観察した。

1) 赤毛ザルのマイボーム腺は上眼瞼で 36.67 ± 1.15 個、下眼瞼で 32.67 ± 1.15 個、またカニクイザルでは上眼瞼 34.8 ± 3.71 個、下眼瞼 31.2 ± 2.64 個であった。

2) PCB や PCDF の投与により上眼瞼中央の先細り部分のマイボーム腺が消失し、瞼縁に近い部分は太さを増していた。

3) PCB や PCDF 投与によりマイボーム腺の数

は減少しなかった。

欄筆するにあたり谷口慶晃教授の御指導、御校閲に感謝致します。

文 献

- 1) 廣瀬金之助：邦人眼瞼ノ形態学的知見補遺。マイボーム氏腺ニ就イテ。九医専雑誌 5: 1-44, 1940.
- 2) 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.
- 3) Jester, J. V., Rife, L., Nii, D., Luttrull, J. K., Wilson, J. and Smith, R. E.: In vivo bi-microscopy and photography of Meibomian glands in a rabbit model of Meibomian gland dysfunction. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 22: 660-667, 1982.
- 4) Karp, L. A., Streeten, B. W. and Cogan, D. G.: Radiation-induced atrophy of the Meibomian glands. Arch. Ophthalmol. 97: 303-305, 1979.
- 5) 向野利彦, 大西克尚, 廣中博見：実験的 PCB 中毒サルの眼症状と瞼板腺圧迫排出物中の PCB 濃度の推移。吉村英敏編, サルの PCB 中毒症に関する研究 (第 2 報)。福岡医誌 72: 173-177, 1981.
- 6) 向野利彦, 大西克尚, 石橋達朗, 菊池昌弘：実験的 PCB 中毒サルおよび油症患者剖検例における瞼板腺 (マイボーム腺) の病理組織学的研究。吉原新一編, サルの PCB 中毒症に関する予備的研究。福岡医誌 70: 152-161, 1979.
- 7) 大西克尚, 生井 浩, 栗本晋二, 川島謙一郎：油症患者の眼症状 (第 3 報)。福岡医誌 66: 640-641, 1975.
- 8) Ohnishi, Y. and Kohno, T.: Polychlorinated biphenyls poisoning in monkey eye. Invest. Ophthalmol. & Vis. Sci. 18: 981-984, 1979.
- 9) 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, 1978.
- 10) Straatsma, B. R.: Cystic degeneration of the Meibomian glands. Arch. Ophthalmol. 61: 918-927, 1959.

実験的 PCB 中毒サルにおける 歯肉上皮の微細構造について

九州大学歯学部歯科保存学第一教室（主任：青野正男教授）

橋 口 勇・赤 峰 昭 文

中 野 嗣 久・青 野 正 男

九州歯科大学口腔病理学教室（主任：上野正康教授）

福 山 宏

Ultrastructural Changes in the Gingival Epithelium on the Experimental PCB Poisoning in the Crab Eating Monkeys

Isamu HASHIGUCHI, Akifumi AKAMINE

Tsuguhisa NAKANO, Masao AONO

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

Hiroshi FUKUYAMA

*Department of Oral Pathology, Kyushu Dental College
(Director: Prof. M. Ueno), Kitakyushu 803, Japan*

The PCB poisoned monkeys were made with diets containing KC-400 and PCDF. We administered cholestyramine to some of them in order to examine effects of the drug. Then we observed them clinically and performed the gingival biopsy periodically. Histopathologically, we examined the ultrastructural changes and the mechanism of the dyskeratosis and the keratocyst formation, which were observed mainly in their gingival epithelium and lamina propria. The results obtained were as follows:

1. We found little difference between the keratinizing organization in the dyskeratosis and that in the normal gingiva. But in the keratinocytes which were flattened in the dyskeratosis, various size of round bodies like vacuoles were observed. We considered that PCB might accelerate the turnover in the keratinocytes and make the dyskeratosis.
2. In the histochemical examination in the keratocyst, we found that the degenerated spinous cells contained more glycolipids than others did. Under the electron microscope, we observed a lot of round bodies like vacuoles there. These led to the supposition as follows: PCB is likely to cause the excessive accumulation of glucose or lipid. It is also suggested that the precursors of the two substance increased in amount, because they could not enter the normal metabolic map due to PCB.
3. Clinically, we observed the slight improvement in the monkeys with the administration of cholestyramine: increase in weight and decrease of gingival bleeding. Histopathologically, however, effects of the drug were not definitive.

はじめに

有機塩素系の化学製品のうち、ヒトに対する障害作用をもつ物質として注目されているのは農薬系の DDT, BHC などの他、工業製品の PCB などが挙げられる。1968 年に発生したいわゆる油症は、PCB 製品の 1 つである KC-400 の混入したラيسオイルを摂取したことによるものであるといわれている。さらにこの KC-400 の中には、PCB よりも毒性の強い PCDF も混入していることがその後の研究で明らかになってきた。油症の症状は広範にわたっているが主な症状は、座瘡様皮疹等の皮膚症状およびマイボーム腺の分泌過多と色素沈着等であり、口腔内所見としては、歯肉の色素沈着、歯牙萌出遅延、歯根形態異常が挙げられ、臨床像としては把握されてないが、実験的かつ組織学的には歯肉の過角化が認められる。油症が発生して約 15 年経過しており頭痛や皮疹などの症状は緩和のきざしが見られるが、あくまでも対症療法の結果であり、多くの研究者の多大なる努力にもかかわらず、油症の発症機序や治療法に関しては、未だ十分には解明されていない。前回までの実験で、サルに PCB を投与することで十分に油症モデルとなりうるということがわかつている¹⁴⁾。そこで今回は、惹起される歯肉の異常について細胞レベルでの病理組織学的検索を行うとともに、PCB の腸管吸収を抑制する作用を持つコレステラミンの治療薬剤としての効果についても検討を加えた。

材料と方法

実験動物としては、歯列や歯式に異常のないオスのカニクイザル（平均体重 2.9 kg）12 匹を用い、KC-400+PCDF+コレステラミン群、KC-400+PCDF 群、対照群の 3 群に分けて観察した。観察は月に 1 回として、実験開始前に可及的に歯垢、歯石の除去を行い、臨床的には口腔診査、口腔内写真撮影を行った。組織学的には上顎前歯部から菱形に歯肉を採取した後、2 つに分割し、1 つは 10%ホルマリン固定後通法に従い、アルコール脱水、パラフィン包埋を行い、H. E. 及び PAS 染色を施した。1 つは 2%グルタルアルデヒドと 1%オスミウム酸による 2 重固定後通法に従い、エポン 812 に包埋後トルイジンブルー染色による光顕観察を行った。続いてクエン酸鉛と酢酸ウランの 2 重染色を施し、H-500 型電子顕微鏡で観察を行った。さらに試料の一部は凍結切片を作成し、ズダンⅢとズダンブラック B による染色を施した。

実験結果

臨床的所見

全身症状としては、PCB を投与することにより体重の減少、頭部及び腹部の脱毛、及び血中 PCB 濃度の上昇がみられる。全身衰弱がひどくなると死の転帰をたどり、死亡する前には血中 PCB 濃度も極端に上昇する。コレステラミン投与群では、PCB 投与を中止すると体重の増加がみられ、特に No. 83 のサルで著しいが、コレステラミン処理を行っていない群では、No. 84 のサルのようにほとんど体重の増加はみられなかったものもある。口腔内所見としては、歯面に歯垢や歯石の沈着が見られ歯肉炎や歯周炎の症状を呈しており、特に歯間乳頭部の炎症症状が著しく歯肉出血もみられた。コレステラミン投与群とコレステラミン非投与群では、非投与群の方が出血状態が長く続いていた。pocket depth 測定や X 線による検索ではいずれの群でも著明な差異は認められず、また歯牙の異常や色素沈着もみられなかった。

組織学的所見

1) 対照群

外縁上皮は基底膜からその上方に向かつて、基底層、有棘層、著明ではないが顆粒層および角質層の 4 層に識別でき、また顆粒層から角質層への移行はスムーズで角質層には核の残存しているものもみられ錯角化を呈している。角化細胞の他に clear cell もみられ、炎症性細胞としてはリンパ球及び多形核白血球が認められるがその数は多くない。試料によっては上皮脚の伸長や網眼形成を呈している所見が認められていた。固有層にはリンパ球や形質細胞を主とした軽度の慢性炎症がみられ、特に内縁上皮側で著しかった。

2) PCB 投与群

角化の程度は試料によつて異なっているが錯角化が多くみられる。PCB を投与することにより最初に変化がみられるのは、主として上皮脚の先端部である。まず上皮脚先端部に foamy cell が観察されたが、周囲固有層には著明な炎症所見はみられなかった。電顕で観察すると、基底板の一部は消失し、上皮内にはマクロファージ様細胞と多形核白血球が存在していた。周囲の棘細胞の一部には核が萎縮したり、電子密度が高くなっているのが認められ、デスモゾームの数も減少していた（図 1）。また棘細胞がラセン状に巻いて配列している所見もみられた。この部では核および細胞質ともに大きくなつており、さらに細胞間隙も広くなり、上皮脚の途中が膨化していた（図 2）。

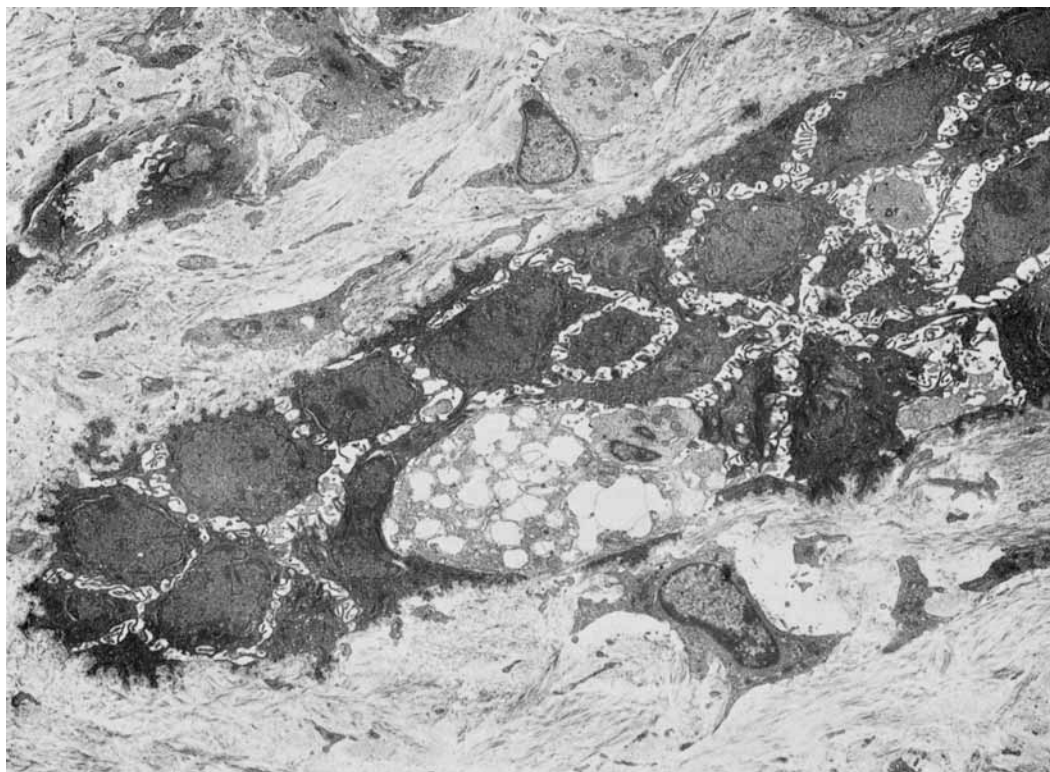


図 1. 上皮脚先端部の foamy cell. (×4,800)

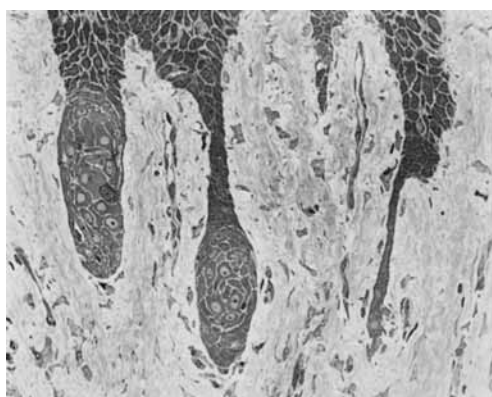


図 2. 上皮脚先端部での棘細胞のラセン状構造.
(×260)

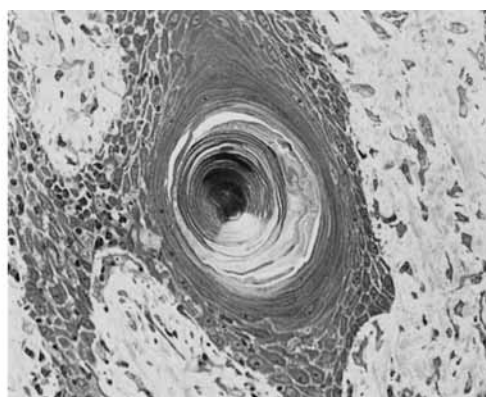


図 3. 上皮脚部の dyskeratosis. (×260)

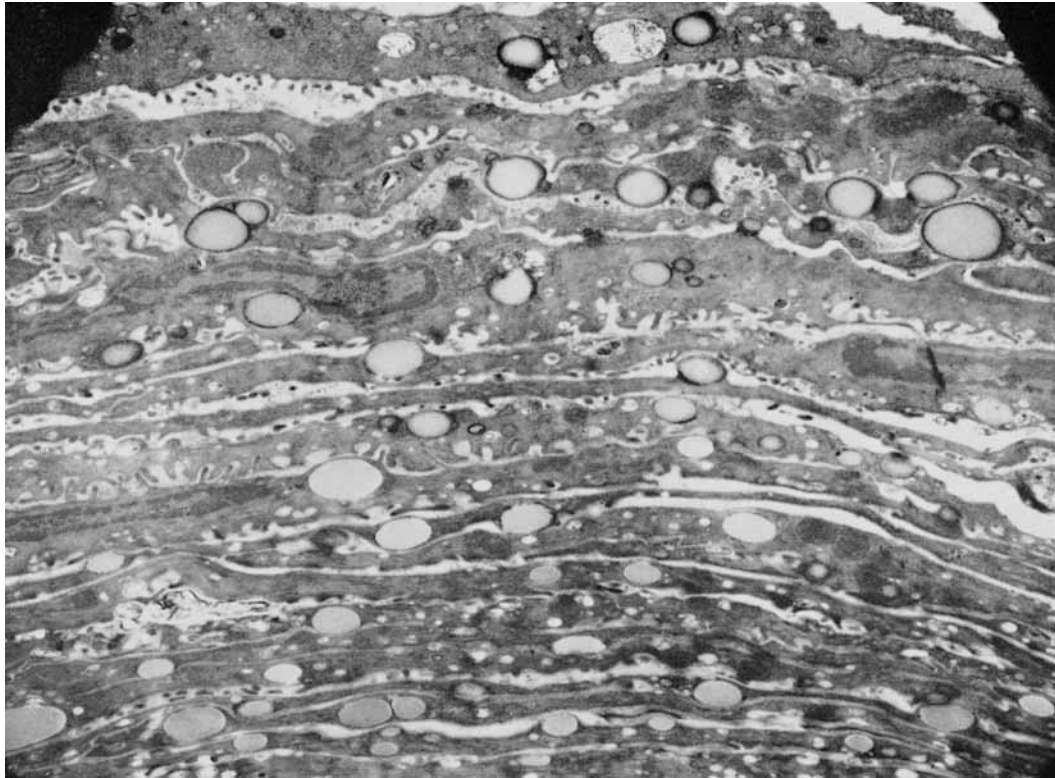


図 4. 扁平化した角化細胞内の空胞様円形構造物. ($\times 10,300$)



図 5. 固有層の囊胞様構造物. ($\times 56$)

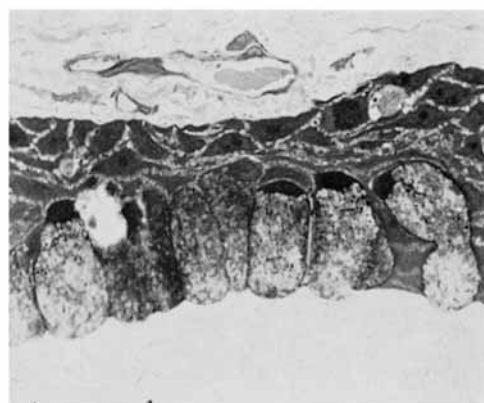


図 6. 変性した棘細胞. ($\times 700$)

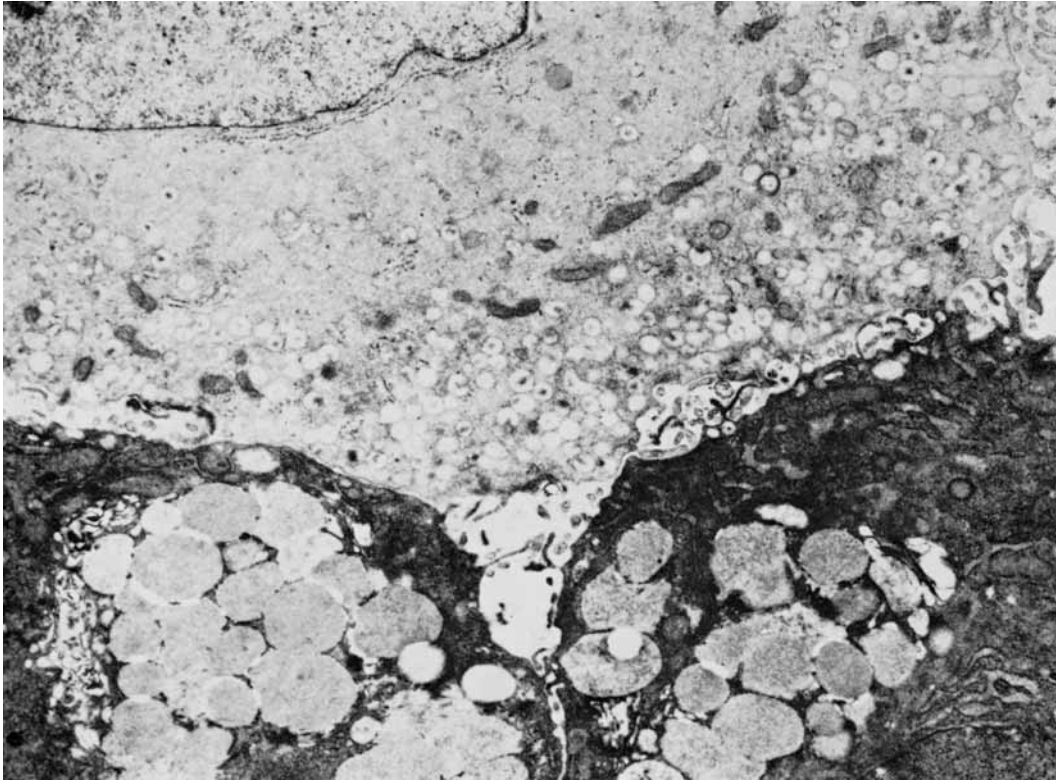


図 8. 棘細胞での多数の pinocytic vesicle 様構造物. ($\times 11,600$)

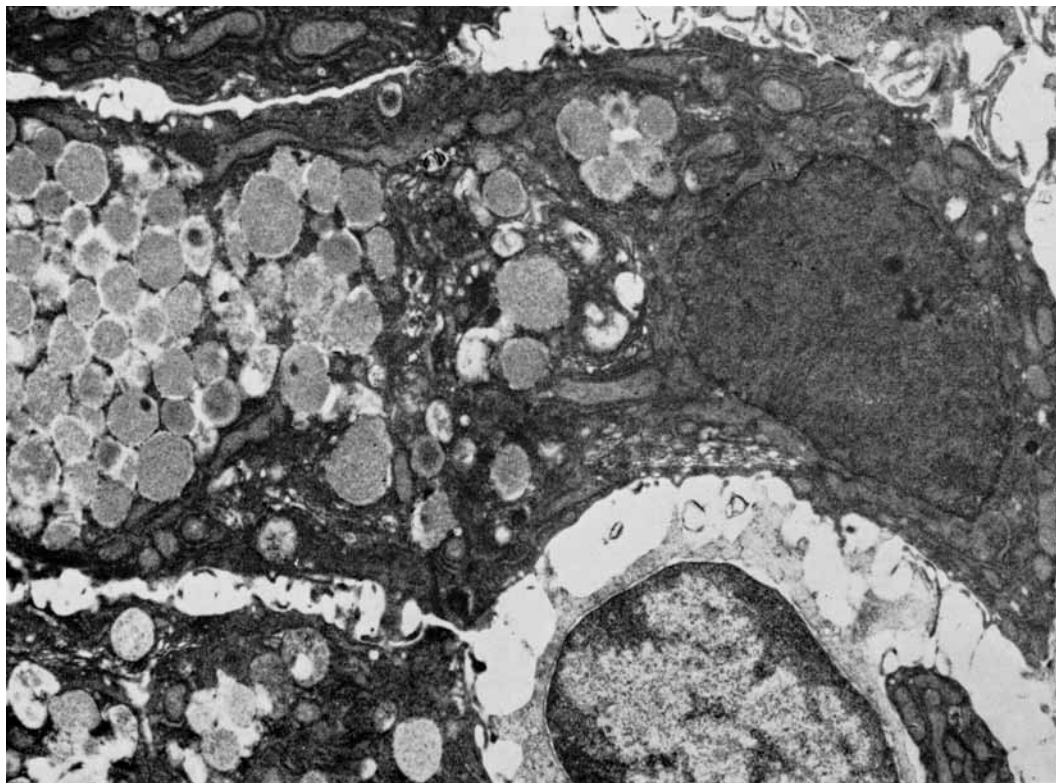


図 9 内腔側に面した細胞の変性像. ($\times 9,500$)

空胞様構造物が多く認められるようになった。それらの一部では空胞様構造物が互いに癒合しているようにみえるところもあつた(図9)。細胞質は大きくなり細胞間隙も狭くデスモゾームの数も減少していた。内腔に面した細胞では核は消失し、細胞全体に空胞様構造物が充満していた。内腔には少数のリンパ球やマクロファージ様細胞が認められ、ときには多核巨細胞も出現していた。

福山ら¹⁶⁾の分類に従い、以上の変化に grade を付けると、表1のようになる。コレステラミン投与群とコレステラミン非投与群両方とも著明な差異は認められず、PCB 投与によつて歯肉に角化の位置異常や嚢胞様構造物が出現することが再確認されるにとどまった。

考 察

上皮の角化は以前は変性過程と考えられたこともあるが、現在では胚芽層での active な分裂、新生からケラチン線維またはケラチン蛋白合成を行い剝離脱落までの上皮細胞の正常な分化とみなされており、保護上皮としての機能に多大に役立つものとされている。ヒト口腔粘膜上皮は口腔内の部位によつて角化することが知られており、通常、歯肉、硬口蓋、舌背の粘膜は角化しているが、頬粘膜や口底、軟口蓋の粘膜は角化していない¹⁰⁾。しかし口腔粘膜は種々の病変の時に角化が亢進する。白斑症、乳頭腫、扁平苔癬、扁平上皮癌などがその例として挙げられる。しかしながら、今回 PCB によつてひきおこされた角化の位置異常や嚢胞様構造物は、以上の病変では肉眼的及び組織学的にはほとんどみられず、わずかに扁平上皮癌に現われる癌真珠と構造物に類似している。扁平上皮癌での dyskeratosis と比較してみると、PCB での dyskeratosis 部の細胞は核の異型や分裂の異常ならびに結合織への浸潤増殖はみられない。単に角化の turn over が速くなっただけであろう。油症患者の剖検例でも今までに PCB による癌の発生は報告されていない。したがって癌と PCB による dyskeratosis は異質のものと思われる。有機塩素系の製品を造る工場内で古くから知られていたいわゆる塩素皮疹や油症患者の瘡瘡様皮疹は、皮脂腺に PCB 排泄がおこつた結果、局所に脂質代謝異常が生じて角化異常を引きおこす¹¹⁾といわれている。またマイボーム腺でも同様に考えられている。しかし歯間乳頭部歯肉には皮脂腺やその他の腺組織はほとんど存在しておらず、皮膚や眼瞼と同様に考えることは困難である。角化の過程内に

PCB あるいは PCB の代謝産物が影響を与えたのではないかと推測される。歯肉の角化における分化の程度は常に角質層を持つ表皮とは異なり大部分が錯角化を示しているが、その角化機構は表皮のそれに類似していると思われる⁹⁾。すなわち基底層で分裂し有棘層に向かうにつれてトノフィラメントや小器官が整備される。顆粒層ではトノフィラメントが増加し、さらに membrane coating granule やケラトヒアリン顆粒が産出されるが、核や小器官などの基本構造は消失し始める。角質層では小器官はほとんど痕跡的にみられるのみでケラチンフィラメントがますます緻密に集合し、なかにはケラチンパターンを呈するものもでてくる。このような上皮分化の Key-structure となるのがトノフィラメントであり、角化の程度が強いものほどトノフィラメントの量が多い。これに関する情報は角化細胞のおかれた環境に応じて DNA を介し厳密に伝わり、その結果として角化の方向性や恒常性が保たれているとされている。例えば、Fuchs と Green²³⁾が上皮のケラチン蛋白を各層ごとに計測した研究では、内層のケラチン蛋白分子量は小さく外層では大きいことが分かつており、彼らはそれぞれ異なつた m-RNA よりつくられた結果であると述べている。また角化には上皮下の間葉系組織の影響が大きく関与しているといわれている。例えば歯肉上皮は炎症が存在しなければ完全角化するといわれており⁹⁾、さらに上皮組織と結合織を違えた recombinant graft でも結合織側の角化様式を示すことが報告されている⁴⁾。Wessels¹²⁾はこれらのことから角化細胞は周囲の環境に応じて細胞の中にセットされた gene の中から一つを選択すると述べている。今回、PCB によつて生じた dyskeratosis の原因の一つには角化細胞が通常の gene と違う gene を選択したことにより、角化に関する情報が変わり、異なつた m-RNA を産出したことによるものではないかと考えられる。dyskeratosis が乳頭側に少なく上皮脚部に多いことは、それらの部の基底細胞の差に帰するものと思われる。Löe⁷⁾らによれば、細胞分裂は上皮脚部の基底細胞と比較してより多く乳頭部基底細胞にみられるという。換言すれば、乳頭部の基底細胞は分裂後、つまりすでに分化の途中にあり容易にそのプロセスを変化させないのに対して、上皮脚部の基底細胞は precursor cell であり multipotency を持ち PCB による環境条件下で特異な分化の方向を取りやすいと思われる。dyskeratosis の原因としては他に PCB または代謝産物が直接、角化細胞に作用したことも考えられる。PCB の大きさ

は約 $10 \times 10 \text{ \AA}$ と小さく基板や細胞膜を容易に通過しうるし、角化細胞そのものも active な貪食作用を持つことがわかっている¹³⁾、PCB が角化細胞の内部の脂質顆粒に取り込まれた結果、細胞の脂質代謝に異常を起こしたのかもしれない。角化細胞での脂質合成や代謝は、細胞膜や小器官膜の骨格構造物を産出するために不可欠なことであり、とりわけコレステロールは細胞膜構造を補強することが知られている。実際、油症患者の皮疹面皰から得た脂質を調べた実験ではコレステロールの量が多くなっており⁹⁾、そのために角化異常 *dyskeratosis* が生じた可能性が考えられる。固有層内変化として著明な変化は嚢胞様構造物である。歯肉嚢胞の起源としては種々挙げられるが、今回の嚢胞様構造物は歯肉上皮由来と思われる。嚢胞様構造物が上皮と連続している時にできるのか、それとも上皮が固有層に落ちこんでできるのかについては、断定しうる所見は今回得られなかった。しかし上皮内に生じた例は今回1例だけで残りは連続切片においても上皮との間につながりはみられないことから、一旦、上皮が落ち込んでから嚢胞様変化を呈したものであると思われる。嚢胞様構造物を電顕で観察すると、基板はほとんど正常であるが、内腔側に向かうにつれて細胞が大きくなるとともに核や小器官が消失し、代わって空胞様構造物が多数観察される。この構造物は最終的には細胞全体にわたってみられ、明らかに変性像を示すようになる。この内容物を組織化学的に検索すると、糖と脂質の存在が証明された。Iatropoulos⁵⁾によれば PCB を投与することで血管内皮細胞に障害が起これ、その結果 *hypoxia* が生じるという。事実、今回の実験でも赤血球の血管外遊走がみられたり、上皮組織に *hypoxia* によると思われる変化が認められている。実験的に歯肉組織を *hypoxia* にすると中性脂質の合成や *glucose-6 phosphate dehydrogenase* 活性が高まることが知られている⁹⁾。これはグルコースが TCA サイクルの方向に進んでエネルギー源である ATP 産生よりもむしろ脂質合成に必要な NADPH_2 や *ribose-5-phosphate* 生成の経路に入っていることを示している。このようにしてできた脂質や糖類の前駆体が PCB によって引きおこされたなんらかの障害によつて正常な代謝系に入ることができずに前駆体または中間構造体のまま存在したために、中心部の細胞が変性に陥り、その結果として嚢胞状を呈しているものと思われる。以上 *dyskeratosis* と嚢胞様構造物の発生に関する見解を述べたが、何故2つの違った異常を起こすのか、また同一試料で

も異常の見られる部位と見られない部位があるのは何故かということについては、PCB の量によるものか、あるいは PCB を投与した時の細胞レベルの違いによるものか、それとも他の原因が挙げられるのかは推察の域を出ない。今後は、PCB の歯肉組織への侵入経路を明らかにするとともに、電顕レベルでの組織化学的検索を行う予定である。なおコレステラミンの効果については、投与群での全身所見では体重の増加や脱毛の回復がみられ、口腔内所見としては歯肉出血の改善が観察された。このように臨床的には治療効果が認められるが組織学的検索では非投与群と比較して顕著な差は認められなかった。

小 括

カナクイザルに KC-400+PCDF を投与して PCB 中毒を発症させ、コレステラミンを一定期間投与し、所定の時期に臨床観察および上顎歯肉部生検を行った。病理組織学的には主として歯肉上皮や固有層に多数観察される *dyskeratosis* (角化の位置異常) や *keratocyst* (嚢胞様構造物) の微細構造的変化や形成機序について検討した。

1) *dyskeratosis* は電顕観察では通常の角化機構とほとんど差異は認められなかった。しかしながら扁平化した角化細胞内に大小の空胞様円形構造物が多数存在していた。*dyskeratosis* は PCB の影響で角化細胞の *turn over* が速くなったために形成されたのではないかと考えられた。

2) 組織化学的検索により、*keratocyst* 部の変性した棘細胞により糖脂質の存在が推定された。さらに電顕観察では変性した棘細胞内に多数の空胞様構造物が観察されたことにより、PCB の影響で糖や脂質が過剰に蓄積されたり、あるいは糖や脂質が正常な代謝系に入ることができずに前駆体のまま存続している可能性が示唆された。

3) コレステラミンの効果については、臨床的には体重の増加や歯肉出血の改善などがみられたが、組織学的にはコレステラミン非投与群と比較しても顕著な差は認められなかった。

今後は *dyskeratosis* や *keratocyst* に出現する空胞様構造物内の物質を、電顕組織学的検索やX線微量元素分析などの方法で明確にしたい。

文 献

1) Demetriou, N. A., Ramfjord, S. P., and Ash, N. M. Jr.: Keratinization related to pre-

mitotic labeling and inflammation of gingiva and alveolar mucosa in rhesus monkeys. *J. Periodont.* 42: 338-340, 1971.

2) Fuchs, E. and Green, H.: Multiple keratins of cultured human epidermal cells are translated from different mRNA molecules. *Cell.*, 17: 573-582, 1979.

3) Fuchs, E. and Green, H.: Changes in keratin gene expression during terminal differentiation of the keratinocyte. *Cell.*, 19: 1033-1042, 1980.

4) Heaney, T. G. and Jones, R. S.: Histological investigation of the influence of adult porcine alveolar mucosal connective tissues on epithelial differentiation. *Archs. oral Biol.*, 23: 713-717, 1978.

5) Iatropoulos, M. J., Felt, G. R., Adams, H. P., Korte, F. and Coulston, F.: Chronic toxicity of 2,5,4'-trichlorobiphenyl in young rhesus monkeys. II. Histopathology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 41: 629-638, 1977.

6) Itoiz, M. E., Litwack, D., Kennedy, J. E. and Zander, H. A.: Experimental ischemia in monkeys. III. Histochemical analysis of gingival epithelium. *J. Dent. Res.*, 48: 895-900, 1969.

7) Loe, H., Karring, T. and Hara, K.: The site of mitotic activity in rat and human oral epithelium. *Scand. J. Dent. Res.*, 80: 111-119, 1972.

8) 永井諄爾, 古川ミチヨ, 八戸義明, 池田宣久: 油症患者の臨床生化学検査, とくに血清脂質について. *福岡医誌* 60: 475-483, 1969.

9) 二階宏昌: 人口腔粘膜上皮の微細構造に関する研究, 第3編 上皮細胞の角化に伴う微細構造の変化について. *口科誌* 14: 310-318, 1965.

10) 尾持昌次訳: Orban の口腔組織. 発生学, 9版, 医歯薬出版, 東京, 247-316, 1982.

11) 田中 潔: PCB と複合汚染の医学. 九州大学出版会, 福岡, 1976.

12) Wessels, N. K.: Some thoughts on embryonic inductions in relation to determination. *J. Invest. Derm.*, 55: 221-225, 1970.

13) Wolff, K. and Hönigsmann, H.: Permeability of the epidermis and the phagocytic activity of keratinocytes. Ultrastructural studies with thorotrast as a marker. *J. Ultrastruct. Res.*, 36: 176-190, 1971.

14) 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(4): 135-171, 1979.

15) 吉村英敏, ほか: サルの PCB 中毒症に関する研究 (第2報). *福岡医誌* 72(4): 155-184, 1981.

台湾 PCB 中毒患者血液およびその原因

油中の PCBs, PCQs および PCDFs 解析

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

東京大学医学部衛生学教室

大 井 玄

国立台湾大学医学部生化学教室

董 大 成

Study on PCBs, PCQs and PCDFs in the Blood of Taiwanese Patients with PCB Poisoning and in the Causal Cooking Rice Bran Oil

Takashi KASHIMOTO, Hideaki MIYATA,
Shigehiko FUKUSHIMA and Nobuharu KUNITA

*Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69,
Nakamichi, Higashinari-Ku, Osaka 537, Japan*

Gen OHI

*Department of Hygiene and Preventive Medicine, Faculty of Medicine,
University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-Ku, Tokyo 113, Japan*

Ta-Cheng TUNG

*Department of Medicine, National Taiwan University, 1
Jen-Ai Road, Taipei, Taiwan*

In the spring of 1979, Yusho-like PCB poisoning by consumption of a contaminated cooking rice bran oil occurred in the central part of Taiwan, the Republic of China and affected about 1,700 people.

In this study, the causal rice bran oil and the blood of the patients were analysed for PCBs, PCQs and PCDFs. The results are as follows:

(1) All 3 samples of the causal oil examined were heavily contaminated with PCBs, PCQs and PCDFs at levels of 44 ± 12 , 17 ± 6 and 0.14 ± 0.03 ppm, respectively. Compared to the samples of Yusho causal oil, Taiwanese ones had not only roughly ten times less contamination by PCBs, PCQs and PCDFs but also 3-4 times lower ratios of PCQs or PCDFs to PCBs concentration. PCBs, PCQs and PCDFs present were all composed of similar congeners to their respective ones found in the Yusho oil, though there observed somewhat variations of component ratio of PCBs and PCDFs.

(2) A half year after the termination of ingestion of the causal oil, all patients had high blood levels of PCBs, PCQs and PCDFs such as 39 ± 17 , 8.6 ± 4.8 and 0.076 ± 0.038 ppb, respectively.

(3) There were significantly positive correlations among the levels of PCBs, PCQs and PCDFs in the blood of the patients.

(4) There was significantly positive correlations between the degree of severity of the dermal lesions of the patients and their blood level of PCBs or PCDFs.

(5) The composition of PCBs, PCQs or PCDFs retained the blood of the patients was quite different from the comparable one taken by them, and was similar to the comparable one retained in the liver of a Yusho patient who had died, one year after Yusho outbreak. It is noteworthy that the residual PCDFs contained as the major highly toxic 2,3,7,8-tetra- and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran isomers.

(6) There was a sex difference at the composition of PCB isomers retained in the blood of patients, indicating males to have stronger capacity to metabolize PCBs than do females.

(7) In both cases of male and female patients, a difference at the composition of blood PCBs were observed between with and without dermal lesions. In groups with dermal signs, however, the composition of blood PCBs was similar among them, regardless of the degree of severity of their dermal sign. A half year after the termination of ingestion of the causal oil, individual with the skin lesions showed so-called "type A" gas chromatographic pattern of the blood PCBs, while in the case of ones without the lesions, it took one and a half years for them to show the PCB pattern.

(8) In the period of within a month to a half year after the termination of oil consumption, a decrease rate of the blood level of PCQs or PCDFs was greater than that of PCBs. The difference was deduced to be attributed to a difference at the behavior of these chemicals in the living body, from the analytical result of them.

(9) In the period of 6 to 8 months year, the decreases rates of the blood levels of PCBs, PCQs and PCDFs were 52, 61 and 46 %, respectively.

(10) There observed a tendency to be a negative correlation between the degree of dermatological severity and the blood level of PCBs, PCQs or PCDFs during the period of within a month to a half year after the termination of oil ingestion but to be a positive correlation for additional one year following the period.

1979年の春、台湾中部において、脱臭工程で、熱媒体として使用されていた PCB 製品が漏出混入した食用米ぬか油の摂取により、約1,700名の人々が被害を被る、わが国の油症と同規模の中毒事件が発生した¹⁸⁾。

臨床症状は油症と極めて類似しており、顔面、体軀、四肢における塩素痤瘡および色素沈着、粘膜における色素沈着、爪の変形、チーズ様眼脂、異常発汗、皮膚の乾燥、神経症状などが観察されている¹⁹⁾²⁰⁾。

今回、その原因油および原因油摂取者の血液を入手し、日台両国原因油中に含まれる汚染物質の濃度、組成の比較および摂取者血中汚染物質の解析を行い、日本の油症発生当時の実態を推測する上で貴重な知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試薬

前報¹⁹⁾の通りである。ただし、2,3,6,8-tetra-, 2,3,7,8-tetra-, 1,2,4,7,8-penta- および 2,3,4,7,

8-petachlorodibenzofuran は第一薬科大学増田教授より譲渡されたものである。

2. 試料

(1) 原因油：製造日および製造ロット不明の3検体
(2) 原因油摂取者血液：台中県私立恵明盲学校の生徒および教師113名について、1979年11月下旬（原因油摂取終了1カ月以内）および1980年6月（原因油摂取終了後約0.5年）および1981年7月（原因油摂取終了後約1.5年）に採取されたものである。これらの摂取者においては前述した種々の臨床症状が、1979年5月から6月にかけて発現しはじめていた。その年令および皮膚症状程度別の分布を Fig. 1 および 2 に示す。被検者113名中男性が67人（59%）、女性47人（41%）で、大半が生徒であり、20才以下の者が80%を占める。皮膚症状別には、軽度（I + II）の者が圧倒的に多く（50%）、ついて重症（IV）、中症（III）および無症（None）の順に少なくなる。ただし、皮膚症状の程度分類は、五島、樋口の方法⁷⁾に従った。

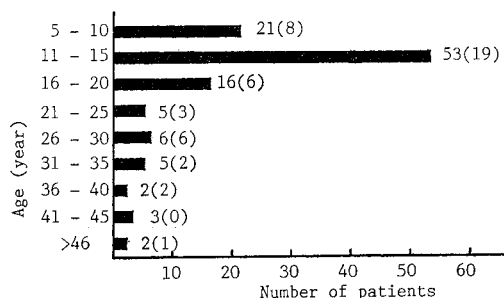


Fig. 1. Distribution of 113 patients in age. Figure in parentheses shows the number of female patients.

3. 分析方法

前報¹³⁾ 同様 に, 試料をアルカリ分解後, n-ヘキサンで抽出しフロリジルカラムクロマトで PCBs, PCQs および PCDFs 画分に分離した。PCBs については, GC で OV-1 および Apiezon L カラムによつて定量, 成分解析を行った。PCQs は 5 塩化アンチモンにて完全塩素化したのち, アルミナカラム精製を行い, GC にて定量, また, GC-MS にて解析を行った。PCDFs 画分は, アルミナカラムにより微量極性物質を除去, 精製し, 同様に, GC および GC-MS 解析を行った。

結果および考察

1 原因油中の PCBs, PCQs および PCDFs

Table 1 に示すように, 検査した台湾の原因油 3 検体総てが, PCBs, PCQs および PCDFs に汚染され

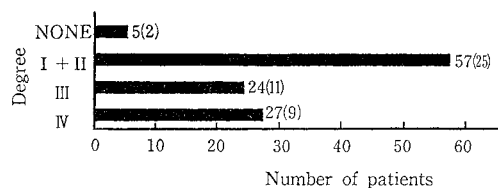


Fig. 2. Distribution of 113 patients in degree of dermatological signs

ていた。しかし, 日本の原因油に比較すると, 汚染程度は各化合物ともに 1 オーダー低く, PCBs に対する PCQs および PCDFs の相対濃度も約 1/4 および 1/3 にすぎない。油症原因油の場合, 熱媒体の PCB 製品漏出開始 1 週間後に製造された米ぬか油 (1968 年 2 月 10 日製造日の製品) において高塩素化 PCBs および PCDFs の相対含有比が最も大きいなど, 油の製造日により, PCBs および PCDFs 組成の相違が認められている⁷⁾。それに反して, 台湾原因油の場合は, 分析した全試料中に含まれている PCBs, PCDFs の組成は極めて類似していた。従つて油中に残留する PCBs および PCDFs の組成は脱臭条件により, 左右されること¹⁹⁾ を考慮すると, 台湾の場合, PCB 製品漏出混入期間中, 一定の脱臭条件であつたことが推察される。Fig. 3 および Table 2 に示すように, 台湾原因油の PCBs は, 1968 年 2 月 5 日製造日の油症原因油 (PCB 製品漏出開始後の初製品) に比べて, Peak No. 16 成分以降の 5 塩化物以上の高塩素化 PCBs の含有量が相対的に多く, 2 月 10 日製造日のそれに類似している。

Table 1. The concentrations (Mean±S.D.) of PCBs, PCQs and PCDFs in Taiwanese and Japanese causal oils

Sample	No.	PCBs (ppm)	PCQs (ppm)	PCDFs (ppm)	PCBs : PCQs : PCDFs
Taiwanese causal oil	3	44±12 (51— 69)	20± 12 (9— 38)	0.14±0.04 (0.10—0.18)	100 : 39 : 0.32
Japanese causal oil	3	430±391 (151—968)	630±167 (490—800)	3.85±2.51 (1.90—7.40)	100 : 147 : 0.90

Table 2. Component ratio (%) of PCBs in Taiwanese and Japanese causal oils

Sample	Production date	No.	Number of chlorine					
			3	4	5	6	7	8
Taiwanese causal oil		3	1.8±0.2	32.2±1.6	37.2±2.1	18.3±0.7	9.7±0.4	0.7±0.4
Japanese causal oil	Feb. 5th, 1968	1	7.6	45.2	31.7	11.6	4.0	0.0
	Feb. 9th, 1968	1	5.6	37.8	34.0	15.0	7.7	0.0
	Feb. 10th, 1968	1	3.1	32.7	37.6	16.7	8.0	0.8

両国の原因油中に含まれる PCDFs は、いずれも多くは異性体を含む 3～6 塩化ダイベンゾフランから構成されている (Fig. 4). しかし、組成的には PCBs の場合と同様なことが観察され、台湾原因油は油症原因油に比べて相対的に 5 および 6 塩化物を多量に含んでいた。注目されることは、いずれの原因油においても、主要構成成分として、2,3,7,8-tetra- および 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran が多量に含まれていることである。この両異性体は極めて毒性が強く (モルモットや赤毛ザルに対する single oral LD_{50} はそれぞれ $<10 \mu\text{g/kg}$ および $<1,000 \mu\text{g/kg}$)²¹⁾、油症発症に大きく関与したことが推測される。

一方、Fig. 5 に示すように、両国原因油中に含まれる PCQs のガスクロマトグラムは類似している。また、5 塩化アンチモンによる完全塩素化反応物 [第 1, 第 2 および第 3 ピークはそれぞれ octadecachlorinated *o,o'*-quaterphenyl, octadecachlorinated *o,m'*-quaterphenyl と *o,p'*-quaterphenyl の混合物 (推測) および octadecachlorinated *m,m'*-quaterphenyl, *m,p'*-quaterphenyl および *p,p'*-quaterphenyl の混合物 (推測)] のパターンも極めて類似している。このことは両国の PCQs は同様な基本骨格組成比を有していることを意味している。また、4～10 塩化 PCQ をモニターしたマスクロマトグラムにおいても両国の PCQs は近似していた。その代表例として Fig. 6 に台湾原因油中 PCQs のマスクロマトグラムを示す。各同族体は、いずれも多くは異性体 (理論的に同族体および異性体総数は 10 万種以上が考えられる) を含むために、分離不完全なブロードなピーク群を示すが、この図から明らかなように、6～8 塩化物が主要な構成成分である。従つて、両国原因油中の PCQs はほとんど同一の組成で構成されていることが証明できた。

以上の分析結果から、両国の原因油は、若干異性体構成比に差異は認められるが、同一の異性体から構成される PCBs, PCQs および PCDFs を含んでいた。

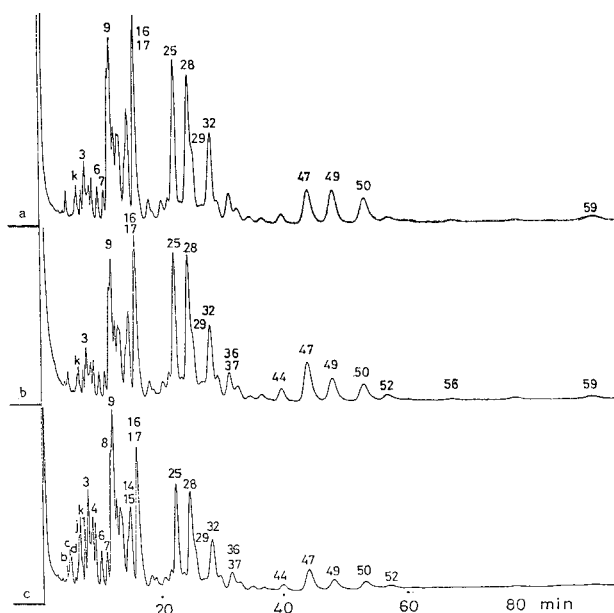


Fig. 3. Gas chromatograms of PCBs in samples of Taiwanese and Japanese causal oil (240°C, 5 m×2.6 mm glass column containing 2% Apiezon L on Gaschrom Q 100-120 mesh, carrier gas nitrogen, 40 ml/min). a, PCBs from a sample of Taiwanese causal oil; b and c, PCBs from samples of Yusho causal oil manufactured on February 9 and 5, 1968, respectively.

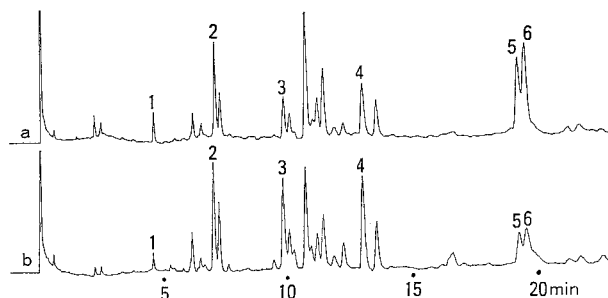


Fig. 4. Gas chromatograms of PCDFs in samples of Taiwanese and Japanese causal oil (225°C, 25 m×0.28 mm OV-17 capillary column, carrier gas nitrogen, 1 ml/min). a, PCDFs from a sample of Taiwanese causal oil; b, PCDFs from a sample of Yusho causal oil manufactured on February 5, 1968. Peak No. 1, 2, 3, 4, 5 and 6: 2,3,6,8-tetra-, 2,3,7,8-tetra-, 1,2,4,7,8-penta-, 2,3,4,7,8-penta-, 1,2,3,4,7,8-hexa- and 1,2,3,4,6,8-hexachlorodibenzofuran, respectively.

2 台湾原因油摂取者血中の PCBs, PCQs および PCDFs

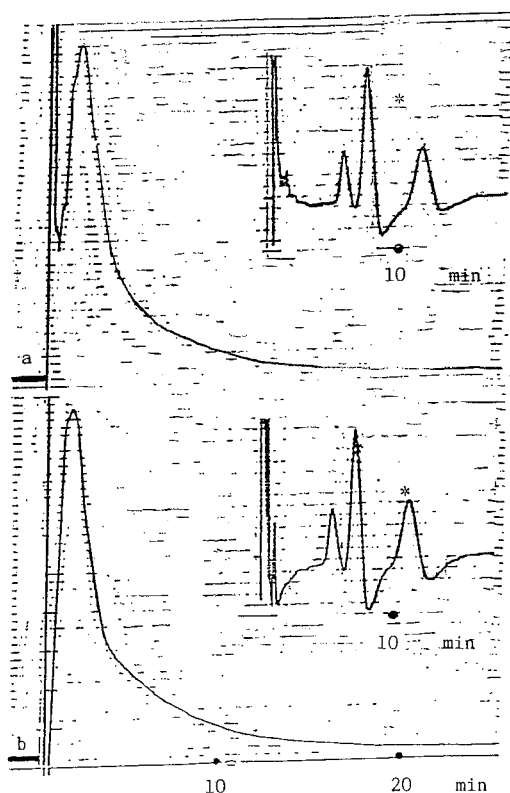


Fig. 5. Gas chromatograms of PCQs in samples of Taiwanese and Japanese causal oil (275°C for native PCQs and 290°C for perchlorinated ones, 0.5 m×2.6 mm glass column containing 2% SE-52 on Gaschrom Q 100-120 mesh, carrier gas nitrogen, 60 ml/min).

a, PCQs from a sample of Taiwanese causal oil; b, PCQs from a sample of Yusho causal oil manufactured February 5, 1968. *: Gas chromatograms of PCQs after perchlorination.

(1) 原因油摂取終了半年後の残留実態

原因油摂取終了半年後（発症1年後），被検者113名全員は，高濃度のPCBsに汚染されており，その平均血中濃度は39 ppb (Table 3)で，日本の健康者（平均2.0 ppb）および発症11年後の油症患者（平均6.0 ppb）¹³⁾¹⁵⁾のそれぞれ20および6.5倍に達している．今回の分析値は，1979年12月から1980年5月にかけて台北退役軍人病院を訪れた143人の原因油摂取者血中PCBs濃度（平均39 ppb）⁴⁾と同一であった．Fig. 7に示すように，同程度の皮膚症状を示す患者において，血中PCBs濃度はかなり広範囲に分

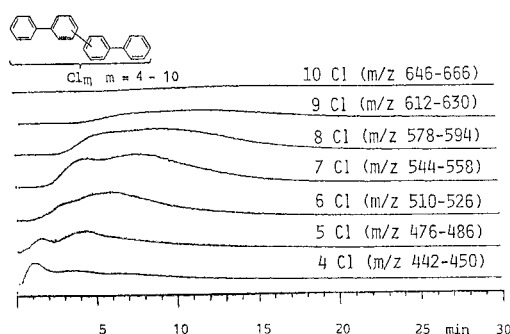


Fig. 6. GC-MS chromatograms of PCQs in a sample of Taiwanese causal oil (230-270°C (4°C/min), 0.5 m×2.6 mm glass column containing 2% SE-30 on Gaschrom Q 100-120 mesh, carrier gas helium, 40 ml/min; ionizing vol., 70 eV; acc. vol., 3 kV)

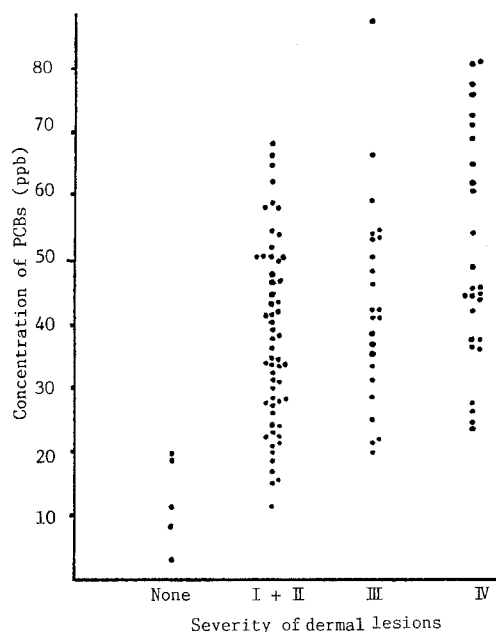


Fig. 7. The concentration of PCBs in the blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil

布している．例えば grade (I + II) 群においては，11.0～65.8 ppb の濃度範囲を示す．

一方，被検者67名全員の血液から高濃度のPCQs (8.6±4.8 ppb) が検出され (Table 3)，発症11年後の油症患者の値 (2.0±2.0 ppb) の4.3倍に相当する．この値は非摂取者の血中PCBs濃度 (<0.02

Table 3. Concentrations (ppb, Mean $\pm$ S.D.) of PCBs, PCQs and PCDFs in the blood of patients 6 months after the termination of oil consumption

Degree of dermatological severities	No.	PCBs level	PCQs level	PCDFs level
None*	5 (5)	12 $\pm$ 6	1.7 $\pm$ 1.1	0.024 $\pm$ 0.018
I + II	57 (24)	36 $\pm$ 14	7.9 $\pm$ 3.7	0.062 $\pm$ 0.024
III	24 (14)	41 $\pm$ 15	8.2 $\pm$ 3.5	0.079 $\pm$ 0.030
IV	27 (24)	50 $\pm$ 17	11.0 $\pm$ 5.2	0.100 $\pm$ 0.040
Total	113 (67)	39 $\pm$ 17	8.6 $\pm$ 4.8	0.076 $\pm$ 0.038

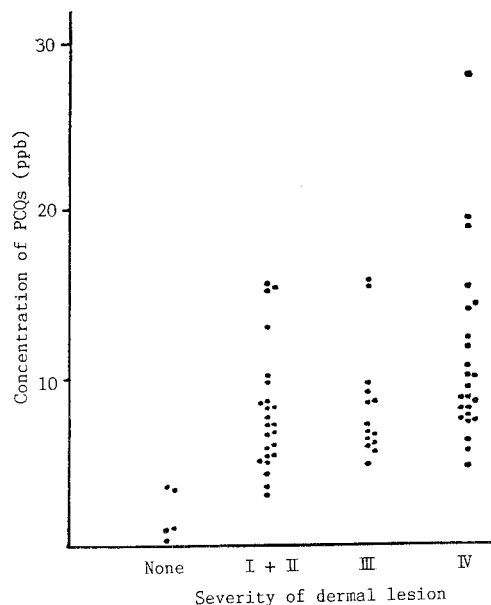
*: Case without any dermatological signs.

Figure in parentheses shows the number of the blood samples analysed for PCQs and PCDFs.

ppb)¹³⁾¹⁵⁾ の430倍以上であり、皮膚症状を認めない None 群においてさえ、血中 PCBs 濃度 (平均 12 ppb) は非摂取者 (2.0 ppb) のわずか6倍にすぎないが、PCQs 濃度 (平均 1.7 ppb) は85倍以上にも達している。これは、PCBs に比べて PCQs の background 値が100倍以下であることに帰因するものである。従つて、これらの事実を考慮すれば、血中 PCQs 濃度は原因油摂取の有力な判断資料になることは論をまたないであろう。PCBs の場合と同様に、同程度の皮膚症状を示す患者群において、血中 PCQs 濃度はまた大きなバラツキが認められる (Fig. 8)。

一般健康者および高濃度 PCBs 汚染を受けている職業的 PCBs 取扱者の血中には認められない (< 0.005 ppb) 強毒性の PCDFs が提供された原因油摂取者 67 名総ての血液から 0.076 $\pm$ 0.038 ppb の濃度で検出された (Table 3)。この汚染レベルは、PCBs および PCQs のそれに比べれば、約 1/500 および 1/100 と2オーダー以上低いものであつた。このことは、患者が摂取した原因油中に含まれている PCBs PCQs および PCDFs の濃度比 (435:139:1) に帰因するものである。著者らは発症11年後の油症患者血中の PCDFs の検出を試みたが、PCDFs の存在を確認することはできなかった¹⁷⁾。しかし、日台両国患者の総 PCDFs 摂取量 (それぞれ、3.4⁸⁾ および 3.8 mg¹⁸⁾) がほぼ同じであることを考慮すれば、原因油摂取終了後同時期の油症患者は台湾の患者と同レベルの PCDFs 汚染を受けていたものと推測される。

各症状群において、血中 PCBs, PCQs および PCDFs 濃度はいずれも広範囲な分布を示している (Fig. 7~9) が、Table 4 に示すように、皮膚症状の程度と血中 PCBs, PCQs および PCDFs はいずれも極めて有意な (P<0.001) 正の相関が認められたが、相関係数は血中 PCDFs 濃度との間において、

**Fig. 8.** The concentration of PCQs in the blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil

最も大きい値を示している。Fu は統計解析を行つていないが、今回とほぼ同時期に検査した117名の患者において、臨床症状、特に眼症状と血中 PCBs 濃度が密接に関係していたと報告している⁹⁾。いずれにしてもこの様な残留濃度と臨床症状との相関は、早淵ら⁸⁾ および Lan¹⁾ によつて報告されている。油症患者らや台湾の患者による汚染物質の総摂取量と臨床症状との有意な正の相関に帰因するものであると考えられる。

原因油摂取者血中に残留する PCBs はもとの原因油中のそれに比べて、DDE より保持時間の長い5塩

Table 4. Correlation between the dermatological severity and the blood levels of PCBs, PCQs and PCDFs

	No.	r*	p
Dermatological severity and blood level of PCBs	113	0.443	<0.001
Dermatological severity and blood level of PCQs	67	0.444	<0.001
Dermatological severity and blood level of PCDFs	67	0.565	<0.001

*: Correlation coefficient.

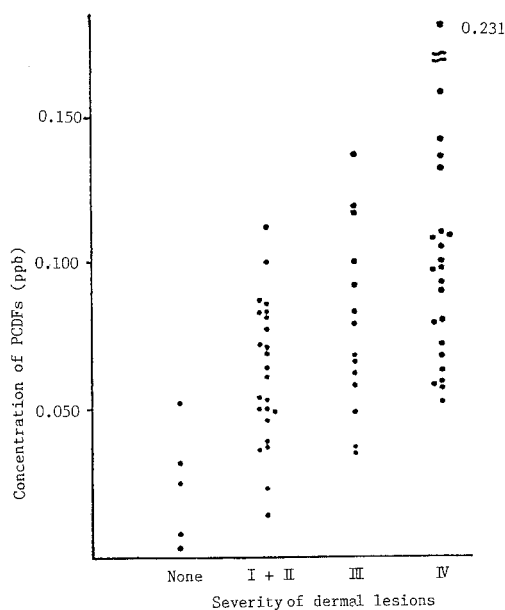


Fig. 9. The concentration of PCDFs in the blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil

化以上の高塩化 PCBs により構成されている (Fig. 10). しかし, Fig. 10 にみられるように, もとの原因油中の PCBs の組成を反映しているもの (c) から, 相対的にピーク 15 成分が著しく減少し, 逆にピーク 18~22 成分が増加し油症患者に特有であるいわゆる “Type A” に類似したもの (a) まで, 種々のガスクロマトパターンが認められた. Fig. 11 は男女別に Fig. 10 に示される各ピーク成分の重量%を模式的に示したものである. この図に示されるように, 血中 PCBs の組成において明らかに性差が認められる. すなわち, 女性に比べて, 男性は残留 PCBs 成分の中, 比較的代謝促進されやすいといわれている Peak No. 9 および 15 成分の比率が相対的に減少している. このことは PCBs の代謝能において, 男性が女性よりも強いことを示唆するものである. こ

の結果は極めて重要である. なぜならば (1) 著者らによる動物実験結果¹⁰⁾¹¹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾ から, 油症の主要原因物質は PCBs や PCQs ではなく, PCDFs であること (2) PCDFs に対する動物の抵抗性は PCDFs の代謝速度に比例する²⁰⁾ ことなどを考えあわせ, 薬物代謝能は PCDFs の毒性発現と密接に関係があるものと考えられるからである. 台中県における女性患者数 (494 名) は男性のそれ (430 名) よりも多いという疫学調査結果¹⁸⁾ は, 上記の代謝能における性差と関係しているかもしれない.

Fig. 12 は男女別に皮膚症状の程度と血中 PCBs の組成を模式的に表わしたものである. 男女共に, 皮膚症状の有無により, PCBs 組成において, 相違が認められる. すなわち無症状の人に比べて, 有症の人は, 相対的に Peak No. 9 および 15 成分組成比が少く Peak No. 18~25 成分組成比が増加しており, 肝臓薬物代謝能により強く負荷のかかった状態が推測される. しかし, 有症群においては, 症状の軽重にかかわらず, 血中 PCBs の組成は類似している.

Fig. 13 に示すように, 摂取したもとの PCQs に比べて血中の PCQs は極めて保持時間範囲が大きくよりブロードなガスクロピークを示し, 相対的に高塩素化物が増加している. このパターンは, 発症 1 年目に死亡した油症患者肝臓中 PCQs のそれ¹⁹⁾ に類似していた. 完全塩素化後, 油症患者の場合¹⁸⁾ と同様に, もとの PCQs に比べて第三ピークが増加する傾向にあるが, この図に示されるように種々のパターンが観察された. Fig. 13 の a, b, c はそれぞれ Fig. 10 の a, b, c と同一人である. 血中の PCBs のパターンが “Type A” に近づくにつれて (Fig. 10 において c→a), PCQs のパターンも変化し, 相対的に第 3 ピークが高くなる傾向 (Fig. 13 において c→a) から, PCBs と PCQs の代謝速度は相関しているものと推測される.

Fig. 14 に示されるように, 摂取したもとの PCDFs のうち限定された異性体だけが血中に認められ, その

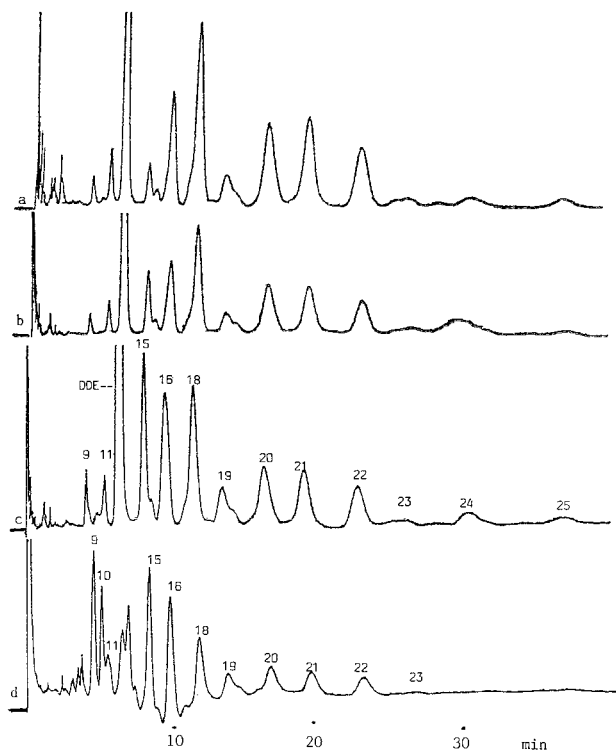


Fig. 10. Gas chromatograms of PCBs in various materials (180°C, 1.8 m×2.6 mm glass column containing 2% OV-1 on Gaschrom Q 100-120 mesh, carrier gas nitrogen, 30 ml/min). a, b and c, PCBs from samples of blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil; d, PCBs from a sample of Taiwanese causal oil.

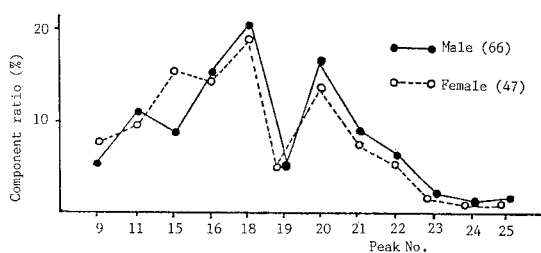


Fig. 11. The component ratio of PCBs in the blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil

ガスクロパターンは、発生1年目に死亡した油症患者組織中に残留しているPCDFsのそれと類似している。注目されることは、極めて毒性の強い2,3,7,8-tetraおよび2,3,4,7,8-penta異性体が比較的多量に残留していることである。原因油摂取終了後、1年以上にわたって、種々の臨床症状が持続する事実は、

上記の結果と相関があるかもしれない。

以上述べてきたように、患者血中のPCBs, PCQsおよびPCDFsはいずれも、摂取したものとそれらに比べて、組成的に大きく相違している。しかしこのような現象は、原因油摂取終了直後においても認められる(次項参照)。しかし、血中PCBs, PCQsおよびPCDFs濃度はお互いに極めて有意に($P < 0.001$)に相関し、相関係数も大きいこと(Table 5)から、各々の摂取者において、これら3種類の化合物に対する代謝あるいは排出能が類似しているものと推測される。

(2) 血中PCBs, PCQsおよびPCDFs

の濃度および組成の経時変化

原因油摂取者同一人30名について、原因油摂取終了後1カ月以内、0.5年、および1.5年(発症後0.5、1および2年)における血中PCBs, PCQsおよびPCDFs濃度をTable 6に示す。原因油摂取終了後1カ月以内から半年目の期間中における血中PCQsおよびPCDFs濃度の減少率(約30%)は、PCBs濃度のそれ(4%)よりも著しく高い。原因油摂取終了後1カ月以内の血中PCQs(完全塩素化合物)のガスクロマトグラムをみた場合、第3ピーク成分が著しく増加し、いわゆる典型的な肝臓中のPCQsのパターン¹²⁾¹⁴⁾に類似している(Fig. 15-a)。しかしその半年以降のパターン(Fig. 15-bとc)は相対的に第3ピーク成分が減少し、脂肪組織中PCQsのそれに¹²⁾¹⁴⁾類似していた。これらことから、原因油摂取終了後1カ月以内は、肝臓に蓄積していたPCQsが終局的な蓄積の場である脂肪組織に移行する動態期であり¹²⁾、この時期の血中PCQs濃度は、この移行PCQsにより体内蓄積量を反映した濃度以上に高くなっているものと推測される。しかし、その半年後には、

安定期に入り、血中PCQs濃度は体内残留量を反映した値を示しているものと考えられる。従って、原因油摂取終了1カ月以内から半年後の期間中における著しい血中PCQs濃度の減少は、主として、移行PCQs量の減少に帰因するものと考えられる。

一方、PCBsと異なり、PCDFsもPCQsと類似

Table 5. Correlation among the blood levels of PCBs, PCQs and PCDFs

	Sex	No.	r*	p
Blood levels of PCBs and PCDFs	M	40	0.8879	<0.001
	F	27	0.7379	<0.001
	M + F	67	0.8357	>0.001
Blood levels of PCBs and PCQs	M	40	0.8267	<0.001
	F	27	0.7066	<0.001
	M + F	67	0.7888	<0.001
Blood levels of PCQs and PCDFs	M	40	0.8613	<0.001
	F	27	0.5531	<0.01
	M + F	67	0.7667	<0.001

*: Correlation coefficient in the logarithmic form.

した生体内挙動，すなわち，投与終了後，その大半が肝臓中に蓄積し，その後脂肪組織や皮膚に移行する¹⁾ことから，顕著な血中 PCDFs 濃度の減少も PCQs の場合と同様な原因に帰するものと推察される。

次に安定期における1年間（摂取終了後0.5～1.5年）の血中濃度の減少率はPCQs (61%)>PCBs (52%)>PCDFs (46%)であり，血中濃度が体内残留量を反映しているならば，生体内残留性の強さはPCDFs>PCBs>PCQsとなる。中島と梅田²²⁾は患者5人より採取した血液中に残留するPCQsとPCBsの生物学的半減期はそれぞれ10.4カ月と3.3ヶ月で，PCQsはPCBsよりも残留性が強いと報告している。しかし，油症患者の場合，摂取した原因油中のPCQs/PCBs濃度比は1.5 (Table 1)であり，発症11年後におけるバックグランド値を差し引いた患者血中PCQs/PCBs濃度比は0.5¹⁴⁾に減少していた事実および今回の成績を考慮した場合，生体内残留性の強さはPCBs>PCQsとするのが妥当であると考えられる。

Table 6 に示すように，血中 PCBs 濃度の減少率は，男性>女性であるのに対し，PCQs や PCDFs の場合は，逆に女性>男性であり濃度減衰が化合物により性差のあることに興味もたれる。

次に皮膚症状の程度と血中 PCBs, PCQs および PCDFs 濃度および濃度減少率を Table 7 に示す。この表から，摂取終了後半年間と続く1年間の血中濃度減少率において著しく差異が認められる。最初の半

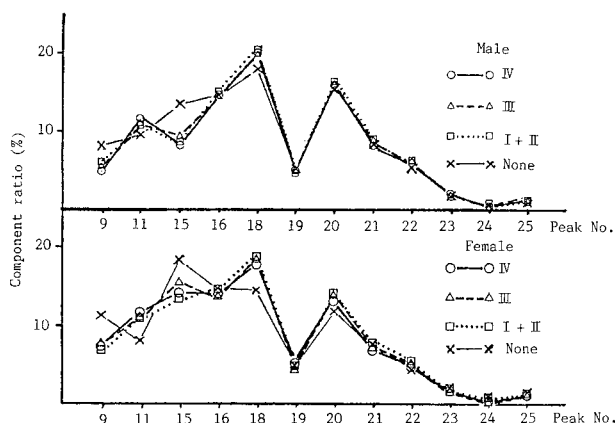


Fig. 12. The component ratio of PCBs in the blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil

年間においては，症状の程度と化合物の血中濃度減少率において逆相関があり，特に，その傾向はPCQsにおいて顕著に認められた。しかし，続く1年間の安定期における濃度の減少率は，皮膚症状が重くなるにつれて，増加する傾向が認められた。

原因油摂取終了後1カ月以内における皮膚症状の観察されない人のDDE以降のPCBsパターンは，もとの原因油中のそれに類似している (Fig. 16, 右のa)。しかし，その後，残留成分の中，比較的代謝されやすい2,4,3',4'-tetra (Peak No. 9), 3,4,2',4',5'-penta (Peak No. 25) および3,4,2',3',4',5'-hexachlorobiphenyl (Peak No. 28) が相対的に減少し，逆に残留性の強い2,4,5,2',4',5'-hexa (Peak No. 29), 1,2,3,4,2',4',5'-hepta (Peak No. 32), 3,4,2',3',4',5'-hexa (Peak No. 47), 2,4,5,2',3',

Table 6. Time course of the concentrations (ppb, Mean $\pm$ S.D.) of PCBs, PCQs and PCDFs in the blood of 30 same individuals with PCB poisoning after the termination of ingestion of the causal oil

Sex	No.	PCBs			PCQs			PCDFs								
		Level		Decrease rate** (%)	Level		Decrease rate (%)	Level		Decrease rate (%)						
		Period* (month)			Period (month)			Period (month)								
		<1	6	18	A	B	<1	6	18	A	B					
M+F	30	50±18	48±19	23±11	4	52	15.3±7.6	10.3±6.7	4.0±2.1	32	61	0.114±0.042	0.081±0.034	0.044±0.017	29	46
M	16	51±17	52±18	22±8	0	57	15.8±8.2	11.2±7.9	4.8±1.9	29	58	0.110±0.034	0.084±0.032	0.045±0.018	24	34
F	14	47±19	44±44	24±24	10	43	14.8±6.8	9.2±4.9	3.2±1.9	38	66	0.118±0.049	0.077±0.035	0.043±0.043	35	45

*: Period of time after the termination of ingestion of the causal oil.

** : A and B are explained as the following equations, (a-b)/a $\times$ 100 and (b-c)/b $\times$ 100, respectively. a, b and c are blood level of PCBs, PCQs or PCDFs at the period of <1, 6 and 18 months after the termination of oil consumption, respectively.

Table 7. Time course of the concentrations (ppb, Mean $\pm$ S.D.) of PCBs, PCQs and PCDFs in the blood of 30 same individuals with PCB poisoning after the termination of ingestion of the causal oil

Degree*	Sex	No.	PCBs			PCQs			PCDFs								
			Level		Decrease rate*** (%)	Level		Decrease rate (%)	Level		Decrease rate (%)						
			Period** (month)			Period (month)			Period (month)								
			<1	6	18	A	B	<1	6	18	A	B	<1	6	18	A	B
VI	M + F	9	60 ± 14	59 ± 18	27 ± 12	2	54	14.6 ± 4.7	12.4 ± 6.2	4.9 ± 2.5	15	62	0.133 ± 0.027	0.105 ± 0.028	0.057 ± 0.018	21	47
III	M + F	12	49 ± 12	49 ± 17	23 ± 9	0	54	15.6 ± 8.7	9.9 ± 7.8	4.2 ± 1.6	37	62	0.118 ± 0.042	0.075 ± 0.029	0.041 ± 0.014	36	45
I + II	M + F	7	47 ± 20	44 ± 14	24 ± 9	7	45	18.3 ± 7.6	10.3 ± 3.2	4.1 ± 1.5	44	61	0.100 ± 0.041	0.068 ± 0.021	0.042 ± 0.042	32	38
None****	F	2	18	15	10	17	35	6.7	1.7	0.5	75	72	0.046	0.039	0.024	15	39

*: Degree of dermatological severity.

** : Period of time after the termination of ingestion of the causal oil.

*** : A and B are explained as the following equations, (a-b)/a $\times$ 100 and (b-c)/b $\times$ 100, respectively. a, b and c are blood level of PCBs, PCQs or PCDFs at the period of <1, 6 and 18 months after the termination of oil consumption, respectively.

**** : Case without any dermatological signs.

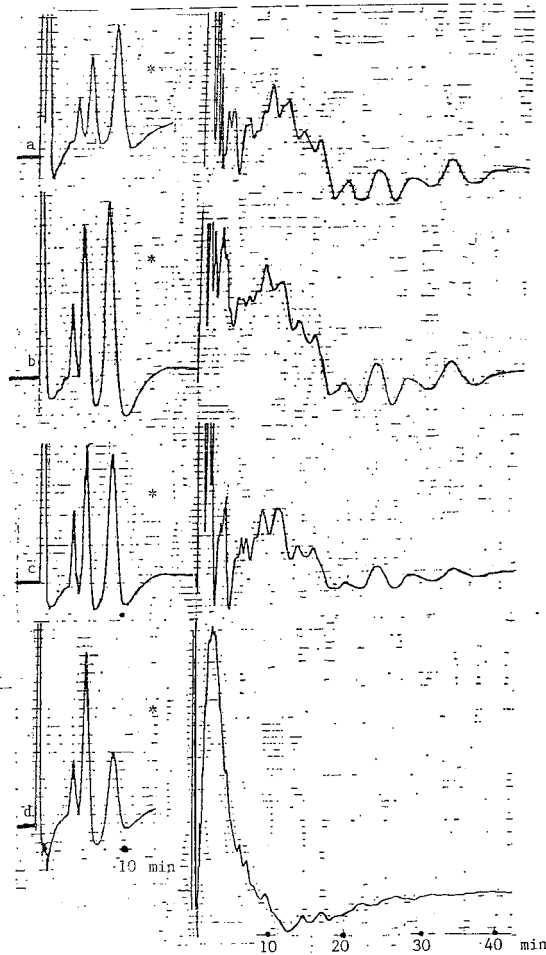


Fig. 13. Gas chromatograms of PCQs in various materials (275°C for native PCQs and 285°C for perchlorinated ones, 0.5 m×2.6 mm glass column containing 2% SE-52 on Gaschrom Q 100-120 mesh, carrier gas nitrogen, 60 ml/min).

a, b and c, PCQs from samples of the blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil; d, PCQs from a sample of Taiwanese causal oil. *: Gas chromatograms of PCQs after perchlorination.

4',5'-hepta (Peak No. 49) および 2,3,4,2',3',4',5'-heptachlorobiphenyl (Peak No. 50) が増加している。摂取終了1.5年目におけるパターンは油症患者のいわゆる“Type A”に相当している。一方、皮膚症状のある場合、その程度の軽重にかかわらず、比較的類似したパターン（ただし、性差は認められる）が観察され、無症のそれに比べてより代謝を受けた

PCBs 組成を示している (Fig. 16 左の a)。その後、無症の場合と同様な PCBs 組成変化が生じ、0.5年目 (Fig. 16 左の b) においては、典型的な“Type A”を示している。このような顕著な PCB 組成の変化は、原因油中に共存する微量の PCDFs による肝薬物代謝活性増強の結果である⁽¹⁾ ことが明らかにされていることから、皮膚症状の発現の有無による患者血中 PCBs の組成変化の差異は摂取 PCDFs 量に帰因するものであろう。

総 括

1. 分析した台湾 PCB 中毒事件の原因米ぬか油 3 検体はいずれも PCBs, PCQs および PCDFs に汚染されており、それらの濃度は、それぞれ 44 ± 12 , 17 ± 6 および 0.14 ± 0.03 ppm であった。油症原因油と比較すると汚染濃度は各化合物ともに約 1 オーダー低く、PCBs に対する PCQs および PCDFs の相対濃度も約 1/4 および 1/3 にすぎなかった。しかし、異性体構成比に若干の差異は認められるが、PCBs, PCQs および PCDFs はいずれも油症原因油のそれらと同一の異性体を含んでいた。
2. 原因油摂取終了半年後に分析した摂取者全員の血液試料は、高濃度の PCBs, PCQs および PCDFs を含んでおり、その濃度は 39 ± 17 , 8.6 ± 4.8 および 0.076 ± 0.038 ppb であった。
3. 血中 PCBs, PCQs および PCDFs 濃度は、相互に有意 ($P < 0.001$) の強い正の相関を示した。
4. 原因油摂取者の皮膚症状の程度と血中 PCBs, PCQs および PCDFs 濃度はいずれも有意 ($P < 0.001$) に正の相関を示した。
5. 血中 PCBs, PCQs および PCDFs の組成は、いずれも摂取した原因油中のそれらと大差が認められ、油症事件発生1年後に死亡した患者肝臓中のそれらに類似していた。特に PCDFs に関しては毒性の極めて強い 2,3,7,8-tetra および 2,3,4,7,8-penta 異性体が主要構成成分として残留していた。
6. 血中 PCBs の組成に性差が認められ、男性は女性よりも相対的に強い PCBs 代謝能を有することが推測された。
7. 男女ともに、皮膚症状の有無により、血中の PCBs の組成において差異が認められたが、有症群においてはその軽重にかかわらず類似の組成を示した。原因油摂取終了0.5年後において有症の人は油症

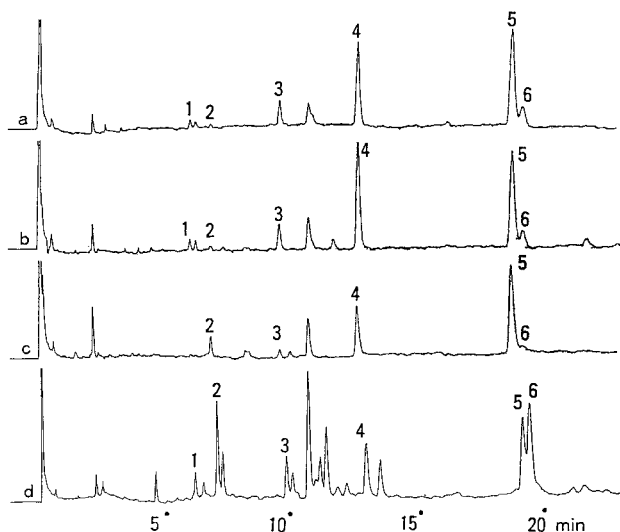


Fig. 14. Gas chromatograms of PCDFs in various materials (255°C, 25 m×0.28 mm OV-17 capillary column, carrier gas nitrogen, 1 ml/min).

a and b, PCDFs from samples of the liver and adipose tissue of a patient who died one year after outbreak of Yusho, respectively; c, PCDFs from a sample of the blood of patients 6 months after termination of ingestion of the causal oil; d, PCDFs from a sample of Taiwanese causal oil. The compound of each peak No. was identified as shown in Fig. 4.

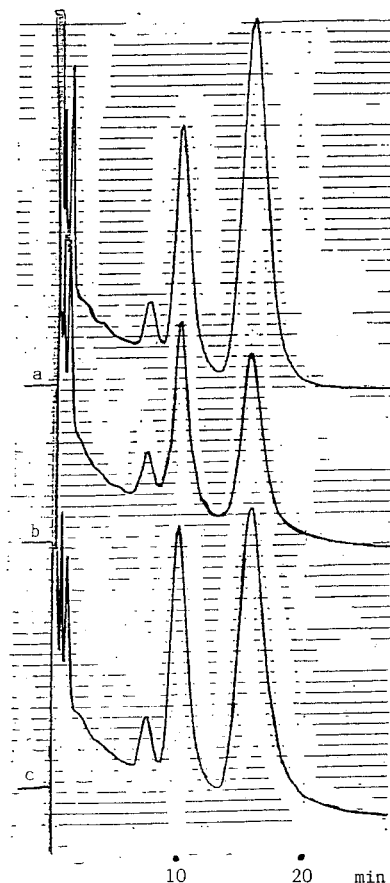


Fig. 15. Gas chromatograms of PCQs in the blood of a patient (295°C, 0.5 m×2.6 mm glass column containing 2% SE-52 on Gaschrom Q 100-120 mesh, carrier gas nitrogen, 60 ml/min)

a, b and c, PCQs from samples of a patient's blood 1, 6 and 18 months after termination of ingestion of the causal oil.

患者にみられる“Type A”のPCBsガスクロパターンを示すのに対し、無症の人は1.5年後“Type A”のパターンであった。

8. 原因油摂取終了1カ月以内から半年後の期間中における血中PCQsおよびPCDFs濃度の減衰は、血中PCBsのそれに比べて顕著に認められ、生体内挙動の差異に帰因することが、そのガスクロマトパターンから推察された。

9. 原因油摂取終了後0.5～1.5年間の血中PCBs, PCQsおよびPCDFsの濃度減少率はそれぞれ、52, 61および46%であった。

10. 血中PCBs, PCQsおよびPCDFsの濃度減少率は原因油摂取終了後半年間においては、皮膚症状の軽重の程度と負の相関にあるが、その後の1年間においては正に相関する傾向が観察された。

以上のような分析結果から、分析技術のまだ発達していなかった油症発症当時の実態を推測し得たものと考えている。

稿を終えるに当たり、貴重な標準品を譲渡していただいた第一薬科大学 増田義人教授およびデータ解析に多大の御基力をいただいた福岡市衛生研究所 広中博見氏に深謝致します。

文 献

- 1) Birnbaum, L. S., Decad, G. M. and Matthews, H. B.: Disposition and excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 55: 342-352, 1980.
- 2) Birnbaum, L. S., Decad, G. M., Matthews, H. B. and McConnell, E. E.: Fate of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran in the monkey.

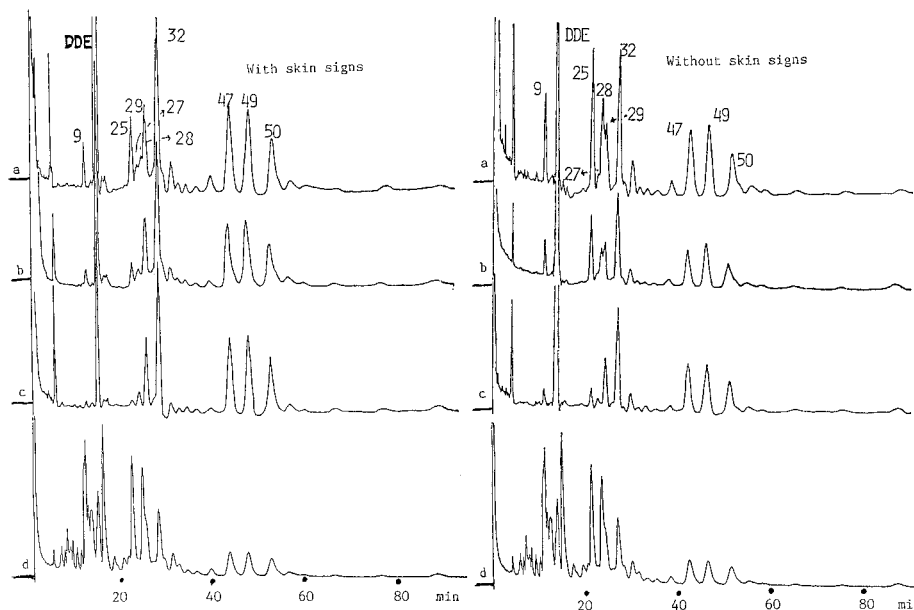


Fig. 16. Gas chromatograms of PCBs in the blood of two same individuals with PCB poisoning (240°C, 5 m×2.6 mm glass column containing 2% Apiezon L on Gaschrom Q 100-120 mesh, carrier gas nitrogen, 40 ml/min). a, b and c, PCBs from the blood of a patient at the period 1, 6 and 18 months after termination of ingestion of the causal oil; d, PCBs from asamples of Taiwanese causal oil.

Toxicol. Appl. Pharmacol. 57: 189-196, 1981.

3) Cheng, P. C., Chen, C. J. and Wong, C. K.: Dermatological survey of 122 PCB poisoning patients in comparison with blood PCB levels. *Clin. Med. (Taipei)* 7: 15-22, 1981.

4) Chen, P. H. S., Gaw, J. M., Chen, C. J. and Tseng, H. H.: Levels and gas chromatographic patterns of polychlorinated biphenyls in the blood of PCB intoxicated patients after ingestion of the toxic cooking oil. *Clin. Med. (Taipei)* 7: 35-40, 1981.

5) Chia, L. G., Su, M. S., Chen, R. C., Wu, Z. A. and Chu, F. L.: Neurological manifestations in polychlorinated biphenyls (PCB) poisoning. *ibid.* 7: 45-61, 1981.

6) Fu, Y. A.: Ocular manifestation of PCB poisoning and its relationships between blood PCB levels and ocular findings. *ibid.* 7: 28-34, 1981.

7) 五島應安, 樋口謙太郎: 油症(塩化ビフェニール中毒症)の皮膚科学的症候論. *福岡医誌* 60: 409-431, 1969.

8) Hayabuchi, H., Yoshimura, T. and Kuratsune, M.: Consumption of toxic rice oil by 'Yusho' patients and its relation to the clinical response and latent period. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 17: 455-466, 1979.

9) 堀伸二郎, 樫本 隆, 国田信治: ラットにおける PCQ (Polychlorinated Quaterphenyl) の体内分布および排泄. *食衛誌* 21: 294-300, 1980.

10) Hori, S., Obana, H., Kashimoto, T. and Kunita, N.: unpublished data 1982.

11) Hori, S., Obana, H., Kashimoto, T., Otake, T., Nishimura, H., Ikegami, N., Kunita, N. and Uda, H.: Effect of polychlorinated biphenyls and polychlorinated quaterphenyls in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Toxicology*, 24: 123-139, 1982.

12) 堀伸二郎, 尾花裕孝, 吉田政晴, 吉田善彦, 樫本 隆, 国田信治: カニクイザルにおける油症関連物質の生物学的影響—1. PCB および PCQ 分布—. *大阪府立公衛研所報 食品衛生編* 12: 1-8, 1981.

13) 樫本 隆, 宮田秀明, 福島成彦, 国田信治: 油症患者と他の PCB 汚染者の残留塩素化合物の相違. *福岡医誌* 72: 198-204, 1981.

14) Kashimoto, T., Miyata, H. and Kunita, N.: The presence of polychlorinated quaterphenyls in the tissue of Yusho victims. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 19: 335-340, 1981.

15) Kashimoto, T., Miyata, H., Kunita, N., Tung, T. C., Hsu, S. T., Chang, K. J. C., Tang, S. Y. T., Ohi, G., Nakagawa, J. and Yamamoto, S.: Role of polychlorinated dibenzofuran in Yusho (PCB Poisoning). *Arch. Envi-*

ron. Health 36: 321-326

16) 国田信治, 榎本 隆: PCB 関連物質の生体影響. 最新医学 37: 2378-2383, 1982.

17) Kunita, N., Kashimoto, T., Miyata, H., Fukushima, S., Hori, S. and Obana, H.: Causal agent of "Yusho". American J. Ind. Med. in press.

18) Lan, C. F., Chen, P. H. S., Shieh, L. L. and Chen, Y. H.: An epidemiological study on polychlorinated biphenyls poisoning in Taichung area. Cli. Med. (Taipei) 7: 96-100, 1981.

19) Miyata, H. and Kashimoto, T.: Investigation on organochlorinated compounds formed in Kanemi rice oil that caused "Yusho".

J. Food. Hyg. Soc. Japan 20: 1-9, 1979.

20) Miyata, H., Kashimoto, T. and Kunita, N.: Detection and determination of polychloro-dibenzofurans in normal human tissues and Kanemi rice oils caused "Kanemi Yusho", J. Food Hyg. Soc. Japan 18: 260-265, 1977.

21) Moore, J. A., McConnell, E. E., Dalgard, D. W. and Harris, M. W.: Comparative toxicity of three halogenated dibenzofurans in guinea pigs, mice and rhesus monkeys. Ann. N. Y. Acad. Sci., 320: 151-163, 1979.

22) 中島裕而, 梅田玄勝: PCB 中毒の初期における患者の血中ポリ塩化ビフェニルとクォターフェニルの濃度変化. 医学と生物 103: 237-241, 1981.

油症患者のポルフィリン代謝異常の予備的検討

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）

石 本 進 士

Preliminary Studies on Porphyrin Metabolism
of Patients with Yusho (PCB Poisoning)

Shinji ISHIMOTO

*Department of Neurology (Director : Prof. Y. Kuroiwa),
Neurological Institute, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Porphyrins in urine were measured on 13 Yusho patients which showed relatively high PCB blood levels for many years. Only 5 Yusho patients showed slightly higher values of porphyrins than standard values, but only one of them showed a elevated value of porphobilinogen from the standard upper limit obviously.

These results suggest that the prominent abnormality of porphyrin metabolism is not seen in Yusho patients. Further studies are necessary to elucidate on these problems of porphyrin metabolism in Yusho patients.

緒 言

1968年夏より集団発生した油症は、本年度16年目を迎え、内科的所見及びその症状は徐々に軽快しつつある。しかしその原因物質と考えられる polychlorinated biphenyl (PCB) 濃度は高値のまま持続している患者もなお多数認められる。一方、この PCB 等の polyhalogenated aromatic compound がポルフィリン代謝にも影響を及ぼすことも知られており³⁾⁴⁾、昨年度の班会議にても動物の PCB 中毒実験にて、ポルフィリン代謝異常が生じる事が報告された¹⁾。そこで今回、慢性油症患者において、PCB がポルフィリン代謝に異常を及ぼすか否かについて、予備的検討を試みた。

対 象 と 方 法

対象は1982年度油症一斉検診時の油症認定患者の内、血中 PCB 濃度が高く、かつ A パターンのものを主に、計13名を選んだ（表1）。

ポルフィリン代謝異常の検索の為、上記患者より、集団検診時に採取した尿について、 δ -アミノレブリン酸（和田変法）、コプロポルフィリン定量（螢光法）、ウロポルフィリン（Brugsh-Fischer 法）、ポルフォ

ビリノーゲン（Granick 法）の各項目について測定した。

結 果

δ -アミノレブリン酸は、1例（患者 No. 1）において 2.9 mg/dl と、ポルフォビリノーゲンは2例において、それぞれ 1,110 μ g/l (No. 2), 830 μ g/l (No. 8) と、コプロポルフィリンは、3例において、103 μ g/l (No. 1), 107 μ g/l (No. 5), 104 μ g/l (No. 11) とそれぞれ軽度増加を認めた。しかしウロポルフィリンは全例に増加を認めなかった（表2）。

考 察

油症の原因物質である PCB 等の polyhalogenated aromatic compound はポルフィリン代謝にも影響を及ぼす事が、動物実験¹⁾³⁾⁴⁾ 及び、人の中毒症²⁾ においても報告されている。しかし PCB によるポルフィリン症の発生には大量かつ長期間の負荷が必要とも考えられる。今回、昨年度の一斉集団検診において、油症患者の中では比較的高濃度の PCB 血中濃度でかつ A パターンのものを主に選び尿中のポルフィリン体を測定し、PCB のポルフィリン代謝における影響の予備的検索を行なった。

表 1. 油症患者の血中 PCB 濃度の年次的推移

No.	姓 名	年 齢・性	血中 PCB 濃度 (ppb) と PCB パターン								
			'74	'75	'76	'77	'78	'79	'80	'81	'82
1	M. Y	47 F	31A	37A	32A	21A	29A	24A	29A	33A	25A
2	H. H	65 F		15B	16A	15A	9A	10A		17A	16A
3	H. H	70 M			12A	9A	8A				10A
4	T. A	60 F	4A	10A	9A	10A	8A	4A	8A	8A	7A
5	N. K	54 F	3A	5A	6A	5A	4A		6A	8A	7A
6	T. U	83 M		3A	11A	6A	6A	4A	8A	8A	6A
7	Y. T	27 F							7A	7A	6A
8	N. Y	58 M	3A				11A		3A	6A	6A
9	H. T	61 F				8A	5A	8A	5A		5A
10	H. K	76 M	6A	7A	8A	5A	7A	4A	7A	6A	4A
11	T. S	72 M	2A		2A			1A	2BC	4A	3A
12	S. D	17 M	3A			1A	2A			2B	2B
13	T. H	56 M			5C	10C	13C	12C			8C

表 2. 油症患者尿中のポルフィリン体検査値

患者 No.	δ-アミノレブリン酸 (mg/l)	ポルフォビリノーゲン (μg/l)	コプロポルフィリン (μg/l)	ウロポルフィリン (μg/l)
1	2.9*	341	103*	2.5
2	1.5	1110*	76	—
3	2.0	223	52	0.7
4	2.5	89	28	0.8
5	1.0	282	107*	2.0
6	1.5	267	19	0.8
7	1.4	747	73	3.5
8	1.9	830*	89	7.5
9	1.6	300	50	2.0
10	1.5	356	29	2.0
11	1.1	579	104*	6.0
12	1.9	534	55	3.0
13	2.0	371	57	2.5
基準値	0.8~2.8	800 以下	100 以下	5~30

* 基準値より高値を示す。

基準値と比較して、δ-アミノレブリン酸は1名に、ポルフォビリノーゲンは2名に、コプロポルフィリンは3名において、軽度ながら基準値を上回る値を示した。しかし、ウロポルフィリンは全例に増加を認めなかった。以上より、今回の予備的検索では、長期間、高い PCB 血中濃度を示す患者においても明らかな尿中ポルフィリン体値の増加は認められなかった。しかし数例においては、いくつかのポルフィリン体値に増加の傾向を認め、又、ポルフォビリノーゲン値は、比

較的高濃度の PCB 血中濃度を示す1例において、明らかな増加を認めた事より、今後、PCB 中毒により生じるポルフィリン症で、比較的異常の出やすいと考えられるδ-アミノレブリン酸脱水素酵素、δ-アミノレブリン酸合成酵素等¹⁾³⁾⁴⁾で、さらなる検討を進める必要性はあるものと考えられる。

結 語

PCB 中毒によるポルフィリン代謝異常の有無について検討する為、比較的高濃度の PCB 血中濃度を示す油症患者13名について、尿中ポルフィリン体値の測定を行なった。δ-アミノレブリン酸は1名に、ポルフォビリノーゲンは2名に、コプロポルフィリンは3名に軽度、基準値を上回る値を示した。今回の予備的検索では、油症患者に明らかなポルフィリン代謝異常は指摘できなかったが、今後より鋭敏な指標による検討は必要と考えられた。

本研究に御協力いただいた福岡県衛生部に深謝する。又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) 本多哲三, 村山史男, 吉田彦太郎, 大神太郎: ハロゲン化芳香族化合物のポルフィリン代謝に及ぼす影響と薬物の抑制, 増強効果について. 昭和56年度油症研究報告書: 23-38, 1981.

2) Peters, H. A.: Hexachlorobenzene poisoning in Turkey. Fed. Proc. 35: 2400-2403,

1976.

3) Vos, J. G., Strik, J. J. T. W. A., Holsteĳn, C. W. M. and Pennings, J. H.: Polychlorinated biphenyls as inducers of hepatic porphyria in Japanese quail, with special reference to δ -aminolevulinic acid synthetase activity, fluorescence and residues in the liver. *Toxicol. Appl. Pharm.*

20: 232-240, 1971.

4) Vos, J. G. and Koeman, J. H.: Comparative toxicologic study with polychlorinated biphenyls in chickens with special reference to porphyria, edema formation, liver necrosis, and tissue residues. *Toxicol. Appl. Pharm.* 17: 656-668, 1970.

油症 (PCB 中毒) 患者における血中 PCB 濃度 と血圧との関係

九州大学医学部第二内科学教室 (指導: 尾前照雄教授)

赤木 公博・辻 博・梶原 英二

村井宏一郎・志方 建

福岡大学医学部第一内科学教室

奥 村 恂

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人

Association of Blood Pressure and PCB Levels in Patients with Polychlorinated Biphenyl (PCB) Poisoning

Kimihiro AKAGI, Hiroshi TSUJI, Eiji KAJIWARA,
Koichiro MURAI and Tatsuru SHIKATA

*Second Department of Internal Medicine (Director: Prof. T. Omae),
Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Makoto OKUMURA

*First Department of Internal Medicine (Director: Prof. M. Okumura),
Fukuoka University Medical School, Fukuoka 814, Japan*

Yoshito MASUDA

*Department of Physical Analysis, Dai-ichi College of
Pharmaceutical Sciences, Fukuoka 815, Japan*

Correlation of serum PCB levels or patterns and blood pressure were studied in 59 patients with Yusho (PCB poisoning) older than 40 years. In 52.5 % of the cases, PCB levels were higher than the range found in general population. Frequency of hypertension in the patients was found to be 16.9 % which was similar to that expected on the basis of the rate for a population of the same age and sex compositions.

As an independent variable, the blood pressure of patients were not associated with serum PCB levels and PCB patterns, and also the PCB-blood pressure association was not confirmed in 20 patients with persistent higher PCB levels than 5 ppb for 9 years. On the other hand, age, obesity and habitual alcohol intake, known as the influence factors of hypertension, tended to be positively associated with measured blood pressure of these patients with PCB poisoning.

油症発症以来 15 年が経過し、各種の PCB 亜急性中毒症状は徐々に消褪している。それにもかかわらず、患者の血中 PCB 濃度はなお一般住民に比べ約半数例で高く、油症患者においては PCB の慢性中毒の

面からの検討も重要であると考えられる。

Kreiss ら¹⁾ は PCB の血中レベルがその 10~20% で高い地域住民を対象とした疫学調査を行い、血圧の上昇に血中 PCB 値が関係することを報告している。

Table 1. Clinical data of patients with PCB poisoning

Sex	No. of cases	Age (y.o.)	Abnormal ⁽¹⁾ PCB level	Obesity ⁽²⁾	Alcoholics	Hypertention ⁽³⁾
Male	25	57±10*	52.0%	20.0%	40.0%	20.0%
Female	34	56±10	52.9%	20.6%	0.0%	14.7%

* Mean±SD

(1) Having higher levels than 5 ppb.

(2) Obesity was defined as a Quetelet index of 25.4 or higher⁽⁴⁾.

(3) Hypertension was defined as a systolic measurement of 160 mmHg or higher and/or a diastolic measurement of 95 mmHg or higher.

しかし、彼らの研究では PCB 値が年齢とともに上昇するため、加齢により変動する血圧との関係には不確実さが残る。そこで、本稿では慢性に高い PCB 濃度を示し、血中 PCB に年齢差を認めない油症患者を対象として、血圧と血中 PCB 濃度および PCB パターン等との関連について検討したので報告する。

対象ならびに方法

対象は 1981 年度油症一斉検診を受診した患者 115 例のうち、40 歳以上の 82 例の中で、血中 PCB 濃度と血圧が同時に測定された男性 25 例、女性 34 例、計 59 症例である (Table 1)。

高血圧への影響因子として加齢、肥満、飲酒習慣等が重要であると考えられている⁵⁾。対象者の平均年齢は 56.5 歳、肥満者は 20.3%に、飲酒習慣は男性で 40%に認められた。患者の血中 PCB 濃度異常 (5 ppb 以上) は 52.5%にみられた。また、血中 PCB の高

値を示す患者のうち、20 例について 1974 年にまでさかのぼって PCB 値と血圧の関係を検討した。

血中 PCB の定量および PCB パターンは先に報告した方法に従って行なった²⁾。また、肥満の判定には Quetelet index $\left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^2}\right)$ を用いた⁴⁾。

成 績

1 PCB 濃度、PCB パターンと血圧

対象者の平均 PCB 濃度±SD は男性 5.1±2.3 ppb、女性 6.4±5.3 ppb で女性で高い傾向がみられたが有意ではなかった。また、血中 PCB 濃度に年齢による差異はなかった (Fig. 1-a)。油症患者にみられた高血圧者 (収縮期血圧 (SBP) 160 mmHg 以上、拡張期血圧 (DBP) 95 mmHg 以上) は、男性 20.0%、女性 14.7%であり、その頻度に 50 歳代の一般住民でみられる男性 19.0%、女性 16.0%⁶⁾と差異を認めなかった。

次に血中 PCB 濃度を 5 ppb 未満と 5 ppb 以上の 2 群に分けて、その血圧の変化を検討した (Fig. 2)。男性では平均血圧 (MBP)、SBP、DBP いずれにも 2 群間で差異がみられなかったが、女性では SBP が PCB 値の高い群で上昇する傾向を示した。しかし有意の変化ではなかった。また、MBP が 100 mmHg より低い群と、100 mmHg 以上の群で血中 PCB 値を検討した (Fig. 2)。しかし、女性でわずかに MBP 100 mmHg 以上の群で高い傾向がみられたが、有意ではなかった。PCB 濃度と血圧 (MBP) との相関をみると、男性では $r=0.042$ ($N=25$)、女性では $r=0.2156$ ($N=34$) でいずれも有意の相関を示さなかった。さらに、患者を血中 PCB パターンで油症患者特有の A パターンと油症に近い B パターンおよび一般的な C パターン²⁾に分けて、その MBP の差をみたが、男・女ともそのパターンによる差はみられなかった (Fig. 2)。

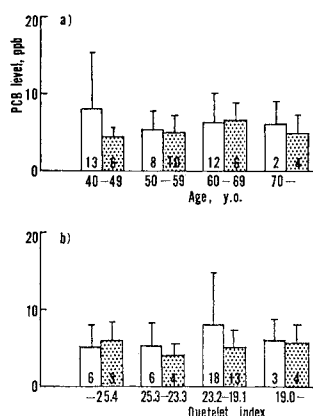


Fig. 1. PCB levels in serum specimens by age (a) and Quetelet index (b) groups of patients with PCB poisoning. Dotted areas represent male subjects; blank areas, female subjects; numbers represent number of patients in group.

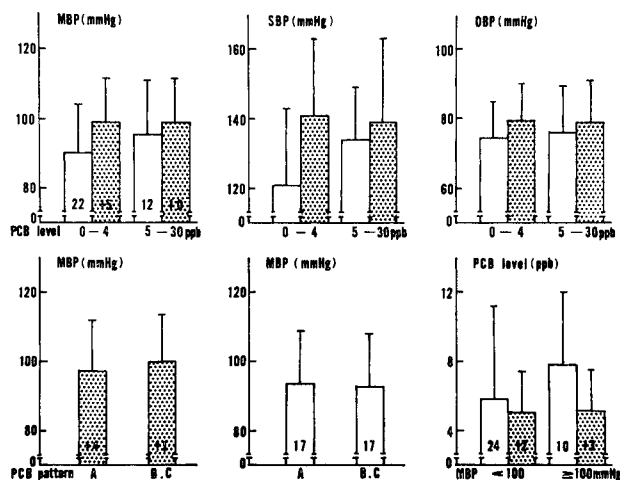


Fig. 2. Association of blood pressure and PCB levels or PCB patterns of patients with PCB poisoning. Dotted areas represent male subjects; blank areas, female; numbers represent number of patients in group.

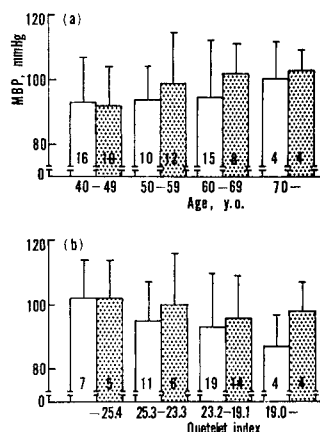


Fig. 4. Blood pressure by age (a) and Quetelet index (b) groups of patients with PCB poisoning. Dotted areas represent male subjects; blank areas, female; numbers represent number of patients in group.

2 血中 PCB 濃度と血圧の推移

血中 PCB 濃度の高い 20 例で 9 年間の血圧と血中 PCB 濃度の推移を比較検討した。その中の 5 例の血圧の経過を Fig. 3 に示した。いずれの症例でも血圧上昇に PCB 濃度の増加が関与しているという結果は得られなかった。

3 年齢階級別血圧の変化

MBP の年齢変化をみると、Fig. 4-a のごとく男

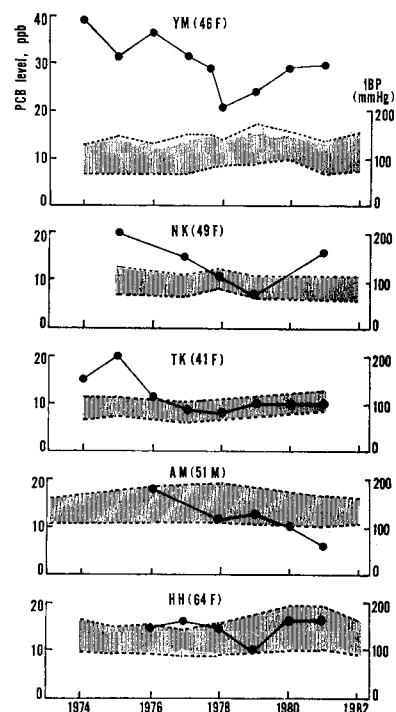


Fig. 3. Follow-up study of blood pressure and PCB levels of patients with PCB poisoning. Shaded areas show ranges of systolic and diastolic blood pressure.

女とも加齢により血圧は上昇する傾向を示した。しかし各階級別に対象者が少ないため有意差はみられなかった。

4 比体重と血圧の変化

Quetelet index により肥満 (25.4 以上)、過体重 (23.3~25.3)、正常 (19.1~23.2)、やせ (19.0 以下) の 4 群に分類し⁴⁾、血圧の変化を検討した。血中 PCB 濃度とは関係なく (Fig. 1-b)、MBP は男女とも肥満者で高い傾向を示した (Fig. 4-b)。しかし、比体重別の血圧に有意差は認められなかった。

5 飲酒習慣と血圧の変化

毎日 1 合以上の飲酒習慣の有無により、血圧 (MBP) の変化をみた。血中 PCB 値は飲酒習慣がある例 4.8 ± 1.6 ppb、ない例 5.3 ± 2.7 ppb で、飲酒習慣がない例で高い傾向がみられたが、その MBP (平均値 $\pm$ SD) は逆に飲酒習慣のある例 103.6 ± 11.4 mmHg で、ない例 95.5 ± 14.9 mmHg に比べ高い傾向が認められた。しかし、両群間に有意差はみられなかった。

考 察

1981年 Kreiss ら¹⁾は、米国の Alabama 州, Triana の 485 人を対象に血中 PCB を測定し、はじめて血中 PCB 濃度が血圧と関係することを報告した。彼らが対象としたグループの血中 PCB 値はその 80~90%が他の地域の健常者と同程度の値を示した。この対象者で血圧を目的変数として重回帰分析を行ったところ、SBP の場合、年齢、性、比体重、社会階級に次いで PCB 値が 5 番目に、DBP の場合、比体重、性に次いで PCB 値が第 3 番目に説明変数として取込まれることを報告した。しかし、彼らは対象者で血中 PCB が血圧と関係の深い加齢により、有意に増加するため、人の健康にもつ PCB の意義に関しては検討を重ねる必要があることを述べている。

われわれは一般住民に比べると今なおその約半数例で PCB の高値を示す油症患者 59 例について、その血圧と血中 PCB 濃度との関係の有無を検討した。その結果、女性でのみ SBP が PCB 高値の群で上昇する傾向がみられたが、女性の DBP および男性の血圧は血中 PCB 値と全く関係が認められず、また血圧と血中 PCB 値の間に有意の相関もなく、PCB パターンによる血圧の差異も認められなかった。さらに、過去 9 年間の血圧と PCB 濃度の推移をみても両者間に関係はないと考えられた。この様に、われわれが対象とした血中 PCB が年齢による差のない油症患者では、一般住民と比べ高血圧の頻度に差はなく、また PCB が血圧の変動に関係するという結果は得られなかった。

奥村ら²⁾は油症発症後、6 カ月以内に典型的な皮膚・眼症状のみられた患者 18 例について詳細な内科所見を報告している。当時はまだ PCB 濃度の測定はなされていなかったので実際の値は不明であるが、当然今日よりはかなりの高値を示していたと考えられるが、患者血圧は全例正常であつたと述べている。この様に、PCB 中毒の初期にも血圧との関係はみられなかったと考えられる。

次に、高血圧への重要な影響因子である年齢、飲酒習慣および肥満について⁴⁾⁵⁾、油症患者で検討した。その結果、血中 PCB 濃度は年齢、飲酒習慣および肥満で変動しないにもかかわらず、血圧 (MBP) は高年齢者、飲酒習慣のある人、肥満者で高い傾向を示し

た。しかし、症例が非常に少ないため、いずれの因子とも有意の上昇とはいえなかった。

油症患者 (PCB 中毒症) の血圧への影響因子について検討したが、一般住民に比べ、高血圧者の頻度に差はみられず、血圧が血中 PCB 値と関係するという結果は得られなかった。一方、すでに報告されている加齢、飲酒習慣、肥満等の因子が油症患者の血圧にもより強く関与しているものと考えられた。

結 語

油症 (PCB 中毒) 患者のうち、1981 年油症一斉検診を受診した 40 歳以上の患者 59 例、およびその中で PCB 濃度が高く 1974 年以来検診をうけた 20 例を対象に、血中 PCB と血圧との関係、さらに、患者血圧への他の影響因子の関与について検討し、以下の結論を得た。

1) 血中 PCB 濃度は患者の 52.5% で高値 (≥ 5 ppb) を示したが、高血圧症の頻度は 16.9% で、一般住民と差はみられなかった。

2) 血中 PCB 濃度および PCB パターンと血圧との関係は認められず、また 20 例についての患者別過去 9 年間の血中 PCB 濃度と血圧の推移からも両者の関連性は全く見られなかった。

3) 患者の血圧は、加齢、飲酒習慣、肥満で上昇する傾向にあつた。

文 献

- 1) Kreiss, K., Zack, M. M., Kimbrough, R. D., Needham, L. L., Smrek, A. L. and Jones, B. T.: Association of blood pressure and polychlorinated biphenyl levels. J.A.M.A. 245: 2505-2509, 1981.
- 2) 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.
- 3) 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: 440-446, 1969.
- 4) 志方 建, 上田一雄: 肥満と高血圧. Current Concepts in Hypertension 3: 7-11, 1982.
- 5) 竹下司恭: 日循協そのあゆみと展望, シンポジウムⅡ「動脈硬化は予防できるか」, 危険因子—酒・タバコに関して—. 日循協誌 14: 235-240, 1980.

昭和 55 年度—57 年度の年次検診における 油症皮膚症状の変化

九州大学医学部皮膚科学教室（主任：占部治邦教授）

旭 正 一・占 部 治 邦

福岡大学医学部皮膚科学教室（主任：利谷昭治教授）

利 谷 昭 治

Dermatological Findings in the General Examination of Yusho in 1980-1982

Masakazu ASAH and Harukuni URABE

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

Shoji TOSHITANI

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

Dermatological findings in the general follow-up examination of Yusho in 1980-1982 at Fukuoka Prefecture were reported and analyzed statistically.

1) The skin severity grading indexes and/or the skin severity grading points remarkably decreased (improved) in 1980. However, they increased again to some extent in 1981 and 1982.

2) Blood PCB pattern A (typical Yusho pattern) cases showed higher severity grading points than other group (B, BC, C).

3) Somewhat higher blood PCB concentrations were demonstrated in the pattern A cases, while the other pattern (B, BC, C) group showed a little lower PCB concentrations.

は じ め に

油症の皮膚症状は、初期にはきわめて顕著で、油症の中心的症状の観さえあつたが、その後数年でかなり軽快し、以後は徐々に軽快するという形をとつている。この間の皮膚症状の変化については、すでに何回か報告してきたが^{(1)~(4)(6)~(8)}、今回もそれらの続報として、前回の報告以後すなわち昭和 55 年、56 年、57 年度の福岡県油症一斉検診（追跡調査）の成績をまとめ、それ以前のデータと比較しながら経年的変化の様子や血中 PCB 濃度・PCB パターンとの相関性についても分析した。

検診の受診状況

各年度の受診者数を表 1 に示した。今回の集計は昭和 55—57 年度の 3 年間であるが、比較のため昭和 51 年以降を示している。昭和 55 年度までは、実施上のいくつかの理由によつて、翌年の 1—2 月に実施されている。すなわち昭和 55 年度の検診は、昭和 56 年 1 月に実施ということであつた。昭和 56 年度以後は、その年度の夏から秋にかけて実施されるようになり、昭和 55 年度・56 年度については、期日変更のためのずれがおこつている。以後はずつと夏から秋に実施するという方針になつている。

受診者総数にはあまり大きな変化はないが、個人的にみると受診状況には相当なむらがある。大体のとこ

表 1. 年次受診者数

年度 性別	51年	52年	53年	54年	55年	56年	57年
男 子	38	46	54	44	41	45	41
女 子	58	57	73	66	66	68	60
計	96	103	127	110	107	113	101

ろでいうと、半数はほとんど毎年受診を続けている人、残りのうちさらに半数がかなり受診している人、残りの半数は殆んど受診したことがなく初めてか2回目くらいの人というような割合で患者群が構成されている。男女比も、ほぼ2:3で一定している。

皮膚重症度の変動

従来の皮膚重症度によって患者群を分類した結果を表2に示した。昭和51年以降も徐々に軽快傾向（すなわち重症度の大きい症例の数が減少し、重症度の小さい症例の数が増加すること）がみられ、特に昭和55年度には著明な軽快があり、過半数が重症度0となった。ここまですを前回報告しているが、その後、この軽快傾向はさらに進むかと思われたのに事実はそうでなく、56年・57年度には重症度0の症例数は、55年度より少なくなり、やや逆戻りの傾向であった。

次に、われわれが提案した皮膚重症度得点数¹⁾による分類を表3に示した。大体の傾向は表2の皮膚重症度と同様で、昭和55年度に最軽症グループ(0・1点)が6割に達したあと、かえってわずかながら増悪したようである。ただし、6点以上の重症グループは増加せず、2～5点の中等症グループがやや増加した形である。全体の平均点をみても、昭和55年を最低として、あとやや増加しているが、それでも昭和51～54年よりは大幅得点数は低い。

血中 PCB パターンと皮膚重症度得点数

血中 PCB パターンと皮膚症状(重症度)の間に相関性がみられることは、すでに指摘されているが²⁾³⁾⁵⁾、ここでは昭和55～57年度について、患者群を PCB パターンで A, B, BC, C の4群に分け、それぞれのグループの平均重症度得点を算出して、昭和51年度と比較した。その結果を表4に示したが、Aパターンのほうが得点が高く、Cパターンではかなり低いこと、BやBCは症例数が少なく解析しにくい、ほぼCと同様であることが見てとれる。また昭和55年度に大きな改善(得点の減少)があり、その後やや点

表 2. 皮膚重症度による分類

年度 重症度	51年	52年	53年	54年	55年	56年	57年
0	25	30	42	38	56	39	37
0 I	12	10	17	9	15	13	9
I	15	13	16	12	7	18	13
I II	4	7	3	5	1	6	1
II	10	12	9	15	13	11	15
II III	14	11	15	10	6	4	5
III	6	14	20	17	7	12	15
III IV	1	3	0	2	1	3	1
IV	3	2	1	2	1	1	1
計	90	102	123	110	107	107	97

表 3. 皮膚重症度得点数による分類

年度 重症度	51年	52年	53年	54年	55年	56年	57年
0・1	32	32	43	44	63	52	38
2・3	24	35	43	29	25	33	28
4・5	20	22	13	15	14	12	20
6・7	10	7	14	13	2	7	5
8・9	3	5	7	6	2	2	4
10・13	1	0	2	1	1	0	1
14～	1	2	1	2	0	1	1
計	91	103	124	110	107	107	97
平均点	3.12	3.13	3.05	3.10	1.87	2.15	2.69

数が増加済みであることも平均点にあらわれている。昭和57年度はAパターンの症例の得点が大幅に増加している。

血中 PCB パターンと PCB 濃度

血中 PCB の分析値としては、パターンと濃度があるが、PCB 濃度は初期に高値であり、年月の経過とともに低下してきている²⁾。PCB パターンのおのおの濃度の関係については、Aパターンの方が高濃度であることはすでに報告したが²⁾、これを昭和55～57年度についてもしらべ、表5に示した。やはりAパターンが高値で、Bパターンがそれよりも明らかに低値となり、Cパターンはさらに少し低値をとるとみなされる。また濃度はすでに最低プラトー状態に近くなつていて、ほとんど経年変化はないが、わずかなお下がりが気味であるとも考えられる結果であった。

表 4. 血中 PCB パターンと皮膚重症度得点数の相関性

(A) 昭和51年度

パターン	総得点	患者数	平均点
A	190	47	4.04
B	15	14	1.07
BC	24	8	3.00
C	41	21	1.95
計	270	90	3.00*

(B) 昭和55年度

パターン	総得点	患者数	平均点
A	90	36	2.50
B	16	13	1.23
BC	8	7	1.14
C	77	51	1.51
計	191	109	1.79*

(C) 昭和56年度

パターン	総得点	患者数	平均点
A	118	41	2.88
B	21	12	1.75
BC	9	4	2.25
C	48	27	1.78
計	196	84	2.33

(D) 昭和57年度

パターン	総得点	患者数	平均点
A	158	37	4.27
B	23	13	1.77
BC	1	1	1.00
C	45	24	1.88
計	227	75	3.03

* 血中 PCB 分析と皮膚症状検診の一方のみおこなった一部の症例は除外しているので、表 3 の平均得点とはわずかな相違がある。

表 5. 血中 PCB パターンと PCB 濃度の相関性

(A) 昭和51年度

パターン	症例数	平均濃度
A	49	8.08*
B	14	3.00
BC	10	2.20
C	23	3.57
計	96	5.65

(B) 昭和55年度

パターン	症例数	平均濃度
A	39	7.51
B	13	4.23
BC	8	2.00
C	52	3.04
計	112	4.66

(C) 昭和56年度

パターン	症例数	平均濃度
A	46	6.93
B	12	4.08
BC	4	3.00
C	28	2.57
計	90	5.02

(D) 昭和57年度

パターン	症例数	平均濃度
A	40	6.45
B	14	3.79
BC	1	1.00
C	24	2.67
計	79	4.76

* 濃度の単位は ppb

考 察

皮膚重症度別に患者数をみると、初期には座瘡様皮疹が顕著で、Ⅲ、Ⅳが多かったが、その後数年たつてからは、Ⅰ、Ⅱが主体となり、さらにⅠが多くなつて、全体的には重症度の数値が減少する方向に進んで

きた。内容的には、もつとも大きな改善は初期の2年間(昭和45年まで)にみられ、それ以後は徐々に改善が進行している²⁾。昭和50年台に入ってからの変化はわずかであるが、昭和55年度にはやや大幅な改善があり³⁾、あるいは完治に近い状態になるのではないかと期待された。しかし今回、さらにその後2年間

の成績を追加してみると、昭和56年・57年度はむしろ増悪気味であり、結局、昭和50年代に入ってから改善は、きわめてわずかなものでしかなかった。昭和55年度に、なぜこのような一時的「軽快」がみられたのか不明であるが、受診者が毎年入れ替わることや、診察担当者による判定の個人差などを考慮せねばならないであろう。

皮膚重症度得点数をみる方法(表3)でも従来の皮膚重症度と全く平行する結果であつた。やはり昭和55年度の一時的改善と、その後の増悪が平均点に明示されている。全体を一括して評価するようなときは、得点数を算出する方法のほうがむしろ便利で、簡単に平均得点数が計算できるなど、解析に有利な面をもっている。この得点法では、満点(最重症)は21点であるが、6点以上の症例はごくわずかになつており、昭和55年以降は全体の10%未満である。上にのべた最近2年間の「再増悪」にしても、0・1点グループが少し減少し2・3点グループが増加したためのものであつて、これを本質的な増悪と考える必要はないように思われる。

次に血中PCBパターンと皮膚重症度の関係であるが、上にのべた理由により、解析しやすい点数評価法のほうを用いてPCBパターンとの関連性をしらべた。Aパターンのほうがやはり重症である(点数が高い)ことは明瞭である。B, BC, Cは大差なしとみるべきであろう。昭和55年度の一時的得点減少は、いずれのパターンにも同様にみられ、昭和57年度の増悪はAパターンの得点増大に集中しているのが判るが、理由は不明である。今後の経過を見守りたい。もつとも点数の低いCパターン群でも2点近い平均点を有しており、文字通りの完治(得点0)に至ることは、当分望めないようである。

最後にPCBパターンとPCB濃度の関係をみたが、Aパターンが高値で、B, Cの順に低かつた。また年次別の変動がわずかで、重症度のほうでみられた一時的改善や増悪の傾向はほとんどなかつた。PCB分析が可能となつた最初の年(昭和48年)の成績では、Aパターンが平均10.7ppb, Bパターン6.4ppb, Cパターン4.9ppb, 平均8.3ppb²⁾となつており、これと比較すれば1/2に近いレベルまで低下して来ている。日本人の「正常値」も決して0ppbではないので、Cパターン群などはもはや非油症患者と差のない濃度であり、今後もこの程度の数値が続くであろう。Aパターンについては、さらに低下する可能性があると思われる。このPCB濃度と皮膚重症度の関係については、PCBパターンとの関連性から

みて、重症度の大きい症例のほうが濃度が高いということが予測される。表4のパターンと重症度得点数の関係と、ほぼ同様な結果と思われるので、本稿では省略した。しかしこのように濃度が「正常値」に近づいてくると、そのような相関関係は次第に分りにくくなり、やはり症状と相関する因子としては、濃度よりパターン区分の方を重視すべきであろう。

総 括

昭和55年度～57年度の福岡県油症一斉検診の成績をもとにして、皮膚症状や血中PCBパターン・濃度の推移をしらべ、古い検診成績と比較した。

1) 皮膚重症度と皮膚重症度得点評価法とは、きわめて平行した成績を示した。

2) 昭和55年度に著明な改善がみられたが、その後やや皮膚重症度は悪化の傾向を示し、結局、昭和50年代に入ってから改善はわずかであつた。

3) 血中PCBがAパターンの症例は皮膚重症度得点がやや高く、B, BC, Cはほぼ同一の得点で、Aより低かつた。これは、最近3年間だけでなく、古い成績でも同様であつた。

4) 血中PCBがAパターンの症例は、血中濃度がやや高い傾向を示した。従つて、重症者がPCB濃度が高いという相関性が、軽度ながらみとめられた。

文 献

- 1) 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.
- 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) 旭 正一, 利谷昭治, 日野由和夫, 幸田 弘: 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. 福岡医誌 72: 223-229, 1981.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.

油症患児の成長・二次性徴発現

久留米大学医学部小児科学教室

林 真 夫・山 下 文 雄

The Growth and Sexual Maturation of Patients with PCB Poisoning

Masao HAYASHI and Fumio YAMASHITA

Department of Pediatrics, Kurume University School of Medicine, Kurume 830, Japan

The growth and sexual maturation of patients with PCB poisoning were studied. The study group consisted of 13 patients aged 12 to 15 years, 7 boys and 6 girls, who were observed at the annual examination of Yusho in Fukuoka prefecture.

The results were summarized as follows:

1. The height velocity of patients in pre- and adolescent period was 5.2 ± 0.8 (mean $\pm$ SD) and 9.5 ± 0.5 cm, respectively.
2. The ages of manarche were 11 years and 6 months to 13 years (mean: 12 years and 3 months).
3. No relationship between the blood PCB level and growth or sexual maturation was found in these patients.

はじめに

PCB 中毒における体内 PCB およびその誘導体の排泄は比較的遅く、したがって摂食による慢性中毒は成長、発達している小児に種々の影響をおよぼす可能性がある。われわれは今まで、油症児の成長におよぼす影響を検討し、正常児との間に差を認めないと報告してきた¹⁾。今回油症児の成長および二次性徴発現をアンケート調査を含めて検討したので報告する。

対 象

対象は久留米大学小児科で経過観察中の油症児 7 名（男児 2 名、女児 5 名、年令 10 才～15 才、全例乳児期に PCB 摂取）および一斉検診を受診したうちの小児 29 名に対してアンケート調査を行い 11 名（男児 6 名、女児 5 名、年令 11 才～15 才、胎児性 2 名、乳児期以後 9 名、一部は当科経過観察中を含む）の解答を得、合計 13 名を対象に以下の検討を行った（表 1）。

方 法

(1) アンケート調査：成長曲線、二次性徴発現の年令および発現状況を調査した。特に女児においては初潮年令および現在の月経状況を調べた。二次性徴の

程度は Tanner の分類に従い、I～V で表現した²⁾³⁾。

(2) 身長、体重の評価：昭和 45 年度文部省学校統計調査報告書で評価した。

結 果

(1) 油症児の發育曲線を図 1-a, b に示す。体重、身長共に ± 2.0 S.D. 以内で、低身長、高身長を示したものはいない。思春期前の身長 velocity は 5.2 ± 0.8 cm (n=11)、思春期のそれは 9.5 ± 0.5 cm (n=7) であった。体重では肥満をきたしたものの 1 名（女児、肥満度 +26%）、やせをきたしたものの 1 名（女児、-21%）があり、他の患者は -10%～+17% であった。

(2) 二次性徴発現（表 2）

性成熟度は Tanner の分類に従い I～V で表現した。症例 12 において性早発症（男性化）を来しているが、本患児は副腎性器症候群の診断があり、このための性早発症と考えられる。症例 12 以外では性早発、性遅発の診断基準を満たすものはなかった。女児における初潮年令は 11 才 6 カ月～13 才 0 カ月の間にあり、平均 12 才 3 カ月であった。

(3) 油症女児の月経状況（表 3）

油症女児で月経発来しているものは 6 名中 5 名であ

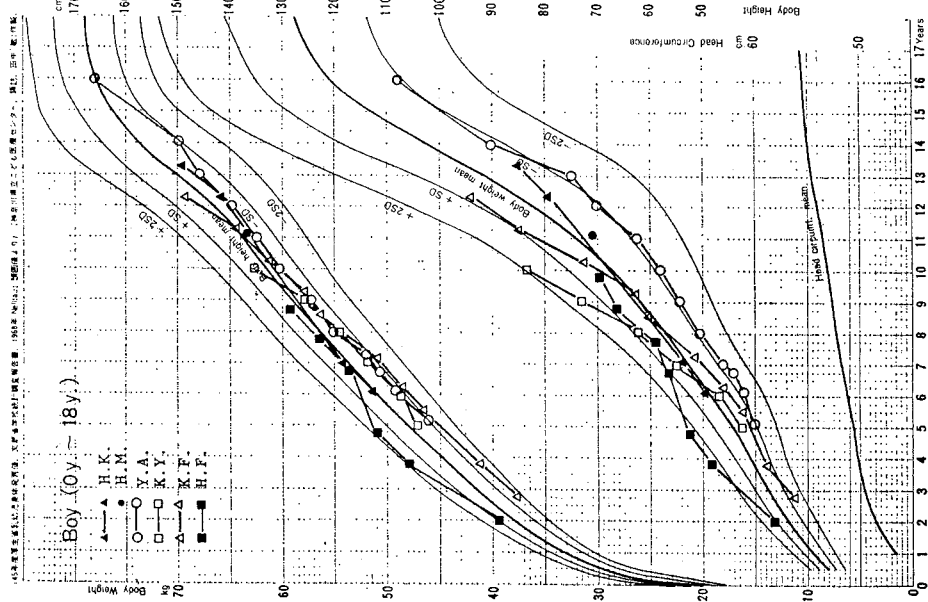


図 1-b 油症男児の発育曲線

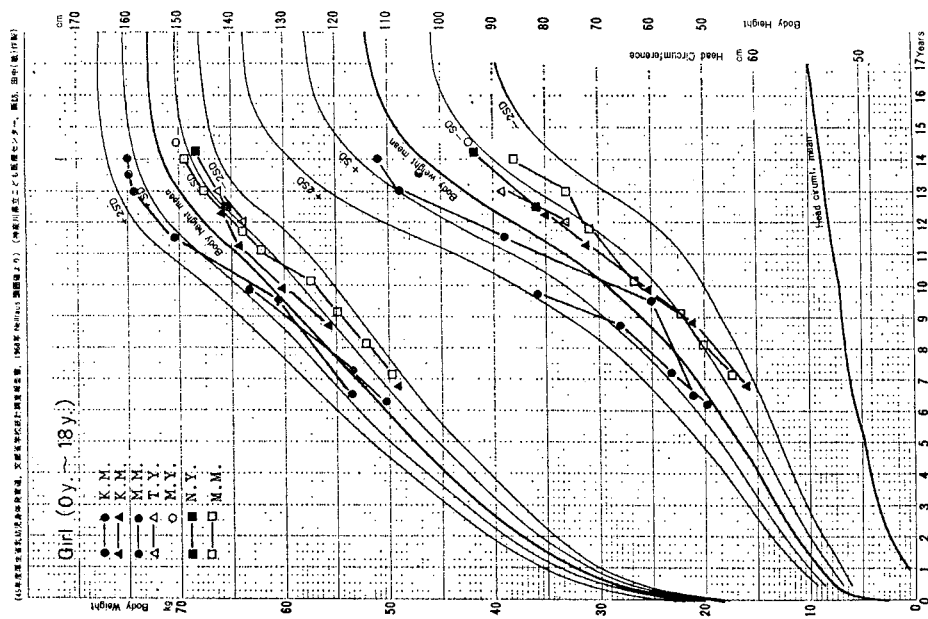


図 1-a 油症女児の発育曲線

表 1. 油症患児と血中 PCB

症 例	年令(才)	性 別	PCB 摂取時期	血中 PCB	そ の 他
1 K. M.	14	女	乳 児 期	2-B	acne with pigmentation
2 M. M.	12	女	"	2-C	"
3 K. M.	9	女	"	1-C	asthma
4 T. Y.	14	女	"	1-B	"
5 M. Y.	14	女	"	1-BC	OD 傾向
6 M. M.	14	女	"	1-C	gingival pigmentation
7 H. K.	12	男	"	3-A	"
8 Y. A.	15	男	"	5-BC	
9 K. Y.	12	男	"	1-C	gingival pigmentation
10 H. F.	11	男	"	0.5-B	けいれん (自家中毒)
11 K. F.	14	男	胎 児 期	3-A	gingival pigmentation
12 T. O.	14	男	乳 児 期	2-C	副腎性器症候群
13 H. M.	12	男	胎 児 期	1-C	gingival pigmentation

表 2. 油症患児と性成熟度

症 例	性	年 令	身 長 (cm)	体 重 (kg)	骨 年 令	性成熟度 (I~V)* ¹ 乳房 恥毛 陰茎	初 潮 年 令
1 K. M.	女	14才0カ月	159.2	51.0	14才6カ月	IV IV	12才6カ月
2 M. M.	女	12才4カ月	141.4	35.0	13才3カ月	III III	11才6カ月
3 K. M.	女	9才10カ月	135.7	36.0	10才3カ月	II II	
4 T. Y.	女	14才5カ月	147.0	42.0		V V	12才3カ月
5 M. Y.	女	14才5カ月	150.9	42.3		IV IV	12才0カ月
6 M. M.	女	14才8カ月	149.0	38.0		IV IV	13才0カ月
7 H. K.	男	12才5カ月	148.4	37.0	12才11カ月	II II	
8 Y. A.	男	15才11カ月	166.0	49.0		IV IV	
9 K. Y.	男	12才11カ月	134.8	36.8	(10才0カ月時)	II II	
10 H. F.	男	11才8カ月	132.5	29.6	(9才9カ月時)	I I	
11 K. F.	男	14才2カ月	148.0	42.0	(12才3カ月時)	III III	
12 T. O.	男	14才6カ月				IV IV(11才時)* ²	
13 H. M.	男	12才6カ月	146.0	34.0		I I	

*¹ reported by Tanner*² 副腎性器症候群

表 3. 油症女児の初潮年令および月経

症 例	年令(才)	初 潮 年 令	周 期 性	経血期間	経 血 量	随 伴 症 状
1 M. M.	14	13才0カ月	不 規 則	10 日	や や 多	下 腹 部 痛
2 T. Y.	14	12才3カ月	+	7 日	普 通	な し
3 M. Y.	14	12才0カ月	不 規 則	不 定	不 明	な し
4 K. M.	14	12才6カ月	+	5~7 日	普 通	な し
5 M. M.	12	11才6カ月	不 規 則	不 定	不 明	下 腹 部 痛

つた。初潮年令は平均 12 才 3 カ月であつた。初潮 発
来からの期間が短く、また経血量など解答しにくい設
問もあり、明確な判定ができないが、周期性の不規則

なもの 3/5、経血期間の不定なもの 2/5、随伴症状の
あるもの 2/5 という結果であつた。

(4) PCB 血中濃度と成長、二次性徴との関係

血中 PCB 濃度と成長, 二次性徴, 性成熟度との間に特別の傾向を示さなかった。また臨床症状との間にも一定の傾向がなかった。

考 察

胎児期～乳児期での PCB 汚染に基づく油症児の発育に関する報告は要約すると, (1) 胎児油症児の女児に低出生体重児が多い¹⁾, (2) 男児の発育に負の影響を与える²⁾, (3) 発育にはあまり影響を与えない⁶⁾ 等である。1970 年油症一斉検診時の発育評価で, 体重は男児 $+1.5 \text{ S.D.} \sim -0.4 \text{ S.D.}$ ($n=27$), 女児 $+0.7 \text{ S.D.} \sim -1.2 \text{ S.D.}$ ($n=29$) で, 肥満度 27.2% の男児 1 例以外は正常範囲内にある。身長では男児 $+1.1 \text{ S.D.} \sim -0.3 \text{ S.D.}$ ($n=27$), 女児 $+1.2 \text{ S.D.} \sim -0.7 \text{ S.D.}$ ($n=29$) に分布し, 身長, 体重共に各グループ間に統計学的有意差を認めていない。また男女比, 油症の重症度の間にも有意差がない。これらの報告をもとにわれわれでの 13 名の患児を比較検討すると, 低身長, 高身長は共に認められず, height velocity も思春期前 $5.2 \pm 0.8 \text{ cm}$, 思春期 $9.5 \pm 0.5 \text{ cm}$ と共に正常の値を示している。1 例に肥満, 1 例にやせがあるが, 共に軽度で, 病的とは認めがたい。血中 PCB 濃度との間にも一定の傾向は認められなかった。すなわち PCB 慢性中毒での成長には正常児との間に差を認めなかった。一方, 油症小児の二次性徴, 性成熟度を検討した報告はまだない。しかしながら PCB がエストロゲン作用を増強する²⁾, また PCB 中毒雌ラットの性周期の乱れ⁷⁾ などの報告があり, 成人女性患者においても過半数に月経周期の異常, 持続日数, 経血量の変化を認める³⁾ との報告があり, 油症小児におけ

る性成熟度の検討は必要である。われわれの検討では, 1 例の副腎性器症候群による性早発症以外は性成熟度に異常を認めていない。5 名の女児月経状況の検討では, 月経発来からの期間が短いため評価はむずかしいが, 初潮年令および, その時の身長, 体重は全例において, 正常範囲内である。また 3 名には何らかの異常を認めているが, これらの結果が有意なものか否かは今後の経過観察を必要とする。

本研究は油症研究費によつてなされたものである。

文 献

- 1) 林 路彰: 母乳汚染. 小児保健研究 38: 328-337, 1980.
- 2) 小松富美子: 塩化ビフェニール (PCB) の女性ホルモン増強作用. 福岡医誌 63: 374-377, 1972.
- 3) 楠田雅彦, 油症と女性. 産科と婦人科 38: 1063-1070, 1971.
- 4) Marshall, W. A. and Tanner, J. M.: Variations in pattern of pubertal changes in girls. Arch. Dis. Child 44: 291-303, 1969.
- 5) Marshall, W. A. and Tanner, J. M.: Variations in the pattern of pubertal changes in boy. Arch. Dis. Child 45: 13-23, 1970.
- 6) 奥村 恂, 平山千里, 鶴澤春生: いわゆる油症 (塩化ビフェニール中毒) の臨床的研究: 一斉検診を中心とした内科所見について. 福岡医誌 62: 123-131, 1971.
- 7) 佐々木順子, 福田芳生: PCB 中毒雌ラットにみる性周期の乱れについて. 医学のあゆみ 112: 250-252, 1979.
- 8) 山下文雄, 林 真夫: 油症児の発育, 骨成熟度. 昭和 55 年度油症研究報告書.
- 9) 吉村健清: 油症児童, 生徒の発育調査. 福岡医誌 62: 109-116, 1971.

油症患者における口腔内色素沈着の経年的変化

九州大学歯学部歯科保存学第一教室

赤峰 昭文・橋口 勇・岸 哲也
古川 猛士・青野 正男

Alteration in Oral Pigmentations of Patients with Yusho

Akifumi AKAMINE, Isamu HASHIGUCHI Tetsuya KISHI,
Takeshi FURUKAWA, Masao AONO

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

We carry out the examination upon the patients with Yusho every year. Picking up the examinations in 1972, 1977 and 1982, we studied on the transitions in the PCB pattern, the PCB concentration and the oral pigmentation in this decade.

1. The blood PCB pattern in the patients is not easy to change. But we found some of those were improved. The blood PCB concentration was decreasing year by year.
2. The incidence of the oral pigmentation was still high in the patients with Yusho.
3. In the 1982 examination, the incidence of the pigmentation in patients' lips reduced by half, compared with that in the 1972 and 1977 examination.
4. We considered that the oral pigmentation might be caused by something endogenous, for instance, the endocrine or the metabolic disturbance.

緒 言

カネミライスオイル中に混入した PCB の摂取による中毒 (PCB 中毒症) である、いわゆる油症において口腔病変としてみられるものは、口腔領域の色素沈着、歯牙の萌出遅延、歯胚欠如、過剰歯、歯根の形態異常などが顕著なものであった⁸⁾。油症が発生して以来、年度毎に油症患者の一斉検診とともに PCB およびその毒性に関する基礎的研究が行われてきている。油症の歯科領域における色素沈着の症状についてはすでに青野¹⁾、曾我⁶⁾、六反田¹²⁾らの報告がなされている。今回は、現在までの研究成果をふまえて、昭和57年度の油症患者の一斉検診時の結果をもとに、昭和47年、昭和52年と過去10年間のデータとともに、血中 PCB パターン、血中濃度ならびに口腔内色素沈着の経年的変化について検討した。

対 象

昭和47年度、52年度および57年度に一斉検診を

受診した油症認定患者のカルテ、口腔写真を資料として用いた。

結 果

油症患者における血中 PCB パターンおよび血中 PCB 濃度の経年的変化についてまとめたのが表1である。対象患者は福岡、北九州および久留米の3地区のものである。油症患者の各パターン別の比率をみると、Aパターン (65%→56%→51%) と BCパターン (5%→5%→1%) は経年的に減少しつつあるが、反対に Bパターン (7%→10%→18%) と Cパターン (22%→29%→30%) は増加しつつあることを示していた。また PCB 血中濃度については、Bパターンだけが 5.0→3.0→3.8 ppb と増減をくり返しているが、他の A, BC, C パターンはすべて徐々に減少している傾向を示していた。また血中濃度が 10 ppb 以上のパターン別の患者数と血中 PCB 濃度の経年的変化についてみたのが表2である。これによると Aパターンでは昭和47年 (25人)、昭和52年 (11人)、昭和57

表 1. 昭和47年, 52年, 57年の血中 PCB パターンおよび血中 PCB 濃度の経年的変化

年 度 パターン	昭 和 47 年		昭 和 52 年		昭 和 57 年	
	人 数 (名)	平均濃度(ppb)	人 数 (名)	平均濃度(ppb)	人 数 (名)	平均濃度(ppb)
A	84 (65%)	8.4	58 (56%)	6.6	40 (51%)	6.5
B	9 (7%)	5.0	10 (10%)	3.0	14 (18%)	3.8
BC	7 (5%)	5.4	5 (5%)	2.2	1 (1%)	1.0
C	29 (22%)	3.4	30 (29%)	3.0	24 (30%)	2.7
計	129	6.9	103	5.0	79	4.8

表 2. 昭和47年, 52年, 57年の血中 PCB 濃度の変化 (血中濃度が10 ppb/ml 以上の患者数)

年 度 パ タ ー ン	昭 和 47 年		昭 和 52 年		昭 和 57 年	
	人 数 (名)	平均濃度(ppb)	人 数 (名)	平均濃度(ppb)	人 数 (名)	平均濃度(ppb)
A	25	15.5	11	13.2	6	14.0
B	1	14.0	0	0	0	0
BC	0	0	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0

年 (6人) と経年的に減少している。そして昭和 57 年の 6 人について調べてみると、最高は 25 ppb で続いて 16 ppb, あとの 4 人は 10~12 ppb の濃度であった。その他の B, BC, C パターンでは昭和 47 年に B パターンが 1 人, 14 ppb を示しただけで, 52 年, 57 年では B, BC, C パターンでは 1 人も 10 ppb 以上の油症患者は認められなかった。続いて昭和 57 年度の血中 PCB パターンの変化を表 3 に示した。ただし, 前回の昭和 56 年度に受診しなかった患者については最後に受診した年度の血中 PCB パターンと昭和 57 年度の血中 PCB パターンを比較した。これによると, A→B, B→C, BC→C に改善したものが 11 名, 不変が 58 名, B→A, C→BC に増悪したものが 2 名という結果であった。つぎに, 昭和 57 年度の油症患者の口腔領域における色素沈着について男女別, 年齢別に分けると表 4 の通りであった。それによると, 受診した油症患者 99 名のうち 74 名 (75%) に色素沈着が認められた。また, 男性と女性の色素沈着の発現率はともに約 75 % とほぼ同じであった。年齢的には男女とも 30 代から 50 代にかけてが高い値を示していた。色素沈着の発現率を歯肉, 口唇, 頬粘膜と部位別に分けたのが表 5 である。そのなかでは歯肉が一番高い値を示していたが, 経年的には減少していた。また, 口唇は昭和 47, 52 年と比べると半減していた。頬粘膜は増減をくり返していた。表 6 は昭和 57 年度の血中 PCB パターンと口腔内色素沈着の発現率を調

べてみたものである。これによると, 発現率は, A パターン 77 %, B パターン 71 %, BC パターン 100

表 3. 昭和57年度の血中 PCB パターンの変化

改 善	不 変	増 悪
A → B	8	A → A 35
B → C	1	B → B 6
BC → C	2	BC → BC 0
		C → C 17
計	11名 (15%)	58名 (82%)
		2名 (3%)

表 4. 昭和57年度の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	3	0	0	0
10 ~ 19	2	5	1	0
20 ~ 29	3	6	0	2
30 ~ 39	5	8	0	4
40 ~ 49	5	10	1	1
50 ~ 59	7	8	3	1
60 ~ 69	4	6	1	6
70 以上	1	1	4	1
計	30名	44名	10名	15名

%, Cパターン79%と各パターンとも高い頻度で色素沈着がみられた。また, 男女別では女性の方が各パターンとも80%以上の高い割合であった。表7は昭

表5. 油症患者の口腔領域における色素沈着の発現率

部位	年度	昭和47年	昭和52年	昭和57年
歯肉		107例(72%)	65例(64%)	62例(63%)
口唇		63例(43%)	47例(47%)	20例(20%)
頬粘膜		13例(9%)	19例(19%)	14例(14%)
患者総数		148名	101名	99名

表6. 昭和57年度の油症患者の血中PCBパターンと口腔内色素沈着の発現

血 中 P C B パターン	男		女		発現率
	色 素 沈 着		色 素 沈 着		
	+	-	+	-	
A	13(72%)	5	17(81%)	4	77%
B	2(50%)	2	8(80%)	2	71%
BC	0	0	1(100%)	0	100%
C	7(78%)	2	12(80%)	3	79%

表7. 昭和57年度の血中PCBパターンと口腔内色素沈着の程度

血中PCBパターン	上顎歯肉				下顎歯肉				口唇				頬粘膜				計
	±	+	++	+++	±	+	++	+++	±	+	++	+++	±	+	++	+++	
A (9ppb以下)	2	11	2	2	0	9	3	2	0	2	2	1	0	5	1	2	44
A (10ppb以上)	0	1	2	0	0	4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	9
B	0	6	2	0	0	7	2	0	0	1	1	1	0	1	0	1	22
BC	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
C	0	11	0	1	0	13	1	2	0	4	0	0	0	1	2	0	35
計(名)	2	30	6	3	0	34	6	4	0	9	3	2	0	7	3	3	
割合(%)	5	73	15	7	0	77	14	9	0	64	21	14	0	54	23	23	

表8. 昭和57年度の血中PCB濃度が10ppb/ml以上の油症患者の口腔領域における色素沈着

No.	PCB濃度	PCBパターン	年齢	性	上顎歯肉	下顎歯肉	口唇	頬粘膜	その他の歯科所見
1	10	A	58	M	++	+	+	-	歯肉出血・腫脹, 歯牙挺出感・歯痛
2	10	A	70	M	-	-	-	-	
3	11	A	41	F	++	+	+	-	歯肉出血・腫脹, 歯牙挺出感
4	12	A	52	M	-	+	-	-	
5	16	A	65	F	-	-	-	-	
6	25	A	47	F	+	+	-	-	

和57年度の血中PCBパターンと口腔内色素沈着の程度について表したものである。これによつて, 色素沈着の程度を部位別にみると, 上顎, 下顎歯肉は(+)が73%, 77%と高率を示していた。また, 口唇, 頬粘膜は64%, 54%と半数以上が(+)であった。(++)の症例数は, 上顎, 下顎歯肉, 口唇, 頬粘膜では順に7%, 9%, 14%, 23%であった。各パターンと色素沈着の程度との相関関係は特にみられなかった。つぎに, 昭和57年度の血中PCB濃度が10ppb以上の油症患者における口腔領域の色素沈着について検索したのが表8である。血中濃度が10ppb以上の患者6人は全てAパターンを示していたが, 表8をみる限りにおいてはパターンと色素沈着との相関性は特にならなかつた。

考 察

まず, 血中PCBパターンおよび血中PCB濃度の経年的変化についてであるが, 表1からAパターンとBCパターンは減少し, 逆にBパターンとCパターンは増加していた。これは表3からも推察されるように, 少数ではあるがAパターンからBパターンへ, またB, BCパターンからCパターンへ移行していったことが一因として考えられる。またPCBパターンの

変化は、改善が15% (11名)、不変が82% (58名)、増悪が3% (2名)であった。このことより、旭ら²⁾、福山⁸⁾らが報告しているように、年月がたつてもPCBパターンはやはり変わりにくく、少人数ではあるが経年的には徐々に改善の方向に向かっているということが再確認された。血中濃度も各パターンともに経年的に減少しており、10 ppb以上の油症患者を昭和47年、52年、57年で比較してみると、Aパターンでは25人→11人→6人と減少している。その他のB、BC、Cパターンでは昭和47年にBパターンが1人、14 ppbを示しただけであとは昭和52、57年とも10 ppb以上は1人もいなかった。旭ら²⁾の報告によると、現在ではカネクロール以外にもPCBはいろいろ使用されており、油症と無関係な正常人でも血中PCB濃度は0ではなく、10 ppb以下の数値であることが多いといわれている。昭和57年に血中PCB濃度を測定した油症患者79人のうち、10 ppb以上を示したのは6人(全てAパターン)であった。これから考えると血中PCB濃度のレベルでみた限り、正常人と油症患者との間には有意の差はあまりなくなってきたといえよう。

つぎに油症患者の口腔領域における色素沈着についてであるが、曾我⁹⁾、六反田¹²⁾らによれば発症後5~6年経過した患者における色素沈着について、健常人に比べると色素沈着の発現率は高く、幾分経年的に減少していると述べている。また福山ら¹⁰⁾は女性の方が発現率が高く、若年者に色素沈着が多くみられたと報告している。昭和57年度の油症患者の色素沈着はやはりこれら先人の報告とほぼ一致している。口腔領域における色素沈着の発現率は、部位別には歯肉が一番多く、口唇、頬粘膜の順であった。表5からもわかるように経年的に減少している傾向が示されている。しかしながら、口唇および頬粘膜での色素沈着を有している油症患者を調べてみると、地域での偏りが多くみられた。これはその地域に特有な現象なのか、あるいは判定の基準にある程度の個人差があるのではないかと考えられる。

続いて血中PCBパターンと口腔内色素沈着の発現についてであるが、福山ら¹⁰⁾は血中PCB濃度とパターンに関連しておおむね色素沈着が発現していることを報告している。また、口腔内色素沈着の発現率は血中PCB濃度の経年的推移とともに、わずかに減少の傾向がみられるとも述べている。表6からいえることは、各パターンともに高頻度に色素沈着がみられ、男性よりも女性の方により高く発現しているようであ

る。表7はPCBパターンと色素沈着の程度を表したものである。旭ら²⁾が皮膚重症度の高い症例はAあるいはBパターンを示し、Cパターンにはほとんどみられないと述べている。しかしながら、このたびの口腔内色素沈着に関しては、各パターンとも平均して(+)が一番高い頻度でみられ、(++)、(+++)は1~3症例ずつしかみられない。各パターンとの相関性はないようである。

以上、述べてきたように昭和57年度一斉検診時の油症患者には各パターンとも依然として高い頻度で口腔内色素沈着が発現している。油症患者における歯肉生検の組織学的所見ではparakeratosisと基底細胞層にmelanocyteの存在や固有層でのmelanophageを観察している⁸⁾。また眼科領域でも油症患者の生検結膜を電顕下に検討し、結膜の基底細胞内にメラニン顆粒が多量に含まれていることより油症患者の結膜異常着色はメラニンの過剰生成に基づくものであらうと述べている⁹⁾。しかしながら、油症患者にみられるような皮膚粘膜の黒褐色の色素沈着は動物実験(ラット、サルなど)での再現が困難なためにその作用機序が未だ明確にされていない。色素沈着の発現機序としては、福山¹⁰⁾、田中⁷⁾らは色素と関係のある内分泌臓器の変調または代謝性障害によるものではないかと推察している。アジソン病は皮膚口腔粘膜に黒褐色の色素沈着を生じるもので、これは慢性副腎皮質機能低下が原因とされている疾患である。

ラットに³H-カネクロールを経口投与して、その臓器分布を観察した成績では、脂肪組織、皮膚、肝臓に続いて副腎に高い値を示したことを報告している¹¹⁾。またカネクロール400を投与したラットの副腎では、副腎皮質ホルモンの合成能力が低下したと述べている⁹⁾。一方、油症患者にRapid ACTH試験を行った結果としては、多少機能が低下していることを疑わせる症例はあつたが、高度の副腎皮質機能低下を示唆する所見は認められなかつたと報告している¹³⁾。また肝臓のノルエピネフリンが減少することにより、カテコールアミン系の代謝が全身的に変わるならば、それと関係のある色素系の代謝も影響を受ける。すなわち、ノルエピネフリンをつくる方向に進むべきものが、メラニンをつくる方向に多く向けられるようになって黒色化がおこるのではないかと推察している⁴⁾。

一般に内分泌臓器はいずれも脂質を多く含むのでPCBが分布し、ある量以上になると直接障害をこうむつたり、また肝臓の酵素誘導の影響や自律神経系変調の結果や、一つのホルモンに異常がおこると他のホ

ルモンとのバランスがくずれたりするといわれている⁷⁾。そこでメラニン代謝と重要な関係をもっている **MSH**, **ACTH**, グルココルチコイド, カテコールアミンなどの内分泌に影響を与えた結果, 色素沈着が発現したという可能性が考えられる。

また一方, 油症 (**PCB** 中毒) は脂質代謝異常でもある。油症の皮膚粘膜の広範な病変は脂肪成分を分泌する腺, すなわち皮脂腺, モントゴメリー腺, マイボーム腺などの組織に **PCB** が排泄されてそれらの腺の分泌増加をきたしたり, **PCB** が腺に出てくると局所の脂質代謝に障害を与え, 角化がおこるなどの異常な代謝を招いたものによると考えられている⁷⁾。サルによる **PCB** 中毒実験でも歯肉上皮に角化の位置異常 (**dyskeratosis**) や角化嚢胞 (**keratocyst**) の形成などの所見を観察している⁹⁾。こういった代謝性障害が歯肉上皮内のメラノサイトに作用し, メラニンの過剰生成という一因をなしたという可能性も考えられる。しかしながら, **PCB** による色素沈着の発現機序については未だ推察の域を出ていない。動物実験系での確立が望まれるところである。

臨床での対症療法としては, すでに福山ら⁹⁾ が歯肉の色素沈着除去療法を試みている。しかしながら, このような外科的処置を施しても術後2~3カ月あるいは1年すると再発をみている。この再発については **PCB** 投与におけるサルの実験で, 一度歯肉生検を行った後にまた再生, 増殖してきた歯肉を採取して組織学的に検索すると, 同じように角化の位置異常 (**dyskeratosis**) や角化嚢胞 (**keratocyst**) が形成されているのと類似している。すなわち, 油症患者の有色素沈着歯肉を **grinding** しても体内に蓄積している **PCB** が排泄経路としての歯肉上皮に蓄積・分布してくると, 上述した内分泌や代謝性障害などの原因で再び歯肉に色素沈着がおこるものと推察される。これからいえるように, 色素沈着の本質的な根治療法としては色素沈着の因子となつている **PCB** の体外排泄をはかることが先決であろう。

結 語

昭和57年度油症患者の一斉検診 (追跡調査) の結果と昭和47年度, 52年度の一斉検診での結果から, 最近10年間の血中 **PCB** パターン, 濃度と口腔領域における色素沈着の経年的推移について報告した。

1. **PCB** パターンは経年的に変化しにくい。しかしながら, 少数ではあるが改善された (**A**→**B**, **B**, **BC**→**C**) 症例があつた。また血中 **PCB** 濃度は経年的に減少していた。

2. 油症患者における口腔領域の色素沈着の発現率は依然として高率であり, 部位別には歯肉が一番多く, 口唇, 頬粘膜の順であつた。

3. 口唇は昭和47, 52年度と比較すると半減していた。しかしながら, これは地域性および判定者による個人差などの点も一考を要するかもしれない。

4. 色素沈着の発現機序としては内分泌性あるいは代謝性障害などの内因性の要素が考えられる。

文 献

- 1) 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.
- 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) 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.
- 4) 糸川嘉則: **PCB** 中毒に関する実験的研究. 日医師会誌 74: 399-414, 1975.
- 5) Inao, S.: Adrenocortical insufficiency induced in rats by prolonged feeding of **PCB**. *Kumamoto Med. J.*, 23: 27, 1970.
- 6) 曾我宏世: 塩化ビフェニール中毒症 (油症) の口腔現象 第一報 口腔粘膜所見と皮膚症状について. 日本口腔科学会誌 25: 64-73, 1976.
- 7) 田中 潔: **PCB** と複合汚染の医学. 九大出版会, 福岡, 1976.
- 8) 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.
- 9) 福山 宏, 阿南ゆみ子, 赤峰昭文, 青野正男: 実験的 **PCB** 中毒サルにおける口腔病変について. 福岡医誌 70: 161-171, 1979.
- 10) 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.
- 11) 吉村英敏, ほか: ³H-カネクロールのラットにおける体内分布および排泄について. 福岡医誌 62: 12-19, 1971.
- 12) 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.
- 13) 渡辺 斌, 入江慎二, 中島敏郎, 勝本司馬之助: 油症の内分泌機能. 福岡医誌 62: 159-162, 1971.

油症患者と職業的 PCB 汚染者の血中 PCB・PCQ と健康状態について

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

井上 義人・平山 八郎・吉塚 敬子

神田 恵

PCBs and PCQs in the Blood of Yusho Patients and Workers Occupationally Exposed to PCBs and their Health Status

Makoto TAKAMATSU, Mariko OKI, Katsuyoshi MAEDA,
Yoshito INOUE, Hachiro HIRAYAMA, Keiko YOSHIZUKA
and Megumi KANDA

*Department of Environmental Health, Kurume University
School of Medicine, Kurume 830, Japan*

PCB and PCQ levels in blood and health status were compared between the workers occupationally exposed to PCBs, their families, and Yusho patients in Fukuoka prefecture and Taiwan.

The obtained results were as follows:

- 1) The PCB concentrations in plasma ranged from 2 to 521 ppb for the workers. They are higher than the concentrations of typical Yusho patients and unexposed people.
- 2) The clinical findings and subjective symptoms in Yusho were not observed in the workers.
- 3) As for the temporal change of PCB levels, Yusho children showed remarkable decrease with their growth, but Yusho adults had no tendency to decrease. The tendency was observed in the workers, although an old worker with malignant tumor showed a rapid increase of PCB level after he had fallen into cachexic state.
- 4) The PCQ concentrations in blood ranged from 0.34 to 5.7 ppb for typical Japanese Yusho patients, and ranged from 4.5 to 11.8 ppb for Taiwanese Yusho patients, although those were less than 0.02 ppb for the workers.

From these results, we discussed the relationship between the health status of the subjects and their contaminations by PCBs or related compounds.

緒 言

最近、PCB およびその関連物質である PCQ、PCDF の微量定量分析法が確立され、特に血中 PCQ 濃度は油症原因油を摂取したか否かの判定に際し有力な情報を提供することが極本らによつて明らかにされた⁶⁾。著者らも油症患者と健常者の血液の分析を行い、上記のことを確認した¹⁰⁾。

これまで著者らは 1974 年に京都西陣の繊維産業の労働者のなかに Kanechlor (KC)-500 タイプの PCB によつて高度に汚染されたものがあることを見出し、更に 1976 年には大阪の塗料工場で KC-600 を船底塗料の成分の一部に使用したため、労働者の中に PCB に汚染したものがいることを知つて、それぞれの労働者について調査を行った。対象者の中には、福岡県下の油症患者よりも、はるかに高い血漿 PCB 濃

度を示すものもいるが、彼らの臨床所見は油症患者に比べると極めて軽微であつた。このため産業労働者について、血中 PCB と PCQ を測定し、福岡県や台湾省の油症患者の調査によつて得られた血中 PCB および PCQ の成績と比較し、彼らの臨床所見も考え併せて油症の特異性に触れてみたい。

対象と方法

1. 対象

下記の対象について血液の分析ならびに健康調査を行った。

(1) 職業的 PCB 汚染者

Aグループ：京都市で燃糸作業に従事する労働者 63 名（採血：1974～1975 年）。うち高濃度の PCB レベルをもつ者と彼らの家族については、1975 年から 1982 年にかけて追跡調査を行った。

Bグループ：金沢および一の宮市で燃糸作業に従事する労働者 42 名（採血：1975 年）。

Cグループ：大阪の塗料工場労働者 7 名（採血：1976 年）。1982 年にも同じ対象について再調査を行った。

(2) 油症患者

Dグループ：福岡県在住の典型的油症患者で油症一斉検診の受診者 23 名（採血：1975～1978 年）。うち一家族については 1973 年から 1982 年まで経年的に調査した。ただし 1978 年の測定は油症 PCB 分析班の他の機関で行われた。

Eグループ：台湾省台中の油症患者 8 名（採血：1980～1981 年）。

(3) 健常者

Fグループ：福岡県在住の健常者（1975～1977 年に 24 名、1979～1980 年に 40 名採血）。

2. 分析方法

1 Jensen 法変法¹⁾による PCB の分析

1978 年までの試料はこの方法で分析された。血漿 4 ml にアセトニトリル、ギ酸、n-ヘキサンを加え、振とう後遠心分離して n-ヘキサン層を分離する。下層を n-ヘキサンで再度抽出した後、n-ヘキサン層を合して発煙硫酸を加え、転倒混和後 n-ヘキサンを分離し、1 ml に濃縮する。n-ヘキサン濃縮液は 2 g シリカゲルドライカラムに添加し、n-ヘキサンおよびジエチルエーテル・n-ヘキサン（1：9 v/v）で溶出させ、PCB、*pp'*-DDE と BHC、*pp'*-DDE、*pp'*-DDT 分画に分離する。PCB 分画は適当量に濃縮後、ECD-ガスクロに注入し、*pp'*-DDE より保持時間の長いピー

クについて KC-500 あるいは KC-500+600（1：1）を標準物質としてピーク高の総和により定量を行った。

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、PCQ の分析（フロリジルカラム法）

榎本ら²⁾の方法に準じて行った。すなわち、全血は約 10 g、血漿は約 5 g を試料としてアルカリ分解し、n-ヘキサンで抽出する。抽出液は水洗後、脱水、濃縮を行う。湿式法により 130°C で一夜活性化したフロリジル（6 g）と無水硫酸ナトリウム（3 g）を充填した内径 1 cm のカラムに、n-ヘキサン濃縮液を流入し、n-ヘキサン約 60 ml で PCB を、4%ジエチルエーテル・n-ヘキサン 45 ml で PCQ を、ついでアセトン 80 ml で PCDF を溶出させる。PCB は 2 の（1）に記したピーク高法により定量した。

PCQ については 5 塩化アンチモンで完全塩素化を行い、生成した ODCQ（Octadecachloroquaterphenyl）分画を n-ヘキサンで抽出する。さらに clean-up のため 5 g のアルミナカラムクロマトグラフィーにかけ、2%塩化メチレン・n-ヘキサン約 45 ml で ODCQ 分画を溶出させる。PCQ の定量はガスクロマトグラムの 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。

なお著者らは従来から血中 PCB の分析には Jensen 法変法を用いてきたので、フロリジルカラム法を用いるにあたり、両分析方法の回収率およびガスクロマトグラムのピークパターンの差異を検討した。KC-500 および KC-500+600（1：1）を調査対象にみられるレベルで血漿に添加して分析したところ、回収率は両方法とも 90%以上でその PCB パターンもよく一致しており、両方法により得られたデータは相互に比較可能であつた。

3 ガスクロマトグラフィーの装置および測定条件

装置は ECD(⁶³Ni) 付きの島津 GC-4BM, GC-5A を使用した。

PCB 分析には 1.5% SE-30 on Chromosorb W あるいは 2% OV-1 on Gaschrom Q を充填したガラスカラム（2 m×3 mm i.d. あるいは 1.8 m×2 mm i.d.）を用い、カラム温度は 200°C に保った。2% Apiezon L on Varaport 30 を充填したガラスカラム（5 m×2 mm i.d.）はカラム温度を 250°C に設定して使用した。

PCQ 分析には 2% OV-210 on Gaschrom Q を充填したガラスカラム（38 cm×2.6 mm i.d. あるいは 50 cm×2.2 mm i.d.）を用い、カラム温度を 260～

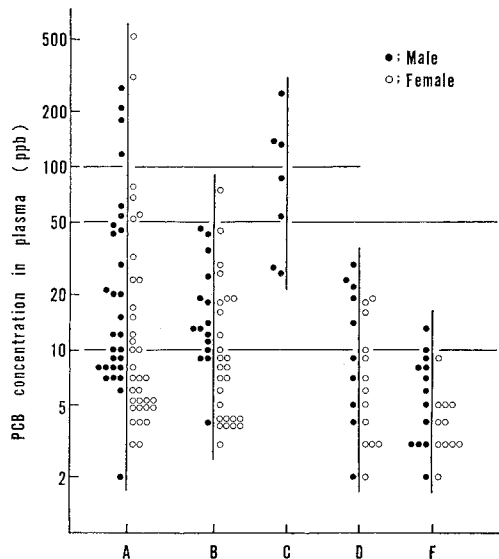


Fig. 1. Distribution of PCB concentrations of Group A-F.

- A: Workers engaged in the production of silk thread for "Nishijin-ori" of Kyoto
 B: Workers engaged in the production of silk or wool thread in Kanazawa or Ichinomiya
 C: Workers making marine paint in Osaka
 D: Typical Yusho patients in Fukuoka prefecture
 F: Unexposed people in Fukuoka prefecture

265°C に設定した。

結 果

1. 血漿中 PCB

燃糸および塗料製造労働者 (A~Cグループ)、福岡県在住の典型的油症患者 (Dグループ) および健康者 (Fグループ) の血漿中 PCB 濃度の分布を Fig. 1 に示した。各々の PCB 濃度の範囲は A グループから順に、2~521, 3~75, 26~252, 2~29, 2~13 ppb であり、D および F グループにはみられない 50 ppb 以上のものが A グループでは 63 名中 12 名 (19%)、C グループでは 7 名中 5 名に認められた。Mann-Whitney の U テストでは、A, B および C グループの PCB レベルは健康者 (F グループ) のそれより有意に高く ($p < 0.01$)、A および C グループの PCB レベルは典型的な油症患者 (D グループ) のそれより有意に高くなっていた ($p < 0.05$)。

PCB パターンについてみると、燃糸労働者 (A, B グループ) は KC-500 タイプを示した。つまり 5 塩

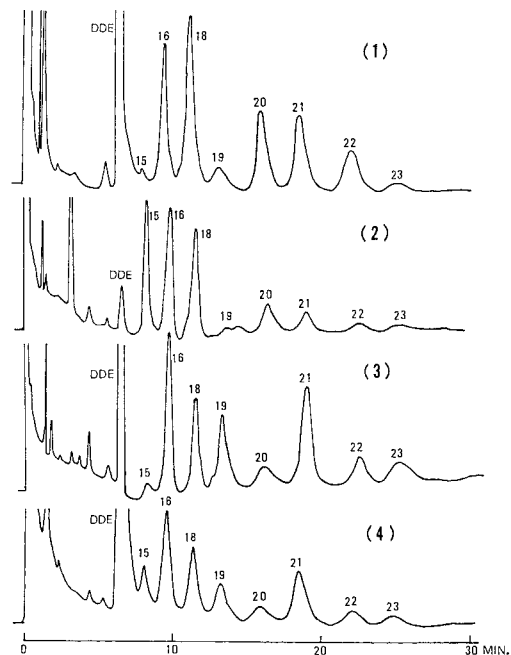


Fig. 2. Gaschromatograms of PCB in blood.

- (1): Typical Yusho patient in Japan in Group D
 (2): Worker engaged in the production of silk thread in Group A
 (3): Worker making paint in Group C
 (4): Unexposed person in Group F

化および 6 塩化ビフェニールの割合が高く、7 塩化および 8 塩化ビフェニールの含有率は低かった。塗料製造労働者 (C グループ) では、逆に 5 塩化ビフェニールの割合が低く、高塩素の PCB が多い傾向を示し、このパターンは主な汚染源である KC-600 のパターンと類似性が高かった。こうした傾向は 1982 年の再調査においても確認され油症患者や健康人の PCB パターンと異なっていた。Fig. 2 には日本の典型的油症患者、燃糸労働者、塗料製造労働者 (以上 1982 年採血) および健康者 (1979 年採血) の OV-1 カラムによる血中 PCB のガスクロマトグラムを示した。また Fig. 3 には各グループ間で差が比較的大きいピーク 15, 20 成分のピーク 16 成分に対するパーセンテージの関係を示した。この PCB パターンの解析は、OV-1 カラムによる鶴川らの数値化法¹¹⁾ によって行つた。

Fig. 2 における (1) の油症患者の PCB パターンの特徴をみるとピーク 15 成分が少なく、ピーク 20 成分が比較的多いが、(2) の燃糸労働者ではピーク 15 成分の割合が高く、(3) の塗料製造労働者では油症同様ピーク 15 成分の割合が低く、ピーク 20 成分の割合も

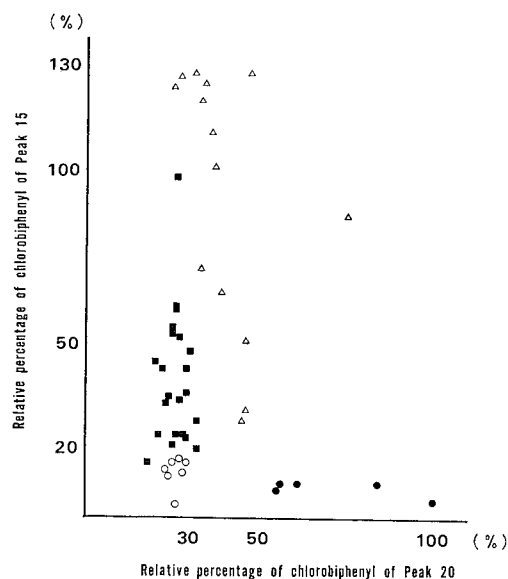


Fig. 3. Relationship between chlorobiphenyl of peak 15 and that of peak 20 (Peak 16 was defined as 100%)

- : Yusho patients in Group D (N=5)
- △: Workers and their families in Group A (N=14)
- : Workers in Group C (N=7)
- : Unexposed people in Group F (N=22)

低くなっている。この血中 PCB 成分の特徴は Fig. 3 に示した解析によつてより明確にされた。なお、Fig. 3 の解析において、産業労働者は血漿を用いているが 5 名の産業労働者について全血と血漿で PCB パターンを比較したところピーク 15, 20 成分は非常によく一致していたので、各グループの特徴をとらえるのに問題はないと思われる。

2. 血中 PCB 濃度の経年変化

擦糸労働者 (Aグループ) のうち高い PCB レベルをもつ者の経年変化を示したのが Fig. 4 である。同じ印で示された対象は同じ事業所に属している事を示す。明らかに PCB 値が減少している例もあるが、一般的に、その減少は緩慢である。Fig. 4 の中に黒丸 (●) で示した症例は 1977 年に急激な血中 PCB 値の増加を示しているが、これは老人で、悪性腫瘍のため急激に衰弱したからであろう。

Fig. 5 には塗料製造労働者 (Cグループ) の PCB 値の変化を示した。7 例とも 1976 年から 1982 年にかけて減少している。

Fig. 6 は典型的な油症患者家族の PCB 値の経年変化を示している。2 名の子供は明らかな減少を示しているが、大人の PCB レベルはほぼ横ばい状態であ

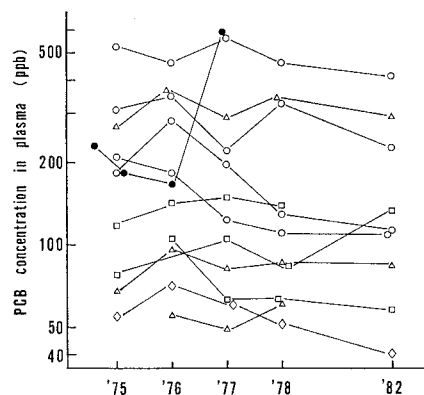


Fig. 4. Temporal change of PCB level in Group A.

Subjects with the same mark were working in the same work-place.

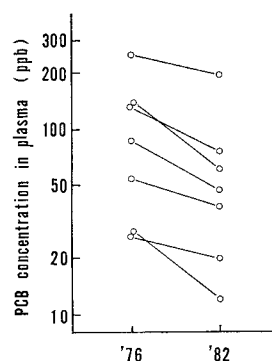


Fig. 5. Temporal change of PCB level in Group C.

る。

3. 生化学的検査並びに健診結果

1) 擦糸作業労働者 (Aグループ)

高い PCB レベルを有する労働者およびその家族を中心に 1977 年と 1982 年の結果について述べる。

a) 1977 年の調査: 19 名について行つた。自覚所見は特になく、他覚所見において痤瘡様皮疹を有する者が 5 名いたが、うち 2 名は思春期であつた。爪に軽度の色素沈着のある者 1 者を認めた。生化学検査では、19 名中 10 名のもので血清トリグリセライド値が正常範囲を超えていたが、PCB レベルと有意な相関は認められなかつた。

b) 1982 年の調査: 1977 年に調査した 13 名を含む 14 名について行つた。吹出物がでやすいと訴える者 2 名、手足の関節が痛む者 1 名が認められたが、他覚所見においては 3 名の背部に数個の皮疹が認められる程度で色素沈着等は見られなかつた。

2) 塗料製造労働者 (Cグループ)

7名全員について調査を行った。

a) 1976年の調査: 7名中、血漿中 PCB 値が 28 ppb という、このグループでは低値であつた労働者の自他覚所見が最も強くあらわれていた。すなわち、顔面、頸部、背部に痤瘡様皮疹を 10 数個認め、口腔内に色素沈着があり、手掌発汗も著明であつた。また数名に軽度の色素沈着がみられた。血漿中 PCB 値が 252 ppb という労働者の血清トリグリセライド値は正常範囲を越えていた。

b) 1982年の調査: 血漿中 PCB 値が 12 ppb (1976年の値は 28 ppb) の者に全身の疲労感、頭痛、腹痛、手足のしびれ等の愁訴が多かつた。他覚所見でも痤瘡様皮疹や歯肉の色素沈着が認められた。軽度の痤瘡様皮疹あるいは歯肉の色素沈着は他の 2 名にも認められた。しかし血中 PCB 値の高いものは臨床所見も顕著であるという関係はみられなかつた。

3) 福岡県在住の油症患者 (Dグループ)

Fig. 6 で PCB 値の経年変化をみた一族について、油症発症後 6 年を経過した 1973 年から 1982 年までの油症検診時の所見をみると、子供の所見は比較的軽く、大人については腹痛の訴え、歯肉や顔面の色素沈着、黒色面皰、軽度の眼科所見等が持続している場合もあつた。

4. 血中 PCQ 濃度

Table 1 に血中 PCB と PCQ レベルを示した。なお、A および C グループでは血漿レベルで、他のグループは全血レベルで濃度測定が行われた。福岡県および台湾の油症患者からはすべて PCQ が検出された

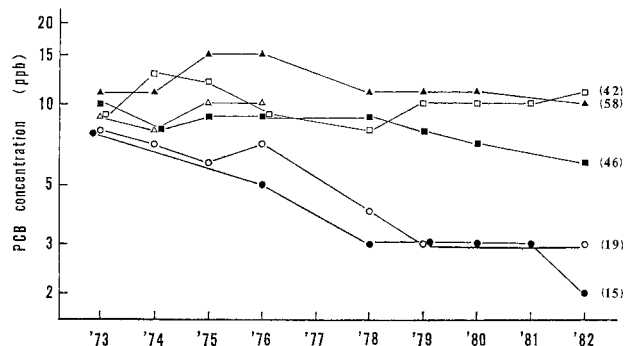


Fig. 6. Temporal change of PCB level of a certain family belonging to Group D (Some data obtained in the plasma base in 1973-1976 were converted into the whole blood base. Age in 1982 is shown in a parenthesis.)

が、台湾の油症患者の PCB および PCQ の値の方が高値であつた。一方、燃系労働者とその家族および塗料製造労働者は高い PCB レベルを示しながら PCQ は検出されなかつた (0.02 ppb 未満)。また健常者からも PCQ は検出されなかつた。

考 察

油症は PCB とその関連化合物 (PCDF, PCQ 等) を含有した油を経口摂取したことによつておこつた中毒である⁸⁾⁹⁾。一方著者らが調査した燃系企業の労働者は KC-500 タイプの PCB によつて、塗料工場の労働者は主に KC-600 によつて汚染を受けていた⁴⁾。塗料工場や京都の燃系企業の労働者の中には油症患者よりはるかに高い血中 PCB 濃度を示すものがいた。しかし、金沢や一の宮の燃系労働者では京都ほど高い PCB レベルはみられなかつたが、PCB 汚染は存在していた。燃系工業における PCB 汚染は一つにはり

Table 1. PCB and PCQ levels in the blood of Yusho patients, workers occupationally exposed to PCB, and unexposed people

Subjects	N	Period after Termination of Exposure (yr)	PCB level (ppb)		PCQ level (ppb)	
			Range	Mean $\pm$ S. D.	Range	Mean $\pm$ S. D.
Yusho patients in Japan (Group D)	5	14	2.0-11.0	6.3 $\pm$ 4.1	0.34-5.7	2.7 $\pm$ 2.2
Yusho patients in Taiwan (Group E)	3	1	48.0-78.0	62.6 $\pm$ 15.0	10.2-11.8	10.8 $\pm$ 0.89
	5	1.5-2	26.1-71.8	55.4 $\pm$ 18.7	4.5-7.8	5.6 $\pm$ 1.4
Workers and their families (Group A)	14	not clear	6-403	111.5 $\pm$ 117.3	<0.02	
Workers (Group C)	7	10	12-196	64.3 $\pm$ 62.2	<0.02	
Unexposed people (Group F)	40		1.3-5.8	3.4 $\pm$ 1.1	<0.02	

ングオイルとして使用された特定商品の中に PCB が混入していたことと、一つにはスピンドルオイルにも同じく PCB が混入していたことが原因であることが明らかにされており⁴⁾、このような PCB 汚染は他の地区にも広がっているものと考えられる。

さて血中 PCB 濃度の経年変化について本調査では次のことが明らかにされた。すなわち (1) 油症患者では大人の場合は顕著な低下は認められなかったが、成長期にある子供は約 10 年間に血中 PCB が 1/3～1/4 のレベルに低下していた。(2) 燃糸労働者の場合では全体的に低下の傾向が認められたが、悪性腫瘍に罹病し、衰弱とともに血中 PCB 濃度が急激に増加した例も認められた。(3) 塗料製造労働者では 6 年の間に全例で血中 PCB 濃度が低下した。

梅田ら¹²⁾ は 1972 年から 1977 年までの成績で緩慢な血中 PCB 濃度の低下を認めており、早瀬ら²⁾ の 1974 年度から 1976 年度にかけての成績では低下傾向を認めず、血中 PCB 濃度の経年変化については明確な傾向は示されていない。

残留性の高い物質の体内濃度の経時的推移を追跡する場合、そのレベルを決定する要因として、(i) 新たな体内への摂取と体外への排泄、代謝のバランス、(ii) その物質が蓄積する身体の成長、肥満またはい瘦に伴う、「希釈」または「濃縮」効果の二側面が重要となる。上記にまとめた結果のうち、(1) の子供については、成長、体重増に伴う「希釈」効果が、血中 PCB レベルの経時的低下に大きな影響をもたらしたと考えられ、(2) の悪性腫瘍罹患例では、衰弱、体重減少に伴う「濃縮」効果が血中 PCB レベルの急激な上昇に大きく関与したと推測される。薬師寺ら¹³⁾ は職業的に PCB に暴露された婦人労働者の生んだ子供の血中 PCB 濃度についての経時変化を観察し、上記の「希釈」効果が関与していることを報告しており、油症患者における著者らの観察と一致している。油症患者の大人では血中レベルがすでに低下してしまつたためか、著明な血中レベルの変化は認められないが、これより血中レベルが高い工場労働者では経年的な PCB レベルの低下は油症患者より顕著であつた。このことは血中 PCB 濃度の経時変化に関与する因子として、血中 PCB レベルそれ自体も無視しえないことを示唆している。

次に自覚所見についてみると、Fig. 6 の油症患者には発症から 10 数年を経過した現在でも色素沈着や黒色面皰が残っているが、発症当時のような激しい症状は改善してきている。しかし、PCB 濃度のはる

かに高い燃糸および塗料製造労働者の症状は上記の油症患者のそれより軽微であつた。塗料製造労働者は燃糸労働者に比べてやや愁訴が多く、皮膚所見等を有する者もいた。しかし、これには製造工程で用いられる有機溶剤による長期暴露の影響も無視しえないと思われる³⁾。

Table 1 に示したように、油症患者の全例から PCQ が検出されたのに対し、燃糸および塗料製造労働者および健康者の PCQ レベルは検出限界の 0.02 ppb 未満であつた。樫本ら⁶⁾ の PCQ に関する報告と宮田ら⁸⁾ の PCQ および PCDF 生成に関する報告を参考にすれば、本研究で調査した燃糸および塗料製造労働者は油症原因油タイプの PCB 汚染を受けていないと思われ、PCDF の暴露も受けていないと推測される。樫本ら⁵⁾⁷⁾ の研究によれば油症発現の主因は毒性の強い PCDF であると考えられている。今回調査した燃糸および塗料製造労働者が高い PCB レベルを示すにもかかわらずその臨床所見が軽微であつたことは毒性の強い PCDF に暴露されていなかったためと思われる。

総 括

油症患者と職業的に PCB 暴露を受けた燃糸および塗料製造労働者の血中 PCB 濃度の経年変化を追跡し、かつ血中 PCQ の測定と健康調査を行い、次の結果を得た。

1) 京都西陣の燃糸労働者とその家族および塗料製造労働者の中には血中 PCB 濃度が日本の油症患者よりはるかに高い者がいた。

2) 上記の工場労働者には油症特有の症状や所見はほとんど認められなかった。

3) 血中 PCB 濃度の経年変化では成長期にある小児油症患者で、著明な血中レベルの低下がみられ、成人油症患者ではほぼ横ばい状態であつた。工場労働者の血中 PCB レベルは全般的には低下したが、衰弱の激しかった 1 例では血中レベルの上昇を認めた。

4) 台湾および典型的な日本の油症患者血液の全例から PCQ が検出されたが、工場労働者は高い血中 PCB レベルを示すにもかかわらず血中 PCQ 濃度は 0.02 ppb 未満であつた。

以上の結果に基づき、血中 PCB レベルの経年変化および油症と職業的 PCB 汚染の相違について考察した。

稿を終るに臨み、血液を提供していただいた皆様に

感謝いたします。また本研究をなすにあたり石橋財団ならびに日本私学振興財団の助成をうけました。厚く御礼を申し上げます。

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(6)：662-678, 1977.
- 2) 早淵仁美，他：油症患者における血中 PCB 濃度の経年変化。日衛誌 33(1)：189, 1978.
- 3) 原 一郎，他：塗料製造工場における PCB 作業者の健康調査。大阪府立公衛研所報 労働衛生編 17：11-21, 1979.
- 4) 平山八郎：PCB に汚染された産業労働者の血漿中 PCB ガスクロマトグラムのパターン解析。久留米医誌 41(1)：1-14, 1978.
- 5) Hori, S. et al.: Effect of polychlorinated biphenyls and polychlorinated quaterphenyls in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). Toxicology 24(2)：123-139, 1982.
- 6) 榎本 隆，宮田秀明，福島成彦，国田信治：油症患者と他の PCB 汚染者の残留塩素化合物の相異。福岡医誌 72(4)：198-204, 1981.
- 7) Kashimoto, T. et al.: Role of polychlorinated dibenzofuran in Yusho (PCB poisoning). Arch. Environ. Health 36(6)：321-326, 1981.
- 8) 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.
- 9) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Chlorinated dibenzofurans in Kane-chlor and rice oils used by patients with Yusho. Fukuoka Acta Med. 66：593-599, 1975.
- 10) 高松 誠，沖真理子，前田勝義，榎本 隆：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。福岡医誌 72(4)：192-197, 1981.
- 11) 鶴川昌弘，中村彰夫，榎本 隆：PCB の数値化法に関する研究。食衛誌 14：415-424, 1973.
- 12) 梅田玄勝，他：血中 PCB の経年変化と 52 年度の自主検診結果。日衛誌 33(1)：190, 1978.
- 13) Yakushiji, T. et al.: Long-term studies on blood PCB levels of the children and their mothers occupationally exposed to PCBs. Proceedings of the Eighth International Conference of Occupational Health in the Chemical Industry 317-322, 1980.

福岡県における油症検診データの統計解析

福岡県衛生公害センター

片岡 恭一郎・大久保 彰 人

篠原 志郎・高橋 克巳

第一薬科大学物理分析学教室

増田 義人

Statistical Analyses of the Annual Examination Data for Yusho in Fukuoka

Kyoichiro KATAOKA, Akito OHKUBO,
Shiro SHINOHARA and Katumi TAKAHASHI

*Fukuoka Environmental Research Center, 39, Mukaisano,
Dazaifu, 818-01, Japan*

Yoshito MASUDA

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

Some characteristics in the correlation between the PCB concentration in blood and the gas chromatographic peak pattern of PCBs were investigated for 1834 persons who had been examined at the annual health examination for Yusho from 1973 to 1980. The correlations between the PCQ concentration in blood and the clinical findings or other factors on the patients were also examined. The results are as the followings.

1) On the basis of the peak pattern of PCBs on gas chromatograms, the PCB concentrations of 493 persons classified to Type A were significantly higher than that of Type B, BC, or C ($p < 0.01$).

2) Out of 133 persons, 104 showed no change in the Type of PCB peak patterns during the period from 1973 to 1980.

3) The coefficients of correlations between the concentrations of PCQs and PCBs were higher than 0.8, and those between the PCQ concentration and the PCB peak pattern were higher than 0.6 in the years from 1973 to 1980. However, the coefficients of correlations between the PCQ concentration and the symptoms of dermatology or ophthalmology resulted in 0.2~0.6.

4) The coefficients of multiple correlation were also calculated between the concentration of PCBs or PCQs and the scores of acneform-eruption, ocular signs, pigmentation, subjective and objective findings, and the quantities of β -lipoprotein, GOT and neutral fat. The highest coefficient ($R=0.683$) was observed on the multiple correlation between the combination of subjective findings, ocular signs, acneform-eruption and β -lipoprotein and the PCQ concentration in the blood of female.

緒 言

昭和 47 年 10 月から油症診断基準の一つとして血液

PCB の性状及び濃度が取り上げられるようになった。当時の油症患者 72 名の血液 PCB の平均濃度は 7 ppb で、健康人の平均濃度の 3 ppb に比べ高濃度

であり、血液 PCB のガスクロマトグラムパターンも油症特有のパターンを示す A タイプの者が全体の 59 % を占めており、一般人と同様のパターンを示す C タイプの者は 5 % であった⁵⁾。しかし、油症中毒事件から十数年が経過した今日、油症検診受診者の多くは C タイプであることや患者の血液 PCB の組成に変化がみられること⁶⁾ などから、血液 PCB の性状及び濃度による診断の有効性への疑問が指摘されつつある⁷⁾。従つて、最近では、それを補うものとして油症患者の血液中に特異的に残存していると考えられる PCQ が診断の有力な手段として注目されている⁸⁾⁷⁾。

以上の事実に鑑み、蓄積された福岡県油症検診データを用い、受診者の血液 PCB の性状及び濃度の特性並びに血液 PCQ 濃度と現症との相関分析を行ったので報告する。

対象と方法

1. 昭和 48 年度から昭和 55 年度までの福岡県油症検診受診者、延べ 1,834 名の血液 PCB 濃度の年次推移及び増田らの方法によつて分類された血液 PCB パターン⁵⁾の変動について調べた。

2. 昭和 54 年度及び昭和 55 年度の油症検診受診者の中で血液 PCQ 分析データの有る者を対象に次の相関分析を行った。

(1) 昭和 48 年度から昭和 55 年度の油症検診受診者、延べ 650 名について、各年度ごとに、血液 PCQ 濃度と臨床症状項目 (41 項目)、生化学検査項目 (45 項目)、血液 PCB 濃度及び血液 PCB パターン間の単相関係数を算出した。

なお、検診票の臨床症状項目は重篤度に応じて、一、土、十、廿、卅で記入されているので、それらに 0 から 4 の評点を与え計算に用いた。

(2) 20 歳以上の昭和 55 年度油症検診受診者の内、血液 PCB 濃度、血液 PCQ 濃度、臨床所見 (自覚、他覚、痤瘡様皮疹、色素沈着、眼科)、GOT、中性脂肪及び β -リポ蛋白のデータがそろつた男 48 名、女 74 名について目的変数を血液 PCQ 濃度あるいは血液 PCB 濃度とし、説明変数を上記臨床所見及び生化学検査項目とし重回帰分析を行った。

5 項目の臨床所見データは下記の様な症状の組み合わせとし、各症状の評点の総和をもつてその臨床所見のスコアとした。

1) 自覚所見—全身倦怠感、発熱、頭痛・頭重、腹痛、咳嗽、喀痰、末梢神経症状、月経異常、関節部異常

2) 他覚所見—栄養、心音、呼吸音、肝腫、脾腫、浮腫、リンパ節腫大、爪変形

3) 痤瘡様皮疹—顔面、外陰部、臀部、軀幹、化膿傾向、黒色面皰、癬痕化

4) 色素沈着—顔面、指爪、趾爪、眼瞼結膜、上歯肉、下歯肉、口唇粘膜、頬粘膜

5) 眼科所見—眼脂過多、眼瞼浮腫、瞼板腺囊胞形成、瞼板腺チーズ様分泌物圧出

また、血液 PCB 濃度の分布は対数正規に近いことが知られているので⁹⁾、対数変換後解析に用いた。血液 PCQ 濃度も同様に取り扱い扱った。

結果および考察

1. 血液 PCB 濃度の年次推移及び PCB パターンの変動

昭和 48 年度から昭和 55 年度までの油症検診受診者における PCB パターン別の構成割合及び血液 PCB の幾何平均濃度を表 1 に示した。油症検診受診者のパターン別構成割合は 48 年度とそれ以降の年度では変化が生じていた。すなわち、48 年度は A タイプの者が 37.7 %、C タイプの者が 32.5 % と同程度であったが、49 年度以降は A タイプの者の割合が減少し、C タイプの者の割合が増加して来ており、昭和 55 年度では、A タイプの者が 22.3 % で、C タイプの者が 61.7 % であった。

油症検診受診者の血液 PCB の幾何平均濃度は、観察したすべての年度において、A タイプは他のタイプに比べ危険率 1 % 以下で有意に高く、4.85 ppb から 6.52 ppb の間を推移した。B、BC 及び C タイプの間では幾何平均濃度の有意差は認められず、これらのタイプの年次推移は昭和 48 年度を最高にゆるやかな減少傾向を示し、近年は健常人の血液 PCB の平均濃度 3 ppb¹⁰⁾⁹⁾ とほとんど同じであった。

表 2 は油症検診受診者の中で経時的に比較可能であった 133 名について、血液 PCB パターンの変動状況を見たものである。血液 PCB パターンのタイプに変動が認められなかった者は 78.2 %、A $\leftrightarrow$ B、B $\leftrightarrow$ BC 及び BC $\leftrightarrow$ C に変動した者は 18.8 %、大幅にタイプが変動した者は少なく 3 % であった。

2. 血液 PCQ 濃度と臨床症状項目、生化学検査項目及び血液 PCB 分析値間の相関

昭和 54 年度あるいは昭和 55 年度の血液 PCQ 濃度と各年度の臨床症状項目等 88 項目の単相関係数が算出されたが、その中の上位 10 位の結果を表 3 に示した。各年度を通して、血液 PCQ 濃度と相関が強い項

表 1. 年度別, ガスクロパターン別油症検診受診者構成割合及び血液 PCB 濃度

年度	A			B			BC			C			A+B+BC+C		
	例数 (%)	幾何平均		例数 (%)	幾何平均		例数 (%)	幾何平均		例数 (%)	幾何平均		例数 (%)	幾何平均	
48	58 (37.7)	6.21		24 (15.6)	4.30		22 (14.3)	3.57		50 (32.5)	3.95		154 (100.0)	4.68	
49	99 (25.9)	6.19		19 (5.0)	3.33		49 (12.8)	2.99		215 (56.3)	2.65		382 (100.0)	3.39	
50	66 (27.0)	6.52		25 (10.2)	3.00		9 (3.7)	2.43		144 (59.0)	2.73		244 (100.0)	3.48	
51	53 (24.3)	6.49		26 (11.9)	2.32		26 (11.9)	2.60		113 (51.8)	2.55		218 (100.0)	3.17	
52	58 (27.2)	5.55		20 (9.4)	2.37		14 (6.6)	2.28		121 (56.8)	2.34		213 (100.0)	2.96	
53	64 (27.6)	5.62		24 (10.3)	2.17		19 (8.2)	2.28		125 (53.9)	2.23		232 (100.0)	2.88	
54	52 (26.3)	4.85		14 (7.1)	1.63		16 (8.1)	1.45		116 (58.6)	2.22		198 (100.0)	2.58	
55	43 (22.3)	6.30		13 (6.7)	2.54		18 (9.3)	2.11		119 (61.7)	2.28		193 (100.0)	2.86	

注) 幾何平均濃度の単位は ppb

表 2. 油症検診受診者の PCB パターンの推移 (昭和 48 年度～昭和 55 年度)

パターンの変化	人 数 (%)
A $\longleftrightarrow$ A	36 (27.1)
B $\longleftrightarrow$ B	4 (3.0)
C $\longleftrightarrow$ C	64 (48.1)
A $\longleftrightarrow$ B	12 (9.0)
B $\longleftrightarrow$ BC	3 (2.3)
BC $\longleftrightarrow$ C	10 (7.5)
A $\longleftrightarrow$ C	1 (0.8)
B $\longleftrightarrow$ C	1 (0.8)
B $\longleftrightarrow$ BC $\longleftrightarrow$ C	2 (1.5)
TOTAL	133 (100.0)

目は血液 PCB 濃度 (0.8 以上) 及び血液 PCB パターン (0.6 以上) であり, 皮膚科所見項目及び眼科所見項目の単相関係数の多くは約 0.2 から 0.6 であった。痤瘡様皮疹や皮膚の色素沈着などの皮膚症状あるいは眼脂過多や眼瞼浮腫などの眼症状は近年軽微になつて来たが重症者に見られる癬痕化などの後遺症の所見は依然として改善されておらず¹⁷⁾, このことが血液 PCQ 濃度と皮膚科所見項目や眼科所見項目間の弱い相関関係となつているものと思われる。

3. 重回帰分析の結果

昭和 55 年度の油症検診受診者で満 20 歳以上の男 (48 名), 女 (74 名) を対象に重回帰分析を行つた。説明変数間の単相関係数を表 4 に示した。男の中性脂肪と β -リポ蛋白間の単相関係数が 0.84 ときわめて高いほかは, 女の痤瘡様皮疹, 色素沈着及び眼科所見の間に 0.3 の弱い相関がある程度で, あとは無相関であつた。最良選択法で行つた重回帰分析⁶⁾ の結果を表 5 及び表 6 に示した。男の場合は目的変数が血液 PCQ

濃度よりも血液 PCB 濃度の方が説明変数との相関が強く, 説明変数の最良の組み合わせは, 自覚所見, 他覚所見, 眼科所見, 中性脂肪及び β -リポ蛋白であり, その重相関係数 (R) は 0.704, 自由度調整済み R (R*) は 0.435 であつた (表 5)。女の場合は男の結果とは異なり, 血液 PCQ 濃度と自覚所見, 痤瘡様皮疹, 眼科所見及び β -リポ蛋白の組み合わせが最良であり, R は 0.683, R* は 0.436 であつた。

最近の PCQ 濃度と臨床症状との関連性は, 単相関及び重相関にしろ, 強いものではなく, その寄与率は 40 %程度であろう。このことは, PCQ 毒性の強弱に対する根拠を与えるものではなく, むしろ, 油症中毒事件から十数年経過した今日の, 油症検診受診者の現症としての臨床症状の軽微状態を特徴づけるものと思われる。

総 括

昭和 48 年度から昭和 55 年度までの福岡県油症検診者 (延べ 1,834 名) の血液 PCB 濃度及び血液 PCB パターンの特性を検討した。また, 血液 PCQ 濃度と臨床症状項目等との相関についても併せて検討した。

その結果は次のとおりであつた。

1) A タイプの PCB 濃度は他のタイプ (B, BC, C) の PCB 濃度よりも統計的に有意に高かつた ($p < 0.01$)。

2) 経時的に比較可能であつた 133 名の血液 PCB パターンの変動は, パターンの変動がなかつた者 104 名 (78.2 %), A $\leftrightarrow$ B, B $\leftrightarrow$ BC 及び BC $\leftrightarrow$ C に変動した者は 25 名 (18.8 %) で, 各人の血液 PCB パターンはほとんど変動していなかつた。

3) 血液 PCQ 濃度と血液 PCB 濃度の単相関係数は 0.8 以上であり, 血液 PCQ 濃度と血液 PCB パ

表 3. 年度別血液 PCQ 濃度と臨床症状項目間の単相関係数順位

昭和 48 年度			昭和 49 年度		
順位					
1	PCB パターン	0.926 (14)	PCB 濃度	0.896 (68)	
2	血 糖	0.535 (15)	臀部瘡癤様皮疹	0.691 (70)	
3	赤 血 球 数	-0.519 (15)	趾爪色素沈着	0.680 (70)	
4	発 熱	0.517 (15)	眼瞼結膜色素沈着	0.618 (70)	
5	PCB 濃度	0.432 (14)	PCB パターン	0.612 (68)	
6	末梢神経症状	0.390 (14)	外陰部瘡癤様皮疹	0.595 (70)	
7	血 色 素 量	-0.382 (13)	指爪色素沈着	0.593 (70)	
8	上歯肉色素沈着	0.381 (15)	マイボーム腺肥大	0.556 (70)	
9	下歯肉色素沈着	0.381 (15)	顔面色素沈着	0.466 (69)	
10	喀 痰	-0.339 (15)	爪 変 形	0.466 (68)	

昭和 50 年度			昭和 51 年度		
順位					
1	PCB 濃度	0.881 (65)	PCB 濃度	0.873 (66)	
2	顔面色素沈着	0.728 (65)	臀部瘡癤様皮疹	0.685 (67)	
3	PCB パターン	0.702 (65)	外陰部瘡癤様皮疹	0.673 (67)	
4	指爪色素沈着	0.684 (66)	軀幹瘡癤様皮疹	0.665 (67)	
5	マイボーム腺肥大	0.664 (66)	顔面色素沈着	0.599 (66)	
6	眼 脂 過 多	0.658 (65)	PCB パターン	0.589 (66)	
7	眼瞼結膜色素沈着	0.657 (66)	マイボーム腺肥大	0.543 (67)	
8	臀部瘡癤様皮疹	0.607 (65)	趾爪色素沈着	0.540 (66)	
9	化 膿 傾 向	0.589 (65)	眼瞼結膜色素沈着	0.505 (67)	
10	軀幹瘡癤様皮疹	0.576 (65)	黒 色 面 皰	0.476 (67)	

昭和 52 年度			昭和 53 年度		
順位					
1	PCB 濃度	0.825 (89)	PCB 濃度	0.803 (100)	
2	指爪色素沈着	0.615 (91)	浮 腫	0.691 (81)	
3	PCB パターン	0.603 (89)	PCB パターン	0.672 (100)	
4	マイボーム腺肥大	0.529 (84)	外陰部瘡癤様皮疹	0.577 (99)	
5	顔面色素沈着	0.521 (91)	顔面色素沈着	0.577 (99)	
6	化 膿 傾 向	0.498 (91)	化 膿 傾 向	0.559 (99)	
7	C R P	0.489 (84)	趾爪色素沈着	0.537 (99)	
8	趾爪色素沈着	0.483 (90)	臀部瘡癤様皮疹	0.528 (99)	
9	眼 脂 過 多	0.473 (85)	指爪色素沈着	0.520 (100)	
10	癬 痕 化	0.421 (90)	軀幹瘡癤様皮疹	0.482 (99)	

昭和 54 年度			昭和 55 年度		
順位					
1	PCB 濃度	0.836 (98)	PCB 濃度	0.834 (140)	
2	PCB パターン	0.661 (98)	PCB パターン	0.677 (140)	
3	顔面色素沈着	0.610 (97)	臀部瘡癤様皮疹	0.457 (136)	
4	外陰部瘡癤様皮疹	0.599 (98)	瞼板腺チーズ様分泌	0.435 (131)	
5	指爪色素沈着	0.558 (98)	外陰部瘡癤様皮疹	0.396 (136)	
6	爪 変 形	0.497 (97)	趾爪色素沈着	0.374 (136)	
7	黒 色 面 皰	0.476 (98)	脾 腫	0.341 (111)	
8	癬 痕 化	0.471 (97)	指爪色素沈着	0.317 (136)	
9	陰部瘡癤様皮疹	0.457 (98)	眼瞼結膜色素沈着	0.298 (137)	
10	趾爪色素沈着	0.451 (97)	癬 痕 化	0.289 (134)	

注) () 内は反復数

表 4. 項目間の単相関係数

	1	2	3	4	5	6	7	8
1 自覚所見	1.00	0.03	-0.14	-0.02	0.02	-0.05	-0.01	-0.00
2 他覚所見	0.19	1.00	0.20	0.12	0.21	0.12	0.02	0.13
3 痤瘡様皮疹	0.22	0.11	1.00	0.33**	0.30**	0.09	0.16	0.13
4 色素沈着	-0.10	0.10	0.05	1.00	0.29**	0.02	-0.00	-0.06
5 眼科所見	0.18	0.12	0.15	-0.02	1.00	-0.12	0.12	0.09
6 GOT	0.14	0.16	0.19	0.03	-0.11	1.00	0.31**	0.02
7 中性脂肪	-0.13	-0.09	-0.00	-0.17	0.12	0.02	1.00	0.19
8 β -リポ蛋白	-0.09	-0.10	-0.06	-0.19	0.04	0.08	0.84**	1.00

注) 対角線の下は男 (n=48), 上は女 (n=74) の結果. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$

対象者は昭和55年度油症検診受診者で満20歳以上

表 5. 昭和55年度油症検診受診者の重回帰分析(最良選択法) 結果1

変数 選択数	説明変数								重相 関係数	自調 重相 関係数	由度 調整 係数
	自覚所見	他覚所見	痤瘡 様 皮 疹	色素 沈 着	眼科所見	GOT	中性脂肪	β - リ 蛋 白			
目的変数—男の血液 PCB 濃度の対数値											
1								○	0.471		0.205
2							○	○	0.639		0.382
3	○						○	○	0.673		0.416
4	○				○		○	○	0.692		0.431
5	○	○			○		○	○	0.704		0.435
6	○	○	○		○		○	○	0.710		0.432
7	○	○	○	○	○		○	○	0.716		0.427
8	○	○	○	○	○	○	○	○	0.717		0.415
目的変数—女の血液 PCB 濃度の対数値											
1			○						0.484		0.224
2			○		○				0.556		0.290
3	○		○		○				0.613		0.392
4	○		○		○		○		0.657		0.398
5	○		○		○		○	○	0.669		0.407
6	○		○	○	○		○	○	0.675		0.406
7	○	○	○	○	○		○	○	0.678		0.402
8	○	○	○	○	○	○	○	○	0.681		0.397

—のそれは0.6以上であつた。また、血液 PCB 濃度と皮膚科所見項目あるいは眼科所見項目の単相関係数はおおよそ0.2から0.6であつた。

4) 女の血液 PCB 濃度と自覚所見, 痤瘡様皮疹, 眼科所見及び β -リポ蛋白の組み合わせの重回帰係数が0.683で最も高かつた。

稿を終えるにあたり、本研究の実施に終始深い理解を賜った当センター猿田南海雄所長及び中村幸男保健私学部長に心から感謝の意を表します。

また、貴重なデータを提供していただきました福岡県衛生部及び当センター中村周三前衛生化学課長を始めとする衛生化学課職員の方々に感謝いたします。

表 6. 昭和 55 年度油症検診受診者の重回帰分析（最良選択法） 結果 2

変数 選択数	説			明		変		数		重 係	相 関 数	自 調 重	由 相 関	度 済 数
	自覚所見	他覚所見	座 皮	瘡 様 疹	色素沈着	眼科所見	GOT	中性脂肪	β -リ 蛋 白					
目的変数一男の血液 PCQ 濃度の対数値														
1					○						0.360		0.111	
2	○				○						0.418		0.138	
3	○				○					○	0.441		0.140	
4	○				○			○		○	0.462		0.140	
5	○				○	○			○	○	0.486		0.145	

6	○				○	○		○	○	○	0.502		0.142	
7	○			○	○	○		○	○	○	0.505		0.125	
8	○	○		○	○	○		○	○	○	0.507		0.104	

目的変数一女の血液 PCQ 濃度の対数値														
1						○					0.474		0.214	
2	○					○					0.614		0.360	
3	○			○		○					0.659		0.410	
4	○			○		○				○	0.683		0.436	

5	○			○	○	○				○	0.688		0.435	
6	○			○	○	○		○		○	0.689		0.428	
7	○			○	○	○		○	○	○	0.670		0.420	
8	○	○		○	○	○		○	○	○	0.690		0.411	

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) Hayabuchi, H. and Ikeda, M.: Relationship between the concentration of toxic rice oil and the long-term concentration of polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 19: 53-55, 1981.

3) 飯田隆雄, 芥野岑男, 高田 智, 中村周三, 高橋克己, 増田義人: 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. 福岡医誌 72: 185-191, 1981.

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) 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ル. 福岡医誌 65: 25-27, 1974.

6) 大崎紘一, 他: 統計技術, p. 230-238, 東京, 同文書院, 1980.

7) 高松 誠, 沖真理子, 前田勝義, 樫本 隆: 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. 福岡医誌 72: 192-197, 1981.

8) 渡辺 功, 薬師寺 積, 桑原克義, 吉田精作, 児山健策, 原 一郎, 国田信治: 一般人, 油症患者および職業的 PCB 取扱者の血中 PCB 成分解析(第 3 報)一経年変化一. 大阪府立公衛研所報 食品衛生編 9: 67-73, 1978.

福岡医学雑誌投稿規定

1. 福岡医学会会員にかぎり投稿できる。
2. 原著論文は受付順に掲載する。原著論文の組版代、凸版代、写真版代などの実費は著者負担とする。ただし事情により、特別掲載料を払って至急掲載することを認める場合がある。
3. 和文原著には欧文（英、独、仏のいずれか）抄録を、欧文原著には和文抄録を付けることとし、それぞれ本誌印刷1ページ以内とする。
4. 和文は現代かなづかい、平がなまじりの横書きとする。外国語は **typewriter** を使用するか、あるいは **block letter** で鮮明に記すことが必要である。
5. 数字は算用数字を用い、度量衡の単位は **cm, mm, g, mg, kg, ml, dl, cm², cm³ (cc)** など、一般に用いられる略字を使用する。
6. 原稿の第1ページには、標題、著者の所属（必要あれば指導者名付記）、著者名のみを記し、別刷所要部数を赤字で付記する。
7. 原著論文には必ず総括（または結論）をつける。謝辞がある場合は総括の後に書く。
8. 引用した文献は末尾に一括して、番号を付けて記載する。その順序は著者名の **alphabet** 順とし、記載の形式は次の例による。
 - 1) Bennett, J. H. and SeEVERS, M. M.: The effect of anoxia on the action of nitrous oxide in the normal human subject. J. Pharmac. Exp. Ther. 61: 459-463, 1937.
 - 2) Ewing, J.: Neoplastic disease, 4th ed. Philadelphia, Saunders, 1940.
9. 写真の原稿は鮮明なものでなければならない。凸版の原稿が不備の場合は **trace** 料、写植料などの清書費用を別に必要とする。表は1ページに組める大きさ以内であることを要する。
10. 定期号のほかに補冊を刊行することがある。教室論文集などを補冊として発行することの可否は幹事会で決定する。
11. 本誌に掲載する論文は編集会議で承認を得たものに限る。原稿の受付は福岡医学雑誌編集室（医学旧図書館1階）で行う。

編集幹事：金関 毅（解剖）、中川哲也（心内）、中山文夫（1外科）、川淵 優（解剖）、
許斐康熙（1外科）

昭和58年5月25日発行

〒812 福岡市東区馬出3丁目1番1号

九州大学医学部内

発行所 福岡医学会

TEL 代表 641-1151 内線 7516

（日本出版協会準会員番号 B211042 振替 福岡 5-2233）

編集兼発行者 金 関 毅

印刷者 間 茂 樹

印刷所 秀巧社印刷株式会社

福岡市南区向野2丁目13-29